

壮药净癣洗剂提取工艺研究

韦振源, 钟江, 龚敏阳

(广西中医药大学第一附属医院·广西 南宁 530023)

摘要 目的:优选壮药净癣洗剂的提取工艺。方法:基于壮药净癣洗剂组方原则,测定其干浸膏回收率,以提取时间、加水倍数和提取次数为考察因素,采用正交试验优选壮药净癣洗剂的提取工艺条件。结果:壮药净癣洗剂的最佳提取工艺为加水量为 8 倍量,提取时间为 1 h,提取次数为 2 次。结论:该工艺合理稳定,操作易行。

关键词 壮药净癣洗剂;正交试验;提取工艺;优化

壮药净癣洗剂是广西中医药大学第一附属医院皮肤科广西名中医钟江教授的临床应用验方,主要用于治疗足癣、手癣、头癣、体癣等癣类皮肤疾病,临床应用已超过 10 年,临床疗效达 90.8%,且无明显不良反应^[1]。壮药净癣洗剂以土荆皮、功劳木、蛇床子、白鲜皮、地肤子、苦参、广藿香等中药组方而成,具有清热解暑、消炎止痛、消肿杀虫止痒等功效,尤宜于皮肤病渗出期不宜使用外用药膏的阶段。

本文对壮药净癣洗剂提取工艺的研究采用正交试验设计,以干浸膏回收率作为评价指标,对其提取时间、提取次数、加水量等 3 个主要影响因素进行了提取工艺优化,确定了最佳制剂煎煮提取工艺;旨在规范净癣洗剂的提取制备工艺,提供可靠的试验依据,该制剂的规范化生产和后期的药学试验奠定基础。

1 实验材料

1.1 试药 土荆皮(批号:20190208)、蛇床子(批号:20190312)、功劳木(批号:20190421)、白鲜皮(批号:20190225)、地肤子(批号:201900427)、苦参(批号:201900318)、广藿香(批号:201900504)等 7 味药材:由广西仙荣中药科技有限公司提供,经广西中医药大学第一附属医院杨正腾教授鉴定符合《中国药典》2015 年版一部各品种项下标准。

1.2 仪器 300 L 可倾式夹层锅:武穴富朝化工设备有限公司;JH-100 酒精回收塔:湖南衡阳市金一帆制药设备实业有限公司;WT600F 蠕动泵:保定雷弗流体科技有限公司;YS7114 三相感应电动机:文登市磊元电机厂;DG-1500A 电磁感应铝箔封口:桂林大广电子科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 提取工艺的选择 壮药净癣洗剂为广西中医

药大学第一附属医院皮肤科临床验方,传统使用方法为水煎煮后药液外洗患处,因此本文应用传统工艺水煎煮提取。由于方中的蛇床子和广藿香含有较多的挥发性有效成分,在一人一方煎煮时应后下以尽量避免挥发性有效成分损失。在制剂生产中,因浓缩工艺,使大量挥发性有效成分随蒸汽蒸发而损失。因此,提取工艺对蛇床子和广藿香先进行提取蒸馏液(芳香水),提取药渣留用。

2.2 提取蒸馏液时间的考察 准确称取蛇床子 400 g、广藿香 200 g,加入圆底烧瓶中,加适量(约 2 倍量)水,提取蒸馏液 3 h,每半小时收集 1 次蒸馏液,共收集 6 次,通过测量体积、鼻嗅的方法,分别对收集好的 6 次蒸馏液进行评估。结果,前 1 h 提取的蒸馏液,芳香性浓郁,后 2 h 提取的 4 瓶蒸馏液,随着提取时间的延长,芳香性减弱,再综合实际成本,最终确定蒸馏液提取的时间为 1 h。见表 1。

表 1 蒸馏液提取时间实验结果

提取时间(min)	30	60	90	120	150	180
蒸馏液体积(mL)	45	50	45	45	45	45
芳香性	+++	++	+	+	+	-

注:“+”越多,表示芳香性越强;“-”表示芳香性微弱

2.3 正交实验设计 根据单因素试验结果,采用正交试验法^[2],以煎煮提取时间、药材加水量和提取次数为考察因素,各选 3 水平进行 L₉(3⁴) 试验,因素及水平表见表 2。

