

为 79.61% (RSD 为 0.41%)、98.57% (RSD 为 0.12%)。提示该再生方法合理、可行。

3 讨论

中药成分复杂,其药效物质基础不应只是一种成分,而是一类或几类成份在共同起作用,故选择栀子总环烯醚萜苷、栀子苷作为分离、纯化效果的评价指标,有利于确切阐释药效与化学物质基础之间的联系。

目前采用大孔吸附树脂技术分离、纯化中药有效部位(或成分)的研究较多,对于指导实际工作具有一定的指导意义。本研究发现,经过 HPD 450 大孔吸附树脂纯化处理后的栀子提取物,干膏得率、总环烯醚萜苷和栀子苷及其保留率明显优于文献报道

水平^[2],核心药效几无改变,无急性毒性作用,有机溶剂残留符合“人用药品注册技术规范国际协调会”(ICH)的规定标准。说明 HPD 450 大孔吸附树脂纯化栀子总环烯醚萜苷和栀子苷效果较好,从而为开发安全、有效、质量可控的现代中药开辟了新途径。

致谢:扬子江药业集团新药研究基金资助,南京中医药大学方泰惠教授在药理毒理、江苏省药品检验所在有机溶剂残留检测方面提供帮助。

References

- [1] Xie X J, Zhang J H, Ma A H. Evolved investigation of Traditional medicine gardenoside [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 1 (10): 94-945.
- [2] Lu M P, Qiao Q B, Pang C Y, et al. Effect of macroporous resin in separation of gardenoside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 9 (33): 794-796.

微波法提取甘草中有效成分的研究

阚微娜, 谭天伟*

(北京化工大学生命科学与技术学院 北京市生物加工过程重点实验室, 北京 100029)

摘要:目的 利用微波提取技术同时从甘草中提取甘草酸和甘草黄酮。方法 考察了影响提取率的因素,包括提取溶剂、液固比、微波时间和功率等。结果 确定了微波提取甘草有效成分的最佳工艺:70%乙醇为提取溶剂,按 10:1(mL/g)的液固比,微波中高火辐照 4 min,提取 3 次,甘草酸的提取率为 3.06%,甘草黄酮提取率为 3.00%,与热回流法提取 4 h 的结果接近。结论 该提取工艺既缩短了提取时间,又提高了甘草药材的综合利用率。

关键词:甘草;微波提取;甘草酸;黄酮

中图分类号:R 284.2; R 286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)01-0061-04

M icrow ave-assisted extraction of active components from Radix Glycyrrhiza

KAN Wei-na, TAN Tian-wei

(Beijing Bioprocess Key Laboratory, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Engineering, Beijing 100029, China)

Key words: Radix Glycyrrhiza; microwave-assisted extraction (MAE); glycyrrhizic acid; flavonoids

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 中的有效成分很多,其中主要有三萜类化合物甘草酸和黄酮类化合物。甘草酸是一种重要的精细化工产品,在医药、食品和化妆品等方面有着广泛的应用^[1],甘草黄酮也是一类生物活性较强的成分,有抗溃疡、抗菌、抗炎、解痉、调血脂、镇痛等作用^[2]。目前,工业上还主要以生产甘草酸为主,在排出的固体甘草废渣中,仍含有大量的甘草黄酮和部分甘草酸。而在文献报道的甘草黄酮提取工艺中也没有利用甘草酸^[3],造

成了资源的浪费。实际上,可以同时从甘草中提取甘草酸和甘草黄酮类化合物,惠寿年等^[4]提出采用水煮提法对甘草进行深加工,在提取甘草酸的同时提取甘草黄酮,但一次提取的时间为 2 h,能源利用率较低。微波法是一种较新的方法,Pan 等^[5]利用微波提取技术采用氨性乙醇对甘草中的甘草酸进行提取,甘草酸的提取率为 2.58%,并证实了微波提取法与热回流法、索式提取法相比,具有提取高效、快速,节省时间、溶剂和能源等优点。本研究采用微波

