

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.21.012

中药复方止癣乳膏的提取及制备工艺优选*

赵莹^{1,2}, 翟明^{1,2}, 李苑华¹, 张声源^{1,2}, 江中洪^{3△}

(1. 嘉应学院, 广东 梅州 514031; 2. 广东省山区特色农业资源保护与精准利用重点实验室, 广东 梅州 514031; 3. 嘉应学院医学院附属医院, 广东 梅州 514031)

摘要:目的 优选中药复方止癣乳膏的提取方法及制备工艺。方法 以水提法(煎煮、超声)、酸提法(浸提、超声)、醇提法(浸提、超声)为考察因素,以槲皮素和总黄酮的提取率为评价指标,优选提取工艺;以十二烷基硫酸钠和单硬脂酸甘油酯的含量、乳化温度、乳化时间为考察因素,以制备乳膏的综合评分为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选制备工艺。结果 最优提取工艺为70%乙醇超声提取,温度为50℃,功率为240W,提取1.5h;其提取率槲皮素为0.07%,总黄酮为60.16%;乳膏最佳制备工艺为加处方量1.5%十二烷基硫酸钠、4.0%单硬脂酸甘油酯,于80℃下乳化15min。结论 优选的中药复方止癣乳膏制备工艺合理可行,质量稳定可控,可为工业化大生产提供数据支持。

关键词:足癣;乳膏;中药复方;制备工艺;提取工艺

中图分类号:R932;TQ460.6

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)21-0044-04

Extraction and Preparation Technology Optimization of Traditional Chinese Medicine Compound Cream for Treating Tinea Pedis

ZHAO Ying^{1,2}, ZHAI Ming^{1,2}, LI Yuanhua¹, ZHANG Shengyuan^{1,2}, JIANG Zhonghong³

(1. Jiaying University, Meizhou, Guangdong, China 514031; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Conservation and Precision Utilization of Characteristic Agricultural Resources in Mountainous Areas, Meizhou, Guangdong, China 514031; 3. Affiliated Hospital of Medical College of Jiaying University, Meizhou, Guangdong, China 514031)

Abstract: Objective To optimize the extraction and preparation technology of traditional Chinese medicine (TCM) compound cream for treating tinea pedis. **Methods** The extraction process was optimized with water extraction (decoction, ultrasonic), acid extraction (extraction, ultrasonic) and alcohol extraction (extraction, ultrasonic) as the investigation factors and with the extraction rate of quercetin and total flavonoid as the evaluation indexes. The preparation process was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with the content of sodium dodecyl sulfate (SDS) and glycerol monostearate, emulsification temperature and emulsification time as the investigation factors and with the comprehensive score of the prepared cream as the evaluation index. **Results** The optimal extraction conditions were as follows: the ultrasonic extraction was adopted with 70% ethanol, the temperature was 50℃, the power was 240W, and the extraction time was 1.5h. Under this condition, the average extraction rates of quercetin and total flavonoid were 0.07% and 60.16%, respectively. The optimum preparation process of the cream was as follows: adding 1.5% SDS and 4.0% glycerol monostearate, and emulsifying at 80℃ for 15min. **Conclusion** The optimized preparation process of TCM compound cream for treating tinea pedis is reasonable and feasible, and the quality is stable and controllable, which can provide data support for the industrial production.

