

引用:张静宜,贾淑珍,庄宁,魏艳婷,程杰.痛痒消洗剂的制备工艺和质量标准研究[J].中医导报,2025,31(8):86-92.

痛痒消洗剂的制备工艺和质量标准研究*

张静宜^{1,2,3},贾淑珍¹,庄宁⁴,魏艳婷⁵,程杰^{1,2,3}

(1.河北省中医院,河北 石家庄 050000;

2.河北省中医药管理局中药评价及转化重点实验室,河北 石家庄 050000;

3.河北省中药制剂产业技术研究院,河北 石家庄 050000;

4.河北国金药业有限责任公司,河北 邢台 054000;

5.石家庄市第四医院,河北 石家庄 050000)

[摘要] 目的:建立痛痒消洗剂的制备工艺方法和质量控制标准。方法:以没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量及干膏得率为指标,采用Box-Behnken响应面法,以提取时间、浸泡时间和加水量作为影响因素,通过信息熵法对其进行加权,计算综合评分,通过响应面模型分析各影响因素间的交互作用,筛选痛痒消洗剂的最佳提取工艺;采用单因素试验考察过滤与浓缩方式,确定制备工艺;采用薄层色谱(TLC)法对方中五倍子和苦参进行薄层定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法对有效成分没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷进行含量测定。结果:最佳提取工艺参数为第一次加9倍量水,浸泡45 min,煎煮80 min,第二次加7倍量水,煎煮40 min;采用200目滤布过滤,减压(压强为0.05 mbar)浓缩温度控制在55~60℃。苦参、五倍子的TLC图斑点清晰且阴性无干扰。没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷分别在3.76~11.28、0.70~3.48、0.61~3.06、0.02~0.08、0.07~0.36、0.07~0.35 μg/mL范围内线性关系良好($r \geq 0.999 5$),精密度、重复性、稳定性的RSD<2%;平均加样回收率分别为102.46%、101.40%、102.45%、102.01%、102.72%、101.56%,RSD<3%($n=6$)。结论:该制备工艺稳定、可行,且建立的定性定量方法可靠、便捷、专属性强,可作为痛痒消洗剂的质量控制方法。

[关键词] 痛痒消洗剂;制备工艺;质量标准;薄层色谱;高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)08-0086-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.08.014

Study on Preparation Technology and Quality Standard for Tongyangxiao Lotion (痛痒消洗剂)

ZHANG Jingyi^{1,2,3}, JIA Shuzhen¹, ZHUANG Ning⁴, WEI Yanting⁵, CHENG Jie^{1,2,3}

(1.Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang Hebei 050000, China; 2.Key Laboratory of Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine Under Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang Hebei 050000, China; 3.Hebei Industrial Technology Institute for Traditional Chinese Medicine Preparation, Shijiazhuang Hebei 050000, China; 4.Hebei Guogin Pharmaceutical Company Limited, Xingtai Hebei 054000, China; 5.The Fourth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang Hebei 050000, China)

[Abstract] Objective: To optimize the preparation technology and set up the quality standard of Tongyangxiao Lotion (痛痒消洗剂). Methods: Box-Behnken response surface methodology was used to design the experiment with the extraction time, soaking time, and additional amount of water as the investigation factors, and with the content of the extraction rate and dry paste rate of gallic acid, gentiopicrin, magnianin, ferulic acid, cosimin side and 5-O-methylwisamitol side as the evaluation indexes. The weight coefficient was determined by the information entropy method, and the comprehensive score was calculated. The interaction among the influencing factors was analyzed by the response surface model, the optimal extraction process was obtained. Single factor test was used to investigate the filtration and concentration, and preparation process was carried out. Kushen (*Sophorae flavescens radix*) and Wubeizi (*Galla chinensis*) were identified by thin layer

*基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(2021011)

通信作者:程杰,女,主任药师,研究方向为医院药学

chromatography (TLC) method, and the content of active ingredient was determined by High performance liquid chromatography (HPLC) method. Results: The optimal extraction process is as follows: using 9 times the amount of water for 45 min, and extraction 80 min at the first time and 7 times the amount of water decocting 40 min for the second time; Filter with a 200 mesh filter cloth and controlling the concentration temperature in the range of 55–60 °C under reduced pressure (pressure of 0.05 mbar). TLC can identify these extractions, the spots of Kushen (*Sophorae flavescens* radix) and Wubeizi (*Galla chinensis*) were clear, and their negative control showed no interference. The calibration curve of gallic acid, loganin acid, gentiopicroside, ferulic acid, coumarin glycoside, 5-O-methylvisaminol glycoside were at concentrations of 3.76–11.28, 0.70–3.48, 0.61–3.06, 0.02–0.08, 0.07–0.36 and 0.07–0.35 $\mu\text{g/mL}$ ($r \geq 0.9995$). The RSD values of precision, repeatability and stability were all less than 2%, and the average sample recovery rates were 102.46%, 101.40%, 102.45%, 102.01%, 102.72%, 101.56%, with RSD below 3% ($n=6$). Conclusion: The optimized preparation technology is feasible, and the established methods are convenient and reliable. It can be used as the quality control methods for Tongyangxiao Lotion (痛痒消洗剂).

