

正交试验法优选“艾辛止痛膏”提取工艺的研究

潘育方¹, 杨帆¹, 伍善广¹, 洪敏², 黄永兴¹ (1. 广东药学院, 广州 510224; 2. 广东药学院附属第一医院, 广州 510080)

摘要:目的 “艾辛止痛膏”有效成分的提取工艺条件。方法 以总浸膏得率、复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸收度 A (权重系数分别为 0.7 和 0.3) 为综合考察指标, 采用正交实验法对提取工艺的溶媒用量、提取时间、提取次数、溶媒浓度 4 个因素进行考察, 优选出“艾辛止痛膏”的最佳提取工艺条件。结果 影响提取的主次因素为: 溶媒浓度 > 提取次数 > 提取时间 > 溶媒用量; 最佳提取工艺条件是: $A_3B_2C_3D_3$, 即乙醇用量 10 倍, 提取 2 次, 时间为 60min, 55% 乙醇。结论 优选得到的提取工艺稳定可行。

关键词: 艾辛止痛膏; 正交实验; 提取工艺

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)08-0767-03

Optimal Extraction Technology of Ai Xin Zhi Tong Ointment by Orthogonal Design Method

PAN Yu-fang, YANG Fan, WU Shan-guang, HONG Min, HUANG Yong-xing (1. Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224, China; 2. The 1st Affiliated Hospital of Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the alcohol-extraction process for Ai Xin Zhi Tong Ointment. **METHODS** The orthogonal test design was used to test the four main factors of extraction process, including amount of solvent, extraction time, extraction opera-

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研项目(20050561020)

作者简介: 潘育方(1966-), 男, 汉族, 广东, 副教授, 主要从事药物新剂型与药效学的研究。

tion frequency, and ethanol concentration , and the synthetic score based on dried alcohol decocting rates and the contents of Cinnamic Acid and Cinnamaldehyde in Ramulus Cinnamomi was used as guide. **RESULTS** The ethanol concentration is the first key factor, extraction operation frequency is the second, the extraction time is the third, and the amount of solvent is the last. The optimum alcohol-extracting condition was A₃B₂C₃D₃, that is, adding 10 times amount of 55% alcohol for two times and each time for 60 minutes. **CONCLUSION** The extraction processs is stable and feasible. **KEY WORDS:** Ai Xin Zhi Tong Ointment; Orthogonal design; Extraction

“艾辛止痛膏”(自用药名: 广东药学院附属第一医院在用制剂)是经长期临床验证的复方中药制剂,具有温经止痛、活血化瘀的作用,可明显缓解甚至消除腰椎间盘突出症患者的腰腿痛症状^[1]。“艾辛止痛膏”主要由桂枝、归尾、制川乌、艾叶组成。目前使用方法是将其碾磨成粉、酒精浸泡调成糊状,热敷使用。至今未见“艾辛止痛膏”提取工艺的研究报道。笔者采用正交试验法对“艾辛止痛膏”提取工艺进行研究。桂枝在本方中是君药,桂枝的主要有效成分为桂皮醛、桂皮酸、桂皮醇、香豆素及原儿茶酸等,药理研究表明桂皮酸具有抗菌、消炎作用,桂皮醛有明显的镇静、镇痛作用^[2-3]。文献报道采用紫外分光光度法选择在 273nm 处测定桂皮酸,样品中的共存组分桂皮醛及其他类似有机物在 273nm 处也有吸收^[4]。紫外分光光度法测定桂皮酸具有较好的准确度和精密度的特点^[5]。艾叶主要成分是黄酮类和多糖类化合物,采用紫外可见分光光度法检测的总黄酮在 510nm 处有稳定的特征吸收峰,总多糖在 490nm 处有稳定的吸收峰^[5]。制川乌是本方的臣药,中国药典(2005 年版)表明制川乌的紫外吸收带位于约 520nm 处。归尾的主要有效成分是鞣质,有报道表明鞣质的紫外吸收带在 730nm 处^[7]。从上述内容可以看出,各药材主要成分紫外可见光谱最大吸收波长相距较远,说明采用紫外可见分光光度法测定复方提取物中桂枝的主要成分含量方法是可行的。同时,我们在 200 ~ 450nm 之间对桂枝提取物及复方提取物进行紫外光谱测试,发现桂枝提取物主要成分桂皮酸和桂皮醛在约 273nm 左右处有明显的吸收带,其吸收与复方提取物的吸收基本上一致,因此可以把复方提取物的吸收值视为桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的吸收值。