Key words: tinea pedis; cream; traditional Chinese medicine compound; preparation process; extraction process

中医学认为,手足癣由外感湿热、毒虫沾染引起,日久郁阻皮肤脉络,造成血不荣肤,治疗多选用杀虫、祛湿、清热、祛风、活血之剂^[1]。本课题组的前期研究中结合中医学理论基础,选用具有杀虫、祛湿、清热、祛风、活血等功效的皂角、荆芥、红花及白矾4味中药组方^[2-4],筛选其对具有抗真菌和抗炎作用的有效成分^[5-6],以槲皮素和总黄酮为指标成分,优化提取方法。目前,市场上的抗足癣软膏多为化学抗菌药物^[7-8],抗足癣类中药仍以洗剂为主^[9-10],而洗剂不易携带,药液难以附着于皮肤,起效较慢。本研究中对提取工艺进行优化后,拟开发一种复方中药抗足癣软膏,通过正交设计优化其制备

工艺,并考察制剂的稳定性,为复方中药止癣乳膏的开发及工业化生产提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UV-1800型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);MING-CHE 24UV型超纯水机(法国Merck Millipore公司);TDZ5-WS型台式离心机(长沙湘锐离心机有限公司);DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱(上海鸿都电子科技有限公司);BSA1245型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司,精度为万分之一);JP-060型超声波清洗机(深圳市洁盟设备有限公司,功率为240W,频率为40kHz)。

*基金项目:广东省高等教育“冲补强”提升计划重点建设学科建设项目[粤教科函[2018]181号]。

第一作者:赵莹,女,硕士,讲师,研究方向为中药新剂型,(电话)0753-2201876(电子信箱)15016268861@163.com。

△通信作者:江中洪,男,大学本科,副主任医师,研究方向为皮肤病学,(电子信箱)afas@139.com。

1.2 试药

槲皮素对照品(北京北纳创联生物技术研究所,批号为 C15H1007,纯度 $\geq 98\%$);芦丁对照品(奥科生物科技公司,批号为 BWB51607,纯度 $\geq 98\%$);其他试剂均为分析纯;皂角药材(批号为 20180115),荆芥药材(批号为 20180926),均购于宿迁圣轩阁有限公司;红花药材(批号为 20180709),白矾药材(批号为 20170813),均购于大参林药业股份有限公司。上述中药材均经嘉应学院医学院张声源中药学副教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 提取工艺研究

2.1.1 复方中药处方

取皂角、荆芥、红花、白矾药材各 3 g,按 1:15(m/V)料液比进行配制。

2.1.2 提取方法考察^[11-12]

水提法:1)水煎煮法。按 1:15(m/V)料液比加水,提取 2 次,合并提取液,滤纸过滤,密封备用。2)水超声法。按 1:15(m/V)料液比加水,超声提取(功率为 240 W,温度为 50℃)1.5 h,提取液用滤纸过滤,密封,备用。

酸提法:1)酸浸提法。冰乙酸浸渍提取 24 h,提取液用滤纸过滤,密封,备用。2)酸超声法。提取条件与水超声法相同,提取溶剂换为冰乙酸。

醇提法:醇浸提法与醇超声法的反应条件分别同酸浸提法和酸超声法一致,提取溶剂更换为 70% 乙醇。

2.1.3 总黄酮提取率考察

芦丁对照品溶液制备:称取芦丁对照品 9.4 mg,精密称定,置 100 mL 烧杯中,以 60% 乙醇溶液溶解,吸取 0.5 mL,置 50 mL 容量瓶中,定容至刻度,即得质量浓度为 0.188 mg/mL 的对照品溶液,备用。

芦丁线性关系考察:分别精密吸取芦丁对照品溶液 0.50,1.00,2.00,3.00,4.00,5.00 mL,置 10 mL 容量瓶中,加 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 4% NaOH 溶液 4 mL,再用 60% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 15 min,显色^[13],于 510 nm 波长处测定吸光度。得回归方程 $Y = 0.2208X + 0.0068$, $R^2 = 0.9995$ ($n = 6$),表明芦丁质量浓度在 0.5~5.0 mg/mL 范围内与吸光度线性关系良好。

