

5 $\mu$  L,分别点在同一块薄层板上,展开,取出,晾干,显色后依法操作,薄层扫描测定吸光度峰面积积分值,RSD为 2.26%。

3.6 稳定性试验:取供试品溶液,点样,依法操作,对同一斑点每隔 30 min扫描 1次,记录峰面积积分值,结果表明在 2 h内基本稳定,RSD为 1.03%。

3.7 重现性试验:取同一批号的样品 6份,按上述测定条件重复测定 6次,RSD为 2.26%。

3.8 回收率试验:采用加样回收法,精密称取已知含量的育英颗粒样品 6份,分别精密添加一定量的黄芪甲苷对照品,按 3.1项制备样品溶液,吸取 5 $\mu$  L点样,按上述色谱条件测定黄芪甲苷含量,结果表明,回收率为 98.32%,RSD= 1.37%。

3.9 样品测定:精密吸取供试品溶液 5 $\mu$  L,对照品溶液 2 $\mu$  L与 4 $\mu$  L分别交叉点于同一硅胶 G薄层板上,依法展开和测定,薄层色谱图见图 1-6 共测定样品 5批,结果见表 1

#### 4 讨论

测定制剂中黄芪甲苷含量的薄层扫描法有报道<sup>[2-5]</sup>,本文对古典方“玉露饮”的改进方中主药黄芪所含黄芪甲苷建立薄层扫描定量方法,该方法简

便、准确、重现性好、稳定性强。

表 1 样品测定结果

批号	含量(%) (n= 3)	RSD%
970801	0.026	1.7
970802	0.027	2.1
980101	0.029	2.3
980102	0.031	2.5
980103	0.031	2.1

本实验在育英颗粒样品溶液的制备中,采用了中性氧化铝处理,消除了其它杂质的干扰。在展开剂的选择中,试用 1995年版中国药典第一部黄芪药材项下黄芪甲苷含量测定的展开剂<sup>[6]</sup>,在此基础上选用氯仿-甲醇-水(65: 32: 10, 10 $^{\circ}$ C以下放置过夜)的下层溶液,经过 TLC比较,后者比前者好。

参考文献:

- [1] 李卫民,陈玉祥. 补血生乳颗粒剂治疗缺血病临床疗效观察[J]. 中国现代医学杂志, 1998, 8(4): 73-74.
- [2] 王兰霞,张伯崇,高建帮,等. 贞芪扶正冲剂中黄芪甲苷的薄层扫描测定[J]. 中成药, 1992, 14(11): 16-17.
- [3] 李玲,苏健,王宝琴. 黄芪及其复方制剂中黄芪甲苷的薄层扫描法测定[J]. 中成药, 1993, 15(6): 10-11.
- [4] 崔东滨,徐雅娟,黄恩喜,等. 尊麻安冲剂中黄芪甲苷的薄层扫描测定[J]. 中成药, 1994, 16(8): 41-42.
- [5] 常增荣,张小茜,周富荣,等. 薄层扫描法测定黄芪及制剂中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(8): 482-483.
- [6] 中国药典 1995年版[S]. 一部.

## 甘草提取工艺的初步研究

吴伟康,奉建芳,黄小蕊\*,吴子杰\*

(中山医科大学 中西医结合研究所,广东 广州,510089)

**摘要:**目的 研究甘草酸粗品的提取工艺。方法 采用正交试验法,以甘草酸粗品收率及 251 nm 处紫外吸光度值为指标,考察加水量(A)、煎煮时间(B)和酸沉 pH值(C) 3个因素,并采用单因素试验考察加水量及药材粉碎度对甘草酸粗品收率的影响。结果 优化的甘草提取工艺条件为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>,加水量 $\geq$  24倍甘草能得到较完全提取。不同粉碎度提取所得的甘草酸粗品收率依次为:最粗粉 $\approx$ 粗粉 $>$ 细粉 $>$ 饮片。结论 加水回流 2次(15倍,1.25 h,12倍,1 h),酸沉为 pH 1 加水量 $\geq$  24倍基本能提取完全。提取时以最粗粉或粗粉作为原料,较饮片及细粉好。

