

· 论 著 ·

舒通胶囊提取工艺的优选

曾 明, 赵维娟, 甘 静, 陈 艳

[摘要] 目的 优选舒通胶囊的最佳提取工艺。方法 采用正交设计法, 以浸膏量及高效液相色谱法测定柚皮苷的含量, 筛选出舒通胶囊的优化提取条件。结果 最佳提取工艺为 10 倍量水煎煮提取 2 次, 每次 1 h。结论 该提取工艺稳定性、重复性好, 为该制剂的生产提供了实验依据。

[关键词] 舒通胶囊; 正交实验; 柚皮苷; 浸膏量

[中图分类号] R581.1 [文献标志码] A [文章编号] 1672-271X(2011)02-0133-03

Study on the extraction process of Shutong capsules

ZENG Ming, ZHAO Wei-juan, GAN Jing, CHEN Yan. The Pharmacology Department of Beijing Military Command General Hospital, Beijing 100700, China

[Abstract] Objective To optimize the process of the Shutong capsules. Methods The orthogonal test was employed for selecting the optimum of the extraction technology to screen out the best extraction process by measuring the contents of naringin and the evaluation of extracts. Results The best extraction process includes 10 times volume of water for boiling for 2 times, each time for 1h. Conclusion This method is stable, replicable and feasible, and can be used for industrial production.

[Key words] Shutong capsules; orthogonal test; naringin; extract

舒通胶囊由白术、枳壳、木瓜等多味中药组成, 主治脾失健运为主证的老年习惯性便秘, 临床及药理实验表明具有较好的通便作用, 本实验以高效液相色谱(HPLC)法测定药效成分提出率和浸膏量为指标, 采用正交实验设计, 考察舒通胶囊的最佳提取工艺, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 1050 series 高效液相色谱仪(美国惠普公司), 包括 Agilent 1050 四元泵, G79853A 紫外检测器; 80-2 离心沉淀机(上海手术器械厂); 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司)。

1.2 试药 白术、枳壳等中药饮片(北京军区总医院中药房); 柚皮苷对照品(购于中国药品生物制品检定所, 批号: 100722-200706); 其他试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 柚皮苷含量测定方法学的建立

1.3.1.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C18, 4.6 mm × 250mm, 5 μm; 柱温: 25℃; 流动相: 乙腈-水(20: 80)(用磷酸调节 pH 至 3); 流速 1.0 ml/min;

进样体积 10 μl; 检测波长 283 nm。在上述条件下测定, 供试品溶液中柚皮苷的色谱峰与其他组分能达到良好分离, 保留时间 13 min 左右; 阴性对照样品在柚皮苷的保留时间位置上无干扰峰。

1.3.1.2 方法学考察 对柚皮苷含量测定进行方法学考察, 得到线性回归方程: $Y = 0.6668X - 3.3862$, $r = 0.9999$, 柚皮苷含量测定线性范围在 50 ~ 1500 ng, 最低检测限 5 ng。精密度试验, 柚皮苷的 RSD(相对标准偏差)为 0.65% ($n = 5$); 重复性试验结果, RSD 为 0.18% ($n = 5$); 加样回收率试验, 柚皮苷的平均回收率为 99.91%, RSD 为 2.02% ($n = 6$)。

1.3.2 舒通胶囊提取工艺优选 选择提取溶剂用量(A)、提取时间(B)和提取次数(C)3 个因素进行考察, 每个因素选择 3 个水平, 见表 1。根据所制定的因素水平选用 $L_9(3^4)$ 正交表设计方案进行提取, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩。以浸膏量和柚皮苷含量为考察指标, 优选舒通胶囊的提取条件。

1.3.3 中药浸膏制备 按处方 1/4 量取干燥的白术、枳壳、木瓜等药材, 共称 9 份, 按表 1 设计方案进行提取, 减压干燥, 干燥至恒重, 称重。

1.3.4 柚皮苷含量测定 按处方 1/4 量取干燥的白术、枳壳、木瓜等药材, 共称 9 份, 按表 1 设计方案进行提取, 滤过, 浓缩, 取浸膏约 0.5 g, 精密称定,

作者简介: 曾 明(1963-), 男, 江西南昌人, 博士, 主任药师, 主要从事中药新药研发、药物基因组学研究

作者单位: 100700 北京, 北京军区总医院药理科

加甲醇 50 ml, 超声处理 20 min, 静置, 滤过, 精密量取 20 ml 溶液。蒸干, 残渣加水 5 ml 使其溶解, 通过聚酰胺柱 (50 ~ 180 目, 2 g, 内径 1.8 cm, 湿法装柱), 以水 25 ml 洗脱, 弃去水液, 再用甲醇 50 ml 洗脱, 收集洗脱液, 转移至 50 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。样品测定前, 用 0.45 μm 的微孔滤膜, 取续滤液 10 μl 进样。照“1.3.1.1”项下方法进行含量测定。