[Keywords] Tongyangxiao Lotion (痛痒消洗剂); preparation technology; quality standard; TLC; HPLC

痛痒消处方主要由黄柏、秦艽、当归、苦参等药物组成,具有清热燥湿、活血止痛、杀虫止痒、敛疮生肌的功效,在治疗肛肠病术后创面水肿疼痛、角化瘙痒、愈合迟缓等方面疗效良好^[1-2]。该处方最早运用于临床是汤剂。为适应和满足临床使用需要,同时保留传统中药熏洗治疗肛肠病的特点,将其改为洗剂,可更大程度地富集药效成分,使药物高浓度地作用于病变局部,以利于发挥药效,促进患部皮肤血液循环,加快创面修复。本研究将根据《河北省医疗机构应用传统工艺配制中药制剂备案管理办法》中的要求和2020年版《中华人民共和国药典》的相关规定,研制特色鲜明、剂型合理、应用方便的痛痒消洗剂。

该方为中药复方制剂,其成分组成复杂,使用单一指标进行考察存在片面性。目前,制备工艺考察常用多种指标性成分进行研究,再通过主观或客观方法对指标进行赋权并综合评价,以优化提取工艺参数^[3-4]。信息熵赋权法是用来描述一个体系中某个指标客观变化规律的方法,其优点为处理多量且复杂的数据^[5]。本研究基于信息熵理论^[6]对没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷等6个有效成分的含量及干膏得率进行赋权,以优化痛痒消洗剂的提取工艺参数。同时本研究应用现代质量控制研究方法,对该制剂工艺和质量标准进行了系统研究,以确保该制剂的安全、有效和质量可控。

1 材 料

1.1 主要仪器 LC-20A型高效液相色谱仪(日本岛津公司); 98-1B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司); YP2002型电子天平(上海津平科学仪器有限公司); N-1300D-WB型旋转薄膜蒸发器(东京理化器械工厂); DZ-2BE型真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); Smart NE超纯水系统(上海立康生物医疗有限公司); SB25-12DTD型超声仪(宁波新芝科技股份有限公司)。

1.2 试药 没食子酸对照品(批号:110831-201906,含量91.5%)、马钱苷酸对照品(批号:111865-202005,含量97.5%)、龙胆苦苷对照品(批号:110770-202219,含量98.1%)、升麻素

苷对照品(批号:111522-201913,含量94.6%)、阿魏酸对照品(批号:110773-201915,含量99.4%)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号:111523-201811,含量97.4%)均购自中国食品药品检定研究院;黄柏(批号:220601)、秦艽(201203)、当归(220902)、苦参(批号:220601)、苍术(批号:221101)、芒硝(批号:221001)、防风(批号:220801)、花椒(批号:220101)、五倍子(批号:221001)均购于河北药兴药业有限公司,经河北省中医院贾淑珍副主任药师鉴定为正品;乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 饮片吸收率考察 称取除芒硝以外的处方量药材,加入10倍量水浸泡,每隔15 min对饮片进行过滤,称质量后,将饮片继续浸泡,至其质量维持不变,计算质量差,即为饮片吸水量。经测定得到饮片的吸水率为185%。饮片吸水率=(浸泡后饮片质量-饮片原质量)/饮片原质量 $\times 100\%$ 。

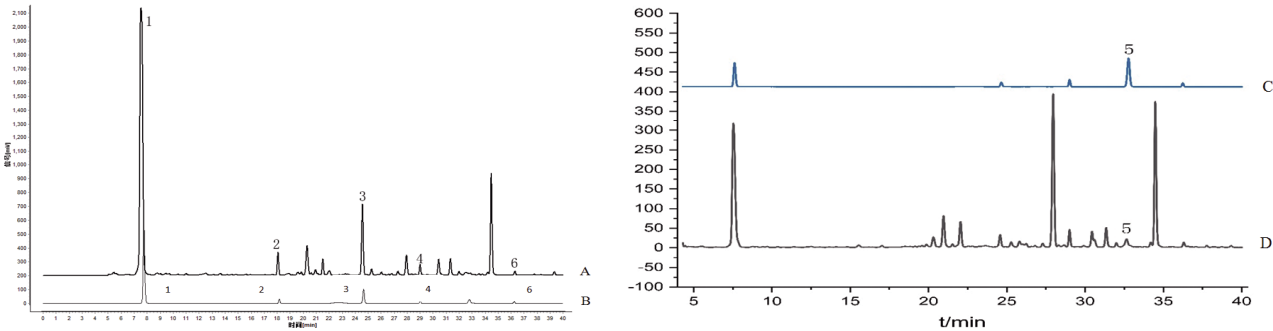
2.2 干膏率测定 参照2020年版《中华人民共和国药典》四部中浸出物测定法,称取全处方中药饮片,按工艺方法进行提取,合并提取液,过滤,减压浓缩至每1 mL含有1 g生药量,置质量恒定的蒸发皿中,水浴挥干,放于105 °C的鼓风干燥箱中干燥3 h,取出,置干燥器中冷却30 min,精密称定;再放于105 °C干燥箱中1 h,取出放干燥器中冷却30 min,精密称定,反复直至质量恒定,计算出膏率。出膏率=干燥后浸膏质量/饮片总质量 $\times 100\%$ 。

2.3 指标成分含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为Thermo C₁₈(250.0 mm \times 4.6 mm, 5.0 μm),流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 95%~90%B; 10~40 min, 90%~70%B);流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm、316 nm,柱温为30 °C,进样量为10 μL 。HPLC色谱图见图1。

2.3.2 溶液制备

2.3.2.1 供试品溶液的制备 称取一倍量痛痒消处方提取2次,合并提取液,离心(25 °C, 8 000 r/min, 离心半径为9.2 cm)后取上清液,减压浓缩至生药质量浓度为0.5 g/mL。另精密吸



