

· 工艺与制剂 ·

不同粒径的复方丹参粉末的稳定性考察

胡鹏翼, 龚莹莹, 郑琴, 岳鹏飞, 伍振峰, 杨明*

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**考察高温、高湿、光照条件下超微粉碎对复方丹参粉末中各指标成分稳定性的影响。**方法:**制备不同粒径的复方丹参粉末,以综合变化率为评价指标,运用 HPLC 测定各粒径粉末分别在高湿、高温、光照条件下放置 5, 10 d 后指标成分的含量变化。**结果:**高湿条件下,丹参中隐丹参酮和丹酚酸 B 的含量降低幅度较大,以粗粉的含量降低幅度最大,微粉 II 的变化最小;高温对丹参酮 I、丹参素和丹酚酸 B 的影响较明显,其中微粉 I 的含量变化幅度较大,微粉 II 的变化最小;光照对丹参中各指标成分的影响均较大,粗粉受光照的影响最大,微粉 II 受光照影响影响最小;不同粒径复方丹参粉末中三七的各指标成分对高温、高湿和光照均较稳定。**结论:**光照对不同粒径的复方丹参粉末中各指标成分的稳定性影响最大,应避免光保存;随着粒径的减小,复方丹参粉末的稳定性呈现先变好后变差的趋势,以微粉 II 的稳定性为最佳。

[关键词] 复方丹参片; 丹参酮 I; 隐丹参酮; 丹参酮 II_A; 丹酚酸 B; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 R_{g1}; 人参皂苷 R_{b1}

[中图分类号] R283.1; R283.6; R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130001

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1451.001.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 14:51

Investigation of Stability of Compound Danshen Powders with Different Particle Sizes

HU Peng-yi, GONG Ying-ying, ZHENG Qin, YUE Peng-fei, WU Zhen-feng, YANG Ming*

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate influence of surperfine grinding on stability of index components in compound Danshen powders under high temperature, high humidity and light conditions, respectively. **Method:** Compound Danshen powders with different particle sizes were prepared, taking comprehensive change rate of index components as index, after exposed them to high humidity, high temperature and light for five and ten days, HPLC was employed to determine content change of index components in compound Danshen powders with different particle sizes. **Result:** Under condition of high moisture, contents of cryptotanshinone and salvianolic acid B decreased much more among different compound Danshen powders, coarse powder decreased most, micropowder II decreased least. High temperature had more obvious effect on tanshinone I, tanshinol and salvianolic acid B, micropowder I changed most, micropowder II changed least. Light had most obvious effect on all index components, coarse powder changed most, micropowder II changed least. Index components of Notoginseng Radix et Rhizoma from compound Danshen powders were stable after being exposed to high humidity, high

[收稿日期] 20131012(019)

[基金项目] 江西中医药大学药学院“卓越工程师培养计划”项目(ZYGC011);江西中医药大学研究生创新基金项目(JZYC11A02)

[第一作者] 胡鹏翼, 讲师, 在读博士, 从事药物新剂型与新技术、中药复方释药系统研究, Tel: 0791-87118658, E-mail: hpy820515@126.com

[通讯作者] * 杨明, 教授, 博士生导师, 从事药物新剂型与新技术、中药复方释药系统研究, Tel: 0791-87118658, E-mail: yangming16@126.com

temperature and light. **Conclusion:** Light had the greatest effect on index components in compound Danshen powders with different particle sizes, which showed that these powders should be stored away from light. With decreasing of particle size, stability of compound Danshen powders showed tendency of becoming better and then worse, micropowder II had the most stable.

[**Key words**] compound Danshen tablets; tanshinone I; cryptotanshinone; tanshinone II_A; salvianolic acid B; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁

将复方丹参片中丹参、三七超微粉碎后,不进行煎煮、浸提等处理,直接全粉末压片,可简化提取过程,达到了有效成分损失减少、药材利用率提高、生产成本降低的目的。目前,中药超微粉碎的研究主要集中于考察指标成分提取率^[1]、溶出特性^[2]、粉体学性质^[3]、生物利用度及药理作用^[4]等的变化。本实验以丹参中脂溶性成分(丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A)和水溶性成分(丹参素、丹酚酸 B)、三七中指标成分(三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁)含量为评价指标,考察不同粒径的复方丹参粉在高湿、高温和光照 3 种条件下的稳定性,为超微粉碎在中药复方制剂的推广应用提供参考。

1 材料

YF-103 型高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司),GZX-9140MBE 型数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),LHH-150 GSP 型药品综合稳定性试验箱(香港蓝豹科技有限公司监制),WZJ6BI 型振动式药物超微粉碎机(济南贝利粉技术工程有限公司),MS2000 型激光粒度仪(英国 Malvern 公司),1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),KFS-1000 型电子天平(中国凯峰集团),BSA223S 型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

丹参、三七购买于安国市万顺达药材行,批号分别为 20111213,20111213,经江西中医药大学龚千峰教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎;丹参酮 II_A、丹参酮 I、隐丹参酮、三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110766-200619, 0867-200605, 110852-200806, 10745-200617, 110704-201223, 110703-201128),丹参素对照品(南昌贝塔生物科技有限公司,批号 10309-201209),丹酚酸 B 对照品(成都瑞芬斯生物科技有限公司,批号 D-012-121112),冰片(濮阳盛华德化工有限公司),甲醇、乙腈为色谱纯,水为自制双蒸水,其他试剂均为分

