

肝素钠及低分子肝素钠生产工艺技术

一、概况

1, 肝素钠 (Heparin Sodium) 系猪的肠黏膜中提取的硫酸氨基葡萄糖的钠盐, 属粘多糖类物质, 通过激活抗凝血酶III(AT-III) 而发挥抗凝作用。它对凝血过程的三个阶段均有影响, 在体内外均有抗凝作用, 可延长凝血时间、凝血酶原时间和凝血酶时间。口服不吸收, 皮下、肌肉或静脉给药均吸收良好。

医学统计显示, 目前心脑血管疾病成为人类死亡的首要原因, 作为临床应用最广泛和最有效的抗凝血、抗血栓药物之一, 肝素类药物需求十分强劲。而同时, 受限于原料资源的有限增长, 全球肝素原料药市场供给不能与需求同步增长, 尤其是符合美国 FDA 认证或欧盟 CEP 认证标准的肝素原料药已呈现供不应求的局面。

少为人知的是, 目前我国已是全球最大的肝素原料药出口国, 肝素原料药已成为我国西药类产品出口重点品种之一。不过, 虽然生产企业众多, 现阶段我国持有 SFDA 颁发的肝素原料药生产批准文号的企业有 24 家, 而取得美国 FDA 认证或欧盟 CEP 认证的肝素原料药生产企业数量更少, 其中仅 4 家同行业公司取得了欧盟 CEP 认证。

2, 低分子肝素钠:

低分子肝素 (low-molecular-weight heparin, LMWH) 是一类以未分级肝素为起始物料经过分级或降解而得到的具有较低分子量的低聚糖混合物。它具有抗 Xa 活性, 可抑制体内、体外血栓和动静脉血栓的形成, 但不影响血小板聚集和纤维蛋白原与血小板的结合。

EP7.0 和 BP2010 收录了 5 种不同工艺的 LMWH, 达肝素钠 (Dalteparin sodium)、依诺肝素钠 (Enoxaparin sodium)、那曲肝素钙 (Nadroparin calcium)、帕肝素钠 (Parnaparin sodium) 和汀肝素钠 (Tinzaparin sodium, 又名汀扎肝素)。

3, 主要生产商:

深圳市海普瑞药业有限公司, 上海第一生化药业有限公司, 南京健友生物化学制药有限公司, 烟台东诚生化有限公司, 常州千红生化制药有限公司, 东营天东生化工业有限公司等。

二、工艺流程

1、盐解: 将刮好的新鲜肠粘膜, 每 100 斤肠粘膜加入清水 100 斤, 按肠粘膜和水的总重量, 加入 4% 的工业盐, 搅拌均匀, 再加烧碱液调 PH 值为 8—9, 缓慢升温 50—55 度, 加温时每 10—20 分钟加水搅拌一次, 恒温 2 小时, 注意要间隔搅拌。恒温结束后, 要快速升温到 96—98 度, 恒温 10 分钟, 趁热捞出上层的渣子。用 100 目尼龙布过滤。

注意：

加盐过多会使下一步交换吸附含量超过规定，加盐过少，肝素和蛋白质分离不完全，碱性过强，会使肝素降解破坏，收率下降。同时还能使一些蛋白质溶解度增大，造成过滤困难。碱性不足造成提取液偏酸，则在高温的情况下，肝素迅速破坏，升温过急会使蛋白质早凝固，影响肝素的分解和溶出。

2、吸附：待提取液温度冷至 50—55 度，应检测盐浓度为 3.5—5%时，即可加入 5%已处理号的树脂。如树脂上含有盐水，需用清水将树脂洗净控干，方可使用。搅拌吸附 6—8 小时，转速 60—80 转/分钟为宜，搅拌须使树脂上下翻动，否则吸附效果差，收率低。吸附完毕，弃去上层吸附液，然后用 100 目的尼龙布过滤出树脂。加入提取液的树脂量：新树脂可按提取液的 5—6%加入，旧树脂可按提取液的 8—10%。

3、洗涤：过滤后的树脂用 40 度左右的温水，漂洗干净。再放入与树脂重量相等的盐溶液中(盐溶液的浓度为 5%左右)洗涤 10—20 分钟，除去低分子肝素和一些蛋白质，然后将树脂过滤。

4、洗脱：第一次洗脱将过滤号的树脂放入浓度为 20—22%的盐溶液中搅拌洗脱 5—6 小时，树脂和盐水的比例为 1：0.7。过滤后将树脂控干进行第二次洗脱，调盐溶液浓度为 16—18%，搅拌 3 小时以上，树脂和盐水的比例与第一次相同，过滤后的水即是药液。

5、除杂：将稀碱水加入洗脱后的药液里，要快搅慢加，调 PH 值为 10—12 搅拌 2 分钟，静止沉淀 20 小时后，抽出上层药液，下沉的是杂质，且渣子放另外桶内过滤。过滤后的药液和下次药液除杂时合并待用。

6、沉淀：将抽出除杂后的药液加入盐酸调 PH 值为 7—7.5，即可加入酒精进行沉淀。向药液里加入酒精要快搅慢加。(由于酒精的浓度不同，因此沉淀肝素的酒精用量不等)用酒精计测量酒精度为 30—35%，加盖密封，沉淀 20 小时。弃去废酒精收集糊状肝素。注意在抽出废酒精时，不可抽动沉淀的肝素。将多次生产的肝素钠浆收集在一起，以备集中脱水干燥。

7、脱水：将生产的肝素钠浆，用双层的确良布过滤后放入 95%的酒精内浸泡 20 小时，加盖密封。过滤后按上述方法重复一次，使其充分的将肝素上的水分交换下来。

8、干燥：待肝素钠浆沥干后，放在不锈钢盘中烘干，用铲子来回的翻动，温度保持在 50—55 度，注意温度低于要求是不易烘干的，温度高于 60 度时会使肝素钠的生物活性下降。干燥后的肝素很易吸潮，应及时用双层塑料袋密封包装，于通风干燥处存放。