

多指标综合评分法优选骨痹止痛液的渗漉工艺

李喜香*, 李兴勇, 刘效栓, 王雪梅, 包强
(甘肃省中医院, 兰州 730050)

[摘要] **目的:** 优选骨痹止痛液的渗漉工艺条件, 为该制剂的工业化生产提供参考。**方法:** 以欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛提取量和干浸膏得率的综合评分为指标, 采用正交试验对影响渗漉工艺的药材粉碎粒度、浸泡时间、白酒用量和渗漉速度4个因素进行优选。采用HPLC测定欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛含量, 检测波长分别为254, 320, 290 nm, 流动相依次为甲醇-水(60:40), 甲醇-1%冰乙酸水溶液(30:70)和甲醇-水(35:65)。**结果:** 骨痹止痛液最佳渗漉工艺为药材粉碎过50目筛, 加10倍量白酒浸泡24 h, 以 $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速渗漉。欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛提取量分别为69.888, 171.840, 123.845 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 干浸膏得率32.16%。**结论:** 优选的渗漉工艺简便稳定、重复性好, 为骨痹止痛液的进一步开发与利用提供实验依据。

[关键词] 骨痹止痛液; 渗漉工艺; 综合评分; 欧前胡素; 阿魏酸; 桂皮醛

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0031-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130031

Percolation Process of Gubi Zhitong Liquor by Comprehensive Scoring Method

LI Xi-xiang*, LI Xing-yong, LIU Xiao-shuan, WANG Xue-mei, BAO Qiang
(Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize percolation technology of Gubi Zhitong liquor and to provide a reference for industrial production of this preparation. **Method:** Taking composite score of extracting amounts of imperatorin, ferulic acid, cinnamaldehyde and dry extract yield as index, orthogonal test was adopted to optimize percolation technology with powder fineness, soaking time, percolation speed and liquor amount. HPLC was employed to determine contents of imperatorin, ferulic acid and cinnamaldehyde with detection wavelengths of 254, 320, 290 nm and mobile phases of methanol-water (60:40), methanol-1% glacial acetic acid solution (30:70) and methanol-water (35:65). **Result:** Optimal percolation technology was as follows: powder fineness of 50 mesh, soaked 24 h with 10 times the amount of liquor, percolation speed of $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Under these conditions, extracting amounts of imperatorin, ferulic acid, cinnamaldehyde were 69.888, 171.840, 123.845 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, dry extract yield was 32.16%. **Conclusion:** This optimized percolation process is simple and stable with good repeatability, it can provide a theoretical basis for further developing of Gubi Zhitong liquor.

[Key words] Gubi Zhitong liquor; percolation process; composite score; imperatorin; ferulic acid; cinnamaldehyde

骨痹止痛液为本院的协定处方(专利号 ZL201210296740.5), 主要由当归、川芎、白芷、肉桂、独活、羌活、乳香、没药等20味中药组成, 具有活血止痛、祛风除湿的功效, 主要用于治疗肝肾亏虚、筋脉瘀滞型的骨痹之病^[1-3]。该方已经在临床以汤

剂形式使用多年, 疗效显著, 为风湿骨痛的患者减轻了痛苦。为使患者用药方便, 保证疗效, 且考虑到酒剂通血脉, 治痹病, 吸收快等特点^[4], 拟将该方开发成酒剂。本实验以渗漉法制备骨痹止痛液, 采用正交试验优选渗漉工艺, 为该制剂的进一步开发与利

[收稿日期] 20150608(013)

[基金项目] 甘肃省中医药管理局科研项目(GZK-2012-45)

[通讯作者] *李喜香, 主任中药师, 从事中药制剂研究, Tel:15002550389, E-mail:lixixiang929@163.com

用提供工艺参数。

1 材料

1525 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司, 包含 717 型自动进样器和 2487 型双通道紫外检测器), FA1004 型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司), FW-200 型高速万能粉碎机(北京科伟水兴仪器有限公司)。当归、川芎、白芷等 20 味药均购于甘肃省中医院, 经甘肃中医学院李成义教授鉴定, 均符合《中国药典》2015 年版相关项下要求; 欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110825-200307, 110773-201012, 110710-201418), 白酒(郑州市华熙药业有限公司, 批号 QS410015018645, 52 °C), 水为纯净水, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 准确量取渗漉液 20 mL, 放入蒸发皿中, 水浴蒸干, 加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称定欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛对照品适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 制成质量浓度分别为 0.030, 0.024, 0.039 8 g·L⁻¹ 的对照品溶液, 备用。

2.2 指标成分的测定

2.2.1 色谱条件 SymmetryShield RP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温为室温, 进样量 20 μL, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛检测波长分别为 254, 320, 290 nm; 流动相依次为甲醇-水(60:40), 甲醇-1% 冰乙酸水溶液(30:70) 和 甲醇-水(35:65)。

2.2.2 线性关系考察 取 2.1.2 项下欧前胡素、阿魏酸和桂皮醛的对照品溶液, 采用逐步稀释法, 制成每 1 mL 含欧前胡素 30.0, 24.0, 12.0, 6.0, 3.0 μg, 阿魏酸 24.0, 19.2, 9.6, 4.8, 2.4 μg, 桂皮醛 39.780, 31.824, 15.912, 7.956, 3.978 μg 的对照品溶液。按 2.2.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程分别为 $Y = 35\ 955X - 40\ 615$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 10\ 003X + 14\ 228$ ($r = 0.999\ 8$), $Y = 12\ 072X + 38\ 495$ ($r = 0.999\ 9$), 线性范围分别为 3.0 ~ 30.0, 2.4 ~ 24.0, 3.978 ~ 39.780 mg·L⁻¹。

2.2.3 精密密度考察 精密吸取 2.1.2 项下欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛对照品溶液, 按 2.2.1 项下色谱

条件连续进样 6 次, 计算峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 1.5%, 0.9%, 表明仪器精密度良好。

2.2.4 稳定性考察 取 2.1.1 项下供试品溶液, 分别在 0, 2, 6, 12, 24 h 按 2.2.1 项下色谱条件测定, 计算欧前胡素、阿魏酸和桂皮醛峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 1.9%, 0.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.5 重复性考察 精密吸取 2.1.1 项下供试品溶液 6 份, 按 2.2.1 项下色谱条件测定, 结果欧前胡素、阿魏酸和桂皮醛峰面积的 RSD 分别为 1.7%, 1.3%, 1.1%, 表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率试验 精密量取已知含量同一批渗漉液, 平行取样 6 份, 每份 5 mL(分别含欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛 32.31, 69.19, 63.78 μg), 各精密加入等量欧前胡素、阿魏酸和桂皮醛对照品溶液, 按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件测定, 计算欧前胡素、阿魏酸和桂皮醛的平均加样回收率分别为 101.59%, 99.74%, 100.42%, RSD 分别为 1.2%, 2.1%, 1.3%。

2.3 干浸膏得率的测定 准确量取渗漉液 50 mL, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣于 105 °C 干燥 3 h 至恒重, 置干燥器中冷却 30 min, 迅速精密称定质量, 计算干浸膏得率。

2.4 骨痹止痛液的渗漉工艺优选 按处方量称取各药材共 200 g, 共 9 份, 在单因素试验基础上, 选择药材粉碎粒度、浸泡时间、白酒用量和渗漉速度为考察因素, 按 L₉(3⁴) 正交表安排试验, 收集 9 组条件下渗漉液, 以欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛提取量和干浸膏得率的综合评分为指标, 权重系数均为 0.25。试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。

由直观分析可知, 各因素对提取工艺的影响顺序为 $B > D > A > C$ 。以极差最小的因素 C 为误差项进行方差分析, 结果发现因素 B 具有极显著性影响, 因素 D 有显著性影响, 因素 A 则无显著性影响, 故选取渗漉工艺 $A_1B_2C_1D_2$, 即药材粉碎过 50 目筛, 加 10 倍量白酒浸泡 24 h, 以 2 mL·min⁻¹ 流速渗漉。
2.5 验证试验 按处方量称取 3 批药材, 按优选的工艺条件进行渗漉提取, 按 2.2 和 2.3 项下方法测定, 结果欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛平均提取量分别为 69.888, 171.840, 123.845 μg·g⁻¹, RSD 依次为 0.3%, 0.4%, 0.7%; 干浸膏得率平均值 32.16%, RSD 1.5%。说明优选的工艺稳定可行。

3 讨论

传统的酒剂多用浸渍法提取, 将炮制加工过的

表 1 骨痹止痛液渗漉工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of percolation technology of Gubi Zhitong liquor

No.	A 粉碎粒度 /目	B 浸泡时间 /h	C 白酒用量 /倍	D 渗漉速度 /mL·min ⁻¹	欧前胡素 /μg·g ⁻¹	阿魏酸 /μg·g ⁻¹	桂皮醛 /μg·g ⁻¹	干浸膏得率 /%	综合评分
1	50	30	10	3	50.49	108.11	99.65	26.23	74.63
2	50	24	15	2	69.98	122.40	88.49	31.61	85.67
3	50	18	20	1	52.12	103.69	123.85	27.77	80.67
4	24~50	30	15	1	40.54	128.42	83.69	28.89	72.91
5	24~50	24	20	3	39.41	171.82	88.48	28.22	79.26
6	24~50	18	10	2	47.01	129.26	104.93	27.52	78.55
7	10~24	30	20	2	47.49	127.58	91.46	28.45	76.49
8	10~24	24	10	1	50.67	143.58	110.44	28.15	83.55
9	10~24	18	15	3	53.52	127.31	80.58	27.83	75.92

