

甘草苷提取工艺正交试验优化

王振辉¹, 李超生^{2*}, 王海森¹, 王晶²

(1. 吉林农业大学, 长春 130118; 2. 吉林省中医药科学院, 长春 130012)

[摘要] 目的:研究甘草苷最佳提取工艺条件。方法:采用正交试验优选的乙醇体积分数、用量、提取时间和提取次数对甘草苷提取率的影响;采用 HPLC 以甘草苷含量为考察指标。结果:甘草苷最佳提取条件为 10 倍量 70% 乙醇,回流提取 2 次,每次 3 h。结论:本方法提取效率高,为工业化生产提供了实验依据。

[关键词] 正交试验;甘草;甘草苷;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0030-03

Orthogonal Test for Optimization of Liquiritin Extraction Process

WANG Zhen-hui¹, LI Chao-sheng^{2*}, WANG Hai-sen¹, WANG Jing²

(1. Jinlin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Jilin Academy of Chinese Medical Sciences, Changchun 130012, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extracting technology of liquiritin in glycyrrhiza. **Method:** The amount of solvent, the extracting time and the extracting frequencies were assayed by orthogonal test with different concentrations of alcohol as the solvent to detect their influences on the extraction rate of liquiritin in glycyrrhiza; liquiritin content was determined by HPLC. **Result:** The optimum extracting conditions were as follows: 10 times of 70% alcohol, each 3 h with two times. **Conclusion:** This procedure was efficient; the extraction technology is reasonable and can provide scientific basis for industrialize process.

[Key words] orthogonal test; glycyrrhiza; liquiritin; extracting technology

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bata. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根及根茎。临床中的应用有甘草和制甘草,其甘草补脾益气、清热解毒、化痰止咳、缓急止痛,常用于脾胃虚弱,倦怠乏力,咳嗽痰多等;制甘草补脾和胃、益气复脉力胜、抗多种心律失常、调节免疫等作用^[1-2]。甘草中主要含皂苷和黄酮类成分,皂苷类成分已应用于临床,用于治疗肝病等疾病,黄酮类成分尚未有应用^[3]。研究发现黄酮类成分有治

疗心脑血管疾病等生理活性^[4],黄酮类成分在甘草中含量也较高,2010 年版《中国药典》中规定甘草干燥品含甘草苷不得少于 0.5%^[5]。为有效开发利用这一植物资源,我们对甘草中黄酮类成分甘草苷提取工艺进行研究,为进一步开发利用提供依据。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪,SPD-10Avp 紫外检测器。

甘草(购于吉深药店,经吉林省中医药科学院李超生教授鉴定为乌拉尔甘草 *G. uralensis* Fisch.);甘草苷对照品(批号 111610-200604)购自中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药材提取方法 取干燥药材粗粉约 10 g,精密称定,按正交试验安排加乙醇回流提取,纱布过滤,

[收稿日期] 20101221(017)

[基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20080918)

[第一作者] 王振辉,硕士研究生,研究方向:天然药物提取与分离,E-mail:wangzhenhui8039@163.com

[通讯作者] *李超生,教授,从事天然药物有效成分研究,E-mail:csli2007@yahoo.com.cn

将提取液倒入已恒重的蒸发皿中,水浴浓缩至干,再减压干燥至恒重,得浸膏。

2.2 甘草苷含量测定

2.2.1 色谱分析条件 DiamonsilC₁₈ 色谱柱(4.5 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(35:65),流速0.8 mL·min⁻¹,检测波长270 nm,柱温室温,进样体积10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取甘草苷对照品10.18 mg,置于50 mL量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,制得每1 mL含0.204 mg的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取甘草浸膏量的1/20置于25 mL量瓶中,加甲醇适量,超声处理30 min,冷至室温,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm的微孔滤膜过滤,即制得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密量取对照品溶液4,6,8,10,16,20 μL分别进样。按2.2.1项下条件测定,测得甘草苷峰面积。以对照品量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 12\,925.08X - 4\,903.03$ ($r = 0.999\,8$)。结果表明甘草苷在0.86~4.30 μg峰面积与样品量有良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液,按2.2.1项下色谱谱条件,连续进样6次,每次10 μL,甘草苷峰面积RSD 1.66%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于制备后0,2,4,6,12,24 h,按2.2.1项下条件各进样10 μL,测得甘草苷峰面积RSD 1.63%,表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批甘草浸膏,共取6份,各约180 mg(浸膏量的1/20),按供试品溶液的配制方法制备样品,按2.2.1项下条件进行测定,每次10 μL,测得甘草苷的平均含量为1.54%,RSD 1.87%,表明该方法具有较好的重复性。

2.2.8 回收率实验 采用加样回收法,取同一批甘草浸膏样品5份(浸膏中甘草苷5.553%),取约75 mg,精密称定,分别精密加入甘草苷对照品适量,按照2.2.3项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下条件进行测定,测得甘草苷平均回收率98.01%,RSD 1.85%。

2.3 正交设计提取因素与水平 在考察单因素影响的预试验的基础上,选择乙醇作为提取溶剂,以乙

醇体积分数、乙醇用量、提取时间和次数为考察因素,各因素设定3个水平,见表1。

表1 甘草乙醇提取因素水平

水平	A	B	C	D
	时间/h	溶剂量/倍	次数/次	醇体积分数/%
1	1	6	1	50
2	2	8	2	70
3	3	10	3	95

2.4 正交试验结果与分析 用L₉(3⁴)正交表进行试验设计优选,测定出浸膏中甘草苷含量,计算药材中甘草苷提取率,结果见表2。对有关数据进行方差分析,结果见表3。