注:A.供试品(254 nm);B.混合对照品(254 nm);C.混合对照品(316 nm);D.供试品(316 nm)。1.没食子酸;2.马钱苷酸;3.龙胆苦苷;4.升麻素苷;5.阿魏酸;6.5-O-甲基维斯阿米醇苷。

图 1 HPLC 色谱图

取该浓缩液 1 mL 置 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,静置,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.3.2.2 对照品溶液的制备 取没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、阿魏酸、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品适量,精密称定,分别至容量瓶中,加甲醇溶解定容至刻度,分别制成质量浓度为 0.376、0.348、0.306、0.078、0.362、0.348 mg/mL 的单个对照品溶液。精密吸取单个对照品溶液 0.2 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加入甲醇定容至刻度,得对照品混合溶液。

2.3.3 方法学考察

2.3.3.1 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量,加甲醇稀释成梯度浓度的对照品,按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积为纵坐标(Y),以混合对照品的浓度为横坐标(X)。结果见表 1。

表 1 各成分线性关系结果 (n=6)

成分	回归方程	r	线性范围/(mg/mL)
没食子酸	$Y=220\,420\,611.70X+36\,820.70$	0.999 9	3.76~11.28
龙胆苦苷	$Y=1\,019\,389.94X-11\,611.20$	0.999 9	0.70~3.48
马钱苷酸	$Y=488\,126.14X+9\,567.80$	0.999 9	0.61~3.06
阿魏酸	$Y=5\,028\,008.38X+1\,970.90$	0.999 5	0.02~0.08
升麻素苷	$Y=1\,873\,763.67X+8\,856.75$	0.999 9	0.07~0.36
5-O-甲基维斯阿米醇苷	$Y=1\,387\,210.78X+2\,792.53$	0.999 9	0.07~0.35

2.3.3.2 精密度试验 取“2.3.2”项下的对照品混合溶液,按照“2.3.1”项下条件连续进样 6 次,记录 6 个指标成分的峰面积并计算其含量。没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量 RSD 值分别为 0.37%、0.36%、0.50%、0.98%、0.65%、0.40%,表明仪器精密度良好。

2.3.3.3 稳定性试验 取“2.3.2”项下一份供试品溶液,按照“2.3.1”色谱条件下进样,分别于制样之后的 0、2、4、8、12、24 h 进样并记录峰面积,计算各指标成分含量没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、阿魏酸、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量 RSD 值分别为 0.71%、0.69%、0.97%、2.82%、1.71%、2.51%,表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.3.3.4 重复性试验 取水提液适量,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液 6 份,按“2.3.1”色谱条件进样记录峰面积并计算 6 个指标成分的含量。没食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、阿魏酸、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷含量的 RSD 值分别为 0.30%、0.66%、1.31%、1.94%、2.59%、2.28%,表明该方法重复

性好。

2.3.3.5 加样回收率试验 精密吸取各成分含量已知的供试品溶液 1 mL,平行 6 份,分别置于 10 mL 量瓶中,加入 100% 水平的对照品溶液 1 mL,按“2.3.1”项的色谱条件进行测定,计算 6 种指标成分的加样回收率。没食子酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷平均加样回收率分别为 102.46%、101.40%、102.45%、102.01%、102.72%、101.56%,RSD 值(n=6)分别为 1.51%、1.01%、1.95%、1.66%、2.45%、2.16%。表明该方法准确度良好。

2.4 煎煮次数考察 加水浸泡后煎煮,分别煎煮 1 次、2 次、3 次。煎煮 1 次,加 10 倍量水煎煮 120 min;煎煮 2 次,第 1 次加 10 倍量水煎煮 80 min,第 2 次加 8 倍量水煎煮 40 min;煎煮 3 次,第 1 次加 10 倍量水煎煮 60 min,第 2 次加 8 倍量水煎煮 30 min,第 3 次加 8 倍量水煎煮 30 min。

信息熵法求各指标权重系数及综合指标 M,确定煎煮次数。

- (1) 根据原始数据建立原始评价指标矩阵 $(X_{ij})_{mn}$ 。
- (2) 根据公式 $P_{ij}=X_{ij}/\sum_{j=1}^n P_{ij} \times \ln P_{ij}$,建立原始评价指标矩阵 X_{ijmn} ,根据原始数据建立原始评价指标概率矩阵 $(P_{ij})_{mn}$ 。
- (3) 根据公式 $H_i=-1/\ln N \times \sum_{j=1}^n P_{ij} \times \ln P_{ij}$,计算各指标的信息熵 H_{i0} 。
- (4) 根据公式 $W_i=(1-H_i)/\sum_{j=1}^n (1-H_i)$,计算得到的权重 W_{i0} 。
- (5) 计算综合指标 M_0 。 $M=(\text{没食子酸含量}/\text{没食子酸含量}_{\text{max}}) \times w_1 + (\text{马钱苷酸}/\text{马钱苷酸}_{\text{max}}) \times w_2 + (\text{龙胆苦苷含量}/\text{龙胆苦苷含量}_{\text{max}}) \times w_3 + (\text{升麻素苷含量}/\text{升麻素苷含量}_{\text{max}}) \times w_4 + (\text{阿魏酸含量}/\text{阿魏酸含量}_{\text{max}}) \times w_5 + (\text{5-O-甲基维斯阿米醇苷含量}/\text{5-O-甲基维斯阿米醇苷含量}_{\text{max}}) \times w_6 + (\text{干膏率}/\text{干膏率}_{\text{max}}) \times w_7$ 。

