

正交设计法研究寻骨风注射液最佳生产工艺

申庆亮¹, 刘继奎², 于 凤², 马守栋²

(1 济宁市久益中药研究所, 兖州 272100; 2 解放军第 91 医院, 兖州 272000)

摘要: 目的: 研究寻骨风注射液最佳生产工艺。方法: 用正交设计法, 选择 $L_{18}(3^7)$ 表。结果: 最佳生产工艺是取寻骨风, 加 7.5 倍量的 pH 值为 9 的水, 提取 3 次, 每次 15min, 滤液浓缩至 1: 2, 加乙醇使含醇量达 80%, 调 pH 值为 7, 静置 48h, 滤过, 回收乙醇, 加水至全量, 115℃ 灭菌 35min, 静置 7d, 滤过, 加 0.25% 活性炭煮沸 10min, 滤过, 备用。

关键词: 正交设计; 寻骨风注射液; 生产工艺; 总生物碱; 总黄酮

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)05-0008-03

Studies on the Optimal Production Technology of Xungufeng Injection by Orthogonal Design Method

SHEN Qing-liang¹, LIU Ji-kuai², YU Feng², MA Shou-dong²

(1. Jiuyi Chinese Herbs Institutel of Jining, Yanzhou 272100;

2. No. 91 Hospital of PLA, Yanzhou 272100)

Abstract: Objective: To determine the optimal production techniques of Xugufeng injection. Method: Orthogonal design method. Results and Conclusion: The optimal technique was as fellow: extracting solvent was 7.5 times water with pH 9 of dried drug in weigh, decocted for three times and each for 15 minutes, then, concentrated the filtrate to the ratio of 1: 2 (w/w, extracts/drug), added 95% alcohol up to 80%, adjusted the pH to 7, deposited for 48h, filtered, concentrated, added water to total amount, sterilized at 115℃ for 35 minutes, deposited for seven days, filtered, decoloured with 0.25% active carbon for boiling ten minutes and filtered again.

Key words: orthogonal design; xungufeng injection; production technique; alkaloids; flavones

寻骨风注射液是以马兜铃科植物绵毛马兜铃为原料经提取而制备的注射液。临床上用于治疗风湿性关节炎、类风湿性关节炎、筋骨痛和腰腿痛疗效显著。生产工艺没有特异性, 杂质含量高, 生产成本低、周期长、缺乏科学性, 没有明确的质量控制指标, 批与批之间差异较大, 难以保证临床疗效。为了克服这些问题, 对寻骨风生物碱部分和非生物碱部分作镇痛、消炎的药效学研究, 结果表明, 生物

碱是其主要成分。因此本研究以正交设计法研究其最佳生产工艺。

1 实验材料

1.1 寻骨风 系马兜铃科植物绵毛马兜铃的全草, 符合中国药典 1977 年版一部有关规定。

1.2 氧化苦参碱、芦丁 均为化学对照品, 中国药品生物制品检定所。

1.3 紫外分光光度计 HP8453 型, 美国惠普公司提供。

2 正交设计

2.1 因素与水平 寻骨风注射液以单味药寻骨风为原料。寻骨风中主要成分为生物碱、内酯及黄酮类化合物。均可溶于水,故仍然应用水提醇沉法制备。考察溶媒用量、溶媒 pH 值、提取时间、提取次数、含醇浓度、醇沉 pH

值、活性炭量等因素,每个因素选择 3 个水平。列因素-水平表:

2.2 正交表 根据因素-水平表,不考虑其交互作用,选用 $L_{18}(3^7)$ 正交表。

表 1 因素-水平表

因素	溶媒用量(倍)	溶媒 pH 值	提取时间(min)	提取次数	含醇浓度(%)	醇沉 pH	活性炭量(%)
水平 1	5	5	15	2	60	5	0.1
水平 2	7.5	7	20	3	70	7	0.25
水平 3	10	9	30	4	80	9	0.5