本实验在预实验基础上,选择影响工艺的几个因素,按表 L9(3⁴)安排每次实验采用综合评价方法^[8](浸膏得率权重系数为 0.7、复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛吸光度权重系数为 0.3)为考察指标,优选最佳提取工艺。

1 仪器与药品

仪器: RE-52CS 旋转薄膜蒸发仪(河南巩义市予华仪器有限责任公司), TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), 电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。艾叶(产地湖南)、制川乌(产地四川)、归尾(产地海南)、桂枝(产地广西)均购自广州市药材公司。

2 方法与结果

2.1 正交实验设计

为了全面考察“艾辛止痛膏”有效成分的提取工艺条件,以乙醇作为溶剂提取“艾辛止痛膏”的有效成分。根据预试

验结果得出,影响提取率的主要因素有: 乙醇用量(A)、提取次数(B)、提取时间(C)、乙醇浓度(D)。以上 4 个条件为考察因素,每个因素设立 3 个水平(见表 1)。选用 L9(3⁴)正交试验(见表 2),考察醇提浸膏得率以及复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸光度 A,权重系数分别为 0.7 和 0.3,综合评价提取工艺条件。

表 1 正交试验因素水平表

Tab 1 Level factors of orthogonal design				
水平	A 乙醇用量 (倍)	B 提取次数	C 提取时间 (min)	D 乙醇浓度 (%)
1	6	1	30	75
2	8	2	45	65
3	10	3	60	55

表 2 正交试验结果

Tab 2 Result of orthogonal design							
实验号	A	B	C	D	吸收度 (A)	浸膏得 率(%)	综合 评分
1	1	1	1	1	0.189	12.78	49.65
2	1	2	2	2	0.540	18.86	85.06
3	1	3	3	3	0.596	20.03	91.34
4	2	1	2	3	0.413	16.08	70.38
5	2	2	3	1	0.348	15.50	65.58
6	2	3	1	2	0.527	14.78	71.34
7	3	1	3	2	0.665	14.34	76.15
8	3	2	1	3	0.336	21.75	85.16
9	3	3	2	1	0.270	16.56	65.48
吸 K ₁	1.325	1.267	1.052	1.140			
光 K ₂	1.288	1.224	1.233	1.399			
度 K ₃	1.261	1.393	1.609	1.345			
A R _A	0.064	0.169	0.557	0.259			
浸 K ₁	51.67	43.20	49.31	44.84			
膏 K ₂	46.36	56.11	51.5	47.98			
得 K ₃	52.65	51.46	48.87	57.86			
率 R _膏	6.29	12.91	2.63	13.02			
综 K ₁	226.05	196.18	206.15	180.71			
合 K ₂	207.30	235.80	220.92	232.55			
评 K ₃	226.79	228.16	233.07	246.88			
分 R _总	19	39.62	26.92	66.17			

注: 浸膏得率评分 = 浸膏得率/最大浸膏得率 × 0.7 × 100; 桂皮酸和桂皮醛的总量评分 = 桂皮酸和桂皮醛总量吸收 A 值/最大桂皮酸和桂皮醛总量吸收 A 值 × 0.3 × 100; 综合评分 = 浸膏得率评分 + 桂皮酸和桂皮醛的总量吸收 A 值评分。

2.2 浸膏得率

称取艾叶 3g、制川乌 1.5g、归尾 2g、桂枝 1.5g 按表 2 编号进行提取,收集提取液,滤过,减压浓缩回收乙醇得浸膏,水浴蒸干,再置于 105℃ 的恒温干燥箱中干燥 3h,称重计算得浸膏得率(见表 2)。

