



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102961595 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 16

(21) 申请号 201210501363. 4

(22) 申请日 2012. 11. 30

(73) 专利权人 山东阿如拉药物研究开发有限公司

地址 250101 山东省济南市高新区舜风路
322 号 501-506 室

(72) 发明人 刘玉芹 李怀平 李丽 马宏伟
魏永义

(74) 专利代理机构 济南圣达知识产权代理有限公司 37221

代理人 邓建国

(51) Int. Cl.

A61K 36/8969 (2006. 01)

A61P 1/14 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1840088 A, 2006. 10. 04,

CN 1840089 A, 2006. 10. 04,

CN 102872334 A, 2013. 01. 16,

审查员 李风云

权利要求书2页 说明书11页

(54) 发明名称

一种温肾助阳的药物组合物及其制备方法和制剂

(57) 摘要

本发明提供一种温肾助阳的药物组合物及其制备方法和制剂, 组合物重量份组成为: 总黄酮提取物 10-20 份, 总多糖提取物 5-15 份, 冬虫夏草 30-40 份。本发明还包括一种温肾助阳的药物组合物微丸。本发明以植化成分为物质基础, 根据药物有效成分的性质, 分别采用不同的提取纯化方法制备而成, 与传统方法制备的制剂相比, 本发明的方法制备的药物组合物去除了无效杂质, 在保证疗效的前提下, 减少了患者服药量, 且纯化后的药材有效组分可用于多种剂型的制备, 如片剂、胶囊、口服液、滴丸、颗粒剂、浓缩丸、微丸等多种剂型。将其研制成微丸, 还可根据临床需要, 进一步开发成胶囊剂, 片剂等剂型。

1. 一种温肾助阳的药物组合物的制备方法,其特征在于,所述药物组合物中含有以下重量份的组分:总黄酮提取物 10-20 份,总多糖提取物 5-15 份,冬虫夏草 30-40 份;

制备方法为:

(1) 取西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子共 5 味药材,按重量比 9.80:9.80:3.27:1.36:16.33 混合,加体积分数 40-80% 的乙醇提取 1-3 次,每次加乙醇的量为指本步骤 5 味药材的总重量的 4-10 倍,每次提取 1-3 小时,滤过,合并乙醇提取液,得乙醇提取液 A;

(2) 取手参、黄精、天冬、锁阳共 4 味药材,按重量比 19.73:13.33:13.33:9.80 混合,加体积分数 40-80% 的乙醇提取 1-3 次,每次加乙醇的量为本步骤 4 味药材的总重量的 4-10 倍,每次提取 1-3 小时,滤过,得药渣 B', 合并乙醇提取液,得乙醇提取液 B,与乙醇提取液 A 合并,减压回收乙醇,浓缩至 25℃ 条件下相对密度 1.05-1.15 的药液 C;

(3) 取步骤(2)的药液 C,用药液重量 1-3 倍的大孔树脂吸附 2-24 小时,然后用大孔树脂体积 2-10 倍量的水洗脱,再依次用大孔树脂体积 2-10 倍量的不同浓度的乙醇洗脱,洗脱用乙醇的体积浓度依次分别为 20%、40%、60%、80%、95%,分别收集洗脱液,合并备用,合并后的洗脱液减压回收乙醇,浓缩,得总黄酮提取物 D;

(4) 取药渣 B', 加水提取 1-3 次,每次加水的量为步骤(2)中 4 味药材的总重量的 3-10 倍,每次提取 1-3 小时,滤过,滤液减压浓缩至 50℃ 下相对密度 1.05-1.20 的浓缩液,加入乙醇使含醇量为 50-80%,密封,静置 12-48 小时,倾去上清液,沉淀抽滤,弃去滤液,滤渣减压干燥,得总多糖提取物 E;

(5) 取冬虫夏草,粉碎成 1-200 μm,得药材细粉 F;

(6) 将上述步骤(3)制得的总黄酮提取物 D、步骤(4)制得的总多糖提取物 E、步骤(5)制得的药材细粉 F,混匀,得药物组合物。

2. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于,所述制备方法步骤如下:

(1) 取西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子共 5 味药材,按重量比 9.80:9.80:3.27:1.36:16.33 混合,加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次,第一次加乙醇的量为原药材总重量的 7 倍,第二次加乙醇的量为原药材总重量的 5 倍,每次提取 2 小时,滤过,合并乙醇提取液,得乙醇提取液 A;

