

## 中药浸出因素考察及效果评价<sup>△</sup>

中药制剂研究室(成都 610041)  
华西医科大学药学院  
药物分析教研室

侯世祥\* 何琴\*\* 周晓棠\*\*\* 廖工铁  
李章万 曾经泽

**摘要** 以四逆汤中单味药材及其配伍浸出物为样本,用总浸出物和主要成分含量为指标,综合评价了影响中药浸出效果的因素及单味药材浸出规律,提示在进行中药制剂浸出工艺合理性研究时,宜有针对性的进行实验并选择适宜的评价指标,方能获得较佳浸出效果。

**关键词** 中药 浸出效果 评价指标

在中药传统制剂改革中,为既保持传统制剂原有疗效,又能满足现代制剂“三小、三效、五方便”要求,能否从中药材中将体现中医功能主治的综合有效部位浸出便成为剂改是否成功的关键环节。在中药浸出效果的研究中,由于中药材成分复杂,多数药材体现其中医功能主治的活性成分的种类、数量、强度尚不清楚或不完全清楚,定量测定则更困难,因此,影响中药浸出因素的考察及其浸出效果评价指标的建立与合理应用便成为中药制剂研究的焦点和难点。本文以四逆汤及其单味药材配伍浸出为样本,用多指标评价单味药材配伍的浸出规律及影响浸出因素。

### 1 实验材料

1.1 药材:附子(制):本品为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品,四川江油产;甘草(蜜炙),为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,新疆产,依法蜜炙<sup>[1]</sup>;干姜,为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎,四川产;以上药材均购自成都市中药材公司,并经生药鉴定。

1.2 试药:对照品新乌头碱(mesaconitine)、甘草酸(glycyrrhizin)(中国药品生物制品检定所),十二烷基硫酸钠(SDS,进口分装,含

量 99.0%),甲醇、乙腈等试药均为分析纯,超纯水(HPLC 用,西南物理研究所水站)。

1.3 仪器:1712 型电子天平(1/10 万),高效液相色谱仪(岛津 LC-6A 型,Beckman LC-114 型),CQZ50 型超声波清洗器等。

### 2 方法与结果

2.1 浸出效果评价指标及其测定方法:用四逆汤及其单味药材为样本,以可溶性浸出物收率和主要有效成分为指标,并建立其测定方法。

2.1.1 可溶性浸出物收率及其测定方法:参照药典浸出物收率测定方法<sup>[1]</sup>,取相当 1~2g 浸出物的浸液测定,按下式计算浸出物收率:  $R(\%) = X \cdot V_t \cdot / V \cdot W \times 100\%$ ,其中 X 为浸出物重量(g), $V_t$  为浸出物总体积(ml),V 为浸出物测定取液体积(ml),W 为药材总投料量(g)

2.1.2 甘草酸含量及其测定方法:甘草酸为甘草中主要有效成分,作为浸出效果评价指标的测定方法,要求灵敏、简便、准确,故选用离子抑制反相高效液相色谱法<sup>[2]</sup>测定甘草及其配伍浸出液中甘草酸的含量。

色谱条件:色谱柱,Shimpack ODS 柱(150×6mm)及前柱(自填 YWG C<sub>18</sub>, 30×4.6mm);流动相,甲醇-水-36%醋酸(69:26

\* Address: Hou Shixiang, School of Pharmacy, West China University of Medical Science, Chengdu

<sup>△</sup> 本项研究为国家自然科学基金资助项目(编号 39170885)

\*\* 93 届毕业研究生 \*\*\* 93 年毕业本科生

: 5), pH3.54; 检测波长 254nm, 流速 0.7ml/min, 灵敏度 0.02AUFS。在此色谱条件下, 甘草及其配伍浸出液中甘草酸峰和其他组分的色谱峰可完全分离, 表明四逆汤中其他两味药材的存在不影响甘草酸的测定。

标准曲线测定: 配制甘草酸对照品水溶液, 浓度为 0.040mg/ml, 依次梯度进样测定, 回归方程为:  $A = -135.4 + 31335.0CW$ ,  $r = 0.9985$ , 线性范围 0.06~0.40 $\mu$ g, 标准曲线基本通过原点, 进样控制在 0.03 $\mu$ g 时, 一点法测得相对误差为 1.5%, 可忽略不计, 故用一点法计算含量。

