

• 药剂 •

# 复方柴胡汤提取分离的研究

马振山, 全 燕, 王 琳, 王元瑜 (中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

**摘要:** 采用正交设计, 以柴胡皂苷 A, 芍药苷, 橙皮苷, 甘草酸四种指标成分为指标, 考察了药材粒度、加水量、提取时间等工艺条件, 并对醇沉、超滤及大孔树脂吸附三种分离精制方法进行了成分及药效学比较, 结果大孔树脂吸附法精制效果最好。

**关键词:** 复方柴胡汤; 提取条件; 吸附树脂; 超滤法

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)04-0001-03

## Studies on Preparation Techniques of Compound Caihutang

MA Zhen-shan, TONG Yan, WANG Lin, WANG Yuan-yu  
(Institute of Chinese Materia Medica, Beijing, 100700, China)

**Abstract:** The extraction conditions of Co. Caihutang, granularity of medical raw material, amount of water and extraction time, were optimized by orthogonal design method with content determination of saikosaponin A, paeoniforin, hesperidin and glycyrrhizic acid. The purification conditions were screened to be absorption resin by contents of main chemical compounds and pharmacological tests.

**Key words:** Co. Caihutang; extraction condition; absorption resin; ultrafilter

复方柴胡汤是临床经验方, 由柴胡、芍药、陈皮、甘草等组成, 主治上呼吸道感染、发烧等, 疗效肯定。本研究以柴胡皂苷 A, 芍药苷, 橙皮苷, 甘草酸四种成分为指标, 采用正交设计考察了复方柴胡汤水煎煮工艺条件; 用上述四种成分为指标及主要药效指标, 对醇沉、超滤及大孔树脂吸附三种分离精制方法进行了综合比较。

### 1 仪器与药品

岛津 LC-4A 高效液相色谱仪, 岛津 CR-4A 数据处理机, ZORBAKRX-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6mm × 25cm); HP-100 D-101 型大孔吸附树脂 (天津)。柴胡皂苷 A 对照品: 纯度 98%, 由上海医药工业研究所提供, 橙皮苷对照品 (721-9405)、芍药苷对照品 (763-9407)、甘草酸对照品 (731-9403): 纯度均为 98%, 由中国药品生物制品检定所提供。有机溶剂均为分析纯, 北京化工厂。

### 2 水提取工艺条件的正交设计

根据处方中各药材有效成分的性质, 考察了药材粒度、加水量、提取时间、提取次数 4 因素, 每个因素 2 个水平, 见表 1。

表 1 实验因素水平

因素	A 药材粒度	B 加水量 (为生药倍数)	C 提取时间(h)	D 提取次数(次)
1	粗粒	20	2.5	2
2	饮片	15	1.5	1

按比例处方称取各药味, 按 L<sub>8</sub>(2<sup>7</sup>) 正交表的实验安排, 进行不同水平的实验, 以柴胡皂苷 A、橙皮苷、芍药苷、甘草酸为指标, 分别测定含量, 结果见表 2。对柴胡皂苷 A, 芍药苷, 橙皮苷, 甘草酸进行极差、方差分析, 结果见表 3、4。(柴胡皂苷 A, 芍药苷, 橙皮苷, 甘草酸的含量测定研究另文报道)。

表 2 实验方案与结果

因素	A B A×B C A×C B×CD							含量(mg/100g 生药)			
	1	2	3	4	5	6	7	柴胡皂苷 A	芍药苷	橙皮苷	甘草酸
1	1	1	1	1	1	1	1	6.7	520	460	367
2	1	1	1	2	2	2	2	4.1	465	323	243
3	1	2	2	1	1	2	2	3.5	491	341	247
4	1	2	2	2	2	1	1	5.0	579	359	292
5	2	1	2	1	2	1	2	6.7	577	556	276
6	2	1	2	2	1	2	1	6.9	614	558	268
7	2	2	1	1	2	2	1	5.6	535	368	254
8	2	2	1	2	1	1	1	6.5	513	328	220

表 3 极差分析

指标	柴 胡 皂 苷 A						
因素	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D
列号	1	2	3	4	5	6	7
$K_1$	19.3	24.6	22.8	22.4	23.5	24.8	24.1
$K_2$	25.6	20.6	22.0	22.2	21.3	20.0	20.1
$\bar{K}_1$	4.8	6.1	5.7	5.6	5.9	6.2	6.0
$\bar{K}_2$	6.4	5.1	5.5	5.6	5.3	5.0	5.2
R	1.6	0.92	0.18	0.06	0.56	1.20	0.83
S	4.955	1.715	0.069	0.003	0.617	2.898	1.389

