

超滤工艺对生脉注射液中有效成分透过率的影响

张坚<sup>1</sup>,唐海涛<sup>2</sup>,刘汉清<sup>1\*</sup>,张平<sup>2</sup>,于鹤云<sup>1</sup>,徐杰<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学,南京 210046; 2. 江苏苏中药业集团股份有限公司,江苏 姜堰 225500)

[摘要] 目的:考察超滤工艺对生脉注射液中有效成分透过率的影响。方法:以人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>,Re,Rb<sub>1</sub>,五味子醇甲透过率为指标,通过正交试验考察聚砜膜孔径、温度、压力对生脉注射液超滤工艺的影响。采用 HPLC 测定指标成分含量,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min,0%~10% A;30~40 min,10%~23% A;40~50 min,23% A;50~85 min,23%~60% A;85~95 min,60%~100% A),检测波长 203 nm。结果:最佳超滤工艺为聚砜膜孔径 50 000,温度 45 ℃,压力 11 psi;人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>,Rb<sub>1</sub>,Re,五味子醇甲的透过率分别为 80.26%,85.02%,50.69%,94.99%。结论:超滤工艺对生脉注射液中有效成分的透过率存在一定影响,为生脉注射液过滤工艺的优选提供实验依据。

[关键词] 超滤工艺;生脉注射液;人参皂苷;五味子醇甲;透过率;

[中图分类号] R283.6;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)05-0031-04

[doi] 10.11653/syfy2014050031

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20131218.1406.003.html>

[网络出版时间] 2013-12-18 14:06

Effects of Ultrafiltration Process on Transmittance of Active Ingredients from Shengmai Injection

ZHANG Jian<sup>1</sup>, TANG Hai-tao<sup>2</sup>, LIU Han-qing<sup>1\*</sup>, ZHANG Ping<sup>2</sup>, YU He-yun<sup>1</sup>, XU Jie<sup>2</sup>

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. SZYY Pharmaceutical Group Limited, Jiangyan 225500, China)

[收稿日期] 20130725(014)

[基金项目] 江苏省重点科研成果产业化项目(BA2011124)

[第一作者] 张坚,在读硕士,从事中药新剂型研究,Tel:18362315880,E-mail:zhangjian7942@126.com

[通讯作者] \*刘汉清,教授,博士生导师,从事中药新剂型研究,Tel:025-86595017,E-mail:nzyhqliu@126.com

[ 2 ] 陈雯,刘宝瑞. 五味子多糖的抗肿瘤研究进展[J]. 中医临床研究,2012,4(14):24.

[ 3 ] 王志存,董佩佩. 五味子多糖抗运动性疲劳研究进展[J]. 食品研究与开发,2012,33(6):235.

[ 4 ] 谢明亮,王位萍. 五味子降脂功能研究[J]. 临床合理用药杂志,2012,5(6A):9.

[ 5 ] Gao X X,Meng X J,Li J H,et al. Hypoglycemic effects of a water-soluble polysaccharide isolated from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill in alloxan-induced diabetic mice[J]. J Biotechnol,2008,136(5):5725.

[ 6 ] 刘怡,冯怡,徐德生. 中药提取物防潮剂技术研究进展[J]. 中成药,2007,38(5):795.

[ 7 ] 樊英,许拉,于晓清,等. 黄芪多糖海藻酸钠微胶囊的制备及释放性能研究[J]. 饲料研究,2011,34(11):6.

[ 8 ] 胡荣,罗先钦,秦伟瀚,等. 喷雾干燥法制备丹酚酸壳聚糖微囊[J]. 中国海洋药物杂志,2012,31(5):27.

[ 9 ] 艾凤伟,王佳瑜,李艳凤,等. 芦丁微囊的制备及其质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):32.

[10] 严春临,张季,张丹参,等. 大黄酚微囊的制备及其体外释药的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):7.

[11] 钟业俊,叶云花,刘成梅,等. 姜辣素喷雾干燥微胶囊化研究[J]. 江西食品工业,2006,19(1):29.

[12] 蔡鑫君,程巧鸳,赵宁,等. 喷雾干燥法制备川芎嗪壳聚糖微球的研究[J]. 中草药,2008,39(5):679.