样品测定方法: 取待测浸出液离心 10min, 1500r/min, 准确取上清液用相应的浸出溶剂适当稀释后进样, 用外标一点法计算浸出样品中以甘草药材计的甘草酸百分含量。

2.1.3 新乌头碱含量及其测定方法: 研究表明, 在中毒剂量以下, 附子中 3 种双酯型生物碱既是毒性成分, 也是有效成分<sup>[3,4]</sup>, 且 3 种生物碱含量以新乌头碱为最高<sup>[5]</sup>, 故本研究选用新乌头碱含量为指标, 参照已有的高效液相色谱法<sup>[6]</sup>, 经流动相调整, 用以测定附片及其配伍浸出液中新乌头碱含量。

色谱条件: 色谱柱, Ultrasphere ODS 柱 (250 $\times$ 4.6mm, 5 $\mu$ ); 流动相, 甲醇-水-乙腈 (66:34:2), 含 4mmol/L SDS 及 0.02mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH4.5 $\pm$ 0.2; 检测波长 235nm, 灵敏度 0.02AUFS, 流速 1.0ml/min, 室温。在此色谱条件下, 附片及其配伍浸出液中的新乌头碱峰和其他组分的色谱峰可以基本分离, 达到了定量分离测定的目的。

标准曲线测定: 配制新乌头碱对照品二氯甲烷溶液, 浓度为 0.250mg/ml, 梯度取样, 挥干溶剂, 流动相溶解, 进样 20 $\mu$ l 测定, 回归方程为:  $A = -34410.8 + 1006905.9W$ ,  $r = 0.9978$ , 标准曲线不通过原点, 故用随行标准曲线法测定样品含量, 线性范围为 0.125~6.000 $\mu$ g。

样品测定方法: 精密取附片及其配伍样

品液适量, 氨水调 pH 为 10~11, 氯仿萃取 4 次, 挥去氯仿, 流动相溶解, 进样 20 $\mu$ g, 用外标随行标准曲线法计算样品中以附片药材计的新乌头碱的百分含量。

2.2 四逆汤中单味药材配伍浸出的效果: 四逆汤由附片、干姜、甘草按 3:2:3 比例组成, 以此比例配合, 用上述指标评价甘草、附片配伍前后浸出效果。取实验药材适量浸泡 1h, 热回流浸提 2 次, 第 1 次 8 倍水, 2h, 第 2 次 5 倍水, 1.5h, 浸液合并滤过, 量总体积, 分别用上述指标与方法测定。甘草配伍前后指标变化见表 1, 附片配伍前后指标变化见表 2。

表 1 甘草配伍浸出效果

样品	药材量 (g)	甘草酸含量 (%)	变化率 (%)	浸出物收率 (%)	变化率 (%)
炙甘草	30	1.539	0.00	22.63	0.00
甘草与附片	30:30	0.396	-74.27	29.93	32.26
甘草与干姜	30:20	1.400	-9.03	29.16	28.86
四逆汤	30:30:20	0.215	-86.03	21.90	-3.23

(甘:附:姜)

表 2 附片配伍浸出效果

样品	药材量	新乌头碱含量 (%)	变化率 (%)	浸出物收率 (%)	变化率 (%)
附片	30g	4.298	0.00	22.54	0.00
附片与甘草	30:30	1.065	-75.22	29.93	32.79
附片与干姜	30:20	2.216	-48.44	18.59	-17.52

由表 1、2 可见, 甘草按四逆汤组方比例两两或三者混合浸出时, 甘草酸含量均下降, 其中甘草与附片和三者混合最为显著, 分别下降 74.27% 和 86.03%, 而相应的浸出物收率两两混合时均明显升高, 三者混合时稍有降低, 与主成分含量的变化无明显相关性。以新乌头碱为评价指标, 得到相似结果。

