

用正交设计法研究复方当归口服液的制备工艺

申庆亮¹ 唐启令² 苗元锋² 谢瑞金² 马守栋² 郑凌云³

(¹ 济宁市久益中药研究所 兖州 272100; ² 解放军第 91 医院 兖州 272100;
³ 山东省中医药学校 莱阳 265200)

复方当归口服液是根据经验方“陈氏不孕症方”改革剂型而成,主要由当归、熟地、淫羊藿、白芍、桑寄生、桑椹、女贞子、阳起石、蛇床子等中药组成。具有滋养肝肾,调补冲任,温肾壮阳、补肾填精作用。临床用于治疗肾虚冲任失养所致之性功能低下、不孕症、腰腿疼痛等症。用汤剂加减治疗不孕症 201 例,服药 1~3 个月,怀孕 143 例,其中服药 1 个月怀孕者 41 例;服药 2 个月怀孕者 50 例;服药 3 个月怀孕者 52 例,未孕者 58 例,受孕率 71.7%。汤剂由于煎煮过程中还受到加水量、煎煮时间、火力强弱等因素的影响,以致药效不稳定。为方便病人,有效控制质量,保证临床效果,固定剂型,便于工业化生产及管理,用正交设计法研究其制备工艺。

1 实验材料

1.1 当归、熟地、淫羊藿、桑寄生、白芍、桑椹、女贞子、阳起石、蛇床子等中药均符合中国药典(1995 年版)一部有关规定,购自山东省济宁市药材公司。

1.2 芦丁对照品 中国药品生物制品检定所提供。

1.3 紫外分光光度计,美国 HP8453 型。

2 正交设计

2.1 因素—水平的确定:本口服液原为汤剂,临床使用不便,用量大,质量无法控制,为提高制剂质量,缩小使用体积,便于工业化生产,有利于贮藏、运输,方便病人使用,遵循传统给药习惯,结合各组成药物中的主要化学成分及其性质,确定提取方法为水提醇沉法,提取溶媒为水,沉淀剂为乙醇,重点考察因素

为提取溶媒用量、提取时间、提取次数、除杂质时的含醇浓度等,每个因素选择 3 个水平,列因素—水平表,见表 1。

表 1 复方当归口服液工艺研究因素—水平表

因素	水量(倍)	时间(min)	次数	醇浓度(%)
水平 1	7	30	2	65
水平 2	8	45	3	70
水平 3	9	60	4	75

2.2 正交设计表 根据本研究确定的研究方案为 4 因素,每个因素 3 水平,在本项研究中不考虑各因素间的交互作用,选择 L₉(3⁴)表,见表 2。

表 2 复方当归口服液正交设计实施及计算表

因素	水量 A	时间 B	次数 C	醇浓度 D	总黄酮 (mg/ml)
1	1	1	1	1	2.2633
2	1	2	2	2	0.9930
3	1	3	3	3	2.7127
4	2	1	2	3	1.3854
5	2	2	3	1	2.5303
6	2	3	1	2	2.6785
7	3	1	3	2	2.3500
8	3	2	1	3	1.7059
9	3	3	2	1	2.6585
k ₁	1.9897	1.9996	2.2159	2.4840	
k ₂	2.1981	1.7431	1.6790	2.0072	
k ₃	2.2384	2.6832	2.5310	1.9347	
R	0.2484	0.9401	0.8520	0.5493	

3 实验方法

3.1 样品的制备 取上药 9 味,按 100ml 处方量投料,加正交设计表规定量的水,煎煮规

定的时间和次数,滤过,滤液浓缩至 1:2(约 50ml),加乙醇达规定的含醇浓度,放置 48h,滤过,回收乙醇,加水至 100ml,静置 48h,滤过,加 0.5%活性炭,煮沸 10min,滤过,即得。

3.2 总黄酮的测定 取样品溶液 1ml,置 25ml 量瓶中加水 5ml,加 5%亚硝酸钠溶液 1ml,放置 6min,加 10%硝酸铝溶液 1ml,放置 6min,加氢氧化钠试液 10ml,加水至刻度,摇匀,放置 15min,用水 6ml 同法作空白在 500nm 波长处测定吸收度。结果见表 2。

3.3 样品的稳定性 按照最佳工艺生产 3 批样品,放置 6 个月,结果澄明度好,没有发现沉淀或者絮状物产生。

4 结果分析

4.1 直观分析 从各因素的影响大小看,其大小顺序为 $B > C > D > A$,结合极差 R 分析,即加生药 7 倍量的水,提取 4 次,每次 60min,醇处理时含醇浓度为 65%为宜。

4.2 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均差	F	P
因素 A	$SSa=0.006874$	2	0.003437	0.4645	>0.05
因素 B	$SSb=0.09820$	2	0.04910	6.6223	<0.01
因素 C	$SSc=0.08066$	2	0.04033	5.4506	<0.05
因素 D	$SSd=0.03353$	2	0.01676	2.2651	>0.05
误差	$SSE=0.1331$	18	0.007399		

结果认为:因素 B 即提取时间最为重要的因素($P < 0.01$),应为水平 3,即提取 60min。其次为因素 C($P < 0.05$),即为提取次数,应为水平 3,即提取 4 次,再次为因素 D,即醇沉时的含醇浓度,应选择水平 1,即 65%为好。而因素 A 即提取溶媒用量无影响,理论上应该选择水平 3,即加 9 倍量的

水,从节约能源,降低成本等方面考虑,选择水平 1,即加 7 倍量的水提取。

5 结论

最佳生产工艺为以生药 7 倍量的水,煎煮提取 4 次,每次 60min,滤过,浓缩至约 1:2,加乙醇使含醇量达 65%,静置 48h,滤过,滤液回收乙醇,加水至 1:1,放置 48h,滤过,滤液加 0.5%活性炭,煮沸 10min,滤过,分装,即得。

6 讨论

6.1 本处方中淫羊藿为主要药物,其主要成分为淫羊藿甙,为黄酮类成分,含邻酚二羟基,可以用显色剂显色。因暂时未取得淫羊藿甙标准品,故用芦丁作为对照品进行比色测定。试验结果表明,方法可行,稳定性、重现性、精密度及加样回收试验均比较理想。

6.2 本处方原来在临床上为水煎服,故根据传统给药习惯,保持水煎方法。由于中药中大部分有效成分或有效部位既溶于水,也溶于醇,故用水提醇沉法,即用水提取,而用乙醇除去醇不溶性杂质如:树脂、树胶、鞣质等大分子物质。这样既保留了有效成分,又缩小了体积。故在确定水提醇沉法的基础上,选择了提取次数、提取时间、水用量及含醇量等 4 个因素,每个因素选择 3 个水平,比较全地考察最佳生产条件。

6.3 本处方中熟地、桑椹、女贞子、桑寄生滋补肝肾,益精养血;淫羊藿、阳起石、蛇床子温肾益精;当归、白芍养血柔肝、共奏滋养肝肾,调补冲任之功效。

(收稿:1998-08-21)