

注射用活血通络制剂的冷冻干燥工艺优选

徐桂红^{1,2}, 林夏^{2,3}, 曹苗苗^{2,3}, 黄道省^{2,3}, 王正宽^{2,3}, 吴建雄^{1,2,3}, 萧伟^{2,3*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001;
3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

[摘要] **目的:** 优化注射用活血通络冷冻干燥制剂的成型工艺条件, 并考察其稳定性。 **方法:** 以冻干成型效果、复溶性、澄明度、芍药苷及阿魏酸含量的综合评分为指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察甘露醇的用量、药液质量浓度、预冻速率对冻干工艺的影响, 采用 HPLC 测定阿魏酸、芍药苷含量。 **结果:** 优选的成型工艺为以 5% 甘露醇为填充剂, 药液中有有效成分质量浓度 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 预冻速率 $30 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{h}^{-1}$, 制成的冻干粉针剂质量稳定。 **结论:** 优选的处方和冻干工艺稳定可行, 可推广于大生产应用。

[关键词] 注射用活血通络; 冷冻干燥; 共晶点温度; 冻干曲线

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0025-04

[doi] 10.11653/syjf2013130025

Optimization of Freeze Drying Technology for Huoxue Tongluo Preparation for Injection

XU Gui-hong^{1,2}, LIN Xia^{2,3}, CAO Miao-miao^{2,3}, HUANG Dao-sheng^{2,3},
WANG Zheng-kuan^{2,3}, WU Jian-xiong^{1,2,3}, XIAO Wei^{2,3*}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;
2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd, Lianyungang 222001, China;
3. State Key Laboratory for Chinese Pharmaceutical Manufacturing Process
Technology, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize molding technology with vacuum freeze drying of Huoxue Tongluo powder for injection, and investigate its stability. **Method:** With composite score of freeze-dried molding effect, solubility, clarity, the content of ferulic acid and paeoniflorin as index, based on single factor test, effect of dosage of mannitol, liquid concentration, pre-freezing rate on freeze drying technology was investigated by orthogonal design, the content of ferulic acid and paeoniflorin was determined by HPLC. **Result:** Optimized molding technology was as following: with 5% mannitol as filler, liquid concentration $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, prefreezing rate $30 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{h}^{-1}$, these prepared freeze-dried powder injection had stable quality. **Conclusion:** Optimized prescription and freeze-drying process was reliable and feasible, it could be used in large-scale production.

[Key words] Huoxue Tongluo powder injection; freeze drying; eutectic point temperature; freeze drying curve

注射用活血通络是在“桃红四物汤”基础上, 根据临床经验精简而成, 由赤芍、川芎、桃仁等药味组

[收稿日期] 20121221(010)

[基金项目] 国家科技部重大新药创制项目(2009ZX09313-032)

[第一作者] 徐桂红, 本科, 工程师, 从事中药新药开发研究, Tel:0518-85521936, E-mail: xgh...007@163.com

[通讯作者] * 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药制剂和创新中药的开发与研究, Tel:0518-85521933, E-mail: wzzh-nj@tom.com

成,具有活血化瘀、行气通络之功效,临床用于治疗中风中经络(脑血栓形成)之急性期证属痰瘀阻络者。该制剂含有芍药苷、阿魏酸等热不稳定成分,因此存在稳定性差等问题^[1-5]。为保证药物的疗效、安全性及质量稳定性,拟将其制成冻干粉针剂。冷冻干燥是将需要干燥的药物溶液预先冻结成固体,然后在低温条件下从冻结状态不经液态而直接升华除去水分的一种干燥方法。影响冻干成品质量的因素很多,包括冻干前药液处理、充填剂种类、充填剂用量等^[6-9]。本实验在单因素试验基础上,采用正交试验优选该冻干粉针剂的冻干工艺参数,并考察其稳定性。

