

银黄口服液处方配伍再评价

刘涛¹, 苟小军¹, 郭晓恒², 徐玉玲^{3*}

(1. 成都大学生物产业学院中药化学实验室, 成都 610106; 2. 成都大学医护学院, 成都 610106;
3. 成都大学实验技术中心, 成都 610106)

[摘要] 目的:对银黄口服液的处方配比及提取物精制方法进行研究。方法:以体外抗金黄色葡萄球菌效果为指标对银黄口服液的处方配比、金银花提取物精制方法及精制后与黄芩提取物的最佳比例进行考察。结果与结论:体外抑菌试验表明,现行银黄口服液标准中金银花提取物与黄芩提取物的处方配比量有待改进,金银花提取物可用乙酸乙酯进行萃取精制,其与黄芩提取物的最佳配比为现行标准的 5 倍。

[关键词] 银黄口服液;处方再评价;金银花提取物;黄芩提取物;金黄色葡萄球菌

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0043-04

Prescription Compatibility Re-evaluation of Yinhuang Oral Liquid

LIU Tao¹, GOU Xiao-jun¹, GUO Xiao-heng², XU Yu-ling^{3*}

(1. Chinese Medicinal Chemical Laboratory, Faculty of Biotechnology Industry, Chengdu University, Chengdu 610106, China; 2. Medical and Nursing College, Chengdu University, Chengdu 610106, China; 3. Experiment Technology Center, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the rationality of prescription compatibility and the refining method of extracts from Yinhuang oral liquid. **Method:** Appoint the effect of *vitro* anti-Staphylococcus aureus as the evaluating indicator to determinate the prescription allocated proportion of Yinhuang oral liquid, the method to refine extracts from Lonicerae Japonicae Flos and the optimum proportion of refined material to extracts from Scutellariae Radix. **Result and conclusion:** The result of *vitro* anti-staphylococcus aureus showed: In the present standard of the Yinhuang oral liquid, the prescription allocated proportion need to be improved. The extract from Lonicerae Japonicae Flos can be refined by ethyl acetate, and the optimum proportion of refined material to extracts from Scutellariae Radix is 5 times than the present standard.

[Key words] Yinhuang oral liquid; prescription re-evaluation; extracts from Lonicerae Japonicae Flos; extracts from Scutellariae Radix; *Staphylococcus aureus*

银黄口服液最早被列入新药转正标准第 2 册(1993 年)中,自 2000 年以来被历版《中国药典》收载,具有清热疏风、利咽解毒的功效,临床多用于急

性扁桃体炎、急慢性咽炎以及上呼吸道感染患者,具有较好的疗效。其处方为金银花提取物(以绿原酸计)2.4 g,黄芩提取物(以黄芩苷计)24 g^[1],由于该品种是《中国药典》2010 年版一部收录的少数几个以提取物投料的品种,按照现行的技术要求,应对其提取物处方配比进行研究,由于种种原因,该方面的研究还较少。另外,由于银黄口服液处方投料的黄芩提取物的纯度较高(含黄芩苷的含量不低于 95.0%),而金银花提取物的纯度相对较低(含绿原酸不低于 3.6%),能否提高金银花提取物的纯度以

[收稿日期] 20110609(003)

[第一作者] 刘涛,博士,高级工程师,从事中药新药研发及再评价研究, Tel:028-864616063, E-mail: liutao0578@sina.com

[通讯作者] *徐玉玲,工程师,从事中药生产过程及质量控制研究, Tel: 028-864616063, E-mail: liutao0578@sina.com

减少服用量,提高药品的可控性也应值得关注,本文以银黄提取物体外抗金黄色葡萄球菌的结果为指标对此进行了初步研究。

1 材料

金银花提取物(自制,批号 Y1007030,绿原酸含量 5.2%),黄芩提取物(自制,批号 090301,黄芩苷含量为 99.2%),注射用双黄连(哈药集团中药二厂,批号 1004202),乙酸乙酯、正丁醇为分析纯。

MH 肉汤(100 g/瓶,批号 200910191,广东环凯微生物科技有限公司),MH 琼脂(250 g/瓶,批号 201006081,广东环凯微生物科技有限公司),标准敏感菌株:金黄色葡萄球菌 29213、临床菌株肺炎链球菌,以上菌株均为成都大学附属医院细菌室提供。

