

柴胡疏肝散不同配伍对柴胡皂苷 a 溶出量的影响

王林林,王春艳,张丹参,张万明*,王治宝
(河北北方学院药理学系,河北 张家口 075000)

[摘要] 目的:研究柴胡疏肝散不同配伍对柴胡皂苷 a 溶出量的影响。方法:采用 $L_8(2^7)$ 正交设计法,以 HPLC-DAD 测定各配伍样品中柴胡皂苷 a 的含量,并对数据进行单因素方差分析。结果:正交设计各因素对柴胡皂苷 a 溶出率的影响大小为使药>佐药>臣药。单因素对其影响均有显著性差异,交互作用无显著性差异。4 组分法中,各组间均有显著性差异。不同药味数分组中,各大组之内不同配伍柴胡皂苷 a 溶出率不同,各组间溶出率:复方>五五配伍>单煎液>六六配伍、两两配伍>四四配伍>三三配伍。结论:含有白芍、香附、川芎的配伍组中柴胡皂苷 a 的溶出率较低,含有枳壳和甘草配伍组中柴胡皂苷 a 的溶出率较高,全方组中柴胡皂苷 a 的溶出率最高。

[关键词] 柴胡疏肝散;柴胡皂苷 a;配伍;高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)09-0046-04

Influence of Different Compatibility of Chaihu Shugan Powder on Dissolution of Saikosaponin a

WANG Lin-lin, WANG Chun-yan, ZHANG Dan-shen, ZHANG Wan-ming*, WANG Zhi-bao
(Department of Pharmacy, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To study on influence of different compatibility of Chaihu Shugan powder on dissolution of saikosaponin a. **Method:** $L_8(2^7)$ orthogonal design method was used with determining the content of saikosaponin a in each compatibility samples by HPLC/DAD, and data was analyzed by single-factor variance analysis. **Result:** Influence degree of every factors in orthogonal test on dissolution of saikosaponin a was: guide>adjuvant>associate. Effect of it (dissolution of saikosaponin a) had significant difference by single-factor, but there was no significant difference in interaction. It had significant difference among groups in the 4 groups classified. In the different number of drugs classified, dissolution of saikosaponin a was different in every major groups with different compatibility, dissolution rates among every groups: the compound group>five-five compatibility group>single-decoction group>six-six compatibility group, two-two compatibility group>four-four compatibility group>three-three compatibility group. **Conclusion:** Dissolution of saikosaponin a was lower from groups including Radix Paeoniae Alba, Rhizoma Cyperi and Rhizoma Chuanxiong, it was higher from groups including Auranti Fructus and Glycyrrhiza Uralensis, it was the highest from the compound group.

[Key words] Chaihu Shugan powder; saikosaponin a; compatibility; HPLC

柴胡疏肝散由柴胡、陈皮、川芎、枳壳、白芍、香附、甘草 7 味中药组成,具有疏肝解郁、行气止痛之功能,主治肝气郁滞证。中药治疗抑郁症也有较多临床应用,其中柴胡及柴胡类方的应用最为广泛,寻找和研制出具有良好抗抑郁作用的中药成为当前研究的热点^[1]。君药柴胡的主要有效成分柴胡皂苷 a 的溶出量越大,疏肝解郁作用越强^[2]。本试验采用正交设计法研究该复方不同配伍对柴胡皂苷 a 溶出量的影响,以期找到最佳配伍剂量,获得有效成分的最大煎出率,为该复方的进

[收稿日期] 20120106(006)
[基金项目] 河北省教育厅基金项目(z2008106)
[第一作者] 王林林,在读硕士研究生, Tel: 15369336727, E-mail: wanglinlin00@126.com
[通讯作者] *张万明,教授,硕士生导师, Tel: 13582638180, E-mail: zwm19650228@163.com

一步研究提供参考。

1 材料

Waters600 型高效液相色谱仪(美国 Waters),ME/SE 系列微量电子天平(德国 Sartorius)。

柴胡、陈皮、枳壳、白芍、香附、川芎、甘草等均购于天津中新药业药店,经河北北方学院中药研究所马淑云教授鉴定均为正品,药材于 50 ℃干燥箱中干燥 8 h,按复方规定比例(柴胡 60 g,陈皮 60 g,枳壳 45 g,白芍 45 g,香附 45 g,川芎 45 g,甘草 15 g)。称量各单味药材,粉碎,过 60 目筛,置干燥器中备用。

