

复方白桂中药组合物提取工艺及指纹图谱的研究进展

杨丽姣¹, 严永兴^{2*}, 董晓巧³, 李 鹏², 武文静⁴, 陈文东¹

¹杭州市第三人民医院药剂科, 浙江 杭州

²杭州市第三人民医院神经内科, 浙江 杭州

³杭州市第一人民医院神经外科, 浙江 杭州

⁴杭州市第三人民医院肛肠科, 浙江 杭州

Email: *yyxing@163.com

收稿日期: 2021年6月5日; 录用日期: 2021年7月3日; 发布日期: 2021年7月23日

摘 要

目的: 该文旨在探讨中药治疗白癜风的疗效和质量研究进展。方法: 复方白桂中药组合物提取工艺和质量研究。结论: 中药治疗白癜风疗效显著, 复方白桂中药组合物可采用闪式提取法提取工艺和指纹图谱的质量研究。

关键词

白癜风, 组合物, 中药

Compound Bai Gui Combination Chinese Traditional Medicine Extraction Technology and the Research Progress of Fingerprint

Lijiao Yang¹, Yongxing Yan^{2*}, Xiaqiao Dong³, Peng Li², Wenjing Wu⁴, Wendong Chen¹

¹Department of Pharmacy, Hangzhou Third People's Hospital, Hangzhou Zhejiang

²Department of Neurology, Hangzhou Third People's Hospital, Hangzhou Zhejiang

³Department of Neurosurgery, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou Zhejiang

⁴Department of Anorectal Surgery, Hangzhou Third People's Hospital, Hangzhou Zhejiang

Email: *yyxing@163.com

Received: Jun. 5th, 2021; accepted: Jul. 3rd, 2021; published: Jul. 23rd, 2021

*通讯作者。

文章引用: 杨丽姣, 严永兴, 董晓巧, 李 鹏, 武文静, 陈文东. 复方白桂中药组合物提取工艺及指纹图谱的[J]. 药物资讯, 2021, 10(4): 238-243. DOI: 10.12677/pi.2021.104030

Abstract

Purpose: This paper is to explore the curative effect of traditional Chinese medicine in the treatment of vitiligo research progress and quality. **Methods:** Extraction process and quality study of compound Bai Gui herbal combination. **Conclusion:** Traditional Chinese Medicine (TCM) has a good effect in the treatment of vitiligo, compound Bai Gui extract can use flash type extraction herbal combination process and the quality of the fingerprint study.

Keywords

Vitiligo, Combination, Traditional Chinese Medicine (TCM)

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

该文旨在探讨中药治疗白癜风的疗效和质量研究进展。中医药是中国作为文明古国的四大国粹之一，中医药不断发展创新，但一人一方一煎这种传统模式还是最普遍，最能让百姓接受的模式。现代化的生活节奏、交通方式为传统的煎药方式提出了挑战。中医讲究整体观念、辨证论治、但又讲个体差异。在生活质量不断提高的今天，中医药为更多人重视，一人一方，药味加减，需要我们科学工作者为患者提供更方便快捷、质优的中药。其中中药配方颗粒的发展为我们倡导了一种更优质的生活。

我国台湾地区从 20 世纪 70 年代开始研制生产中药颗粒剂，现在台湾生产的成方浓缩颗粒 300 余种，单味中药浓缩颗粒 400 余种，每种浓缩颗粒均以炮制后的中药饮片作原料，有生有熟，供临床医师选用。中药配方颗粒与传统饮片汤剂疗效是否相同，中药配方颗粒自其诞生的那天起就争论不断。对于传统经方，日本、韩国和中国台湾地区通常都是制成合煎颗粒，而在内地却多是单煎颗粒混合。何以作为国粹的中药，在国外尤其是日本发展的如此之好，非常值得我们学习与深思。如何确保中药颗粒剂在改变饮片性状、外形、气味的基础上，保证其质量，需要国家以及厂家内部建立一套完备的配方颗粒质量标准。单煎与合煎到底有无区别？对于传统经方，日本、韩国和中国台湾地区通常都是制成合煎颗粒，而在内地却多是单煎颗粒混合。不过从制剂学的角度来看，中药注射剂工艺一般都采用单位药单独提取，精制，然后混合的工艺模式。这样更有针对性，更有利于单位药有效成分的提取，除去干扰成分，减少刺激，更有利于注射剂的精制，在已批准上市的 140 个中药注射剂品种中，2020 版中国药典一部也有收载，其中清开灵注射液工艺为八味药，每味药单独提取，分别精制，混合，再精制，灌封，灭菌。中药配方颗粒，只要有严格执行科学的质量标准，就能保证质量，确保疗效。单煎与合煎对于这个争论的焦点，近年来本工作小组也进行了很多的研究工作，包括 3 个方面，即单煎与合煎的化学成分比较、单煎与合煎的药效比较和单煎与合煎的临床疗效比较。