**关键词:**甘草;提取工艺;正交试验;单因素试验

中图分类号: TQ461 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)03-0210-03

### Preliminary study on extraction process of *Glycyrrhiza uralensis*

WU Wei-kang, FENG Jian-fang, HUANG Xiao-rui, WU Zi-jie

(Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou Guangdong 510089, China)

\* 收稿日期: 2000-07-18

基金项目: “211工程”重点建设项目课题,项目号: 98176,广东省高教厅资助

作者简介: 吴伟康(1947-),男,浙江省宁波市人,教授,医学硕士。1983-1985年中山医科大学病理生理学教研室助教,1985-1991年任讲师,1991年 9月晋升为副教授,1994年 12月破格晋升教授。1992年开始担任硕士研究生导师,1996年 2月起担任博士研究生导师。1997年 7月~1999年 2月赴美国 UCLA University of Michigan进修,现任中山医科大学中西医结合研究所所长、病理生理学教研室主任。主要从事心血管病中西医结合防治研究,与指导的学生(博士后、博士生、硕士生)多角度、多层次地对中医经典古方四逆汤进行了深入、系统的研究。电话: (020) 8733-1624 传真: (020) 8733-1779 E-mail: pwlate@gzsums.edu.cn

\* 广东药学院 2000届毕业生

**Abstract Object** To optimize the extraction process of the root of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. in order to improve the yield of crude glycyrrhizic acid for the preparation of new drug dosage forms of the well known TCM recipe SINITANG DECOCTION. **Methods** The study was carried out through orthogonal experimental design, using UV absorbance of glycyrrhizic acid at 251 nm as the guide. 3 influential factors, amount of water used for the extraction (A), time for extraction (B) and pH value for the precipitation of the acid (C) were studied. In addition, a single factor test between the amount of water used and the fineness of the herbal material was also studied. **Results** The optimal conditions for the extraction were A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>1</sub>. Decoction with 24 or more times of water can achieve complete extraction. The fineness of the herbal material that effects the yield were in the increasing order of most coarse  $\approx$  coarse > fine powder > sliced herb. **Conclusion** Extract twice, first with 15 times of water for 1.25 h and then with 12 times of water for 1 h, and precipitate the acid at pH 1 will give the best yield. The most suitable fineness of the raw herbal material were most coarse to coarse. They give better yield than fine powder or sliced herb.

**Key words** *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; extraction process; orthogonal experimental design; single factor test

四逆汤由甘草、附子、干姜 3 味药物组成,具有温中祛寒、回阳救逆的功效,对心肌缺血引起的冠心病、心绞痛有缓解作用<sup>[1]</sup>。其中甘草的主要有效成分为甘草酸。在四逆汤制剂制备工艺中甘草需提取制备成甘草酸粗品以供制剂制备用。本文以甘草酸粗品收率及 251 nm 处紫外吸光度值(甘草酸于 251 nm 处有最大吸收)<sup>[2]</sup>为考察指标,对从甘草中提取甘草酸粗品的提取工艺进行了初步的研究。

1 仪器与试剂

仪器: LD-2A 离心沉淀机, UV-2102PC 型紫外可见分光光度计, 9FZ15 型粉碎机。

试剂: 甘草(购自广州市药材公司), 乙醇、聚酰胺(14~30 目)、氨水、浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 为 AR 级。

2 实验方法及结果

2.1 提取方案的筛选

2.1.1 水提酸沉法: 称取甘草饮片 40 g, 加水加热回流两次(15 倍、1.5 h, 10 倍、1 h)。合并两次的水提液, 过滤, 浓缩至 200 mL, 待冷却后, 边搅拌边滴加浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 至不再析出沉淀为止, 离心(4000 r/min, 15 min), 取沉淀物, 水洗后 60℃ 以下干燥, 粉碎, 得甘草酸粗品, 称重。

