



ZHONGYAO CHENG FEN FEN XI
FANG FA YU JI SHU

中药成分分析 方法与技术

张亚洲 著

ZHONGYAO CHENGFEN FENXI
FANGFA YU JISHU

中药成分分析 方法与技术

张亚洲 著



知识产权出版社

全国百佳图书出版单位

图书在版编目 (CIP) 数据

中药成分分析方法与技术/张亚洲著. —北京: 知识产权出版社, 2018. 8

ISBN 978-7-5130-5814-8

I. ①中… II. ①张… III. ①中药化学成分—化学分析 IV. ①R284.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 205059 号

内容提要

本书以民族药 (壮药、苗药和瑶药) 为主要研究内容, 从中药材与中药制剂的相关含量、质量标准等分析技术, 中药复方制剂的开发等方向进行了深入研究; 同时也介绍了中药材主要化学成分的分离、代谢、质谱分析技术等内容, 供我国医药企业和科研人员参考。

责任编辑: 王玉茂

装帧设计: 韩建文

责任校对: 谷 洋

责任印制: 孙婷婷

中药成分分析方法与技术

张亚洲 著

出版发行: 知识产权出版社有限责任公司

社 址: 北京市海淀区气象路 50 号院

责编电话: 010-82000860 转 8541

发行电话: 010-82000860 转 8101/8102

印 刷: 北京虎彩文化传播有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

版 次: 2018 年 8 月第 1 版

字 数: 270 千字

ISBN 978-7-5130-5814-8

网 址: <http://www.ipph.cn>

邮 编: 100081

责编邮箱: wangyumao@cnipr.com

发行传真: 010-82000893/82005070/82000270

经 销: 各大网上书店、新华书店及相关专业书店

印 张: 14

印 次: 2018 年 8 月第 1 次印刷

定 价: 60.00 元

出版版权专有 侵权必究

如有印装质量问题, 本社负责调换。

目 录

第1章 绪 论	1
第2章 抗妇科炎症泡腾栓提取工艺的研究	5
第1节 抗妇科炎症泡腾栓的研究概况	5
1.1 抗妇科炎症泡腾栓的背景研究	5
1.2 抗妇科炎症泡腾栓的研究内容	7
第2节 抗妇科炎症泡腾栓提取工艺的研究	7
2.1 实验处方的来源及方解	7
2.2 药材来源及前处理研究	8
2.3 提取工艺中控制评价指标的选择	9
2.4 工艺考察评价指标的选定与工艺路线的确定	14
参考文献	36
第3章 抗妇科炎症泡腾栓的制剂成型与质量标准的研究	37
第1节 中药复方研究概况	37
第2节 剂型的选择和辅料的选用	39
2.1 剂型选择	39
2.2 基质辅料与泡腾系统的组成	40
第3节 剂量的确定	40
3.1 剂量的初步确定研究	40
3.2 方法设计	40
3.3 制剂成型工艺	43
3.4 制剂成型工艺的研究	46
3.5 中试成型工艺研究	49
3.6 制剂工艺小结	50
第4节 抗妇科炎症泡腾栓质量标准的研究	51
4.1 抗妇科炎症泡腾栓质量标准研究内容	51
4.2 抗妇科炎症泡腾栓质量标准研究项目	61
第5节 小结	61

参考文献	62
第4章 黄芪中异黄酮的化学分离研究	63
第1节 异黄酮的相关研究进展	63
1.1 异黄酮类成分的分布、结构、合成	63
1.2 异黄酮类成分的分离方法及异黄酮类化合物	64
1.3 异黄酮类成分的药理作用	66
第2节 黄芪中异黄酮类成分的化学分离	67
2.1 黄芪中总黄酮提取工艺的初步研究	67
2.2 蒙古黄芪中异黄酮的提取分离研究	67
2.3 化合物结构鉴定	69
2.4 化合物分离过程	74
参考文献	79
第5章 黄芪中主要异黄酮的代谢研究	83
第1节 异黄酮的代谢研究进展	83
1.1 代谢研究方法	83
1.2 肝 S9 组分方法	85
1.3 异黄酮的代谢研究	85
1.4 黄芪异黄酮代谢研究	86
第2节 异黄酮成分的代谢方法研究	88
2.1 异黄酮成分整体代谢研究	88
2.2 小结	96
第3节 异黄酮体外大鼠肝 S9 孵化实验	96
3.1 实验方法	97
3.2 实验结果	97
3.3 结论与讨论	98
第4节 芒柄花素与芒柄花苷的代谢研究	100
4.1 整体动物芒柄花苷的代谢研究	100
4.2 整体 SD 大鼠灌胃芒柄花苷的代谢研究	100
4.3 尿液样品 LC/MS 分析结果	101
第5节 芒柄花素大鼠肝 S9 体外孵化代谢研究	106
5.1 实验方法	106
5.2 代谢产物的分离与鉴定	107
5.3 代谢产物的结构鉴定	110
5.4 芒柄花素 S9 孵化样品 LC-MS 分析	111
第6节 毛蕊异黄酮与毛蕊异黄酮苷的代谢研究	115

