

Comparison of Different Extraction Processes of Sijunzi Tang

Xuejiao Tai Ning Han*

Hubei Medical College School of Basic Medicine, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, 442000, China

Abstract

Objective: To compare different extraction methods of Sijunzi Tang and to obtain an efficient and practical extraction process. **Methods:** The content of ginsenoside R_{g1} and ammonium glycyrrhizinate in the soup was used as indicators, and the size of drug particles, decoction time, water addition and number of decoctions were investigated as factors, and the $L_9(3^3)$ orthogonal design was used to make a comprehensive multi-indicator preference for the traditional decoction process of Sijunzi Tang. The best traditional decoction process was selected and compared with the tea drink, and the contents of ginsenoside R_{g1} and ammonium glycyrrhizinate in the resulting soup were compared. **Results:** The best traditional decoction process was to add 60 mesh, 16 times the amount of water for 2h. The decoction was cooked for 90 min with a gentle fire and the liquid was combined three times. There was no significant difference in the content of ginsenoside R_{g1} and ammonium glycyrrhizinate between the tea drink and the traditional decoction process. **Conclusion:** The new process of tea is stable and feasible and can retain effective ingredients to ensure the quality of soup.

Keywords

Sijunzi Tang; orthogonal test; tea drink

四君子汤不同提取工艺比较

台雪皎 韩宁*

湖北医药学院基础医学院, 中国·湖北十堰 442000

摘要

目的: 比较四君子汤的不同提取方法, 获得一种高效实用的提取工艺。**方法:** 以汤剂中人参皂苷 R_{g1} 和甘草酸铵含量为指标, 药物颗粒大小、煎煮时间、加水量及煎煮次数为考察因素, 采用 $L_9(3^3)$ 正交设计对四君子汤传统煎煮工艺进行多指标综合优选。选取最佳传统煎煮工艺与茶饮对比, 比较所得汤药中人参皂苷 R_{g1} 和甘草酸铵含量。**结果:** 优选传统煎煮工艺为加60目, 16倍量的水浸泡2h, 用文火煎煮90min, 煎煮3次, 合并药液。茶饮与传统煎煮工艺比较, 人参皂苷 R_{g1} 和甘草酸铵含量无明显区别。**结论:** 优选出茶饮新型工艺稳定可行, 能较好地保留有效成分, 保证汤剂质量。

关键词

四君子汤; 正交试验; 茶饮

1 引言

宋代茶艺盛行, 北宋蔡襄《茶录》介绍当时饮茶方法多为将茶碾为细末再沸水冲饮, “点茶”“点汤”方法由此而来, 一些古方中亦提及“白汤点服”的方法。汤剂作为中国临床应用最早、最广的一种剂型, 可适应中医的辨证施治、随症

【课题项目】扶正解毒汤对小鼠肝癌的抑制作用及机制(项目编号: 2017QDJZR24)。

【作者简介】台雪皎(1990-), 女, 中国云南玉溪人, 硕士, 助教, 从事肿瘤病理研究。

【通讯作者】韩宁(1993-), 女, 中国河南南阳人, 硕士, 助教, 从事神经药理研究。

加减的原则, 具有吸收快, 作用强的优点。中药疗效除了与药材的质量、炮制方法相关外, 煎煮方法尤为关键^[1]。通过查阅大量文献, 同时对临床煎煮情况进行调研, 发现各地煎煮方法差异大。临床医生、药房、汤剂煎煮等相关行业人员大多未有可靠又具事实依据的说法。针对这一现状, 中国国家中医药管理局行业专项对中药汤剂传统煎煮方法进行规范化系统研究, 目的是制定合理的煎煮操作流程, 提高汤剂质量。

四君子汤出自宋代《太平惠民和剂局方》, 由人参、白术、茯苓、甘草组成, 具益气健脾之功, 主治脾胃气虚证, 是补气基本方。西洋参与人参同为五加科人参属植物的根, 人参在中国的应用有着悠久的历史, 但西洋参始载于清吴仪路的《本草从新》(1757年), 发现及应用均晚于人参^[2]。随着西洋参在中国的引种成功, 近年来对其研究也有了较大

