

正交试验优选通痹灵片提取工艺

王丽新, 肖力强, 陈纪藩

(广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

摘要: 采用 $L_4(2^3)$ 正交实验, 以对大鼠完全佐剂性关节炎的消炎消肿作用为考查指标, 以是否提取挥发油、是否酒沉处理、是否去掉水牛角为考查因素, 分析各单因素及各种组合的影响。结果表明: 提取过程应加挥发油、作酒沉处理及保留水牛角。经工艺优化后的通痹灵片能提高疗效, 降低服用量。

关键词: 通痹灵片, 工艺学; 关节炎, 佐剂诱发性

中图分类号: R283.6 **文献标识码:** D **文章编号:** 1005-9903(2001)03-0018-02

通痹灵片是本院陈纪藩教授等总结多年来治疗类风湿性关节炎的经验, 研制而成的中成药。该药以经方桂枝芍药知母汤加味而成, 具祛风散寒除湿, 活血通络止痛, 调和营卫等功效。经大量临床使用观察, 取得较好疗效^[1,2]。但原中成药片剂在制法上采用传统的一锅煎煮, 浓缩成稠膏后压片的方法, 存在如下缺点: (1) 某些有效成分丧失(如大量挥发油); (2) 某些有效成分提取不完全(如水牛角); (3) 片子疏松, 易碎; (4) 病人服用量较大(7片/次), 等。笔者拟对其制备工艺进行改革, 设计了 $L_4(2^3)$ 正交实验, 以对大鼠完全佐剂性关节炎的消炎消肿作用进行药效学验证, 分析各单因素及各种组合的影响, 优选出最佳制备工艺, 以期取得更好疗效, 并减低病人服用量。

1 实验材料

1.1 动物 SD 大鼠, 雄性, 体重 150~180g, 购自第一军医大学实验动物场。

1.2 致炎剂 弗氏完全佐剂 adjuvant complete Freund, 美国 Difco 产品。

2 实验方法

2.1 $L_4(2^3)$ 正交实验设计 设计 $L_4(2^3)$ 三因素二水平正交实验(表1)。根据该方中桂枝、麻黄、乳香、没药等均含大量挥发油, 可能为有效成分, 故收集作为一考查因素; 另该方药服用量较大, 片子疏松, 易长霉, 考虑用 50% 乙醇酒沉处理, 以除去一些淀粉、蛋白质等杂质; 水牛角在该方中含量大, 一般煎煮难以提取完全, 故考查去掉水牛角是否对疗效产生影响。

表1 通痹灵工艺优选 $L_4(2^3)$ 正交实验方案

水平	因 素		
	A	B	C
1	挥发油	50% 酒沉	—
2	—	—	水牛角

2.2 药物 I、II、III、IV 四组药按处方及正交设计要求提取制成 100% 药液(处方略)。

2.3 分组及测定 取大鼠 32 只, 随机分为 I、II、III、IV 四组。每只大鼠右后足跖皮内注射 0.1ml 弗氏完全佐剂致炎造成关节炎模型, 第 15d(d_{15}) 测量大鼠右后肢体积 Vd_{15} , 作为肿胀的初始体积指标^[3], 第 16d 开始各组大鼠分别以 1.3ml/100g 体重灌胃给药, 每天 1 次, 连续 15d。并于第 18d、第 22d、第 25d、第 30d(d_{18} 、 d_{22} 、 d_{25} 、 d_{30}) 分别测量各组大鼠右后肢体积, 以肿胀度($Vd_x - Vd_{15}$) 作为治疗效果指标, 分析各因素的影响。

3 结果

实验结果见表 2。应用正交 t 值法统计分析^[4], 表中 M_1 、 M_2 是该列 1、2 水平的药效(肿胀度)之和, M 值越小, 说明消炎消肿效果越好, 即该水平是主要因素; Se 是实际的实验误差, fe 是实验误差的自由度。综合表中各个不同时间肿胀度的测量结果看出, 消炎消肿效果的主要因素为 A_1 、 B_1 、 C_2 , 此组合为最佳组合, 即生产过程应加挥发油、酒沉及保留水牛角。

