

## 正交试验法优选乳没接骨丸的制备工艺

高颖,路宁维,刘光斌,毛和平,董钰明

**【摘要】** 目的 通过正交试验法优选确定乳没接骨丸的制备工艺路线。方法 在预实验的基础上,对混合药材进行串粉,对生药细粉(半成品)灭菌方法进行优选;对乳没接骨丸的泛丸、成型工艺条件进行优选。对丸粒的光泽、圆整度进行了观察对比,对溶散时限、水分、丸重差异、微生物、含量进行测定。结果 确定最有效且简便的生药细粉(半成品)灭菌方法为乙醇灭菌(75%乙醇喷洒,拌和,密闭闷润4~5 h,冷风吹干,低温干燥),可以达到卫生学标准,得细粉率达到85%以上;泛丸工艺为生药细粉粉碎至100目,中等泛丸速度,丸粒直径约4.8 mm,45℃干燥时间为12 h,成型丸剂符合规定。结论 乳没接骨丸制备工艺切实可行,各项检测指标符合乳没接骨丸质量标准(草案)规定,适合批量化生产。

**【关键词】** 乳没接骨丸;正交试验;制备工艺

**【DOI】** 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2017.10.064

乳没接骨丸是在酒钢医院使用多年的医院固定处方的基础上,进一步应用现代医学科学方法,经多年的基础实验研究和5年以上的临床应用研制而成。处方由乳香、没药、红花、当归、补骨脂等中药组成,经粉碎、加工制成的中药丸剂。本品具有活血化瘀、消肿生肌、续筋接骨之功效。临床上主要用于跌打损伤、筋断骨折、瘀滞肿痛的治疗。依据《甘肃省〈医疗机构制剂注册管理办法〉实施细则》(试行)(甘食药监注[2005]201号)<sup>[1]</sup>以及国家食品药品监督管理局发布的《中药、天然药物制剂研究的技术指导原则》(指导原则编号【Z】GPH3-1)要求<sup>[2]</sup>,申报单位对乳没接骨丸的生药细粉乙醇灭菌工艺和泛丸工艺进行了系统研究,报道如下。

### 1 仪器与试剂

1.1 仪器 戴安Dionex Ultimate 3000高效液相色谱仪,二极管阵列紫外检测器,手动进样器,Chromleon色谱工作站(美国Dionex公司);Inertsil C18(150×4.6 mm,5 μm)色谱柱;分析天平(上海奥豪斯Discovery专业性分析天平);KH-300DB型数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);Motic B5系列无限远校正光学系统显微镜(麦克迪奥实业集团有限公司);ZF-3型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)。

1.2 试剂 乳没接骨丸(批号:20110201、20110202、20110203、20110204、20110205、20110206)自制;红花对照药材(批号:120907-201010,中国药品生物制品检定所);当归对照药材(批号:120927-201014,中国药品生物制品检定所);补骨脂素对照品(批号:110739-200814,中国药品生物制品检定所);异补骨脂素对照品(批号:110738-201012,中国药品生物制品检定所)。甲醇(色谱纯,山东禹王试剂);二次重蒸馏水(兰州大学GLP实验中心),其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 生药细粉乙醇灭菌的工艺条件优化 中药微生物控制中原料药的微生物控制决定成品的微生物控制,故现根据预实验结果,需要对生药细粉(半成品)的灭菌条件进行了研究。

2.1.1 因素水平的确定:根据相关的专业知识和生产经验,影响乙醇灭菌效果的主要影响因素有乙醇比例(A),使用量(B),闷润时间(C)和低温(45℃)干燥时间(D)。因素水平表见表1。

表1 乙醇灭菌工艺条件因素水平表 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

水平	因素			
	A(%)	B	C(h)	D(h)
1	70	ml/100 g	4	10
2	75	ml/100 g	5	15
3	80	ml/100 g	6	20

