



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113116946 A

(43)申请公布日 2021.07.16

(21)申请号 201911390119.3

(22)申请日 2019.12.30

(71)申请人 天津天士力现代中药资源有限公司

地址 300410 天津市北辰区科技园区

(72)发明人 李伟 张学敏 徐波 韩亚朋

常广璐 李硕

(74)专利代理机构 北京华科联合专利事务所

(普通合伙) 11130

代理人 王为

(51)Int.Cl.

A61K 36/258(2006.01)

C08B 37/00(2006.01)

A61K 125/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书12页

(54)发明名称

一种同时制备红参须根多糖及皂苷提取方法

(57)摘要

本发明涉及一种同时制备红参须根多糖及皂苷提取方法,所述方法,步骤如下:1)取红参须根,加水煎煮,煎液滤过,合并滤液;2)滤液上D101大孔树脂柱,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖;3)柱子进一步用80℃水洗脱至无色,再用乙醇溶液洗脱,从流出液糖度达到10%后,收集60%乙醇溶液洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得人参总皂苷。

1. 一种同时制备红参须根多糖及皂苷提取方法,其特征在于,所述方法,步骤如下:

1) 取红参须根,加水煎煮,煎液滤过,合并滤液;

2) 滤液上D101大孔树脂柱,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖;

3) 柱子进一步用80℃水洗脱至无色,再用乙醇溶液洗脱,从流出液糖度达到10%后,收集乙醇溶液洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得人参总皂苷。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,其中,步骤1)所述煎煮次数为2-3次。

3. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,其中,步骤1)所述煎煮次数为2次;第一次加水量为5-10倍,第二次加水量5-10倍,煎煮时间1-3小时。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,其中,步骤2)所述D101大孔树脂柱使用量为树脂重量:药材重量比约为0.5~1:1。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,其中,步骤3)乙醇溶液洗;洗脱量3-7BV,;乙醇洗脱液乙醇浓度为40%-80%v/v。

6. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,其中,步骤3)乙醇溶液洗;洗脱量4-5BV;乙醇洗脱液乙醇浓度为60%v/v。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述方法,步骤如下:

1) 取红参须根加7倍和6倍水煎煮2次,第一2h,第二次1.5h,煎液滤过,合并滤液;

2) 滤液通过D101大孔树脂柱,树脂重量:药材重量比约为0.8:1,上样流速为1~3BV/h,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖;

3) 柱子进一步用80℃水洗脱至无色,再用4-5BV 60%乙醇洗脱,从流出液糖度达到10%以上后,开始收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至80℃相对密度为1.06-1.08的清膏,干燥,即得人参总皂苷。

一种同时制备红参须根多糖及皂苷提取方法

技术领域

[0001] 本发明涉及中药领域,特别涉及一种中药提取方法。

背景技术

[0002] 红参:为五加科植物人参Panax ginseng C.A.Mey.的栽培品经蒸制后的干燥根和根茎。红参须根:为五加科植物人参Panax ginseng C.A.Mey.的栽培品经蒸制而成红参的侧根。红参须根中Rb1、Rb2、Rc、Rd含量均较人参其它部位高。红参须根多糖:红参须根经过提取,提取液经过树脂、浓缩、干燥,制成的人参多糖。红参须根皂苷:红参须根经过提取、树脂纯化,经过水洗、醇洗、浓缩、干燥,制成的人参皂苷。红参为人参干燥根及根茎经蒸制后得到的炮制品,具有大补元气,复脉固脱,益气摄血。用于体虚欲脱,肢冷脉微,气不摄血,崩漏下血。红参是人参极具代表性的重要加工品,其历史可追溯到明代,最早关于红参性状的记载出现在《本草蒙荃》中:“紫团参,紫大而稍扁”,这就是经过加热去须,再压制的支头红参(鲁文慧,等.不同蒸制时间对红参中人参皂苷及农药残留的影响[J].人参研究,2016,28(04):2-5.)。红参在加工时会去须(靳先乾.人参炮制加工方法简介[J].齐鲁药事,1986(03):24-25.)。红参去掉的须根常被作为废品处理,有关研究发现,红参须也有利用价值,有关文献如(陈志成,等.红参须中人参总皂甙提取工艺研究[J].西北药学杂志,1989(02):23-25.)公开了从红参须中提取人参总皂苷,即用85%乙醇回流提取5次,每次用5倍量乙醇提取2h。但这样的方法一次只能提取出人参总皂苷,利用率低。