6.1	整体动物毛蕊异黄酮苷的代谢研究	115
6.2	实验样品收集、处理与分析检测	116
6.3	尿液样品的 LC/MS 分析	116
6.4	毛蕊异黄酮的 LC/MS 裂解规律	118
6.5	代谢产物的 LC/MS 分析鉴定	119
6.6	毛蕊异黄酮的代谢研究	121
6.7	代谢产物的分离和鉴定	122
6.8	毛蕊异黄酮大鼠肝 S9 孵化样品的 LC/MS 分析	125
第 7 节	黄芪异黄烷与黄芪异黄烷苷的代谢研究	130
7.1	黄芪异黄烷苷整体动物模型的代谢研究	130
7.2	整体动物黄芪异黄烷苷代谢物分析	131
第 8 节	大鼠肝 S9 体外孵化黄芪异黄烷研究	135
8.1	实验方法	135
8.2	代谢产物分离与鉴定	136
8.3	黄芪异黄烷大鼠肝 S9 孵化样品的 LC-MS 分析	140
第 9 节	黄芪紫檀烷与黄芪紫檀烷苷的代谢研究	146
9.1	黄芪紫檀烷苷的代谢研究	146
9.2	黄芪紫檀烷苷结果分析	146
第 10 节	大鼠肝 S9 体外孵化黄芪紫檀烷研究	152
10.1	实验方法	152
10.2	代谢产物分离与鉴定	153
10.3	代谢产物的结构鉴定	156
10.4	对黄芪紫檀烷 S9 孵化样品的 LC-MS 分析	159
第 11 节	异黄酮类成分的代谢研究总结	163
11.1	8 个异黄酮类化合物的代谢研究结果与讨论	163
11.2	体内、体外和 LC-MS 代谢研究总结与讨论	165
11.3	异黄酮的代谢特点	166
11.4	已有研究结果对异黄酮化合物的代谢安全性评价结果与讨论	166
参考文献		167

第 6 章	民族药物研究	170
第 1 节	瑶药天钻的质量标准研究	170
1.1	方法与结果	170
1.2	含量测定	173
1.3	讨论	175
第 2 节	木姜叶柯叶中的根皮苷、三叶苷的含量测定研究	176
2.1	方法与结果	176

2.2 讨论	182
第3节 木姜叶柯老叶的提取工艺研究	183
3.1 方法与结果	183
3.2 结论与讨论	185
参考文献	186
 第7章 黄芪皂苷 IV 及苷元环黄芪醇的代谢研究	188
7.1 代谢方式分析	188
7.2 代谢途径分析	191
 第8章 其他相关研究总结	194
第1节 多指标评价枸杞子的煎煮工艺研究	194
1.1 方法	194
1.2 结果	196
1.3 结论与讨论	200
第2节 天山雪莲中芦丁和绿原酸含量测定及正交煎煮实验	200
2.1 方法与结果	201
2.2 讨论	208
第3节 锦鸡儿总黄酮预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障的 保护作用	208
3.1 实验方法	209
3.2 结果	210
3.3 讨论	212
参考文献	213

第1章 绪 论

中药是指在中医理论指导下,用于预防、治疗、诊断疾病并具有康复与保健作用的物质。中药主要来源于天然药及其加工品,包括植物药、动物药、矿物药及部分化学、生物制品类药物。由于中药以植物药居多,故有“诸药以草为本”的说法。中药研究是一个复杂的过程,其研究领域也非常广泛,本书由著者在实际工作中的相关研究成果总结撰写而成,由于受相关研究经历所限,未充分涵盖中药与中药制剂等研究方法与技术在所难免。

本书主要内容主要包括民族药(壮药、苗药和瑶药);中药材与中药制剂的相关含量、质量标准等分析技术的各种检测项目;中药复方制剂的开发研究工作的相关内容;同时也包括中药材主要化学成分的分离研究;中药材主要活性化学成分的代谢研究、质谱分析技术等内容。