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Varlance analysis of composite score

方差来源	SS	MS	F	P
A	17.513	8.757	18.003	>0.05
B	99.910	49.955	102.701	<0.01
C(误差)	0.973	0.486		
D	20.579	10.289	21.154	<0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

中药饮片置于瓷坛或其他容器中,加入一定量白酒,浸泡时间 > 30 d,取上清液,加入适量糖或蜂蜜,密封静置数天,即得^[5]。该方法生产周期长,有效成分提取不充分,不利于工业化生产。故本文采用渗漉法对骨痹止痛液进行提取^[6]。

骨痹止痛液由 20 味中药组成,有效成分繁多,故本文采用多指标综合加权评分法优选渗漉工艺。以欧前胡素、阿魏酸、桂皮醛提取量和干浸膏得率为评价指标,根据各指标在工艺参数优化过程中的主次,赋予一定比例权重。

临床常用当归和川芎作为活血祛瘀、养血和血之药对,其主要有效成分阿魏酸具有明显的抗动脉硬化、抗血小板凝集和血栓、抗肿瘤、增加免疫功能等作用^[7-10]。白芷具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的作用,含有欧前胡素、异欧前胡素等香豆素类成分;现代药理实验表明这类成分具有平喘、降压、活化交感系激素等药理作用^[11-12]。肉桂具有补火助阳、引火归元、散寒止痛、温通经脉之功效^[13],其主要成分桂皮醛具有抗菌、消炎、镇静、止痛、免疫调节的作用^[14-15]。综上所述,本文依据中医用药的多途径多靶点共同作用的特点,选用阿魏酸、欧前胡素、桂皮醛提取量和干浸膏得率作为评价指标对骨痹止痛液的渗漉工艺进行综合评定,兼顾了各检测指标的协同性,又切合了中医用药的整体观理论。

[参考文献]

[1] 刘小静,王丽敏,高明利. 膝骨关节炎的中医病因病机探要[J]. 实用中医内科杂志,2010,24(11):81-82.

[2] 刘路明,杨宜芬. 痹病康复治疗浅谈[J]. 云南中医中药杂志,2015,36(4):110-112.

[3] 庞增林. 骨痹止痛液对兔膝骨性关节炎软骨中 TGF-β, IGF-1 mRNA 表达及组织形态学的影响[D]. 兰州:甘肃中医学院,2015.

[4] 吴明如,李振彬,王丹,等. 饮酒及中药酒剂治疗关节炎的研究综述[J]. 风湿病与关节炎,2015,4(2):69-73.

[5] 战波玉,车绪凤,尉炳超. 中药酒剂的研究进展[J]. 中医药信息,2010,27(3):120-122.

[6] 伍利华,黄英,刘婷,等. 清脑复神液提取工艺再评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(1):10-13.

[7] 白晶,丁振铎,徐昶儒,等. “当归-川芎”药对阿魏酸在体肠吸收研究[J]. 哈尔滨商业大学学报,2013,29(2):129-132.

[8] 刘医辉,杨世英,马伟林,等. 当归药理作用研究进展[J]. 中国当代医药,2014,21(22):192-193.

[9] 冯彬彬,张建海,张继芬,等. 川芎嗪、阿魏酸及其配伍药代动力学比较研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(7):900-904.

[10] 陈象青,刘圣,方焱,等. 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):25-28.

[11] 何鸽飞,易爱纯,张顺芝. 高效液相色谱法测定清眩片中欧前胡素和异欧前胡素的含量[J]. 中南药学,2010,8(1):30-33.

[12] 杨芳,万丽,杨荣平,等. 一测多评法测定元胡止痛胶囊中欧前胡素、异欧前胡素和延胡索乙素的含量[J]. 中国药房,2012,23(32):3046-3049.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:127-128.

[14] 钟宇富,刘国洪,杜英娟,等. 月乃汤中肉桂的鉴别及桂皮醛的含量测定[J]. 中外食品工业,2014,10(6):29-30.

[15] 石鑫超,吴忌,王庆甫,等. 桂皮醛对人膝骨关节炎滑膜成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2014,32(9):3-6.

[责任编辑 刘德文]