

· 论著 ·

用均匀设计优化四君子汤的提取工艺条件

方 亮 杨明世 戈延茹 李秀男* 郭建鹏(延边大学药学院 延吉 133000)

摘要 采用均匀设计试验法,以人参总皂甙和总多糖为指标,探讨了四君子汤的最佳提取工艺条件。结果表明,以乙醇浓度10%,溶剂用量为药材量的13倍,浸泡时间为14h,回流时间为2h为佳。

关键词 四君子汤 均匀设计 人参皂甙 多糖

Optimizing the Extracting Technology of Sijunzi Decoction by a Uniform Design Method*Fang Liang, Yang Mingshi, Ge Yanru, Li Xiunan*, Guo Jianpeng**(Pharmacy College, Yanbian University, Yanji, 133000)*

Abstract: The optimal extracting technology of Sijunzi Decoction was selected using Ginseng saponins and total polysaccharides as an index by a uniform design method. The results indicated that the optimal conditions were as follows: the concentration of alcohol was 10% (v/v), the solvent quantity was 13 times as much as the drug quantity, the soak time was 14 hours and the reflux time was 2 hours.

Key words: Sijunzi decoction, uniform design, ginseng saponins, polysaccharides

四君子汤源于宋代《太平惠民和剂局方》,由人参、白术、茯苓、甘草4味药组成,作为健脾益气的代表方剂,可以调节机体各器官的机能,增强机体对非特异性刺激的适应性,改善机体免疫功能^[1]。四君子汤中人参皂甙和总多糖是主要活性成分之一。我们采用均匀设计法探讨了乙醇浓度及用量,浸泡时间和回流时间对四君子汤中上述活性成分提取率的影响,以期得到最佳提取工艺条件。

1 仪器与材料

1.1 仪器 DT-100型电光分析天平,北京光学仪器厂;UV-260可见紫外分光光度计,日本岛津;电子恒温水浴,深圳国华仪器厂。

1.2 药物与试剂 人参、白术、茯苓、甘草均购于延边中药材采购供应站,经鉴定为正品;人参皂甙Re和葡萄糖对照品,购于中国药品生物制品检定所;D₁₀₁大孔吸附树脂,天津制胶厂;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 标准曲线的绘制

2.1.1 人参皂甙Re标准曲线的绘制 精密称取人参皂甙Re对照品0.0050g,用甲醇溶解并定容至5ml。精密量取此溶液10、20、30、40、50 μ l分别置于具塞试管中,蒸干,分别加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.2ml和高氯酸0.8ml,在60℃水浴加热15min,冷却,加冰醋酸5ml,摇匀,在560 \pm 1nm处,以空白试剂为对照测定吸收度,用线性回归法求得回归方程为 $Y = 20.4x + 0.006921$ $r = 0.9992$ 。

2.1.2 葡萄糖标准曲线的绘制 取葡萄糖对照品适量在烘箱中105℃干燥3h,冷却至室温,精密称取0.0625g,用蒸馏水溶解并定容至250ml,从中精密量取1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml,分别定容至50ml,按酚-硫酸法测定^[2]。分别取上述溶液2.0ml置具塞试管中,分别加1.0ml 15%苯酚溶液,混匀,迅速加5.0ml浓硫酸,振摇5min,置沸水浴中加

* 本院96届毕业实习生

热 15min,冷却 30min,以酚-硫酸溶液为空白,于 $490 \pm 1\text{nm}$ 处测定吸收度,用线性回归法求得回归方程为 $Y = 12.035x - 0.007067$, $r = 0.9993$ 。

2.2 药材的提取 选择乙醇浓度及用量,浸泡和回流时间 4 个因素进行考察,将各因素考察范围分为 6 个水平,如表 1,按 $U_7(7^6)$ 表安排试验方案,分别按四君子汤各药材比例 (3 : 3 : 3 : 2) 称总重 50g 药材,进行回流提取,回收乙醇,静置 12h,滤过,浓缩至 100ml 备用。

表 1 4 个因素的考察范围

因 素	水 平					
	1	2	3	4	5	6
乙醇浓度 (%)	10	20	30	40	50	70
溶剂用量 (ml)	200×2	225×2	250×2	275×2	300×2	325×2
浸泡时间 (h)	4	6	8	10	12	14
回流时间 (h)	1×2	1.5×2	2×2	2.5×2	3×2	3.5×2

2.3 活性成分含量测定

2.3.1 人参皂甙含量测定

2.3.1.1 空白对照液制备 将除人参以外的 3 味药物按比例称总重 36.4g,加水煎煮 2 次,每次 1h,静置 12h,滤过,浓缩至 100ml 作为空白对照备用液。