表 2 寻骨风注射液正交设计实施方案、结果及统计分析表

实验号	溶媒用量 A	溶媒 pH B	提取时间 C	提取次数 D	含醇浓度 E	醇沉 pH F	活性炭量 G	总生物碱+ 总黄酮
1	1(5)	1(5)	1(20)	1(2)	1(60)	1(5)	1(0.1)	4.3592
2	1(5)	2(7)	2(30)	2(3)	2(70)	2(7)	2(0.25)	8.3379
3	1(5)	3(9)	3(40)	3(4)	3(80)	3(9)	3(0.5)	9.9206
4	2(7.5)	1(5)	1(20)	2(3)	2(70)	3(9)	3(0.5)	7.3887
5	2(7.5)	2(7)	2(30)	3(4)	3(80)	1(5)	1(0.1)	10.1811
6	2(7.5)	3(9)	3(40)	1(2)	1(60)	2(7)	2(0.25)	8.6180
7	3(10)	1(5)	2(30)	1(2)	3(80)	2(7)	3(0.5)	6.6503
8	3(10)	2(7)	3(40)	2(3)	1(60)	3(9)	1(0.1)	5.2817
9	3(10)	3(9)	1(20)	3(4)	2(70)	1(5)	2(0.25)	7.5236
10	1(5)	1(5)	3(40)	3(4)	2(70)	2(7)	1(0.1)	4.3988
11	1(5)	2(7)	1(20)	1(2)	3(80)	3(9)	2(0.25)	4.6795
12	1(5)	3(9)	2(30)	2(3)	1(60)	1(5)	3(0.5)	2.8114
13	2(7.5)	1(5)	2(30)	3(4)	1(60)	3(9)	2(0.25)	3.6496
14	2(7.5)	2(7)	3(40)	1(2)	2(70)	1(5)	3(0.5)	4.7697
15	2(7.5)	3(9)	1(20)	2(3)	3(80)	2(7)	1(0.1)	8.4476
16	3(10)	1(5)	3(40)	2(3)	3(80)	1(5)	2(0.25)	7.5144
17	3(10)	2(7)	1(20)	3(4)	1(60)	2(7)	3(0.5)	5.8313
18	3(10)	3(9)	2(30)	1(2)	2(70)	3(9)	1(0.1)	4.4519
\sum_{K1}	31.6960	26.4466	39.7873	29.0770	24.7199	29.6450	32.6684	
\sum_{K2}	44.7882	33.2499	31.6303	32.2673	39.7974	36.4526	32.8086	
\sum_{K3}	32.8013	47.2418	32.9888	35.6737	39.8791	34.5697	31.5407	
K 1	6.3392	5.2893	6.6312	5.8153	4.9439	5.9290	6.5337	
K 2	7.4647	6.6499	6.3260	6.4535	6.6329	7.2905	6.5617	
K 3	6.5602	7.8736	6.5978	7.1347	7.9758	5.7616	6.3081	
R	1.1255	2.5843	0.3052	1.3194	3.0319	1.5289	0.2536	

3 方法

3.1 样品的制备 按处方投料,加规定量已经调至规定 pH 值的水,煎煮规定的时间和次数,滤过,合并滤液,浓缩至 1: 2,加乙醇至规定的含醇量,调节至规定的 pH 值,放置 48h,滤过,滤液回收乙醇至无醇味,加水至规定量.调节 pH 值至 7.放置 48h.滤过.加规定量的活性炭,煮沸 10min,过滤,调节 pH 值至 7,加水至足量。

3.2 总黄酮含量测定 精密吸取样品 0.5ml,置 25ml 量瓶中,加水 2ml,加 10% 亚硝酸钠溶液 1ml,摇匀,放置 5min,加 10% 硝酸铝溶液 1ml,摇匀,放置 5min,加 4% 氢氧化钠溶液 10ml,加水至刻度,摇匀,放置 15min,照分光光度法(中国药典 1995 年版一部附录 VB)在 500nm 波长处测定吸收度。从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的重量(μg),计算,即得。

3.3 总生物碱测定 精密吸取样品 1ml,置 60ml 分液漏斗中,加溴麝香草酚蓝 pH7.6 缓冲溶液 5.0ml,氯仿 10ml,密塞,剧烈振摇 2min 提取,静置 1.5h,以未加氧化苦参碱溶液为空白对照,于 406nm 处测定吸收度。

4 结果 结果见表 2。

5 分析 影响因素的大小顺序为 E> B> F> D> A> C> G,即因素 E(含醇量)及溶媒的 pH 是非常重要的因素,应严格控制。其次为醇沉时 pH、提取次数及溶媒用量有一定的影响,而提取时间及活性炭用量基本无影响。结合极差 R,各因素水平选择为: A₂B₃C₁D₃E₃F₂G₂。

6 结论 最佳生产工艺应该为:取上药一味,加 7.5 倍量的 pH 值为 7 的水,提取 3 次,每次 20min.滤液浓缩至 1: 2.加乙醇使

含醇量达 80%,调 pH 值为 7,静置 48h,滤过,回收乙醇,加水至全量,115℃ 灭菌 35min,静置 7d,滤过,加 0.5% 活性炭煮沸 10min,滤过,备用。

7 讨论

7.1 寻骨风注射液具有祛风活络,止痛消炎作用.治疗风湿性关节炎.类风湿性关节炎、筋骨疼痛和腰腿痛。本制剂已收载于《山西省药品标准》(1990 年版)^[1]及《医院制剂操作技术》^[2],工艺均为水提醇沉法,但没有质量控制标准。基于上述情况,用正交设计法研究其最佳生产工艺。

7.2 寻骨风为马兜铃科植物锦毛马兜铃的干燥根及全草。据文献报道其化学成分为生物碱、挥发油、内酯、黄酮等^[3]。药理学研究证实,生物碱对大鼠甲醛性或蛋清性关节炎有明显的消肿作用^[3]。生物碱部分镇痛消炎作用远远高于非生物碱部分^[4]。

7.3 由于目前寻骨风的生物碱尚无标准品,故用酸性染料比色法测定总生物碱,以氧化苦参碱为对照品。试验结果表明,此方法可行。方法学研究将在含量测定中报告,本文不赘述。

参考文献:

- [1] 山西省卫生厅. 山西省药品标准[S]. 1990. 56.
- [2] 济南军区后勤部卫生部. 医院制剂操作技术[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1992. 359.
- [3] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 350.
- [4] 唐启令, 申庆亮. 寻骨风不同部位镇痛消炎作用的药理研究[J]. 时珍国医国药, 1998, 6: 95.