

## 茵陈蒿方传统与现代浸提方法对比

高雅言, 孙盼盼, 张超, 李超英\*  
(长春中医药大学, 长春 130117)

**[摘要]** 目的:对比茵陈蒿方传统与现代浸提方法,确定最佳提取工艺。方法:以茵陈蒿方传统煎煮法为基础,采用紫外分光光度法,以总绿原酸、总环烯醚萜苷、总蒽醌及总多糖的综合评分为指标,通过单因素试验和正交试验优化茵陈蒿方的提取工艺。结果:最佳提取工艺为加12,8,6倍量水提取3次,提取时间分别为1,1,0.5 h;再加6倍量80%乙醇提取2次,每次0.5 h。结论:不同提取方法对茵陈蒿方有效成分含量有明显影响,两步提取法较其他方法更能充分提取其有效成分,且方法稳定可行,为该方合理应用和进一步研究提供实验依据。

**[关键词]** 茵陈蒿汤;有效组分或成分;传统煎煮;现代浸提

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0018-05

## Comparison of Traditional and Modern Extraction Methods for Yinchenhao Prescription

GAO Ya-yan, SUN Pan-pan, ZHANG Chao, LI Chao-ying\*  
(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine optimum extraction technology by comparing traditional and modern

**[收稿日期]** 20121029(008)

**[基金项目]** 吉林省科技计划项目(200905101)

**[第一作者]** 高雅言,大专,实验师,从事中药炮制及中药制剂研究,Tel:0431-86045207

**[通讯作者]** \*李超英,博士,教授,从事药物新型给药系统及中药新药研究,Tel:0431-86786969,E-mail:chaoying\_li@126.com

量较生品有所增加,推测其炮制原理可能与受热过程中糖苷键断裂使原儿茶酸增加<sup>[11]</sup>及黄酒加入增加了原儿茶醛溶出度有关。但蒸法与砂烫法究竟哪个更好,还有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 2010:209.
- [2] 雷教. 雷公炮制论[M]. 尚志钧,重辑. 合肥:安徽科技出版社,1991:46.
- [3] 中华人民共和国药政管理局. 全国中药炮制规范[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:71.
- [4] 徐钢,鞠成国,于海涛,等. 中药狗脊炮制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):238.
- [5] 许栒,步显坤,周翎,等. 烫狗脊中的酚性化合物研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):71.

- [6] 于海涛,鞠成国,章琦,等. 狗脊生、制品不同提取部位对成骨细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):36.
- [7] 杜中梅,关复敏,贾天柱. 正交法优选酒炙仙茅的最佳炮制工艺[J]. 中成药,2008,30(6):883.
- [8] 邢俊波,王朝红. HPLC法测定肺炎平胶囊中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):8.
- [9] 王冰,宋崎,周小初,等. 综合加权评分法优化山萸肉蒸制工艺[J]. 中成药,2008,30(10):1487.
- [10] 贾恒明,刘敏,张良,等. HPLC法测定狗脊补肾片中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J]. 解放军药学学报,2006,22(6):448.
- [11] 白桐菲. 狗脊及炮制品化学成分研究[D]. 大连:辽宁中医药大学药学院,2008.

[责任编辑 仝燕]

extraction methods of Yinchenhao prescription. **Method:** Based on traditional decoction of Yinchenhao prescription, the content of index components were determined by UV spectrophotometry, with composite score of total chlorogenic acid, total iridoid glycosides, total anthraquinones and total polysaccharides as index, extraction technology of Yinchenhao prescription was optimized by single factor test and orthogonal test. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted 3 times with 12, 8, 6 times the amount of water, extraction time of 1, 1, 0.5 h, respectively; Then extracted 2 times with 6 times the amount of 80% ethanol, 0.5 h per time. **Conclusion:** Different extraction methods had significant effects on the content of active ingredients in Yinchenhao prescription, two-step extraction method was better than other methods in extracting active ingredients from Yinchenhao prescription, and it was stable and feasible, it could provide experimental basis for reasonable application and further study of in Yinchenhao prescription.