(2) 取手参、黄精、天冬、锁阳共 4 味药材,按重量比 19.73:13.33:13.33:9.80 混合,加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次,每次加乙醇的量为药材总重量的 7 倍,每次提取 2 小时,滤过,得药渣 B', 合并乙醇提取液,得乙醇提取液 B,与乙醇提取液 A 合并,减压回收乙醇,浓缩至 25℃ 条件下相对密度 1.15 的药液 C;

(3) 取步骤(2)的药液 C,用药液重量 2 倍的 D101 型大孔树脂吸附 8 小时,然后用 D101 型大孔树脂体积 6 倍量的水洗脱,再依次用 D101 型大孔树脂体积 6 倍量的不同浓度的乙醇洗脱,洗脱用乙醇的体积浓度分别为 20%、40%、60%、80%、95%,分别收集洗脱液,合并备用,合并后的洗脱液减压回收乙醇,浓缩,得总黄酮提取物 D;

(4) 取药渣 B', 加水提取 2 次,每次加水的量为药材总重量的 6 倍,每次提取 2 小时,滤过,滤液减压浓缩至 50℃ 下相对密度 1.10 的浓缩液,加入乙醇使含醇量为 60%,密封,静置 24 小时,倾去上清液,沉淀抽滤,弃去滤液,滤渣减压干燥,得总多糖提取物 E;(5) 取冬虫夏草,粉碎成 50 μm,得药材细粉 F;

(6)将上述步骤(3)制得的大孔树脂纯化提取物D、步骤(4)制得的多糖提取物E、步骤(5)制得的药材细粉F,混匀,得用于温肾助阳的药物组合物。

3. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,所述药物组合物中含有以下重量份的组分:总黄酮提取物15份,总多糖提取物10份,冬虫夏草32份。

4. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,所述药物组合物中含有以下重量份的组分:总黄酮提取物14份,总多糖提取物9份,冬虫夏草32.7份。

5. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,所述药物组合物中含有以下重量份的组分:总黄酮提取物12.6份,总多糖提取物10.3份,冬虫夏草32.7份。

6. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,所述药物组合物中含有以下重量份的组分:总黄酮提取物18份,总多糖提取物8.5份,冬虫夏草32.7份。

7. 根据权利要求1或2所述的制备方法,其特征在于,步骤(3)中所有大孔树脂型号选自D101型,HPD-100型,HPD-600型或DM130型。

8. 权利要求1-7任一项所述的制备方法所制备的药物组合物。

9. 一种药物制剂,其特征在于,权利要求8所述的药物组合物加入常规辅料,按照常规工艺制成片剂、胶囊、口服液、滴丸、颗粒剂或微丸。

一种温肾助阳的药物组合物及其制备方法和制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种药物组合物的制备方法,特别涉及一种温肾助阳的药物组合物的制备方法。

背景技术

[0002] 肾阳不足,中医又称肾火弱,表现为腿脚寒凉难受。肾阳不足对人体脏器影响很大,会出现小腹寒凉,子宫胞冷,阴囊潮湿等现象,同时也会影响骨质,肌肉功能。肾阳不足的人冬天会感到四肢寒凉,腿脚尤甚,可见神疲乏力,畏寒怕冷,腰膝酸软,性功能减退,失眠健忘等症状。治则当以温肾助阳为主。

[0003] 复方手参丸为青海金诃藏药药业股份有限公司独家产品,原标准收载于《国家中成药标准汇编·内科肾系分册》,2012年该标准转正,标准号是:WS-11040(ZD-1040)-2002-2011Z,配方是:手参 197.3g,西藏棱子芹 98.0g,黄精 133.3g,喜马拉雅紫茉莉 98.0g,天冬 133.3g,冬虫夏草 32.7g,锁阳 98.0g,蒺藜 32.7g,马尿泡 13.6g,诃子 163.3g。制法为:上述十味药材,粉碎成细粉,过筛,混匀,用水泛丸,制成 1000g,干燥,即得。标准记载复方手参丸功能主治:温肾助阳。复方手参丸用于肾阳不足,阴精亏虚,阳痿遗精,或有失眠健忘。复方手参丸可见于历代各著名藏医药学家的方剂选集,后转录于当代藏医药大师丹增顿珠所著《藏医常用验方荟萃》,是历代藏医用于治疗阳痿、早泄、遗精的代表方剂之一。复方手参丸最早源于藏医药创始人宇妥·元丹贡布编撰的《四部医典》,以藏药“五根药”西藏棱子芹、黄精、喜马拉雅紫茉莉、天冬、蒺藜为基础,根据藏医药性、味、功效配伍理论,合理配以其他药物而成。

