

• 药剂 •

正交设计优选抗瘤升白片的提取工艺

张志国¹, 欧阳荣¹, 黄晓霞², 杨磊¹

(1 湖南中医学院第一附属医院, 长沙 410007; 2 湖南常德市康复医院, 常德 415000)

摘要: 目的: 正交设计优选抗瘤升白片提取工艺。方法: 采取提取挥发油、浸出物(醇冷浸与水煮提)的定量检测, 及在化疗时其成品升 WBC 作用的药效学实验。结果与结论: A₁ D₁ 提取工艺的浸出物较高, 其成品对升 WBC 的作用较好。

关键词: 抗瘤升白片; 正交设计; 优选提取工艺

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)02-0001-03

Extracting Techniques of Kangliu-shengbai Tablet with Orthogonal Design Method

ZHANG Zhi-guo¹, OUYANG Rong¹, HUANG Xiao-xia², YANG Lei¹

(1. The First Affiliated Hospital, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha, 410007, China;

2. Kangfu Hospital of Changde, Changde 415000, China)

Abstract: Objective: To determine the extracting techniques of Kangliu-shengbai tablet. Methods: Quantitative determination of essential oil, cold-alcohol extract and water decocting extract together with pharmacological tests, raising the white blood cells(WBC) in the mice during chemotherapy, optimized by orthogonal design. Results and Conclusion: A₁ and D₁ extracting conditions had a good extracting yield and higher raising WBC effects.

Key words: Kangliu-shengbai tablet; Orthogonal design; Optimized extraction techniques

化疗、放疗与手术是临床治疗恶性肿瘤的重要方法。但前二者的毒性大^[1], 尤其对造血系统的毒性更为突出, 患者耐受不了, 因而往往不能完成化疗、放疗的全疗程, 这也是导致恶性肿瘤病人原病灶复发、转移和死亡的重要原因。“长期的化疗即使能使部分病人得到缓解, 但并不一定延长生存期”^[2]。因此, 寻找既具有抗癌作用、副作用小、又具有提高人体免疫机能的复方中药制剂作为化疗、放疗的辅助治疗是药学工作者及其临床医生的当务之急。笔者现将我院生产的“抗瘤升白片”提取工艺的研究情况报告如下:

1 组方、材料与设备

1.1 处方 本方由西洋参、穿山甲、阿胶、红花、土鳖虫、鳖甲、当归、白术、菟丝子、黄芪、补骨脂、女贞子、仙茅、天冬、石见穿、鸡血藤组成。

1.2 药材及炮制 从本市麓山药材公司购进, 并经长沙市药检所鉴定, 均为《药典》^[3]、《中药大辞典》^[4] 收录的品种。各药均依法炮制(即净制、切制、炮炙)。经前两种操作的成品称“生饮片”, “生饮片”经后法操作的成品称“炮炙品”; “生饮片”、“炮炙品”统称

“炮制品”。下同)。

1.3 环磷酰胺(CTX) 批号 01012318, 江苏恒瑞医药股份有限公司。

1.4 设备 回流提取器; 括板式薄膜浓缩器; 17m² 管式真空干燥器; 19 冲旋转式压片机, 等。

2 实验方法、结果

2.1 正交设计的药物分组 据中药成分及制剂的需要, 处方中有粉碎与单独煮提部分是固定了的因素, 这些均不列入正交表中, 将处方中剩余的药物进行如下正交^[4]设计。见表 1