我国是个多民族国家,各民族在与疾病抗争、维系民族生存繁衍的过程中,以各自的生活环境、自然资源、民族文化、宗教信仰等为根基,创立了具有本民族特色的医药体系。我们少数民族使用的、以本民族传统医药理论和实践为指导的药物,称为民族药。民族药发源于少数民族地区,具有鲜明的地域性和民族传统。据初步统计,全国少数民族中近80%的民族有自己的药物,其中约有1/3少数民族有独立的民族医药体系。目前我国民族药已达3700多种,汉族和少数民族在内的传统医药是中华民族的共同财富。各民族医药在独立发展、保持本民族特色的基础上,彼此也相互借鉴,有着许多共同点,民族药之间联系最广泛的是在药物的使用方面。从历史上看,历代本草都不同程度地选择、吸收了少数民族地区的药物,如唐代《本草拾遗》中收录的“玳瑁”,就是来自壮族民间用药。据不完全统计,历代本草中收录的民族地区药物有100多种。目前中医药常用的许多药材,如冬虫夏草、麝香、人参、天麻、三七、枸杞、大芸、甘草、麻黄、红花、儿茶、砂仁、血竭、紫胶虫、贝母等,大多产自少数民族地区。另外,少数民族也移植、应用了大量的汉族药物。民族药融通的最好例证就是药物的交叉使用。据报道,目前藏汉共用的药物有300多种;蒙汉共用的药物有400多种;维汉共用的药物有155种;佤汉共用的药物有80种。民族间通用同一种药物的情况非常普遍,如诃子有7个民族使用;天冬有18个民族使用;马鞭草有20个民族使用;鱼腥草有23个民族使用;车前则多达29个民族使用。局部地区亦如此,如新疆巴音郭楞蒙古自治州500种蒙药中,有70%药物与汉族药物相同;四川阿坝藏族羌



族自治州常用藏药中,相同于汉族药物种数占 1/2;青海地区汉藏交叉的药物有 121 种。少数民族间的药物也相互沟通,如蒙药中约 10% 药物出自藏药。民族用药的交叉问题比较复杂,有的是药名相同,基原各异;有的则是基原相同,药用部位或功效却不同,如中医用刺猬皮,朝鲜族用刺猬胆;中医用蝙蝠的粪便,傣族则用其血。红花有活血通经、散瘀止痛的功效,而维吾尔族则用以止咳。白鲜皮能清热燥湿、祛风止痒,而宁夏回族自治区民间则用于治疗刀伤出血,并流传有“家有八股牛(白鲜皮之别名),刀伤不发愁”的说法。

中药材与民族药物作为中华民族各族人民长久历史的智慧结晶,对它们的开发研究也是当前研究的热点,符合我国医药发展的根本利益;对传统药物资源的开发利用在现阶段也是国家科学技术委员会、各级科研管理机构鼓励的研究方向。总体来说,科学研究应以服务社会为基本出发点,对民族药的开发研究应与时俱进,找到其精华加以利用和发扬,对不合时宜的地方应摒弃。

中药研究工作的进步离不开各种科学技术的推动,在不同时间段受到不同局限,充分说明了药物研究工作是一个不断进步的过程,但药物研究与其他技术开发不同之处在于药物对人体健康的影响决定了它的安全性是重中之重、有效性是利用的前提。

药物之所以能够治疗疾病,是由于各种药物本身具有若干特性和作用,前人将之称为药物的偏性。把药物与疗效有关的性质和性能统称为药性,它包括药物发挥疗效的物质基础和治疗过程中所体现出来的作用,它是药物性质与功能的高度概括。研究药性形成的机制及其运用规律的理论称为药性理论,其基本内容包括四气、五味、升降浮沉、归经、毒性、用药禁忌等。

(1) 四气:寒热温凉四种不同的药性被称四性。它反映了药物对人体阴阳盛衰、寒热变化的作用倾向,是说明药物作用的主要理论依据之一。是由药物作用于人体所产生的不同反应和所获得的不同疗效总结出来的,它与所治疗疾病的性质是相对而言的。

(2) 五味:五味是指药物有酸、苦、甘、辛、咸五种不同的味道,因而具有不同的治疗作用。五味的产生,首先是通过口尝,即用人的感觉器官辨别出来的,它是药物真实味道的反映。但其不仅是药物味道的真实反映,更重要的是对药物作用的高度概括。

(3) 升降浮沉:升降浮沉是药物对人体作用的不同趋向性,是与疾病所表现的趋向性相对而言的。影响药物升降浮沉的因素主要与四气五味、药物质地轻重有密切关系,并受到炮制和配伍的影响。

(4) 归经:归经是指药物对于机体某部分的选择性作用,即某药对某些脏腑经络有特殊的亲和作用,因而对这些部位的病变起着主要或特殊的治疗作用,药物的归经不同,其治疗作用也不同。归经指明了药物治病的适用范围,也就是药效所在,包含了药物定性、定位的概念。它与机体因素即脏腑经络生理特点,临床经验的积累,中医辨证理论体系的不断发展与完善及药物自身的特性密不可分。

(5) 毒性:古代常常把毒药看作是一切药物的总称,药物毒性的含义较广,毒性是药物的偏性,又被认为是药物毒副作用大小的标志。现代一般认为毒性是指药物对



机体所产生的不良影响及损害。包括急性毒性、亚急性毒性、亚慢性毒性、慢性毒性和特殊毒性如致癌、致突变、致畸胎、成瘾等。中药的副作用有别于毒性作用。副作用是指在常用剂量时出现与治疗需要无关的不适反应，一般比较轻微，对机体危害不大，停药后可自行消失。

