

甘草-青黛药对配伍的增溶作用考察

陈璐¹, 许润春¹, 邹文铨², 杨明^{1,3*}

(1. 成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137;

2. 四川大学化学学院, 成都 610061; 3. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**考察青黛-甘草药对配伍的增溶效果。**方法:**将甘草与青黛、甘草酸分别与靛蓝和靛玉红、柠檬酸与青黛进行配伍,采用 HPLC 测定各试验品中靛蓝、靛玉红的含量。**结果:**青黛与生、炙甘草配伍,溶液中靛蓝和靛玉红的含量均明显增多,炙甘草较生甘草约低 30%;将甘草酸单铵盐直接分别与靛蓝、靛玉红按比例混合,两者含量均显著增多,约增溶 4~8 倍,其中 2:1 为最佳比例;青黛配伍不同比例柠檬酸,溶液中靛蓝和靛玉红含量无明显变化。**结论:**甘草配伍青黛可达到增溶目的,甘草酸起主要作用,为中药药对配伍应用提供理论依据。

[关键词] 青黛; 靛; 甘草; 甘草酸; 配伍增溶

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0017-03

Investigation of Solubilization Effect from Compatibility of *Glycyrrhiza uralensis*-*Baphicacanthus cusia*

CHEN Lu¹, XU Run-chun¹, ZOU Wen-quan², YANG Ming^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Chengdu 611137, China;

2. School of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610061, China;

3. Key Laboratory of Modern TCM Preparation, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate solubilization effect of compatibility of *Glycyrrhiza uralensis*-*Baphicacanthus cusia*. **Method:** Compatibility of *G. uralensis* and *B. cusia*, glycyrrhizic acid and indigo (indirubin), citric acid and *B. cusia*, the content of indigo and indirubin in samples were determined by HPLC. **Result:** When *B. cusia* was compatible with raw and fried *G. uralensis*, the content of indigo and indirubin in solution were increased significantly, but they were about 30% lower in fired *G. uralensis* than raw one; glycyrrhizic acid ammonium salt mixed directly with indigo and indirubin respectively by proportion, the content of them had significantly increased, with improving about 4~8 times, the best proportion was 2:1; different proportion of citric acid was compatible with *B. cusia*, the content of indigo and indirubin in solution showed no significant change. **Conclusion:** Compatibility of *B. cusia* and *G. uralensis* could achieve purpose of solubilization, glycyrrhizic acid played a major role, it could provide a theoretical basis for compatibility application of TCM.

[Key words] *Baphicacanthus cusia*; indigo; *Glycyrrhiza uralensis*; glycyrrhizic-acid; compatibility solubilization

[收稿日期] 20120710(011)

[基金项目] 国家中医药管理局项目(201007011-07)

[第一作者] 陈璐,在读硕士,从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, Tel:13880801042, E-mail:253358867@qq.com

[通讯作者] * 杨明,博士,教授,从事中药新制剂、新剂型、新技术研究, Tel:13870608983, E-mail:yangming16@126.com

青黛为难溶性中药,主要成分靛蓝和靛玉红为难溶于水的双吲哚分子结构,故青黛悬浮于水溶液中,用药极不方便。为解决这一难题,本试验结合中医药理论,对青黛进行中药配伍增溶研究。古有青黛散、青黛汤和青黛冰硼散等方剂,方中均有甘草与青黛配伍使用。青黛功能清热解毒,甘草同样具有清热解毒的功能,两者相互协调,且甘草本身又具有对青黛的增溶作用,它们的协同作用可进一步加强青黛的功效。本试验将甘草与青黛进行配伍研究,为中药的配伍药对研究提供实验依据,以探寻中药中难溶性成分的独特增溶方法。

1 材料

青黛(四川江油恒源药业提供,批号 070801),甘草(四川科伦天然药业有限公司,批号 110815),经作者鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下要求;*N,N*-二甲基甲酰胺溶液(成都市科龙化工试剂厂),靛蓝(中国药品生物制品检定所,批号 110716-200509),靛玉红(中国药品生物制品检定所,批号 110717-200204),甘草酸单铵盐(中国药品生物制品检定所,批号 110731-201116),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

FA1104 型上皿电子天平(上海精科仪器厂),DJ-1000A 型电子天平(亚太电子天平厂),LC-10ATvp 型高效液相色谱仪(日本岛津),ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),UV-1700 型紫外分光光度计(日本岛津株式会社)。

2 方法与结果

2.1 青黛的溶解度测定 准确称量青黛粉末 1.0 g,加入 30 mL 水中,形成过饱和溶液,恒温(37 ± 5) °C 振荡 72 h 使达到溶解平衡,以 10 000 r·min⁻¹ 离心 30 min,取上清液备用,采用 HPLC 测定靛蓝和靛玉红的含量以确定青黛粉末的溶解度。结果青黛在水中的溶解度 < 1 × 10⁻⁴ g·mL⁻¹,说明青黛为难溶性物质。