柴胡皂苷 a 对照品(含量 98%,南京泽朗医药科技有限公司),乙腈、甲醇为色谱纯,水为三重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品溶液制备

2.1.1 正交设计供试品溶液的制备 柴胡疏肝散配伍组合正交设计,选臣药(B)、佐药(C)、使药(D)为 3 个考察因素,选用药和不用药 2 个水平,并考虑两两交互作用的 $L_8(2^7)$ 正交表进行组合。因素水平表见表 1。按比例称取各配伍组粉末,制备供试品溶液。

表 2 正交设计不同配伍对柴胡皂苷 a 溶出量的影响

No.	B	C	BC	D	BD	CD	空白	煎出量 /mg·g ⁻¹
CH + BCD	1	1	1	1	1	1	1	3.947
CH + BC	1	1	1	2	2	2	2	2.971
CH + BD	1	2	2	1	1	2	2	3.532
CH + B	1	2	2	2	2	1	1	1.737
CH + CD	2	1	2	1	2	1	2	4.304
CH + C	2	1	2	2	1	2	1	3.215
CH + D	2	2	1	1	2	2	1	4.274
CH +	2	2	1	2	1	1	2	2.532
K ₁	3.047	3.609	3.431	4.014	3.306	3.130	3.293	—
K ₂	3.581	3.019	3.197	2.614	3.322	3.498	3.335	—
R	0.534	0.590	0.234	1.400	0.016	0.368	0.042	—

表 3 不同配伍正交试验方差分析

因素	SS	df	MS	F	P
B	0.571	1	0.571	190.333	<0.05
C	0.697	1	0.697	232.333	<0.05
BC	0.110	1	0.110	36.667	—
D	3.923	1	3.923	1307.667	<0.01
BD	0.000	1	0.000	0.000	—
CD	0.271	1	0.271	90.330	—
误差	0.003	1	0.003	—	—

注: $F_{0.05}(2,7) = 161.0$ 。

2.2.2 不同配伍对柴胡皂苷 a 溶出率的影响 按

表 1 柴胡疏肝散不同配伍正交试验因素水平

水平	B 臣药	C 佐药	D 使药
1	+	+	+
2	-	-	-

注:(+):用药;(-):不用药。臣药(香附、川芎)、佐药(陈皮、枳壳、芍药)、使药(甘草)。

2.1.2 不同配伍供试品溶液的制备 按比例称取各配伍组(全方,柴胡 + 臣药,柴胡 + 佐药,柴胡 + 使药,柴胡 + 臣药 + 佐药,柴胡 + 臣药 + 使药,柴胡 + 佐药 + 使药)药材粉末,其中白芍 1.5 g,川芎 1.5 g,陈皮 2 g,枳壳 1.5 g,香附 1.5 g,甘草 0.5 g,精密称定,置于 100 mL 烧瓶中,加入 10 倍量 80% 乙醇,加热回流提取 90 min,提取 2 次,减压浓缩,定容至 50 mL,制备供试品溶液^[3]。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件^[4] Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Thermo),流动相水-乙腈(57:43),柱温 30 ℃,检测波长 208 nm,流速 0.8 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。结果见表 2,3。

2.2.1 项下方法测定。结果见表 4。对柴胡疏肝散不同药味配伍中柴胡皂苷 a 的溶出率进行方差分析,以柴胡皂苷 a 的提取率为指标,可将柴疏肝散不同配伍组合有效部位按提取率由高到低分为 4 组(A,B,C,D,表 4),对 4 组中柴胡皂苷 a 含量进行方差分析,F 值为 37,查 F 界值表,P < 0.001,各煎液组中柴胡皂苷 a 平均含量有差别,进一步做 q 检验,各组间均有显著性差异。