(6) 用药禁忌：中药的用药禁忌主要包括配伍禁忌、证候禁忌、妊娠禁忌和服药的饮食禁忌四个方面。①配伍禁忌，是指某些药物合用会产生剧烈的毒副作用或降低和破坏药效，因而应该避免配合应用。②证候禁忌，由于药物的药性不同，其作用各有专长和一定的适应范围，因此，临床用药也就有所禁忌，称“证候禁忌”。如麻黄性味辛温，功能发汗解表、散风寒，又能宣肺平喘利尿，故只适宜于外感风寒表实无汗或肺气不宣的喘咳，而对表虚自汗及阴虚盗汗、肺肾虚喘则禁止使用。③妊娠用药禁忌，是指妇女妊娠期治疗用药的禁忌。某些药物具有损害胎元以致堕胎的副作用，所以应作为妊娠禁忌的药物。根据药物对于胎元损害程度的不同，一般可分为慎用与禁用两大类。凡禁用的药物绝对不能使用，慎用的药物可以根据病情的需要斟酌使用。④服药饮食禁忌，是指服药期间对某些食物的禁忌，简称食忌，也就是通常所说的忌口。一般应忌食生冷、油腻、腥膻、有刺激性的食物。此外，根据病情的不同，饮食禁忌也有区别。

总之，中药开发离不开中医药相关理论指导，中医药相关理论是中药开发研究工作中的指导思想。中药组方应遵循君、臣、佐、使的组方原则，还应符合传统的“十八反”“十九畏”的范畴，对中药的性、味归经进行合理的辨析。一般认为中药的使用应以中国传统医药理论指导其采集、炮制、制剂，说明作用机理，从而指导临床药物的应用。但是，从神农尝百草始有中药来讲，中药的起源应早于中医理论的形成与发展，所以中药的使用以中医药理论为指导应具体分析和鉴别，对于历史上有较好经验借鉴的相关中医理论应总结发挥并遵循；不足之处同样也存在，因为中医理论在中国不仅只是医学的集大成著作，同时也是中国哲学文化的集大成著作，其理论在哲学上的正确性无须质疑，但是通过对中药使用的经验总结出来的中医理论，对于两者的相关性、正确性还应继续探索、发现与修正。

近年来，对药物代谢的研究主要集中在动力学角度研究药物的转化，药物与药物的相互作用或影响；对药物结构与代谢相关性（SMR）的研究；对可能形成的代谢活性产物的结构和种类及可能的代谢途径进行预测；对代谢产物的分离、分析、结构鉴定等。随着细胞生物学和分子生物学的发展，对药物在体内代谢产物及代谢机理的研究也已经有了长足的发展。通过对药物体内代谢产物和代谢机理的研究，还可以发现生物活性更高、更安全的新药。药物代谢在临床前及临床中的研究，首先，利用各种体外模型进行筛选，推测或明确药物代谢途径及参与代谢的相关酶系；其次，确定药物与药物间相互反应的发生，以及是否经过同一代谢酶或代谢途径。肝脏是药物在体内的主要代谢部位，也是体内的药酶（如P450酶）的主要存在场所，对药物的代谢主要是Ⅰ相反应，例如，氧化、还原、水解等反应，和Ⅱ相的结合反应，从而对药物进行解毒、活化、失活、降解。其中与药物代谢相关的P450酶主要有CYP1A2、CYP3A4、CYP2D6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2E1等，这些酶参与了大部分药物的代



谢过程。从保证临床用药的安全性及有效性来说,药物代谢过程直接影响到药物在体内的药效及毒性。通过对药物体内过程的了解,解决药物使用中的不利因素,如结构改造,使其增效、解毒,向有益的方向转化,也成为开发新药来源的一个有效途径。

高分辨质谱能够准确地测定物质的分子量,通过分子量可以准确预测分子的元素组成;多级质谱联用是通过对一级或上级质谱产生离子进一步裂解产生次级质谱,并对次级质谱进行质量分析的技术。依据实现方式,多级质谱可分为两类:一类是时间串联质谱(tandem in time),它是利用某些质量分析器能够储存离子的特性,在同一个质量分析器上,通过时间序贯实现多级质谱分析;另一类是空间串联质谱(tandem in space),它是利用多个质量分析器在空间上串联从而实现多级质谱的功能。质谱技术具有高灵敏度、高选择性、高稳定性及高通量的特点,特别适合于中药复杂成分及其代谢物的定性定量分析。高分辨多级质谱联用技术主要优势在于它既能准确预测物质的元素组成,还可以对物质结构在质谱仪的轰击下推测碎片离子的结构,从而进一步推测化合物分子结构。在中药活性成分代谢研究中,在药物生产与研究中经常面对复杂天然药物的多组分结构归属与鉴定,或者药物代谢产物以及药物杂质,或混合的微量成分分析等结构测定或含量测定等方面的挑战,传统的单一质谱功能已不能满足分析要求,利用串联质谱仪多级质谱的测定应对挑战,已经越来越发挥着重要的作用。