2.3.1.2 含量测定 精密量取药材提取备用液 1.0ml,加蒸馏水 1.5ml,加于已处理好的 D_{101} 树脂柱 ($\varnothing 1 \times 10\text{cm}$)^[3],依次用蒸馏水 50ml,20%乙醇 30ml 洗柱,继以 70%乙醇洗脱,弃去前流出液 4ml,用 50ml 量瓶收集洗脱液至刻度,挥散溶剂,残渣加甲醇溶解并定容至 5ml。精密量取此溶液 0.5ml 分别置于具塞试管中,挥散溶剂,同法处理空白对照备用液,照 2.1.1 项下操作,按下式计算含量,其结果见表 2。

人参皂甙含量 = $(C \cdot D / \text{供试品生药量}) \times 100\%$
其中 D 为稀释倍数, C 为按回归方程计算出的浓度。

2.3.2 总多糖含量测定 精密量取药材提取备用液 1.5ml,加乙醇使含醇量达 85%,静置 2h,吸去上清液,沉淀用乙醇洗涤,挥散溶剂,加蒸馏水溶解并定容至 50ml,从中精密

吸取 0.5ml 置具塞试管中,照 2.1.2 项下操作,按下式计算含量,其结果见表 2。

总多糖含量 = $(C \cdot D \cdot F / \text{供试品生药量}) \times 100\%$
其中 D 为稀释倍数, C 为按回归方程计算出的浓度, F 为校正因子(据文献^[1]取 0.9)。

表 2 按 $U_7(7^6)$ 表安排试验结果 (n=3)

试验号	因 素				活性成分含量		Y*
	乙醇浓度 (%)	溶剂用量 (ml)	浸泡时间 (h)	回流时间 (h)	人参皂甙 (%)	总多糖 (%)	
1	10	225×2	8	3.5×2	0.918	8.311	8.92
2	20	275×2	14	3×2	1.318	8.114	11.660
3	30	325×2	6	2.5×2	1.240	6.01	10.485
4	40	200×2	12	2×2	0.500	4.711	4.913
5	50	250×2	4	1.5×2	0.534	4.443	5.068
6	70	300×2	10	1×2	0.790	1.229	5.899

$Y^* = \text{人参皂甙含量} \times 10 \times 70\% + \text{总多糖含量} \times 30\%$

将实验结果用计算机进行多元线性回归,求得回归方程 $Y = -0.9049 - 0.1245x_1 + 0.0228x_2 + 0.2084x_3 - 0.1225x_4$ (x_1 为乙醇浓度, x_2 为溶剂用量, x_3 为浸泡时间, x_4 为回流时间)。第一自由度 $F_1 = 4$,第二自由度 $F_2 = 1$,查表得 $F_{0.25}(4, 1) = 8.58$,计算得 $F = 23.93$, $F > F_{0.25}(4, 1)$,相关系数 $r = 0.9948$, $s = 0.6650$,通过检验,回归方程有意义。分析上述方程,可以看出, x_1 和 x_4 系数为负值,即在考察范围内, x_1 和 x_4 值越小, Y 值越大; x_2 和 x_3 系数为正值,即在考察范围内, x_2 和 x_3 值越大, Y 值越大。因此优化条件为 $x_1 = 10\%$, $x_2 = 650\text{ml}$ (药材量的 13 倍), $x_3 = 14\text{h}$, $x_4 = 2\text{h}$,代入上述方程得,理论预测值 $Y = 15.3427 \pm 1.846$,比 6 次试验结果均高,按优化条件再次进行实验,实验结果为 $Y = 13.533$ (人参皂甙含量 = 1.413%,总多糖含量 = 12.134%),与理论值基本相符,证实优化条件是可信的。

3 讨论

3.1 中药提取受很多因素的影响,我们初步考察了乙醇浓度、溶剂用量、浸泡时间、回流时间等 4 个因素对人参皂甙和总多糖提取率的影响,通过两个活性成分的含量测定,综合分析后,确定了最佳提取工艺条件为 10% 的

乙醇 650ml 浸泡 14h,回流 2 次,每次 1h,并为四君子汤制剂开发提供了实验依据。

3.2 本实验证实,均匀设计^[5]方法适用于中药复方制剂提取工艺中多因素优选试验。

参考文献

- 1 庞来祥. 四君子汤药理作用研究进展. 中医药信息, 1991, 8(1): 23
- 2 潘维新, 杨敬荣, 丁燕玲, 等. 云芝多糖的比色法

——酚-硫酸法. 南京药学院学报, 1980, 11(2): 71

- 3 胡奇芬, 夏晓君, 孙红月. 吸附树脂法测定生脉注射液中人参总皂甙. 中草药, 1988, 19(7): 8
- 4 李松林, 任延军, 崔熙. 猪苓多糖测定计算方法探讨. 中成药, 1994, 16(2): 57
- 5 曾昭钧. 均匀设计及其应用. 沈阳: 辽宁人民出版社, 1994. 10

(收稿: 1997-09-01)