2.3 溶剂对浸出效果的影响: 为比较单味与复方浸出规律的异同, 先以单味甘草为样本进行研究。据报道, 甘草可用水、稀碱溶液、乙醇浸提<sup>[1,7,8]</sup>。称取甘草适量共 4 份, 分别用表 3 所述溶剂 8 倍量浸泡 1h 后, 热回流浸提 2h, 分离浸液。药渣再加 5 倍量浸提 1.5h, 合并浸提液并滤过, 量总体积, 用上述指标与测

定方法测定,结果见表 3。

表 3 溶剂对甘草浸出效果的影响

溶剂种类	浸出物收率 (%)	变化率 (%)	甘草酸含量 (%)	变化率 (%)
水	22.62	0.00	1.539	0.00
0.5%氨水	31.44	38.99	2.583	67.84
50%乙醇	33.87	49.73	1.764	14.62
75%乙醇	32.33	42.93	1.693	10.01

可见以甘草酸含量为指标,0.5%氨水为溶剂可提高浸出率 67.84%,以浸出物收率为指标,50%乙醇为溶剂可提高近 50%的浸出率,表明在相同浸出条件下,两个评价指标均显示非水溶剂和浸出辅助剂的加入能提高甘草浸出效果,但两个指标无正相关性。

2.4 溶剂用量与浸出次数对浸出效果的影响:理论计算,溶剂用量与浸出次数是影响浸出效果两个紧密相关的重要因素,有人曾用数学推导证明了多次浸出比一次浸出能提高浸出效果,并提出了浸出  $n$  次时,所需最少浸出溶剂量 ( $V$ ) 的计算式<sup>[9]</sup>:  $V > n \cdot \left[ \left( \frac{n}{f} \right)^{\frac{1}{n-1}} - 1 \right] \cdot a$ , 式中  $n$  为浸出次数,  $a$  为药渣吸液

量,  $f$  为分次浸出有效成分损失量与一次浸出损失量的比值。  $f$  可作为衡量是否浸出完全的依据,通常  $f=1/20$ ,即损失率  $\leq 5\%$  时,认为有效部位已充分浸出,用该公式可理论上估计不同浸出次数所需浸出溶剂的最少用量。经测定甘草的吸水量为  $1:1(g:ml)$ ,欲使浸出 95% 以上有效部位,浸出次数与溶剂用量的关系见表 4。可见,在  $n \leq 4$  之内,浸出次数增加能显著减少溶剂用量,且获相同浸出效果。

表 4 浸出次数与溶剂用量关系 ( $f=1/20$ )

浸出次数 $n$ (次)	2	3	4	5	6
溶剂最少用量 $V$ (倍)	78	20.2	13.2	10.8	9.5

以甘草为样本,总水量 20 倍,浸出 6 次,每次煎煮时间为 1.5h,用前述评价指标和方法测定,结果见表 5。实验表明,以高出浸出 6 次的最少用量的两倍浸出溶剂浸出,仅需 5 次两个指标均可达预期效果,且两指标每次浸出百分率 ( $X_n/\Sigma x\%$ ) 与积累浸出百分率 ( $\Sigma_{i=1}^n X_n/\Sigma_{i=1}^n X_i\%$ ) 的变化趋势具相关性。

表 5 浸出次数对甘草浸出效果的影响

浸出次数	甘草酸含量 (%) $X_n$	$X_n/\Sigma x\%$	$\Sigma_{i=1}^n X_n/\Sigma_{i=1}^n X_i\%$	可溶性浸出物收率 (%)	$Y_n/\Sigma Y\%$	$\Sigma_{i=1}^n Y_n/\Sigma_{i=1}^n Y_i\%$
1	0.759	33.09	33.09	12.973	45.44	45.44
2	0.705	30.73	63.82	7.655	26.81	72.25
3	0.352	15.34	79.16	3.442	12.06	84.31
4	0.226	9.85	89.01	2.140	7.50	91.81
5	0.152	6.63	95.64	1.336	4.68	96.49
6	0.100	4.36	100.00	1.004	3.51	100.00
$\Sigma_{i=1}^6 X_i$	2.294			28.550		

