

正交设计法研究川红明脉口服液生产工艺

申庆亮 (济宁市久益中药研究所 兖州 272000)

王志华 (解放军第 91 医院 兖州 272000)

川红明脉口服液是以葛根、川芎、黄芪、草决明等中药组成,其主药为葛根、川芎,用于治疗高脂血症,预防和治疗动脉粥样硬化症。为了保证制剂质量及临床疗效,特用正交设计法进行了川红明脉口服液生产工艺的研究。

1 实验材料

1.1 葛根、川芎、黄芪、草决明等中药: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;751G 紫外分光光度计,上海分析仪器厂产。所用试剂均为分析纯,购自山东省济宁化学试剂公司。

2 正交设计

2.1 因素-水平的确定 根据组成药物的成分及性质,结合传统中药给药习惯及剂型(口服液)要求,本研究确定用水提醇沉法制备。固定的因素有:溶媒为水,提取液的浓缩程度

为 1:1,用氢氧化钠溶液调 pH 值为 7,成品的最后浓度为 1:1。因此,本项研究中重点考察提取溶媒的用量、提取次数、提取时间,滤液浓缩后加乙醇时的含醇量等 4 个因素,每个因素选择 3 个水平,列因素-水平表,见表 1。

表 1 川红明脉口服液工艺研究因素-水平表

因素	溶媒用量 (倍)	提取次数	提取时间 (min)	含醇量 (%)
水平 1	6	2	30	65
水平 2	8	3	45	70
水平 3	10	4	60	75

2.2 正交表的选择、表头设计及正交试验实施方案的确定 根据 4 因素,3 水平,不考虑交互作用,故选择 $L_9(3^4)$ 正交表,根据正交设计表及因素-水平表,制定研究实施方案,见表 2。

表2 正交设计研究方案及试验结果和统计

因素	溶媒川 提取次 提取时 加醇量				实验结果
	量 A	数 B	间 C	D	
列号	1	2	3	4	总黄酮(mg/ml)
1	1	2	1	1	86.43±2.05
2	1	3	2	2	89.78±1.85
3	1	4	3	3	103.19±2.33
4	2	2	2	3	124.43±1.96
5	2	3	3	1	90.72±1.56
6	2	4	1	2	127.78±1.23
7	3	2	3	2	146.78±3.01
8	3	3	1	3	137.84±2.41
9	3	4	2	1	100.96±2.29
K_{1j}	93.13	119.21	117.36	92.70	
K_{2j}	114.19	106.11	105.06	121.45	
K_{3j}	128.53	110.64	113.56	121.82	$SS_{总}$ 4080.7558
R	35.39	13.10	12.29	29.12	$SS_{内}$ 2423.21

3 实验方法

3.1 样品液的制备 根据正交设计实施方案表,按处方投药,加规定量的水,直火加热,煎煮规定的时间和次数,过滤,滤液浓缩至1:1,加乙醇达规定的含醇量,用氢氧化钠溶液调pH7,充分搅拌均匀,静置48h,过滤,滤液回收乙醇至无醇味,加水至规定量,调pH7,分装,105℃灭菌40min,备用。

3.2 含量测定

3.2.1 对照品溶液的配制 精密称取105℃干燥至恒重的芦丁对照品,加50%乙醇溶解成0.209mg/ml的溶液,备用。

3.2.2 测定波长的确定 取对照品溶液3ml,按标准曲线制备项下方法进行,在400~600nm波长范围内扫描,结果在500nm波长处有最大吸收。

3.2.3 样品测定波长的确定 取样品溶液1ml,置100ml量瓶中加水至6ml,按标准曲线项下的方法进行,在400~600nm波长范围内扫描,结果在500nm波长处有最大吸收。

3.3 标准曲线的制备 精密吸取芦丁对照品溶液1、2、3、4、5、6ml,分别置25ml量瓶中,加水至6ml,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。以浓度对吸收度作回归,得回归方程: $C = 2.207a + 0.027$, $r = 0.9996$ 。

3.4 样品的测定 精密吸取样品液1ml,置100ml量瓶中,按标准曲线项下,自“加10%亚硝酸钠……”起方法测定,结果见表2。

4 结果分析:

4.1 直观分析 从极差值分析,各因素影响大小顺序为A>D>C>B,即溶媒用量(A)为主要影响因素。其次为加醇量(D)和提取时间(C),而提取次数(B)不是重要因素。从K值看,提取溶媒用量(因素A)各水平顺序为 $K_3 > K_2 > K_1$,即用水量越大,总黄酮含量越大,此3水平中,以10倍量水为佳。提取次数(因素B)的各水平间的大小顺序为 $K_1 > K_3 > K_2$,各水平无规律性,以提取2次为好,提取时间(因素C)各水平的大小顺序为 $K_1 > K_3 > K_2$,提示提取时间的延长,总黄酮的量并不增加,故提取时间以30min为优,含醇量(因素D)各水平的大小顺序为 $K_3 > K_2 > K_1$,即含醇浓度增加,总黄酮含量也随之增加,本研究中,以含醇量为75%为理想,但是, K_3 和 K_2 非常接近,为节约乙醇,降低成本,仍选用 D_2 。综上所述,最佳生产工艺为 $A_3B_1C_1D_2$,即用生药10倍量的水,煎煮2次,每次30min,过滤,滤液浓缩至1:1后,加乙醇使含醇量达70%。

4.2 方差分析 查F表得 $F_{0.05(2,27)} = 3.35$, $F_{0.01(2,27)} = 5.49$,结果见表3。从方差分析结果的方差值看,影响提取的主次因素顺序为:A>D>C>B,即提取时溶媒用量为主要因素,其次为醇沉时的含醇量,而提取时间及提取次数影响不大。

表3 方差分析表

方差来源	离平方和	自由度	方差	F	显著性
SS总	4080.7558				
SSa	1252.69	2	626.34	10.20	$P < 0.01$
SSb	171.61	2	85.80	1.39	$P > 0.05$
SSc	151.13	2	75.56	1.23	$P > 0.05$
SSd	847.78	2	423.89	6.90	$P < 0.05$
SSe	1657.5458	27	61.39		

5 结论 综合直观分析及方差分析的结果,初步认为,川红明脉口服液的最佳生产工艺为:按处方投料,用生药10倍量的水,煎煮提取2次,每次30min,过滤,滤液浓缩至1:1后,加乙醇使含醇量达70%,调pH7,静置36h,过滤,回收乙醇至无醇味,加水至1000ml,调pH7,放置48h以上,过滤,分装,即得。

6 讨论

6.1 本新药中主要成分为川芎、草决明、葛根、黄芪等中药,葛根中主要含有黄酮类化合物。川芎中主要含有苯酐衍生物、双苯酐衍生物、生物碱、有机酸及其酯类成分。草决明主要成分为蒽醌类。以上成分均可溶于水及乙醇,故选择水提醇沉。

6.2 本研究过程中对含量测定方法中的重现性、精密度、稳定性、加样回收等方面,均进行了考察,结果认为其方法可行,测试方便,数据可靠。本项目重点考察制备工艺,故对此项内容从略。

6.3 按照最佳工艺生产的川红明脉口服液澄明度较好,总黄酮含量较高,说明本工艺是比较成熟的。

(收稿:1997-12-16)