指标	芍 药 苷						
因素	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D
列号	1	2	3	4	5	6	7
$K_1$	2057	2177	2035	2124	2139	2192	2250
$K_2$	2238	2119	2261	2172	2156	2104	2046
$\bar{K}_1$	514	544	509	531	535	548	568
$\bar{K}_2$	560	530	565	543	539	526	511
R	45.6	14.1	56.7	11.7	3.9	21.7	56.7
S	4126	424	3442	278	31	926	5208

指标	橙 皮 苷						
因素	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D
列号	1	2	3	4	5	6	7
$K_1$	1482	1898	1478	1724	1687	1704	1741
$K_2$	1810	1394	1815	1569	1606	1589	1548
$\bar{K}_1$	370	475	369	431	422	426	436
$\bar{K}_2$	453	349	454	392	401	390	387
R	82.2	125.9	84.3	38.9	20.4	21.3	49.1
S	13477	17130	14198	3018	823	1646	4935

指标	甘 草 酸						
因素	A	B	A × B	C	A × C	B × C	D
列号	1	2	3	4	5	6	7
$K_1$	1450	1155	1084	1144	1103	1155	1181
$K_2$	1001	1012	1083	1023	1064	1012	986
$\bar{K}_1$	287	289	271	286	276	289	295
$\bar{K}_2$	254	253	271	256	266	253	246
R	35.3	35.6	0.1	30.2	9.6	35.6	48.7
S	2195	1297	0	1833	187	2532	4746

由表 2、表 3 结果可知, 4 个指标成分提出量极差大小顺序为: 柴胡皂苷 A A > B > D > C; 橙皮苷 B > A > D > C; 芍药苷 D > A > B > C; 甘草酸 D > B > A > C

表 4 方差分析

指标	方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
柴胡皂苷 A	A	$S_A = 4.955$	1	4.955	$F_A = 131.4$	**
	B	$S_B = 1.715$	1	1.715	$F_B = 45.5$	*
	C	$S_C = 0.003$	1	0.003	$F_C = 0.09$	
	B × C	$S_{B \times C} = 2.898$	1	2.898	$F_{B \times C} = 76.8$	*
	D	$S_D = 1.389$	1	1.389	$F_D = 36.8$	*
芍药苷	E	$S_E = 0.072$	2	0.036		
	A	$S_A = 4126$	1	4126	$F_A = 16.8$	
	B	$S_B = 424$	1	424	$F_B = 1.7$	
	A × B	$S_{A \times B} = 3442$	1	3442	$F_{A \times B} = 25.8$	*
	C	$S_C = 278$	1	278	$F_C = 0.9$	
橙皮苷	D	$S_D = 5208$	1	5208	$F_D = 21.1$	*
	E	$S_E = 494$	2	247		
	A	$S_A = 13477$	1	13477	$F_A = 10.9$	
	B	$S_B = 17130$	1	17130	$F_B = 25.7$	*
	C	$S_C = 3018$	1	3018	$F_C = 2.4$	
甘草酸	D	$S_D = 4935$	1	4935	$F_D = 3.9$	
	E	$S_E = 2469$	2	1235		
	A	$S_A = 2195$	1	2195	$F_A = 23.5$	*
	B	$S_B = 1297$	1	1297	$F_B = 27.1$	*
	C	$S_C = 1833$	1	1833	$F_C = 19.7$	*
甘草酸	B × C	$S_{B \times C} = 2532$	1	2532	$F_{B \times C} = 27.1$	*
	D	$S_D = 4746$	1	4746	$F_D = 50.8$	*
	E	$S_E = 187$	2	93		

注:  $F_{0.05(1,2)} = 18.5$   $F_{0.01(1,2)} = 98.5$  \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

以上四个指标, 因素主次不完全相同, 唯煎煮时间(C 因素) 均一致, 对其指标成分的得率影响最小, 即提取时间水平 1 和水平 2 均可选择, 影响柴胡皂苷 A 的主要因素是药材粒度(A 因素), 其次是加水量(B 因素), 煎提次数(D 因素); 影响橙皮苷的主要因素是加水量(B 因素), 其它影响因素次之; 影响芍药苷和甘草酸的主要因素是煎提次数(D 因素), 其次是加水量(B 因素), 药材粒度(A 因素)。

柴胡皂苷 A 因素 B × C, 芍药苷 A × B, 甘草酸 B × C 的 R 值与 F 值较大, 应考虑它们之间有交互作用存在. 需进行其二元分析. 结果表明, 柴胡皂苷 B × C 的最好搭配条件是  $B_1C_1$ , 芍药苷 A × B 为  $A_2B_1$ , 甘草酸 B × C 是  $B_1C_1$ 。