[0003] 为克服现有技术中的困难,实现中药资源可循环再利用,变废为宝,本发明对红参须根的提取工艺进行了研究,得到一种可以工业化生产红参须根多糖及皂苷的提取方法,本发明还包括对所提取的红参须根多糖及皂苷进行含量检测,并对标准进行规范。

发明内容:

[0004] 本发明提供一种红参须根有用提取物的制备方法,通过该方法,可以得到有用提取物,红参须根多糖及皂苷,本发明方法,步骤如下:

[0005] 1) 取红参须根,加水煎煮,煎液滤过,合并滤液;

[0006] 2) 滤液上D101大孔树脂柱,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖;

[0007] 3) 柱子进一步用水洗脱至无色,再用乙醇溶液洗脱,收集乙醇溶液洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得人参总皂苷。

[0008] 其中,

[0009] 步骤1)所述煎煮次数为2-3次,优选2次。提取第一次加水量为5-10倍,优选7倍,第二次加水量5-10倍,优选6倍。提取时间1-3小时,第一次优选2小时,第二次优选1.5小时。

[0010] 其中,步骤2)所述D101大孔树脂柱使用量为树脂重量:药材重量比约为0.5~1:1,优选0.8:1。

[0011] 其中,步骤3)用水洗脱至无色,水温优选80℃;乙醇溶液洗;洗脱量3-7BV,优选4-5BV;乙醇洗脱液乙醇浓度为40%-80%(v/v),优选60%(v/v)。

[0012] 本发明制备方法,最优选的,步骤如下:

[0013] 1) 取红参须根加水 (7倍,6倍) 煎煮2次,第一2h,第二次1.5h,煎液滤过,合并滤液,2) 滤液通过D101大孔树脂柱 (树脂重量:药材重量比约为0.8:1),上样流速为1~3BV/h,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖。

[0014] 3) 柱子进一步用水80℃洗脱至无色,再用4-5BV 60%乙醇洗脱,从流出液糖度达到10%以上后,开始收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至相对密度为1.06-1.08 (80℃) 的清膏,干燥,即得人参总皂苷。

[0015] 本发明是通过大量筛选得到的,筛选方法如下

[0016] 1、提取工艺:

[0017] 取红参须根,加水煎煮,煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱 (树脂重量:药材重量比约为0.8:1),水洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得。

[0018] 2、实验一:不同提取次数对比实验

[0019] 取红参须根,一组加水提取3次 (7BV, 2h; 6BV, 2h; 6BV, 2h), 另一组加水提取2次 (7BV, 2h; 6BV, 1.5h), 煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱 (树脂重量:药材重量比约为0.8:1),水洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得。

[0020] 2.1过程数据统计表

[0021]

| 工序 | 工艺不同点 | 提取 3 次 | 提取 2 次 |
|-------|------------|------------|------------|
| 投料 | 药材名称 | 红参须根 | |
| | 药材批号 | 20180101 | |
| | 提取物批号 | 20180403-1 | 20180407-1 |
| | 药材重量 g | 600 | 600 |
| 提取 | 一煎加水量 ml | 4200 | 4200 |
| | 一煎提取时间 h | 2.0 | 2.0 |
| | 一煎药液体积 ml | 2510 | 2530 |
| | 二煎加水量 ml | 3600 | 3600 |
| | 二煎提取时间 h | 2.0 | 1.5 |
| | 二煎药液体积 ml | 3550 | 3380 |
| | 三煎加水量 ml | 3600 | —— |
| | 三煎提取时间 h | 2.0 | —— |
| | 三煎药液体积 ml | 3700 | —— |
| | 药液总体积 ml | 9760 | 5910 |
| 过滤 | 过滤目数 | 600 目 | 600 目 |
| | 过滤液体积 ml | 9630 | 5780 |
| 上样、洗脱 | 上样流速 | 2~3BV/h | 2~3BV/h |
| | 水洗流速 | 3~5BV/h | 3~5BV/h |
| | 水洗体积 ml | 16500 | 13600 |
| | 洗脱乙醇浓度 | 60% | 60% |
| | 60%乙醇洗脱流速 | 1~2BV/h | 1~2BV/h |
| | 收集洗脱液体积 ml | 4290 | 2200 |
| 浓缩、 | 浓缩液重量 g | 116.3 | 92.2 |