表2 通痹灵工艺优选 $L_4(2^3)$ 正交实验肿胀度变化($\bar{x} \pm s, \times 10^{-2} \text{ml}$)

组别	因 素			Vd_{18}	Vd_{22}	Vd_{25}	Vd_{30}
	A	B	C				
I	1	1	1	8.3 ± 9.8	3.3 ± 15.0	10.0 ± 18.0	9.2 ± 26.0
II	1	2	2	10.7 ± 12.0	-3.6 ± 33.0	-2.1 ± 18.0	8.3 ± 14.0
III	2	1	2	0.0 ± 19.0	3.3 ± 13.0	-9.2 ± 15.0	-5.0 ± 10.0
IV	2	2	1	19.0 ± 12.0	34.0 ± 21.0	26.0 ± 18.0	13.0 ± 11.0
d_{18}	M_1	19.0	8.3	27.3	$Se = \sqrt{\sum S^2/n} = \sqrt{745.0/8} = 9.6$		
	M_2	19.0	29.7	10.7	组内例数 $n=8$, 组数 $G=4$, $D=M_1-M_2$		
	D	0.0	-21.4	16.6	$t = D /Se, fe = G \times (n-1) = 4 \times (8-1) = 28$		
	t	0.0	2.22*	1.72	$t_{0.05(28)} = 2.05, t_{0.01(28)} = 2.76$		
d_{22}	M_1	-0.3	6.6	37.3	$Se = \sqrt{\sum S^2/n} = \sqrt{1924.0/8} = 15.5$		
	M_2	37.3	30.4	-0.3	组内例数 $n=8$, 组数 $G=4$, $D=M_1-M_2$		
	D	-37.6	-23.8	37.6	$t = D /Se, fe = G \times (n-1) = 4 \times (8-1) = 28$		
	t	2.42*	1.53	2.42*	$t_{0.05(28)} = 2.05, t_{0.01(28)} = 2.76$		
d_{25}	M_1	7.2	0.8	36.0	$Se = \sqrt{\sum S^2/n} = \sqrt{1197.0/8} = 12.2$		
	M_2	16.8	23.9	-11.3	组内例数 $n=8$, 组数 $G=4$, $D=M_1-M_2$		
	D	-9.6	-23.1	47.3	$t = D /Se, fe = G \times (n-1) = 4 \times (8-1) = 28$		
	t	0.79	1.89	3.88**	$t_{0.05(28)} = 2.05, t_{0.01(28)} = 2.76$		
d_{30}	M_1	17.5	4.2	22.2	$Se = \sqrt{\sum S^2/n} = \sqrt{1093.0/8} = 11.7$		
	M_2	8.0	21.3	3.3	组内例数 $n=8$, 组数 $G=4$, $D=M_1-M_2$		
	D	9.5	-17.1	18.9	$t = D /Se, fe = G \times (n-1) = 4 \times (8-1) = 28$		
	t	0.81	1.46	1.61	$t_{0.05(28)} = 2.05, t_{0.01(28)} = 2.76$		

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n=8$

4 讨论

本实验结果与设想较吻合。加提挥发油,可提高疗效。在生产中可用多功能提取罐边煎煮边收集挥发油;通过酒沉处理,既可提高疗效,又可除去多余杂质,降低病人服药量(由原来7片/每次降至4片/每次);水牛角在方中具有清热、解毒、凉血等作用,对治疗类风湿病有较好疗效,不能去除。在生产中可考虑将水牛角先煎煮2h,再加入其余药材一同煎煮,以提高疗效。

下一步,我们拟将经工艺优选制备的通痹灵片,与原通痹灵片及痛痹冲剂等作药效对比实验,验证

工艺合理性。

参考文献:

- [1] 陈纪藩,邱联群.通痹灵治疗类风湿病临床与实验研究[J].中国中西医结合杂志,1994,(增刊):163.
- [2] 陈纪藩,邱联群.通痹灵治疗强直性脊柱炎32例疗效观察[J].新中医,1994,26(7):22.
- [3] 王丽新,陈纪藩,肖力强,等.制作大鼠关节炎模型的比较实验[J].中药新药与临床药理,1996,7(2):33.
- [4] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.52-56.