2.2 色谱条件^[9] ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长 288 nm,流动相 甲醇-水(70:30),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C。

2.3 供试品溶液的制备 取 2.1 项下所得上清液约 30 mL 于 85 °C 水浴蒸干,用胶头滴管吸取适量的 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液溶解称量瓶中的固体物,将溶液转移至 5 mL 量瓶中,反复清洗数次,直至无色。用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液定容至 5 mL,超声溶解 30 min,过 0.20 μm 滤膜,即得。

2.4 对照品溶液的制备 精密称取靛蓝、靛玉红对照品 4.28,1.64 mg,分别置于称量瓶中,用胶头滴管吸取适量的 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液溶解称量瓶中的固体物,将溶液依次移至 100,1 L 量瓶中,反复清洗数次,直至溶液无色,超声 30 min,冷却至室温后定容。临用时,精密量取各对照品溶液 50 mL 置 100 mL 量瓶中,用 *N,N*-二甲基甲酰胺溶液定容后摇匀,过 0.20 μm 滤膜,即得。

2.5 不同甘草饮片的增溶试验比较 将甘草与青黛配伍,利用甘草的增溶作用以改善青黛的难溶性状况,而甘草分为炙甘草和生甘草 2 种,需通过试验进行筛选。分别准确称量 3 份青黛粉末,每份 1.0 g,分别对应称取生甘草粉末 1.0,2.0 g 和炙甘草粉末 1.0 g(均过 9 号筛),相互混合均匀,分别置于盛有 30 mL 水的带塞锥形瓶中,按 2.1 项下方法进行的操作,结果靛蓝溶解度分别为 5.48 × 10⁻⁶,5.81 × 10⁻⁶,2.03 × 10⁻⁶ g·mL⁻¹;靛玉红溶解度分别为 0.54 × 10⁻⁶,0.73 × 10⁻⁶,0 g·mL⁻¹。说明甘草配伍青黛可增加青黛中靛蓝、靛玉红在水中的溶解性,且生甘草强于炙甘草。

2.6 生甘草的增溶性验证试验 分别准确称量 4 份青黛粉末,每份 1.0 g,对应称取生甘草粉末(均过 9 号筛)1.0,2.0,3.0,4.0 g,按 2.1 项下方法进行的操作,结果靛蓝溶解度分别为 5.48 × 10⁻⁶,5.81 × 10⁻⁶,6.09 × 10⁻⁶,6.25 × 10⁻⁶;靛玉红溶解度分别为 0.54 × 10⁻⁶,0.73 × 10⁻⁶,0.80 × 10⁻⁶,0.85 × 10⁻⁶。说明生甘草具有明显的增溶作用,且甘草越多,增溶效果越好。

2.7 甘草酸单铵盐的增溶作用测定 为使用方便,一般将甘草酸制成水溶性的盐类,商品上常为甘草酸的铵盐、钠盐和钾盐等。本试验中所使用的是甘草酸单铵盐对照品。准确称量靛蓝和靛玉红的对照品各 1.0 mg,分别置于盛有水 10 mL 的带塞锥形瓶中,按 2.1 项下方法进行的操作,取上清液备用,为空白对照。另准确称量靛蓝和靛玉红的对照品各 4 份,每份 1.0 mg,对应称取 2 批 1.0,3.0,6.0,9.0 mg 的甘草酸单铵盐对照品,共 8 份,操作同上。采用 HPLC 测得靛蓝溶解度分别为 2.90 × 10⁻⁶,5.77 × 10⁻⁶,11.45 × 10⁻⁶,12.48 × 10⁻⁶,13.60 × 10⁻⁶ g·mL⁻¹;靛玉红溶解度分别为 0.50 × 10⁻⁶,1.25 × 10⁻⁶,3.05 × 10⁻⁶,3.90 × 10⁻⁶,4.14 × 10⁻⁶ g·mL⁻¹。说明甘草酸单铵盐与靛蓝、甘草酸单铵盐与靛玉红混合后,靛蓝、靛玉红在水溶液中的溶解度较未加入甘草酸单铵盐时明显增大,约增加 4 ~ 8 倍,

且在甘草酸单铵盐-靛蓝(2:1)、甘草酸单铵盐-靛玉红(2:1)时,水溶液中靛蓝、靛玉红溶解度明显升高,说明甘草酸单铵盐起到了增溶作用,且最佳配伍比例2:1。甘草酸单铵盐在水中可能会水解为甘草酸离子和铵基离子两部分,为证明起到增溶作用是否为酸碱反应所致,进行下一步研究来确定。

2.8 增溶作用原理研究 分别准确称量3份青黛粉末,每份1.0 g,对应称取柠檬酸(均过9号筛)1.0,2.0,3.0 g,相互混合均匀,按2.1项下方法进行操作,进行测定,结果靛蓝溶解度分别为0,0,0 g/(100mL);靛玉红溶解度分别为0,0,0 g/(100mL)。表明柠檬酸对青黛基本不具有增溶作用,说明甘草配伍青黛的增溶作用不是酸碱反应,而可能是甘草酸的表面活性增溶所致。