[0022]

| | | | |
|----|---------|------------|------------|
| 干燥 | 比重 | 1.08 (80℃) | 1.06 (80℃) |
| | 干燥最高温度℃ | ≤70 | ≤70 |
| | 干粉重量 g | 41.0 | 26.2 |
| | 出粉率 | 6.83% | 4.37% |

[0023] 2.2提取物检测结果(质量评估)统计表

[0024]

| 批号及检测项目 | 标准 | 20180403-1 | 20180407-1 |
|-------------------------|-------------------|------------|------------|
| 出粉率 | —— | 6.83% | 4.37% |
| 水分 | ≤5.0% (药典标准) | 2.93% | 4.96% |
| 总皂苷含量 | ≥50% (项目目标) | 54.67% | 68.82% |
| 人 参 皂 苷 Rd+Rg1+Re 总量 | 15%~25% (药典标准) | 18.72% | 21.43% |
| 结果 | —— | 符合规定 | 符合规定 |

[0025] 由上表可知,提取3次与按照2015年版药典人参总皂苷提取2次工艺相比,提取物出粉率高2.46个百分点,但总皂苷含量低14.15个百分点,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量低2.71个百分点。同时采用提取3次制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在下限水平;提取2次制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在较好水平。

[0026] 2.3提取过程转移率统计表

| | | | | | |
|--------|-----------------|------------|--------|------------|--------|
| [0027] | 批号 | 20180403-1 | | 20180407-1 | |
| | 工序 | Re (mg/ml) | 转移率 | Re (mg/ml) | 转移率 |
| | 一煎液 | 0.545 | 48.56% | 0.5189 | 46.59% |
| | 二煎液 | 0.217 | 27.38% | 0.2303 | 27.62% |
| | 三煎液 | 0.114 | 14.95% | —— | —— |
| | 提取液 | —— | 90.89% | —— | 74.21% |
| | 水洗液 | 0 | —— | 0 | —— |
| | 洗脱终点 | 0 | —— | —— | —— |
| | 洗脱液 | 0.507 | 77.15% | 0.8053 | 62.86% |
| | 提取物 Re 百分含量及转移率 | 5.22% | 75.99% | 6.43% | 56.80% |

[0028] 由上表可知,以人参皂苷Re含量计算,提取3次与提取2次工艺相比,提取转移率高16.68个百分点,提取物转移率高19.19个百分点,说明提取3次较提取2次整体转移率高,同时对3次与2次提取工艺的水洗液及3次提取的洗脱终点取样进行检测,未检出人参皂苷Re含量。

[0029] 2.4不同提取次数实验小结

[0030] 分析:提取3次与提取2次工艺相比,提取至成品整体转移率均高,同时出粉率高也出2.46个百分点,提取3次制备的提取物总皂苷含量在54.7%左右、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量在18.7%左右,提取物含量整体处在下限水平。提取2次制备的提取物总皂苷含量在68.8%左右,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量在21.4%%左右,提取物含量整体均处在较好水平。

[0031] 结果:提取3次与按照2015年版药典人参总皂苷提取2次工艺相比,提取3次制备的提取物总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均处在下限水平,提取2次制备的提取物含量整体处在较好水平。下一步将考虑采用2次提取工艺,上样后采用热水洗去色素等杂质,同时洗脱液直接收集与从10%糖度开始收集对比实验,考察制备提取物的质量情况。

[0032] 3、实验例二:柱子进一步用20-80℃水洗脱至无色的水温度控制对比实验取红参须根,加水提取2次(7BV,2h;6BV,1.5h),煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱(树脂重量:药材重量比约为0.8:1),分别用水(20℃)、(40℃)、(60℃)、(80℃)洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得。

[0033] 3.1过程数据统计表

[0034]