[0004] 复方手参丸应用历史悠久,配方合理,疗效确切,为治疗肾阳虚证的代表方剂之一。但现有技术关于复方手参丸药物的制备方法均采用原料药材粉碎、混合的简单物理处理,不便于制剂形式的多样化,原料药的有效成分释放缓慢,制成制剂后服药量大,影响了该制剂的临床应用与推广,因此提供一种成分明确,组方精炼的复方手参药物组合物,具有重要的意义。

发明内容

[0005] 本发明针对现有技术的不足,提供一种温肾助阳的药物组合物,并提供这种药物组合物的制备方法。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 一种温肾助阳的药物组合物的制备方法,所述药物组合物的重量份组成为:总黄酮提取物 10-20 份,总多糖提取物 5-15 份,冬虫夏草 30-40 份;

[0008] 所述药物组合物的重量份组成优选为:总黄酮提取物 15 份,总多糖提取物 10 份,冬虫夏草 32 份;

[0009] 所述药物组合物的重量份组成还可以优选为:总黄酮提取物 14 份,总多糖提取物 9 份,冬虫夏草 32.7 份;

[0010] 所述药物组合物的重量份组成还可以优选为：总黄酮提取物 12.6 份，总多糖提取物 10.3 份，冬虫夏草 32.7 份；

[0011] 所述药物组合物的重量份组成还可以优选为：总黄酮提取物 18 份，总多糖提取物 8.5 份，冬虫夏草 32.7 份；

[0012] 制备方法为：

[0013] (1) 取西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子共 5 味药材，按重量比 9.80:9.80:3.27:1.36:16.33 混合，加体积分数 40-80% 的乙醇提取 1-3 次，每次加乙醇的量为原药材总重量(指本步骤 5 味药材的总重量)的 4-10 倍，每次提取 1-3 小时，滤过，合并乙醇提取液，得乙醇提取液 A；

[0014] (2) 取手参、黄精、天冬、锁阳共 4 味药材，按重量比 19.73:13.33:13.33:9.80 混合，加体积分数 40-80% 的乙醇提取 1-3 次，每次加乙醇的量为药材总重量(指本步骤 4 味药材的总重量)的 4-10 倍，每次提取 1-3 小时，滤过，得药渣 B'，合并乙醇提取液，得乙醇提取液 B，与乙醇提取液 A 合并，减压回收乙醇，浓缩至 25℃ 条件下相对密度 1.05-1.15 的药液 C；

[0015] (3) 取步骤(2)的药液 C，用药液重量 1-3 倍的大孔树脂吸附 2-24 小时，然后用大孔树脂体积 2-10 倍量的水洗脱，再依次用大孔树脂体积 2-10 倍量的不同浓度的乙醇洗脱，洗脱用乙醇的体积浓度依次分别为 20%、40%、60%、80%、95%，分别收集洗脱液，合并备用，合并后的洗脱液减压回收乙醇，浓缩，得总黄酮提取物 D；

[0016] (4) 取药渣 B'，加水提取 1-3 次，每次加水的量为药材总重量(指步骤(2)中 4 味药材的总重量)的 3-10 倍，每次提取 1-3 小时，滤过，滤液减压浓缩至 50℃ 下相对密度 1.05-1.20 的浓缩液，加入乙醇使含醇量为 50-80%，密封，静置 12-48 小时，倾去上清液，沉淀抽滤，弃去滤液，滤渣减压干燥，得总多糖提取物 E；

[0017] (5) 取冬虫夏草，粉碎成 1-200 μm，得药材细粉 F；

[0018] (6) 将上述步骤(3)制得的总黄酮提取物 D、步骤(4)制得的总多糖提取物 E、步骤(5)制得的药材细粉 F，混匀，得药物组合物。

[0019] 优选的，所述制备方法步骤如下：

[0020] (1) 取西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子共 5 味药材，按重量比 9.80:9.80:3.27:1.36:16.33 混合，加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次，第一次加乙醇的量为原药材总重量的 7 倍，第二次加乙醇的量为原药材总重量的 5 倍，每次提取 2 小时，滤过，合并乙醇提取液，得乙醇提取液 A；

[0021] (2) 取手参、黄精、天冬、锁阳共 4 味药材，按重量比 19.73:13.33:13.33:9.80 混合，加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次，每次加乙醇的量为药材总重量的 7 倍，每次提取 2 小时，滤过，得药渣 B'，合并乙醇提取液，得乙醇提取液 B，与乙醇提取液 A 合并，减压回收乙醇，浓缩至 25℃ 条件下相对密度 1.15 的药液 C；