总黄酮提取率测定:按 2.1.2 项下提取工艺进行提取,过滤,取提取液 1 mL,置 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度,即得供试品溶液。精密吸取供试品提取液 1 mL,置 100 mL 容量瓶中,按标准曲线项下方法测定吸光度^[13]。按公式 1)计算总黄酮提取率(X)。结果见图 1。

$$X(\%) = CVP/W \times 100\% \quad (1)$$

式中, X 为总黄酮或槲皮素的提取率(%); C 为根据标准曲线计算的总黄酮或槲皮素质量浓度(mg/mL); V 为

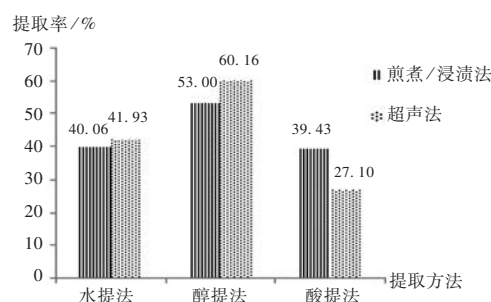


图1 不同提取方法的总黄酮提取率比较

Fig. 1 Comparison of extraction rates of total flavonoid by different extraction methods

药材提取液总体积(mL); P 为稀释倍数; W 为药材质量(mg)。

由图 1 可知,超声醇提法的总黄酮提取率最高为 60.16%。水提取和醇提取过程中,超声法的提取率高于煎煮法或浸渍法;酸提取过程中,浸渍法高于超声法。

2.1.4 槲皮素提取率考察

槲皮素对照品溶液制备:取槲皮素对照品 1.5 mg,精密称定,于烧杯中溶解,润洗 2~3 次,用少量蒸馏水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中,即得质量浓度为 15 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,备用。

槲皮素线性关系考察:分别精密吸取槲皮素对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0 mL,置 25 mL 容量瓶中,以蒸馏水为空白参比,于 382 nm 波长处测定吸光度。得回归方程 $Y = 0.3419X - 0.0021$, $R^2 = 0.9992$ ($n = 8$),表明槲皮素质量浓度在 0.1~0.6 mg/mL 范围内与吸光度线性关系良好。

槲皮素提取率测定:按 2.1.2 项下提取工艺进行提取,过滤,取提取液 1 mL,置 50 mL 容量瓶中,稀释至刻度,即得供试品溶液。精密吸取总黄酮提取率测定项下供试品提取液 1 mL,置 50 mL 容量瓶中,按公式 1)计算槲皮素提取率(X)。结果见图 2。

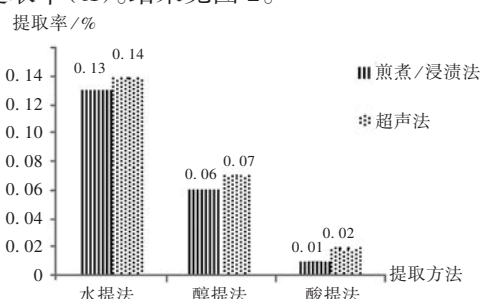


图2 不同提取方法的槲皮素提取率比较

Fig. 2 Comparison of extraction rates of quercetin by different extraction methods

由图 2 可知,以水和醇作为提取溶剂时槲皮素的提取率高于以酸为提取溶剂,且超声法高于煎煮法或浸渍法。分析原因,相较于浸渍法及煎煮法,超声法的温度和超声微波作用可提高提取率,从而增加槲皮素在提取溶剂中的溶解度,则槲皮素的浸出量相对较多。结合总黄酮提取率,则槲皮素的提取率为 0.07%。