| 工序 | 工艺不同点 | 水 洗 温 度 (20℃) | 水 洗 温 度 (40℃) | 水 洗 温 度 (60℃) | 水洗温度(80℃) |
|-------|-------------|------------------|------------------|------------------|------------|
| 投料 | 药材名称 | 红参须根 | | | |
| | 药材批号 | 20180101 | | | |
| | 提取物批号 | 20180407-1 | 20180408-1 | 20180408-2 | 20180409-1 |
| | 药材重量 g | 600 | 600 | 600 | 600 |
| 提取 | 一煎加水量 ml | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 |
| | 一煎提取时间 h | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| | 一煎药液体积 ml | 2530 | 2500 | 2550 | 2480 |
| | 二煎加水量 ml | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 |
| | 二煎提取时间 h | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| | 二煎药液体积 ml | 3380 | 3390 | 3320 | 3400 |
| | 药液总体积 ml | 5910 | 5890 | 5870 | 5880 |
| 过滤 | 过滤目数 | 600 目 | 600 目 | 600 目 | 600 目 |
| | 过滤液体积 ml | 5780 | 5760 | 5700 | 5720 |
| 上样、洗脱 | 上样流速 | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h |
| | 水洗流速 | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h |
| | 水洗体积 ml | 13600 | 12000 | 9600 | 6500 |
| | 洗脱乙醇浓度 | 60% | 60% | 60% | 60% |
| | 60% 乙醇 洗脱流速 | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h |
| | 收集洗脱液体积 ml | 2200 | 2700 | 2500 | 2800 |
| 浓缩、 | 浓缩液重量 g | 92.2 | 85.3 | 76.1 | 82.7 |

[0035]

| | | | | | |
|----|---------|------------|------------|------------|------------|
| 干燥 | 比重 | 1.06 (80℃) | 1.06 (80℃) | 1.07 (80℃) | 1.06 (80℃) |
| | 干燥最高温度℃ | ≤70 | ≤70 | ≤70 | ≤70 |
| | 干粉重量 g | 26.2 | 25.6 | 24.8 | 24.5 |
| | 出粉率 | 4.37% | 4.27% | 4.13% | 4.08% |

[0036] 3.2提取物检测结果(质量评估)统计表

[0037]

| 批号及检测项目 | 标准 | 20180407-1 | 20180408-1 | 20180408-2 | 20180409-1 |
|-----------------|----------------|------------|------------|------------|------------|
| 出粉率 | —— | 4.37% | 4.27% | 4.13% | 4.08% |
| 水分 | ≤5.0% (药典标准) | 4.96% | 4.16% | 4.72% | 4.33% |
| 总皂苷含量 | ≥50% (项目目标) | 68.82% | 68.99% | 69.95% | 70.24% |
| 人参皂苷Rd+Rg1+Re总量 | 15%~25% (药典标准) | 21.43% | 21.02% | 20.83% | 20.45% |
| 结果 | —— | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |

[0038] 由上表可知,采用(20℃)、(40℃)、(60℃)、(80℃)水洗脱至无色工艺相比,提取物出粉率、总皂苷含量变化不大,收率下降0.29个百分点,总皂苷含量提高1.42个百分点,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量下降0.98个百分点。但采用80℃水洗较20℃用量下降了1.1倍,同时总皂苷含量略有提升、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量处于中限水平;采用(80℃)水洗脱至无色制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在较好水平。

[0039] 3.3提取过程转移率统计表(以Re计)

[0040]

| 批号 | 20180407-1 | 20180408-1 | 20180408-2 | 20180409-1 |
|--------|------------|------------|------------|------------|
| 工序 | 转移率 | 转移率 | 转移率 | 转移率 |
| 一煎液 | 46.59% | 50.32% | 48.21% | 51.38% |
| 二煎液 | 27.62% | 29.66% | 26.55% | 28.44% |
| 提取液 | 74.21% | 79.98% | 74.76% | 79.82% |
| 水洗液 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 洗脱液 | 62.86% | 68.69% | 65.47% | 67.33% |
| 提取物转移率 | 56.80% | 60.80% | 59.63% | 61.22% |

[0041] 由上表可知,以人参皂苷Re含量计算,采用(20℃)、(40℃)、(60℃)、(80℃)水洗脱至无色工艺相比,水洗液中没有检测到有效成分,提取物转移率相差不大,说明采用不同温度水洗对转移率没有影响。

[0042] 3.4柱子用20-80℃水洗脱至无色水温度控制对比实验小结

[0043] 分析:采用(20℃)、(40℃)、(60℃)、(80℃)水洗脱至无色工艺相比,提取物转移率、出粉率影响不大,收率下降0.29个百分点,总皂苷含量提高1.42个百分点,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量下降0.98个百分点。

[0044] 结果:采用80℃水洗较20℃水洗用量下降了1.1倍,上样后采用热水洗可较好去除色素等杂质,同时总皂苷含量略有提升、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量处于中限水平;采用(80℃)水洗脱至无色制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在较好水平。