结果表明,A 组中配伍组合时对柴胡皂苷 a 的溶出最多。配伍药材多数在 4 味以上,其中柴胡与佐药、使药共同配伍使用时,对柴胡皂苷 a 的溶出最

表 4 不同药味配伍柴胡皂苷 a 的溶出量

No.	配伍组合	柴胡皂苷 a /mg·g ⁻¹	分组
1	CH	2. 532	D
2	CH + CX	3. 257	D
3	CH + CP	3. 366	C
4	CH + BS	3. 315	C
5	CH + ZQ	3. 617	B
6	CH + XF	2. 861	D
7	CH + GC	4. 274	A
8	CH + CX + CP	2. 825	D
9	CH + CX + BS	2. 404	D
10	CH + CX + ZQ	3. 859	A
11	CH + CX + XF	1. 737	D
12	CH + CX + GC	3. 655	B
13	CH + CP + BS	3. 301	C
14	CH + CP + ZQ	3. 331	C
15	CH + CP + XF	3. 336	C
16	CH + CP + GC	3. 665	B
17	CH + BS + ZQ	3. 320	C
18	CH + BS + XF	3. 129	D
19	CH + BS + GC	3. 653	B
20	CH + ZQ + XF	3. 749	A
21	CH + ZQ + GC	3. 661	B
22	CH + ZQ + GC	3. 581	B
23	CH + CX + CP + BS	2. 421	D
24	CH + CX + CP + ZQ	3. 684	B
25	CH + CX + CP + XF	3. 352	C
26	CH + CX + CP + GC	3. 290	C
27	CH + CP + BS + ZQ	3. 215	D
28	CH + CP + BS + XF	3. 057	D
29	CH + CP + BS + GC	3. 459	B
30	CH + BS + ZQ + XF	3. 334	C
31	CH + BS + ZQ + GC	3. 685	B
32	CH + ZQ + XF + GC	3. 881	A
33	CH + CX + CP + BS + ZQ	4. 038	A
34	CH + CX + CP + BS + XF	2. 803	D
35	CH + CX + CP + BS + GC	3. 449	C
36	CH + CP + BS + ZQ + XF	3. 953	A
37	CH + CP + BS + ZQ + GC	4. 304	A
38	CH + BS + ZQ + XF + GC	4. 017	A
39	CH + CX + CP + BS + ZQ + XF	2. 971	D
40	CH + CX + CP + BS + ZQ + GC	3. 454	B
41	CH + CP + BS + ZQ + XF + GC	3. 922	A
42	合煎液	3. 947	A

注:CH:柴胡;BS:白芍;CX:川芎;CP:陈皮;ZQ:枳壳;XF:香附;
GC:甘草。

多,比复方的溶出率高 8. 98% ;B 组中均体现了柴胡 + 佐药枳壳或使药甘草与其他(1 味或 2 味药药材)组合时,也促进柴胡皂苷 a 的溶出;C 组中配伍关系多数体现在柴胡与佐药(陈皮与白芍药味)配伍的情况;D 组柴胡皂苷 a 的溶出最少,多数配伍关系表现为柴胡与臣药药味的配伍情况,其中当柴胡与臣药共同配伍时,对柴胡皂苷 a 的溶出最少。推测 A 组中的配伍组合利于柴胡皂苷 a 的溶出。臣药对柴胡皂苷 a 的溶出有抑制作用。佐药中的药味不是全部对柴胡皂苷 a 溶出率起到促进作用。使药对柴胡皂苷 a 的溶出有促进作用。

柴胡与各药味在两两配伍时,柴胡皂苷 a 的溶出增多,只有柴胡与香附配伍时,柴胡皂苷 a 溶出最少,为 D 组,溶出效果类似于单味柴胡,其原因可能是香附中主要成分为挥发油类,在煎煮过程中易挥发,故对柴胡皂苷 a 的影响作用小。柴胡与甘草配伍时柴胡皂苷 a 的溶出最多为 A 组,从结果中也可以看出甘草与其他药味配伍时,柴胡皂苷 a 的溶出均较多,研究表明甘草中存在多种活性成分,发挥表面活性剂的作用^[4],这验证了古人所讲的甘草“有调和诸药之功”的说法。其次枳壳中化学成分对柴胡皂苷 a 的溶出有促进作用,为 A 组,与相关文献报道一致^[6]。