YXQ-LS-30S 型压力蒸汽灭菌锅(上海博讯实验有限公司医疗设备厂),LT-9004 + 型超净工作台(梅州市纪元应用研究所),ZDP 型震荡培养箱(上海精宏实验设备有限公司),SHP 型生化培养箱(上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法与结果

2.1 银黄口服液处方配比再评价初步研究

2.1.1 不同比例的银黄口服液提取物的制备 取黄芩提取物与金银花提取物,以 2010 年版《中国药典》一部中规定的黄芩提取物与金银花提取物的用量为 1:1,设计比例分别为 0.2:1,1:1,5:1,10:1,20:1,按表 1 所列的用量以等量递增法进行混匀,按临床日用量 1/50 称取药粉,先溶于 1 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液后加双蒸水定容,充分溶解混匀后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得黄芩提取物中黄芩苷的质量分数为 99.17%,金银花提取物加入量均为 4.615 g,其中绿原酸质量分数为 5.18%。

2.1.2 体外抗菌试验 取培养 18 h 的各菌株 MH 营养肉汤培养物,用营养肉汤作 10⁻⁵ 稀释用于试验。在直径 9 cm 的灭菌平皿中加菌液 1 mL,然后倒入已溶化冷却至 45℃ 的营养琼脂培养基 20 mL,旋转混匀,等凝固后用无菌打孔器于琼脂平皿上打 4 孔,用无菌镊子取出孔内培养基,于每个孔内分别加入各种 YH 提取物药液 0.1 mL,置 37℃ 培养 20~24 h,取出平皿量取抑菌圈直径。每菌接种 2 皿,取平均值。实验用注射用双黄连做阳性对照,溶剂做阴性对照。结果如表 1 所示。

从结果可以看出,以《中国药典》(2010 年版一部)中规定的黄芩提取物与金银花提取物的用量为

表 1 不同配比的银黄提取物体外抗金黄色葡萄球菌比较 ($\bar{x} \pm s$)

No. 样品	比例	抑菌圈直径/mm
1 黄芩与金银花提取物	0.2:1	17.51 ± 0.38 ^{1,2)}
2 黄芩与金银花提取物	1:1	12.105 ± 0.30 ¹⁾
3 黄芩与金银花提取物	5:1	14.365 ± 0.29
4 黄芩与金银花提取物	10:1	15.665 ± 0.25 ¹⁾
5 黄芩与金银花提取物	20:1	16.125 ± 0.3 ¹⁾
6 注射用双黄连		11.405 ± 0.22
7 溶剂对照		9.115 ± 0.13

注:与注射用双黄连比较¹⁾P<0.05,与 2 相比,²⁾P<0.05。

1:1 计,黄芩提取物与金银花提取物比例为 1:5 时,其体外抗金黄色葡萄球菌的效果较两者用量为 1:1 时更好。

2.2 银黄口服液用金银花提取物的纯化考察 银黄口服液所用的黄芩提取物的纯度要求较高,标准规定提取物中黄芩苷的含量不低于 95.0%,金银花提取物中含绿原酸仅为不低于 3.6%。从 2.1 项下初步研究结果可知,金银花提取物的用量对体外抗菌结果有一定的影响,因此,有必要对金银花提取物的纯化方法进行考察,以提高金银花提取物的纯度,减少服药量。试验结合金银花提取物中的主要有效成分绿原酸的性质,采用乙酸乙酯与正丁醇作为萃取溶剂,对其精制方法进行了初步研究。

2.2.1 金银花不同极性提取物的制备 取金银花提取物 30 g,溶解于 100 mL 热水中(约 90℃),超声 30 min 使溶解,摇匀,测定其 pH 为 3.95,加浓盐酸调 pH 1.15,萃取前溶液体积为 120 mL,置于分液漏斗中,加入 120 mL 乙酸乙酯萃取 10 次,分取乙酸乙酯液,合并为①,水层为②。相同方法处理取金银花提取物 30 g(不加浓盐酸),加入 120 mL 水饱和正丁醇萃取 8 次,分取正丁醇液,合并为③,水层为④。