1 材料

Lyo-0.2 型真空冷冻干燥机(上海东富龙科技有限公司), Waters 2695-2487 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。赤芍、川芎、桃仁均购自安徽亳州药材市场,经连云港市药品检验所王统康主任药师鉴定分别为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch. 的干燥成熟种子。甘露醇(广西南宁化学制药有限责任公司),芍药苷、阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110736-200933, 110773-200611),乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 冻干用药液的制备 按处方称取药材,进行提取、浓缩、醇沉后制备得中间体,配液,冷藏,离心,过滤,活性炭吸附,超滤,0.45, 0.22 μm 微孔滤膜滤过,加水稀释至所需浓度,即得。

2.2 共晶点温度的测定 共晶点温度是指物料中水分全部冻结时温度。物料必须在共晶点温度以下才能升华,若物料中有部分液体存在,在真空状态下不仅会被迅速蒸发,使冻干产品的体积缩小,而且溶解在溶液中的气体会在真空条件下迅速冒出,使冻干产品鼓泡。利用电阻法测得活血通络的共晶点温度 -12 ~ -15 °C,将注射用活血通络的预冻温度设定 -20 °C。

2.3 充填剂种类的选择 除少数药物含有较多成分可直接冻干外,大多数药物都需添加合适的充填剂。常用的冻干充填剂包括甘露醇、葡萄糖、乳糖、氯化钠、甘氨酸等^[10]。量取上述活血通络药液适量,分别加入不同充填剂进行冻干,观察并评价成品性状。结果显示,甘露醇的共熔点高,水溶性好,有

利于本品冻干和成型;而其他充填剂均不适合本品。

2.4 冻干成型工艺优选 由于冻干粉针剂常用灌装规格 2 mL,故确定本品灌装规格为 2 mL。在上述试验基础上,采用正交试验法考察甘露醇用量、药液有效成分质量浓度、预冻速率等因素对冻干成型的影响,每个因素选 3 个水平,因素水平见表 1。以冻干成型效果、制品复溶性、澄明度、芍药苷及阿魏酸含量的综合评分为指标(冻干成型效果:以疏松块状,饱满无萎缩计 5 分,以缺陷程度不同分别计 1 ~ 4 分;制品复溶性:30 s 内完全溶解计 5 分,每延长 30 s 少计 1 分;芍药苷和阿魏酸转移率:≥99% 计 5 分,每下降 1% 少计 1 分;澄明度:无任何可见异物计 5 分,以可见异物多少不同分别计 1 ~ 4 分),试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 注射用活血通络制剂的冻干成型工艺正交试验因素水平

水平	A	B	C
	甘露醇用量 /%	药液质量浓度 /g·L ⁻¹	预冻速率 /°C·h ⁻¹
1	3	20	45
2	5	30	30
3	7	60	15

表 2 注射用活血通络制剂的冻干成型工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	综合评分
1	1	1	1	1	15
2	1	2	2	2	20
3	1	3	3	3	6
4	2	1	2	3	17
5	2	2	3	1	15
6	2	3	1	2	10
7	3	1	3	2	12
8	3	2	1	3	16
9	3	3	2	1	8
K ₁	41	44	41	38	
K ₂	42	51	45	42	
K ₃	36	24	33	39	
R	6.89	130.89	24.89	2.89	

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	6.89	2	2.38	>0.05
B	130.89	2	45.31	<0.05
C	24.89	2	8.62	>0.05
D(误差)	2.89	2		

注: F_{0.05}(2, 2) = 19。

方差分析表明,因素 B 对冻干成型工艺的影响具有显著性,因素 C, A 则影响不显著。由极差分析可知,各因素对于冻干成型工艺的影响顺序为 B > C > A。确定注射用活血通络最佳冻干工艺为

$A_2B_2C_2$,即甘露醇用量5%,药液有效成分质量浓度 $40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,预冻速率 $30\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2.5 验证试验 按优选的工艺制备3批注射用活血通络制剂,绘制冻干曲线(图1)。预冻温度 $<-40\text{ }^\circ\text{C}$,预冻时间4 h。第1次升华温度 $-20\text{ }^\circ\text{C}$,真空度 $5\sim 10\text{ Pa}$,升华时间12 h;第2次升华温度 $0\text{ }^\circ\text{C}$,真空度 $10\sim 20\text{ Pa}$,升华时间3 h;第3次升华温度 $25\text{ }^\circ\text{C}$,真空度 $10\sim 20\text{ Pa}$,升华时间3 h。结果显示,3批样品冻干成型效果非常好,呈疏松块状,饱满无萎缩;经检测,样品复溶性好,澄明度符合注射剂的规定,芍药苷和阿魏酸转移率均 $>98\%$ 。

