

消炎止痒洗剂中药材的提取方法研究^Δ

莫国栋^{1*}, 杨瑾¹, 梅全喜², 翁舜龙¹, 梁丽嫦¹ (1. 中山市第二人民医院, 广东 中山 528447; 2. 广州中医药大学附属中山医院, 广东 中山 528447)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2920-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.14

摘要 目的: 探讨消炎止痒洗剂中药材的提取方法。方法: 采用高效液相色谱法测定黄芩苷、盐酸小檗碱含量, 并以此为指标, 比较水提醇沉、醇提水沉、醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值)、醇提水沉结合水提醇沉(调pH值)4种方法的提取效果。结果: 水提醇沉方法下黄芩苷含量最高, 醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值)方法下盐酸小檗碱含量最高, 但醇提水沉方法下二者的含量相当且处于中间水平, 故选择醇提水沉法提取。结论: 所选工艺稳定、可行, 可用于消炎止痒洗剂中药材的提取。

关键词 消炎止痒洗剂; 提取方法; 黄芩苷; 盐酸小檗碱

Study on Extraction Technology of Medicinal Material from Anti-inflammation and Antipruritic Lotion

MO Guo-dong¹, YANG Jin¹, MEI Quan-xi², WENG Shun-long¹, LIANG Li-chang¹ (1. Zhongshan Hospital of TCM, Guangdong Zhongshan 528447, China; 2. Zhongshan Hospital Affiliated to Guangzhou University of TCM, Guangdong Zhongshan 528447, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To discuss the extraction method of Anti-inflammation and antipruritic lotion. **METHODS:** The contents of baicalin and berberine hydrochloride were determined by HPLC and used as index, the extraction effects of water extraction and alcohol precipitation, alcohol extraction and water precipitation, combination of two methods (no change of pH value), combination of two methods (adjusting pH value) were compared. **RESULTS:** By using water extraction and alcohol precipitation, the content of baicalin was the highest; by using alcohol extraction and water precipitation combined with water extraction and alcohol precipitation (No change of pH value), the content of berberine hydrochloride was the highest; by using alcohol extraction and water precipitation, the contents of above 2 materials were in the medium level. The alcohol extraction and water precipitation was the optimal method. **CONCLUSIONS:** The process is stable and feasible, and can be used for the extraction of Anti-inflammation and antipruritic lotion.

KEY WORDS Anti-inflammation and antipruritic lotion; Extraction method; Baicalin; Berberine hydrochloride

消炎止痒洗剂是由黄芩、黄柏、黄连、白鲜皮、苦参等10味中药组成, 以黄芩、黄柏、黄连为主药。黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根, 其中所含的黄芩苷能显著影响白细胞的多种功能, 表明其有抗炎作用^[1]; 黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 其有明显的抗菌、抗炎作用^[2]; 黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的干燥根茎, 其具有抗炎与免疫调节作用^[3]。此方诸药合用, 对防治皮炎、湿疹、皮肤瘙痒等具有良好的效果。现代药理学研究表明, 黄连提取液、苦参提取液有明显的抑菌作用, 对皮肤致病真菌也有不同程度的抑制作用^[4]。为了改进提取工艺, 根据临床用药经验和处方药材中有效成分的性质, 笔者分别采用水提醇沉、醇提水沉、醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值)和醇提水沉结合水提醇沉(调pH

值)4种工艺, 提取药材, 并对提取工艺进行比较最终确定消炎止痒洗剂中药材的提取工艺。

1 材料

1.1 仪器

RE52C 旋转蒸发仪、B-220 恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂); AS20500A 超声波清洗器、AP-01P 真空泵(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); UV-1800 紫外-可见分光光度计[岛津仪器(苏州)有限公司]; LC-1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

黄芩苷、盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为110715-201117、110713-000911); 乙腈(上海锦源精细化工厂, 批号: 20110215); 甲醇(广州市东江化工厂, 批号: 2012071102); 乙醇(广州洛辛宝化学试剂有限公司)。

[3] 范文成, 叶晓红, 韩月芝, 等. 连花清瘟胶囊醇提部分浸膏的带式真空干燥工艺优选[J]. 中国中药杂志, 2008, 33

(24): 2980.

[4] 李智, 韩静, 岑琴, 等. 喷雾干燥法改善中药浸膏吸湿性的研究[J]. 中国药房, 2007, 18(27): 2114.