突破,特别是在抗肿瘤方面^[3]。研究表明,人参皂苷 Rh₂ 和 Rg₃ 为主要抗癌活性成分^[4],其在西洋参中含量高于人参^[5],故本次试验中用西洋参代替人参,不仅保持人参固有的扶正固本功效,更提高了抗癌有效成分含量。方中描述“上为细末。每服二钱,水一盏,煎至七分,通口服,不拘时,入盐少许,白汤点亦得。”论文欲探讨“细末”具体大小及煎煮法与“白汤点”服即茶饮法的区别。据文献报道四君子汤有效成分为黄酮类、皂苷类、多糖类及有机酸类等成分^[6],有学者应用液相串联质谱、质谱—质谱串联技术对复方四君子汤进行研究,结果表明四君子汤的水溶性成分主要来源于君药人参和使药甘草^[7],结合2010版《中国药典》中人参和甘草质量标准中含量测定指标^[8],选择汤剂中人参皂苷 Rg₁ 和甘草酸铵为指标性成分,本实验以四君子汤为研究对象,以颗粒度、煎煮时间、加水量及煎煮次数为考察因素,采用 L₉(3³) 正交设计对四君子汤传统煎煮工艺进行多指标综合优选,最终优选出一种传统煎煮方法,与新方法茶饮法对比,判断不同提取方法对汤剂质量的影响^[9]。本方煎煮的规范化研究,将对补益类中药汤剂煎煮提供规范化研究的借鉴;茶饮方法的探讨,有可能开发出一种新型、高效、方便的中药提取方法。

2 材料

岛津高效液相色谱仪;SPD-M20 检测器;BOF-1-2 超纯水发生器;HANGPING FA2004 电子天平;KQ-500DV 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);药材粉碎机;LD5-10 医用低速离心机;SDO-6076 真空不锈钢保温杯。

人参皂苷 Rg₁ 标准品(批号 110703—2009611)、甘草酸铵标准品(批号 110731—201116),购自中国药品生物制品检定所;乙腈(天津市科密欧化学试剂有限公司,色谱纯,纯度≥99.9%,批号 20130503);甲醇(购自天津市科密欧化学试剂有限公司,批号 20131010);正丁醇(广东汕头市西陇化工厂,色谱纯,纯度≥99.9%,批号 0607102)四君子汤处方:西洋参 9g,白术 9g,茯苓 9g,炙甘草 6g。西洋参(美国产,批号 130226,够自亳州市宏宇中药饮片有限公司),白术(浙江产,批号 20141001)、茯苓(湖北产,批号 20150201)、炙甘草(内蒙古产,批号 20140302),四种饮片均购自鄂神农本草中药饮片有限公司,经湖北医药学院药学院汪选斌教授鉴定均为正品。

3 方法与结果

3.1 人参皂苷 Rg₁ 和甘草酸铵的测定

3.1.1 色谱条件及系统适应性实验

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相

A,以水为流动相 B,按表 1 中的规定进行梯度洗脱;检测波长为 203nm。理论板数按人参皂苷 Rg₁,峰计算应不低于 6000。

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相 A,以 0.05% 磷酸为流动相 B,按下表(见表 2)中的规定进行梯度洗脱;检测波长为 237nm。理论板数按甘草酸铵,峰计算应不低于 5000。

进样体积 5 μL。在此色谱条件下人参皂苷 Rg₁,甘草酸铵能与杂质完全分离,并取得较好的峰形和较高的理论塔板数,效果满意。

表 1 人参皂苷 HPLC 条件

时间(分钟)	流动相(A)	流动相(B)
0~35	19	81
35~55	19-29	81-71
55~70	29	71
70~100	29-40	71-60

表 2 甘草酸铵 HPLC 条件

时间(分钟)	流动相(A%)	流动相(B%)
0~8	19	81
8~35	19-50	81-50
35~36	50-100	50-0
36~40	100-19	0-81

3.1.2 供试溶液的制备

先将四中药材分别粉碎为 60、80、100 目颗粒度大小,按照正交试验设计表分别称取 9 剂药材,其中,西洋参 9g,白术 9g,茯苓 9g,炙甘草 6g。常温浸泡 2 小时备煎。各剂药材按正交条件煎煮,所得汤药自然冷却,低速离心机 4000r/min 离心 8min,取上清合并,再将各组得上清药液蒸发浓缩至 100mL 备用。精密量取 5mL 四君子汤药液,甲醇定容到 10mL,取 1mL 上清过滤进样。

