

TỐI ƯU HÓA HIỆU SUẤT CHIẾT XUẤT CAO ĐẶC BÀI THUỐC QUYÊN TÝ THANG

**Nguyễn Văn Hưng, Đoàn Thị Ái Nghĩa, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Võ Văn Khả,
Lê Nguyễn Thùy Dung, Đặng Thị Thu Hiền, Hồ Nguyễn Diệu Quyên, Huỳnh Thị Vui,
Tăng Thị Hà Nhi, Trần Xuân Khang, Lê Thục Trinh**
Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế

Quyên Tý Thang là bài thuốc y học cổ truyền được ứng dụng rộng rãi trên lâm sàng. Nghiên cứu các vấn đề nhằm hướng đến sử dụng an toàn, hiệu quả bài thuốc cổ truyền là một hướng nghiên cứu góp phần hiện đại hoá nền y học cổ truyền. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa hiệu suất chiết xuất cao đặc Quyên Tý Thang. Đối tượng nghiên cứu là bài thuốc Quyên Tý Thang; chiết nóng không hồi lưu sử dụng dung môi nước. Phương pháp nghiên cứu sử dụng mô hình thí nghiệm Box-Behnken; thiết kế bởi phần mềm Design Expert 13 để tối ưu hóa hiệu suất chiết cao đặc bài thuốc với các biến đầu vào là tỷ lệ dược liệu/dung môi, thời gian chiết xuất, số lần chiết. Kết quả nghiên cứu cho thấy: tỷ lệ dung môi/dược liệu 11 (mL/g), thời gian chiết xuất 143 phút, số lần chiết 2 lần là điều kiện chiết tối ưu và hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên Tý Thang tương ứng là $38,13 \pm 0,29$ (%), $p > 0,05$ so với dự đoán. Như vậy, đề tài đã xây dựng được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của ba nhân tố chiết (tỷ lệ dung môi/dược liệu 11 (mL/g), thời gian chiết xuất 143 phút, 02 lần chiết) đạt hiệu suất chiết cao đặc Quyên Tý Thang tối ưu nhất.

Từ khóa: Chiết xuất, tối ưu hóa, bài thuốc Quyên Tý Thang, phương pháp sắc.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, cùng với sự phát triển của Y học hiện đại (YHHĐ), Y học cổ truyền cũng đóng vai trò quan trọng trong phòng và chữa bệnh. Theo Tổ chức Y tế thế giới, khoảng 40% dược phẩm ngày nay có nền tảng là sản phẩm tự nhiên và các loại thuốc mang tính bước ngoặt có nguồn gốc từ y học cổ truyền. Trong đó, việc nghiên cứu và phát triển thuốc có nguồn gốc từ dược liệu tạo thuận lợi để ngành công nghiệp dược nước ta phát triển theo hướng hiện đại hóa các bài thuốc y học cổ truyền.

Trong tác phẩm “Bách nhất tuyển phương”, bài thuốc “Quyên tý thang” có tác dụng ích khí hoạt huyết, khu phong trừ thấp, nhất là trị đau vùng gáy, lưng, vai, cánh tay, toàn thân mỏi nặng [3]. Ngày nay bài thuốc được ứng dụng rộng rãi trong trường hợp bệnh lý rễ thần kinh cổ, viêm quanh khớp vai, các khớp đau nhức như thoái hóa khớp gối, ... [6],[7],[8].

Trong Y học cổ truyền, trong số các chế phẩm từ dược liệu có thể kể đến như thuốc thang, cồn thuốc, thuốc bột, thuốc hoàn,...cao thuốc được biết đến là một loại chế phẩm phổ biến được sản xuất trên quy mô công nghiệp hiện nay. Cao đặc được bào chế từ các bài thuốc là bán thành phẩm cho các dạng thuốc khác như cốm và viên nang. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất là một vấn đề được quan tâm trong nghiên cứu và sản xuất sản phẩm từ dược liệu. Trong số những phương pháp qui hoạch thực nghiệm hiện đại, phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology-RSM) với sự hỗ trợ của các phần mềm xử lý số liệu đã trở thành một công cụ hữu ích giúp các chuyên gia thực hiện nghiên cứu các quá trình tối ưu hóa đa nhân tố, nhằm tiết kiệm thời gian, chi phí [4]. Nhưng đến nay, tối ưu hóa quy trình chiết xuất cao đặc từ bài thuốc Quyên Tý Thang vẫn còn ít được nghiên cứu. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm ứng dụng thiết kế thí nghiệm: Khảo sát và tối ưu hoá một số điều kiện chiết xuất để bào chế cao đặc bài thuốc Quyên Tý Thang căn cứ trên hiệu suất chiết.