2.1.2 醇提酸沉法: 取甘草药材, 加乙醇回流两次(95% 乙醇 15 倍、1.5 h, 10% 乙醇 10 倍、1 h), 过滤, 回收乙醇并浓缩至 200 mL, 余按“水提酸沉淀法”操作。结果见表 1

表 1 两种提取方案的实验结果 (n=3)

	水提酸沉法	醇提酸沉法
药材量 (g)	40	40
甘草酸粗品量 (g)	2.46±0.119	1.92±0.06
收率 (%)	6.16±0.30	4.79±0.15

结果表明, 水提酸沉淀法提取甘草酸粗品的得率要高于醇提酸沉法 (P < 0.05) 因此, 选取水提酸沉法作为甘草的提取方法。

2.2 水提酸沉淀法提取工艺条件的优化

2.2.1 正交实验: 为优化水提酸沉淀法提取甘草酸粗品工艺的条件, 选用正交实验法, 考察加水量、煎煮时间、酸沉 pH 值 3 个因素, 以甘草酸粗品收率及 251 nm 处紫外吸光度值作为参考指标, 选用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 表安排实验。因素水平见表 2

表 2 因素水平

水平	因素		
	总加水量 (倍) (A)	煎煮次数与时间 (h) (B)	酸沉 pH 值 (C)
1	17	1(3)	1
2	20	2(1.5, 1.5)	2
3	23	3(1.25, 1, 0.75)	3

实验方法: 取甘草 30 g, 加入一定量水煎煮 2 次, 合并煎煮液, 浓缩, 浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调节一定的 pH 值得以沉淀, 干燥, 得甘草酸粗品。

紫外分光光度法测定甘草酸的紫外吸光度值。样品的制备: 取各次实验所得的甘草酸粗品 0.50 g 溶解, 定容至 25 mL, 静置。取各上清液 0.2 mL 过聚酰胺层析柱, 先用乙醇洗至无色, 再用 80% 的乙醇 (5~6 mL) 洗脱, 定容 10 mL, 得待测样品溶液。

测定: 取各待测样品溶液, 用 UV-2102PC 型紫外可见分光光度计于 251 nm (甘草酸于 251 nm 处有最大吸收) 处测定吸光度值。结果见表 3

结果表明, 以收率为考察指标时, 各因素对甘草提取工艺影响的大小为 C > B > A, 其中 C 因素各水平间具有显著性差异。而以吸光度值为考察指标时,

三因素各水平间均无显著性差异。因此,以收率为考察指标来优选甘草酸粗品的提取工艺条件,最优组

表 3 甘草提取工艺正交试验结果

试号	列号				收率 (%)	吸光度
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	10.12	1.257
2	1	2	2	2	10.81	0.500
3	1	3	3	3	1.49	0.596
4	2	1	2	3	7.90	0.934
5	2	2	3	1	3.76	0.773
6	2	3	1	2	10.05	0.826
7	3	1	3	2	1.48	0.822
8	3	2	1	3	9.60	0.619
9	3	3	2	1	7.59	0.722
K <sub>1</sub>	6.723 8	5.848 3	8.932 7	6.442 8		
K <sub>2</sub>	6.514 8	7.252 5	7.890 4	6.701 9		
K <sub>3</sub>	5.602	5.740 6	2.018 3	5.696 7		
R	1.121	1.511 9	6.914 4	0.746 1		
吸光度 K <sub>1</sub>	2.353	3.013	2.702	2.802		
K <sub>2</sub>	2.533	1.892	2.206	2.418		
K <sub>3</sub>	2.213	2.194	2.191	2.149		
R	0.230	1.121	0.511	0.384		

表 4 收率方差分析表

变异来源	SS	ν	MS	F	P
A	0.238	2	0.119 0	1.315	> 0.05
B	0.475	2	0.237 5	2.619	> 0.05
C	9.265	2	4.632 5	51.188	< 0.05
D(误差)	0.181	2	0.090 5		
总	10.195	8			

$F_{0.05}(2, 2) = 19.0$   $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$