表 2 试验结果

煎煮次数	没食子酸	马钱苷酸	龙胆苦苷	升麻素苷	阿魏酸	5-O-甲基维斯阿米醇苷	干膏率	M
1	71.37	11.48	24.20	2.28	0.40	2.04	13	0.33
2	181.37	35.00	60.66	7.11	1.17	6.94	30	0.96
3	176.53	29.15	63.32	3.39	1.33	6.28	36	0.86

$M=(\text{没食子酸含量}/\text{没食子酸含量}_{\text{max}}) \times 0.136 + (\text{马钱苷酸含量}/\text{马钱苷酸含量}_{\text{max}}) \times 0.142 + (\text{龙胆苦苷含量}/\text{龙胆苦苷含量}_{\text{max}}) \times 0.137 + (\text{升麻素苷含量}/\text{升麻素苷含量}_{\text{max}}) \times 0.151 + (\text{阿魏酸含$

量/阿魏酸含量_{max}) $\times 0.148 + (5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量}/5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量}_{\text{max}}) \times 0.149 + (\text{干膏率}/\text{干膏率}_{\text{max}}) \times 0.138$ 。

根据表2数据计算,煎煮2次所得结果 M 值最高,因此选择提取工艺为煎煮2次。

2.5 响应面筛选提取条件 在考虑中药煎煮方法相关技术规范的基础上,采用Box-Behnken响应面试验,以五倍子中没食子酸,当归中阿魏酸,秦艽中龙胆苦苷和马钱苷酸含量,防风中5-O-甲基维斯阿米醇苷和升麻素苷含量,以及干膏作为指标,采用信息熵法对各评价指标赋予相应权重,计算相应 M 。对加水量(倍)、浸泡时间、煎煮时间等影响提取结果的主要因素进行研究,筛选确定该制剂的最佳水提工艺参数^[7-9]。

2.5.1 试验设计 以加水量(A)、浸泡时间(B)、煎煮时间(C)为主要考察因素,以6个成分的含量和干膏得率为指标,应用Design-Expert.V8.0.6.1软件,采用Box-Behnken响应面进行试验设计。因素水平表见表3,试验设计方案和结果见表4,方差分析结果见表5。

表3 响应面因素水平表

水平	A/倍	B/min	C/min
-1	6	15	120
0	8	30	150
+1	10	45	180

2.5.2 试验结果及分析 $M = (\text{没食子酸含量}/\text{没食子酸含量}_{\text{max}}) \times 0.156 + (\text{马钱苷酸含量}/\text{马钱苷酸含量}_{\text{max}}) \times 0.085 + (\text{龙胆苦苷含量}/\text{龙胆苦苷含量}_{\text{max}}) \times 0.076 + (\text{升麻素苷含量}/\text{升麻素苷含量}_{\text{max}}) \times 0.180 + (\text{阿魏酸含量}/\text{阿魏酸含量}_{\text{max}}) \times 0.199 + (5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量}/5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量}_{\text{max}}) \times 0.304 + (\text{干膏率}/\text{干膏率}_{\text{max}}) \times 0.023$ 。

综合指标 M 对自变量 A 、 B 、 C 的多元二次回归方程为:

表4 Box-Behnken 试验设计方案及结果

序号	A	B	C	没食子酸/($\mu\text{g/g}$)	马钱苷酸/($\mu\text{g/g}$)	龙胆苦苷/($\mu\text{g/g}$)	升麻素苷/($\mu\text{g/g}$)	阿魏酸/($\mu\text{g/g}$)	5-O-甲基维斯阿米醇苷/($\mu\text{g/g}$)	干膏率/%	M
1	8	45	180	122.23	26.02	47.53	3.46	0.91	2.75	28	0.72
2	10	30	120	102.09	24.87	57.51	2.32	1.08	1.66	29	0.62
3	8	15	120	160.24	30.14	50.02	3.46	0.82	3.08	28	0.77
4	8	30	150	159.48	26.09	43.15	3.33	0.81	3.15	29	0.75
5	6	30	120	124.56	27.73	42.12	4.46	0.86	2.89	24	0.75
6	10	15	150	94.34	25.03	44.01	3.29	1.30	2.19	28	0.70
7	6	15	150	103.14	22.78	43.01	2.30	0.99	1.85	26	0.59
8	10	45	150	110.09	24.68	55.30	2.85	0.85	2.84	31	0.69
9	8	30	150	147.77	29.27	52.91	4.39	0.74	2.72	28	0.76
10	8	15	180	144.12	28.18	48.77	2.80	0.76	2.29	27	0.66
11	8	30	150	156.63	33.33	62.16	3.32	1.26	2.14	29	0.79
12	6	30	180	126.02	22.21	44.55	3.11	0.65	1.98	25	0.60
13	8	30	150	139.98	19.49	42.28	3.17	0.70	4.58	27	0.79
14	10	30	180	161.50	25.28	52.40	3.29	0.69	1.99	28	0.66
15	6	45	150	134.96	32.32	48.32	3.04	0.78	2.61	30	0.70
16	8	30	150	161.64	28.61	56.01	4.08	0.95	2.38	28	0.78
17	8	45	120	174.38	28.13	58.26	4.40	0.97	2.60	30	0.82