表2 甘草乙醇提取正交试验

No.	A	B	C	D	甘草苷/%			总量/%
					1	2	3	
1	1	1	1	1	1.02	1.08	1.01	3.11
2	1	2	2	2	1.45	1.32	1.30	4.07
3	1	3	3	3	1.11	1.29	1.40	3.80
4	2	1	2	3	1.30	1.39	1.32	4.01
5	2	2	3	1	1.36	1.34	1.35	4.05
6	2	3	1	2	1.45	1.22	1.24	3.91
7	3	1	3	2	1.31	1.51	1.46	4.28
8	3	2	1	3	1.11	1.09	1.13	3.33
9	3	3	2	1	1.46	1.55	1.58	4.59
K ₁	10.98	11.40	10.35	11.75				
K ₂	11.97	11.45	12.67	12.26				
K ₃	12.2	12.30	12.13	11.14				
R	1.22	0.85	2.32	1.12				

表3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
区组	0.003 6	2	0.001 8	0.24	
A	0.093 5	2	0.046 8	6.12	<0.05
B	0.056 9	2	0.028 5	3.73	<0.05
C	0.327 6	2	0.163 8	21.41	<0.01
D	0.070 0	2	0.035 0	4.85	<0.05
误差 e	0.122 4	16	0.007 65		

注: $F_{0.05}(2,16) = 3.63$, $F_{0.01}(2,16) = 6.23$ 。

通过对测定结果进行方差分析可知,因素影响的显著性依次为 $C > A > D > B$,最佳的提取工艺条件为A₃B₃C₂D₂,即70%乙醇提取,每次10倍量,加热提取2次,每次3 h。

正交试验法优选菊明降压颗粒的提取工艺

邓超澄, 冯看, 陈卫卫*, 卢苇, 何春玲, 卢澄生
(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 优选菊明降压颗粒剂最佳提取工艺。方法: 以得膏率和蒙花苷含量为评价指标, 以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间和提取次数为主要影响因素, 用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺。结果: 最佳提取工艺为加 8 倍量的 70% 乙醇、煎煮 2 次, 每次煎煮 1 小时。结论: 提取工艺稳定、合理、可行。

[关键词] 菊明降压颗粒剂; 正交试验; 提取工艺; 蒙花苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0032-03

Optimization on Extraction Technique of Juming Jiangya Granules with Orthogonal Design

DENG Chao-cheng, FENG Kan, CHEN Wei-wei*, LU Wei, HE Chun-ling, LU Cheng-sheng
(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[收稿日期] 20101230(002)

[基金项目] 广西青年科学基金(桂科青 0832052)

[第一作者] 邓超澄, 讲师, 研究方向: 中药化学成分及质量标准, E-mail: nnhouyucheng@163.com, Tel: 13977197531

[通讯作者] * 陈卫卫, 副教授, 研究方向: 药物新剂型、新剂型, E-mail: weiwei690413@ey-ou.com, Tel: 13211355569

2.5 验证试验 为进一步考察优化工艺的可靠性, 取 3 份药材, 每份 10 g, 按上述最佳提取工艺进行验证试验, 操作方法同上, 甘草苷测定结果分别为 1.66%, 1.58%, 1.62%。检验结果与上述最佳提取工艺无显著差别, 故最佳的提取工艺条件为 $A_3B_3C_2D_2$ 。

3 讨论

甘草苷和甘草酸是甘草药材中活性较强的 2 种化合物, 因基本结构不同, 其理化性质各异, 在生产过程中可分别进行提取分离; 提取甘草苷时发现, 回收乙醇时, 甘草酸易以沉淀形式析出, 因此甘草酸含量过高的药材, 对甘草苷提取后期处理影响较大^[6]。

正交试验结果显示, 乙醇体积分数对甘草苷提取率的影响较大, 从甘草酸和甘草苷的溶解度性质分析, 甘草酸用水煎即可提取^[7], 甘草苷不溶于水, 70% 乙醇提取率较高。

乙醇提取次数对甘草苷的提取有显著性影响,

在 10 倍量乙醇体积下, 提取 2 次即可; 提取最佳时间为 3 h。

[参考文献]

- [1] 郭洪寅. 复方甘草酸苷的临床应用研究[J]. 临床医学, 2010, 30(5): 109.
- [2] 胡小鹰, 彭国平, 陈汝炎. 甘草总黄酮抗心律失常作用研究[J]. 中草药, 1996, 27(12): 733.
- [3] 邢国秀, 李楠, 王童, 等. 甘草黄酮类化学成份的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 593.
- [4] 吴碧华, 杨得本, 龙存国, 等. 甘草总黄酮的体外抗氧化作用[J]. 中国临床康复, 2004, 36(8): 8262.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2010: 80.
- [6] 李红, 李炳奇, 刘红, 等. XDA-1 型树脂对甘草黄酮吸附-解吸效果的研究[J]. 中成药, 2007, 29(6): 830.
- [7] 魏炜, 银建中, 朱彻. 甘草酸及甘草黄酮类物质的提取、精制和应用的研究进展[J]. 化学工业与工程技术, 2005, 26(1): 30.

[责任编辑 全燕]