2.1.5 最佳提取工艺确定

综合总黄酮和槲皮素的提取率考察结果,最终确定该复方最佳提取工艺为 70% 乙醇超声提取,功率为 240 W,温度为 50 ℃,提取 1.5 h。

2.2 槲皮素与总黄酮含量测定方法学考察

精密度试验:精密吸取槲皮素、总黄酮对照品溶液各 0.2 mL,按标准曲线项下方法测定吸光度,重复测定 6 次。结果槲皮素、总黄酮吸光度的 *RSD* 分别为 0.21% 和 1.28% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取复方中药材粉末,各 3 g,精密称定,按上述最佳提取工艺提取,共制备供试品溶液 12 份,按标准曲线项下方法测定吸光度。结果槲皮素、总黄酮吸光度的 *RSD* 分别为 0.26% 和 1.75% ($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取复方中药材粉末,各 3 g,精密称定,按上述最佳提取工艺提取,过滤提取液,精密吸取提取液 0.2 mL,于室温下放置 0,1,3,5,7,9,12,24 h 时按标准曲线项下方法测定吸光度。结果槲皮素、总黄酮吸光度的 *RSD* 分别为 0.33% 和 1.52% ($n=8$),表明供试品溶液在室温下放置 24 h 稳定性良好。

表 2 乳膏评分标准

Tab. 2 Scoring criteria of cream

评分项目	评分指标
外观质量	(1)色泽均匀度:色泽均匀,洁白或乳白色,得 4 分;偏黄,得 2 分;色泽不均匀,有斑点,得 0 分;(2)质地:光滑细腻,无颗粒感,得 4 分;稍有颗粒感,得 2 分;有较大颗粒感,得 0 分;(3)稠度:可划出划痕,在较短时间内可恢复原状,得 4 分;在较短时间内不可恢复原状,得 2 分;较稀,可流动,得 0 分;(4)涂抹性:易涂抹,不泛白,得 4 分;泛白,得 2 分;不易涂抹,得 0 分;(5)清洁难易:不使用清洁剂即可清洗,得 4 分;使用清洁剂可清洗,得 2 分;不易冲洗,得 0 分
pH	pH 介于 5.5~7.5,得 20 分;其他均得 0 分
离心稳定性	无油水分层、破乳、粗化现象和无气泡产生,得 20 分,结果记为“-”;上述现象轻度,得 10 分,结果记为“+”;上述现象明显,得 0 分,结果记为“++”
耐热、耐寒稳定性	均无油水分层、破乳、粗化现象和无气泡产生,色泽均匀且与原品颜色无明显差异,得 20 分,结果记为“-”;上述现象轻度,得 10 分,结果记为“+”;上述现象明显,得 0 分,结果记为“++”

2.3.3 制备工艺优选

以十二烷基硫酸钠(因素 A)和单硬脂酸甘油酯(因素 B)的含量、乳化温度(因素 C)、乳化时间(因素 D)为考察因素,设计正交试验因素水平表(见表 3)。以综合评分为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计制备工艺(见表 4),并采用 SPSS 22.0 统计学软件分析。正交试验方差分析结果见表 5。

表 3 正交试验因素水平表

Tab. 3 The factor levels of the orthogonal test

水平	因素 A(%)	因素 B(%)	因素 C(℃)	因素 D(min)
1	0.5	3.5	75	15
2	1.0	4.0	80	20
3	1.5	4.5	85	25

由表 4 可知,各因素对结果影响大小的顺序为 $D > C > A > B$,且最优处方为 $A_3B_2C_2D_1$,即十二烷基硫酸钠含量为 1.5%,单硬脂酸甘油酯含量为 4.0%,乳化温度

2.3 制备工艺研究

2.3.1 处方及制备

乳膏处方见表 1。制备步骤为,按处方量称取 A、C 两相中各原料作为水相,称取处方量 B 相中各原料作为油相,置 $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ 恒温水浴箱中,搅拌,混匀,待油、水两相完全溶解后,用温度计测量温度至 $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ 后,把油相(B 相)倒入水相(A、C 相)中,用玻璃棒在水浴锅中往同一方向缓慢搅拌 15 min,移出,室温下继续搅拌至冷凝。