[0022] (3) 取步骤(2)的药液 C，用药液重量 2 倍的 D101 型大孔树脂吸附 8 小时，然后用 D101 型大孔树脂体积 6 倍量的水洗脱，再依次用 D101 型大孔树脂体积 6 倍量的不同浓度的乙醇洗脱，洗脱用乙醇的体积浓度分别为 20%、40%、60%、80%、95%，分别收集洗脱液，合并备用，合并后的洗脱液减压回收乙醇，浓缩，得总黄酮提取物 D；

[0023] (4) 取药渣 B'，加水提取 2 次，每次加水的量为药材总重量的 6 倍，每次提取 2 小

时,滤过,滤液减压浓缩至 50℃下相对密度 1.10 的浓缩液,加入乙醇使含醇量为 60%,密封,静置 24 小时,倾去上清液,沉淀抽滤,弃去滤液,滤渣减压干燥,得总多糖提取物 E;

[0024] (5) 取冬虫夏草,粉碎成 50 μm,得药材细粉 F;

[0025] (6) 将上述步骤(3)制得的大孔树脂纯化提取物 D、步骤(4)制得的多糖提取物 E、步骤(5)制得的药材细粉 F,混匀,得用于温肾助阳的药物组合物。

[0026] 步骤(3)中所有大孔树脂型号优选 D101 型,HPD-100 型,HPD-600 型,DM130 型。

[0027] 本发明还包括由上述的制备方法所制备的药物组合物。

[0028] 本发明还提供一种药物制剂,该制剂由上述药物组合物加入常规辅料,按照常规工艺制成片剂、胶囊、口服液、滴丸、颗粒剂、浓缩丸或微丸。

[0029] 所述辅料包括溶剂、稀释剂、崩解剂、矫味剂、防腐剂、着色剂、粘合剂、润滑剂、基质中的一种或几种的组合。

[0030] 本发明优选的温肾助阳的药物组合物主要包括总黄酮提取物,总多糖提取物和冬虫夏草细粉三种成分,取总黄酮提取物,采用“亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法”测定总黄酮含量,总黄酮含量在总黄酮提取物中的质量比不得少于 50%;取总多糖提取物,采用“硫酸-苯酚法”测定多糖含量,多糖含量在总多糖提取物中的质量比不得少于 50%;取冬虫夏草细粉,按中国药典 2010 年版一部 106 页冬虫夏草项下的含量测定方法检验,含腺苷($C_{10}H_{13}N_5O_4$)不得少于 0.010%。

[0031] 本发明重量份和体积份的关系为 g/ml 或 kg/L。

[0032] 本发明的有益效果如下:

[0033] 本发明以植化成分为物质基础,根据药物有效成分的性质,分别采用不同的提取纯化方法制备而成,与传统方法制备的制剂相比,本发明的方法制备的药物组合物去除了无效杂质,在保证疗效的前提下,减少了患者服药量,且纯化后的药材有效组分可用于多种剂型的制备,如片剂、胶囊、口服液、滴丸、颗粒剂、浓缩丸、微丸等多种剂型。将其研制成微丸,还可根据临床需要,进一步开发成胶囊剂,片剂等剂型。

具体实施方式

[0034] 下述实施例和实验例用于进一步说明但不限于本发明。

[0035] 实施例 1、一种温肾助阳的药物组合物微丸的制备

[0036] (1) 取西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子共 5 味药材,按重量比 98.0g : 98.0g : 32.7g : 13.6g : 163.3g 混合,加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次,第一次加乙醇的量为原药材总重量(指本步骤 5 味药材的总重量)的 7 倍,第二次加乙醇的量为原药材总重量的 5 倍,每次提取 2 小时,滤过,合并乙醇提取液,得乙醇提取液 A;

[0037] (2) 取手参、黄精、天冬、锁阳共 4 味药材,按重量比 197.3g : 133.3g : 133.3g : 98.0g 混合,加体积分数 60% 的乙醇提取 2 次,每次提取 2 小时,每次加乙醇的量为药材总重量(指本步骤 4 味药材的总重量)的 7 倍,滤过,得药渣 B', 合并乙醇提取液,得乙醇提取液 B,与乙醇提取液 A 合并,减压回收乙醇,浓缩至 25℃条件下相对密度 1.15 的药液 C;

[0038] (3) 取步骤(2)的药液 C,用药液重量 2 倍的大孔树脂吸附 8 小时,然后用 D101 型大孔树脂体积 6 倍量的水洗脱,再依次用大孔树脂体积 6 倍量的不同浓度的乙醇洗脱,洗脱用乙醇的体积浓度依次分别为 20%、40%、60%、80%、95%,分别收集洗脱液,合并备用,合并后的

洗脱液减压回收乙醇,浓缩,得大孔树脂纯化提取物 D 12.6g;采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法检测,大孔树脂纯化提取物 D 中总黄酮的含量为每 g 含总黄酮不低于 0.5g;

[0039] (4)取药渣 B',加水提取 2 次,每次加水的量为药材总重量的 6 倍,每次提取 2 小时,滤过,滤液减压浓缩至 50℃下相对密度 1.10 的浓缩液,加入乙醇使含醇量为 60%,密封,静置 24 小时,倾去上清液,沉淀抽滤,弃去滤液,滤渣减压干燥,得粗多糖提取物 E 10.3g;采用硫酸-苯酚法测定,粗多糖提取物 E 中多糖的含量为每 g 含多糖不低于 0.5g;

[0040] (5)按原料药组成配比取冬虫夏草 32.7g,粉碎成 48 μm,得药材细粉 F;

[0041] (6)将上述步骤(3)制得的大孔树脂纯化提取物 D、步骤(4)制得的粗多糖提取物 E、步骤(5)制得的药材细粉 F,混匀,得温肾助阳的药物组合物,共计 55.6g,加入微晶纤维素 77.8g,加体积分数 60%的乙醇 35ml 制软材,选择孔径 1.0mm 的筛板,挤出速度为 35 转/分钟,滚圆速度 50 赫兹,滚圆时间 5 分钟,制备成微丸,每次服用 0.2g。

[0042] 实验例 1、西藏棱子芹、喜马拉雅紫茉莉、蒺藜、马尿泡、诃子提取工艺考察。

[0043] 1) 乙醇浓度的选择

[0044] 按原料药配比取西藏棱子芹 9.8g,喜马拉雅紫茉莉 9.8g,蒺藜 3.27g,马尿泡 1.36g,诃子 16.33g,共 5 味总计 40.56g,取 3 份,分别加 40%、60%、80% 的乙醇提取 2 次,每次加 7 重量倍乙醇,提取 2 小时,以提取液中总黄酮含量为指标,考察乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。结果见表 1。

[0045] 表 1 乙醇浓度选择试验

	乙醇浓度	总黄酮总量	提取率 (%)
[0046]	40%	1595.9mg	2.64
	60%	1070.0mg	3.93
	80%	744.0mg	1.83

[0047] 结论:用 60% 的乙醇提取上述药材,总黄酮提取率明显高于 40% 和 80% 的乙醇提取,因此,选择乙醇浓度为 60%。

[0048] 总黄酮提取率 = (总黄酮总量 ÷ 原料药总量) × 100%

[0049] 2) 正交试验

[0050] 按原料药配比取西藏棱子芹 9.8g,喜马拉雅紫茉莉 9.8g,蒺藜 3.27g,马尿泡 1.36g,诃子 16.33g,共 5 味总计 40.56g,加 60% 的乙醇提取。以提取液中总黄酮提取率为指标,采用正交试验法,对提取时间,提取次数,加醇量三个因素进行考察,各取三个水平,因素水平表见表 2。正交设计及结果见表 3。方差分析表见表 4

[0051] 表 2 因素水平表

水平	因素水平		
	提取时间 (A)	提取次数(B)	加液量 (C)
[0052]	1h	1 次	5 倍
	2h	2 次	7 倍
	3h	3 次	9 倍

[0053] 表 3 正交试验设计表及结果

[0054]

水平	因素				总黄酮提取率 (%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1.67
2	1	2	2	2	1.96
3	1	3	3	3	2.17
4	2	1	2	3	2.73
5	2	2	3	1	3.59
6	2	3	1	2	3.74
7	3	1	3	2	2.76
8	3	2	1	3	3.87
9	3	3	2	1	3.88
K ₁	1.933	2.387	3.093	3.047	
K ₂	3.353	3.140	2.857	2.820	
K ₃	3.503	3.263	2.840	2.923	
R	1.570	0.876	0.253	0.227	

[0055] 表 4 正交试验方差分析表

[0056]

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
提取时间	4.504	2	58.494	19.000	*
提取次数	1.351	2	17.545	19.000	
加液量	0.120	2	1.558	19.000	
空白(误差)	0.08	2		19.000	

[0057] 以总黄酮的提取率进行评价分析,由表 3 的极差 R 值大小显示,各因素的作用主次为:A > B > C,以 A₃B₃C₁ 为佳;方差分析结果表明,提取时间具有显著性差异,而提取时间和加醇量对总黄酮提取率没有显著影响,直观分析最佳工艺为提取 3 次,每次加 7 倍量 60% 的乙醇,每次提取 3 小时。由表 3 可知,提取 2 小时为提取 3 小时提取率的 95.72%,提取 2 次为提取 3 次提取率的 96.23%,从经济角度考虑,选择提取 2 次,每次 2 小时,同时考虑第一次提取时药材吸液量较大,将第一次加液量增加到 7 倍,即将工艺优选为用 60% 的乙醇提取 2 次,第一次加 7 倍量,提取 2 小时,第二次加 5 倍量,提取 2 小时。

[0058] 3) 正交验证试验

[0059] 以上述直观分析最佳工艺 A₃B₃C₁ 和优选工艺分别进行三份验证试验,测定总黄酮提取率,结果见表 5。

[0060] 表 5 正交试验验证结果

	工艺	总黄酮总量 (mg)	总黄酮提取率 (%)
[0061]	最佳工艺	1560.33	3.85
		1567.07	3.86
		1565.81	3.86
	优选工艺	1555.30	3.83
		1560.49	3.85
		1557.94	3.84

[0062] 由验证试验结果可知,优选工艺和最佳工艺的总黄酮提取差别不大,因此确定提取工艺为加 60% 乙醇提取二次,第一次加 7 倍量提取 2 小时,第二次加 5 倍量提取 2 小时。

[0063] 实验例 2、手参、黄精、天冬、锁阳提取工艺考察。

[0064] 1) 乙醇浓度的选择

[0065] 按原料药配比取手参 9.865g,黄精 6.665g,天冬 6.665g,锁阳 4.90g,共 4 味总计 28.095g,取 3 份,分别加 40%、60%、80% 的乙醇提取 2 次,每次加 7 重量倍乙醇,提取 2 小时,以提取液中总黄酮含量为指标,考察乙醇浓度对总黄酮提取率的影响。结果见表 6。

[0066] 表 6 乙醇浓度选择试验

	乙醇浓度	总黄酮总量	提取率 (%)
[0067]	40%	782.35mg	1.93
	60%	541.07mg	2.78
	80%	289.11mg	1.03

[0068] 结论:用 60% 的乙醇提取上述药材,总黄酮转移率明显高于 40% 和 80% 的乙醇提取,因此,选择乙醇浓度为 60%。

[0069] 2) 正交试验

[0070] 按原料药配比取手参 9.865g,黄精 6.665g,天冬 6.665g,锁阳 4.90g,共 4 味总计 28.095g,加 60% 的乙醇提取。以提取液中总黄酮提取率为指标,采用正交试验法,对提取时间,提取次数,加醇量三个因素进行考察,各取三个水平,因素水平表见表 7。正交设计及结果见表 8。方差分析表见表 9

[0071] 表 7 因素水平表

	水平	因素水平		
		提取时间 (A)	提取次数(B)	加液量 (C)
[0072]	1	1h	1 次	5 倍
	2	2h	2 次	7 倍
	3	3h	3 次	9 倍

[0073] 表 8 正交试验设计表及结果

[0074]

水平	因素				总黄酮提取率 (%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1.76
2	1	2	2	2	2.05
3	1	3	3	3	2.35
4	2	1	2	3	2.88
5	2	2	3	1	2.77
6	2	3	1	2	2.06
7	3	1	3	2	2.90
8	3	2	1	3	2.20
9	3	3	2	1	2.71
K ₁	2.053	2.513	2.007	2.413	
K ₂	2.570	2.340	2.547	2.337	
K ₃	2.603	2.373	2.673	2.477	
R	0.550	0.173	0.666	0.140	

[0075] 表 9 正交试验方差分析表

[0076]

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
提取时间	0.571	2	19.690	19.000	*
提取次数	0.051	2	1.759	19.000	
加液量	0.752	2	25.931	19.000	*
空白(误差)	0.03	2		19.000	

[0077] 以总黄酮的提取率进行评价分析,由表 8 的极差 R 值大小显示,各因素的作用主次为 :C > A > B,以 A₃B₃C₃ 为佳;方差分析结果表明,提取时间和加液量具有显著性差异,而加醇量对总黄酮提取率没有显著影响,直观分析最佳工艺为提取 3 次,每次加 9 倍量 60% 的乙醇,每次提取 3 小时。由表 8 可知,提取 2 小时为提取 3 小时提取率的 98.73%,提取 2 次为提取 3 次提取率的 98.61%,加液量为 7 倍时,为加液量 9 倍时提取率的 95.29%,从经济角度考虑,选择提取 2 次,每次 2 小时,每次加 7 倍量 60% 乙醇。

[0078] 3) 正交验证试验

[0079] 以上述直观分析最佳工艺 A₃B₃C₃ 和优选工艺分别进行三份验证试验,测定总黄酮提取率,结果见表 10。

[0080] 表 10 正交试验验证结果

	工艺	总黄酮总量 (mg)	总黄酮提取率 (%)
[0081]		810.29	2.88
	最佳工艺	817.21	2.91
		813.06	2.89
		812.58	2.89
	优选工艺	809.77	2.88
		813.64	2.90

[0082] 由验证试验结果可知,优选工艺和最佳工艺的总黄酮提取差别不大,因此确定提取工艺为加 60% 乙醇提取 2 次,每次加 7 倍量提取 2 小时。

[0083] 4) 水提正交试验

[0084] 按原料药配比取手参 9.865g,黄精 6.665g,天冬 6.665g,锁阳 4.90g,共 4 味总计 28.095g,加 60% 的乙醇提取二次,每次加 7 倍量提取 2 小时,药渣按表 12 进行提取。以提取液中总多糖转移率为指标,采用正交试验法,对提取时间,提取次数,加液量三个因素进行考察,各取三个水平,因素水平表见表 11. 正交设计及结果见表 12. 方差分析表见表 13.

[0085] 表 11 因素水平表

水平	因素		
	提取时间 (A)	提取次数(B)	加液量 (C)
[0086] 1	1h	1 次	4 倍
2	2h	2 次	6 倍
3	3h	3 次	8 倍

[0087] 表 12 正交试验设计表及结果

[0088]

水平	因素				多糖转移率 (%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	41.03
2	1	2	2	2	82.17
3	1	3	3	3	88.26
4	2	1	2	3	50.02
5	2	2	3	1	84.70
6	2	3	1	2	86.28
7	3	1	3	2	59.53
8	3	2	1	3	73.60
9	3	3	2	1	87.20

[0089]

K ₁	70.487	50.193	66.970	70.977
K ₂	73.667	80.157	73.130	75.993
K ₃	73.443	87.247	77.497	70.627
R	3.180	37.054	10.527	5.366

[0090] 多糖转移率 = (提取物中多糖含量 ÷ 原料药中多糖含量) × 100%

[0091] 表 13 正交试验方差分析表

[0092]

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
提取时间	18.904	2	0.349	19.000	
提取次数	2321.019	2	42.910	19.000	*
加液量	167.824	2	3.103	19.000	
空白(误差)	654.09	2		19.000	

[0093] 以总黄酮的提取率进行评价分析,由表 12 的极差 R 值大小显示,各因素的作用主次为 :B > C > A,以 A₂B₃C₃ 为佳 ;方差分析结果表明,提取次数具有显著性差异,而提取时间和加液量对多糖转移率没有显著影响,直观分析最佳工艺为提取 3 次,每次加 8 倍量的水,每次提取 2 小时。由表 12 可知,提取 2 次为提取 3 次转移率的 91.87%,加 6 倍量水为加 8 倍量水转移率的 94.36%,从经济角度考虑,选择提取 2 次,每次加 6 倍量水提取 2 小时。

[0094] 3) 正交验证试验

[0095] 以上述直观分析最佳工艺 A₂B₃C₃ 和优选工艺分别进行三份验证试验,测定多糖转移率,结果见表 14。

[0096] 表 14 正交试验验证结果

工艺	多糖转移率 (%)
	88.34
最佳工艺	87.29
	88.75
	88.67
优选工艺	87.55
	87.90

[0098] 由验证试验结果可知,优选工艺和最佳工艺的多糖转移率差别不大,因此确定提取工艺为加水提取 2 次,每次加 6 倍量提取 2 小时。

[0099] 为了验证上述藏药组合物用于制备治疗肾阳虚证时具有明显的治疗效果,本发明对上述药物的临床使用记录进行了记录 :

[0100] 实验例 3 肾阳虚证临床观察

[0101] 1、临床资料

[0102] 1.1 纳入标准①符合中医肾阳虚证诊断标准。② 2 周内未服用同类药物。③患者同意,并签署同意书,年龄 18 ~ 65 岁。

[0103] 1.2 排除标准①不属于药物作用范围内病例。②有明显兼夹证或合并证者。③哺乳、妊娠或正准备妊娠的妇女。④过敏体质或对多种药物过敏者。⑤合并心脑血管、肝、肾、造血系统等严重原发性疾病及精神病患者。⑥病情危重,难以对新药的有效性和安全性做出确切评价者。

[0104] 1.3 一般资料观察病例 87 例,采用计算机随机排列表按就诊顺序随机分为两组,进行平行对照研究。治疗组 43 例,男 24 例,女 19 例;年龄(47.0±9.85)岁。对照组 44 例,男 23 例,女 21 例;年龄(50.2±8.72)岁。两组在人口学特征、生命体征、病情及其严重程度、既往史、过敏史、实验室检查等方面均无统计学差异,具有可比性。

[0105] 1.4 中医证候评分标准主症包括腰膝酸软、性欲减退、畏寒肢冷、精神萎靡。各项评分标准:无,0分;轻度,2分;中度,4分,重度,6分。次症包括头晕耳鸣、夜尿频多、下肢浮肿、动则气促、健忘。各项评分标准:无,0分;轻度,1分;中度,2分;重度,3分。

[0106] 2 治疗方法

[0107] 治疗组受试者口服复方手参微丸(实施例 1 制备,口服,一日 2 次,每次用量 0.2g,用牛奶或温开水送服),一疗程 30 天。对照组服用复方手参丸(青海金诃藏药药业股份有限公司生产,批号:20110316,口服,一次 1.5g,一日 2 次;用牛奶或温开水送服)。试验期间禁止加用与试验药物作用相近的中西药品,如有与疾病有关的合并症,均可对症处理,但要注意试验组与对照组在合并用药种类与剂量方面的均衡性。

[0108] 观察指标:观察治疗前后腰膝酸软、性欲减退、畏寒肢冷、精神萎靡、头昏耳鸣、夜尿频多、下肢浮肿、动则气促、健忘等症状及舌苔、脉象的变化,比较两组治疗肾阳虚证的疗效;并通过治疗前后受试者体温、呼吸、心率、血压,血、尿、大便常规,肝肾功能及心电图的检查对治疗药物的安全性进行评价。

[0109] 统计学处理:采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,所有计数资料采用 χ^2 检验,两组间构成比较用 t 检验,两组均数比较用 t 检验,两组间疗效用 Ridit 值比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

[0110] 3 疗效评定标准与结果

[0111] 3.1 疗效评价标准临床痊愈:治疗后肾阳虚临床症状、体征消失或基本消失,证候积分减少 $\geq 95\%$;显效:肾阳虚临床症状、体征明显改善,证候积分减少 $\geq 70\%$;有效:肾阳虚临床症状、体征均有好转,证候积分减少 $\geq 30\%$;无效:肾阳虚临床症状、体征无明显改善,甚或加重,证候积分减少 $< 30\%$ 。

[0112] 计算公式:治疗指数=(治疗前证候积分-治疗后证候积分)/治疗前证候积分 $\times 100\%$ 。

[0113] 3.2 结果两组临床疗效比较:治疗组总有效率 93.0%,对照组总有效率 86.4%;治疗组痊愈率 14.0%,对照组愈显率 9.3%,治疗组愈显率 67.4%,对照组愈显率 52.3%,治疗组疗效高于对照组。结果见表 15。

[0114] 表 15 两组临床疗效比较

[0115]

组别	疗效判断 (例)					痊愈率 (%)	愈显率 (%)	总有效率 (%)
	痊愈	显效	有效	无效	合计			
治疗组	6	23	11	3	43	14.0	67.4	93.0
对照组	4	19	15	6	44	9.3	52.3	86.4

[0116] 愈显率 = 痊愈 + 显效。总有效 = 痊愈 + 显效 + 有效。

[0117] 安全性观察结果:全部观察对象都没有发现明显不良反应。两组用药前后血、尿、大便常规,肝、肾功能及心电图均无异常变化。

[0118] 本发明是在原复方手参丸的基础上经改进研制的新的组合物,在保持原有剂型药物疗效的基础上,保留了藏药的特色,通过以上对本发明中的藏药组合物对肾阳虚证治疗的临床研究结果表明,所述藏药组合物治疗组总有效率 93.0%,对照组总有效率 86.4%;治疗组痊愈率 14.0%,对照组愈显率 9.3%,治疗组愈显率 67.4%,对照组愈显率 52.3%,经 Ridit 检验, $P < 0.05$,两组间比较有显著差异,治疗组疗效高于对照组。因此,本发明中的藏药组合物对肾阳虚证具有显著的治疗效果。