表 2 水提取因素水平表

水平	因素			
	A 加水量 (倍)	B 煎煮时间 (h)	C 煎煮次数 (次)	D 空白
1	6	0.5	1	0
2	8	1.0	2	0
3	10	1.5	3	0

2.4 指标的确定 考虑到本处方为复方多成分作

用的特点,因此采用干膏收率作为量化指标进行综合评分,优选出最佳煎煮提取条件。

2.5 样品的制备 按壮药净癣洗剂处方比例准确称取 3/10 倍药材量:土荆皮 60 g、蛇床子 60 g、功劳木 60 g、白鲜皮 40 g、地肤子 60 g、苦参 60 g、广藿香 30 g,共 370 g,称取 9 份。以上 7 味,蛇床子、广藿香先提取蒸馏液 1 h,水溶液和药渣另器保存;其余 5 味,加入提取蒸馏液后的蛇床子、广藿香药渣,按表 2 正交试验安排 9 次试验,合并煎液及蒸馏后的水溶液,滤过,浓缩至约 300 mL,转入 500 mL 量筒中,用蒸馏水定容至刻度,摇匀。精密量取 25 mL 样品至已干燥的恒重蒸发皿内,水浴,蒸干,残渣置于烘箱内保持 105 ℃ 进行干燥 3 h,后立即转至干燥器内进行冷却 30 min。冷却后迅速进行精密称定重量,并计算干浸膏得率。

2.6 干浸膏收率测定 精密量取 25 mL 至已干燥至恒重的蒸发皿内,水浴蒸干,残渣于烘箱 105 ℃ 干燥 3 h,立即置干燥器内冷却 30 min,迅速精密称定重量,按下式计算干浸膏得率。

$$\text{干膏率} = (\text{干膏质量} \times 20) / 370 \times 100\%$$

2.7 试验结果 正交试验结果见表 3,方差分析结果见表 4。

表 3 正交试验结果

试验号	A 加水量	B 提取时间	C 提取次数	D 空白	干膏率 (%)
1	1	1	1	1	7.41
2	1	2	2	2	11.19
3	1	3	3	3	13.83
4	2	1	2	3	12.69
5	2	2	3	1	16.99
6	2	3	1	2	7.39
7	3	1	3	2	15.41
8	3	2	1	3	9.59
9	3	3	2	1	15.34
K ₁	10.810	11.837	8.130	13.247	
K ₂	12.357	12.590	13.073	11.330	
K ₃	13.447	12.187	15.410	12.037	
R	2.637	0.753	7.280	1.917	

表 4 方差分析表

方差来源	偏差平方和 (SS)	自由度 (n)	方差 (MS)	F	显著性
A	10.532	2	5.266	12.347	P > 0.05
B	0.853	2	0.427	1.000	P > 0.05
C	82.895	2	41.448	97.181	P < 0.05
误差	0.85	2			

注: F_{0.01}(1, 2) = 99, F_{0.05}(1, 2) = 19

由表 3 直观分析可知,各因素对水煎煮提取工艺的影响顺序为 C(提取次数) > A(加水量) > B

(提取时间)。方差分析表明因素 C(提取次数)对水提取工艺有显著影响,因素 A(加水量)和 B(提取时间)对水提取工艺的影响均不显著,故理论上水提工艺最佳条件为: A₃B₂C₃。结合表 3 各因素 K 值进行分析,因素 C 尽管煎煮 3 次时 K 值(K₃)最大,但是与煎煮 2 次的 K 值(K₂)相差不大;因素 A 尽管加水量为 10 倍时的 K 值(K₃)最大,但是与加水量为 8 倍时的 K 值(K₂)相差不大。因此,从节约能耗和生产效率上考虑,确定净癣洗剂的最佳水提取工艺条件为 A₂B₂C₂,即:药材加 8 倍量水,提取 2 次,每次提取 1 h。