注:加水倍量以药材总量计算。

2.1.2 方法:乳没接骨丸处方所列各味中药炮制合格,按处方称量配齐,混合粉碎成细粉,过七号筛,混合均匀。取混合后的生药细粉各100 g,喷洒一定比例的乙醇水溶液,拌和,闷润一定时间,低温(45℃)干燥一定时间,备用。

2.1.3 观测指标及方法:为了科学合理地优选出乙醇灭菌的最佳工艺条件,本次试验以微生物为观测指标。

2.1.4 测定方法:参照微生物限度检查法《中国药典》2010年版一部附录XIII C)进行测定。

2.1.5 试验方法及结果:实验选择 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验,共进行了9次试验。以方差分析法确定最佳工艺,试验结果见表2。

表2 乙醇灭菌工艺 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验表

试验号	因素				试验结果			总分(分)
	A	B	C	D	细菌数	霉菌和酵母菌数	大肠埃希菌数	
1	1	1	1	1	3	3	4	13
2	1	2	2	2	7	6	6	19
3	1	3	3	3	6	4	5	15
4	2	1	2	3	7	6	6	19
5	2	2	3	1	5	4	5	14
6	2	3	1	2	5	5	5	15
7	3	1	3	2	6	4	5	15
8	3	2	1	3	4	5	4	13
9	3	3	2	1	7	6	6	19
Ij	47	47	41	46				
IIj	48	46	57	49				
IIIj	47	49	44	47				
R	1	3	16	3				

2.1.6 方差分析:C因素显著,A、B、D因素不显著,影响丸剂微生物检查的因素排列顺序应为:C>B=D>A。其中C显著,选C2。最佳组合为A2B2C2D2。即75%乙醇,拌和,闷润4~5 h,冷风吹干,低温(40℃以下)干燥10~15 h。见表3。

基金项目:甘肃省嘉峪关市科技计划项目(No:2014-39)

作者单位:730000 兰州市,兰州大学药学院(高颖、董钰明);735100 甘肃省嘉峪关市,酒钢医院(高颖、刘光斌、毛和平);730050 兰州市,兰州理工大学学校医院(路宁维)

通信作者:董钰明,E-mail: dongym@lzu.edu.cn

表 3 方差分析表

变异来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P 值
A	0.222	2	0.143	19.000	>0.05
B	1.556	2	1.000	19.000	>0.05
C	48.222	2	31.000	19.000	<0.05
D	1.556	2	1.000	19.000	>0.05

2.1.7 工艺验证:取净药材,粉碎成细粉,按处方混合。取混合后的生药细粉各 100g,按上述选定的优化工艺进行灭菌操作,测定微生物结果,复试验 6 次。工艺验证试验结果显示生药细粉优化工艺经多次验证试验,工艺稳定性较好,新工艺微生物检查结果平均为 21.90%,因此灭菌方法选为 75% 乙醇,拌和,闷润 4~5 h,冷风吹干,低温(<40℃)干燥 10~15 h。见表 4。

表 4 乙醇灭菌工艺验证试验

项目	试验结果						平均值(%) X±SD
	1	2	3	4	5	6	
细菌数(个/g)	730	720	710	705	700	680	707.5
霉菌和酵母菌(个/g)	15	13	12	15	14	11	13.3
大肠埃希菌(个/g)	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出

2.2 泛丸工艺技术研究

2.2.1 试验设计:根据有关资料及实验室单因素预实验初步结果,以成品干燥条件固定作为前提,以生药细粉度(a)、泛丸速度(b)、丸粒大小(c)、干燥时间(d)为主要影响因素,以丸剂的水分和溶散时限为评价指标,进行正交试验,以确定泛丸的最佳技术,因素水平见表 5。

表 5 工艺技术因素水平表 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)

水平	因素			
	a	b	c(直径,mm)	d(h)
1	80 目	慢	4.5	8
2	100 目	中等	4.8	12
3	120 目	快	5.0	15

2.2.2 初步试验结果:初步固定干燥方式,即 45℃ 鼓风干燥烘箱内连续干燥。按照初步工艺路线进行泛丸(每次试验按处方量的 1/5 进行),以正交试验表进行试验。