方差分析表明: 影响柴胡皂苷 A 得率极显著( $P < 0.01$ ) 因素是药材粒度(A 因素) 加水量(B 因素),

煎提次数(D 因素), B×C 的交互作用对得率影响亦显著( $P < 0.05$ ), 而煎提时间(C 因素)无显著意义。药材粒度(A 因素), 煎提次数(D 因素)及 A×B 的交互作用对芍药苷得率影响显著( $P < 0.05$ ), 煎提时间(C 因素)对得率无显著意义。影响橙皮苷得率显著( $P < 0.05$ )因素是加水量(B 因素), 其它因素均无显著意义。影响甘草酸得率的显著因素( $P < 0.05$ )为药材粒度(A 因素), 加水量(B 因素), 煎煮时间(C 因素), 煎煮次数(D 因素)及 B×C 交互作用。

结论: 我们采用了多指标有效成分的收率对提取条件进行综合评价, 优选最佳工艺, 经过极差、交互作用及方差的分析后, 最佳水提取工艺可选定为: 药材选用饮片, 加水总量 20 倍, 煎提时间 2.5h, 分 2 次煮提。

### 3 不同分离工艺的比较

在最佳水提取工艺的基础上, 设计了醇沉法、超滤法、大孔树脂吸附三种不同分离精制工艺进行比较, 以四种指标成分(柴胡皂苷 A、陈皮苷、芍药苷、甘草酸)的含量和主要药效学指标(抗病毒、抗炎、免

疫)作为判断的依据(药效方法另文), 进行对比实验研究, 优选出最佳工艺。

**3.1 醇沉法** 采用最佳水提取工艺得到的水煎液, 水浴浓缩至相对密度为 1.10(60℃)的浸膏, 加入乙醇, 使含醇量为 60%, 放置过夜, 药液滤过, 回收乙醇, 真空干燥。

**3.2 超滤法** 采用最佳水提取工艺得到的水煎液, 离心(2500rpm, 15min), 循环打入中空超滤柱, 截留分子量为 5 万, 反复洗涤超滤柱, 超滤液水浴浓缩, 真空干燥。

**3.3 大孔吸附树脂分离法** 采用最佳水提取工艺得到的水煎液, 离心(2500rpm, 15min), 通过 H 型大孔吸附树脂柱, 大孔吸附树脂用量为 2 倍生药量, 以 1 倍树脂量水洗树脂柱后, 以 5 倍树脂量 70% 乙醇洗脱, 收集乙醇溶液, 减压回收乙醇, 真空干燥。

**3.4 三种分离精制工艺干浸膏得率及四个指标成分(柴胡皂苷 A、陈皮苷、芍药苷、甘草酸)含量测定结果, 见表 5。**

表 5 三种分离精制工艺实验数据的比较

分离精制工艺	投料量 (g)	干浸膏		含 量(mg/100g 生药)			
		得量 g	得率%	柴胡皂苷 A	芍药苷	橙皮苷	甘草酸
醇沉	108	17.5	16.2	2.26	752	105	120
超滤	108	24.0	22.2	2.51	978	137	222
大孔吸附树脂	108	4.8	4.4	3.42	1060	371	152

以上实验结果表明: 干膏得率高低顺序为: 超滤法> 醇沉法> 大孔吸附树脂法; 四个指标成分含量顺序为: 柴胡皂苷 A、橙皮苷、芍药苷均是大孔吸附树脂法> 超滤法> 醇沉法, 而甘草酸含量为超滤法> 大孔吸附树脂法> 醇沉法。由此可见, 大孔吸附树脂法干膏率最低, 柴胡皂苷 A、橙皮苷、芍药苷含量最高, 优于醇沉法及超滤法。

**3.5 三种分离精制工艺药效学对比实验** 为了保证制剂质量及临床疗效, 在上述含量测定的基础上采用主要药效学指标, 优选出药理作用强, 有效成分含量亦高的工艺。实验结果表明: 三种工艺的药理作用强度基本相同。(表 6)

综观分析, 大孔树脂分离法干膏得率低, 四种指标成分含量高, 能保持原有汤剂药效, 故最佳精制方法应选择大孔树脂分离法。

### 4 小结

本文以柴胡皂苷 A, 芍药苷, 橙皮苷, 甘草酸四

表 6 三种分离精制工艺药效实验数据

分离精制	剂量 (g 生药/kg)	抗病毒 (肺指数)	抗炎 (渗出)	免疫功能 K 值抑制超敏
醇沉	6	+	+	++
	12	++	++	++
	24	++	++	++
超滤	6	+	+	+
	12	++	+	++
	24		++	++
大孔树脂分离	6	++	+	++
	12	++	++	++
	24	++		++

注: 与对照组比: +  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$  种指标成分, 对复方柴胡汤中的各主要药味提取工艺条件进行全面考察, 并对醇沉、超滤及大孔树脂吸附三种分离精制方法进行了成分及药效学比较, 结果大孔树脂吸附法精制效果最好, 有关大孔树脂吸附分离工艺的研究, 将另文报道。