[责任编辑 仝燕]

[ **Abstract** ]     **Objective:** To investigate effects of ultrafiltration process on transmittance of active ingredients from Shengmai injection. **Method:** With transmittance of ginsenosides Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> and schisandrin as indexes, orthogonal test was adopted to investigate effects of temperature, pressure and polysulfone membrane aperture on ultrafiltration process of Shengmai injection. HPLC was adopted to determine contents of index components with mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) (0-30 min, 0% -10% A; 30-40 min, 10% -23% A; 40-50 min, 23% A; 50-85 min, 23% -60% A; 85-95 min, 60% -100% A) and detection wavelength at 203 nm. **Result:** The best ultrafiltration process was as follows: temperature 45 ℃, pressure 11 psi, polysulfone membrane aperture 50K; Under these conditions, transmittance of ginsenosides Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub> and schisandrin were 80.26%, 85.02%, 50.69%, 94.99%, respectively. **Conclusion:** Ultrafiltration process had a certain effect on transmittance of active ingredients from Shengmai injection, it could provide experimental basis for improvement of filtration process of Shengmai injection.

[ **Key words** ]     ultrafiltration process; Shengmai injection; ginsenosides; schisandrin; transmittance

超滤可去除药液中色素、树脂、鞣质、粘液质等大分子杂质,提高药液澄明度,减少或避免贮存过程中沉淀的发生,而且可除去热原、细菌,在中药注射剂的研究生产中已被广泛应用<sup>[1-3]</sup>。生脉注射液中主要有效成分为人参皂苷和五味子醇甲等活性物质,其中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Re 等具有保护心肌、抗血栓、抗衰老等作用,可增强心肌收缩功能、增加冠脉血流量<sup>[4-8]</sup>,而五味子醇甲则具有抗氧化、抗肿瘤等活性<sup>[9]</sup>。本实验以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub>, Re, 五味子醇甲透过率为评价指标,考察聚砜膜孔径、温度、压力对生脉注射液超滤工艺的影响,为该制剂生产工艺的改进提供实验依据。

## 1 材料

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公司), Molelement 1710V 型超纯水机(上海摩勒生物科技有限公司), BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司), CL-25 型蠕动泵(北京旭邦膜设备有限责任公司), 中空纤维膜组件(聚砜超滤膜截留相对分子质量 6 000, 10 000, 50 000, 北京旭邦膜设备有限责任公司)。

人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, 五味子醇甲对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110703-201227, 110754-201123, 110704-201122, 110857-201010, 纯度依次为 ≥96.3%, ≥89.1%, ≥92.9%, ≥99.4%), 红参、五味子、麦冬中间体药液(江苏苏中药业集团股份有限公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称定置五氧化二磷减压干燥 >12 h 的人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, 五味子醇甲对照品适量, 分别用甲醇溶解并配制成 1.066,

0.966, 1.442 g·L<sup>-1</sup> 的人参皂苷混合对照品溶液和 0.662 g·L<sup>-1</sup> 的五味子醇甲母液。分别吸取人参皂苷混合液 5 mL 和五味子醇甲母液 1 mL 五味子母液置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 得混合对照品贮备液并分别配制初始质量浓度 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 的系列对照品溶液。

**2.2 超滤药液的制备** 分别取红参、五味子、麦冬中间体药液, 按原工艺比例配液混匀后, 经 0.45 μm 微孔滤膜预处理, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 量取各超滤工序前、后样品溶液 5 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.4 色谱条件** Waters symmetry shield™ RP<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 前端接 symmetry-shield™ RP<sub>18</sub> 预柱), 柱温 30 ℃, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 30 min, 0% ~ 10% A; 30 ~ 40 min, 10% ~ 23% A; 40 ~ 50 min, 23% A; 50 ~ 85 min, 23% ~ 60% A; 85 ~ 95 min, 60% ~ 100% A), 检测波长 203 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>。

### 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性关系考察** 分别吸取 2.1 项下系列混合对照品溶液适量, 按 2.4 项下色谱条件测定, 进样量 10 μL, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re, Rb<sub>1</sub>, 五味子醇甲的回归方程分别为  $Y = 20.76X_1 + 0.0469 (R^2 = 0.9999)$ ,  $Y = 25.682X_2 - 0.0168 (R^2 = 0.9999)$ ,  $Y = 25.591X_3 + 0.1531 (R^2 = 0.9989)$ ,  $Y = 587.84X_4 - 0.1915 (R^2 = 0.9999)$ , 线性范围依次为 0.0166 ~ 0.533, 0.0151 ~ 0.483, 0.0225 ~ 0.721, 0.0207 ~ 0.662 g·L<sup>-1</sup>。