2.5 浸出时间对浸出效果的影响:以甘草为样本测其浸出速率可用以评价浸出时间对浸出效果的影响。取甘草适量加 30 倍水,回流提取,定时取样 1/10 总浸液用前述评价指标与方法测定,并随即加等量溶剂,测定结果见表 6。以累积甘草酸含量和累积可溶性浸出物收率作图,其浸出速率曲线见图,分别对两条曲线进行拟合,得到甘草酸含量 ( $C$ ) 为指标和可溶性浸出物收率  $Q$  为指标的拟合曲线方程如下:

表 6 浸出时间对甘草浸出效果的影响

回流时间 (h)	测得甘草酸含量 (%)	累积甘草酸含量 (%)	测得浸出物收率 (%)	累积浸出物收率 (%)
0.5	0.927	0.927	20.37	20.37
1.0	1.209	1.301	21.47	23.51
1.5	1.470	1.684	22.21	26.39
2.0	1.538	1.899	21.98	28.39
3.0	1.558	2.073	21.23	29.83
4.0	1.566	2.236	20.03	30.76
5.5	1.503	2.330	19.28	32.01
7.5	1.329	2.306	17.88	32.54

$$C=0.0152+3.187 \times 10^{-3}t-0.0168e^{-1.296t}$$

$$1-Q=0.71786e^{-8.7663 \times 0.001t}+0.182e^{-1.3496t}$$

令 C 和 Q 为浸出总量的 50% 和 95% 时, 所需浸出时间为  $t_{0.5}$  与  $t_{0.95}$ , 由两方程计算, 见表 7。由表 6、7 和图可见, 在本实验条件下, 甘草浸出 5.5h 基本稳定, 延长时间可能导致甘草酸含量下降。两个评价指标均显示, 甘草

浸出 95% 所需时间比浸出 50% 所需时间长许多倍。

表 7 甘草浸出速率比较

指标	$t_{0.5}$ (min)	$t_{0.95}$ (min)	$t_{0.95}-t_{0.5}/t_{0.5}$
C	45	285	5.3
Q	18	267	13.8

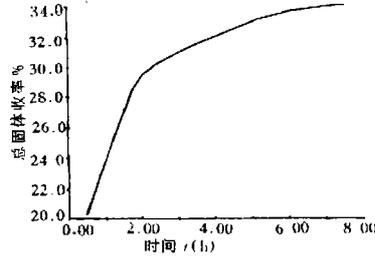
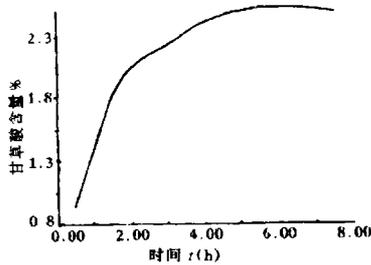


图 甘草浸出速率曲线图

### 3 小结与讨论

3.1 关于浸出的影响因素和工艺条件: 由于中药材有效成分理化性质各异, 所处部位、质地、结构不同, 诸多因素影响的程度则难以一律, 因此欲达合理的浸出效果, 获得较佳的工艺条件, 似应通过有针对性的实验研究方能实现。对四逆汤中单味药配伍浸出效果研究显示, 附片与甘草、干姜配伍, 其有效成分分别下降 74.3% 和 48.4%, 从四逆汤组方原理看, 也许这就是甘草、干姜配有毒的附子仍能安全用药的原因所在, 但这是以损失既有效又有毒的双酯型生物碱含量为代价, 能否改变浸出方式, 将附片单独浸出, 以避免成分损失, 而用减少处方药量来防止中毒, 这有利于药材的充分利用, 是值得考虑的问题。

溶剂种类、用量、浸出的次数和时间是影响中药材浸出效果的主要因素, 对甘草的研究表明, 在同样浸出条件下, 使用辅助浸出剂 (0.5% 氨水) 可明显提高浸出效果, 用总量 20 倍溶剂分 6 次浸出, 需要 5 次才能使浸出率达到 95% 以上, 与表 4 浸出 6 次, 用 9.5 倍即可的结果有较大差异, 这与浸出过程是