2.2.3 观测指标:为了科学合理地优选出泛丸过程中的最佳技术条件,本次试验以丸剂的水分和溶散时限为考察指标。

2.2.4 方法:(1)水分测定方法参照《中国药典》2010 年版一部附录 IX H 水分测定法有关规定进行测定。取本品 25 g,研细,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,厚度不超过 5 mm;精密称定,打开瓶盖在 100~105℃ 干燥 5 h,将瓶盖盖好,移置干燥器中,冷却 30 min,精密称定,再在上述温度干燥 1 h,冷却,称重,至连续 2 次称重的差异不超过 5 mg 为止。根据减失的重量,计算供试品中含水量(%)。(2)溶散时限测定根据《中国药典》2010 年版一部附录 I A 规定,丸剂应进行溶散时限的检查,应在 1 h 内全部溶散。取本品 6 丸,选择适当孔径筛网的吊篮(丸剂直径在 2.5 mm 以下的用孔径约 0.42 mm 的筛网;在 2.5~3.5 mm 之间的用孔径约 1.0 mm 的筛网;在 3.5 mm 以上的用孔径约 2.0 mm 的筛网),照崩解时限检查法(《中国药典》2010 年版一部附录 XII A)片剂项下的方法加挡板进行检查。

2.2.5 试验方法及结果:实验选择 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验,共进行了 9 次试验。以方差分析法确定最佳工艺,方差分析表明:d 因素显著,a、b、c 因素不显著,影响丸剂水分和溶散时限的因素排列顺序应为:d>a>c>b。其中 d 显著,选 d<sub>2</sub>。a、b、c 不显著,可任选。因此,最佳组合为 a<sub>2</sub> b<sub>2</sub> c<sub>2</sub> d<sub>2</sub>。即生药细粉粉碎至 100 目,中等泛丸速度,丸粒直径约 4.8 mm,45℃ 干燥时

间为 12 h。见表 6。

表 6 工艺技术 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验表

试验号	因素				指标		总分
	a	b	c	d	水分	溶散时限	
1	1	1	1	1	2	1	3
2	1	2	2	2	7	6	13
3	1	3	3	3	9	7	16
4	2	1	2	3	5	3	8
5	2	2	3	1	4	5	9
6	2	3	1	2	6	6	12
7	3	1	3	2	7	5	12
8	3	2	1	3	8	7	15
9	3	3	2	1	4	4	8
Ij	32	30	30	20			
IIj	29	29	29	37			
IIIj	35	37	37	49			
R	6	8	8	29			

2.2.6 工艺验证:取净药材,粉碎成细粉,按处方混合后均匀分成若干样品,每样 200 g,按上述选定的优化工艺进行泛丸,测定水分和溶散时限,重复试验 6 次。工艺验证试验结果显示泛丸工艺技术经多次验证试验,工艺稳定性较好,新工艺水分平均为 3.0%,散时限平均为 37 min。见表 7。

表 7 工艺技术验证试验

项目	试验结果						平均值(%)
	1	2	3	4	5	6	
水分(%)	2.3	3.5	1.8	2.6	3.3	4.5	3.0
溶散时限(min)	35	42	38	46	32	28	37

2.3 制剂成型工艺条件优选 在确定提取,干燥工艺条件的基础上,又进一步对乳没接骨丸的成型工艺进行了研究。

2.3.1 制粒工艺的优选:为了使易丸剂成型,分剂量准确,制备工艺规范,同时要求丸剂流动性好,故对以上优选工艺制成的混合细粉进行丸剂成型工艺的考察研究。

2.3.2 润湿剂的选择:根据初步试验结果,该混合细粉,用水做润湿剂,较易制粒,因此选择水作为制备润湿剂。

2.3.3 起模的方法:取上述处方药材,粉碎制极细粉,加入适量水为润湿剂,制软材,用 30 目筛制粒,于 60℃ 干燥,40 目筛整粒,即得。

2.4 小试样品制备研究 按照前述成型工艺条件,将乳香、没药、红花、当归、补骨脂等中药炮制合格,按处方称量配齐,混合粉碎成细粉,过七号筛,混合均匀,用水泛丸,直径控制在 4.5~5.0 mm,干燥、分装既得。连续试制小试样品 3 批,每批 1 个处方量,以观察制剂全过程的工艺适应性,同时供乳没接骨丸质量标准方法学研究用样品,样品测定结果见表 8。上述 3 批乳没接骨丸小试样品,工艺稳定性好,产品质量可靠,达到了试验目的。