[0045] 下一步考察洗脱液直接收集与从2.5%、5.0%、7.5%、10%糖度开始收集对比实验,考察制备提取物的质量情况。

[0046] 4、实验三:洗脱液直接收集与不同糖度开始收集对比实验取红参须根,加水提取2次(7BV, 2h; 6BV, 1.5h),煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱(树脂重量:药材重量比约为0.8:1),水-80℃)洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,收集60%乙醇洗脱液,分别直接收

集,另外流出液从糖度达到2.5%、5.0%、7.5%、10%开始收集,滤液浓缩浓缩至清膏,干燥,粉碎,即得。

[0047] 4.1过程数据统计表

| 工序 | 工艺不同点 | 直接收集 | 糖度 2.5% | 糖度 5.0% | 糖度 7.5% | 糖度 10.0% |
|-------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 投料 | 药材名称 | 红参须根 | | | | |
| | 药材批号 | 20180101 | | | | |
| | 提取物批号 | 20180409-1 | 20180409-2 | 20180501-1 | 20180501-2 | 20180502-1 |
| | 药材重量 g | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 |
| 提取 | 一煎加水量 ml | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 | 4200 |
| | 一煎提取时间 h | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| | 一煎药液体积 ml | 2480 | 2510 | 2530 | 2490 | 2500 |
| | 二煎加水量 ml | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 | 3600 |
| | 二煎提取时间 h | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| | 二煎药液体积 ml | 3400 | 3380 | 3340 | 3370 | 3360 |
| | 药液总体积 ml | 5880 | 5890 | 5870 | 5860 | 5860 |
| 过滤 | 过滤目数 | 600 目 | 600 目 | 600 目 | 600 目 | 600 目 |
| | 过滤液体积 ml | 5720 | 5820 | 5800 | 5760 | 5750 |
| 上样、洗脱 | 上样流速 | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h |
| | 水洗流速 | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h |
| | 水洗体积 ml | 6500 | 6500 | 6500 | 6500 | 6500 |
| | 水洗温度 (80℃) | 80℃ | 80℃ | 80℃ | 80℃ | 80℃ |
| | 洗脱乙醇浓度 | 60% | 60% | 60% | 60% | 60% |
| | 60% 乙醇洗脱流速 | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h |
| | 收集洗脱液体积 ml | 2800 | 2400 | 2370 | 2340 | 2310 |
| 浓缩、 | 浓缩液重量 g | 82.7 | 77.8 | 70.5 | 68.4 | 69.2 |
| | 比重 | 1.06 (80℃) | 1.06 (80℃) | 1.07 (80℃) | 1.07 (80℃) | 1.07 (80℃) |
| 干燥 | 干燥最高温度℃ | ≤70 | ≤70 | ≤70 | ≤70 | ≤70 |
| | 干粉重量 g | 24.5 | 25.8 | 24.9 | 24.7 | 27.0 |
| | 出粉率 | 4.08% | 4.30% | 4.15% | 4.17% | 4.50% |

[0050] 4.2提取物检测结果(质量评估)统计表

| | | | | | | | |
|--------|-----------------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| [0051] | 批号及检测项目 | 标准 | 20180409-1 | 20180409-2 | 20180501-1 | 20180501-2 | 20180502-1 |
| | 出粉率 | —— | 4.08% | 4.30% | 4.15% | 4.17% | 4.50% |
| | 水分 | ≤5.0% (药典标准) | 4.96% | 4.07% | 3.13% | 3.54% | 2.41% |
| | 总皂苷含量 | ≥50% (项目目标) | 68.82% | 69.34% | 71.26% | 73.36% | 75.50% |
| | 人参皂苷Rd+Rg1+Re总量 | 15%~25% (药典标准) | 21.43% | 21.05% | 20.87% | 20.08% | 20.27% |
| | 结果 | —— | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |

[0052] 由上表可知,洗脱液直接收集与从不同糖度2.5%、5.0%、7.5%、10%开始收集对比工艺相比,提取物出粉率没有变化规律、发生大的变化,收率不同与提取转移率差异有关,总皂苷含量提高6.7个百分点,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量下降1.16个百分点。洗脱液直接收集与不同糖度开始收集,总皂苷含量有所提升、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量处于中限水平;洗脱液从10%糖度开始收集制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在较好水平。