2. 白癜风的治疗和研究进展

近年来由于环境等因素影响白癜风病人持续增长，白癜风是一种自身免疫性疾病，以皮肤黏膜色素脱失为特征，其病因及发病机制尚未明确，至今仍是世界疑难病症之一，且尚无令人满意的治疗手段。

中药治疗白癜风的机理可能涉及该病病因学的多个途径。临床由于白癜风的辨证不同,所以用中药内服的治疗原则亦有多种。

复方白桂中药组合物作为院内使用十余年的协定处方,我院年均万余贴,疗效显著,不良反应少见。本方具有补气、养血、祛风的功效。白癜风的发病或因风邪搏于肌肤,气血不和,气滞血瘀;或因内有湿热,外受风邪;或因肝肾不足,脾胃虚弱所致气血生化无源或因肝气郁结,气机不畅所致。各因素常互相夹杂。针对上述病机,本方由首乌藤,鸡血藤,防风,苍术,紫苏梗,黄芪,桂枝,麸白芍,女贞子,旱莲草,甘草,当归十二位药组成;复方白桂中药组合物用黄芪补气固表,桂枝、麸白芍调和气血;此三药共为君药。且黄芪、桂枝、麸白芍有仲景黄芪桂枝五物汤和建中汤之意,外以走表治血痹,内以走里建中气、扶脾胃。臣以防风、苍术、当归、鸡血藤、首乌藤、女贞子、旱莲草诸药,其中防风善驱肌表之风,且风药多能胜湿;苍术善除表里之湿;当归、鸡血藤、首乌藤三药同用,养血活血,止痒润燥,兼以安神镇静,又有“治风先治血,血行风自灭”之意;女贞子、旱莲草善补肝肾之不足,且二药色黑,为治疗肝肾不足之白发,白癜风等色素减少疾病的常用对药;佐以紫苏梗疏肝解郁、理气活血;甘草为使,调和诸药。

代谢组学是后基因时代的一门新兴的独立学科。该学科的应用跨越生物技术和医药技术,具有广泛发展前景。代谢组学测定的对象是生物标本,生物体液(如血液、尿等)、细胞提取物、细胞培养液和组织等测定代谢物变化,研究系统生化谱和功能调节的整体效果,应用代谢物组信息一进行生物信息、化学计量学、统计学分析能够获得反映代谢物组对生物体的功能的科学信息。这点与中药作用的整体观念一致,适于解决中药难以认识的整体效应和认识药物作用的物质基础问题。因此值得在中药现代化研究开展此项课题。在研究方法上,代谢物组学研究的样本采集和处理的方法简单,测定快速,并能进行动态连续研究。它虽然是一年轻学科,但分析方法成熟,适于定性定量(HPLC, MS, NMR),实现与功能的联系。因此为成功获得科学结果打下了基础。

