

· 中药与天然药 ·

正交法对烘制甘草条件的研究

浙江省中药研究所(杭州, 310004) 李榕 赵岚 余琪 杨苏蓓

提要 本文以50%乙醇的甘草提取液中甘草酸含量为指标, 用正交设计法对烘制甘草品进行比较。经数据统计处理, 结果证明: 烘制100 kg 甘草, 用30 kg 炼蜜; 70℃温度; 烘制1 hr 为最佳。

关键词 烘制条件; 甘草酸; 正交设计; 薄层扫描法

甘草为中医常用药物, 临床上以蜜炙为用^[1]。目前, 由于烘烤箱在中药炮制上得到广泛的运用, 故甘草的炮制方法也有由药典法改用为烘制法的报道^[2]。本文就甘草烘制的用蜜量、烘制温度及烘制时间对50%乙醇提取液中甘草酸含量有无影响, 试用正交设计进行了实验比较, 以探讨其可行性和最佳方案。

量、烘制温度及时间三个因素, 各因素都定为三个水平, 见表1。然后根据制定的因素水平选用 L_3 正交表安排实验, 见表4。

表1 试验因素水平表

水 平	因 素		
	A 用蜜量 (%)	B 烘制温度 (℃)	C 烘制时间 (hr)
1	25	70	1
2	30	85	2
3	35	100	3

实 验 部 分

一、实验设计

本文选择对烘制甘草有主要影响的用蜜

二、实验材料及仪器

1. 甘草: 购自杭州药材供应站。系产于

Absorption, Distribution and Excretion of DL111-IT, a New Contragestational Agent, in Rats

Luo Wenying Liu Zhiqiang Li Qin Wang Lingren Yao Lei

(School of Pharmacy, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006)

Abstract

DL111-IT, 3-(2-ethylphenyl)-5-(3-methoxyphenyl)-1H-1, 2, 4-triazol, is a new contragestational agent. In this paper its absorption, distribution, excretion in rats are reported.

1h after im administration the peak level of DL111-IT was found in utero-ovaries. The decreasing order of DL111-IT distribution in other organs or tissue was as follows: lungs, heart, kidneys, muscle, brain, femur. Only trace level of DL111-IT was detected in these tissues 8h after im DL111-IT.

After iv in rats, the total DL111-IT excreted in urine and feces was found to be $0.396 \pm 0.071\%$ within 168h. $1.62 \pm 2.04\%$ of an iv dose was recovered from the bile collected for 12h.

pharmacokinetic parameters of one compartment model im DL111-IT 5mg/kg in 5 rats were $t_{1/2}(ke) = 228.812 \pm 96.112$ min.

Key words DL111-IT, Contragestational agent, absorption, tissue distribution, excretion

内蒙古的豆科植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) 的根和根茎。经本所杨苏蓓同志鉴定。

2. 样品制备：取甘草200 g，“A”的用蜜量加开水 50 ml 稀释后，加入甘草内拌匀，闷透，再按“B”的烘干温度，烘制“C”时间后取出，放凉，待用。

3. 炼蜜：市售紫云英生蜜，经煮沸，滤去沫屑、杂质炼制而成。

4. 甘草酸单铵盐对照品：内蒙古呼和浩特天然甜料厂。

5. CS-930 双波长薄层扫描仪：日本岛津。

三、实验方法

(一) 对照品溶液的制备 精密称取甘草酸单铵盐 12.242 mg、11.050 mg (纯度 90%)，加50%乙醇溶解，定容 10 ml，浓度分别为：1.1018 mg/ml、0.9945 mg/ml。

(二) 样品溶液的提取 精密称取粉碎的甘草烘制品 0.3 g，加 M/2 盐酸 40 ml，浸泡过夜，弃去上清液，残渣加50%乙醇40 ml，用10%碳酸氢钠溶液调 pH 值至中性，回流 4 hr，放冷过滤，反复三次，50%乙醇用量分别为40、30、30 ml，回流时间分别是4、3、2 hr，合并滤液蒸干，用 50% 乙醇转移定容至 25 ml 容量瓶中，备用。