本书就以上内容进行了一定程度的研究和总结,对相关领域的方法和技术等应用可供高等医药院校中药相关专业人员参考,也可供中药研发与生产、检验的技术人员参考。

第2章 抗妇科炎症泡腾栓提取工艺的研究

第1节 抗妇科炎症泡腾栓的研究概况

1.1 抗妇科炎症泡腾栓的背景研究

阴道炎症 (vaginitis) 包括细菌性阴道炎 (bacterial vaginitis)、滴虫阴道炎 (trichomonas vaginitis)、霉菌性阴道炎, 还有病毒性阴道炎、幼女性外阴阴道炎及老年性阴道炎等, 是女性常见、多发的病症之一, 发于女性不同年龄段, 其发病原因也不同, 大多是由于机体防御功能减弱, 病原体侵入机体内或条件致病等原因引起的。

现在临床用于治疗阴道炎症的给药剂型有栓剂、软膏剂、洗液、胶囊剂、片剂、凝胶剂、泡腾片, 还有全身用药达到局部抗炎功效的输液剂和片剂等。栓剂、软膏剂、洗液、胶囊剂、片剂为传统阴道给药剂型, 使用时间较长, 临床使用相对广泛, 应用也较为成熟, 也较为肯定, 其主要优点为设备简单、工艺操作不复杂、生产成本低、患者顺应性较好等, 但是胶囊、片剂存在药效发挥慢、释药不彻底和使用疗效差等问题; 栓剂、软膏剂、洗液则是起效较快, 疗效也较好, 但存在患者顺应性差, 使用不太方便, 不利于包装, 容易污染衣物等缺点。凝胶剂、泡腾片是现在开发阴道给药的重点剂型, 已有很多上市的西药、中药品种, 例如聚维酮碘凝胶、舒康凝胶剂、苦参碱阴道凝胶等; 制霉菌素泡腾片、甲硝唑泡腾片、洁尔阴泡腾片、妇炎平泡腾片等。与传统栓剂相比, 其具有以下优点, 阴道凝胶剂更具超敏性、刺激性小、使用方便、吸收好等特点, 产品使用过程中溶解彻底、无聚集的颗粒残留, 药物与感染病灶部位接触充分, 治疗效果显著。泡腾片在使用过程中遇体液快速崩解、均匀分散、无聚集的颗粒残留、有效避免了栓剂等溶解不彻底的弊病; 此外, 泡腾片在溶解过程中, 利用气泡产生的推动力, 使药物充分地分布于宫颈口和阴道中, 并与感染病灶部位充分接触, 从而达到更加有效的治疗效果, 使治愈率和有效率显著提高, 患者顺应性好, 使用也比较方便, 便于包装和储存。当然, 其也存在以下问题: 设备要求较高, 工艺条件及贮存条件也较复杂及苛刻, 成本相对有所提高。阴道泡腾栓则是一种利用泡腾系统发泡快速崩解及栓剂基质包裹酸碱系统, 药物稳定性增强, 方便贮存, 可以显著提高药效, 工艺条件相对简化, 设备及生产条件要求不高的新剂型 (见表 2-1-1)。



表 2-1-1 各种剂型优缺点比较

剂型	缺点	优点
栓剂	使用较方便，易污染内裤，药物溶解不彻底，局部给药浓度过高，易造成抗药性，未婚女性不适用	工艺简单，生产成本低，患者顺应性较差
软膏剂	使用不方便，需多次给药，易污染内裤，药物溶解较差	比较简单，生产成本较低，患者顺应性差
洗液	携带使用不方便，需重复多次给药	比较简单，显效较快，患者顺应性差
凝胶剂	制备工艺较复杂，生产成本、生产条件要求较高	比较方便，药物溶解彻底，显效快，患者顺应性好
泡腾片	制备工艺较复杂，生产成本、生产条件要求高	方便，药物溶解彻底，显效快，患者顺应性好
泡腾栓	贮藏条件相对要求较高，要充分隔绝空气	相对简化，生产条件要求不高，使用方便，显效快

目前，治疗念珠菌性阴道炎的药物已从克霉唑类药物发展到氟康唑类。现在临床上常用治疗念珠菌引起的阴道炎可选用制霉菌素泡腾片、黛卫凝胶、达克宁栓、硝酸咪康唑栓、克林软膏、凯妮汀、双唑泰泡腾片等，还可以用克霉唑、替硝唑、咪康唑等的片剂、栓剂或乳膏剂等抗真菌药物联合治疗。