表 1 提取工艺水平及因素的正交设计

水	因 素		
平	挥发油(A)	炮制品(B)	提取溶剂(D)
1	提取	炮炙品	饮片
2	不提取	生饮片	粗颗粒

注: A 为当归、白术; D 为黄芪、女贞子、天冬、菟丝子、仙茅、补骨脂、鸡血藤、石见穿; B 见 1.2; C 为炮制品及炮制品的粗颗粒(过一号筛)。

2.2 浸出物 照《药典》^[3] 附录 XA(冷浸法醇提, 热浸法水煮提)方法提取, 实验结果见表 2。

表 2 浸出物实验结果

列号	1	2	3	4	5	6	7	浸出物 平均值 % (g/g), Y
药物与交互作用	A	B	A×B	C	空白	空白	D	
因素	1	1	1	1	1	1	1	26.61
水平	2	1	1	1	2	2	2	24.97
搭配	3	1	2	2	1	1	2	24.77
分组	4	1	2	2	2	2	1	26.66
	5	2	1	2	1	2	1	18.42
	6	2	1	2	2	1	2	22.18
	7	2	2	1	1	2	1	22.29
	8	2	2	1	2	1	2	19.21
1 水平之和 ΣI	103.01	92.18	93.08	92.09	92.77	90.90	97.74	
2 水平之和 ΣII	82.10	92.93	92.03	93.02	92.34	94.21	87.37	
极差 R= ΣII- ΣI	- 20.91	0.75	- 1.05	0.93	- 0.43	3.31	- 10.37	
F 值*	78.5	0.1	0.2	0.2			19.3	
P	< 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05			< 0.05	

n= 3, Y 为三次平均值。* 为正交设计的方差分析, 查 F 值表, $F_{0.05}(1, 2) = 18.5$, $F_{0.01}(1, 2) = 98.5$ 。

2.3 挥发油 照《药典》^[3]附录 XD 甲法提取。挥发

表 3 正交设计中分组对每周化疗前 WBC 计数 ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$; $\bar{x} \pm s$) 的实验结果 (n= 6)

分 组	1 周		2 周		3 周		4 周		5 周		6 周		7 周	
	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%
1	10.87 ± 2.12	100	10.75 ± 2.75	98.90	9.64 ± 2.16	88.68	9.05 ± 1.99	83.26	8.65 ± 2.66	79.58	7.24 ± 2.43	66.61	6.61 ± 2.07	56.67
2	10.35 ± 2.34	100	10.41 ± 2.33	100.58	9.34 ± 2.12	90.24	8.98 ± 2.35	86.76	8.40 ± 2.17	81.16	7.25 ± 2.18	70.05	6.08 ± 2.10	58.74
3	10.60 ± 2.07	100	10.50 ± 2.85	99.06	9.32 ± 2.07	87.92	9.01 ± 2.16	85.00	8.35 ± 2.43	78.77	7.19 ± 2.34	67.83	6.01 ± 2.32	56.70
4	10.12 ± 2.21	100	10.15 ± 2.34	100.30	9.29 ± 2.19	91.80	8.88 ± 2.01	87.75	8.21 ± 2.11	81.13	7.08 ± 2.33	69.96	6.13 ± 2.00	60.57
5	10.09 ± 2.95	100	10.11 ± 2.10	100.20	9.05 ± 2.07	89.69	7.99 ± 2.52	79.19	7.05 ± 2.19	69.87	6.06 ± 1.98	60.10	5.09 ± 1.76	50.45
6	11.01 ± 1.99	100	10.65 ± 2.19	96.73	8.98 ± 2.53	81.56	7.87 ± 2.65	71.48	6.88 ± 2.07	62.49	6.16 ± 1.87	55.95	5.07 ± 1.64	46.05
7	10.34 ± 2.15	100	10.17 ± 2.17	98.36	8.78 ± 2.65	84.91	7.67 ± 2.39	74.18	6.90 ± 2.13	66.73	6.09 ± 1.79	58.90	5.11 ± 1.89	49.12
8	10.39 ± 2.12	100	10.16 ± 2.05	97.79	8.88 ± 2.28	85.47	7.74 ± 2.55	74.49	7.03 ± 2.35	67.66	5.99 ± 1.89	57.65	5.00 ± 1.78	48.12
F 值*	1.43		2.17		3.95		5.25		6.34		6.76		8.27	
P	> 0.05		< 0.05		< 0.01		< 0.01		< 0.01		< 0.01		< 0.01	

* 为随机区组各组个数相等的 WBC 方差分析, $F_{0.05}(7, 72) = 2.01$, $F_{0.01}(7, 72) = 2.64$ 。1 周为化疗前的 WBC 计数。原%: 为该周 WBC 与 1 周 WBC 计数的百分比。下同。

表 4 阴性对照组 WBC 计数 ($\times 10^9/L$; $\bar{x} \pm s$) 的实验结果 (n= 6)

