

· 简 报 ·

甘草炮制的化学研究

刘利根 刘成基¹(中药制剂教研室;¹ 中药炮制教研室)**关键词** 甘草;甘草酸;甘草甙;炮制

甘草是豆科植物 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 及同属植物的根及根茎。甘草的使用历史悠久,早在我国第一部药学著作《神农本草经》中就有记载,并被列为上品。历史上至少出现过三十种甘草炮制方法。但是现在只剩下清炒和蜜炙两种炮制方法仍在延用。文献记载生甘草有清热解毒,润肺止咳的作用,炙甘草以补中益气,缓急止痛为主。本文以甘草甙及水煎液中的甘草酸的含量为指标对甘草的炮制进行了研究。

1 实验部分

1.1 样品的准备

生甘草:1990年11月购于内蒙古自治区,经鉴定为 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的根及根茎(本校生药学教研室博士研究生董辉,江苏省中医院药剂科周继法鉴定),拣净杂质,润透,切片,干燥,部分粉碎成40目粉,备用。

炼蜜:取生蜜置锅内,加热至徐徐沸腾后,改用文火,保持微沸,并随时除去泡沫及上浮蜡质,炼至起鱼眼泡,用手捻之较生蜜粘性略强,迅速出锅,备用。经测定:生蜜中还原糖含量为65.44%,炼蜜为74.42%,测定方法参照《中华人民共和国药典》(1985版)。

炙甘草:按《中华人民共和国药典》(1985版)炮制。80℃以下烘干,部分粉碎成40目粉,备用。

炒甘草:取净生甘草饮片置锅内,用中火

加热,不断翻动,至表面颜色加深,略带焦斑为度,部分粉碎成40目粉,备用。

1.2 水煎液中甘草酸的含量比较

1.2.1 仪器与试剂

751G可见-紫外分光光度计, HHS型电热恒温水浴锅, LD5-10离心机, 254 nm紫外分析仪, PBQ-1薄层自动铺板器, 真空干燥箱。

薄层硅胶 GF₂₅₄, 95%乙醇(AR), 正丁醇(AR), 冰醋酸(AR), 甘草酸单铵盐标准品(购于中国药品生物制品检定所), 无水乙醇(AR), 0.8% CMC-Na。

1.2.2 硅胶板的制备

称取一定量的硅胶 GF₂₅₄按1:3的比例加入0.8% CMC-Na上清液,搅拌均匀,用PBQ-1薄层自动铺板器铺成厚0.6 mm的薄层板,待干后,110℃活化0.5 h,贮干燥器内,备用。

1.2.3 标准曲线的制备

称取80℃真空干燥4 h的甘草酸单铵盐标准品,用50%的乙醇溶液溶解并定溶于5 ml容量瓶中(浓度为9.772 mg/ml)。吸取上标准溶液5, 10, 15, 20, 25, 30 μl点于板上,点成条状。用正丁醇-冰醋酸-水(4:1:2)展开系统,上行展开15 cm,挥干展开剂,在紫外灯下划出斑点位置,用刮刀刮下斑点上的硅胶于具塞试管中,同时刮下斑点旁同样面积的硅胶作空白。用吸量管加入10.00 ml 50%

的乙醇溶液于试管中,充分振摇,在 50℃ 水浴中保温并时时振摇(每 5 min 一次)2 h,取出待冷后 4000 r/min 离心 10 min,取上清液,在 751G 可见-紫外分光光度计上,252 nm 波长测定其吸收值,点样量 x 与吸收值 y 之间的关系经回归处理得方程为 $y = 0.01195x - 0.008067 (n=5), r=0.9989$ 。

1.2.4 样品的处理

精密称取甘草各炮制品饮片(干燥器中干燥 72 h)20 g,加水 200 ml,浸泡 20 min,煮沸 30 min,用脱脂棉过滤,滤渣加水 180 ml,煮沸 20 min,用脱脂棉过滤,合并滤液,用水洗涤滤渣三次,洗液并入滤液,浓缩定容至 50 ml。用吸量管吸取浓缩液 3.00 ml,加无水乙醇 7.00 ml,充分振摇混匀,静置片刻,离心 20 min(4000 r/min),倒出上清液,洗沉淀,洗液与滤液合并,定容于 25ml 容量瓶中,备用。

1.2.5 回收率试验

板上回收试验:于一薄层板上点标准溶液,10 μ l,3 点,15 μ l,3 点,同标准曲线项操作。测得回收率为 $99.86\% \pm 2.0454, CV = 2.0\% (n=6)$ 。于 5 块薄层板上分别点以 10 μ l 标准溶液,同标准曲线项操作,测得回收率为 $99.14\% \pm 2.5502, CV = 2.6\% (n=5)$ 。

加样回收率试验:先按样品制得水煎液定容后,取 3.00 ml 于试管中加入甘草酸单铵盐标准品 50 mg,下同样品处理及测定。测得回收率为 $99.97\% \pm 2.9107, CV = 2.9\% (n=3)$ 。

1.2.6 样品的测定

吸取 50 μ l 处理好的样品,点于 20×20 cm 的 GF₂₅₄板上,用甘草酸单铵盐标准液对照,下同标准曲线的制备。测得吸收值并计算含量。(结果见表 1)