Tác giả chính: *Nguyễn Văn Hưng*
Email: *nvhung.yhct@hueuni.edu.vn*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Bài thuốc Quyên Tý Thang (theo Bách nhất tuyển phương) đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (ĐĐVN V) và Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) [1].

Hoàng kỳ (chích mật)	16g	<i>Radix Astragali membranacei</i>	ĐĐVN V
Đương quy (tẩm rượu)	12g	<i>Radix Angelicae sinensis</i>	ĐĐVN V
Khương hoạt	6g	<i>Rhizoma et Radix Noiopterygii</i>	ĐĐVN V
Khương hoàng	6g	<i>Rhizoma Curcumae longae</i>	ĐĐVN V
Phòng phong	9g	<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>	ĐĐVN V
Xích thược	9g	<i>Radix Paeaniae</i>	ĐĐVN V
Chích cam thảo	3g	<i>Radix et Rhizoma Glycyrrhizae</i>	ĐĐVN V
Sinh khương	5 lát	<i>Zingiber officinale</i>	Đạt TCVN

2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Y Học Cổ Truyền, Khoa Dược – Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 5 năm 2023 đến tháng 01 năm 2024.

3. Máy móc, hóa chất phục vụ nghiên cứu

Bếp cách thủy, tủ sấy dược liệu, cốc mô, bình tam giác, phễu thủy tinh, cân tiểu ly, và các dụng cụ khác tại phòng thí nghiệm đạt yêu cầu chính xác dùng trong phân tích. Dung môi: Nước cất.

4. Phương pháp nghiên cứu

Bào chế cao đặc

Mỗi vị thuốc được để riêng, sấy khô ở nhiệt độ 55°C, sau đó xay thành bột thô, bảo quản trong túi kín, dán nhãn và để nơi khô ráo. Cân vào bình tam giác 1 thang thuốc gồm Hoàng kỳ (chích mật) 16g, Đương quy (tẩm rượu) 12g, Khương hoạt 6g, Khương hoàng 6g, Phòng phong 9g, Xích thược 9g, Chích cam thảo 3g, Sinh khương 5 lát. Tổng khối lượng 1 thang thuốc là 61g. Thêm nước vào bình, chiết nóng ở bếp cách thủy (ở 100°C), lọc nóng dịch chiết, cô cách thủy trên bếp ở 70°C đến thể chất cao đặc (độ ẩm < 20 %, cô đến 30 phút lại cân 1 lần cho đến khi khối lượng 3 lần liên tiếp không đổi thì đem đi cân, xác định khối lượng cao sau khi bào chế).

Khảo sát đơn biến các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất chiết xuất

Khảo sát lần lượt sự ảnh hưởng của 3 yếu tố: Tỷ lệ dung môi/dược liệu (ký hiệu: A), thời gian chiết (ký hiệu: B), số lần chiết (ký hiệu: C) đến hiệu suất chiết cao đặc bài thuốc Quyên Tý Thang. Tại mỗi bước thí nghiệm, thay đổi giá trị của yếu tố cần khảo sát và cố định các thông số còn lại; xác định hiệu suất chiết cao đặc; từ đó chọn yếu tố thích hợp để sử dụng cho những thí nghiệm tiếp theo. Các tỷ lệ dung môi/dược liệu được khảo sát là 4; 8 và 12 (mL/g). Các thời gian chiết được khảo sát là 60, 90, 120, 150 và 180 phút. Các số lần chiết được khảo sát là 1, 2, 3, 4 và 5 lần.