(收稿日期: 2012-09-13 修回日期: 2012-11-14)

^Δ 基金项目: 中山市科技计划(医疗卫生)资助项目(No. 20122A167)

* 主管药师。研究方向: 药物制剂。电话: 0760-88438709。

E-mail: moguodong2002@163.com

1.3 药材

试验用10种药材分别购买于高要市得隆中药饮片厂、佛山市天泰药业有限公司中药饮片厂、广西玉林市祥生中药饮片有限责任公司。药材来源见表1。

表1 药材来源

Tab 1 Medicinal material source

药材名称	产地	生产厂家	批号
马齿苋	广西	高要市得隆中药饮片厂	101211
苦参	山西	高要市得隆中药饮片厂	111109
白鲜皮	河北	高要市得隆中药饮片厂	110719
百部	广西	高要市得隆中药饮片厂	110719
黄柏	四川	佛山市天泰药业有限公司中药饮片厂	110402
黄芩	河北	广西玉林市祥生中药饮片有限责任公司	110502
黄连	四川	高要市得隆中药饮片厂	110327
荆芥	河北	高要市得隆中药饮片厂	110327
薄荷	广西	高要市得隆中药饮片厂	110327
地肤子	四川	高要市得隆中药饮片厂	110327

2 黄芩苷和盐酸小檗碱的含量测定^[6]

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil BDS C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(B), 梯度洗脱; 检测波长: 278 nm; 进样量: 10 μl; 流速: 1 ml/min; 柱温: 30 °C。在此色谱条件下, 黄芩苷和盐酸小檗碱的保留时间分别为8.5、16.8 min。梯度洗脱程序见表2。

表2 梯度洗脱程序

Tab 2 Gradient elution process

t, min	A, %	B, %
0~5	21	79
>5~20	33	67
>20~23	>33~21	>67~79
>23~30	21	79

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 黄芩苷对照品溶液的制备 精密称取于60 °C减压干燥4 h的黄芩苷对照品1.460 mg, 加甲醇制成质量浓度为0.058 4 mg/ml的黄芩苷对照品溶液。

2.2.2 盐酸小檗碱对照品溶液的制备 精密称取于100 °C干燥5 h的盐酸小檗碱对照品1.032 mg, 加甲醇制成质量浓度为0.103 2 mg/ml的盐酸小檗碱对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

分别称取黄柏10 g、黄连4 g、黄芩10 g、马齿苋10 g、地肤子10 g、苦参10 g、百部10 g、白鲜皮10 g、荆芥10 g, 粉碎成粗颗粒, 混匀后加入8倍量75%乙醇溶液, 浸泡30 min, 加热回流提取3次, 每次1.5 h, 滤过, 合并滤液。按药材和药液1:1(m/V)浓缩, 取浓缩液, 按照浓缩液和蒸馏水1:3(V/V)加入煮沸的蒸馏水, 边加边搅拌, 静置24 h, 滤过, 合并滤液, 用蒸馏水调整体积至400 ml, 吸取上述溶液, 0.45 μm微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察

分别精密量取质量浓度为0.058 4 mg/ml的黄芩苷对照品溶液、0.103 2 mg/ml的盐酸小檗碱对照品溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml, 分别用甲醇定容至1 ml, 进样10 μl, 记录色谱图。分别以黄芩苷、盐酸小檗碱峰面积积分值(y)为纵坐标, 黄芩苷、盐酸小檗碱质量浓度(x, mg/ml)为横坐标, 进行线性回归, 得黄芩苷、盐酸小檗碱回归方程分别为 $y=2\ 638\ 987.02x-15\ 105.74$ ($r=0.999\ 9, n=6$)、 $y=2\ 658\ 227.59x-3\ 769.77$ ($r=0.999\ 9, n=6$)。结果表明, 黄芩苷、盐酸小檗碱的质量浓度分别在0.010 02~0.504 6、0.010 36~0.515 1 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

15 105.74($r=0.999\ 9, n=6$)、 $y=2\ 658\ 227.59x-3\ 769.77$ ($r=0.999\ 9, n=6$)。结果表明, 黄芩苷、盐酸小檗碱的质量浓度分别在0.010 02~0.504 6、0.010 36~0.515 1 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

2.5.1 黄芩苷的精密度试验 取“2.3”项下供试品溶液适量, 按上述色谱条件连续进样测定6次。结果, RSD=1.73% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

2.5.2 盐酸小檗碱的精密度试验 取“2.3”项下供试品溶液适量, 按上述色谱条件连续进样测定6次。结果, RSD=1.90% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

2.6 稳定性试验

2.6.1 黄芩苷的稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液适量, 分别于0、2、4、6、8、12 h按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, RSD=1.82% ($n=6$), 表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.6.2 盐酸小檗碱的稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液适量, 分别于0、2、4、6、8、12 h按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果, RSD=2.06% ($n=6$), 表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.7 加样回收率试验