(三) 薄层层析

薄层板：80g 硅胶 GF 254 加 0.5% CMC-Na 250 ml 于超声波振荡器中振荡 15 min，铺于 10 块 20×20 cm 薄板上，阴干，于 105℃ 恒温活化 1 hr，置干燥器中备用。

展开剂：正丁醇：冰醋酸：水(6:1:3)(上层)。

点样器：5 μl 定量毛细管。

展开方式：上行，展距 10 cm。

(四) 薄层扫描

仪器：岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪。

测定条件：反射式锯齿扫描，狭缝 1.25×1.25 mm，线性参数 SX=7，波长 λ_s=252 nm，λ_R=330 nm，峰检出方式为面积法，灵敏度：中。

四、实验结果

(一) 标准曲线的绘制 用定量毛细管吸取对照品溶液 1、2、3……9、10 μl 在同一薄层板上点样，按上述条件展开后进行扫描，用最小二乘法对对照品溶液浓度和色谱吸收峰面积进行回归分析，得回归方程为：

$y = 0.00016x - 0.229 \quad r = 0.9986$

其面积积分值与浓度呈线性关系。

(二) 稳定性试验 将具有样品的薄层板展开约 2.5 hr 后，取出，用吹风机迅速吹干，约 5 min，置扫描仪上扫描测定，结果见表 2。

表 2 稳定性试验结果

时 间 (hr)	0	0.5	1	2	3	4	6	8
峰 面 积	46582.00	46503.74	46664.03	46654.56	46254.95	46442.17	46252.68	51057.34

该成分在 6 hr 内基本稳定，重复测定 4 次，结果一致。

(三) 精密度试验

同板不同点的精密度：在同一板上点 5 μl 对照品溶液共 8 点，展开后测定峰面积为：

54238.77, 55180.80, 56458.21, 53724.00, 54442.58, 50917.57, 54381.54, 54335.44。

CV = 2.89%

同板同点精密度：对同一对照品斑点，连续扫描测定 6 次，得：55600.46, 55664.85,

54265.32, 55602.57, 55327.69, 55705.41。

CV = 1.00%

(四) 回收率测定 取样品0.15g, 加入对照品 10 mg, 同样品提取方法, 测定其含量, 结果见表 3。

平均回收率96.32%

(五) 样品测定 将样品溶液 5 μ l, 对照品溶液 5 μ l, 分别点样于同一层析薄板上, 展开后, 以外标二点法测定各样品中甘草酸的含量, 结果见表 4。

表 3 回收率结果表

测得量 (mg)	加入对照品量 (mg)	样品中甘草酸含量 (mg)	回收率 (%)
19.80	10.212	9.88	95.18
19.875	10.212	9.88	97.79
19.825	9.835	10.568	94.13
20.225	9.835	10.568	98.19

表 4 L₃⁴ 实验安排、实验结果及数据处理表

表头设计	A	B	C	D	实验结果	实验结果-0.5 (%)
列号	1	2	3	4	甘草酸含量 (%)	Y _i
1	1	1	1	1	7.17	0.67
2	1	2	2	2	6.54	0.04
3	1	3	3	3	6.59	0.09
4	2	1	2	3	7.75	1.25
5	2	2	3	1	7.51	1.01
6	2	3	1	2	7.58	1.08
7	3	1	3	2	7.67	1.17
8	3	2	1	3	7.59	1.09
9	3	3	2	1	7.23	0.73
I _j	0.8	3.09	2.84	2.41	$G = \sum_{i=1}^9 y_i = 7.13$ $G^2 = 50.837$ $CT = G^2/9 = 5.649$	
II _j	3.34	2.14	2.02	2.29		
III _j	2.99	1.90	2.27	2.43		
I _j ²	0.640	9.548	8.066	5.808		
II _j ²	11.156	4.580	4.080	5.244		
III _j ²	8.940	3.610	5.153	5.905		
R _j = I _j ² + II _j ² + III _j ²	20.736	17.738	17.299	16.957		
S ₁ = R _j /3 - CT	1.263	0.264	0.117	0.003		