取①,②,③,④于旋转蒸发器中回收溶剂(温度 70℃,真空度 -0.09 MPa)适量后,加水 50 mL 2 次继续浓缩至适量,置水浴锅中蒸发至溶剂基本除尽,于烘箱中干燥 15 h(70℃),置干燥器中冷至室温,分别加入黄芩提取物 15.6 g 粉碎后称重,即得提取物 1,2,3,4。萃取转移率见表 2。

取金银花提取物 2.76 g,加入黄芩提取物 1.44 g,混匀,得提取物 5,各样品得率与日用量如表 3 所示,分取提取物 1,2,3,4,5 按临床日用量 1/50 称取药粉,先溶于 1 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液后加双蒸水定容,充分溶解混匀后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后使用,备用。

表2 金银花提取物不同萃取产物得率

提取物	金银花提取物质量/g	萃取溶媒	萃取物得量/g	绿原酸转移率/%	绿原酸含量/%
1	29.69	乙酸乙酯层	8.95	85.4	14.89
2		乙酸乙酯母液	21.85	3.2	0.23
3	30.15	正丁醇层	14.66	81.2	8.64
4		正丁醇母液	16.70	4.2	0.39

表3 银黄各供试提取物得率与用量

提取物	各部位重量	黄芩提取	提取物总量	绿原酸含量	日用量
	/g	物量/g	/g	/%	/g
1	6.25	15.6	21.85	4.75	1.7
2	23.85	15.6	39.45	0.13	2.1
3	14.66	15.6	30.26	3.8	2.5
4	16.70	15.6	32.30	0.21	4.2
5	2.76	1.44	4.20	3.4	4.2

注:黄芩提取物的加入量是根据银黄口服液标准中要求,以30 g金银花提取物的量计算加入;日用量根据银黄口服液每日黄芩苷用量计算。

2.2.2 体外抗菌试验 采用平板打洞法。取培养18 h的各菌株MH营养肉汤培养物,用营养肉汤作 10^{-5} 稀释用于实验。在直径9 cm的灭菌平皿中加菌液1 mL,然后倒入已溶化冷却至45℃的营养琼脂培养基20 mL,旋转混匀,等凝固后用无菌打孔器于琼脂平皿上打4孔,用无菌镊子取出孔内培养基,于每个孔内分别加入各种银黄提取物药液0.1 mL,置37℃培养20~24 h,取出平皿量取抑菌圈直径。每菌接种2皿,取平均值。用注射用双黄连做阳性对照,结果见表4。

表4 不同精制提取物体外抑菌作用($\bar{x} \pm s, n=2$) mm

样品	金黄色葡萄球菌 29213	溶血性链球菌
1	16.945 ± 0.11 ¹⁾	17.615 ± 0.01 ¹⁾
2	12.51 ± 0.38	13.34 ± 0.23
3	16.105 ± 0.3 ¹⁾	17.015 ± 0.35 ¹⁾
4	14.365 ± 0.29	14.145 ± 0.26
5	16.09 ± 0.33 ¹⁾	16.425 ± 0.62 ¹⁾
注射用双黄连	11.405 ± 0.22	15.2 ± 0.44
溶剂对照	9.115 ± 0.13	12.17 ± 0.07

注:与对照组注射用双黄连相比¹⁾ $P < 0.05$ (表5同)。

从以上结果可知,金银花乙酸乙酯萃取物与正丁萃取物与等量黄芩提取物配伍后均在体外均具有抗金黄色葡萄球菌及溶血性链球菌的作用,且与未精制的提取物效果相当,综合考虑,宜选用乙酸乙

酯作为萃取溶剂,对金银花提取物进行精制。

2.3 精制银黄口服液处方配伍研究 从2.1的研究结果可知,金银花提取物的用量对银黄口服液的体外抗菌作用有着一定的影响,我们对采用经纯化后的金银花提取物的用量与黄芩提取物的用量的最佳比例进行了初步研究。

2.3.1 不同比例的精制银黄口服液提取物的制备

按2.2.1项下①号样品方法制备取乙酸乙酯液,合并,于旋转蒸发器中回收溶剂(温度为70℃,真空度为-0.09 MPa)适量后,加水50 mL 2次继续浓缩至适量,置水浴锅中蒸发至溶剂基本除尽,于烘箱中干燥15 h(70℃),置干燥器中冷至室温,粉碎,即得(绿原酸含量为13.80%)。取黄芩提取物与金银花精制提取物,以《中国药典》(2010年版一部)中规定的黄芩提取物与金银花提取物的用量为1:1,分别按照1:20,1:15,1:10,1:5,1:1,5:1,10:1的比例,称取样品,以等量递增法进行混匀,分别记为样品1~7,按临床日用量1/50称取各样品,先溶于 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NaOH溶液后加双蒸水定容,充分溶解混匀后用0.22 μm微孔滤膜过滤,即得。