2.8 验证试验 为了进一步验证提取工艺的稳定性与可靠性,按处方比例称取 1 倍量同批次药材,共 1 233 g,称取 3 份。按“2.5 项”下方法操作,水提工艺条件为:药材加 8 倍量水提取 2 次,每次提取 1 h。合并煎液及蒸馏后的水溶液,滤过,滤液浓缩至 1 000 mL,测定干浸膏收率。干膏率分别为 15.21%、15.30% 和 15.26%。由此可知,按最佳工艺条件进行水煎煮提取,其干膏率均处于较高水平,表明该工艺合理,稳定可行。提取工艺最终确定为:土荆皮、功劳木、白鲜皮、地肤子、苦参 5 味药材,加入提取蒸馏液后的蛇床子、广藿香药渣,加 8 倍量水煎煮 2 次,每次 1 h。

3 讨论

对手足癣的治疗,目前临床上广泛应用的西药有局部使用水杨酸、苯甲酸等角质剥脱剂,口服或外用唑类和丙烯胺类抗真菌药物等^[3]。但是在临床使用上,由于抗真菌药的副作用、价格、易耐药、易复发等问题,使中医药治疗越来越受到关注。

净癣洗剂是由土荆皮、功劳木、蛇床子、白鲜皮、地肤子、苦参、广藿香等中药组成的广西中医药大学第一附属医院验方,具有清热解毒、散瘀消肿、祛风燥湿、杀虫止痒的功效^[1],主要用于足癣、手癣、头癣、体癣、股癣、花斑癣、皮肤念珠菌等,在临床上应用时间较长,治疗效果显著。方中土荆皮具有祛风除湿、杀虫止痒的功效;研究表明土荆皮对红色毛癣菌有强烈的抑制作用^[4];土荆皮内存在广泛的具抗菌活性的内生真菌,是潜在的抗真菌药物的重要资源^[5-6]。功劳木具有清热燥湿、泻火解毒的功效;功劳木的化学成分主要是生物碱类^[7],具有抗菌、消炎、抗病毒、抗癌等作用^[8],实验显示十大功劳属植物无水甲醇溶液提取物具有抑菌活性^[9]。蛇床子性温,味苦辛,功能杀虫止痒燥湿;实验研究明确测定了蛇床子多种皮肤癣菌有显著抑

菌作用^[10];挥发油有体外抗组胺作用^[11];蛇床子素有较好的抗炎作用^[12];挥发油有较强促透能力^[13],在本方中蛇床子可以促进其他药物渗透入皮肤,更好的发挥药效。白鲜皮清热解毒、祛风燥湿,行于肌肤,实验研究结果显示,白鲜皮水浸剂对红色毛癣菌、须癣毛癣菌等皮肤癣菌均有不同程度的抑菌作用^[14];减少炎症介质释放,减轻人体瘙痒感^[15]。地肤子清热除湿止痒,实验证实地肤子水提液可以抑制多种皮肤癣菌;能提高模型致痒阈,具有抗炎、抗过敏的效用,还可以抑制多种真菌^[16]。苦参清热燥湿、杀虫止痒,体外抑菌实验表明苦参有明显的抑菌作用^[17]、抗菌作用^[18];另外也有较强的抗炎作用,减少局部渗出^[19]。藿香芳香化浊,对皮肤癣菌的生长繁殖可以选择性地完全抑制,中国广藿香油的活性最强^[20],广藿香油能抑制多种真菌,研究表明广藿香油对皮肤癣菌可以选择性抑制作用。诸药合用,很好地发挥清热解毒、消炎止痛、杀虫止痒等功效,使皮肤受热均匀、腠理疏通,气血流畅,从而达到治疗的目的。尤其是在皮肤病渗出期不宜使用外用药膏阶段,可使用净癣洗剂收敛杀菌,提高临床治愈率,降低复发,值得临床推广应用。

中药外用洗剂具有制备工艺简单,设备要求不高,局部作用显效迅速、不良反应少、生物利用度较高等特点,是常见的医院制剂剂型。净癣方源自临床应用验方,以液体制剂外洗患处。患者自行煎药,有效部分提取不完全,质量难以稳定,既影响到方药充分发挥作用,也造成药材浪费等缺点。净癣洗剂方传统使用方法为水煎煮后药液外洗患处,因此本文应用传统工艺水煎煮提取。由于方中的蛇床子和广藿香含有较多的挥发性有效成分,在一人一煎煮时应后下以尽量避免挥发性有效成分损失。