表 8 乳没接骨丸 3 批小试样品试验结果

批号	外观	水分(%)	丸重差异	溶散时限(min)
20110201	光滑圆整,色泽鲜亮,大小均一	5.1	符合规定	25
20110202	光滑圆整,色泽鲜亮,大小均一	4.8	符合规定	25
20110203	光滑圆整,色泽鲜亮,大小均一	5.3	符合规定	26

2.5 中试样品制备研究 按照前述提取工艺和成型工艺条件,将乳香、没药、红花、当归、补骨脂等中药炮制合格,按处方称量配齐,混合粉碎成细粉,过七号筛,混合均匀,用水泛丸,直径控制在 4.5~5.0 mm,干燥、分装。连续试制中试样品 3 批,每批 10 个处方量,以观察制剂放大生产全过程的工艺适应性,样品测定结果见表 9。上述 3 批乳没接骨丸中试样品,工艺稳定性好,产品质量可靠,达到了试验目的。成品检验按乳没接骨丸质量标准(草案)测定。

表 9 乳没接骨丸 3 批中试样品试验结果

项目	20110204	20110205	20110206
药材总量(g)	10000	10000	10000
细粉重量(g)	9880	9760	9850
细粉收得率(%)	98.80	97.60	98.50
粉碎损耗率(%)	1.20	2.40	1.50
理论产量(粒)	82333	81333	82083
蒸馏水用量(ml)	363	350	375
丸粒重量(g)	9560	9580	9430
性状	符合规定	符合规定	符合规定
鉴别(1)	符合规定	符合规定	符合规定
鉴别(2)	显相同颜色的斑点	显相同颜色的斑点	显相同颜色的斑点
鉴别(3)	显相同的荧光斑点	显相同的荧光斑点	显相同的荧光斑点
鉴别(4)	符合规定	符合规定	符合规定
水分(%)	7.4	8.1	7.9
装量差异	符合规定	符合规定	符合规定
溶散时限(min)	22	25	25
细菌数(个/g)	720	690	710
霉菌和酵母菌(个/g)	17	12	15
大肠埃希菌(个/g)	<10	<10	<10
计划产量(粒)	83333	83333	83333
实际产量(粒)	79600	79830	78570
成品收得率(%)	95.52	95.80	94.28

### 3 讨论

本工艺研究根据中医药理论、药味的物质基础及药理作用以及预试验数据确定了工艺路线。在预实验的基础上,对混合药材进行串粉,得细粉率达到 85% 以上;对生药细粉(半成品)灭菌方法进行优选,确定最有效且简便的方法为乙醇灭菌(75% 乙醇喷洒,拌和,密闭闷润 4~5 h,冷风吹干,低温干燥),可以达到卫生学标准;对乳没接骨丸的成型工艺条件进行了优选,对丸粒的光泽、圆整度进行了观察对比,对溶散时限、水分、丸重差异、微生物、含量进行了测定,成型丸剂符合规定。

经过多个批次的制备试验证明,在研究确定的制备工艺条件下,按 10 个处方量制成的乳没接骨丸中试样品,理化性质稳定,批间差异小,制备工艺切实可行,各项检测指标符合乳没接骨丸质量标准(草案)规定,适合批量化生产。

#### 参考文献

- [1] 甘肃省食品药品监督管理局. 甘肃省《医疗机构制剂注册管理办法》实施细则(试行) [S]. 甘食药监注[2005]201 号.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 中药、天然药物制剂研究的技术指导原则(指导原则编号【Z】GPH3-1) [S]. 2005 年.