[0053] 4.3提取过程转移率统计表 (以Re计)

| | | | | | | |
|--------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|
| [0054] | 批号 | 20180409-1 | 20180409-2 | 20180501-1 | 20180501-2 | 20180502-1 |
| | 工序 | 转移率 | 转移率 | 转移率 | 转移率 | 转移率 |
| | 一煎液 | 46.59% | 53.12% | 49.57% | 55.21% | 56.47% |
| | 二煎液 | 27.62% | 28.36% | 28.15% | 26.63% | 26.23% |
| | 提取液 | 74.21% | 81.48% | 77.72% | 81.84% | 82.70% |
| | 开始接收点 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 洗脱液 | 62.86% | 73.68% | 69.85% | 74.52% | 76.68% |
| | 提取物转移率 | 56.80% | 65.34% | 59.63% | 68.35% | 70.53% |

[0055] 由上表可知,以人参皂苷Re含量计算,洗脱液直接收集与从不同糖度2.5%、5.0%、7.5%、10%开始收集工艺相比,开始接收点中没有检测到有效成分,最终提取物转移率相差主要是提取过程略有不同,说明从不同糖度开始收集洗脱液对转移率没有影响。

[0056] 4.4洗脱液直接收集与不同糖度开始收集对比实验小结

[0057] 洗脱液直接收集与从不同糖度2.5%、5.0%、7.5%、10%开始收集工艺相比,提取物出粉率不同与提取转移率差异有关,总皂苷含量有所提升、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量处于中限水平;洗脱液从10%糖度开始收集制备的提取物,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均在较好水平。

[0058] 5、结论:上样后采用80℃水洗、可以减少水洗量并去除色素等杂质,提取物转移率、出粉率影响不大,总皂苷含量略有提升;采用60%乙醇洗脱时,弃去部分洗脱液、从糖度达到10%以上开始收集对含量转移率无影响,对总皂苷含量有一定的提升作用,综合考虑提取物收率、总皂苷及人参皂苷Rd+Rg1+Re总量,确定红参须根分别加水(7倍,6倍)提取,采用热水洗去色素等杂质,同时洗脱液从10%糖度以上开始收集为最终工艺。

[0059] 本发明的有益效果在于:

[0060] 1、只用一次提取就能同时制备出人参总皂苷、人参多糖

[0061] 2、采用本发明的方法,制备出的人参总皂苷60%以上、人参多糖平均18%含量。

[0062] 3、本发明工艺简单,顺畅。

具体实施方式:

[0063] 以下通过实施例进一步说明本发明,但不作为对本发明的限制。

[0064] 实施例1

[0065] 1、提取工艺:

[0066] 取红参须根加水(7倍,6倍)煎煮2次,第一2h,第二次1.5h,煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱(树脂重量:药材重量比约为0.8:1),收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖;再用水80℃洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,从流出液糖度达到10%以上后,开始收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至相对密度为1.06-1.08(80℃)的清膏,干燥,粉碎,即得人参总皂苷。

[0067] 2.1皂苷过程数据统计表

| 工序 | 提取物批号 | 20180502-1 | 20180606-1 | 20180703-1 |
|-------|------------|------------|------------|------------|
| | 药材名称 | 红参须根 | | |
| 投料 | 药材批号 | 20180101 | | |
| | 药材重量 g | 600 | 600 | 600 |
| | | | | |
| 提取 | 一煎加水量 ml | 4200 | 4200 | 4200 |
| | 一煎提取时间 h | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| | 一煎药液体积 ml | 2500 | 2270 | 2520 |
| | 二煎加水量 ml | 3600 | 3600 | 3600 |
| | 二煎提取时间 h | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| | 二煎药液体积 ml | 3360 | 3350 | 3400 |
| 过滤 | 过滤目数 | 600 目 | 600 目 | 600 目 |
| | 过滤液体积 ml | 5680 | 5600 | 5920 |
| 上样、洗脱 | 上样流速 | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h |
| | 水洗流速 | 3~5BV/h | 3~5BV/h | 3~5BV/h |
| | 水洗液温度℃ | 80 | 80 | 80 |
| | 水洗体积 ml | 6500 | 6500 | 6500 |
| | 洗脱乙醇浓度 | 60% | 60% | 60% |
| | 60%乙醇洗脱流速 | 1~2BV/h | 1~2BV/h | 1~2BV/h |
| | 收集洗脱液体积 ml | 2310 | 2370 | 2350 |
| 浓缩、干燥 | 浓缩液重量 g | 69.2 | 76.2 | 67.8 |
| | 浓缩液比重 | 1.072/80℃ | 1.068/80℃ | 1.071/80℃ |
| | 干燥最高温度℃ | ≤65 | ≤65 | ≤65 |
| | 干粉重量 g | 27.0 | 28.9 | 25.7 |

| | | | | |
|--------|-----|-------|-------|-------|
| [0069] | 出粉率 | 4.50% | 4.82% | 4.28% |
|--------|-----|-------|-------|-------|