Phương pháp xác định hiệu suất chiết xuất cao đặc

Hiệu suất chiết được tính theo công thức:

$$H (\%) = \frac{m_{cao}}{m_o} \times 100$$

Trong đó: m_{cao} là khối lượng cao thu được sau khi kết thúc bào chế cao đặc, m_o là khối lượng dược liệu ban đầu (1 thang thuốc).

Xử lý số liệu

Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và SPSS 20.0. Mô hình thí nghiệm tối ưu hóa được thiết kế bằng mô hình *Box-Behnken* trên phần mềm Design Expert 13.

5. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện với sự chấp thuận của Hội đồng khoa học Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế theo Quyết định số 3151/QĐ-ĐHYD, ngày 20/7/2023 của Hiệu trưởng Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.

III. KẾT QUẢ

1. Lựa chọn giới hạn khảo sát và xác định giá trị điểm trung tâm

Bảng 1. Hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên Tý Thang khi khảo sát các yếu tố nghiên cứu độc lập

TL dung môi/dược liệu	Tỷ lệ	4	8	12		
	Hiệu suất (H%)	24,51±0,58	28,20 ± 0,77	36,36 ± 0,98		
Thời gian chiết	Thời gian	60	90	120	150	180
	Hiệu suất (H%)	27,56 ± 0,62	30,52 ± 0,58	30,98 ± 0,9	31,78 ± 0,43	36,36 ± 0,98
Số lần chiết	Số lần	1	2	3	4	5
	Hiệu suất (H%)	36,36 ± 0,98	42,32 ± 0,82	46,22 ± 0,38	47,42 ± 0,73	60,80 ± 0,59

Kết quả cho thấy khi thay đổi tỷ lệ dung môi/dược liệu từ 4 đến 12 (mL/g) giá trị thu được hiệu suất cao (H%) thấp nhất là tỷ lệ 4 (mL/g), cao nhất là tỷ lệ 12 (mL/g). Khi thay đổi thời gian chiết xuất từ 60 phút lên 180 phút, kết quả cho thấy thu được H (%) thấp nhất là thời gian 60 phút và cao nhất ở thời gian 180 phút. Khi thay đổi số lần chiết xuất từ 1 đến 5 lần kết quả cho thấy số lần chiết thu được hiệu suất chiết cao (H%) thấp nhất là 1 lần, cao nhất là 5 lần.

Bảng 2. Giá trị điểm trung tâm đưa vào mô hình tối ưu hóa

Yếu tố khảo sát	Vùng khảo sát	Giá trị trung tâm
Tỷ lệ dung môi/dược liệu	4-12 (mL/g)	8 (mL/g)
Thời gian chiết xuất	120-180 (phút)	150 (phút)
Số lần chiết	1-3 (lần)	2 (lần)

Tỷ lệ dung môi/dược liệu miền khảo sát là 4 – 12 (mL/g) với điểm 8 (mL/g) là điểm trung tâm trong mô hình tối ưu hóa; thời gian chiết xuất miền khảo sát là 120-180 phút, điểm trung tâm là 150 phút; số lần chiết miền khảo sát là 1-3 lần với điểm trung tâm trong mô hình tối ưu hóa là 2 lần.

2. Tối ưu hóa hiệu suất chiết cao đặc Quyên Tý Thang

Bảng 3. Mô hình thí nghiệm theo Box-Behnken và kết quả hiệu suất chiết cao thuốc Quyên Tý Thang

Biến độc lập			Hiệu suất chiết cao (%)
A (TL dung môi/dược liệu)	B (Thời gian chiết)	C (số lần chiết)	
12	150	1	22,59
12	180	2	34,75
8	150	2	33,09
4	150	1	8,7
8	180	1	21,27
8	120	1	12,69
8	180	3	34,24

