

用两步超滤法制备伸筋草注射液的实验研究

铁道部第二工程局中心医院药剂科(成都 610031) 贺立中*

摘要 实验考察了伸筋草注射液制备过程中特别是超滤精制时药液的 pH 值、浓度等条件对注射液质量的影响,发现较强酸性、较低浓度的药液在超滤时有效成分的滤过率高,反之则滤过率低,并依此制定出一种能在不同条件下分别除去药液中的大分子杂质和小分子杂质的新的精制方法——两步超滤法,提高了注射剂的质量,减少了有效成分的损失。文中还对两步超滤法的机理进行了初步探讨。

关键词 两步超滤法 伸筋草 超滤 制剂 注射液

超滤法是近年来发展较快的一种膜分离技术,它除了能有效地滤除溶液中的各种微粒、胶体、细菌、热原等杂质之外,还能分离不同分子量的溶质,因此在中草药制剂特别是注射液的制备中的应用逐渐增多^[1]。但现有的超滤技术在用于制备中草药制剂时均采用一步超滤的方式,只除去了药液中的大分子杂质,没有除去小分子杂质,有效成分的损失也高达 50%左右^[2,3],使超滤技术的应用受到了一定的影响。中药伸筋草为石松科植物石松 *Lycopodium japonicum* Thunb. 和垂穗石松 *Palhinhaea cernua* (L.) Franco et Vasc. 等的干燥全草,有祛风散寒、除湿消肿、舒筋活血等功用^[4]。药理实验证明,用超滤法制备的伸筋草注射液对大鼠实验性矽肺有较好的疗效,但其制备工艺还有待于完善^[5]。

为此,我们对用超滤技术制备伸筋草注射液的工艺路线和条件进行了实验研究,制定出能一并除去药液中的大分子杂质和小分子杂质的两步超滤法工艺,提高了注射剂的质量,减少了有效成分的损失。

1 实验仪器及材料

超滤实验装置,包括蠕动泵、中空纤维超滤组件等(天津纺织工学院膜分离工程研究所);53WB 微机型紫外可见分光光度计(上

海光学仪器厂),PHCZ-3 型微电脑酸度计(成都市青羊环保设备厂);伸筋草(本地医药公司售),经鉴定为垂穗石松并经成都市药检所检验确证;溴代十四烷基吡啶为化学纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药液的含量测定及控制:从药理实验中得知,伸筋草注射液消化前后测得的铝含量值以及其差值与伸筋草注射液的抗矽疗效均密切相关^[5],因此我们在制剂过程中采用经过改进的胶束增溶吸收光度法^[6]测定未经消化的药液中铝的含量值并以其作为控制有效成分含量的参照指标。具体测定方法:标品经适当稀释后取 1.0ml(约含铝 3 μ g),至 25ml 比色管中,加水至 10ml,加 1%抗坏血酸 0.5ml,0.1%铬天青-0.4%溴代十四烷基吡啶等量混合液 2.5ml,pH6.4 的醋酸-醋酸铵缓冲液 25ml,加水至 25ml,摇匀,37℃水浴加热 30min,冷却后在 610nm 波长用 1cm 比色皿比色,分别以水和含 Al³⁺ 2~4 μ g/ml 的标准液 1.0ml 同样显色作为空白液和标准液,以所测得的吸收度计算药液中的铝含量值。

2.2 提取:实验证明,用酸水进行提取得到的提取液的含量比用水进行提取的高得多。为了考察不同浓度的酸的提取效果,称取 5

* Address: He Lizhong, Department of Pharmacy, Centre Hospital The Second Engineering Bureau of the Ministry of Railways, Chengdu

△ 铁道部“八五”重点卫生科研课题

份伸筋草每份 5g,各加入 50ml 不同浓度的盐酸溶液浸泡过夜,浸泡液倾出后再各加 40ml 水浸泡过夜后倾出。将两次浸泡液过滤后分别测定其中的铝含量值,结果见表 1。提