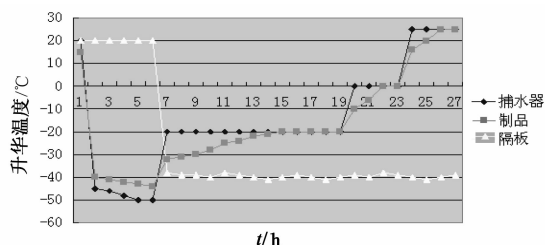


图1 注射用活血通络冻干曲线

2.6 成品的含量测定及稳定性研究

2.6.1 芍药苷含量测定^[11]

2.6.1.1 色谱条件 Waters反相 $\mu\text{Bondapak C}_{18}$ 色谱柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$),流动相甲醇-水($27:73$),检测波长 218 nm 。

2.6.1.2 供试品溶液的制备 取本品5瓶,分别加流动相适量使溶解,并转移至 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.6.2 阿魏酸含量测定^[12]

2.6.2.1 色谱条件 Waters反相 $\mu\text{Bondapak C}_{18}$ 色谱柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$),流动相甲醇- 0.1% 三氟乙酸水溶液($35:65$),检测波长 313 nm 。

2.6.2.2 标准曲线的绘制 精密称取于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥至恒重的阿魏酸对照品 2.82 mg ,置于 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,制成阿魏酸对照品贮备液。精密吸取贮备液,分别配成质量浓度为 $0.0208, 0.0104, 0.052, 0.026\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液,进样测定,进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$,以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得回归方程为 $Y = 1.516 \times 10^7 X - 2477.307$ ($R^2 = 1.0000$),表明阿魏酸在 $0.0026\sim 0.0416\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.6.2.3 供试品溶液的制备 取本品5瓶,分别加流动相适量使溶解,并转移至 100 mL 量瓶中,加流

动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL 置 25 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。

2.6.2.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,于同1 d内隔2 h测1次,共7次,结果阿魏酸峰面积的RSD 2.65% ,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.6.2.5 精密度试验 取同一供试液,依法测定,连续进样7次,测得阿魏酸峰面积RSD 0.73% ,表明仪器精密度良好。

2.6.2.6 重复性试验 取同一样品,按2.6.2.3项下方法制备供试品溶液6份,依法测定,结果阿魏酸峰面积的RSD 0.50% ,表明该方法重复性良好。

2.6.3 稳定性考察 将注射用活血通络置于室温和加速条件($40\text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 75%)下,放置3个月,每个月抽样检查1次,观察性状、复溶性、澄明度、芍药苷及阿魏酸含量,结果表明制备的注射用活血通络稳定性较好。

3 讨论

注射用活血通络目前质量标准研究已达SFDA2007年10月颁布的《中药、天然药物注射剂基本技术要求》,其中结构明确成分占总固含物 65% ,主要为芍药苷、阿魏酸、果糖、葡萄糖等;可测成分占总固含物 $>80\%$,主要为总苷类、总酸类、总糖类、无机离子等成分;结构明确的成分已有 90% 在指纹图谱中体现,包括2张HPLC,1张是总苷、总酸类,1张是总糖类。本实验采用正交试验对影响冻干成型的因素进行研究,该法较单因素试验更能消除各因素的影响,同时解决了单因素试验过程中操作繁杂、水平可能选择不当等缺点。

[参考文献]

- [1] 解江纯,刘志东,田慧,等.芍药苷稳定性研究[J].天津中医药,2010,27(4):344.
- [2] 罗娟,呼延玲,刘晓玲.溶液pH对芍药苷稳定性的影响[J].中国药业,2011,20(2):26.
- [3] 徐自升,蔡宝昌,张弦.中药川芎中阿魏酸稳定性的研究[J].现代中药研究与实践,2004,18(2):25.
- [4] 宋浩亮,罗华菲,官洪义.阿魏酸及其制剂的稳定性研究[J].安徽医药,2003,7(4):252.
- [5] 吕海涛,王艳丽,王英芹.当归提取液中阿魏酸稳定性研究[J].中成药,2008,30(10):1555.
- [6] 程淑云,李永吉,陈英.浅谈中药冻干粉成型的影响因素[J].时珍国医国药,2007,18(8):1801.
- [7] 闫家福,仝燕,王锦玉,等.冷冻干燥技术及其在中药研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(12):65.