3.1.3 对照品溶液的制备

精密量取适量人参皂苷 Rg₁ 对照品,转移至 10mL 容量瓶,甲醇定容为 0.021mg/mL 溶液,取甘草酸铵适量,精密称定,置于 10mL 容量瓶中,加甲醇溶液至刻度,摇匀,即得 1.0mg/mL 标准品溶液。

3.2 四君子汤传统煎煮工艺影响因素的优选

以人参皂苷 Rg₁ 及甘草酸铵提取量为考察指标,选择药材粉碎度、加水量、提取时间、煎煮次数为考察因素,每个因素选择 3 个水平,因素水平见表 3。按处方称取西洋参、白术、茯苓、甘草共 9 份,按 L₉(3³) 正交表进行试验,实验安排见表 4。在 2.1.1HPLC 条件下检测人参皂苷 Rg₁ 及甘草酸铵,结果见表 5。

表 3 四君子汤传统煎煮工艺因素水平表

水平	A 药材粉碎度 (目)	B 加水量 (倍)	C 煎煮时间 (min)	D 煎煮次数 (次)
1	60	8	30	1
2	80	12	60	2
3	100	16	90	3

表 4 四君子汤提取试验方案

因素列号	A 药材粉碎度 (目)	B 加水量 (倍)	C 煎煮时间 (min)	D 煎煮次数 (次)
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

表 5 正交试验 HPLC 实验结果

	保留时间		峰面积		含量	
	人参皂苷	甘草酸铵	人参皂苷	甘草酸铵	人参皂苷	甘草酸铵
标准品	52.134	35.683	104987	2982097	0.021	1
1	52.167	35.648	373606	328758	0.07473	0.110244
2	52.828	35.648	170373	743540	0.034079	0.249335
3	52.738	35.661	318883	1178430	0.063784	0.395168
4	52.186	35.667	232531	990812	0.046512	0.332253
样品	53.875	35.668	120015	452546	0.024006	0.151754
6	53.707	35.661	141412	462050	0.028286	0.154941
7	54.572	35.685	0	1212412	0	0.406564
8	0	35.679	0	986217	0	0.330713
9	54.917	35.678	75527	631396	0.015107	0.211729

表 6 3 组、7 组 HPLC 实验结果

	保留时间		峰面积		含量		
	人参皂苷	甘草酸铵	人参皂苷	甘草酸铵	人参皂苷	甘草酸铵	
标准品	52.278	36.649	336370	10093610	0.021	1	
3A	53.354	36.860	883488	1263225	0.027579	0.125151	
3B	53.329	36.860	712312	1263225	0.022235	0.088635	
样品	7A	53.391	36.960	260264	533052	0.008124	0.052811
7B	53.552	36.887	465630	837818	0.014535	0.083005	
茶饮	52.688	36.814	987421	3090817	0.030823	0.306215	

3.3 四君子汤传统水煎工艺与新型茶饮工艺对比

由上述结果不难看出 3 组和 7 组所得人参皂苷和甘草酸铵含量较其他组高, 为优选方案。为进一步验证, 重复 3 组和 7 组试验, 每组设两个平行对照, 列为 3A、3B、7A、7B。分析上述试验发现人参皂苷提取率偏低, 参照药典, 改水煎醇沉法为水煎正丁醇萃取法, 煎煮方法不变, 低速离心机离心取上清蒸发浓缩后, 精密量取 50mL 四君子汤药液,

置分液漏斗中, 用正丁醇萃取 3 次, 每次 50mL。合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇适量分次溶解, 移置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 作为供试品溶液。与标准品对照结果如表 6。试验证明, 方案 3 优于方案 7, 方案 3 条件为 60 目, 16 倍水, 90min 煎 3 次。

按照方案 3 称取四君子汤药材, 于相同条件下改水煎煮
(下转第 25 页)

前两组的焦虑评分、抑郁评分相互对比没有统计学差异性, $P > 0.05$, 护理服务之后实验组的分数低于对照组, $P < 0.05$ 。主要因为合理使用心理护理的方式在患者入院的最初阶段就可以分析与研究心理状态与情绪状态, 为其详细介绍病房的情况、治疗的流程、后续的进展等, 相互沟通交流缓解负面的情绪, 有效预防因为不良情绪的影响出现病情的问题。并且在实际护理服务的过程中还可以通过心理疏导、思想层面的开解等方式, 引导患者自主性调整心理状态, 增强患者家庭的支持度, 使得患者认真、仔细配合参与治疗活动, 不会出现抗拒治疗的心理或是其他的现象。因此在重症肺结核实际护理期间应重视心理护理方式和措施的运用, 切实根据患者的情绪状态、具体心理情况等筛选最佳的心理疏导措施、情绪引导措施等, 按照不同患者的状态制定差异性的心理护理计划与方案, 形成良好的不良情绪预防作用, 增强参与治