表 1 不同浓度盐酸的提取效果

序号	浓度 (%)	铝含量值(μg/ml)	
		1次浸泡液	2次浸泡液
1	0.02	33.5	7.4
2	0.1	72.8	11.6
3	0.5	251.4	44.4
4	2	312.4	69.9
5	5	303.3	66.0

高酸的浓度有助于成分的提出,但酸浓度提高到 0.5%以后含量的增加已不明显。在批量制剂时,提取的酸浓度过高不但会加大成本,还会给以后的浓缩、超滤等工序带来较大的困难。药液中过多的酸需用碱中和,生成盐的浓度太高也是不符合注射剂的要求。因此,在提取时使用的盐酸浓度一般为 0.1%~0.5%。

2.3 用两步超滤法进行精制:为了探索药液的浓度、pH 值、超滤膜的截留分子量等条件对超滤效果的影响,采用不同的条件进行超滤实验,并分别对超滤前后药液的铝含量值、pH 值、色度(用同视比色法)等指标进行了测定和比较,结果见表 2。

表 2 不同条件下的超滤效果

序号	截留分子量	药液浓度 (%)	pH 值		色度下降率 (%)	滤过率 (%)
			超滤前	超滤后		
1	6000	260	6.0	/	/	17.7
2	6000	51	3.69	3.68	60	51.7
3	6000	6	3.77	3.77	/	81.8
4	6000	110	8.11	8.06	/	8.6
5	6000	143	<1	/	/	85.4
6	6000	100	6.41	/	/	24.0
7	10000	217	6.0	/	/	9.6
8	10000	46	6.00	/	64	19.5
9	10000	92	6.00	/	49	18.7
10	10000	34	2.28	2.28	68	75.9
11	10000	34	1.14	1.14	54	95.5
12	30000	12	/	3.28	54	78.0
13	30000	6	1.21	1.28	68	84.0
14	30000	100	2.05	/	/	76.3

影响成分滤过率的主要因素是药液的

pH 值,其次是药液的浓度。在其它条件相近的情况下,药液为较强酸性时成分滤过率高,药液为弱酸性或碱性时滤过率低;药液浓度低时滤过率高,浓度高时滤过率低,而所用超滤组件的截留分子量大小对滤过率的影响并不明显。从表中还可以看出,即使在成分滤过率很低的情况下,超滤前后药液的 pH 值也基本未变,说明以无机酸、碱为代表的小分子物质仍能较顺利地透过超滤膜。

根据上述实验结果,我们设计出采用不同的条件对伸筋草药液进行两步超滤的精制方法,即用 10000~30000 截留分子量的超滤膜对 pH3 左右、浓度为 50%左右的药液进行一步超滤,得到除去了大分子杂质的超滤液;再用 6000 以下截留分子量的超滤膜对 pH7 左右、浓度浓缩为 200%左右的一次超滤液进行二步超滤,并分次在超滤所剩药液中补加适量的水,最后得到又除去了小分子杂质的未滤过液。测定上述未滤过液的含量,配液、精滤、灌装、灭菌,即得到伸筋草注射液。为了便于操作,两步超滤的先后次序也可以改变。多次制剂的结果证实,用两步超滤法制得的伸筋草注射液的收率有所提高,颜色较浅,而氯化钠的含量从 5%以上降低至 1%左右,长期放置仍保持澄明,质量有明显的提高。

3 讨论

伸筋草的有效成分是什么现在尚不清楚,但伸筋草注射液治疗矽肺的疗效与注射液消化前后测得的铝含量值特别是二者的差值密切相关这一点说明,如果铝化合物不是抗矽的有效成分之一,其含量也与有效成分的含量成正比。因此,将伸筋草注射液中的铝含量值作为控制有效成分含量的参照指标是可行的,有利于制剂过程中的质量控制,也为进一步研究伸筋草抗矽的有效成分打下了良好的基础。