[ **Key words** ] Yinchenhao prescription; active components and ingredients; traditional decoction; modern extraction

茵陈蒿汤出自于张仲景的《伤寒论》,由茵陈、桅子、大黄 3 味中药组成,是治湿热黄疸之要方,药用历史悠久。我国医药学者对茵陈蒿方传统煎煮法<sup>[1]</sup>、一般煎煮法<sup>[2]</sup>、回流法<sup>[3]</sup>不断进行研究和优化,评价指标已由一种有效成分或组分发展至 3 种<sup>[4-6]</sup>。方中茵陈为君药,主要利胆退黄成分为绿原酸;桅子为方中臣药,主要成分为总环烯醚萜苷类,且含绿原酸;大黄主要成分为总蒽醌类;多糖为方中各中药共有成分,现代研究表明多糖类成分药理作用广泛,具有增强药效和提高免疫功能的作用。因此本实验选用总绿原酸、总环烯醚萜苷、总蒽醌,总多糖作为茵陈蒿方浸提方法、工艺优化和质量控制的评价指标。紫外分光光度法可测定总绿原酸、总环烯醚萜苷、总蒽醌及总多糖<sup>[7-9]</sup>,且方法简便易行。在此基础上,本实验对茵陈蒿汤的传统水煎煮法、已用的提取方法、本研究新提出的回流法及两步提取法的工艺进行系统比较,为优化茵陈蒿方的浸提方法和临床合理应用等提供实验依据。

## 1 材料

TU 1810 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),AL204 型电子天平(梅特勒—托利多仪器(上海)有限公司),KDM 型电热套(山东鄞城光明仪器有限公司)。

茵陈(菊科植物滨蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分)、桅子(茜草科植物桅子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实)、大黄(蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根及根茎)均购于吉林省宏检大药房,经长春中医药大学高士贤教授鉴定。*D*-葡萄糖、绿原酸、桅子苷、大黄素对照品(均购于中国药品生物制品检定所,批号分别为 110833-200402, 0753-200111, 749-200108, 110756-

200110),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 总绿原酸含量测定

**2.1.1 对照品溶液配制** 精密称取绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇溶解并定容,即得。

**2.1.2 供试品溶液制备** 精密量取茵陈蒿方提取液 1.0 mL,挥干,加 50% 甲醇溶解并定容,即得。

**2.1.3 检测波长的确定** 参照 2010 年版《中国药典》,对照品溶液和供试品溶液于 200 ~ 600 nm 扫描,确定最大吸收波长 325 nm。

**2.1.4 标准曲线的制备** 分别精密量取对照品溶液 1.0, 1.5, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 mL,置于 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度。以 50% 甲醇为空白,于 325 nm 处测定吸光度(*A*),以 *A* 对质量浓度绘制标准曲线,得回归方程  $A = 223.5C + 0.0056$  ( $r = 0.9991$ ),表明绿原酸在 0.8096 ~ 3.6432 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.1.5 重复性试验** 取同一批样品 6 份,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,测定绿原酸含量。结果 RSD 0.13%,表明该方法重复性良好。

**2.1.6 加样回收率试验** 分别精密量取已知含量的茵陈蒿方提取液 9 份,每份 0.5 mL,置于 100 mL 量瓶中,每 3 份为 1 组,各组分别加入绿原酸对照品溶液 145, 180, 210 μL,按 2.1.2 项下方法制备,进行含量测定,计算平均回收率 98.74%,RSD 0.86%。

### 2.2 总环烯醚萜苷含量测定

**2.2.1 对照品溶液的配制** 精密称取桅子苷对照品适量,加甲醇溶解定容,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密量取茵陈蒿方提取液 1.0 mL,挥干,加甲醇溶解并定容,即得。

**2.2.3 检测波长的确定** 参照 2010 年版《中国药

典》,将对照品溶液和供试品溶液于 200 ~ 400 nm 扫描,确定最大吸收波长 234 nm。

**2.2.4 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 0.4, 0.6, 0.8, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。以甲醇为空白,于 234 nm 处测定  $A$ ,以  $A$  为纵坐标,质量浓度为横坐标,得标准曲线方程  $A = 162.24C - 0.0062$  ( $r = 0.9994$ ),表明栀子苷在 1.16 ~ 5.22  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.2.5 重复性试验** 取同一批样品 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,测定总环烯醚萜苷含量。结果表明 RSD 1.45%,说明该方法重复性良好。

**2.2.6 加样回收率试验** 精密量取 0.5 mL 已知含量的茵陈蒿方提取液共 9 份,分别置于 100 mL 量瓶中,每 3 份为 1 组,依次加入栀子苷对照品溶液 500, 625, 725  $\mu\text{L}$ ,按 2.2.2 项下方法制备,依法进行含量测定,计算平均回收率 99.08%,RSD 1.01%。