$M = 0.770 + 3.750E - 003A + 0.026B - 0.040C - 0.030AB + 0.048AC + 2.500E - 003BC - 0.095A^2 - 9.500E - 003B^2 - 0.022C^2$ 。方差分析结果表明,各因素对综合指标 M 的影响大小排序为 C (煎煮时间) $>B$ (浸泡时间) $>A$ (加水量)。回归模型的 $P = 0.004\ 0 < 0.01$,说明实验研究所用的二次模型具有统计学意义,失拟项 $0.078\ 8 > 0.05$,说明该模型拟合程度高;模拟相关系数 $R^2 = 0.921\ 6$,调整后 $R^2 = 0.820\ 6$,表明该模型82.06%响应值的变化可被解释。模型自变量的一次项 B 、 C 因素对 M 的影响具显著性($P < 0.005$);交互项 AC 具有显著性($P < 0.05$), AB 、 BC 均不显著;二次项 A^2 因素影响具有显著性($P < 0.05$)。各因素对 M 影响顺序为 C (煎煮时间) $>B$ (浸泡时间) $>A$ (加水量)。本方程模型模拟程度较好、真实可靠且误差较小,可以用来分析和优化痛痒消洗剂的提取工艺。

表5 方差分析结果

差异来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.073	9	8.092E-003	9.14	0.004 0
A(加水量)	1.125E-004	1	1.125E-004	0.13	0.731 9
B(浸泡时间)	5.513E-003	1	5.513E-003	6.23	0.041 2
C(煎煮时间)	0.013	1	0.013	14.46	0.006 7
AB	3.600E-003	1	3.600E-003	4.07	0.083 5
AC	9.025E-003	1	9.025E-003	10.20	0.015 2
BC	2.500E-005	1	2.500E-005	0.028	0.871 3
A^2	0.038	1	0.038	42.49	0.000 3
B^2	3.800E-004	1	3.800E-004	0.43	0.533 2
C^2	2.038E-003	1	2.038E-003	2.30	0.172 9
残差	6.195E-003	7	8.850E-004		
失拟项	4.875E-003	3	1.625E-003	4.92	0.078 8
纯误差	1.320E-003	4	3.300E-004		
总差异	0.079	16			

2.5.3 工艺预测及优化 利用Design-Expert.V8.0.6.1软件根据表3数据绘图,固定某一影响因素,可得任意其他2个影响因素交互作用对综合指标(M)影响的3D响应面图。(见图2)沿A轴响应曲面的坡度较沿B轴的缓和,说明加水量对M影响小于浸泡时间;沿A轴的响应曲面坡度相较于C轴缓和,说明提取时间对M影响较大,与方差分析结果一致。根据模型拟合结果预测出痛痒消洗剂的最佳提取工艺条件为:加7.22倍量水,浸泡45 min,煎煮120 min。结合试验结果和实际生产,以1:1的比例分配各次提取时间^[10-11]。结合饮片吸水率,将提取工艺参数调为:浸泡45 min,提取2次,第一次加9倍量水,提取80 min。第二次加7倍量水,提取40 min。

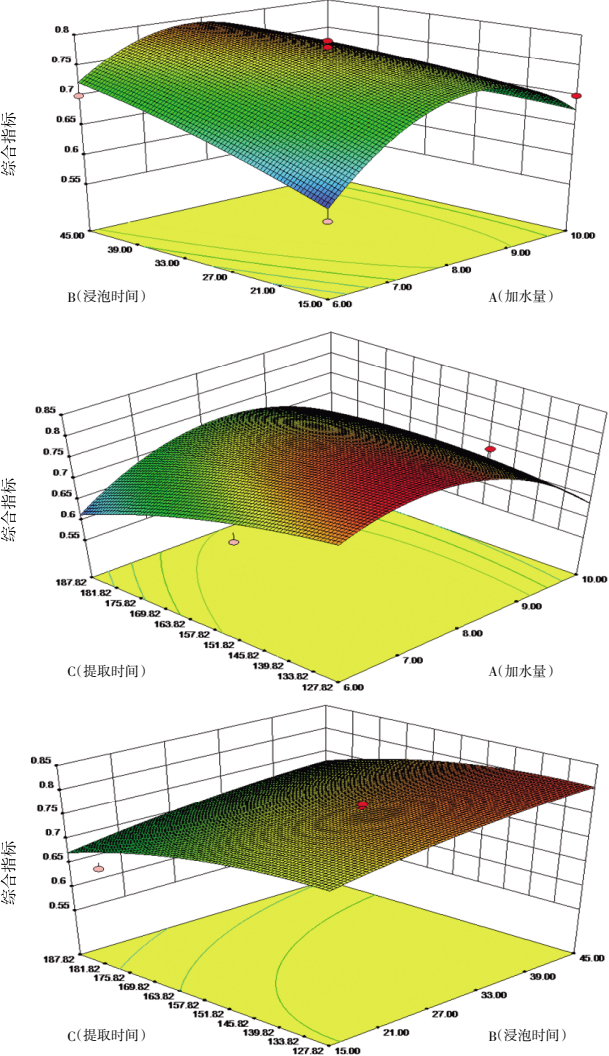


图 2 各影响因素交互作用对综合指标影响的三维响应面图

2.5.4 验证试验 采用最佳提取工艺平行提取3次,得痛痒

消洗剂M分别为0.82、0.86、0.85,RSD值为2.5%,说明本试验设计合理、稳定、可信度较高。

2.6 过滤、浓缩因素考察 按处方比例称取5份药材,按优化后的提取工艺参数进行提取,提取液需滤除药渣和杂质,浓缩至适量。为得到更优工艺,采用不同目数的尼龙滤网,考察提取液过滤不同目数和不同浓缩方法对成分含量和澄清度的影响。以没食子酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、阿魏酸、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量和提取液澄清度(采用评分制)为指标,计算M,确定过滤目数和浓缩方式。