表 1 复方中药乳膏基质组分

Tab. 1 Matrix components of TCM compound cream

组分	含量(%)	备注	组分	含量(%)	备注
十二烷基硫酸钠	1.5	A 相	液体石蜡	4.5	B 相
羟苯乙酯	0.3	A 相	白凡士林	6.5	B 相
丙三醇	4.0	A 相	单硬脂酸甘油酯	4.0	B 相
水	余量	A 相	复方中药提取液	2.0	C 相
硬脂酸	6.5	B 相			

2.3.2 乳膏评分标准

总分 100 分,其中外观质量、pH、离心稳定性及耐热、耐寒稳定性各 20 分。具体评分标准见表 2。

为 80 ℃,乳化时间为 15 min。由表 5 可知,各因素对结果均有显著影响。故最终确定此条件为最优制备工艺。

3 讨论

本研究选取皂角中具有抑菌作用的主要成分槲皮素,以及 4 味中药中均含有的抗炎成分总黄酮^[14-17]的提取率作为考察指标,建立其紫外分光光度测定方法,筛选提取条件。

分别选择了煎煮、浸渍、超声、加热回流 4 种提取方法^[18],经过含量测定发现,加热回流提取法的提取液中槲皮素和总黄酮的响应值均较低,原因可能为加热回流提取过程中药材的结构被破坏,有效成分含量降低,故最终选择煎煮、浸渍和超声 3 种提取方法进行研究。由图 1 和图 2 可知,超声水提法和超声醇提法的总黄酮和槲皮素提取率均较高,其中超声醇提法总黄酮提取率最高,可能是由于超声的空化作用、机械效应和热效应等加速复方中药材胞内有效物质释放、扩散和溶解,提高了

表 4 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案及结果

Tab. 4 Design scheme and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	因素 A(%)	因素 B(%)	因素 C(℃)	因素 D(min)	综合评分(分)
1	1	1	1	1	97.33
2	1	2	2	2	97.33
3	1	3	3	3	96.33
4	2	1	2	3	97.00
5	2	2	3	1	97.33
6	2	3	1	2	96.67
7	3	1	3	2	97.00
8	3	2	1	3	97.33
9	3	3	2	1	97.76
K_1	291.99	291.33	291.33	292.42	
K_2	290.67	291.99	292.09	291.00	
K_3	292.09	290.76	290.66	290.66	
K_1'	97.33	97.11	97.11	97.47	
K_2'	96.89	97.33	97.36	97.00	
K_3'	97.36	96.92	96.89	96.89	
R	1.42	1.23	1.43	1.76	

表 5 $L_9(3^4)$ 正交试验方差分析结果

Tab. 5 ANOVA results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

方差来源	离差平方和	自由度	方差	P
因素 A	0.266	2	0.133	<0.05
因素 B	0.253	2	0.126	<0.05
因素 C	0.341	2	0.171	<0.05
因素 D	0.584	2	0.291	<0.05

复方中药的提取率。样品中总黄酮含量远高于槲皮素含量,故最终确定最优提取工艺为超声醇提法。

温度对油、水两相的融合、乳化有重要影响。温度过低导致乳化不完全;温度过高导致水分散失,使乳膏基质失水变稠。乳膏制备工艺的单因素考察结果显示,70℃和90℃温度下乳膏的基质得分较低。70℃时离心试验和耐热试验均出现油水分离现象,原因可能为温度较低时油、水两相乳化不充分;90℃时,水分挥发过快,乳膏基质变稠、质地变硬、有颗粒感。故选择75,80,85℃进行正交试验。且乳化时间过短会导致油、水两相乳化不完全,造成基质稳定性差,耐热、离心试验均会出现油、水分离现象。故选择15,20,25 min 乳化时间进行正交试验。

制备工艺优化中发现,以十二烷基硫酸钠为乳化剂,制得的水包油(O/W)型乳膏易于涂抹、清洗,使用方便。基质筛选时发现,在该处方中,不需将白凡士林与羊毛脂合用,单用白凡士林已有较好的吸水性,且制得的乳膏颜色洁白,耐寒、耐热,pH 稳定在6.9~7.0,质地、均匀度、涂展性均良好,皮肤润滑度适中,不油腻,易清洗,久置不易变质。药物的加入方式考察中,对比了主药提取液的2种不同加入方法。一是将主药提取液与水