Tab 1. Content of glycyrrhizic acid in detection of processing products ($\bar{x} \pm SD, n=5$)

Sample	Content, %	CV, %
Raw licorice	5.2999 \pm 0.05643	1.1
Simple parched licorice	5.5473 \pm 0.08135***	1.5
Honey-baked licorice	4.9560 \pm 0.1034***	2.3

*** $P < 0.01$

1.3 甘草甙的含量测定

1.3.1 仪器与试剂

CS-930 型薄层扫描仪, H66025T 超声清洗机, 254nm 紫外分析仪氯仿(AR), 甲醇(AR), 甲酸(AR), 薄层硅胶板(浙江黄岩红旗生物化工厂), 甘草甙标准品(北京医科大学提供)。

1.3.2 标准曲线的制备

称取甘草甙标准品配成浓度为 0.3075 mg/ml 的甲醇溶液, 取 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ l 分别点于 20×20 cm 的 GF₂₅₄层析板上, 用氯仿-甲醇-甲酸(9:2:0.2)的展开系统上行展开 10 cm, 挥尽展开剂, 在紫外灯下定位, 在 CS-930 薄层扫描仪上进行锯齿扫描。扫描条件为: $\lambda_s = 285$ nm, $\lambda_R = 370$ nm, 狭缝 1.25×1.25 mm, SX=3。点样量 x 与积分值 y 的关系, 经回归计算, 得方程为: $y = 4030.7513 + 3625.551x (n=6), r=0.9994$, 线性范围 0.615~3.69 μ g。

1.3.3 板的精密度试验

在同一薄层板上点相同的标准品溶液, 按标准曲线项操作, 测得积分值差异为 $CV = 1.3\% (n=5)$ 。

1.3.4 稳定性试验

按标准曲线项操作, 展开后挥干展开剂, 同一斑点每隔 15~30 min 扫描一次, 在 2 h 内稳定, $CV = 2.8\%, (n=7)$ 。

1.3.5 加样回收率试验

称取一定量的甘草样品加入甘草甙标准品, 其余同样品处理及测定。计算回收率为 $99.60\% \pm 2.0451 (n=5), CV = 2.1\%$ 。

1.3.6 样品的分析测定

精密称取甘草各炮制品粗粉 0.2 g, 置 50 ml 磨口平底烧瓶, 精密加入甲醇 5.00 ml, 置超声波清洗机中超声提取 1 h, 补充失去的甲醇, 静置, 取上清液过滤, 吸取滤液 3 μ l 点样, 同时点二个标准品点, 以上述展开系统展开, 以下操作同标准曲线制备, 测得各斑点的积分值, 用外标二点法计算其含量(表 2)。

Tab 2. Content of liquiritin in processing products
($\bar{x} \pm SD$, $n=5$)

Sample	Content, %	CV, %
Raw licorice	0.9909 ± 0.03822	3.9
Simple parched licorice	$0.6301 \pm 0.007608^{***}$	1.3
Honey-baked licorice	$1.0637 \pm 0.008749^{***}$	0.9

** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

2 讨论

2.1 对甘草炮制研究虽有不少报道^[1-3],但他们仅测定其中甘草酸的含量。本文测定的是水煎液中甘草酸的含量,以便跟临床相一致,实验发现炙甘草中甘草酸含量有所下降。而清炒甘草水煎液中甘草酸含量有所上升。

甘草酸虽是其中主要成分,但甘草甙也有不可忽视的作用,据小菅卓夫报道^[4],甘草甙是甘草补气作用的活性成分,因此,我们也

比较了甘草炮制前后甘草甙的含量,结果表明,炙甘草中甘草甙含量略有升高($P < 0.05$),而清炒甘草中甘草甙的含量则显著降低($P < 0.001$)。

2.3 甘草酸与甘草甙含量的变化没有明显的相关性。因此,单以甘草酸为指标,不具有足够的说服力。

2.4 在甘草酸下降的同时,甘草甙略有升高,便于长期用药时减小皮质激素样的副作用,因此,甘草蜜炙是有意义的。

参考文献

- 1 张厚宝,高万山.甘草炮制的质量分析.中药通报,1987;12(9):23
- 2 卢长庆,刘惠卿,李天庆等.甘草蜜炙前后甘草酸含量变化的研究.中成药研究,1980;(5):36
- 3 冯成汉,冯韧韧.蜜炙甘草不同炮制方法(烘与炒)的研究.中成药研究,1985;(12):16
- 4 小菅卓夫,石田均司,矢岛填司等.补气药的研究.中药通报,1984;9(6):37

Chemical Studies on the Processing of Licorice

Liu Ligen, Liu Chengji¹

Department of Traditional Chinese Pharmaceutics; ¹Department of Processing of Traditional Chinese Medicine

Glycyrrhizic acid and liquiritin were determined in the processed products of licorice. The results showed that the content of licorice $\sqrt{\quad}$, increased while the content of glycyrrhizic acid was decreased in the honey-baked products.

Key words Licorice; Glycyrrhizic acid; Liquiritin; Processed