正交设计是一种高效、快速的多因素试验设计方法,可用最少的试验次数筛选出最佳试验条件。本实验采用 3 水平 4 因素的正交实验,以干浸膏收率为评价指标对制备工艺进行优化。优化提取工艺条件加 8 倍量水,提取 2 次,每次 1 h,结合最佳工艺验证实验以及中试产品生产实验表明,正交实验优选煎煮提取工艺条件合理、稳定,工艺条件较易控制,具有良好的连续性、稳定性,可操作性强,应用设备为普通常用生产设备,符合壮药净癣洗剂大生产实际需要,可满足临床患者获得稳定保质的用药需求。

参考文献

[1] 张秀萍,钟江,李艳艳,等. 壮药净癣洗剂治疗糜烂型

- 足癣疗效观察[J]. 中国医疗前沿,2012,7(9):58-59.
- [2] 伍小燕,黄权芳,陈朝. 正交试验法优选复方大黄灌肠液的提取工艺[J]. 时珍国医国药,2013,24(7):1639-1641.
- [3] 周华,严鸿兴. 手足癣中医药治疗研究进展[J]. 中华中医药学刊,2011,29(10):2344-2345.
- [4] 唐金花,张薪薪,刘伟,等. 土槿皮对红色毛癣菌的抑菌作用及其超微结构的研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版),2005,28(3):339-341.
- [5] 宋波,刘颀,吕丽艳,等. 苦参、黄芩、乌梅对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和白假丝酵母菌抗菌活性的研究[J]. 中国微生态学杂志,2010,2(6):507-508.
- [6] 郭尚彬,陈钧,王妍,等. 金钱松内生真菌 JJ18 灭螺作用实验研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(4):389-392.
- [7] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科技出版社,1977.
- [8] 浙江植物志编委会. 浙江植物志[M]. 杭州:浙江科技出版社,1992.
- [9] 欧阳蒲月,黄智璇,莫端峰. 华南十大功劳提取物抑菌活性初步研究[J]. 亚热带植物学,2012,41(3):1-6.
- [10] 王昊,杨红伟,杨风琴,等. 丹参、苦参、蛇床子等十种中草药对致病性浅部真菌的抑菌实验研究[J]. 宁夏医学杂志,1997,19(4):4-6.
- [11] 周然,彭涛,冯玛莉,等. 蛇床子挥发油止痒作用相关机制研究[J]. 中国药物与临床,2003,3(1):9-11.
- [12] 于鹏霞,喻婉莹,阚伟娟,等. 蛇床子素的抗炎作用及其机制[J]. 时珍国医国药,2012,23(4):866-868.
- [13] 许卫铭,王晖,李昕,等. 蛇床子挥发油、薄荷醇及冰片对甲硝唑促透作用的比较[J]. 中南药学,2006,4(2):111-113.
- [14] 许玲玲,杨晓东,李群力,等. 白鲜皮提取物抑制皮肤癣菌活性研究[J]. 现代中药研究与实践,2014,28(1):31-34.
- [15] 黄汉辉,黄乐珊,何知广. 白鲜皮对大鼠急性炎症组织中 HA 和 5-HT 的影响[J]. 现代医院,2008,8(10):31-33.
- [16] 王建农,刘青云,姚春海,等. 地肤子“杀虫止痒”外用功能规范研究[J]. 中药材,2012,35(12):1974-1977.
- [17] 彭敬红. 中药苦参、野菊花对浅部真菌的抑菌作用观察[J]. 郧阳医学院学报,1998,17(4):44-45.
- [18] 桂蜀华,付涛,梁远园,等. 苦参碱体外抗真菌活性研究[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(4):382-385.
- [19] 陈慧芝,包海鹰,诺敏,等. 苦参的化学成分和药理作用及临床研究概况[J]. 人参研究,2010,22(3):31-37.

[20] 杨得坡, Chaumont Jean - Pierre, Millet Jolle. 藿香和广藿香挥发油对皮肤癣菌和条件致病真菌的抑制作用[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(1): 9 - 11.