疗的自信心, 保证患者可以顺利参与治疗^[4]。

综上所述, 重症肺结核的治疗过程中合理运用心理护理的方式, 不仅能够提升临床效果, 还能改善患者对于服务的满意度, 具备一定的推广价值、普及优势。

参考文献

- [1] 郭晓惠,姜红.对重症肺结核患者进行心理护理的临床效果及对提高患者护理服务的满意度分析[J].中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(34):179-180.
- [2] 马玲.心理护理应用于重症肺结核患者的疗效观察[J].饮食保健,2020,7(30):238-239.
- [3] 阿尼克孜·阿布来提,阿比旦·吐尔孙.ICU重症肺结核伴呼吸衰竭患者心理护理效果观察[J].医药前沿,2019,9(17):48-49.
- [4] 刘佼佼.心理护理应用于重症肺结核患者的效果评价[J].医药前沿,2018,8(2):300-301.

(上接第22页)

为保温杯浸泡, 合并三次所得汤药浓缩至 50mL 正丁醇萃取, 结果与方案 3 对比见表 6。

4 讨论

中药制剂提取工艺的科学合理性直接影响到产品质量与疗效。有研究表明, 在室温下浸泡的时间越长, 甘草酸的提取率越高, 但是超过 90min, 提取率几乎无变化^[9], 颗粒度大小直接影响了有效物质的溶出^[10]。论文选择颗粒度大小、煎煮次数、加水倍数、煎煮时间等影响因素, 参考 2010 版《中国药典》中四君子汤有效成分的测定指标, 以人参皂苷 Rg1 及甘草酸铵提取量为考察指标, 设计 $L_9(3^3)$ 正交试验对四君子汤进行提取工艺参数的优化。

结果表明, 四个因素对有效成分提取均有影响, 传统水煎煮优化工艺为加 16 倍量的水浸泡 2h, 用文火, 煎煮 90 min, 煎煮 3 次, 合并药液。茶饮与传统煎煮工艺比较, 人参皂苷 Rg₁ 和甘草酸铵含量无明显区别, 茶饮可以成为一种四君子汤提取新工艺。但目前对于茶饮工艺研究尚少, 更多方面有待进一步研究。

论文相较于其他四君子汤文献报告, 创新之处在于第一次引入了茶饮方法, 具有提取率高、方便、经济等优点。另外, 选择颗粒度大小作为正交因素也是首次提出, 同样可以提高

药材提取率。

参考文献

- [1] 王竹兰.《伤寒论》汤剂煎煮法与汤剂制备规范化研究[D].北京:北京中医药大学,2010.
- [2] 魏晓雨.西洋参成功引种后化学成分和遗传稳定性研究[D].长春:吉林农业大学,2015.
- [3] 尚金燕,李桂荣,邵明辉,等.西洋参的药理作用研究进展[J].人参研究,2016,28(6):49-51.
- [4] 乔雪涵,岳丽玲,朱文斌.人参皂苷Rg₃的抗肿瘤作用研究现状[J].中国临床药理学杂志,2021,37(10):1272-1276.
- [5] 宋茜,孔祥词,陈树东,等.人参和西洋参的HPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J].中国口岸科学技术,2021,3(5):56-63.
- [6] 刘培,王伊楠,张莉丹,等.四君子汤中总多糖、总黄酮和总皂苷的纯化工艺研究[J].山西中医药大学学报,2020,21(2):124-128.
- [7] 张海艳.四君子汤对埃坡霉素B化疗的减毒作用及其化学成分研究[D].长沙:中南大学,2014.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2010.
- [9] Minglei Tian, Hongyuan Yan, Kyung Ho Row. Extraction of Glycyrrhizic Acid and Glabridin from Licorice[J]. International Journal of Molecular Sciences,2008(9):573.
- [10] 林大专,张凌瀛,惠春,等.粉碎度对中药固体制剂溶出影响的研究[J].特产研究,2013,35(1):25-27+31.