2.9 甘草酸的酸稳定性测试 调整紫外-可见分光光度计吸收波长为288 nm,在室温条件下,将已经制得的靛蓝-甘草酸单铵盐(1:3)的溶液稀释5倍,超声10 min,分为5份,每份4.0 mL,分别加入20%盐酸0,0.025,0.050,0.10,0.20 mL,以*N,N*-二甲基酰胺溶液为空白进行测定,分别测定吸光度(*A*),结果*A*为0.461~0.468。说明*A*基本不随酸量的增大而改变,即其酸性条件下稳定,说明甘草酸单铵盐对靛蓝的增溶作用是由其水解后的甘草酸离子所起的,即甘草中起增溶作用的成分为甘草酸。

3 讨论

通过一系列试验研究,证明甘草-青黛配伍中起到增溶作用的是甘草酸。甘草酸是表面活性物质,它之所以能够增大难溶性药物青黛的溶解度,是由于其对药物作用的核心,即其胶束微粒的脂溶体系。甘草酸的亲水性基团向外与溶剂水相连,而亲油性基团则向内形成球状体即为胶团,此胶团即为水溶剂中存在的微观脂溶体系。微观脂溶体系可使难溶性药物青黛的主要成分靛蓝和靛玉红分子被包藏或溶解或吸附于胶团的中心而增大溶解量,从而使青黛在水中的溶解度增加。并且三萜皂苷元的环状结构与“靛”的苯环结构具有一定程度的结构相似性。因而,“靛”分子可分散于甘草酸的脂溶体系中,成为一个“靛”的微观稳定分散相,而整个胶束又分散于水中,故甘草酸起到了对青黛中“靛”分子的增溶作用。

青黛虽难溶于水,但却能溶解在甘草酸胶束的微观脂溶性介质中,说明青黛-甘草药对配伍达到了青黛增溶的目的,一定程度上解决了其难溶性问题,

使其更为便于服用,同时提高了其有效成分在水中溶解度,为今后对青黛的合理应用提供试验依据。

[参考文献]

- [1] 欧水平,王森,张海燕,等.难溶性中药成分的复方配伍增溶[J].中成药,2009,31(10):1595.
- [2] 刘玉明,王艳.青黛的化学成分及其结构特征的研究[J].四川大学学报:自然科学版,2004,41(1):27.
- [3] 李东武,彦舒,王灿,等.青黛镇痛、抗炎药效学研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(13):137.
- [4] 中国药典.一部[S].2010:654.
- [5] 傅伟云,李培华.青黛不宜入汤剂煎服[J].时珍国医国药,2002,13(9):526.
- [6] 孙付军,周倩,王春芳,等.甘草炮制前后药效学比较[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(14):115.
- [7] 蔡永敏,孙大鹏,邹杰.论甘草应分生甘草与炙甘草[J].中国中医基础医学杂志,2010,16(12):1164.
- [8] 谢凤英.浅谈甘草与炙甘草的不同治疗作用[J].实用中医药杂志,2003,19(10):549.
- [9] 朱卫星,李爱光,陈方,等.不同方法蜜炙甘草对甘草质量的影响研究[J].时珍国医国药,2006,17(10):1949.
- [10] 吕风莲,方彬,张宇,等.高效液相色谱法测定炙甘草中甘草酸的含量[J].现代中药研究与实践,2004,18(4):25.
- [11] 刘泽玉,苏柘僮,高亚男,等.HPLC法同时测定青黛有效成分靛蓝和靛玉红的含量[J].中国药师,2010,13(3):324.
- [12] 刘丽萍,任翠爱,赵宏艳.甘草酸的免疫调节作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):272.
- [13] 王世润,张佩玲,寇丽.甘草酸的提取工艺及应用[J].天津轻工业学院学报,1999,14(1):45.
- [14] 史克莉,杨丽文.甘草的配伍与增溶[J].中国中药杂志,1990,15(7):32.
- [15] 杜薇.甘草酸对板蓝根冲剂的增溶性[J].中国医院药学杂志,1997,17(7):314.
- [16] 邓保炜.从甘草酸粗品制取甘草酸单铵盐[J].中国医药工业杂志,1990,21(4):153.
- [17] 佟连生,田云.从甘草酸粗品制取甘草酸单铵盐[J].黑龙江医药科学,2004,27(4):51.
- [18] 史高峰,徐静,周宝华,等.甘草酸单铵盐的制备及纯化新工艺研究[J].食品工业科技,2011,4(9):324.
- [19] 王亚红,李战英.甘草酸的提取和精制法研究现状[J].天津化工,2003,17(9):32.

[责任编辑 全燕]