2.3 桂皮酸和桂皮醛的总吸光度值

分别取上述浸膏 0.1mg,用 70% 乙醇定容至 1000mL,摇匀。以 70% 乙醇为空白,在约 273nm 处测紫外吸光度,以测定复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸收度 A(见表 2)。

2.4 正交试验结果

根据极差 R_A 的大小顺序 $C > D > B > A$,则影响复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸收度 A 的主次因素为:提取时间 > 乙醇浓度 > 提取次数 > 乙醇用量,最佳提取工艺条件是: $A_1B_3C_3D_2$ 。即溶媒用量 6 倍,提取 3 次,时间为 60min,65% 乙醇。

根据极差 R_2 的大小顺序 $D > B > A > C$,影响浸膏得率的主次因素为,即:乙醇浓度 > 提取次数 > 溶媒用量 > 提取时间,最佳提取工艺条件是: $A_3B_2C_2D_3$ 。即溶媒用量 10 倍,提取 2 次,时间为 45min,55% 乙醇。

根据极差 $R_{总}$ 大小顺序 $D > B > C > A$,影响综合评分因素为:乙醇浓度 > 提取次数 > 提取时间 > 乙醇用量。最佳提取工艺条件是: $A_3B_2C_3D_3$ 。即乙醇用量 10 倍,提取 2 次,时间为 60min,55% 乙醇。

2.5 验证实验结果

根据筛选得到的最佳综合评分工艺条件提取 5 批(每批称取艾叶 3g、制川乌 1.5g、归尾 2g、桂枝 1.5g),5 批样品的浸膏得率平均值为 21.5%;桂皮酸和桂皮醛的总量在约 273nm 处吸收平均值为 0.530。此结果表明在最佳综合评分工艺条件下浸膏得率较高,且有效成分桂皮酸和桂皮醛的总量 A 值也有较高吸收。

3 讨论

3.1 桂枝在本方中是君药,本方法利用复方中各药材紫外吸收光谱差异,以桂枝中桂皮酸和桂皮醛的含量作为考察指

标之一,方法可行。

3.2 根据表 2 的实验结果,影响复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸光度值 A 主要因素是提取时间而溶媒用量的影响最小,这可能是由于药材中的桂皮酸和桂皮醛在乙醇中的浸出速度较慢,所以受提取时间影响较大。影响浸膏得率的因素中,乙醇浓度对浸膏得率的影响最大,而提取时间的影响最小,这主要是由于复方中的主要成分大多是脂溶性物质,故乙醇的浓度对其溶出影响较大。

3.3 对于皮肤外敷用药来说浸膏得率是一个非常重要的指标,所以我们在综合评价中占较大比例(0.7)进行考察。同时由于桂枝在本方中是君药,所以将复方提取物中桂枝主要成分桂皮酸和桂皮醛的总吸收度 A 也作为一个考察指标,但在综合考察中占较小比例(0.3),笔者采取综合评分的方法将两者很好地结合。

参考文献

[1] 洪敏,罗小宁,王素梅. 外敷药治疗腰椎间盘突出症 40 例[J]. 中医外治杂志,2005,14(2):22.

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草精选本[M]. 上海:上海科技出版社,1998:134.

[3] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001:1771-1773.

[4] 盖明琤. 肉桂油中桂皮酸的含量测定[J]. 中成药,1996,18(9):14-15.

[5] 陈红红,张子群,黄丽玫. 提取桂枝叶油的水相成分研究[J]. 中国医学检验杂志,2000,1(2):96-98.

[6] 袁慧慧,殷日祥,陆冬英,等. 艾叶提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. 华东理工大学学报(自然科学版),2005,31(6):768-771.

[7] 陈建真,吕圭源,宋玉良. 当归头、身、尾的鞣质含量测定[J]. 浙江中医学院学报,2004,28(3):72-73.

[8] 李兰芳,李存满,张勤增. 正交实验法优选复方消经痛胶囊中黄芩的提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(12):1275-1276.