2.3.2 体外抗菌试验方法

同2.1.2项下方法。结果见表5。

表5 不同精制提取物配伍体外抑菌作用 ($\bar{x} \pm s$)

样品	比例	抑菌圈直径/mm
黄芩-金银花提取物	1:20	13.49 ± 0.25
黄芩-金银花提取物	1:15	13.38 ± 0.33
黄芩-金银花提取物	1:10	19.81 ± 0.32 ¹⁾
黄芩-金银花提取物	1:5	20.83 ± 0.40 ¹⁾
黄芩-金银花提取物	1:1	18.70 ± 0.51 ¹⁾
黄芩-金银花提取物	5:1	19.58 ± 0.34 ¹⁾
黄芩-金银花提取物	10:1	19.27 ± 0.464 ¹⁾
注射用双黄连		12.21 ± 0.08
溶剂对照		10.77 ± 0.41 ¹⁾

精制后金银花提取物与黄芩提取物的比例为5:1时,银黄配伍体外抑菌作用最好。

川芎微波提取工艺优选

范宋玲*, 张建军, 熊带水, 张诚光
(广东省第二中医院, 广州 510095)

[摘要] 目的: 优选川芎微波提取的最佳条件。方法: 以阿魏酸的提取率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。结果: 川芎微波提取的最佳工艺为 10 倍药材量 40% 乙醇, 微波功率 160 W, 提取 2 次, 每次 2 min。结论: 该优化工艺稳定可行, 可提高提取效率。

[关键词] 川芎; 阿魏酸; 正交试验; 微波提取

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)18-0046-03

Study on Microwave-assisted Extraction Technology of Rhizoma Chuanxiong

FAN Song-ling*, ZHANG Jian-jun, XIONG Dai-shui, ZHANG Cheng-guang
(Guangdong Second Provincial Traditional Medicine Hospital, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the optimum microwave-assisted extraction process for Rhizoma Chuanxiong. **Method:** The process was selected by orthogonal design with the transfer rate of ferulic acid as index. **Result:** The optimum extraction conditions was as follows: extracting twice with 10 times amount of 40% ethanol for 2 min. The microwave power was 160 W. **Conclusion:** The optimum extraction process was stable, feasible and could improve extraction efficiency.

[Key words] Rhizoma Chuanxiong; ferulic acid; orthogonal design; microwave-assisted extraction

[收稿日期] 20110106(010)

[通讯作者] * 范宋玲, 主任中药师, 本科, 从事中药制剂开发研究, Tel: 020-83597017, E-mail: fsongling@126.com

3 讨论

急性扁桃体炎、急慢性咽炎以及上呼吸道感染病症中, 细菌检验结果中均能检出金黄色葡萄球菌, 因此, 以体外抗金黄色葡萄球菌的结果可以代表银黄口服液的主要药效之一^[2-4]。

由于银黄口服液是《中国药典》(2010 年版一部) 中少数几个以提取物投料的中成药, 由于历史的原因, 其处方可能未经过充分的研究, 因此在本论文中主要对其处方的用量配比合理性进行一些初步评价, 基于此目的, 本研究未考虑剂量差异对试验结果的影响, 试验结果表明, 银黄口服液处方中黄芩提取物与金银花提取物的用量配比可进一步改进, 以提

高药效, 但由于实验所限, 本研究仅以体外抗菌试验及一株细菌的结果作为观察指标, 此结果有待体内试验及多株细菌试验结果进行验证。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 二部[S]. 2005: 85.
- [2] 戴丽华. 儿童复发性扁桃体炎需氧和厌氧菌的研究[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 1983(1): 34.
- [3] 刘树喜, 黄琪珍, 孙华. 草药雀梅藤抗菌试验研究[J]. 云南中医学院学报, 1990(2): 23.
- [4] 赵元文. 上呼吸道感染的病原菌分布及药敏分析[J]. 中国城乡企业卫生, 2000(5): 34.

[责任编辑 仝燕]