* 收稿日期:2005-02-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20136020; 20325622);北京市自然科学基金资助项目(2032013);博士点基金资助项目(20030010004)

作者简介:阚微娜(1980—),女,辽宁沈阳人,硕士研究生,主要从事天然产物提取方面的研究。

* 通讯作者 谭天伟 Tel: (010) 64434773 Fax: (010) 64434773 E-mail: twtan@mail.buct.edu.cn

技术,选择合适的溶剂和提取方法同时从甘草中提取甘草酸和甘草黄酮。

1 仪器与材料

家用微波炉(顺德市美的微波炉制造有限公司)实验室改装^[5],台式离心机(上海安亭科学仪器厂),高效液相色谱(美国 Alltech),紫外-可见分光光度计(Cary 100)。

甘草购自北京同仁堂医药股份有限公司,经实验室加工制成 3 种原料:粉碎机粉碎得到甘草粗粉(20~60 目);甘草粗粉经研磨过 60 目筛,得到甘草细粉;未能过筛的甘草皮、纤维等材料反复研磨得到甘草边角料(60 目)。甘草酸单铵盐对照品(北京联合大学霍清赠,质量分数 $\geq 98\%$),柚皮苷对照品(天津尖峰天然产物公司,质量分数 98%),试剂均为 AR 纯。

2 方法

2.1 微波法提取甘草酸和甘草黄酮:称 3 g 甘草细粉(或粗粉或边角料),加入提取溶剂 30 mL,进行微波提取,微波辐照时间为 4 min,提取温度在 80 左右,离心分离得到上清液即为提取液。

2.2 甘草酸的 HPLC 分析条件^[6]及标准曲线制备:ODS C₁₈反相柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相:乙腈-3%醋酸(41:59);体积流量:1 mL/min;检测波长:248 nm;进样量:20 μ L,甘草酸保留时间为 6.7 min。配制 1 mg/mL 甘草酸单铵盐对照品溶液,分别取出 2、4、6、8 mL,定容于 10 mL 量瓶中,进行 HPLC 分析。以甘草酸峰面积对甘草酸质量浓度绘制标准曲线,标准曲线的方程为 $Y = 6 \times 10^6 X - 1027.5$, $r = 0.9964$,线性范围为 0.2~1.0 mg/mL。

2.3 甘草黄酮的分析方法及标准曲线制备:根据文献报道^[7]的甘草黄酮分析方法加以改进。以 1 mg/mL 柚皮苷作为对照品,用微量进样器精密吸取对照品溶液 10、20、40、60、80、100、120、140 μ L 于 10 mL 量瓶中,分别加入 1 mL 无水乙醇,0.5 mL 10% KOH,室温放置 5 min 后用无水乙醇定容,在 425 nm 检测波长下,以乙醇作为空白进行吸光度值的测定。以测定结果计算得到甘草黄酮吸光度值对质量浓度的标准曲线方程 $Y = 1.9273 X - 0.0126$, $r = 0.9963$,线性范围为 10~140 μ g/ μ L。将样品稀释后取 0.5 mL 稀释液,加入 1 mL 无水乙醇,再加入 0.5 mL 10% KOH 溶液,摇匀,室温放置 5 min,定容于 10 mL 量瓶中。再取稀释样品 0.5 mL,直接用无水乙醇定容,作为空白对照,在 425 nm 波长下

测定吸光度值,分析甘草黄酮的质量浓度。

2.4 甘草酸与甘草黄酮提取率:按下式计算。

甘草酸提取率 = 提取液中甘草酸的质量/提取用甘草的质量 $\times 100\%$

甘草黄酮提取率 = 提取液中甘草黄酮的质量/提取用甘草质量 $\times 100\%$

3 结果与讨论

3.1 提取溶剂的组成对提取液中甘草酸和甘草黄酮提取率的影响:甘草酸易溶于乙醇溶液,多数黄酮类化合物也易溶于乙醇,因此乙醇-水系统可以同时满足甘草酸和甘草黄酮的提取需要,由图 1 看出,当乙醇体积分数为 60% 时,甘草酸的提取率最高;乙醇体积分数为 80% 时,甘草黄酮的提取率最高。此外,在乙醇低的体积分数下,甘草中的可溶性蛋白、淀粉糖类等成分都存在于提取液中,为后续的离心滤过以及产品的分离纯化带来很大的困难,因此,甘草有效成分提取溶剂乙醇的体积分数应该控制在 60%~80% 比较合适。