治疗老年性阴道炎则主要以激素替代疗法为主，可选用孚舒达栓、复方甲硝唑、康复特栓等。治疗滴虫性阴道炎用灭滴灵（甲硝唑）、氨苄西林或替硝唑等片剂、泡腾片剂、栓剂等，配合使用 3% 硼酸或稀醋酸、洁霉素液、洗剂“洁尔阴”或“肤阴洁”阴道内冲洗，效果更好。对于各种病毒引起的阴道炎症，宫颈糜烂等可选用重组人干扰素栓、安达芬栓、奥平栓、爱宝疗栓等。

对于各种原因引起菌群失调的患者，硝呋太尔阴道片治疗也是一个很好的选择。近年来更有学者提出微生态疗法，即通过恢复阴道的菌群失调而起治疗阴道炎的作用，例如，乳酸阴道胶囊是活肠链球菌制成的微生态制剂，可治疗细菌紊乱引起的阴道炎，各种抗生素治疗无效的阴道炎可以选用。

中医治疗阴道炎则是从整体出发，主治清利湿热、健脾化湿、补益肝肾、疏肝健脾，配以杀虫止痒；在内治的同时，结合外治法、内外合治，临床疗效良好，无明显不良反应。目前由于外治药物直接作用于患病部位，针对性强，而且药物吸收迅速，对机体内环境干扰少，起效快捷，是一种非创伤治疗方式，操作简单，有其独有的特点而为临床治疗阴道炎症提供了更多的选择。中药治疗细菌性阴道炎的药品有：妇炎平泡腾片、康妇灵栓、复方芙蓉泡腾片、复方沙棘子油栓、康复消炎栓、苦参碱阴道凝胶、舒康凝胶剂、洁尔阴泡腾片、妇炎平泡腾片等，这些中药都有清热解毒、燥湿杀虫、止痒止带的作用，对湿热引起的宫颈糜烂也有一定的疗效。



临床上应用传统药物甲硝唑已有几十年的历史,对其耐药的滴虫和细菌菌株呈现逐年上升的趋势,因此,聚维酮碘、咪康唑、益康唑多种类型的阴道制剂及中草药制剂的出现为治疗各种阴道疾病提供了更多的选择。作为医务工作者要以患者为中心,既要掌握各种药物的药理、药性,根据不同病情针对性地选择药物,又要替患者着想,使患者少花钱,真正做到合理用药,保证用药安全、有效、经济。该研究的处方是由传统中药结合贵州地方民族药,对妇科各种炎症经临床使用疗效确切,是一种具有较好开发前景的中药复方制剂,也是对中医药现代化的发展作出贡献的有效途径之一。

1.2 抗妇科炎症泡腾栓的研究内容

该研究从中药复方制剂出发,该方源自《普济方》,主要以苦参、蛇床子、黄柏等结合贵州苗族民间使用的苗药,经临床长期使用疗效确切,在传统妇科洗剂的基础上经过提取工艺的研究、制剂成型工艺的研究、质量标准的研究及初步稳定性研究而开发的一种现代制剂,著者按新药研发的相关要求进行了实验设计。

实验:①分别采用多个化学指标结合微生物学指标(细菌 MIC 值的测定)对该复方提取工艺研究进行评分比较,优化选择,使用了现代质量分析手段 HPLC 法、UV 法结合微生物学试验进行工艺优化。②在制剂成型研究时采用多种方法和指标对工艺进行筛选,以建立合理的制剂成型工艺。③进行质量标准研究,建立对制剂质量控制的合理方法。④对研究确定的提取工艺及制剂成型工艺进行中试生产研究,确定工艺生产的合理性和实用性。⑤对制备好的制剂按《中华人民共和国药典》(2015 版)(以下简称《中国药典》)二部附录 XIXC“药物稳定性试验指导原则”和国家药品标准(试行)中相关要求进行了试验。

在该复方的提取工艺研究中,通过微生物学试验,证明了化学指标选取的正确性和合理性,对下一步制剂的质量控制提供了好的控制指标及方法。同时,通过对制剂成型工艺的研究,得出了稳定可行的工艺条件及质量合格的制剂,该工艺与工业上生产条件基本符合,易于工业化生产实施。对制剂的质量控制研究采用了多个化学指标同时控制产品质量的方式,使产品质量得到了更确切的保证。

第2节 抗妇科炎症泡腾栓提取工艺的研究

2.1 实验处方的来源及方解

该处方由苦参等7味药材组成。其中,苦参、蛇床子、黄柏等5味药材为《中国药典》收载品种;其他2味药材为2003年版贵州省中药材、民族药材质量标准收载品种。迄今为止,以上各类药的研究已有较多报道。例如苦参含苦参碱(matrine)、氧化苦参碱(oxymatrine)等17种生物碱,总生物碱含量为1%~2.5%,该类生物碱具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎、调节免疫等作用,对中枢神经系统、心血管系统、生殖系统等方面有明显的药理作用;蛇床子含挥发油及香豆素类活性成分,其挥发油为止痒成分,香豆素类具有调节内分泌、抗骨质疏松、抗诱变、抗肿瘤、抗病毒、抗炎、抗菌、