中药复方是中医临床用药的主要形式,它是以中医辨证论治、藏象学说、阴阳五行学说为指导,按照君臣佐使的组方原则,选用恰当的药物定量配伍而成。中药复方因药味多,成分复杂、成分间协同作用及炮制、煎煮过程中发生的化学反应等因素的影响,使得复方药效和作用机制具有复杂的非线性特征,表现出多成分、多层次、多靶点、多代谢途径的特点。它不仅体现了传统医药对人体复杂系统的认识,其本身也是一个复杂化学成分系统。代谢组学作为研究人体复杂系统的方法,它所具有的非破坏性、整体性、动态性、非靶向等特点,使其适合研究中药复方引起的内源性代谢物的变化,通过检测获得体液的“代谢指纹图谱”和分析引起代谢谱变化的原因,可以整体评价中药复方对机体的生物效应药效和毒理作用,从而阐释中药复方的作用靶点、配伍机制,发现效应物质基础,指临床个体化治疗应用。因此,中药复方在代谢组学的研究方法下将可能得到充分的展示和“挖掘”。代谢组学研究方法以非目标、总体的方法为主,采用代谢指纹图谱技术,结合多种现代分析和数据处理技术,通过有目标的代谢组分析,从而明确中药的作用机理,从而是我们的研究更为有的放矢。

结合前人的研究报道以及我们的临床工作总结,西医西药治疗机理及药物比较局限,中医中药治疗的疗效明显,但中药治疗疗效鉴定标准比较模糊。为了充分挖掘中药在治疗色斑病变中的优势及作用机理,使中药治疗及疗效量化明确,我们考虑采用代谢组学法研究复方白桂中药组合物治疗白癜风的毒性、疗效及作用机理。通过色谱-质谱联用方法去分析实验模型的血浆的代谢物谱,并采用多元模式识别方法分析模型组和正常组大鼠的代谢物谱差异,找出潜在的生物标记物。并通过比较复方白桂中药组合物干预下这些生物标记物的变化情况,探讨白癜风病变的作用机理。通过本项目的研究,可在一定程度上确立中药治疗白癜风的分子生物学疗效评价精标准,为复方白桂中药组合物治疗白癜风色斑病变的深入研究及推广使用奠定基础。为现代中医临床对白癜风的规范化诊治及教学、科研提供了新思路。

近年来由于环境等因素影响白癜风病人持续增长,白癜风是一种自身免疫性疾病,以皮肤黏膜色素脱失为特征,其病因及发病机制尚未明确,至今仍是世界疑难病症之一,且尚无令人满意的治疗手段[1]。中药治疗白癜风的机理可能涉及该病病因学的多个途径。临床由于白癜风的辨证不同,所以用中药内服的治疗原则亦有多种[2][3][4]。

复方白桂中药组合物本方来源与依据。作为院内使用十余年的协定处方,我院年均万余贴,疗效显著,不良反应少见。为了方便病人,制成方便、快捷、能有效参与疾病治疗的中成药。本方具有补气、养血、祛风的功效。白癜风的发病或因风邪搏于肌肤,气血不和,气滞血瘀;或因内有湿热,外受风邪;或因肝肾不足,脾胃虚弱所致气血生化无源或因肝气郁结,气机不畅所致。各因素常互相夹杂。针对上述病机,本方由首乌藤,鸡血藤,防风,苍术,紫苏梗,黄芪,桂枝,麸白芍,女贞子,旱莲草,甘草,当归十二位药组成;复方白桂中药组合物用黄芪补气固表,桂枝、麸白芍调和气血;此三药共为君药。且黄芪、桂枝、麸白芍有仲景黄芪桂枝五物汤和建中汤之意,外以走表治血痹,内以走里建中气、扶脾胃。臣以防风、苍术、当归、鸡血藤、首乌藤、女贞子、旱莲草诸药,其中防风善驱肌表之风,且风药多能胜湿;苍术善除表里之湿;当归、鸡血藤、首乌藤三药同用,养血活血,止痒润燥,兼以安神镇静,又有“治风先治血,血行风自灭”之意;女贞子、旱莲草善补肝肾之不足,且二药色黑,为治疗肝肾不足之白发,白癜风等色素减少疾病的常用对药;佐以紫苏梗疏肝解郁、理气活血;甘草为使,调和诸药。