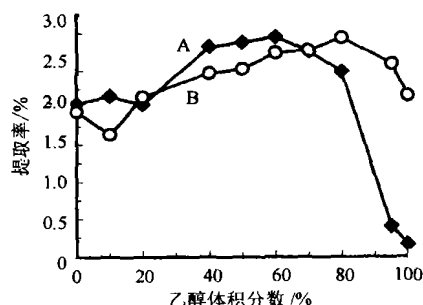


图 1 乙醇体积分数对甘草酸(A)和甘草黄酮(B)提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on extraction rate of glycyrrhizic acid (A) and flavonoids (B)

甘草酸的铵盐易溶于水,分别采用 60% 乙醇和 60% 氨性醇 30 mL 对 3 g 甘草粗粉,微波中高火 4 min 进行提取,结果甘草酸和甘草黄酮的提取率分别为 2.95%、2.74%、2.58%、1.89%。在乙醇水溶液中加入氨水并没有使甘草酸的提取率有显著提高,而且浸出了大量的色素类物质,分析是由于甘草酸易溶于高体积分数的乙醇溶液,加入氨水对甘草酸的提取并没有促进作用。此外,甘草黄酮的提取率大大的降低了,可能是由于碱性条件不利于甘草黄酮的提取。因此为了能同时满足甘草酸和甘草黄酮的提取,可以选择 60%~80% 乙醇溶液作为提取溶剂,而本实验中最终选择的提取溶剂为 70% 乙醇水溶液,二次提取甘草酸的提取率为 2.74%,甘草黄酮的提取率为 2.77%。

3.2 微波加热时间对甘草酸和甘草黄酮提取率的影响: 见图 2。对于两种粒度的甘草, 甘草酸和甘草黄酮的提取率均随微波辐照时间的增加而提高, 3 g 甘草, 微波辐射 2 min, 甘草酸和甘草黄酮的提取率就已经趋于平稳, 随时间的增加, 提取率上升缓慢。可见微波作用集中, 实验选择的微波辐射时间为 2 min。

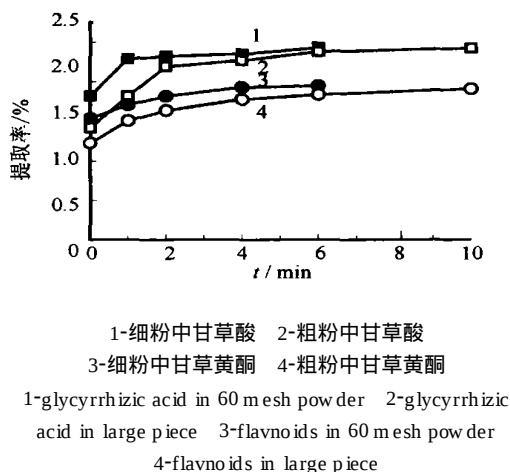


图 2 微波辐照时间对甘草酸和甘草黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effect of MAE time on extraction of glycyrrhizic acid, and flavonoids

3.3 微波功率对提取率的影响: 用 30 mL 70% 乙醇溶液提取 3 g 甘草细粉, 微波辐照 4 min 提取 1 次, 甘草酸与甘草黄酮的提取率见表 1。可以看出, 甘草酸和甘草黄酮的提取率均随微波功率的提高而增加, 若要达到相应的提取率, 采用中火加热时需要较长的微波辐照时间。采用高火加热, 十分容易暴沸, 严重影响提取效果, 而且, 高火加热与中高火加热产品的提取率相比, 并没有显著的提高, 因此提取时的微波功率选择为中高火档。