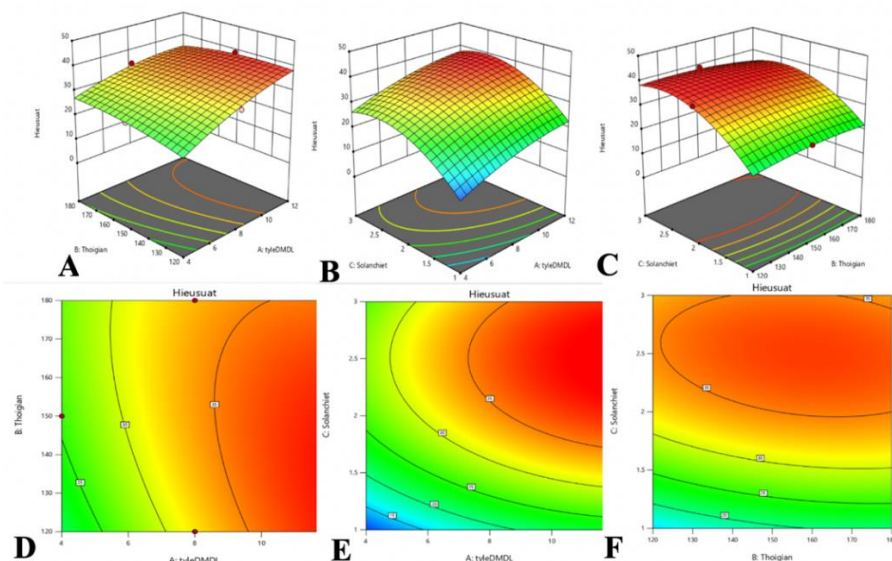
Biến độc lập			Hiệu suất chiết cao (%)
A (TL dung môi/dược liệu)	B (Thời gian chiết)	C (số lần chiết)	
12	150	3	38,87
4	120	2	21,14
8	120	3	30,52
8	150	2	33,67
12	120	2	37,54
4	150	3	25,53
4	180	2	27,08
8	150	2	34,47

Sự tương thích giữa mô hình và thực nghiệm

Bảng 4. Kết quả phân tích ANOVA với hiệu suất chiết cao

Nguồn	Tổng bình phương	Độ bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị p	
Mô hình	1121,06	9	124,56	46,68	0,0003	Tin cậy
A	328,96	1	328,96	123,29	0,0001	
B	29,84	1	29,84	11,18	0,0205	
C	510,56	1	510,56	191,35	<0,0001	
AB	19,05	1	19,05	7,14	0,0442	
AC	0,0756	1	0,0756	0,0283	0,8729	
BC	5,9	1	5,9	2,21	0,1970	
A ²	17,65	1	17,65	6,62	0,0499	
B ²	7,54	1	7,54	2,83	0,1535	
C ²	215,19	1	215,19	80,65	0,0003	
Số dư	13,34	5	2,67			
Không tương thích	12,38	3	4,13	8,6	0,1060	Không tin cậy
Sai số thuần	0,9603	2	0,4801			
R² = 0,9882		R ² hiệu chỉnh = 0,9671		R ² dự đoán = 0,8235		

Hiệu suất chiết cao bài thuốc của mô hình Fisher F-test là 46,68 và giá trị xác suất p = 0,0003. Các giá trị hệ số tương quan R² là 0,9882 và giá trị không tương thích (lack of fit) của mô hình lần lượt là 0,1060 (p>0,05).

Ảnh hưởng của các biến độc lập và tương tác giữa các biến độc lập đến hiệu suất chiết cao

Hình 1. Bề mặt đáp ứng (A – C) và biểu đồ viền (D – F) tương ứng thể hiện ảnh hưởng tương tác giữa các yếu tố đến hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên Tý Thang

Điều kiện chiết tối ưu rút ra từ mô hình thí nghiệm tối ưu hóa

Từ dữ liệu của quá trình tối ưu hóa dựa trên mô hình bề mặt đáp ứng, các điều kiện chiết xuất được tối ưu như sau: Tỷ lệ dung môi/bột thuốc 11,02 mL/g; thời gian chiết xuất 143,79 phút; số lần chiết 2,44 lần cho hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên tý thang tương ứng là 39,32%.

Để phù hợp với điều kiện thiết bị của phòng thí nghiệm, trước khi tiến hành kiểm chứng thực nghiệm, các giá trị khảo sát thực tế được điều chỉnh lại như sau: Tỷ lệ dung môi/bột thuốc 11 mL/g; thời gian chiết xuất 143 phút; số lần chiết 2 lần. Tiến hành chiết xuất bài thuốc Quyên tý thang với điều kiện như trên (thí nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác) thu được kết quả hàm lượng chiết cao bài thuốc Quyên tý thang tương ứng là $38,13 \pm 0,29\%$, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với giá trị dự đoán.