柴胡与各药味在三三配伍时,柴胡皂苷 a 的溶出增多,但总趋势较两两配伍时下降。当柴胡、川芎与白芍或香附、陈皮配伍时,柴胡皂苷 a 溶出减少为 D 组,其结果近似于柴胡单味药材。表明川芎、白芍、陈皮配伍时,可能由于此 3 味中药含有的有机酸性成分较多(如没食子酸、苯甲酸、阿魏酸等有机酸均显酸性),其中部分酸性较强,促使柴胡皂苷 a 的转化或分解。而陈皮与枳壳所含的有效成分均为二氢黄酮类,但两者的炮制方法不同,本方中陈皮为醋制,而枳壳为麸炒,可能由于炮制方法的不同,促使了对柴胡皂苷 a 作用的不同。

柴胡与各药味在四四配伍时,柴胡皂苷 a 的溶出增多,但较两两配伍,仍为下降趋势。柴胡与枳壳、香附、甘草配伍时,柴胡皂苷 a 溶出最多为 A 组,其溶出效果类似于柴胡 + 枳壳 + 甘草,故进一步说明香附在配伍中发挥促进柴胡皂苷 a 溶出的作用可以忽略。柴胡与川芎、陈皮、白芍配伍时对柴胡皂苷 a 的溶出最少为 D 组,其溶出效果类似于单味柴胡。

当柴胡与各药味在五五配伍时,柴胡皂苷 a 的

溶出增多,较两两配伍,呈上升趋势,其原因可能是五五配伍组合组主要分布在 A 组。以柴胡 + 陈皮 + 白芍 + 枳壳 + 甘草溶出最多为 A 组,表现出甘草与枳壳合用时作用最强。而柴胡 + 川芎 + 白芍 + 香附 + 陈皮溶出最少为 D 组,表现出川芎、白芍、香附对柴胡皂苷 a 的抑制作用,溶出率近似于单味柴胡。在六六配伍与全方中柴胡皂苷 a 的溶出均表现增多,与上述类似。

3 讨论

臣药、佐药、使药对柴胡皂苷 a 的溶出影响均有显著性差异,其中使药影响最大。使用佐药与使药时柴胡皂苷 a 的溶出 > 不用的量;不使用臣药时柴胡皂苷 a 的溶出 > 使用臣药时的量。推测可能佐药与使药中有促进柴胡皂苷 a 溶出的化学成分或抑制其在煎煮过程中分解的物质。臣药中可能存在抑制柴胡皂苷 a 溶出或促进转化的化学成分。

本文在不同药味配伍对柴胡皂苷 a 溶出率影响的研究中,只是从体外化学成分定量的角度来研究,初步揭示本复方的配伍规律和作用机制。严格的说,不能够简单地以某一个指标性成分增多来定论

配伍关系的优劣,而是应该从复方整体分析,并结合相关药效学试验进行综合评价,相关工作正在进一步研究。

[参考文献]

- [1] 胡燕,洪敏. 柴胡类方治疗抑郁症研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):247.
- [2] 王桐生. 柴胡疏肝解郁功用与其用量及配伍关系研究[D]. 北京:北京中医药大学,2008.
- [3] 王春艳,张万明,张丹参,等. 柴胡疏肝散的提取工艺优化[J]. 中药材,2009,32(11):1746.
- [4] 王春艳,张丹参,张万明,等. HPLC/DAD 测定柴胡疏肝散中 4 种活性成分的含量[J]. 中成药,2010,32(3):422.
- [5] 曹林林,孙月娥. 从中药化学成分探讨配伍变化在现代中的应用[J]. 陕西中医学院学报,2003,26(10):49.
- [6] 李军,石人兵,刘斌,等. 四逆散不同配伍对柴胡皂苷 a, b₂ 及柴胡总皂苷煎出量的影响[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(2):115.

[责任编辑 全燕]

欢迎订阅 2012 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。本刊立足于行业报道的前沿,关注相关的政策动态,跟踪报道中医药重大课题,及时分析报道中医药的新政策、新技术、新发明、新成果、新疗法,努力使信息的选择与表达方式能够充分体现中医药发展水平,为广大读者提供一流的信息服务。

《中国中医药信息杂志》1994 年创刊,2002 年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已被波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等国际检索系统收录。

《中国中医药信息杂志》为月刊,大 16 开国际开本,112 页,国内外公开发行,每册定价 10 元,全年 120 元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部 邮编:100700 电话:010-64014411-3278 E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn