

正交设计法研究颅痛灵口服液制备工艺

赵淑红¹, 李德华¹, 李全力¹, 申庆亮²

(1 解放军第 139 医院, 德州 253000; 2 解放军第 91 医院, 兖州 272000)

中图分类号: R283.6 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)02-0007-03

颅痛灵口服液由川芎、白芍、萆薢及甘草等中药组成。具有活血通络, 解痉镇痛作用。用于治疗偏头痛, 三叉神经痛及其他各种原因引起的疼痛。为了保证疗效及制剂质量, 用正交设计法研究其制备工艺。

1 实验材料

1.1 川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 300g, 白芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 300g, 萆薢 *Piper longum* L. 200g, 甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 200g。中药均购自山东省德州市药材公司。经德州市药检所鉴定符合中国药典(1995年版一部)有关规定。

1.2 小白鼠, 昆明种, 山东省医科大学器械

设备处实验动物中心提供, 动物合格证编号: 鲁动质字 960102 号。

2 正交设计

2.1 因素—水平的选择 中药口服液是基于合剂的制备工艺, 结合传统的汤剂给药习惯, 首先确定基本制法为水提醇沉法, 考虑川芎、萆薢含有挥发油, 挥发油往往又具有较强的生理活性, 必须考虑收集挥发油。本研究中重点考察溶媒用量, 提取次数, 提取时间, 浓缩程度, 含醇量, 提取溶媒的 pH 值等共 6 个因素, 每个因素选择 3 个水平, 列因素—水平表, 见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因 素					
	溶媒用量	提取次数	提取时间	浓缩程度	醇沉浓度	pH 值
1	5	1	0.5	1: 1	60%	5
2	7.5	2	1.0	1: 1.5	70%	7
3	10	3	1.5	1: 2	80%	9

2.2 正交表的选择 根据因素一水平表, 不考虑各因素间的交互作用, 故选择 $L_{18}(3^7)$ 。

2.3 正交设计方案 根据因素一水平表及正交表, 列表头及实施方案见表 2。

表 2 实施方案及计算表

实验次数	溶媒用量 (倍)		提取次数 (h)	提取时间 (h)	浓缩程度 (1: X)	含醇量 (%)	pH 值		观察指标 扭体抑制率 (%)
	A	B					F	G	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	49.36
2	1	2	2	2	2	2	2	2	52.54
3	1	3	3	3	3	3	3	3	21.01
4	2	1	1	2	2	3	3	3	40.76
5	2	2	2	3	3	1	1	1	23.88
6	2	3	3	1	1	2	2	2	68.79
7	3	1	2	1	3	2	3	3	45.86
8	3	2	3	2	1	3	1	1	63.69
9	3	3	1	3	2	1	2	2	28.06
10	1	1	3	3	2	2	1	1	26.74
11	1	2	1	1	3	3	2	2	36.94
12	1	3	2	2	1	1	3	3	74.20
13	2	1	2	3	1	3	2	2	42.36
14	2	2	3	1	2	1	3	3	39.81
15	2	3	1	2	3	2	1	1	50.01
16	3	1	3	2	3	1	2	2	63.69
17	3	2	1	3	1	2	3	3	30.27
18	3	3	2	1	2	3	1	1	55.75
K_1	260.79	268.77	235.40	296.51	328.67	279.00	269.43		
K_2	265.61	247.13	294.59	344.89	243.66	274.21	292.38		
K_3	287.30	297.82	283.73	172.32	214.39	260.51	251.91		
R	26.51	76.57	59.19	172.57	84.28	18.49	13.49		

3 方法

3.1 样品液的制备 取川芎、茛菪, 加生药 5 倍量的水, 用水蒸汽馏法收集挥发油液 1000ml, 挥发油液再蒸馏收集 150ml 重蒸馏液, 备用。药渣与白芍、甘草合并。再按表中规定量的水, 规定的时间和煎煮次数, 合并提取液, 浓缩至规定的倍数, 加乙醇至规定的含醇量, 静置 48h 以上, 滤过, 滤液回收乙醇, 浓缩至无醇味, 加入附加剂、挥发油液, 加水至 1000ml, 调规定 pH, 静置 48h 以上, 过滤, 分装。

3.2 评价指标的测定 本新药主要用于镇痛, 故用扭体实验法^[1], 以扭体抑制率为指标。取昆明种小白鼠 171 只, 分为 19 组, 每组 9 只, 雌雄均有, 体重 18~ 22g, 空白组给生理盐水, 其余各组分别给药, 剂量均为 0.1ml/20g。灌胃给药, 连续 3d。第 3 天给药后 30min, 腹腔注射 0.5% 醋酸 0.2ml/ 只, 观察 30min 内扭体数。扭体抑制率(%) = (空白组扭体数 - 实验组扭体数) / 空白组扭体数 × 100%。结果见表 3。

4 结果分析

4.1 直观分析 影响因素的大小顺序为: D > E > B > C > A > F。提示, 浓缩程度是影响生产工艺的最重要的因素, 浓缩程度过低, 不仅用醇量增大造成生产成本的增加, 同时, 镇痛作用降低; 但浓缩程度过高, 虽然用醇量降低, 但有效成分在沉淀物中损失, 造成镇痛效果降低。其次为醇沉时的含醇量, 含醇量增加, 其镇痛作用减少。再其依次为: 提取次数、提取时间、溶媒的用量及提取时溶媒的 pH 值。结合 K 值, 最佳生产工艺为: 按处方投料, 第一次加生药 5 倍量的 pH5 的水, 用水蒸汽蒸馏法收集挥发油液 1000ml, 挥发油液再重蒸馏收集 150ml 重蒸馏液, 备用。滤液过滤, 再加 10 倍 pH5 的水, 煎煮 3 次, 每次 1 h, 合并水提取液, 浓缩至 1: 1.5, 加乙醇至含醇量达 60%, 静置 48 h 以上, 过滤, 滤液回收乙醇, 浓缩至无醇味, 加挥发油及其他附加剂, 加水至 1000ml, 调 pH7, 静置 48 h 以上, 过滤, 分装。

表3 不同工艺对小白鼠由醋酸所致扭体反应的影响

组别	扭体数	扭体抑制率(%)
空白组	34.89±10.52	
1组	17.67±8.08	49.36
2组	16.56±10.13	52.54
3组	27.56±4.19	21.01
4组	20.67±8.9	40.76
5组	26.56±8.06	23.88
6组	10.89±5.09	68.79
7组	18.89±10.58	45.86
8组	12.67±6.50	63.69
9组	25.10±10.62	28.06
10组	25.56±22.23	26.74
11组	22.00±11.29	36.94
12组	9.00±5.36	74.20
13组	20.11±9.97	42.36
14组	21.00±17.30	39.81
15组	17.44±12.05	50.01
16组	12.67±9.07	63.69
17组	24.33±13.21	30.27
18组	15.44±4.22	55.75

n=9

4.2 方差分析 结果见表4。影响因素的大小顺序为: D> E> B> C> A> G, 与直观分析一致。最佳工艺为 A₃B₃C₂D₂E₁F₁。

表4 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F	P
SSA	39.04	2	19.52	0.4758	
SSB	325.72	2	162.86	3.9697	< 0.05
SSC	194.64	2	97.32	2.3722	
SSD	1654.47	2	827.23	20.1639	< 0.01
SSE	394.62	2	197.31	4.8095	< 0.05
SSF	18.99	2	9.497	0.2315	
SSe	1082.0364	41	41.0253		

$$F_{(2,17)0.05} = 3.55, F_{(2,17)0.01} = 6.01$$

5 结论

5.1 处方中, 川芎、萆薢等中药中含有挥发油, 为有效镇痛成分, 提取过程中先用蒸馏法收集挥发油。在水提醇沉制备完成后加入, 以保证在生产过程中少损失。

5.2 实验结果表明, 本研究中最重要影响因素为提取液的浓缩程度, 浓缩过高时, 可能在加醇时产生的沉淀过快, 其有效成分损失较大, 影响疗效。其次为沉淀时的含醇量及提取次数, 加醇时含量过高, 则有效成分损失较大。而水的用量、pH 值及提取时间影响不大。

参考文献:

- [1] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 506, 513, 524

(收稿日期: 1999-08-17)