2.7.1 黄芩苷的加样回收率试验 准确量取已知质量浓度(0.101 5 mg/ml)的黄芩苷供试品溶液1 ml, 共9份, 分别加入0.082 0、0.082 0、0.082 0、0.102 0、0.102 0、0.102 0、0.119 6、0.119 6、0.119 6 mg/ml的黄芩苷对照品溶液1 ml, 按上述色谱条件测定, 计算加样回收率, 结果见表3。

2.7.2 盐酸小檗碱的加样回收率试验 准确量取已知质量浓度(0.103 0 mg/ml)的盐酸小檗碱供试品溶液1 ml, 共9份, 分别加入0.082 5、0.082 5、0.082 5、0.103 0、0.103 0、0.103 0、0.124 0、0.124 0、0.124 0 mg/ml的盐酸小檗碱对照品溶液1 ml, 按上述色谱条件测定, 计算加样回收率, 结果见表3。

表3 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 3 Results of recovery tests($n=9$)

成分	试验号	样品量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	\bar{x} , %	RSD, %
黄芩苷	1	0.101 5	0.082 0	0.181 2	97.2	98.8	1.87
	2	0.101 5	0.082 0	0.181 9	98.0		
	3	0.101 5	0.082 0	0.181 1	97.1		
	4	0.101 5	0.102 0	0.198 6	95.2		
	5	0.101 5	0.102 0	0.204 6	101.1		
	6	0.101 5	0.102 0	0.203 5	100.0		
	7	0.101 5	0.119 6	0.219 9	99.0		
	8	0.101 5	0.119 6	0.220 5	99.5		
	9	0.101 5	0.119 6	0.224 0	102.4		
盐酸小檗碱	1	0.103 0	0.082 5	0.184 0	98.2	99.0	1.88
	2	0.103 0	0.082 5	0.183 2	97.2		
	3	0.103 0	0.082 5	0.182 0	95.7		
	4	0.103 0	0.103 0	0.203 6	97.7		
	5	0.103 0	0.103 0	0.207 6	101.6		
	6	0.103 0	0.103 0	0.206 1	100.1		
	7	0.103 0	0.124 0	0.225 9	99.1		
	8	0.103 0	0.124 0	0.226 4	99.5		
	9	0.103 0	0.124 0	0.230 0	102.4		

3 提取方法的选择

3.1 试验方法

3.1.1 水提醇沉法 分别称取黄柏10 g、黄连4 g、黄芩10 g、马齿苋10 g、地肤子10 g、苦参10 g、百部10 g、白鲜皮10 g、荆芥10 g,粉碎成粗颗粒,混匀后加入8倍量蒸馏水,浸泡30 min,加热回流提取3次,每次1.5 h,滤过,合并滤液。按药材和药液比1:1(*m/V*)浓缩,取浓缩液缓缓加入95%乙醇,使含醇量达到75%,边加边搅拌,静置24 h,滤过,合并滤液,滤液浓缩至无醇味,放至室温,用蒸馏水调整体积到400 ml,混匀,滤过,即得样品1。

3.1.2 醇提水沉法 分别称取黄柏10 g、黄连4 g、黄芩10 g、马齿苋10 g、地肤子10 g、苦参10 g、百部10 g、白鲜皮10 g、荆芥10 g,粉碎成粗颗粒,混匀后加入8倍量75%乙醇溶液,浸泡30 min,加热回流提取3次,每次1.5 h,滤过,合并滤液。按药材和药液1:1(*m/V*)浓缩,取浓缩液,按浓缩液和蒸馏水1:3(*V/V*)加入煮沸的蒸馏水,边加边搅拌,静置24 h,滤过,合并滤液,用蒸馏水调整体积至400 ml,即得样品2。

3.1.3 醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值) 分别称取黄柏10 g、黄连4 g、苦参10 g、百部10 g,粉碎成粗颗粒混匀后加入8倍量75%乙醇溶液,浸泡30 min,加热回流提取3次,每次1.5 h,滤过,合并滤液,按照药材和药液1:1(*m/V*)浓缩,取浓缩液,按浓缩液和蒸馏水1:3加入煮沸的蒸馏水,边加边搅拌,静置24 h,滤过,合并滤液,备用。另称取黄芩10 g、马齿苋10 g、地肤子10 g、白鲜皮10 g、荆芥10 g,粉碎成粗颗粒混匀后加入8倍量蒸馏水,浸泡30 min,加热回流提取3次,每次1.5 h,滤过,合并滤液,按药材和药液比1:1(*m/V*)浓缩,取浓缩液缓缓加入95%乙醇,使含醇量达到75%,边加边搅拌,静置24 h,滤过,合并滤液,浓缩至与饮片总质量相当的体积,备用。取上述制备好的2份浓缩液,混合均匀,用煮沸的蒸馏水调整体积至400 ml,静置24 h,滤过,即得样品3。