### 2.3 总蒽醌含量测定

**2.3.1 对照品溶液的配制** 精密称取大黄素对照品适量,加甲醇溶解并定容,即得。

**2.3.2 供试品溶液的制备** 精密量取茵陈蒿提取液 5.0 mL,加三氯甲烷萃取 3 次,每次 5 mL,合并三氯甲烷层,水浴挥干,精密加入 0.6% 乙酸镁甲醇溶液 5 mL,即得。

**2.3.3 检测波长的确定** 参照 2010 年版《中国药典》,将对照品溶液和供试品溶液于 400 ~ 600 nm 扫描,确定最大吸收波长 510 nm。

**2.3.4 标准曲线的制备** 分别精密量取对照品溶液 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 mL 于具塞试管中,水浴挥干,精密加入 0.6% 乙酸镁甲醇溶液 5.0 mL,静置显色 30 min,以 0.6% 乙酸镁甲醇溶液为空白,于 510 nm 处测定  $A$ ,以  $A$  为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得标准曲线方程  $A = 17.319C + 0.0827$  ( $r = 0.9994$ ),表明大黄素在 9.64 ~ 43.38  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.3.5 加样回收率试验** 精密量取 2.5 mL 已知含量的提取液共 9 份,分别置于 5 mL 量瓶中,分成 3 组,依次加入大黄素对照品溶液 500, 625, 725  $\mu\text{L}$ ,用水定容至刻度,摇匀。按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,依法进行含量测定,计算平均回收率 96.20%,RSD 0.92%。

### 2.4 多糖含量测定

**2.4.1 对照品溶液的配制** 精密称取葡萄糖对照品适量,用水溶解至刻度,即得。

**2.4.2 供试品溶液的制备** 精密量取茵陈蒿方提取液 1.0 mL 置具塞试管中,加 5% 苯酚溶液 1.0 mL,混匀,迅速加入浓硫酸 5.0 mL,摇匀,水浴显色 20 min,取出,冷却至室温,即得。

**2.4.3 吸收波长的确定** 将对照品溶液和供试品溶液于 400 ~ 700 nm 扫描,结果最大吸收波长 487 nm。

**2.4.4 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL,按 2.4.2 项下方法制备,于 487 nm 处测定  $A$ ,以  $A$  为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得回归方程  $A = 47.068C + 0.028$  ( $r = 0.9996$ ),线性范围 2.87 ~ 17.25  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.4.5 加样回收率试验** 分别精密量取 0.5 mL 已知含量的提取液共 9 份,3 份为 1 组,分别置于具塞试管中,依次加入葡萄糖对照品溶液 140, 175, 210  $\mu\text{L}$ ,加水定容至 1 mL。按 2.4.2 项下方法制备,依法进行含量测定,计算平均回收率 98.37%,RSD 0.84%。

### 2.5 茵陈蒿汤提取工艺考察

#### 2.5.1 煎煮法

**2.5.1.1 传统煎煮工艺<sup>[1]</sup>** 称取茵陈 18 g,加 720 mL 水煎煮至 360 mL,加入栀子 9 g,大黄 6 g,煎煮 30 min,过滤,冷却至室温,用水定容至 250 mL,即得。

**2.5.1.2 一般煎煮工艺** 王立强等<sup>[2]</sup>采用 20 倍量热水煎煮 2 次,每次 40 min,过滤,合并滤液;刘太华等<sup>[3]</sup>称取处方量茵陈蒿、栀子和大黄,加 10 倍量水煎煮 2 次,每次 1 h,合并滤液,减压浓缩。综合考虑,称取处方量茵陈、栀子和大黄,加入 15 倍量水煎煮 2 次,每次 40 min,过滤,合并煎煮液,浓缩,定容至 250 mL,即得。

**2.5.2 回流法** 研究过程中发现直火煎煮时,在火候(武火与文火)判断标准方面存在人为差异,不利于控制,故本试验分别对 2.5.1 项下 2 种煎煮工艺进行改进,采用加热套回流提取,即传统回流工艺和一般回流工艺,并对 2 种水提回流工艺进行比较。