以提取液澄清度为指标,采用评分制。澄清度评分标准:0~≤1分,为浑浊;1~≤2分,为较浑浊;2~≤3分,为一般浑浊;3~≤4分,为较澄清;4~≤5分,为澄清。

2.6.1 过滤因素考察 取提取液5份,采用不过滤、过100目、200目、300目、400目等5种不同形式,按照上述方法对提取液的澄清度进行评分,并按照“2.3.2”项下制备的方法制备供试品溶液,计算食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量,计算M。结果见表6。

$$M = (\text{没食子酸含量} / \text{没食子酸含量}_{\max}) \times 0.130 + (\text{马钱苷酸含量} / \text{马钱苷酸含量}_{\max}) \times 0.130 + (\text{龙胆苦苷含量} / \text{龙胆苦苷含量}_{\max}) \times 0.129 + (\text{升麻素苷含量} / \text{升麻素苷含量}_{\max}) \times 0.170 + (\text{阿魏酸含量} / \text{阿魏酸含量}_{\max}) \times 0.130 + (5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量} / 5\text{-O-甲基维斯阿米醇苷含量}_{\max}) \times 0.138 + (\text{澄清度评分} / \text{澄清度评分}_{\max}) \times 0.172。$$

根据表6数据计算,200目尼龙滤网过滤后M最大,因此选用200目对提取液进行过滤。

2.6.2 浓缩因素考察 通过对比减压和常压浓缩两种浓缩方式,按照处方比例分别称药材2份,按最佳提取工艺提取,合并药液并过200目尼龙滤网,得2份过滤液,分别采用常压浓缩和减压浓缩(压强0.05 mbar,温度55~60 ℃),浓缩至200 mL,测食子酸、龙胆苦苷、马钱苷酸、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷6种药效成分含量。结果见表7。

秦艽中的马钱苷酸和龙胆苦苷均为环烯醚萜类化合物,性质不稳定,常压浓缩明显降低了二者的含量,而没食子酸、阿魏酸、升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量均略有降低;减压浓缩速度快于常压浓缩。因此,为减少热敏性成分的降低同时为提高浓缩效率,本研究采用减压浓缩的方式。

表 7 不同浓缩方式试验结果

浓缩方式	含量/(μg/g)					
	没食子酸	马钱苷酸	龙胆苦苷	阿魏酸	升麻素苷	5-O-甲基维斯阿米醇苷
常压浓缩	42.64	5.26	10.60	0.88	0.29	1.38
减压浓缩	43.42	9.70	18.66	0.96	0.32	1.44

表 6 不同过滤方法对痛痒消洗剂中指标成分及澄清度的影响

过滤因素考	含量/(μg/g)						澄清度评分/分	M
	没食子酸	马钱苷酸	龙胆苦苷	升麻素苷	阿魏酸	5-O-甲基维斯阿米醇苷		
煎液原液(不过)	43.34	7.85	16.33	0.90	0.26	1.49	1.5	0.85
过100目	41.99	8.02	16.70	0.48	0.24	0.96	3.0	0.78
过200目	44.96	8.33	16.98	0.98	0.25	1.34	4.0	0.96
过300目	39.68	7.16	16.14	0.45	0.22	1.07	4.5	0.81
过400目	40.64	7.36	16.60	0.50	0.23	1.11	4.5	0.83

2.7 苯甲酸钠加入量及工艺考察 中药制剂一般为复方制剂,其成分多样复杂,容易滋生微生物,出现腐败、变质、发霉现象,从而影响药物质量。为防止微生物滋生,除将原饮片处理好、在制备操作过程中减少污染外,中药液中还需加入适当防腐剂,以确保制剂有效期。苯甲酸钠作为一种广谱抗微生物试剂,水溶性好且对于酸性介质防腐较为适用^[12]。苯甲酸钠在中药洗剂中的质量分数为0.10%~0.25%^[13],同时结合该制剂在本院的使用周期,本试验确定添加0.20%苯甲酸钠。为使苯甲酸钠充分溶解和混合均匀,本试验将苯甲酸钠溶于水后加入浓缩液中。

2.8 pH值考察 中药液体制剂pH值过低或者过高,会破坏溶胶状或降低成分的溶解度而析出沉淀,如液体pH值变化后,皂苷、氨基酸、生物碱等成分会因其变化产生气泡、浑浊、沉淀、变色等。合适的pH值可以提高液体制剂的稳定性并改善澄明度^[14],因此为确保制剂质量,本试验考察了pH值对该制剂的影响。结果表明,药液稳定的pH值范围为3.34~5.55。当pH值高于6.00时,药液久放后会有少量浑浊。考虑药物吸收利用在人体内的较佳pH值为4.00~9.00^[14],因此本试验将该制剂的pH值控制在4.00~5.55。

表 8 不同 pH 值下洗剂的澄清度保持情况

pH值	静置10 d	静置20 d	静置30 d
3.34	澄清	澄清	澄清
4.56	澄清	澄清	澄清
5.55	澄清	澄清	澄清
6.02	澄清	一般浑浊	浑浊
6.35	一般浑浊	一般浑浊	浑浊