2 结果

2.1 因素水平 见表 1。

2.2 正交实验设计及实验数据 见表 2。

2.3 最佳工艺 由表 3 直观分析, 各因素对提取率影响的顺序依次为提取浸膏量 $A > C > B$, 最佳工艺 $A_3B_1C_3$; 柚皮苷 $A > C > B$, 最佳工艺 $A_3B_1C_3$; 方差分析结果, 因素 A 即提取溶媒体积对提取率有显著影响。综合考察上述各结果, 考虑到成本及效率因素, 确定优化提取工艺为 $A_3B_3C_2$ 。

表 1 因素水平表

水平	水量/倍(A)	提取时间/h (B)	次数(C)
1	6	2	1
2	8	1.5	2
3	10	1	3

表 2 正交实验设计及实验数据

试验号	A	B	C	浸膏量(g)	柚皮苷($\mu\text{g/ml}$)
1	1	1	1	19.650	1.657
2	1	2	2	22.370	1.986
3	1	3	3	23.020	1.582
4	2	1	2	36.710	4.571
5	2	2	3	37.250	4.365
6	2	3	1	30.150	2.369
7	3	1	3	40.220	5.942
8	3	2	1	26.720	3.732
9	3	3	2	39.440	5.729
沉淀量					
K1	21.680	32.193	25.507		
K2	22.953	28.780	32.840		
K3	35.460	30.870	33.497		
R	13.780	3.413	7.990	$A > C > B$	
柚皮苷					
K1	19.967	7.642	2.586		
K2	8.515	7.948	4.095		
K3	3.918	9.088	3.963		
R	18.035	2.012	1.509	$A > C > B$	

2.4 工艺验证 按处方 1/4 量取干燥的白术、枳壳、木瓜等药材 3 份, 按优选出的提取工艺 $A_3B_3C_2$ 进行提取, 并照方法学考察中的测定方法, 测定柚皮苷的含量, 结果分别为 0.5532%、0.5439% 和 0.5673%, 表明优选出的工艺条件稳定、合理可行。

表 3 方差分析表

测定项目	方差来源	离均差平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
浸膏量	A	360.068	2	180.034	21.556	0.044
	B	17.770	2	8.885	1.065	0.485
	C	118.049	2	59.025	7.067	0.124
	误差	16.704	2	8.352		
柚皮苷	A	17.484	2	8.742	27.290	0.035
	B	1.191	2	0.595	1.859	0.350
	C	4.192	2	2.096	6.543	0.133
	误差	0.641	2	0.320		

3 讨论

舒通胶囊具有健脾行气, 补血润肠通便之功效, 用于治疗脾失健运、阴亏津枯肠燥之便秘。枳壳具有理气宽中、行痰消痞与散积功能, 为本方的主药。杨武亮等^[1]从枳壳具有促进正常小鼠胃肠运动的提取物中分离得到 12 个化合物。近年来, 研究枳壳化学成分的报道越来越多, 尤其是黄酮类成分^[24]。在药物代谢方面集中在柚皮苷单体的体内代谢过

程^[5-6], 《中国药典》2005 年版一部在定量测定项下采用 HPLC 测定柚皮苷的量来控制枳壳的质量^[7], 故本制剂采用柚皮苷含量作为控制其质量的指标性成分。

笔者等在中药新药工艺研究中多次运用正交设计, 取得了良好的效果^[8]。在本次正交试验中, 以柚皮苷含量、浸膏量为优化指标对各提取液进行含量测定, 确定最佳工艺为 $A_3B_1C_3$, 通过方差分析,

(下转第 137 页)

18 株菌对常用抗菌药物均高度耐药,其中对 SUP 敏感的只有 4 株,可能是因为其他菌株在产 MBLs 的同时还产 AmpC 酶,还可能与携带多种 β 内酰胺酶基因有关^[6]。CR-PA 对 LVX、AMK 呈高耐药性,可能是因为主动泵出机制也参与了细菌耐药的形成^[7];对 AMK 耐药严重还可能与氨基糖苷类修饰酶的存在有关^[8]。只有 1 株对 FEP 和 CAZ 敏感,可能与我院临床长期大量使用头孢类抗生素有关。MBLs 能够水解包括碳青霉烯类抗生素在内的所有 β -内酰胺类药物^[9]。本研究中,18 株菌有 14 株产 MBLs,其中 4 株仅产 MBLs。提示产 MBLs 可能是铜绿假单胞菌对碳青霉烯类耐药的机制之一。因此,临床应综合考虑感染菌的耐药表型和药敏结果,合理选择抗菌药物。对 MBLs 阳性的感染菌,即使亚胺培南体外药敏结果敏感,临床也应慎用。

耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌的治疗现已成为临床亟待解决的难题,对碳青霉烯类耐药将意味着同时对多种抗菌药物耐药。本研究显示,头孢哌酮/舒巴坦联合阿米卡星的协同率最高(61.1%),没有发现交叉耐药;而亚胺培南与阿米卡星联合却以拮抗作用为主(44.4%)。由此得出结论,临床对耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌引起的感染应使用含酶抑制剂复合药物(如哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦)联合阿米卡星来治疗。

【参考文献】

- [1] 赵苏瑛,吴倩,李克涓,等.耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌金属酶的筛选及分型研究[J].中国感染与化疗杂志,2009,9(1):48-51.
- [2] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement [S]. CLSI, 2009 (M100-S19):44-45.
- [3] 沈定霞,罗燕平,崔岩,等.分离产金属 β -内酰胺酶的铜绿假单胞菌[J].中华医院感染学杂志,2004,14(4):86-88.
- [4] 褚海青,任胜祥,李惠萍.下呼吸道标本铜绿假单胞菌感染产 AmpC 酶和 ESBLs 酶的研究[J].中国感染与化疗杂志,2006,6(1):22-26.
- [5] 田磊,李莉,张蓓,等.阴沟肠杆菌 AmpC 酶与 ESBLs 酶的研究[J].中华医院感染学杂志,2009,19(15):1941-1943.
- [6] 黄文密,杨丽蓉,糜祖煌,等.亚胺培南耐药铜绿假单胞菌消毒剂及 β 内酰胺类抗生素耐药相关基因研究[J].东南国防医药,2005,7(3):172-175.
- [7] 刘忆霜,肖春玲.细菌多重耐药外排泵抑制剂研究进展[J].中国抗生素杂志,2007,32(4):211-215.
- [8] 陈建中,黄文密,仵蕾,等.4 种非发酵糖革兰阴性杆菌氨基糖苷类修饰酶基因研究[J].东南国防医药,2007,9(3):161-164.
- [9] 徐俊芳,吴菊芳.多重耐药铜绿假单胞菌感染[J].中国感染与化疗杂志,2007,7(20):141-144.

(收稿日期:2010-10-26;修回日期:2011-01-02)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)

(上接第 134 页)

发现提取时间是最小影响因素,其次是提取次数,对提取条件影响较大的因素为提取溶媒水的体积分数,考虑到生产效率和成本,最终确定提取工艺为 $A_3B_3C_2$,即 10 倍量水煎煮提取 2 次,每次 1 h。

【参考文献】

- [1] 杨武亮,陈海芳,余金宝,等.枳壳活性化学成分研究[J].中药材,2008,31(12):1812-1815.
- [2] Zhou DY, Xu Q, Xue XY, et al. characterization of polymethoxylated flavones in Fructus aurantii by off-line two-dimensional liquid chromatography/electrospray ionization-ion trap mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2009,49(2):207-213.
- [3] Si PY, He Q, Song Y, et al. Characterization and identification of isomeric flavonoid O-dinglycosides from genus Citrus in negative electrospray ionization by iontrap mass spectrometry [J]. Anal

Chim Acta, 2007, 598(1):110-118.

- [4] Zhou DY, Xu Q, Xue XY, et al. Rapid qualitative and quantitative analyses of flavanone aglycones in Fructus aurantii by HPLC ion-trap MS[J]. J Sep Sci, 2007,598(1):858-867.
- [5] Fang TZ, Wang YG, Ma Y, et al. A rapid LC/MS/MS quantitation assay for naringin and its two metabolites in rats plasma [J]. J Pharm Biomed Anal, 2006,40(2):454-459.
- [6] 马超一,高温远,高颖,等.枳壳化学成分和代谢成分的 UP-LC-PAD-Q-TOF/MA 分析[J].药物评价研究,2010,33(2):110-115.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典一部[S].北京:化学工业出版社,2005:171-172.
- [8] 陈艳,许茜,许景峰,等.正交设计优化姜香脐贴中木香醇提工艺[J].东南国防医药,2010,12(1):39-40.

(收稿日期:2010-09-29;修回日期:2010-12-04)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)