闪式提取法(也称为闪提法)是近年来发展起来的一种新提取方法,它是依据组织破碎提取的原理,利用适当溶剂在闪式提取器里将物料快速破碎至适当粒度,同时具有高速搅拌、超强振动、负压渗滤等功能来达到提取目的。由于一次提取一般在数秒至几分钟之内即可完成,其提取速度为传统方法无法达到。闪式提取法应用已涉及制药、食品工业、农业等领域,更应用于化学成分分析及质量标准研究中的样品前处理,具有提取时间短、效率高、节约能源、成分提取完全的特点,尤其常温提取的特点,更加有利于热敏成分的提取,虽然目前大部分研究集中在单味药物的研究,但其在复方中的应用已体现出一定的优势,且更符合中药传统用药形式,为中药复方的研究提供了一种新思路[3]-[9]。

指纹图谱是在中药化学指纹图谱基础上发展起来的一种分析方法,它兼具化学指纹图谱的整体定性优势和指标成分的定量分析功能,综合表征了中药方剂的整体定性质量特征和特异性成分的定量质量特征,尤其是对于组成极其复杂的中药复方,或有效成分的指纹信息不突出甚至缺失的情况下,定量指纹图谱技术具有尤其重要的意义,其在一定程度上弥补了传统化学指纹图谱定性分析方法的不足,在中药质量控制领域中具有良好的应用前景[10][11][12]。

3. 国内外现状和发展趋势

随着中医药科学现代化的到来,中药复方研究也成为了中药进军世界、在国际上获得一定认可的必经之路。中药复方制剂中化学成分之间相互作用是其疗效的物质基础,从而使传统中药在临床应用中显示出其独有的特殊性和广泛的适应症,这即是中药复方的特色。由此申请者认为对中药复方效应成分的研究,有利于进一步改善中药配伍应用的合理性、科学性以及成方制剂生产工艺设计、质量控制标准的建立和发掘祖国传统医药有着极其重要的意义。近年来国内外对该领域的主要研究方法有进一步的创新。随着科学技术的不断进步,中药复方药效物质基础的研究必然将会有更多新方法、新技术出现,解决目前尚不能解决的问题,通过多学科交叉,交流协作,将为中药复方效应物质基础的研究带来新的发展[13]。

为了充分挖掘中药在治疗色斑病变中的优势,使中药治疗及疗效量化明确,效应成分清楚,我们考虑采闪式提取法优化复方白桂中药组合物快速、常温、高效的提取工艺。组合物中化学成分复杂,紫外吸收差异较大,单一波长下难以全面反映组合物中各类化学成分的全部信息,因此本试验通过二极管阵列检测器(Diode Array Detector)全波长扫描,确定采样波长,并利用软件对各波长进行融合,以得到全面

反应组合物中各类成分信息的指纹图谱。通过色谱-质谱联用方法去分析主要成分。包括以肉桂酸为主的挥发油部分,以黄芪甲苷为主的皂甙部分,以芍药苷为主的黄酮部分,以齐墩果酸为主的萜类化合物部分,以黄芪多糖为主的多糖部分等的重量份含量,为复方白桂中药组合物制备纯组分中成药,对治疗白癜风色斑病变的深入研究及推广使用奠定基础。为现代中医临床对白癜风的规范化诊治及教学、科研提供新思路[14][15]。

4. 研究内容和研究进展

4.1. 研究内容

1) 复方白桂中药组合物闪式提取工艺研究。对提取溶剂、提取时间、提取压力、用量料液比及乙醇体积分数为参数进行考察,以主要成分为指标,采用正交试验设计与响应面设计进行提取工艺优化,确定最佳的提取工艺。

选取乙醇体积分数,乙醇用量,提取时间、提取电压为考察因素,每个因素设计3个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,因素水平见表1。

Table 1. Compound Bai Gui herbal combination factors levels in the extraction process optimization orthogonal experiment
表 1. 复方白桂中药组合物闪式提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/min	D 提取电压/V
1	60	15	1	100
2	70	20	2	120
3	80	25	3	140

称取复方白桂组合物粗粉 50 g,混匀,进行闪式提取,滤液定容至 1000 mL 量瓶中。每号试验平行操作 2 份,共计 18 份。试验结果,将数据代入 SPSS 软件中进行方差分析,确定最佳提取工艺。