否满足该理论公式的前提条件不无关系, 再次表明, 必须通过具体对象的实验研究, 才能制定出切实可行的浸出工艺条件。

3.2 关于浸出效果评价指标: 总浸出物收率与主要有效成分含量是评价浸出效果常用的二个指标, 以甘草为例的研究结果表明, 相同条件下, 考察浸出的次数与速率时, 总浸出物收率与有效成分含量二个评价指标显示出正相关性, 随次数增多, 时间延长, 二个指标均为上升趋势。但在浸出速率上, 浸出 50% 固体物比浸出甘草酸的速率快 2.5 倍, 而浸出余下的部分二者速率相近。在考察溶剂种类、分浸或合浸方式时, 二个指标的变化无相关性, 一般不宜以固体物收率高低来评价配伍的影响或溶剂种类的选择, 而以主要有效成分作为指标为好。

### 参考文献

- 1 中华人民共和国药典. 附录, 1990. 7. 414
- 2 李章万, 等. 华西药理学杂志, 1990, 5(1): 19
- 3 李德兴, 等. 药学报, 1966, 13(2): 1001
- 4 施玉梁, 等. 生理学报, 1981, 32(2): 135
- 5 邓建平, 等. 华西药理学杂志, 1992, 7(4): 234
- 6 童玉懿. 中国中药杂志, 1990, 15(2): 106

## Studies on the Influential Factors Affecting the Efficiency of Chinese Materia Medica Extraction

Hou Shixiang, Li Zhangwan, et al

Factors which influence the extraction of Chinese materia Medica were comprehensively studied, by extracting each single herb component in the compounded preparation Sinitang as the sample, and determining the extraction rate as well as the content of main active principle in each extract as the evaluation criteria. The general rule for the extraction of single herb material was then investigated. The results indicated that it is better to design the experiment in accordance with its characteristic object with selection of proper evaluation criteria to obtain an optimum process for the extraction of Chinese traditional drugs.

## 松果有效成分的研究

### V. TLC-UV 法测定红松果多糖中木脂素含量

沈阳药科大学(110015) 李好枝\* 袁晓斌\*\*  
深圳新加坡凯程集团 吕永俊

**摘 要** 红松果多糖经酸水解得到活性成分木脂素,用GF<sub>254</sub>薄层板,经二氯甲烷-乙醚混合溶媒展开,斑点洗脱后于230nm波长测定吸收值的TLC-UV法,木脂素在2~70μg/ml浓度范围内与吸收值呈线性。回收率在100.2%~101.4%,RSD为6.5%。

**关键词** 红松果多糖 木脂素 TLC-UV法

红松果多糖中含有一定量的木脂素。木脂素类物质具有抗癌、抗病毒和抑制细胞中期有丝分裂等活性。游离木脂素亲脂性,与糖结合亲水性增大,并易被酶或酸水解。裸子植物中木脂素主要由松柏醇组成<sup>(1)</sup>。红松塔多糖中含有至少两种lignin物质(松柏醇和对-羟基桂皮醇,另报),其含量测定未见报道。有文献<sup>(2)</sup>采用薄层扫描法测定植物叶中的木脂素。本文设计用TLC-UV法测定红松塔多糖中木脂素含量获满意结果。

#### 1 实验部分

1.1 仪器与试剂:WFZ-800D<sub>2</sub>型紫外分光

光度计,微量注射器,LD4-2型离心机,超声波清洗器CX-250型。

红松果多糖(自制),木脂素对照品(日本名古屋市立大学药学部提供)。

5%CMC-Na水溶液、乙醚、二氯甲烷、甲醇、乙酸乙酯、氯仿、无水乙醇均为分析纯。硅胶GF<sub>254</sub>(化学纯)。

1.2 预试验及最大吸收波长的选择:称取木脂素对照品1.5mg,溶于10ml无水乙醇中,超声振荡30min,滤过,滤液用WFZ-800D<sub>2</sub>型紫外分光光度计在200~400nm波长范围内,每间隔5nm测定吸收值A,绘制A-λ光

\* Address: Li Haozhi, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang

\*\* 本校57期药分专业毕业生