表 1 微波功率对提取率的影响

Table 1 Effect of microwave power on extracting rate

微波功率	甘草酸提取率/%	甘草黄酮提取率/%
中火	1.89	1.87
中高火	2.31	2.10
高火	2.38	2.19

3.4 提取溶剂与甘草的液固比对甘草酸和甘草黄酮提取率的影响: 见表 2。可见, 甘草酸的提取率随液固比的增加而提高, 但在相同的能量供给和微波时间作用下, 当液固比大于 10 时, 甘草酸提取率基本保持不变, 而由于甘草黄酮的提取率有下降的趋势, 综合考虑选择液固比 10:1。

3.5 甘草选料粒度的影响及微波提取次数的确定: 见表 3。甘草粒度变小, 甘草酸和甘草黄酮的提取率会有所提高, 尤其是对于 1 次提取而言, 甘草的粒度是影响提取率的重要因素, 且两次提取基本上可以

表 2 提取溶剂与甘草的液固比对提取率的影响

Table 2 Effect of liquid/solid ratio on extracting rate

甘草质量: 提取溶剂体积/(g · mL ⁻¹)	甘草酸提取率/%	甘草黄酮提取率/%
6:1	2.50	2.07
8:1	2.75	2.26
10:1	2.95	2.74
15:1	2.96	2.66
20:1	2.99	2.59

表 3 不同甘草材料 3 次提取的提取率结果

Table 3 Results of extracting rate in three times for different materials

甘草材料	甘草酸提取率/%				甘草黄酮提取率/%			
	1 次	2 次	3 次	总提取率	1 次	2 次	3 次	总提取率
甘草细粉	2.38	0.68	0.12	3.18	2.26	0.54	0	2.80
甘草粗粉	1.58	0.99	0.45	3.02	1.64	0.66	0.02	2.32
边角料细粉	0.86	0.79	0.27	1.93	1.00	0.20	0	1.20

达到一个相当高的提取率水平, 可能是由于粒度变小, 比表面积增大, 植物细胞、组织受破坏程度较大, 从而利于有效成分的扩散。边角料细粉主要为纤维类物质, 有效成分的质量分数较低, 所以提取率很低。而对于甘草粗粉, 采用 3 次提取也可以达到与使用细粉相当的水平, 这也说明了微波法具有很高的传质效应, 因此也可以采用甘草粗粉作为原料, 连续 3 次提取甘草中的有效成分。

3.6 微波工艺与传统热回流法的比较: 根据实验结果, 采用 70% 乙醇对 10 g 甘草细粉进行提取, 液固比为 10:1, 微波功率为中高火, 提取 2 次; 采用传统的热回流工艺对 10 g 甘草细粉进行提取, 提取溶剂为 70% 乙醇 100 mL, 提取温度控制为 85~90℃, 提取两次, 结果见表 4。微波提取 6 min 与热回流 2 h 得到产品的提取率相当。

表 4 微波提取与热回流提取甘草有效成分的比较

Table 4 Comparison between MAE and hot reflux on extraction of active components

提取方法	提取时间	甘草酸提取率/%	甘草黄酮提取率/%
微波提取	2 min × 2	2.90	2.21
	4 min × 2	3.05	2.77
	6 min × 2	3.06	3.00
热回流提取	2 h × 2	3.03	3.12

4 结论

研究了微波提取溶剂、微波功率、辐照时间、液固比、甘草原料、提取次数对甘草中有效成分提取的影响, 以使甘草酸和甘草黄酮的同时提取并达到最大的提取率为目的, 确定了最佳的提取工艺路线: 70% 乙醇作为溶剂, 液固比为 10:1, 微波中高火提取, 10 g 甘草粗粉, 微波辐照 4 min, 提取 3 次得到甘草酸的提取率为 3.06%, 甘草黄酮的提取率为