正交试验法优选熄风通脑胶囊提取工艺

曾聪彦*, 梅全喜, 钟希文, 彭伟文

(广州中医药大学附属中山医院, 广东 中山 528400)

[摘要] **目的:** 优选熄风通脑胶囊的提取工艺。**方法:** 以芍药苷提取量和浸膏得率为指标, 选取加水量、浸泡时间、提取时间和提取次数为考察因素, 采用正交试验法优选熄风通脑胶囊中赤芍等 10 味饮片的水提取工艺; 以浸膏得率为指标, 选取乙醇体积分数、乙醇用量、浸泡时间、回流时间为考察因素, 采用正交试验法优选熄风通脑胶囊中三七的醇提取工艺。**结果:** 最佳水提工艺为加 10 倍量水浸泡 0.5 h 煎煮 2 次, 每次 1.5 h; 最佳醇提工艺为加 6 倍量 70% 乙醇浸泡 0.5 h, 回流提取 3 次, 提取时间分别为 1.5, 1, 1 h。**结论:** 优选的提取工艺稳定可行, 可推广于大生产应用。

[关键词] 熄风通脑胶囊; 正交试验; 提取工艺; 芍药苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0028-04

[doi] 10.11653/syfy2013130028

Optimization of Extraction Process for Xifeng Tongnao Capsules by Orthogonal Test

ZENG Cong-yan*, MEI Quan-xi, ZHONG Xi-wen, PENG Wei-wen

(Hospital of Traditional Chinese Medicine of Zhongshan, Guangzhou University
of Chinese Medicine, Zhongshan 528400, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Xifeng Tongnao capsules. **Method:** With the content of paeoniflorin and yield of extract as indexes, the amount of water, soaking time, extraction time and extraction times were chosen as factors, orthogonal design was used to optimize water extraction process of Radix Paeoniae Rubra and nine other Chinese herbal pieces from Xifeng Tongnao capsules; With yield of extract as index, the amount and concentration of ethanol, soaking time and reflux extraction time were selected as factors, orthogonal design was used to optimize alcohol extraction process of Radix Et Rhizoma Notoginseng from Xifeng Tongnao capsules. **Result:** Optimum water extraction technology was as following: soaked 0.5 h with 10 times the amount of water, extracted 2 times, 1.5 hours per time; Optimum alcohol extraction process was as following: soaked 0.5 h with 6-fold of 70% ethanol, reflux extracted 3 times with extraction time of 1.5, 1, 1 h. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and reliable, it could be extended to large-scale

[收稿日期] 20130130(026)

[基金项目] 广东省中山市科技计划项目(20122A010)

[通讯作者] * 曾聪彦, 教授, 主任中药师, 硕士生导师, 从事医院中药新制剂研究与开发, Tel: 0760-89980213, E-mail: zszcy@126.com

[8] 唐岚, 刘力, 徐德生. 参附青冻干粉针成型工艺研究[J]. 中成药, 2005, 27(5): 512.
[9] 谭涛, 刘景俊. 如何减少冻干粉针制品中的萎缩不良品[J]. 齐鲁药事, 2005, 24(8): 489.
[10] 刘嘉, 刘汉清. 冻干技术及其在中药冻干制剂中应用的研究进展[J]. 中国医药技术经济与管理, 2007, 1(5): 35.

[11] 萧伟, 范庆林, 凌娅, 等. 活血通络粉针中桃仁与赤芍共煎的正交实验研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 677.
[12] 李中娥, 王春颖. HPLC 同时测定妇康片中芍药苷和阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 143.

[责任编辑 全燕]