[0070] 2.2皂苷提取物检测结果(质量评估)统计表

| | | | | | |
|--------|-----------------------------|--|--------------|------------|------------|
| | 批号及检测项目 | 标准 | 20180502-1 | 20180606-1 | 20180703-1 |
| | 出粉率 | —— | 4.50% | 4.82% | 4.28% |
| | 水分 | ≤5.0% (药典标准) | 2.41% | 3.76% | 4.70% |
| | 总皂苷含量 | ≥50% (项目目标) | 76.5% | 63.07% | 63.73% |
| | 人 参 皂 苷 Rd+Rg1+Re 总 量 | 15%~25% (药典标准) | 20.72%20.27% | 19.18% | 19.81% |
| | 特征图谱 | 计算特征峰 3~6 的相对保留时间, 其相对保留时间应在规定值的±5%之内。 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |
| [0071] | 性状 | 本品为浅黄色至黄色的粉末; 微臭, 味苦; 具吸湿性。 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |
| | 鉴别 | (1) 加水溶解, 用力振摇, 产生持久性泡沫。 (2) 供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置, 显相同颜色的荧光斑点。 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |
| | 粒度 | 120 目 (≥95%) (药典标准) | 95.8% | 96.7% | 95.4% |
| | 总灰分 | ≤6.0% (药典标准) | 0.17% | 0.59% | 0.46% |
| | 炽灼残渣 | ≤6.0% (药典标准) | 0.27% | 1.10% | 0.82% |
| | 结果 | —— | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |

[0072] 3批红参须根人参皂苷Rd+Rg1+Re含量测定HPLC图及薄层鉴别

| | | | | | | | | |
|--------|-----------|---------|---------|---------|---------|----------|--------|----|
| | 特征图谱 | 范围 | 范围 | 范围 | 范围 | 范围 | —— | —— |
| | 红参须根总苷提取物 | 79.800% | 86.450% | 88.350% | 90.250% | 95.000% | —— | —— |
| | | 88.200% | 95.550% | 97.650% | 99.750% | 105.000% | —— | —— |
| [0073] | 提取物批号 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S | 结果 |
| | 20180502 | 84.839% | 90.847% | 93.013% | 94.197% | 99.889% | 60.241 | 合格 |
| | 20180606 | 83.511% | 89.648% | 91.951% | 92.717% | 98.776% | 61.525 | 合格 |
| | 20180703 | 84.565% | 90.733% | 92.945% | 93.892% | 99.848% | 60.351 | 合格 |

[0074] 特征图谱峰测定数据表由提取物检测结果(质量评估)统计表可知,红参须根采用加水(7倍,6倍)提取工艺,同时树脂上样后,再用水(80℃)洗脱至无色,从流出液糖度达到10%后开始收集60%乙醇洗脱液,3批提取物出粉率在4.28%~4.82%之间,总皂苷含量在63.07%~76.5%之间,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量在19.18%~20.72%之间,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均达到标准要求。

[0075] 2.3皂苷提取过程转移率统计表(以Re计)

| | | | | |
|--------|----|------------|------------|------------|
| [0076] | 批号 | 20180502-1 | 20180606-1 | 20180703-1 |
|--------|----|------------|------------|------------|

| 工序 | | | 转移率 |
|----------|--------|--------|--------|
| 一煎液 | 56.47% | 62.17% | 41.96% |
| 二煎液 | 26.23% | 28.59% | 40.70% |
| 提取液 | 82.70% | 90.76% | 82.66% |
| 60%乙醇洗脱液 | 76.68% | 88.0% | 64.21% |
| 洗脱液终点 | —— | —— | —— |
| 提取物转移率 | 70.53% | 67.26% | 61.26% |

[0077] 红参须根采用加水(7倍,6倍)提取工艺,提取转移率在82.66%~90.76%之间,60%乙醇洗脱液转移率在64.21%~88.0%之间,提取物转移率在61.26%~67.26%之间,洗脱终点没有检测出人参皂苷Rd、Rg1、Re,可以完全洗脱。