**2.5.2.1 传统回流工艺** 称取茵陈 18 g,加水 720 mL,回流提取 1 次,共 2.5 h,再加入栀子和大黄,煎煮 30 min,过滤,冷至室温,加水定容至 250 mL,即得。

**2.5.2.2 一般回流工艺** 取处方量茵陈、栀子和大黄,加 15 倍量水回流提取 2 次,每次 40 min,过滤,合并滤液,浓缩,加水定容至 250 mL,即得。

**2.5.2.3 乙醇回流提取工艺<sup>[2-3]</sup>** 称取处方量茵

陈、栀子和大黄,加6倍量70%乙醇回流提取2次,每次1.0 h,过滤,冷至室温,加水定容至250 mL,即得。

### 2.5.3 两步提取(水提和醇提)法

**2.5.3.1 饮片吸水率考察** 称取该复方中药饮片3份,分别加入一定倍量水,每隔20 min,观察中药饮片透心与否,滤过,量取滤液体积,直至滤液体积不变为止,计算饮片吸水率。结果确定吸水率为4倍量。

**2.5.3.2 水提工艺优选** 选取加水量、提取温度、时间和次数为考察因素,以总绿原酸、总环烯醚萜

苷、总萹醌及总多糖的综合评分为指标,采用正交试验优选水提取工艺,因素水平见表1,试验安排及结果见表2,方差分析见表3。

表1 茵陈蒿方水提取工艺  $L_9(3^4)$  正交试验因素水平

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取数/次
1	6	0.5	1
2	8	1.0	2
3	10	1.5	3

表2 茵陈蒿方水提取工艺  $L_9(3^4)$  正交试验安排

No.	A	B	C	D	总绿原酸 /mg·g <sup>-1</sup>	总环烯醚萜苷 /mg·g <sup>-1</sup>	总萹醌 /mg·g <sup>-1</sup>	总多糖 /mg·g <sup>-1</sup>	综合评分
1	1	1	1	1	2.230	6.400	0.106	54.080	51.983
2	1	2	2	2	3.417	9.700	0.209	84.726	84.059
3	1	3	3	3	3.699	10.867	0.278	95.993	97.629
4	2	1	2	3	3.677	10.074	0.197	71.656	82.072
5	2	2	3	1	3.948	11.194	0.267	95.993	98.948
6	2	3	1	2	2.615	7.568	0.152	66.023	64.290
7	3	1	3	2	3.756	11.225	0.248	88.106	94.019
8	3	2	1	3	2.750	8.003	0.162	60.840	65.634
9	3	3	2	1	3.575	10.432	0.225	84.275	88.026
$K_1$	77.89	76.03	60.64	79.65					
$K_2$	81.77	82.88	84.72	80.79					
$K_3$	82.56	83.32	96.87	81.78					
R	4.67	7.290	36.229	2.126					

注:综合评分 = 总绿原酸含量/总绿原酸最高含量 × 25 + 总环烯醚萜含量/总环烯醚萜最高含量 × 25 + 总萹醌含量/总萹醌最高含量 × 25 + 总多糖含量/总多糖最高含量 × 25。

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	37.478	2	5.519	>0.05
B	100.338	2	14.775	>0.05
C	2 040.129	2	300.417	<0.05
D(误差)	6.79	2		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$  (表6同)。

由直观分析可知,影响提取效果的因素顺序为  $C > B > A$ ,得最佳工艺组合为  $A_3B_3C_3$ 。方差分析表明仅有提取次数对提取效果有显著性影响,为节约能源和时间,综合考虑,最终确定水提取工艺为分别加12(8+4),8,6倍量水提取3次,提取时间分别为1.0,1.0,0.5 h。按优选工艺进行3次验证试验,结果总绿原酸提取量分别为3.925,3.993,3.880 mg·g<sup>-1</sup>;总环烯醚萜依次为11.210,11.116,11.148 mg·g<sup>-1</sup>;总萹醌分别为0.273,0.269,0.270 mg·g<sup>-1</sup>;总多糖分别为96.443,95.091,95.767 mg·

g<sup>-1</sup>;表明优选的工艺条件稳定可行。

**2.5.3.3 醇提工艺优选** 选取乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间和次数为考察因素以总绿原酸、总环烯醚萜苷及总萹醌的综合评分为指标,采用正交试验优选醇提取工艺,因素水平见表4,试验安排及结果见表5,方差分析见表6。

表4 茵陈蒿方醇提取工艺  $L_9(3^4)$  正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 乙醇用量 /倍	C 提取时间 /h	D 提取数 /次
1	70	4	0.5	1
2	80	6	1.0	2
3	90	8	1.5	3

根据直观分析可知,影响提取效果的因素顺序为  $D > B > A > C$ 。方差分析表明仅有提取次数对提取工艺有显著性影响,综合考虑,确定选择  $A_2B_2C_1D_2$  为最佳提取工艺,即加6倍量80%提取2次,每次0.5 h。按优选的工艺条件进行3次验证试