抗肝损伤、抗氧化等作用,目前临床上使用其治疗外科、妇科及皮肤等疾病;黄柏含总生物碱为4.11%~6.36%,具有广谱抗菌作用,如抗病原微生物,对多种球菌和杆菌均有抑制作用,对致病性皮肤真菌亦有不同程度的抑制作用,临床主治肠炎、菌痢、传染性黄疸型肝炎、妇女阴道滴虫症、风湿性关节炎及肺结核等;黄柏的主要活性成分为多种异喹啉类生物碱,该生物碱类有抗菌、杀虫、抗肿瘤、预防肝纤维化、增强免疫作用,临床上治疗多种炎症,特别是宫颈炎、宫颈糜烂,总有效率达94%;茯苓主要成分为黄酮类、皂苷类,临床上可治疗多种妇科炎症;芒硝主要成分为无机盐类,具有抗细菌、真菌、滴虫及收敛止血的药理作用。石榴皮的主要活性成分为鞣质类和生物碱类,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、调血脂、凝集精液和体内抗生育作用,对生殖器疱疹病毒、淋球菌和白色念珠菌有明显的抑制和杀灭作用,而且基本上没有观察到副作用,因此在避孕、控制和治疗性传播疾病方面很有前景。以上各类药物的含量测定包括EDTA络合滴定法、分光光度法、薄层扫描法、HPLC法等,其中,HPLC法最常用,提取工艺也较为成熟。

2.2 药材来源及前处理研究

该研究中处方所选各味药,均经贵阳中医学院生药室董立莎教授采购,并按《中国药典》一部相关规定要求进行处理后,其鉴别、检查、鉴定均符合规定要求。为了在实验中保证提取、除杂、制剂成型工艺之间的可比性,研究所用药材均为同一批次药材,根据处方要求进行处理。苦参等药材进行含量测定前进行了水分测定。

2.2.1 水分测定

按《中国药典》附录IXH水分测定法第一法(烘干法),结果如表2-2-1所示。

表2-2-1 药材水分测定结果

样品	苦参	蛇床子	黄柏
药材粉末/g	9.17	5.78	7.27
第一次称重/g	8.43	5.22	6.56
第二次称重/g	8.39	5.20	6.53
含水量/%	8.31	10.03	10.18
规定限度为	<11.0%	<13.0%	<12.0%

根据《中国药典》相关药材水分项下规定要求,结果表明以上各药材水分含量合格。

2.2.2 药材处理

根据文献资料,苦参片打粉后使用,粉成最粗粉;蛇床子打成粗粉后使用;黄柏打粉后使用,粉成最粗粉,但允许带有少量较大颗粒或小块;茯苓打粉后使用,粉成最粗粉,但允许带有少量较大颗粒;黄柏药材切成丝状(宽2~5mm、长2~5cm)干后使用;芒硝打细粉后使用。按细粉要求,石榴皮打粉后使用,粉成最粗粉,但允许带有少量较大颗粒或小块。因考虑提取工艺中提取次数、提取时间、溶剂加入量对药



材粒度的补偿作用,故药材打粉粒度仅做一般处理。

2.2.3 药材质量检查含量测定

1. 蛇床子药材含量测定方法按《中国药典》一部蛇床子药材含量测定项下方法。药典规定蛇床子药材以蛇床子素计,含蛇床子素不少于药材干重的1.0%,该研究中使用蛇床子药材以蛇床子素计,含蛇床子素为药材干重的1.92%,说明该批实验蛇床子药材符合药典要求。

2. 苦参药材含量测定:药材中的苦参碱与氧化苦参碱的HPLC法含量测定参照《中国药典》一部苦参药材项下苦参碱与氧化苦参碱的含量测定。药典规定苦参药材中含量以苦参碱、氧化苦参碱计,为不少于药材干重的1.2%,该研究中使用苦参药材中含量以苦参碱、氧化苦参碱计,为药材干重的3.5%,说明实验苦参药材符合药典要求。

3. 黄柏药材含量测定方法按《中国药典》一部黄柏药材含量测定项下方法,药典规定黄柏药材以盐酸小檗碱计,含盐酸小檗碱不少于药材干重的3%,该研究中使用黄柏药材以盐酸小檗碱计,含盐酸小檗碱为药材干重的5.63%,说明实验用黄柏药材符合药典要求。

4. 药材石榴皮的鞣质含量测定

(1) 供试品溶液的配制:取药材提取物约400mg,精密称定,置250ml棕色量瓶中,加水适量过夜,超声处理10min,放冷,约10min,用水稀释至刻度,摇匀,静置(使固体物沉淀),滤过,弃去初滤液50ml,精密量取续滤液20ml,置100ml棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