综上所述,工艺确定如下:按处方比例取黄柏、苦参、当归、秦艽等9味中药饮片,加水浸泡45 min,提取2次(第一次加9倍量水,提取80 min;第二次加7倍量水,提取40 min),合并煎液,滤过,滤液减压浓缩至适量,加入苯甲酸钠使其在药液中的含量为0.2%(即100.0 g药液含苯甲酸钠0.2 g),静置,过滤,加水至规定剂量即得。

2.9 痛痒消洗剂的质量标准研究

2.9.1 TLC定性鉴别

2.9.1.1 苦参鉴别 按处方称取饮片,用筛选确定的工艺参数制备痛痒消洗剂,取本品10.0 mL,用石油醚(60~90℃)振摇提取2次,每次15.0 mL,弃去石油醚液。水液用水饱和的正丁醇振摇提取2次,每次20.0 mL,弃去正丁醇液。用浓氨水将水液pH值调至9,用三氯甲烷提取2次,每次20.0 mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加0.5 mL三氯甲烷使溶解,作为供试品溶液。另取0.5 g苦参对照药材,加1.2 mL浓氨试液、25.0 mL三氯甲烷,放置过夜,过滤,滤液蒸干,残渣加0.5 mL三氯甲烷使溶解,作为对照药材溶液。

按处方比例称取去除苦参的其他药物,同供试品溶液制备方法制阴性对照溶液。按2020年版《中华人民共和国药典》四部薄层色谱法试验,吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照溶液各5 μ L,分别点于同一用硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(体积比为5.0:0.6:0.3)为展开剂,放置10℃以下的下层溶液,展开,取出,晾干,喷以碘化铋钾试液。供试品色谱中,在与对照药材相应位置上,显相同颜色主斑点,且

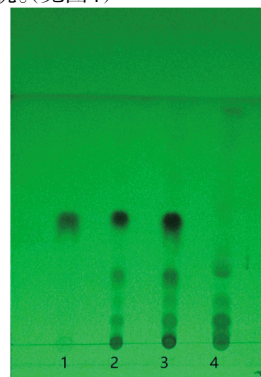
无阴性干扰。(见图3)



注:“1”“3”为痛痒消洗剂供试品;“2”为苦参对照药材;“4”为阴性对照溶液。

图 3 痛痒消洗剂中苦参的薄层鉴别色谱图

2.9.1.2 五倍子 按“2.9.1.1”项下方法制备痛痒消洗剂,取本品10.0 mL,用石油醚(60~90℃)振摇提取2次,每次15.0 mL,弃去石油醚液。水液用水饱和的正丁醇振摇提取2次,每次20.0 mL,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣加1.0 mL甲醇溶解,作为供试品溶液。另取没食子酸对照品,加甲醇制成1 mg/mL的对照品溶液。按处方称取缺五倍子的阴性样品,同供试品溶液方法制成阴性对照溶液。按2020年版《中华人民共和国药典》四部薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各1 μ L,分别点于merck板类硅胶GF254薄层板上,以三氯甲烷-甲酸乙酯-甲酸溶液(体积比为5:5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,且无阴性干扰。(见图4)



注:“1”为没食子酸对照品;“2”“3”为痛痒消洗剂供试品;“4”为阴性对照溶液。

图 4 痛痒消洗剂中五倍子的薄层鉴别色谱图

3 讨 论

痛痒消处方中的药材提取方式为全方水提。因方中主要含有黄酮苷类、环烯醚萜类、多糖类和有机酸类等物质,均易溶于水,同时水提可基本不破坏原方的药效。本研究使用Box-Behnken响应面法设计试验,主要是由于该方法因素水平选择更灵活并可在一定范围内对各因素的水平进行连续取值和精确控制,不须严格遵循特定的表格和规则。且在响应面试验过程中,若发现某些区域的因素影响较大,可针对性在该区域内增加试验点,以提高模型的准确性,从而使得的

预测值与真实值较为接近,可信度也更好。信息熵赋权法可以科学客观赋予权重指标,避免主观因素对结果的影响,同时具有处理复杂多量数据的优势。因此本研究采用响应面法结合信息熵法优选痛痒消洗剂的提取工艺。最佳工艺参数为加水提取2次;第一次加9倍量水,浸泡45 min,煎煮80 min;第二次加7倍量水,煎煮40 min。验证试验结果证实优选的提取工艺稳定、可行。

痛痒消洗剂中君药秦艽含有裂环烯醚萜苷类物质,其代表活性成分及苦味成分为马钱苷酸、龙胆苦苷,具有较强抗炎、镇痛作用^[15-16]。当归同为该方的君药,其活血作用主要作用于循环系统且有机酸类代表成分阿魏酸具有抑制血小板凝聚的效果的作用^[17-18]。五倍子中没食子酸具有抗病毒和抗真菌活性^[19]。防风中5-O-甲基维斯阿米醇苷具有解热、镇痛、抗炎的作用^[20]。故本研究选用没食子酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、升麻素苷、阿魏酸、5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量为测定指标。干膏率是药材中主要成分含量与药材品质优劣的评价指标,可反映处方中成分的溶出程度,故本研究将其作为评价指标之一。