1 周		2 周		3 周		4 周		5 周		P
WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	WBC	原%	
10.32 ± 2.12	100	8.87 ± 2.10	85.95	6.73 ± 2.21	65.21	4.23 ± 1.96 [▲]	40.99	△	0	< 0.01

注: ▲ n= 3, 死亡 3 只; △ n= 0, 全部死亡。

3 讨论

3.1 组方与升 WBC 的关系 从表 3、4 可以看出, 实验组与阴性对照组有显著差异, 说明实验组(即组方)有一定的升 WBC 的作用(因为西洋参、黄芪、当

油的平均含量为 $1.80 \pm 0.2\%$ ($ml \cdot g^{-1}$, $n = 3 \times 4$)。

从表 2 可知: A、D 二者极差的绝对值大(均 $P < 0.05$), 说明二因素水平改变显著地影响实验结果, 意味二因子重要; B、C 的二个水平无明显差别。故本试验 A、D 应选 1 水平, B 和 C 选 1、2 水平均可。

3 正交设计中各组的药效实验

3.1 化疗与实验药物的剂量换算 化疗药物选用 CTX, 按成人“大剂量冲击疗法为 $10mg \sim 20mg \cdot kg^{-1}$, 每周一次, 8g 为一疗程^[5]”计算, 取中间剂量 $15mg \cdot kg^{-1}$, 换算成小鼠等效剂量^[6]为 $2.73mg \cdot 20g^{-1}$, 每周一次, 7 周为一疗程; 实验药物按成人一日 24 片计算, 换算成小鼠等效剂量为 $31.20mg \cdot 20g^{-1}$ 。

3.2 动物及分组 取健康 BAC/C 小鼠 54 只(18g~20g), 随机分为 9 组, 每组 6 只, 雌雄各半。其中 8 组为实验组, 1 组为阴性对照组。在每周(共 7 周)分别进行腹腔注射 CTX 前进行小鼠剪尾取血及 WBC 计数。实验组取实验药物粉成细粉, 拌入食物中, 每天分 2 次喂食; 阴性对照组不拌入实验药物, 余同实验组。实验结果见表 3、表 4。

归等均能增强人体免疫机能, 天冬、石见穿等均具有明显的抗癌作用^[7])。

3.2 不同提取工艺的成品与升 WBC 的关系 表 3 显示, 1 周(即开始化疗前)的 $P > 0.05$, 说明随机分

组的差异不大;2周(1次化疗后的 $P < 0.05$)对WBC的影响不是很大。原%从第3周开始,随着化疗次数的增加,各组WBC计数递减的趋势明显,但前4组明显高于后4组,这可能与挥发油有关;第2、3组比较,前者每周高于后者(因两组的A、D水平相同),可能与B₁、C₂有关(但第4组的第3、4、7周高于第2组,可能随机分组存在较小的差异);第1组每周均低于第4组,可能为选择了C₁的原因。

4 结论

4.2 因素与水平的选择 表2-3结果显示,提取工艺选择A₁、D₁较好,B_{2:1}、C_{2:1}均可。提取工艺按A₁、B₁、C₂、D₁制定。

4.3 制法 处方中16味,取西洋参、阿胶、土鳖虫、穿山甲、红花粉碎成细粉,过五号筛,混匀;取鳖甲,单独煎煮三次,每次3h,滤过;取当归、白术,提取挥发油,备用,母液滤过;余药粗颗粒醇浸冷提,滤过,滤液回收乙醇,药渣煎煮二次,每次2h,滤过;合并醇、水提取液及挥发油的母液,浓缩成清膏(相对密

度1.28~1.30),加入上述药粉,制粒,干燥,喷入挥发油,密闭,压片,包糖衣,即得。

参考文献:

- [1] 陈友芝,何晓波. 化疗药物常见毒副作用的辨证施治[J]. 中国药业,1999,8(10):2
- [2] 中国抗癌协会. 新编常见恶性肿瘤诊治规范. 原发性肝癌分册[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1999:59.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2000. 附录:63,64.
- [4] 湖南中医学院. 中医科研设计与统计方法[M]. 1988. 220~230.
- [5] 江明性. 药理学[M]. 第三版. 北京:人民卫生出版社,1992:402.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:1103,119.
- [7] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:160,163,164,167.