表 5 方差分析表

来 源	离差平方和	自 由 度	方 差	F 比	显 著 性
A	S _A = S ₁ = 1.263	f _A = 2	S _A /f _A = 0.632	316	**
B	S _B = S ₂ = 0.264	f _B = 2	S _B /f _B = 0.132	66	*
C	S _C = S ₃ = 0.117	f _C = 2	S _C /f _C = 0.059	29.5	*
误差 e	S _e = S ₄ = 0.003	f _e = 2	S _e /f _e = 0.002		
Σ	1.647	8			

F_{1-0.01(2,2)} = 99.0 F_{1-0.05(2,2)} = 19.0 F_{1-0.1(2,2)} = 9.0

四、结果分析

从表 4 I_j 值进行直观分析, 因素 A_{1j} >

A_{1j}、A_{2j}; B_{1j} > B_{2j}、B_{3j}; C_{1j} > C_{2j}、C_{3j}, 合理的烘制条件应该是 A₂B₁C₁。但各

因素的水平变化究竟对实验结果影响的显著性如何,须利用方差分析进一步考察。

表5中方差分析结果为 $F_A > F_{1-0.01}(2, 2)$, 故因素A的水平变化对实验结果有极显著影响,而 $F_{1-0.01}(2, 2) > F_B > F_{1-0.05}(2, 2)$; $F_{1-0.01}(2, 2) > F_C > F_{1-0.05}(2, 2)$, 因素B、C的水平变化对实验结果有显著影响,比较R值可直观看出,影响程度 $A > B > C$ 。

讨论与小结

1. 经用 $L_9 3^4$ 对烘制甘草比较结果来看,所用蜜量、烘制温度及烘制时间,对50%乙醇提取液中甘草酸含量都有很大影响,影响程度用蜜量 $>$ 烘制温度和时间,分析结果表明,甘草烘制的最佳方案应是 $A_2 B_1 C_1$,即100 kg甘草,用炼蜜30 kg,在70℃条件下烘制1 hr。

2. 通过实验表明,烘制甘草具有操作简便,宜于控制炮制质量标准及降低劳动强

度等优点,从最佳方案 $A_2 B_1 C_1$ 来端,用蜜量符合《浙江省中药炮制规范》的标准(25~30 kg^[3]),所用的烘制温度及时间较为经济,同时认为,烘制甘草在实际中应用是可行的。

3. 据文献报道,分离甘草中的甘草酸有很多种展开剂,常用的是90%乙醇:正丁醇:3M氨水(6:2:2),结果我们发现其展开效果并不佳,甘草酸在该展开剂中,拖尾比较严重,呈明显的倒钟形,所以我们改用正丁醇:冰醋酸:水(6:1:3)上层,发现其展开后,分离效果极佳,无拖尾现象。

4. 用双波长薄层扫描法测定甘草酸含量,在国内还未见报道,该法快速、简便、结果可靠、扫描图谱清晰,可推广运用。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典, 1985版
- [2] 冯成汉: 中成药研究, (12):12, 1985
- [3] 浙江省中药炮制规范, 1985版; 53页

Study on Cured Condition of Glycyrrhiza by Orthogonal Design

Li Rong Zhao Lan Yu Qi Yan Shupeí

(Zhejiang institute of Chinese Materia Medica, Hangzhou, 310004)

Abstract

Glycyrrhizin acid is extracted from glycyrrhiza by 50% alcohol and is regarded as quantitative analysis index in the test. Contents of glycyrrhizin acid are compared by orthogonal design. The result indicates: it is the best condition that 100 kilogram glycyrrhiza which mixes with 30 kilogram refine honey are cured at 70℃ one hour.

Key words Cured condition, Glycyrrhizin acid, Orthogonal design, TLC-Scanner