3.00%。微波辅助提取甘草中的有效成分,大大缩短了提取的时间,且一次性提取了甘草酸和甘草黄酮,提高了甘草的利用率。

References

- [1] Wang Y H, Li Z Y. Extraction and purification methods of glycyrrhizic acid [J]. *Tianjin Chem Ind* (天津化工), 2003, 17 (6): 34-36.
- [2] Sun P, Li Y, Cheng H Y. Microwave technique extraction and content determination of Chromoco in *Glycyrrhiza glabra* L. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2003, 14 (5): 266-267.
- [3] Zhang M J, Jin J F, Li B Y, et al. Study of microwave-assisted extraction on flavonoids of *Radix Glycyrrhiza* [J]. *Chin*

Tradit Pat Med (中成药), 2002, 24 (5): 334-336.

- [4] Hui S N, Dong A L, Xu X J, et al. Study of deep exploitation of Sinkiang Glycyrrhiza [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (10): 666-668.
- [5] Pan X J, Liu H Z, Jia G H, et al. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root [J]. *Biochem Eng J*, 2000, 5: 173-177.
- [6] Zeng L, Zhang R Y, Lou Z Q. Separation and quantitative determination of three saponins in licorice root by high performance liquid chromatography [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1990, 26 (1): 53-58.
- [7] Zhang X H, Zhao Y F, Chen J M. Content determination of flavonoids of *Radix Glycyrrhiza* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26 (11): 746-747.

川芎中藁本内酯对照品的制备

金灯萍, 彭国平, 陆晓峰*

(南京中医药大学 植物药研究与新药开发中心, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 研究川芎的对照品藁本内酯的制备。方法 从川芎药材提取挥发油, 从挥发油中分离、制备对照品, 采用紫外光谱、红外光谱、质谱和氢谱对其进行了结构鉴定。结果 从川芎成分中筛选出藁本内酯对照品。结论 该对照品可作为控制川芎质量的指标成分。

关键词: 川芎; 藁本内酯; 制备

中图分类号: R284.1; R284.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)01-0064-02

Preparation of ligustilide from rhizome of *Ligusticum chuanxiong*

J N Deng-ping, PENG Guo-ping, LU Xiao-feng

(Plant Refinement Engineering Center of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Key words: the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* Hort.; ligustilide; preparation

川芎是伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 主产于四川, 是活血行气、祛风止痛之要药, 主治头痛、月经不调、痛经、闭经及胎前产后病。其主要活性成分为藁本内酯 (ligustilide)。藁本内酯对兔离体子宫, 无论未孕或早孕均有明显抑制作用, 表现为张力下降, 节律变慢, 收缩力减弱, 几分钟后完全松弛, 作用时间持久; 也有较强的抗胆碱作用。

本实验从川芎的挥发油中分离得到一个无色油状化合物, 经波谱解析鉴定为 (Z)-藁本内酯。同时定性、定量分析了藁本内酯对照品, 期望建立川芎药材质控指标, 规范我国川芎药材的质量。

1 实验材料

Nicolet IR—560XFT 红外光谱仪 (KBr 压片); Bruker 公司 ACF—300 核磁共振仪 (TMS 作内标); Nicolet FTM S—2000 质谱仪。岛津 UV 2487 紫外光谱仪。Waters 510 泵, Waters 486 紫外-可见检测器, Rheodyne 进样器, 中国科学院大连化学物理研究所 WDL-95 色谱工作站。

三氟乙酸为色谱纯 (Tedia 公司), 甲醇为色谱纯 (江苏汉邦科技有限公司), 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯, 硅胶 G 由青岛海洋化工厂生产。川芎药材购于安徽亳州药材市场, 经南京中医药大学吴启南教授鉴定。

2 方法

2.1 川芎对照品的制备工艺: 川芎药材 20 kg 加水

* 收稿日期: 2005-04-08

作者简介: 金灯萍, 女, 江苏高邮人, 硕士, 研究方向为中药化学, 主要从事中药注射剂的开发。

Tel: (025) 86798186 E-mail: dengpingjinya@yahoo.com.cn