3.1.4 醇提水沉结合水提醇沉(调pH值) 分别称取黄柏20 g、黄连8 g,粉碎成粗颗粒,粉碎成粗颗粒混匀后加入6倍量70%乙醇溶液,浸泡30 min,加热回流提取3次,提取时间分别为2、1、1 h,滤过,合并滤液,按药材和药液1:1(*m/V*)浓缩(28~30 ml),取浓缩液,按浓缩液和蒸馏水1:1(*V/V*)加入煮沸的蒸馏水,搅拌,滤过,用20% HCl调pH值为1~2,冷藏24 h,滤过,收集滤渣,得混合提取物。另称取黄芩20 g、苦参20 g、百部20 g、马齿苋20 g、地肤子20 g、白鲜皮20 g、荆芥20 g,粉碎成粗颗粒混匀后加入8倍量蒸馏水,浸泡30 min,加热回流提取2次,每次1.5 h,滤过,合并滤液,按药材和药液比1:1(*m/V*)浓缩至160~180 ml,取浓缩液缓缓加入适量95%乙醇,使含醇量达到70%,边加边搅拌,静置24 h,滤过,合并滤液,浓缩至与饮片总质量相当的体积,得蒸馏水提取物。取上述混合提取物适量,用适量沸水溶解,与蒸馏水提取物混合均匀后,加入适量蒸馏水,并用20% NaOH调pH值为6~7,再用蒸馏水调整体积至800 ml,滤过,即得样品4。

3.2 试验结果

量取样品1、2、3、4各适量,按上述方法测定各样品中黄芩

苷和盐酸小檗碱含量,并进行对比分析。结果,综合比较后发现,醇提水沉法下虽然两个指标的含量均不是最高,但均处于中间水平,故选用醇提水沉法作为提取方法。不同提取方法下黄芩苷和盐酸小檗碱含量测定结果见表4。

表4 不同提取方法下黄芩苷和盐酸小檗碱含量测定结果(mg/ml, *n*=3)

Tab 4 Results of content determination of baicalin and berberine hydrochloride by different extraction methods(mg/ml, *n*=3)

成分	水提醇沉法	醇提水沉法	水提醇沉+醇提水沉(不调pH值)法	水提醇沉结合醇提水沉(调pH值)法
黄芩苷	0.651 2	0.226 0	0.108 2	0.270 0
盐酸小檗碱	0.107 0	0.218 3	0.249 8	0.157 0

4 讨论

消炎止痒洗剂由苦参、黄芩、黄连等清热燥湿、泻火解毒中药组成,苦参中主要含有苦参碱、苦参总碱等生物碱,在体外对痢疾杆菌、变形杆菌及金黄色葡萄球菌等均有明显的抑制作用^[6]。现代药理学研究也表明,黄连提取液、苦参提取液等有明显的抑菌作用,尤其对皮肤致病真菌有不同程度的抑制作用^[4];且临床应用表明,本品对防治皮炎、湿疹、皮肤瘙痒等具有良好的效果。以往主要采用水提醇沉工艺,但制得的制剂质量一直不够稳定,为了寻找更佳的提取工艺,笔者设计了水提醇沉、醇提水沉、醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值)和醇提水沉结合水提醇沉(调pH值)4种工艺制备,并以其有效成分黄芩苷和盐酸小檗碱含量为指标进行比较。结果发现,水提醇沉工艺提取的黄芩苷含量虽然很高,但盐酸小檗碱的含量却降到了最低;醇提水沉结合水提醇沉(不调pH值)工艺虽然提取的盐酸小檗碱的含量最高,但黄芩苷的含量却降到了最低;醇提水沉工艺和水提醇沉结合醇提水沉(调pH值)工艺两者相比,盐酸小檗碱和黄芩苷的含量相当,考虑到操作过程的复杂性和生产企业的生产效率、生产成本,最后将消炎止痒洗剂的工艺路线定为醇提水沉法。

参考文献

- [1] 侯艳宁,朱秀媛,程桂芳,等.黄芩苷的抗炎机理[J].药学学报,2000,35(3):161.
- [2] 胡俊青,胡晓.黄柏化学成分和药理作用的现代研究[J].当代医学,2009,15(7):139.
- [3] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].15版.北京:人民卫生出版社,2005:112.
- [4] 梅全喜.现代中药药理与临床应用手册[M].北京:中国中医药出版社,2008:115、123.
- [5] 陈蓉,周洪波,梅全喜. RP-HPLC法测定克痒敏酊中盐酸小檗碱的含量[J].中国药房,2008,19(21):1 646.
- [6] 杨海峰,张芬.苦参碱及其制剂的研究进展[J].齐鲁药事,2008,27(9):551.

(收稿日期:2013-03-11 修回日期:2013-06-30)