在用超滤法制备中草药制剂时,药液的 pH 值对超滤效果的影响在现有文献中尚未见报道。我们在探索用超滤法制备伸筋草注

射液的工艺条件时发现,除了药液的浓度过高可影响有效成分的滤过率及超滤速度之外,药液为弱酸性至碱性时也可大大降低有效成分的滤过率。因此在进行一步超滤时,药液的 pH 值和浓度均应较低,以便在有效截留大分子杂质的同时增加有效成分的滤过率。由于在伸筋草注射液的制备过程中需用盐酸溶液进行提取,以后又需用氢氧化钠溶液对多余的酸进行中和,从而使制得的注射液的氯化钠含量较高,这是不符合注射剂的渗透压要求的。为了能滤除药液中过多的无机盐以及其它小分子杂质,特意采用不利于有效成分滤过的高 pH 值、高浓度条件进行二步超滤,让这些分子杂质随溶剂一道滤出,而有效成分则尽可能多地被保留下来。经过这样的两步超滤,不但一并除去了药液中的大分子杂质和小分子杂质,提高了注射液的质量,还可使有效成分的总损失率降低到 30% 以下。

在制备分子量较大的生物制品(如肝素、抗原、白蛋白等)时,有用超滤法对其进行浓缩或脱盐的^[7~9],但尚无将其用于滤除中草药药液中的小分子杂质的报道。这是因为中草药有效成分的分子量一般均在 1000 以下^[10],而超滤膜的截留分子量最小也在 1000 以上,在超滤时有效成分很容易随溶剂和小分子杂质一起被滤掉。但在药液的 pH 值和浓度较高时,上述情况却发生了改变。笔者认为,在药液浓度较大时,超滤时的浓度极化现

象比较严重,被超滤物质在膜面所形成的凝胶层使小于超滤膜截留分子量的有效成分也难以被滤过,而分子量更小的溶剂和无机离子等小分子杂质却仍然能够滤过。在对较大浓度的药液进行二步超滤时可能正是利用了这种浓度极化现象部分达到了保留较多有效成分的目的。但在高 pH 值时药液中的有效成分难于透过截留分子量比其大得多的超滤膜的原因何在,尚待深入进行研究。

经委托专业医学情报机构检索查新,国内、外文献均未见有用两步超滤法制备中药注射液的报道,也未见有伸筋草注射液的研制及临床应用的报道,因此,我们已将伸筋草注射液及其制备方法申报了发明专利(申请号:94113057.6,公开号:CN1110587A)。

致谢:黄泽华、王惠茹、涂德云、毛振芳等同志协助进行了部分工作。

参 考 文 献

- 1 贺立中. 中国药学杂志, 1995, 30(12): 711
- 2 中国人民解放军空军北京医院药局. 中草药通讯, 1979, 10(8): 12
- 3 池 群, 等. 中国中药杂志, 1989, 14(10): 25
- 4 中国医学科学院药用植物资源开发研究所, 等. 中药志(第四册). 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 417
- 5 贺立中, 等. 中草药, 1996, 27(5): 286
- 6 李慧琴, 等. 劳动卫生与环境医学, 1982, 5(5): 55
- 7 丁凤平, 等. 中国医药工业杂志, 1991, 22(8): 340
- 8 李树根, 等. 中国兽医科技, 1990, (11): 27
- 9 魏宝利, 等. 天津纺织工学院学报, 1992, 11(2): 83
- 10 俞加林. 中药材, 1989, 12(5): 44

(1995-11-13 收稿)

Experimental Studies on the Preparation of Shenjincao (*Palhinhaea cernua*) Injection by Double-ultrafiltration

He Lizhong

Experiments on the preparation of Shenjincao [*Palhinhaea cernua* (L.) Franco et Vasc.] injection by ultrafiltration was carried out. Influence of pH and concentration on the quality of the prepared injection was investigated. It was found that the filterability of active principles was higher at lower pH and concentration, and *vice versa*. Therefore, a double ultrafiltration process was developed accordingly, which can remove macro and micro molecular impurities from the solution under different conditions. The quality of the injection was improved and loss of active principles was reduced to a minimum. Mechanism of the double ultrafiltration was briefly discussed.