(2) 总酚含量测定:精密量取供试品溶液2ml,置25ml棕色量瓶中,按照标准曲线的制备项下的方法,自“加入磷钼钨酸试液1ml”起,加水10ml,依法测定吸光度,从标准曲线中读出供试品溶液中没食子酸的量(mg),计算含量。

(3) 不被吸附的多酚:精密量取供试品溶液25ml,加至已盛有干酪素0.6g的100ml具塞锥形瓶中,密塞,置30℃水浴中保温1h,时时振摇,取出,放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液2ml,置25ml棕色量瓶中,按照标准曲线的制备项下的方法,自“加入磷钼钨酸试液1ml”起,加水10ml,依法测定吸光度,从标准曲线中读出供试品溶液中没食子酸的量(mg),计算含量。

(4) 按下式计算鞣质的含量:鞣质含量=总酚量-不被吸附的多酚量。

药典规定石榴皮药材以鞣质含量不少于药材干重的10.0%,该研究用石榴皮药材的鞣质含量为药材干重的13.04%,说明该批实验用石榴皮符合药典要求。按没食子酸含量测定方法考察中标准曲线计算鞣质含量, $C=8.316A-0.301$; $r=0.9992$; 线性范围: $0.996\sim9.960\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

2.3 提取工艺中控制评价指标的选择

针对该处方工艺的考察,对提取工艺中具有代表性的多个成分作为多个指标进行评价。按照以上原则,选择综合评价指标为:①君药蛇床子中的主要药效成分蛇床子素的含量。②其他药中的主要药效成分总生物碱的含量。③微生物学的最低抑菌试验(MIC)为工艺评价的综合指标。



2.3.1 处方提取工艺初步探索方法确定

该处方提取考虑的因素有：①鞣质与生物碱容易产生沉淀，从而导致有效成分的丢失，影响药效的保留，考虑是否将含鞣质的药味石榴皮在提取中单煎处理；②提取溶剂选择水及不同浓度的醇作考察，由于处方中含有水溶性较差的蛇床子素和某些生物碱类，同时含有水溶性较好的皂苷、黄酮、鞣质等成分；③考虑是否采用醇水双提法来进行提取。

具体操作步骤如下：

(1) 蛇床子单独提取挥发油，得挥发油、水提药液（浓缩得干膏）和蛇床子药渣。

(2) 苦参、黄柏、茯苓、石榴皮和蛇床子提取挥发油后药渣：

I：以上6味药用6倍水，回流提取3次，每次1h，滤液浓缩得干膏后，按处方量加挥发油、加芒硝制成样品I（含生药 $1\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）。

II：以上6味药用6倍40%醇，回流提取3次，每次1h，滤液浓缩得干膏后，按处方量加挥发油、加芒硝制成样品II（含生药 $1\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）。

III：以上6味药用6倍80%醇，回流提取3次，每次1h，滤液浓缩得干膏后，按处方量加挥发油、加芒硝制成样品III（含生药 $1\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）。

IV：以上6味药用6倍80%醇，回流提取3次，每次1h，药渣再用6倍水提取两次，每次1h，合并滤液浓缩得干膏后，按处方量加挥发油、加芒硝制成样品IV（含生药 $1\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）。

V：以上6味药除石榴皮外，用6倍80%醇，回流提取3次，每次1h，滤液浓缩得干膏后，按处方量加挥发油、加芒硝加石榴皮分提物（石榴皮加8倍，回流提取3次，每次1h，滤液浓缩得干膏）制成样品V（含生药 $1\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ）。

2.3.2 蛇床子挥发油提取工艺研究

1. 吸水率考察

考虑因制剂需要，以后除杂困难而使干膏得率过高，仅将蛇床子打成粗粉提取挥发油，故称取粗粉各10g（3份），加水100ml浸泡，隔一定时间观察浸透心程度，浸泡约6h后，过滤，测得过滤水量，计算吸水率，结果表明，蛇床子粗粉吸水率约为自身重量的345%，并且粗粉密度小、体积较大，所以回流提取挥发油工艺中，确定加水量从10倍量开始考察，选定加水量12倍、14倍平行考察。

2. 加水量考察

称取蛇床子粗粉90g，加不同量水浸泡1h，以收油量为指标，回流蒸馏提取，结果如表2-2-2所示。

表2-2-2 蛇床子药粉挥发油提取加水量结果

时间/h	2	3	4	5	6	7	8	9	加水/倍
油量/ml	0.50	0.64	0.76	0.86	0.92	0.96	1.02	1.04	10
油量/ml	0.66	0.78	0.90	0.93	0.99	1.05	1.08	1.08	12
油量/ml	0.48	0.60	0.72	0.84	0.90	0.93	0.93	0.93	14

结果表明，称取蛇床子粗粉，加12倍水量、浸泡1h，回流提取挥发油量较高，当