(收稿日期:2017-03-21)

## • 药物不良反应 •

### 前列地尔注射液致休克反应 1 例

尹琼玉, 许多, 杨波

【关键词】 前列地尔; 休克; 不良反应

【DOI】 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2017.10.065

患者,女,83 岁。2016 年 6 月 13 日因血糖升高 9 年,左足破溃 0.5 年门诊入院,入院诊断为糖尿病足 4 级、I 型糖尿病、脑梗死后遗症、下肢动脉硬化闭塞症。患者否认高血压等病史,否认药物、食物过敏史。查体: T 36.2 °C, BP 160/80 mmHg, 双肺呼吸音粗,心脏听诊阴性,双下肢无水肿,双侧足背动脉、胫后动脉搏动(-),左足第 1 趾跖关节背侧可见一直径约 2 cm 破溃创面,表面黑痂覆盖,周围稍红,极少量渗出。2016 年 6 月 13 日开始给予前列地尔注射液(北京泰德制药股份有限公司生产,批号:3b086a) 20 μg 入壶静脉滴注,每天 1 次。2016 年 6 月 16 日患者静脉滴注前列地尔后出现四肢发抖,呼吸困难,后呕吐大量胃内容物,立即停用前列地尔,给予心电监护、低流量氧气吸入,心电监护示: HR 120 次/min,律齐, BP 192/106 mmHg,血氧饱和度 97%, R 23 次/min,心肺听诊(-)。给予地塞米松注射液静脉滴注治疗,奥美拉唑注射液保护胃黏膜治疗,同时给予维持电解质平衡等综合治疗。经抢救患者呼吸、心率为平稳,血压波动在正常范围内。

讨论 前列地尔(外源性前列腺素 E<sub>1</sub>)是一种具有广谱生物活性的扩血管物质,临床上用于治疗慢性动脉闭塞症引起的四肢溃疡及微小血管循环障碍引起的四肢静息疼痛,改善心脑血管微循环障碍<sup>[1]</sup>。其作用机制是通过兴奋磷酸腺苷化

酶,使心肌细胞内环磷酸腺苷水平升高,激活蛋白激酶,增强心肌收缩力,改善心功能;抑制血小板释放血栓烷 A<sub>2</sub>,防止血小板凝聚,以达到防止动脉粥样硬化<sup>[2]</sup>。

按照说明书提供的输液方法将前列地尔 5~10 μg 加入 0.9% 氯化钠注射液或 5% 葡萄糖注射液 10 ml 缓慢静注<sup>[3]</sup>。该患者 2016 年 6 月 13 日开始给予前列地尔注射液,一次 20 μg 入壶静脉滴注,每天 1 次。在 2016 年 6 月 16 日用药后出现四肢发抖,呼吸困难等休克反应,该患者的用药剂量超药品说明书应得到足够重视。通过查阅文献发现有大量报道指出大剂量使用前列地尔注射液能明显改善糖尿病足创面愈合情况,能明显加快足背动脉血流速度,改善足部微循环,使肉芽组织生长加快,溃疡愈合良好。但超说明书用药,应得到临床的足够重视,医院应制定完善的审核机制,最大程度地保证患者用药安全。医护人员在患者静脉给药时,应注意观察患者在用药过程中的临床反应,以便在出现异常情况时减慢输注速度,严重时停药,并对症处理。

#### 参考文献

- [1] 顾生旺,蒋兆荣,刘欢,等. 前列地尔先后致休克寒颤高热及皮肤过敏 1 例[J]. 肝脏, 2014(12): 997-998.
- [2] 刘茵,杨云,应朦朦,等. 前列地尔注射液致过敏性休克 6 例[J]. 中国药师, 2015, 18(10): 1771-1773.
- [3] 杨玲,高家荣,李颖,等. 前列地尔的不良反中文献分析[J]. 安徽医药, 2016, 20(3): 603-605, 606.

(收稿日期:2016-11-02)

作者单位: 210002 南京市,中国人民解放军第四五四医院药剂科

通讯作者: 杨波, E-mail: 375806368@qq.com