(收稿日期: 2022 - 09 - 15)

基于 GC - MS 分析不同采收期玉米须挥发油成分的动态变化

庄 岩¹, 冯文斌¹, 谭 冰², 霍金海¹, 李梦雪¹

(¹ 黑龙江省中医药科学院·黑龙江 哈尔滨 150036; ² 黑龙江护理高等专科学校·黑龙江 哈尔滨 150036)

摘 要 目的: 分析玉米须不同时期挥发油的化学成分, 阐明 3 个生长期玉米须化学成分的变化规律。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取 3 个时期玉米须的挥发油, 利用气相色谱 - 质谱联用技术分析其化学成分, 并计算各成分的相对含量。对 3 个生长期玉米须的成分进行 OPLS - DA 分析, 结合 VIP 值和 *P* 值, 筛选出显著性差异成分。结果: 从玉米须挥发油中鉴定出 31 种成分, 筛选得到 17 个显著性差异化合物, 其中包括乙酸异龙脑酯、衣兰烯、 α -古巴烯、石竹烯、反式 β 金合欢烯、律草烯、 γ -衣兰油烯等。结论: 3 个生长期玉米须挥发油的成分组成大致相同, 但含量发生较大变化。该研究为玉米须的采摘时期制定提供了物质基础, 为玉米须的临床应用提供参考。

关键词 玉米须; 挥发油; 生长期; GC - MS

玉米须 (Stigmamaydis) 是禾本科农作物玉米 (Zeamaysl) 的干燥花柱和柱头, 被《中华人民共和国药典》(一部) 1997 版收录为常用药材品种之一, 其性味甘平, 无毒, 具有利水消肿、降压、泄热、平肝利胆等功效^[1]。玉米须是我国传统的中药材, 全国各地均广泛栽培玉米, 因此, 作为玉米副产物的玉米须资源十分丰富, 但对它的开发利用非常有限, 大部分被白白丢弃。鉴于玉米须既有明显的药理价值, 又具备一定的食疗特性^[2], 进行工业化开发利用前景相当广阔。当前对玉米须的临床及应用效果研究较多, 对玉米须的采摘时期研究较少, 其活性成分也研究极少。

挥发油是中药中的一类重要活性物质, 普遍具有解表、行气、化湿、开窍等作用^[3]。但目前对玉米须挥发油的成分变化及药效尚不清楚。本实验采用气质联用技术对 3 个时期的玉米须挥发油的化学成分进行分析, 研究相关成分的量变和质变规律, 为进一步阐明玉米须采摘时期以及指导临床合理用药奠定基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Gas Chromatograph Clarus 680 - Mass Spectrometer Clarus SQ 8T 型气质联用仪 (EI 源): 美国 PE 公司; 98 - 1 - BN 型电子调温电热套: 天津市

泰斯特仪器有限公司; YP202N 型电子天平: 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 药材与试剂 玉米须: 由黑龙江农科院实验基地提供, 经黑龙江省中医药科学院王伟明研究员鉴定为禾本科农作物玉米 (Zeamaysl) 的干燥花柱和柱头。石油醚 60 ~ 90℃ (色谱纯): 天津市科密欧化学试剂有限公司; 水为超纯水。

2 方法

2.1 挥发油的提取 取玉米须样品粉末 100 g, 精密称定, 置于 2000 mL 圆底烧瓶中, 加水 1 000 mL 后放置 1 h, 按 2020 年版《中国药典》四部通则挥发油测定法 (甲法) 操作, 提取 8h。收集挥发油, 称重, 平行测定 3 次, 计算挥发油得率。再转移至 10 mL 容量瓶中, 用石油醚定容至刻度, 摇匀, 得样品储备液。

2.2 供试品溶液制备 精密量取 5 mL 样品储备液, 置于 10 mL 容量瓶中, 用石油醚稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得。

2.3 测试条件

色谱条件: Elite - 5MS 毛细管色谱柱 (0.32 mm $\times$ 60 m, 0.25 μ m), 载气为氦气, 体积流量为 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 进样口温度为 220℃, 进样量为 1 μ L, 分流比为 10:1, 程序升温: 初始 70℃, 保持 3 min, 再以 3℃ $\cdot$ min⁻¹ 的速度升至 180℃, 最后以 7℃ $\cdot$ min⁻¹ 的速度升至 220℃, 保持 10 min。

基金项目: 黑龙江省自然联合引导项目 (LH2020H108)

通讯作者: 李梦雪, E-mail: limengxue0310@163.com