表 5 茵陈蒿方醇提取工艺  $L_9(3^4)$  正交试验安排

No.	A	B	C	D	总绿	总环烯	总蒽醌	综合
					原酸	醚萜苷		
					$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	评分
1	1	1	1	1	0.281	0.795	0.063	36.217
2	1	2	2	2	0.513	1.327	0.193	69.859
3	1	3	3	3	0.589	1.579	0.222	81.358
4	2	1	2	3	0.520	1.350	0.219	72.805
5	2	2	3	1	0.418	1.117	0.246	64.896
6	2	3	1	2	0.657	1.579	0.407	100.00
7	3	1	3	2	0.520	1.290	0.215	71.202
8	3	2	1	3	0.647	1.234	0.274	81.277
9	3	3	2	1	0.440	1.010	0.214	61.157
$K_1$	62.478	60.075	72.498	54.090				
$K_2$	79.234	72.011	67.940	80.354				
$K_3$	71.212	80.838	72.485	78.480				
R	16.756	20.763	4.558	26.264				

注:综合评分 = 总绿原酸含量/总绿原酸最高含量  $\times 100/3$  + 总环烯醚萜含量/总环烯醚萜最高含量  $\times 100/3$  + 总蒽醌含量/总蒽醌最高含量  $\times 100/3$ 。

表 6 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	421.382	2	10.171	>0.05
B	651.526	2	15.726	>0.05
C(误差)	41.430	2	1.000	
D	1288.163	2	31.0963	<0.05

验,结果表明优选的醇提取工艺稳定可行。

茵陈蒿方不同浸提方法比较分析见表 7。

表 7 不同浸提方法对茵陈蒿方中有效成分的比较

提取工艺	总绿原酸	总环烯醚	总蒽醌	总多糖	综合
	$/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	萜苷 $/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$			
传统煎煮	2.225	6.391	0.056	66.192	43.077
一般煎煮	1.422	9.848	0.096	78.529	50.047
传统回流	3.399	9.765	0.150	84.163	63.969
一般回流	4.151	11.618	0.199	101.401	77.746
70%乙醇回流	3.806	9.987	0.685	78.417	84.718
两步回流	4.528	12.645	0.613	95.767	95.505

### 3 讨论

由表 7 可知,一般煎煮工艺要优于传统煎煮工艺,但煎煮法不利于对温度和控制,因此将 2 种煎煮法改成控温的加热回流提取法,结果发现方法 3,4 较煎煮法各有效组分含量均提高显著,且方法 4 优于方法 3。两步回流提取工艺结果表明,水提后增加醇提工艺使方中各种有效成分含量明显高于单纯水提或单纯醇提。本实验采用总绿原酸、总环烯醚萜苷、总蒽醌和多糖 4 个有效组分的含量为评价指标,可以充分反映浸提方法和工艺对该复方药效物质的影响和变化规律,使优选的提取工艺可行、合理。

#### [参考文献]

- [1] 聂凤,聂磊,张建荣,等. 二种方法煮取茵陈蒿汤的利胆作用研究[J]. 河北中医药学报, 1998, 13(4):25.
- [2] 王立强,王喜军. 茵陈蒿汤乙醇提取物与水提取物对小鼠保肝作用的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(5):263.
- [3] 杜伟,卢金福,樊宏伟. 茵陈蒿汤效应成分测定与提取工艺合理性研究[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(2):175.
- [4] 王乾丽,梁会,曹佩雪,等. 不同制法茵陈蒿汤中京尼平-1- $\beta$ 龙胆二糖苷的含量比较[J]. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(5):37.
- [5] 王涛,梁会,曹佩雪,等. 不同制法茵陈蒿汤中没食子酸、绿原酸的含量比较[J]. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(5):10.
- [6] 郭红玲,曹佩雪,潘卫东,等. 不同制法茵陈蒿汤中栀子苷、对羟基苯乙酮、大黄酸的含量比较[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11):2614.
- [7] 王锦玉,孙晓丽,全燕,等. 筋骨草中总环烯醚萜苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):3.
- [8] 薛鹏喜,童志平,谢远. 超临界  $\text{CO}_2$  萃取穗花大黄中总蒽醌工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9):56.
- [9] 陈化,陈竹,梁斌,等. 紫外-可见分光光度法测定环草石斛中石斛多糖的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(39):3690.

[责任编辑 全燕]