2) 复方白桂中药组合物指纹图谱研究。复方白桂中药组合物样品进行薄层色谱与液相色谱指纹图谱研究,并通过气相色谱质谱联用(GC/MS)、高效液相色谱质谱联用(HPLC/MS)方法鉴定主要成分。收集不同批次复方白桂中药组合物,建立分析方法,分别测定各批次组合物指纹图谱,并用特定的数字化技术对指纹图谱中的数据进行分析和处理,确定 n 强峰和相关特征指纹峰,计算多批次复方白桂组合物的重叠率和相似度。

4.2. 研究进展

利用研究结果可以为复方白桂组合物制成中成药提供了有用的提取工艺和质量控制的方法,明确了有效组分及重量份含量。我院皮肤科年均日门诊量能够符合纳入病例标准,收治患者能满足研究所需病例。一种有效的治疗白癜风的中成药更利于推广和使用。为中药治疗白癜风的效应成分研究提供了新的方向,为今后中药治疗白癜风研究提供新思路[16][17][18]。

基金项目

杭州市科技局资助项目(No. 20170533B46)。

参考文献

[1] 祝逸平,王遂泉,卢良君,许爱娥,卤米松. 黄芩提取物联合用药对白癜风小鼠模型的影响[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(4): 554-558.

- [2] 阮高波, 许爱娥. 白癜风中药内服方剂的组方原则及用药分析[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(6): 729-732.
- [3] Pei, T., Zheng, C., Huang, C., Chen, X., Guo, Z., Fu, Y., Liu, J. and Wang, Y. (2016) Systematic Understanding the Mechanisms of Vitiligo Pathogenesis and Its Treatment by Qubaibabuqi Formula. *Journal of Ethnopharmacology*, **190**, 272-287. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.001>
- [4] Chen, Y.J., Chen, Y.Y., Wu, C.Y. and Chi, C.C. (2016) Oral Chinese Herbal Medicine in Combination with Phototherapy For vitiligo: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Complementary Therapies in Medicine*, **26**, 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2016.02.009>
- [5] 王玥, 杜守颖, 戴俊东, 陆洋, 魏长玲, 陆显进, 黎迎, 李慧云, 赵静宜. 当归、川芎配伍闪式提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 5.
- [6] 李精云, 刘延泽. 组织破碎提取法在中药研究中的应用进展[J]. 中草药, 2011, 42(10): 2145-2149.
- [7] 陈象青, 刘圣, 方焱. 多指标正交试验优选当归提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 2.
- [8] 黄灿, 杨天鸣, 贺建云, 付友珍, 赵玉清, 鄢连和, 雷后兴. 禽药算盘子闪式提取物的色谱-质谱联用分析[J]. 中草药, 2009, 40(6): 872.
- [9] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物, 2007, 5(06): 401-406.
- [10] 吴冬梅. 闪式提取器在中药研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(7): 34-37.
- [11] 杨治中, 严锦璇, 严卓晟. 新概念和高新技术及装备在植物资源性现代中药提取中的联合运用[C]//科技部. 2009年传统医药国际科技大会论文集. 南昌: 中国中医药研究促进会, 2009: 228-236.
- [12] 姚东, 孟宪生, 王帅, 包永睿, 潘英, 韩凌. 气滞胃痛颗粒全时段多波长融合指纹图谱研究及多成分定量分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(10): 1513-1517.
- [13] 赵洪芝, 孟宪生, 叶挺祥, 等. 双波长融合 HPLC 测定六味地黄丸中马钱子苷、丹皮酚的含量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 3270.
- [14] 李家春, 梁娜, 肖伟, 等. 定量指纹图谱技术在桂枝茯苓胶囊过程质量控制中的应用[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 2182.
- [15] 李朋收, 时晓娟, 刘洋洋, 李春娜, 徐瞰海, 刘铜华. 中药复方效应物质基础研究及展望[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(9): 108-112.
- [16] Moretti, S., Spallanzani, A., Amato, L., et al. (2002) New Insights into the Pathogenesis of Vitiligo: Imbalance of Epidermal Alcytokines at Sites of Lesions. *Pigment Cell Research*, **15**, 87-92. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2002.10049.x>
- [17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 2020 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [18] 罗佳波. 中药注射剂良性发展的思考[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2010, 12(4): 497.