

正交试验法优选傣药海芋的炮制工艺

赵寅,莫莎莎,杨詹詹,郑涛,梅之南*
(中南民族大学药学院,武汉 430074)

[摘要] 目的:优选傣药海芋最佳炮制工艺。方法:采用正交试验法,以浸出物、有机酸、针晶含量为指标,对浸泡时间、切片厚度、用水量 3 个影响因素进行研究。结果:优选的工艺条件为按 10 mm 厚度切片,10 倍量水浸泡 7 d,每日换水 1 次。结论:优选的工艺可行,适合工业化生产。

[关键词] 海芋;炮制工艺;正交试验;显微数量分析

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0014-03

Optimization of Processing Technology of *Alocasia macrorrhiza* by Orthogonal Design

ZHAO Yin, MO Sha-sha, YANG Zhan-zhan, ZHENG Tao, MEI Zhi-nan*
(College of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize optimum processing technology of *Alocasia macrorrhiza*. **Method:** Soaking time, slice thickness, amount of water were studied by orthogonal test with the content of extractive, organic acid and raphide as indexes. **Result:** Optimized process conditions were as follows: slice thickness was 10 mm, soaked 7 d with 10 times amount of water, changed water once one day. **Conclusion:** The optimized process is feasible, which can be used in industrial production.

[Key words] *Alocasia macrorrhiza*; processing technology; orthogonal test; microscopic quantitative analysis

傣药海芋又名大黑附子、坡扣、坡郎。为天南星科海芋属植物海芋 *Alocasia macrorrhiza* (L.) Schott 的根茎。其味麻,气腥,性温。具有润肺止咳、解热、祛风除湿、镇心安神的作用。生品有毒,需炮制减毒后入药。傣医常用的炮制方法有水洗法、酒泡法、盐炙法等。但是对其毒性成分尚不清楚,一般认为该科植物中所含的特殊生物代谢产物草酸钙针晶是其主要刺激性成分。草酸钙针晶在天南星科植物中普遍存在,能引起口腔疼痛和肿胀,口咽急性炎症伴有唾液分泌,可引起唇、舌和咽喉浮肿等强烈的刺激

作用^[1-2]。为了规范本品的炮制工艺,降低本品的毒性,本课题组采用正交试验法研究了水洗法的炮制工艺,为工业化生产提供依据。

1 材料

FW177 型中药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司),DMIL Leica 型倒置显微镜系统。所用试剂均为分析纯。

药材采集于云南省西双版纳傣族自治州,经中南民族大学药学院万定荣教授鉴定为天南星科植物海芋 *A. macrorrhiza* 的根茎。

2 方法与结果

2.1 生品及炮制品中醇浸出物含量测定^[3] 按《中国药典》2010 年版一部附录 XA 收录的“浸出物测定法”中的“醇浸出物测定法(热浸法)”进行测定。

2.2 生品及炮制品中总有机酸含量测定方法

2.2.1 总有机酸的酸碱滴定试验 取海芋生品粉末 5 份,每份约 2.0 g,精密称定,置于 250 mL 具塞

[收稿日期] 20110627(002)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2007BA148B08)

[第一作者] 赵寅,硕士研究生,从事中药炮制学研究, Tel: 13407179952, E-mail: zeus1986@live. cn

[通讯作者] *梅之南,博士,教授,从事民族药物基础研究, Tel: 027-67843220, E-mail: meizhinan@163. com

锥形瓶中,分别加入蒸馏水、25%乙醇、50%乙醇、75%乙醇、无水乙醇 100 mL,称定质量,冷浸 2 h,超声提取 30 min,称定质量,补足失量,滤过,精密量取续滤液 20 mL 于 100 mL 锥形瓶中,加入蒸馏水 30 mL,加酚酞指示剂 2 滴,摇匀。用新配制的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 滴定液滴定至溶液由无色变成粉红色,即可。平行操作 3 次,记录所用 NaOH 滴定液的体积(V)。

2.2.2 有机酸含量测定 以棕榈酸计,依据下面公式计算样品有机酸含量。

有机酸含量 = $CVK/(m/5) \times 100\%$ (C -氢氧化钠标准液浓度, m -样品质量, K -棕榈酸的相对分子质量 256.42)。

结果加入蒸馏水、25%乙醇、50%乙醇、75%乙醇、无水乙醇的溶液中有机酸含量分别为 2.73%、3.09%、3.52%、3.46%、3.39%、1.20%。50%乙醇提取的海芋有机酸含量最高,提取较完全,故将溶剂定为 50%乙醇。

2.3 海芋生品中针晶数量的测定 将样品粉碎,过 40 目筛,称取样品 50.0 mg,加 1.5 mL 冰醋酸-甘油-水(1:1:1)液,充分混匀,取混悬液 0.15 mL 置血细胞计数器上,用 22 mm × 22 mm 盖玻片封片,光学显

微镜观察并拍照。每个计数室选取 5 个中格(选 4 个角和中央的 1 个中格)中的针晶进行计数。平行操作 3 次,结果针晶数分别为 12.30、14.55、13.20 个/ μg 。针晶显微图见图 1。

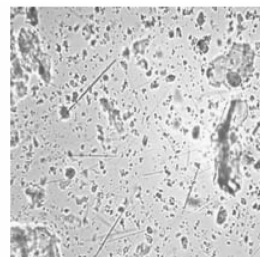


图 1 海芋生品针晶光学显微(400 ×)