**2.5.2 精密度试验** 精密量取 2.1 项下混合对照品贮备液, 连续进样 5 次, 结果人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Re,

Rb<sub>1</sub>,五味子醇甲峰面积的 RSD 分别为 0.75%,0.50%,0.49%,0.26%,说明仪器精密度良好。

**2.6 超滤工艺优选** 以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>,Re,Rb<sub>1</sub>,五味子醇甲透过率为评价指标,选取聚砜膜孔径、温度、压力为考察因素,因素水平见表 1。取超滤药液 9 份,每份 1 000 mL,将药液置于超滤系统中平衡 30 min,精密量取平衡液 5 mL,待测,开始收集滤出液,至浓缩液无法通过蠕动泵时,记录滤出液体积;加入超纯水 500 mL 洗滤,收集滤出液,至洗滤浓缩

液无法通过蠕动泵时结束,记录滤出液体积,合并超滤液,摇匀,量取总体积,测定超滤前平衡液、超滤液中各指标成分含量,计算透过率,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 生脉注射液超滤工艺正交试验因素水平

| 水平 | A 孔径   | B 温度/℃ | C 压力/psi |
|----|--------|--------|----------|
| 1  | 6 000  | 25     | 8        |
| 2  | 10 000 | 35     | 11       |
| 3  | 50 000 | 45     | 14       |

表 2 生脉注射液超滤工艺正交试验安排及直观分析

| No.                  |                | A      | B      | C      | 平均透过率/%              |         |                      |       |
|----------------------|----------------|--------|--------|--------|----------------------|---------|----------------------|-------|
|                      |                |        |        |        | 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> | 人参皂苷 Re | 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> | 五味子醇甲 |
|                      | 1              | 1      | 1      | 1      | 18.12                | 8.23    | 3.86                 | 49.22 |
|                      | 2              | 1      | 2      | 2      | 37.72                | 25.77   | 4.34                 | 61.35 |
|                      | 3              | 1      | 3      | 3      | 40.79                | 28.61   | 11.33                | 63.65 |
|                      | 4              | 2      | 1      | 2      | 71.11                | 79.49   | 11.80                | 91.85 |
|                      | 5              | 2      | 2      | 3      | 77.07                | 75.30   | 15.55                | 83.40 |
|                      | 6              | 2      | 3      | 1      | 76.05                | 75.87   | 31.38                | 86.76 |
|                      | 7              | 3      | 1      | 3      | 79.73                | 82.60   | 12.98                | 97.20 |
|                      | 8              | 3      | 2      | 1      | 81.80                | 79.40   | 17.63                | 92.51 |
|                      | 9              | 3      | 3      | 2      | 80.26                | 85.02   | 50.69                | 94.99 |
| 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> | K <sub>1</sub> | 96.63  | 168.96 | 175.97 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>2</sub> | 224.23 | 196.59 | 189.09 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>3</sub> | 241.79 | 197.10 | 197.59 |                      |         |                      |       |
|                      | R              | 145.16 | 28.14  | 21.62  |                      |         |                      |       |
| 人参皂苷 Re              | K <sub>1</sub> | 62.61  | 170.32 | 163.50 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>2</sub> | 230.66 | 180.47 | 190.28 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>3</sub> | 247.02 | 189.50 | 186.51 |                      |         |                      |       |
|                      | R              | 184.41 | 19.18  | 26.78  |                      |         |                      |       |
| 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> | K <sub>1</sub> | 19.53  | 28.64  | 52.87  |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>2</sub> | 58.73  | 37.52  | 66.83  |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>3</sub> | 81.30  | 93.40  | 39.86  |                      |         |                      |       |
|                      | R              | 61.77  | 64.76  | 26.97  |                      |         |                      |       |
| 五味子醇甲                | K <sub>1</sub> | 174.22 | 238.27 | 228.49 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>2</sub> | 262.01 | 237.26 | 248.19 |                      |         |                      |       |
|                      | K <sub>3</sub> | 284.70 | 245.40 | 244.25 |                      |         |                      |       |
|                      | R              | 110.48 | 8.14   | 19.70  |                      |         |                      |       |

由直观分析可知,各因素对人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 透过率的影响顺序为 A>B>C,对人参皂苷 Re 和五味子醇甲影响顺序为 A>C>B,对人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 则为 B>A>C。方差分析表明膜孔径对人参皂苷 Rg<sub>1</sub>,Re,五味子醇甲具有显著性影响。考虑到膜的耐压