相混合,提取液作为水相中的一部分,水浴加热后与油相在相同温度下混合;二是先将水相与油相在水浴中混合均匀,再加入主药提取液。2种方法所制得乳膏的外观、稳定性及载药量差异均不大,表明药物的加入方式不是制备中药复方止癬乳膏的主要影响因素。

参考文献

- [1] 常小东,段渠,张溯,等. 中药复方外用治疗手足癣研究进展[J]. 河南中医,2012,32(3):390-392.
- [2] 李建军,马静潇,尚星晨,等. 不同产地大皂角、皂角刺形态特征与代表性药用成分比较分析[J]. 中药材,2018,41(10):2296-2301.
- [3] SHAN MQ, QIAN Y, YU S, et al. Anti-inflammatory effect of volatile oil from *Schizonepeta tenuifolia* on carrageenin-induced pleurisy in rats and its application to study of appropriate harvesting time coupled with multi-attribute comprehensive index method[J]. J Ethnopharmacol,2016,194:580-586.
- [4] 杨辛欣,钱圳,许天阳,等. 白矾煅制工艺优化[J]. 中成药,2018,40(6):1351-1354.
- [5] 王—安,陶芸仪,曲继旭,等. 抗真菌中药的研究现状及成果转化分析[J]. 中医药导报,2017,23(5):43-46.
- [6] 黄婧,马健雄. 汉桃叶总黄酮的提取及其镇痛抗炎活性研究[J]. 中国药业,2014,23(22):33-34.
- [7] 张建涛. 硝酸咪康唑霜联合复方醋酸地塞米松乳膏治疗足癣患者的疗效评价[J]. 中国现代药物应用,2020,14(15):191-193.
- [8] 付洁,吴斌. 萘替芬酮康唑乳膏治疗皮肤真菌病安全性与有效性的 meta 分析[J]. 中国真菌学杂志,2019,14(5):270-276.
- [9] 肖波,李鸿国,田喆,等. 干葛洗剂联合抗真菌药物治疗趾间糜烂型足癣疗效观察[J]. 皮肤病与性病,2018,40(4):605-606.
- [10] 崔崇寅,梁翠华,孙启荣. 消癬灵洗剂治疗足癣 180 例[J]. 中国药业,2000,9(7):50.
- [11] 刘世娟,刘艺,王春妍,等. 不同提取方法对百华花楸枝叶抗炎效果的比较[J]. 中医临床研究,2019,11(21):131-132.
- [12] 赫彩琴,冷晓红,郭鸿雁,等. 不同溶剂和方法对柴胡地上部分总黄酮提取率的影响[J]. 现代医药卫生,2018,34(21):3279-3282.
- [13] 禄璐,米佳,罗青,等. 枸杞总黄酮提取工艺优化及其体外抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技,2019,40(24):165-171.
- [14] 刘秦,张高峰,杨爱玲. 参麦胶囊中总黄酮的含量测定[J]. 中国药业,2006,15(7):39.
- [15] 邢峰丽,封若雨,孙芳,等. 皂角刺的药理作用研究进展[J]. 环球中医药,2017,10(10):1267-1270.
- [16] 黄晓巍,刘玥欣,刘轶菁,等. 荆芥化学成分及药理作用研究进展[J]. 吉林中医药,2017,37(8):817-819.
- [17] 姜建双,夏鹏飞,冯子明,等. 红花化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(24):2911-2913.
- [18] 殷明阳,刘素香,张铁军,等. 复方中药提取工艺研究概况[J]. 中草药,2015,46(21):3279-3283.

(收稿日期:2020-12-04;修回日期:2021-03-09)