痛痒消洗剂方化学成分复杂,且各成分极性有所差别,选取适宜的流动相对于成分的分离尤为重要。本研究分别考察了乙腈-0.05%磷酸水、乙腈-0.10%磷酸水、乙腈-0.10%甲酸水等不同流动相系统的洗脱效果。结果表明以乙腈-0.10%磷酸水溶液为流动相时,各对照品峰型最佳,色谱峰分离度较其他组合分离度好,与前后组分峰分离度最好。由于各指标成分化学结果差异大,最大吸收波长亦有所差别,故本研究采用波长切换法,使用DAD检测器对供试品进行全波长扫描(190~400 nm)。没食子酸、马钱苷酸、龙胆苦苷、升麻素苷及5-O-甲基维斯阿米醇苷在254 nm波长下,阿魏酸在316 nm波长下峰形较好,响应值较高,故本研究选择254 nm、316 nm作为检测波长。

本研究对方中的苦参、五倍子、秦艽、黄柏、防风、苍术等药材进行了薄层色谱条件分析,发现秦艽的薄层鉴别色谱图上龙胆苦苷对照品斑点清晰可见,但供试品色谱在与对照品色谱相应的位置上,有较深的背景干扰。本研究通过改进供试品制备方法,采用石油醚(60~90℃)萃取,水饱和正丁醇萃取,除去极性小的分子,改善效果一般,因此未建立秦艽薄层鉴别。黄柏的薄层鉴别色谱图上供试品色谱有背景干扰,故本研究通过采用石油醚(60~90℃)萃取,水饱和正丁醇萃取,水液调至碱性,加三氯甲烷萃取,蒸干,加三氯甲烷溶解,但该鉴别方法不稳定,故未建立黄柏薄层鉴别方法。苍术的薄层鉴别色谱图上供试品色谱与苍术对照药材色谱无相对应斑点,原因可能是苍术中挥发性成分在煎煮过程中散失,保存量较少,故未建立苍术薄层鉴别方法。其余药味均存在阴性干扰现象。因此本研究选择对苦参和五倍子进行薄层色谱鉴别,并于后期进行了6个月的加速试验和24个月的长期稳定性试验考察,结果可靠。

参考文献

[1] 高记华,陈雪清,齐立卿,等.肛肠病术后运用痛痒消洗剂的临床研究[J].中华中医药杂志,2005,20(8):508-509.

- [2] 徐文聪,高记华,戚文月,等.痛痒消洗剂对高位复杂性肛瘘术后创面愈合的疗效[J].中医研究,2023,36(8):20-24.
- [3] 徐男,孙蓉,崔焕月,等.化学计量学结合信息熵赋权优选半夏白术天麻汤提取工艺[J].中草药,2020,51(4):995-1002.
- [4] 曾棋平,杨丽娜,曹毅祥,等.层次分析联合Box-Behnken效应面法优选复方首乌藤合剂提取工艺[J].中南药学,2017,15(1):48-52.
- [5] 张东,张宁.物理学中的熵理论及其应用研究[J].北京联合大学学报(自然科学版),2007,21(1):4-8.
- [6] 郑文丽,魏艳婷,李佳佳,等.Box-Behnken响应面法结合信息熵法优化葛枳汤提取工艺[J].中国药业,2023,32(11):57-62.
- [7] 陈卉,施之琪,王洛临.参柏洗剂的制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(13):9-12.
- [8] 潘海华,李智勇,邓桂珠,等.黄榆痔疾洗剂制备工艺研究[J].中国民族民间医药,2024,33(20):61-66.
- [9] 皮凤娟,黄娟,张庆莲,等.硝矾洗剂的制备工艺研究[J].西北药学杂志,2018,33(5):638-641.
- [10] 田晴晴,张欣婷,梁董茜,等.Box-Behnken响应面法优选麻贝清肺颗粒提取工艺及其药效学研究[J].中医药导报,2024,30(9):17-24.
- [11] 王晶晶,程媛,忻晓东,等.Box-Behnken响应面法优化大黄泻浊颗粒提取工艺[J].时珍国医国药,2022,33(8):1886-1889.
- [12] 刘天意.食品防腐剂苯甲酸钠的作用机理、毒性及其检测方法综述[J].现代食品,2020,26(7):32-34.
- [13] 李力,何靓,刘蔚,等.清血解毒合剂的制备工艺及质量标准研究[J].湖北中医药大学学报,2023,25(4):33-37.
- [14] 刘瑛丽,甄中锋,李伟,等.调pH值法用于健儿消食口服液澄清工艺的研究[J].中国医药指南,2016,14(15):17-18.
- [15] RAMÍREZ-CISNEROS M Á, RIOS M Y, AGUILAR-GUADARRAMA A B, et al. In vitro COX -1 and COX -2 enzyme inhibitory activities of iridoids from *Penstemon barbatus*, *Castilleja tenuiflora*, *Crescentia alata* and *Vitex mollis*[J]. Bioorg Med Chem Lett,2015,25(20):4505-4508.
- [16] 梁国成,段文贵,陈舒茵.秦艽化学成分及药理活性研究进展[J].中草药,2024,55(7):2472-2490.
- [17] 马艳春,吴文轩,胡建辉,等.当归的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药学报,2022,50(1):111-114.
- [18] 李曦,张丽宏,王晓晓,等.当归化学成分及药理作用研究进展[J].中药材,2013,36(6):1023-1028.
- [19] PASSOS M R, ALMEIDA R S, LIMA B O, et al. Anticariogenic activities of *Libidibia ferrea*, Gallic acid and ethyl gallate against *Streptococcus mutans* in biofilm model[J]. J Ethnopharmacol,2021,274:114059.
- [20] 曹思思,史磊,孙佳琳,等.防风的化学成分及药理作用研究进展[J].现代中药研究与实践,2021,35(1):95-102.

(收稿日期:2024-12-27 编辑:蒋凯彪)