表 5 吸光度值的方差分析

变异来源	SS	ν	MS	F	P
A	0.017 2	2	0.008 6	0.361 3	> 0.05
B	0.224 3	2	0.112 1	4.710 1	> 0.05
C	0.056 4	2	0.028 2	1.184 9	> 0.05
D(误差)	0.047 5	2	0.023 8		
总	0.392 7	8			

$F_{0.05}(2, 2) = 19.0$   $F_{0.01}(2, 2) = 99.0$

合为 C<sub>1</sub>B<sub>2</sub>A<sub>1</sub>,即取甘草药材,总加水 17 倍量,煎煮 2 次(10 倍、1.5 h,7 倍、1 h),酸沉时 pH 值为 1

2.2.2 单因素实验:(1)加水量对甘草提取收率的影响:加水量是影响药材提取的重要因素之一,在正交试验中,加水量作为考察因素两指标均无显著性差异,表明加水量各水平设置不尽合理。因此,我们采用单因素试验进一步考察了加水量对提取甘草酸粗品收率的影响

方法:取甘草 30 g,按表 6 制定的各次加水量及煎煮时间实验。结果见表 6 结果表明,加水煎煮两次,总加水量 24 倍以上时,从甘草中提取甘草酸粗品较完全

(2)粉碎度对甘草提取收率的影响:药材的粉碎

表 6 加水量影响实验

加水量(倍)	1.5 h		产量(g)	收率(%)
	1	2		
15	8	7	3.108 2	10.36
18	10	8	3.255 2	10.86
21	11	10	3.968 1	13.23
24	12	12	3.997 4	13.32
27	15	12	3.995 1	13.32
32	16	16	3.905 3	13.02

度是影响提取率的主要因素之一。本实验对甘草药材 4 种不同粉碎度对提取效率的影响进行了考察。

方法:分别取 20 g 的甘草饮片、最粗粉、粗粉及细粉,进行水提,结果见表 7

表 7 粉碎度影响结果

粉碎度	甘草酸粗品收率(%)			$\bar{x} \pm s(\%)$	P
	1	2	3		
饮片	2.905 7	3.017 1	2.954 3	2.95± 0.06	< 0.05
最粗粉	3.482 6	3.602 3	3.553 2	3.55± 0.06	> 0.05
粗粉	3.654 0	3.778 7	3.355 7	3.60± 0.22	
细粉	2.839 6	2.593 3	2.611 7	2.68± 0.13	< 0.05

\* 与粗粉相比

结果表明,甘草粉碎成最粗粉或粗粉后可提高甘草酸粗品的提取率。

### 3 讨论

3.1 甘草的主要有效成分为甘草酸,可能以钾盐或钙盐形式存在,其盐易溶于水,而且甘草酸为有机弱酸,酸性条件下游离,这是本实验的提取依据。

3.2 比较水提酸沉法及醇提酸沉法的收率,结果表明,水提酸沉法要优于醇提酸沉法。以收率高的水提酸沉法作为具体研究对象,考察他们的主要影响因素:加水量、煎煮次数与时间、酸沉 pH 值等。结果表明,酸沉 pH 值对收率影响有显著的差异。但以 251 nm 处紫外吸光值为参考指标时三因素各水平间均无显著性差异。因此,以收率作为参考指标。三个因素的影响顺序: C > B > A 筛选出优化提取工艺条件:总加水量 17 倍,煎煮 2 次(10 倍、1.5 h,7 倍、1.5 h),酸沉为 pH 1

3.3 单因素实验:考察加水量及粉碎度对收率的影响。结果表明,煎煮两次,总加水量 24 倍以上时,甘草提取较完全。理论上粉碎程度越高,则提取效率越高。但实验所得的提取效率为最粗粉 ≈ 粗粉 > 饮片 > 细粉,原因是细粉的颗粒过小,堆积紧密,水不容易渗透,因而未能得到充分的提取。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2000年版.一部.  
 [2] 陆蕴和,邵爱新.用香草醛-硫酸比色法测定饮片甘草及蜜炙甘草中甘草酸的含量[J].药物分析杂志,1981,1(2): 84-90.