2.4 正交试验 称取粗细在 6 cm 左右的干净海芋约 900 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表^[4]试验,切片,用蒸馏水浸泡,晒干,依次制备得到 9 种炮制供试样品。各因素水平见表 1,结果见表 2,方差分析见表 3~5。

表 1 海芋炮制工艺正交试验因素水平

水平	A 浸泡时间/d	B 厚度/mm	C 用水量/倍
1	5	5	8
2	6	10	10
3	7	15	12

表 2 海芋炮制工艺正交试验安排及结果($n=3$)

No.	A	B	C	D	醇浸物/%	有机酸/%	针晶数/(个/ μg)
1	1	1	1	1	1.34	0.53	12.48
2	1	2	2	2	1.30	0.53	6.08
3	1	3	3	3	1.54	0.51	9.57
4	2	1	2	2	1.60	0.51	9.08
5	2	2	3	3	1.75	0.53	3.20
6	2	3	1	1	1.23	0.52	8.78
7	3	1	3	2	1.39	0.50	3.08
8	3	2	1	3	1.35	0.51	1.47
9	3	3	2	1	1.50	0.57	0.48
醇浸物	K_1	4.18	4.33	3.92	4.59		
	K_2	4.58	4.40	4.40	3.92		
	K_3	4.24	4.27	4.68	4.49		
有机酸	K_1	1.56	1.53	1.56	1.62		
	K_2	1.55	1.57	1.60	1.54		
	K_3	1.58	1.59	1.53	1.53		
针晶数	K_1	28.13	24.64	22.73	16.16		
	K_2	21.06	10.75	15.64	17.94		
	K_3	5.03	18.83	15.85	20.12		

表 3 海芋醇浸物含量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.031 0	2	0.015 5	10.99	
B	0.002 8	2	0.001 4	1.00	
C	0.098 5	2	0.049 2	34.90	<0.05
D	0.087 1	2	0.043 5	30.86	<0.05

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ (表 4, 5 同)。

表 4 海芋有机酸含量方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.000 12	2	0.000 06	1.00	
B	0.000 71	2	0.000 36	5.94	
C	0.000 81	2	0.000 41	6.73	
D	0.001 80	2	0.000 90	14.91	

表 5 海芋针晶数方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	93.375 2	2	46.687 6	35.59	<0.05
B	32.444 2	2	16.222 1	12.37	
C	10.865 2	2	5.432 6	4.14	
D	2.623 4	2	1.311 7	1.00	

通过方差分析表可知,用水量对醇浸物含量有显著性影响,而浸泡时间和切片厚度对结果无显著性影响;从有机酸含量指标得出用水量,浸泡时间和切片厚度对有机酸含量均无显著性影响;从针晶数指标来看,浸泡时间对针晶数有显著性影响,而且随着浸泡天数的增加,针晶数明显减少。药材醇提液设计考虑到在优先保留有效成分的前提下,尽可能多破坏针晶,结合实际操作与生产成本,最终确定最佳提取工艺为 $A_3B_2C_2$,即选用上述海芋药材,按 10 mm 厚度切片,加 10 倍量水溶液浸泡 7 d,每日换水 1 次,晒干。

2.7 验证试验 取 3 批海芋鲜品的根茎,洗净,去杂质,按 10 mm 厚度切片,加 10 倍量水溶液浸泡 7 d,每日换水 1 次,取出,晒干,即得。结果 3 批收率分别为 3.42%, 3.45%, 3.42%,说明工艺合理且稳定。

3 讨论

海芋为傣医习用药材,需炮制后入药。前期对海芋的研究多集中在组织培养,凝集素的毒性作用及多糖组成上^[5],本课题组主要是研究海芋的特色炮制工艺。通过走访了傣族地区,对海芋药材的传统炮制方法进行实地调研,调研后发现传统炮制方法为切片水浸 7 d,每日换水 1 次,取出晒干备用。为了阐明其炮制机质,为临床合理使用该药材提供技术支持,现在传统炮制方法的基础上,通过考察浸泡时间、切片厚度,用水量等因素,采用正交试验法研究了科学合理的炮制工艺,从而保证海芋的质量和安全性。

药材炮制影响因素复杂,所以在工艺筛选过程中评价指标的选择尤为重要。本试验考虑到有效成分多集中于醇提物和有机酸^[6],在优先保留有效成分的前提下,尽可能多破坏针晶,采用浸出物,有机酸和针晶数同时作为评价指标,代表性强,所得工艺更加合理。

通过光学显微镜,清晰地观察到经炮制后海芋组织中草酸钙针晶在形态和数量上的变化。按正交试验方法炮制的海芋组织中草酸钙针晶随着炮制天数的增加,含量明显减少,其可以为炮制对药材微观形态影响的分析及工业化生产提供参考。

[参考文献]

- [1] Wendell Home. Some of the most toxic molecules on the planet occur in nature [J]. *Lifestyles-Home Garden-Columnist*, 2003, 10:1.
- [2] 吴皓,钟凌云. 天南星科有毒中药刺激性作用比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(4):380.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010;附录 XA 62.
- [4] 廖茂梁,胡静,尚海花,等. 正交试验优选枳实中辛弗林提取工艺[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(13):23.
- [5] 程磊,周秀佳. 海芋中海芋多糖的组成和含量测定[J]. *中草药*, 2004, 35(6):644.
- [6] 李娜,金敬红,姜洪芳,等. 宣木瓜总有机酸的纯化及镇痛抗炎作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(1):113.

[责任编辑 全燕]