[0078] 2.4皂苷批小试复核试验实验小结

[0079] 分析:红参须根采用加水(7倍,6倍)提取工艺,同时树脂上样后,再用水(80℃)洗脱至无色,从流出液糖度达到10%以上开始收集60%乙醇洗脱液,3批提取物出粉率在4.28%~4.82%之间,总皂苷含量在63.07%~76.5%之间,均>50%,人参皂苷Rd+Rg1+Re总量19.18%~20.72%,在15%~25%之间,总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量均达到标准要求。

[0080] 结果:红参须根采用加水(7倍,6倍)提取工艺,3批提取物出粉率在4.28%~4.82%之间,提取物总皂苷含量、人参皂苷Rd+Rg1+Re总量、水分、性状、鉴别、粒度、特征图谱、总灰分、炽灼残渣,均达到了质量标准要求(参照中国药典一部2015版人参总皂苷检测)。

[0081] 3.2多糖过程数据统计表

| | | | | | |
|--------|----|-----------|------------|------------|------------|
| [0082] | 工序 | 提取物批号 | 20180502-1 | 20180606-1 | 20180703-1 |
| | 投料 | 药材名称 | 红参须根 | | |
| | | 药材批号 | 20180101 | | |
| | | 药材重量 g | 600 | 600 | 600 |
| | 提取 | 一煎加水量 ml | 4200 | 4200 | 4200 |
| | | 一煎提取时间 h | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| | | 一煎药液体积 ml | 2500 | 2270 | 2520 |
| | | 二煎加水量 ml | 3600 | 3600 | 3600 |
| | | 二煎提取时间 h | 1.5 | 1.5 | 1.5 |
| | | 二煎药液体积 ml | 3360 | 3350 | 3400 |
| | 过滤 | 过滤目数 | 600 目 | 600 目 | 600 目 |
| | | 过滤液体积 ml | 5750 | 5600 | 5920 |
| | 上样 | 上样流速 | 2~3BV/h | 2~3BV/h | 2~3BV/h |
| | | 收集上样流出液 | 5620 | 5550 | 5850 |

| | | | | |
|--------|-------|---------|-------|--------|
| [0083] | | 体积 ml | | |
| | 浓缩、干燥 | 浓缩液重量 g | 263.2 | 310.0 |
| | | 浓缩液糖度 | 75% | 79% |
| | | 干燥最高温度℃ | ≤65 | ≤65 |
| | | 干粉重量 g | 194.4 | 244.6 |
| | | 出粉率 | 32.4% | 40.77% |
| | | | | 37.28% |

[0084] 3.3多糖提取物检测结果(质量评估)统计表

| | | | | | |
|--------|---------|------------------------|------------|------------|------------|
| [0085] | 批号及检测项目 | 标准 | 20180502-1 | 20180606-1 | 20180703-1 |
| | 出粉率 | —— | 32.4% | 40.77% | 37.28% |
| | 水分 | ≤10% (暂定) | 6.0% | 9.40% | 8.37% |
| | 总多糖含量 | ≥10% (暂定) | 13.83% | 19.39% | 21.07% |
| | 性状 | 本品为黄色至棕黄色粉末; 具吸湿性。 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |
| | 粒度 | 能通过 100 目筛的粉末不少于 95% 。 | 96.3% | 95.8% | 97.1% |
| | 结果 | —— | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |

[0086] 3.4多糖3批小试试验实验小结

[0087] 结果:红参须根加水(7倍,6倍)提取工艺,3批提取物出粉率在32.4%~40.77%之间,总多糖含量在13.83%~21.07%之间,同时性状、粒度、水分均符合要求,3批小试实验结果符合标准要求。

[0088] 实施例2

[0089] 取红参须根加水(8倍,5倍)煎煮2次,第一1h,第二次1h,煎液滤过,合并滤液,通过D101大孔树脂柱(树脂重量:药材重量比约为0.5:1,收集上样流出液,浓缩,干燥,即得人参多糖含量为20.53%;再用水80℃洗脱至无色,再用60%乙醇洗脱,从流出液糖度达到10%,开始收集60%乙醇洗脱液,滤液浓缩至相对密度为1.06-1.08(80℃)的清膏,干燥,粉碎,即得人参总皂苷含量为66.55%。

[0090] 上述人参皂苷的含量测定按照中国药典测定

[0091] 人参多糖的含量测定方法按照《中华人民共和国出入境检验检疫行业标注SN/T4260-2015,出口植物源食品中粗多糖的测定,苯酚-硫酸法》。