IV. BÀN LUẬN

Thực tế, một bài thuốc cổ truyền khi sử dụng thường được sắc với dung môi nước, thời gian sắc phụ thuộc phương thang là lấy khí hay lấy vị. Sau khi sắc, dịch chiết từ 1-3 lần sẽ được gộp lại

cô đặc để uống [2]. Quyên tý thang là bài thuốc lấy vị nên có thể sắc thời gian dài. Mô phỏng quy trình chiết xuất này để thiết kế nghiên cứu, phương pháp chiết nóng được áp dụng, chỉ khảo sát dung môi là nước.

Phân tích ANOVA của mô hình đáp ứng dạng bậc hai được nghiên cứu cho thấy, thông số đánh giá mô hình thiết kế: Fisher F- test là 46,48 và giá trị xác suất ($p = 0,003$) ($p < 0,05$) đã chứng tỏ được mô hình nghiên cứu có ý nghĩa thống kê. Điều này cho thấy, mô hình này phù hợp và có thể dự đoán chính xác hàm mục tiêu nghiên cứu (hiệu suất chiết cao). Phân tích ANOVA cũng cho thấy mô hình tương quan xây dựng từ thí nghiệm thông số $R^2 = 0,9882 > 0,8$ là hệ số tương quan cao nghĩa là sự biến thiên các kết quả của biến phụ thuộc là do ảnh hưởng của các biến độc lập đang khảo sát. Hệ số này cho biết có 98,82% sự thay đổi của hiệu suất chiết là do tác động của các biến độc lập như tỉ lệ dung môi/dược liệu, thời gian và số lần chiết, trong khi đó 1,18% còn lại là do các nguyên nhân không xác định gây ra. Nguyên nhân gây sai số có thể là do sai số trong thao tác thí nghiệm, sai số dụng cụ hay do chất lượng nguồn nguyên liệu chưa ổn định. Mặt khác,

giá trị R^2 của mô hình cũng cho thấy sự tương thích cao giữa các giá trị thực nghiệm và các giá trị dự đoán. Thêm vào đó, giá trị p của kiểm định “sự không tương thích – Lack of fit” của mô hình là 0,1060 ($p > 0,05$), điều đó chứng tỏ mô hình hoàn toàn tương thích với thực nghiệm.

Hệ số hồi quy trong bảng 4 thể hiện ảnh hưởng các biến độc lập tới hàm mục tiêu được xác định. Kết quả cho thấy hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên Tý Thang bị ảnh hưởng rõ rệt bởi cả ba yếu tố khảo sát ở bậc 1, trong đó cả 3 yếu tố tỷ lệ dung môi/dược liệu (A), thời gian chiết (B) và số lần chiết (C) ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê với p lần lượt 0,0001; 0,0205 và $<0,0001$ ($p < 0,05$). Ngoài ra, hiệu suất chiết còn chịu tác động từ các tương tác 2 yếu tố và tương tác bậc 2 (AB, A^2, C^2) với mức độ tin cậy cao ($p < 0,05$).

Sử dụng đồ thị bề mặt đáp ứng 3D để quan sát sự tương tác giữa các yếu tố đến hiệu suất chiết cao bài thuốc Quyên Tý Thang.

Để phù hợp với điều kiện thiết bị phòng thí nghiệm, trước khi tiến hành kiểm chứng thực nghiệm, các giá trị khảo sát thực tế được điều chỉnh lại gồm tỷ lệ dung môi/dược liệu 11 (mL/g); thời gian chiết xuất 143 phút; số lần chiết 2 lần. Tiến hành chiết xuất bài thuốc Quyên Tý Thang với điều kiện như trên thu được kết quả thực nghiệm cho thấy hàm lượng chiết thu được là $38,13 \pm 0,29$ (%), khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 95 (%) so với giá trị dự đoán.