受限、使用寿命和膜通量,确定最佳超滤工艺 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即压力 11 psi,温度 45 ℃,膜孔径 50 000。

3 讨论

生脉注射液中主要指标成分的相对分子质量均<6 000,但孔径 6 000 的超滤膜对各指标成分的

表 3 透过率方差分析

| 方差来源                   | SS         | f | F       | P      |
|------------------------|------------|---|---------|--------|
| 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> A | 4 184. 615 | 2 | 57. 158 | <0. 05 |
| B                      | 172. 837   | 2 | 2. 361  | >0. 05 |
| C                      | 79. 090    | 2 | 1. 080  | >0. 05 |
| D( 误差)                 | 73. 21     | 2 |         |        |
| 人参皂苷 Re A              | 6 522. 223 | 2 | 96. 440 | <0. 05 |
| B                      | 20. 915    | 2 | 0. 309  | >0. 05 |
| C                      | 94. 427    | 2 | 1. 396  | >0. 05 |
| D( 误差)                 | 67. 63     | 2 |         |        |
| 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> A | 651. 286   | 2 | 4. 242  | >0. 05 |
| B                      | 821. 698   | 2 | 5. 352  | >0. 05 |
| C                      | 121. 280   | 2 | 0. 790  | >0. 05 |
| D( 误差)                 | 153. 540   | 2 |         |        |
| 五味子醇甲 A                | 2 182. 970 | 2 | 55. 603 | <0. 05 |
| B                      | 4. 944     | 2 | 0. 126  | >0. 05 |
| C                      | 58. 683    | 2 | 1. 495  | >0. 05 |
| D( 误差)                 | 39. 26     | 2 |         |        |

注:  $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

透过率较低,原因可能是因为人参皂苷表面活性剂的特性<sup>[10]</sup>,会在水溶液中聚集形成囊泡或胶束等,从而阻碍其透过超滤膜。温度升高能加剧分子运动,一般会有利于指标成分透过超滤膜膜孔,提高有效成分透过率,而国产聚砜材质膜不耐高温,故试验上限温度控制在 45 ℃。

[参考文献]

[ 1 ] 杨艳,王文正,何葆华. 超滤技术在中药注射剂中的应用研究进展[ J]. 化学与生物工程, 2010, 27 ( 12 ):5.

[ 2 ] 程鹏,武超,华剑,等. 超滤膜分离的技术原理及其在中药领域中的应用[ J]. 中国医药指南, 2010, 8 ( 11 ):47.

[ 3 ] 陈伟,张鹏,彭国平,等. 不同孔径超滤膜对栀子苷热原去除工艺的影响[ J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19( 10 ):11.

[ 4 ] 陈保红,耿亚,孟平英,等. 生脉注射液联合丹参注射液对小儿病毒性心肌炎的保护作用及机制研究[ J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19( 15 ):317.

[ 5 ] 李文芝. 生脉注射液的临床应用近况[ J]. 中国现代药物应用, 2012, 6( 5 ):118.

[ 6 ] 曹旭东,丁志山,陈建真. 参麦注射液药理作用研究及临床应用进展[ J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17 ( 3 ):104.

[ 7 ] 徐淑华,刘生友. 生脉注射液的药理作用研究进展[ J]. 中国药事, 2010, 24( 4 ):405.

[ 8 ] 余健,辛艳飞,宣尧仙. 参麦注射液药理作用的物质基础研究进展[ J]. 医药导报, 2013, 32( 4 ):497.

[ 9 ] 柳娟. 五味子药理作用研究进展[ J]. 黑龙江科技信息, 2011, 15( 35 ):48.

[ 10 ] 李贺敏,彭国平,郑云枫,等. 不同材质及不同截留分子量超滤膜对三七总皂苷热原去除及成分的影响[ J]. 中药材, 2011, 34( 12 ):1943.

[ 责任编辑 全燕 ]

欢迎订阅 2014 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。1994 年创刊,2002 年,被中国科学技术信息研究所的"中国科技论文统计源期刊"收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已相继被《中国科学引文数据库》、波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等知名检索系统收录。

本刊是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、流行病学调查、临床论著、实验研究、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学、综述等。

本刊为月刊,大 16 开国际开本,136 页,国内外公开发行,每册定价 10 元,全年 120 元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部,邮编:100700,电话:010-64014411-3278, E-mail:Lxx@mail. cintem. ac. cn。