Kiểm chứng mô hình tại 3 điểm trong vùng tối ưu cho thấy kết quả thu được có độ chính xác cao, chứng minh độ tin cậy của mô hình. Phương pháp này không chỉ rút ngắn thời gian, giảm công sức và chi phí nhờ giảm số lượng thí nghiệm cần thực hiện. Việc xác định vùng tối ưu (hay không gian thiết kế) thay vì chỉ xác định một điều kiện chiết xuất cụ thể tối ưu mang lại tính linh hoạt trong việc cải tiến và nâng cấp quy trình chiết xuất ở các bước nghiên cứu tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng mô hình toán học để mô tả ảnh hưởng của ba yếu tố chiết (tỷ lệ dung

môi/dược liệu, thời gian chiết và số lần chiết) đến hiệu suất chiết cao đặc Quyên Tý Thang. Kết quả xác định điều kiện chiết xuất tối ưu gồm tỷ lệ dung môi/dược liệu 11 (mL/g), thời gian chiết 143 phút và số lần chiết 2 lần, cho hàm lượng chiết cao đạt $38,13 \pm 0,29$ (%), với sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 95% so với giá trị dự đoán. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trong phạm vi thời gian ngắn, số lượng thang thuốc ít và quy mô phòng thí nghiệm, nên còn nhiều hạn chế. Vì vậy, chúng tôi đề xuất cần mở rộng nghiên cứu trên quy mô lớn hơn, kéo dài thời gian, xây dựng mô hình và tiêu chuẩn định lượng bằng HPLC. Thêm vào đó, việc nghiên cứu các bài thuốc khác sẽ giúp nâng cao hiệu quả chiết xuất và mở rộng ứng dụng trên lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Y Tế. Phương tễ học. TP Hồ Chí Minh. Nhà xuất bản Y học; 2021:126.
- [2]. Phạm Xuân Sinh. Phương pháp chế biến thuốc cổ truyền: Nhà xuất bản Y học; 2000:115-120.
- [3]. Hoàng Duy Tân, Hoàng Anh Tuấn. Phương tễ học. Nhà xuất bản Thuận Hóa; 2008:506
- [4]. M. A. Bezerra, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 2008;76(5):965-77. doi: 10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- [5]. G.E.P Box, D.W. Behnken. Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics*. 1960;2(4):455-75. doi: 10.1080/00401706.1960.10489912.
- [6]. 王德华. 蠲痹汤加减治疗神经根型颈椎病风寒痹阻证患者的效果. *中国民康学*. 2021;33(23): 122-124. doi:CNKI:SUN:ZMYX.0.2021-23-042.
- [7]. 王晓, 郭士金. 蠲痹汤治疗膝关节骨性关节炎临床疗效的分析. *中医临床研究*. 2022;14(20): 70-72. doi:CNKI:SUN:ZYLY.0.2022-20-023.
- [8]. 蔡燕, 赵., 宋曼萍等. 肩三针温针灸联合蠲痹汤治疗风寒湿痹型肩周炎临床研究. *湖北中医药大学学报*. 2022.;24(03): 94-96. doi:CNKI:SUN:HZXX.0.2022-03-027.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS FOR HERBAL EXTRACT FROM JUAN BI TANG REMEDY

Background: Juan Bi Tang is one of the traditional herbal remedies widely applied in clinical practice. Investigating standards for herbal extracts of Juan Bi Tang is a necessary issue. **Objective:** To optimize certain conditions affecting the extraction process of Juan Bi Tang. **Materials and methods:** Juan Bi Tang remedy and non-recirculating hot solvent extraction using water as the solvent were employed. The Box-Behnken experimental model designed by Design Expert software 13 was used to optimize the medicinal/solvent ratio, extraction time, and number of extractions. **Results:** The optimal extraction conditions of Juan Bi Tang were as follows: Solvent/medicinal ratio of 11 (mL/g); extraction time of 143 minutes, and two extraction cycles. Under these optimal conditions, the concentration of the Juan Bi Tang herbal extract was 38.13 ± 0.29 (%), with no statistically significant difference at the 95% confidence level compared to the predicted value. **Conclusions:** The study has developed a mathematical model describing the influence of three extraction factors (solvent/medicinal ratio of 11 (mL/g), extraction time of 143 minutes, and two extractions) on the extraction efficiency of the herbal extract Juan Bi Tang.

Keywords: Extraction, optimization, Juan Bi Tang, decoction method.