析纯。

2 方法与结果

2.1 复方丹参粗粉和超微粉的制备 将丹参和三七分别用高速中药粉碎机粉碎,过三号筛,冰片用研钵研磨成细粉。按 2010 年版《中国药典》中复方丹参片处方量分别称取已粉碎的丹参粗粉、三七粗粉及冰片,混合后均分成 2 份,1 份为复方丹参粗粉;另一份放入超微粉碎机中粉碎,振幅 5 mm,控制温度 5~10 ℃,分别于 5,15,25,35 min 取样,得复方丹参超微粉 I, II, III, IV。

2.2 粒径测定 取适量粗粉和超微粉 I, II, III, IV,分别加水制成混悬液,以水为分散剂,采用 MS2000 型激光粒度仪湿法测定粉末粒径,见表 1,结果表明随超微粉碎时间的延长,超微粉粒径减小,跨距亦减小,当粉碎时间 > 25 min 后,粒径变化较小。

表 1 复方丹参粉末的粒径测定

	$d_{0.1}/\mu\text{m}$	$d_{0.5}/\mu\text{m}$	$d_{0.9}/\mu\text{m}$	跨距
粗粉	9.890	135.488	432.059	3.116
微粉 I	5.588	34.635	140.047	3.882
微粉 II	4.345	15.797	70.457	4.198
微粉 III	3.960	12.631	38.335	2.721
微粉 IV	3.685	11.305	28.649	2.208

注:跨距 = $(d_{0.9} - d_{0.1})/d_{0.5}$ 。

2.3 指标成分的含量测定

2.3.1 供试品溶液的制备

2.3.1.1 丹参脂溶性成分 精密称取不同粒径的复方丹参粉末 0.6 g,分别置于 100 mL 锥形瓶中,各加入甲醇 50 mL,称重,超声提取 30 min,用甲醇补足减失的质量,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3.1.2 丹参水溶性成分 精密称取不同粒径的复方丹参粉末 0.4 g,分别置于 100 mL 锥形瓶中,各加水 50 mL,超声提取 30 min,提取液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3.1.3 三七 精密称取不同粒径的复方丹参粉末 0.8 g,按 2.3.1.1 项下方法制备供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备

2.3.2.1 丹参脂溶性成分 精密称取丹参酮Ⅱ_A、丹参酮Ⅰ和隐丹参酮对照品适量,分别加甲醇制成0.25,0.2,0.8 g·L⁻¹的对照品母液。分别精密移取母液150,200,60 μL,置于同一5 mL量瓶中,加甲醇定容,即得。

2.3.2.2 丹参水溶性成分 精密称取适量丹参素对照品,加乙腈-0.3%甲酸水(10:90)混合液溶解,配制0.2 g·L⁻¹的母液;精密称取适量丹酚酸B对照品,加100%乙腈溶解,制成1 g·L⁻¹的母液。精密移取丹参素母液1.8 mL和丹酚酸B母液150 μL,置于同一5 mL量瓶中,加乙腈定容,即得。

2.3.2.3 三七 精密称取适量三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Rb₁对照品,分别加甲醇制成0.5,0.8,0.8 g·L⁻¹的母液,分别精密移取母液0.8,1,1 mL,置于同一5 mL量瓶中,加甲醇定容,即得。

2.3.3 色谱条件

2.3.3.1 丹参脂溶性成分 Phenomenex Luna C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(80:20),流速1 mL·min⁻¹,柱温20 ℃,检测波长254 nm,进样量20 μL。

2.3.3.2 丹参水溶性成分 Phenomenex Luna C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.3%甲酸水(B)梯度洗脱(0~5 min,10% A;5~10 min,10%~30% A;10~15 min,30%~82% A),流速1 mL·min⁻¹,柱温20 ℃,检测波长280 nm,进样量20 μL。

2.3.3.3 三七中指标成分 Hypersil ODS C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~20 min,20%~40% A),流速1 mL·min⁻¹,柱温30 ℃,检测波长203 nm,进样量20 μL。

2.4 湿度对不同粒径粉末稳定性的影响^[5] 称取不同粒径的复方丹参粉末各2份,置于扁型称量瓶中,摊成≤10 mm厚的薄层,打开瓶盖,置于相对湿度75%的密闭干燥器中,室温下放置10 d,分别于0,5,10 d取样,按2.3项下方法测定,结果见图1。表明在高湿条件下,随放置时间的延长,丹参中隐丹参酮和丹酚酸B的含量降低幅度较大,三七中各指标成分较稳定。

2.5 温度对不同粒径粉末稳定性的影响^[5] 称取不同粒径的复方丹参粉末各2份,置于扁型称量瓶中,摊成≤10 mm厚的薄层,打开瓶盖,置于60 ℃烘箱中10 d,分别于0,5,10 d取样,按2.3项下方法

测定,结果见图2。表明高温对不同粒径粉末中丹参酮Ⅰ、丹参素和丹酚酸B含量的影响均较大,隐丹参酮在粗粉中含量有少量降低,丹参酮Ⅰ在微粉Ⅰ中变化幅度较大,丹参素在微粉Ⅳ中变化幅度较大,丹酚酸B含量在粗粉中降低幅度最大;三七中的各指标成分相对较稳定。

2.6 光照对不同粒径粉末稳定性的影响^[5] 称取不同粒径的复方丹参粉末各2份,置于扁型称量瓶中,摊成≤10 mm厚的薄层,打开瓶盖,置于光照强度4 200 xl的药品综合稳定性试验箱中10 d,分别于0,5,10 d取样,按2.3项下方法测定,结果见图3。表明光照对丹参中各指标成分的影响均较大,不同粒径粉末中各指标成分的含量均有不同程度的变化;三七中各指标成分较稳定。

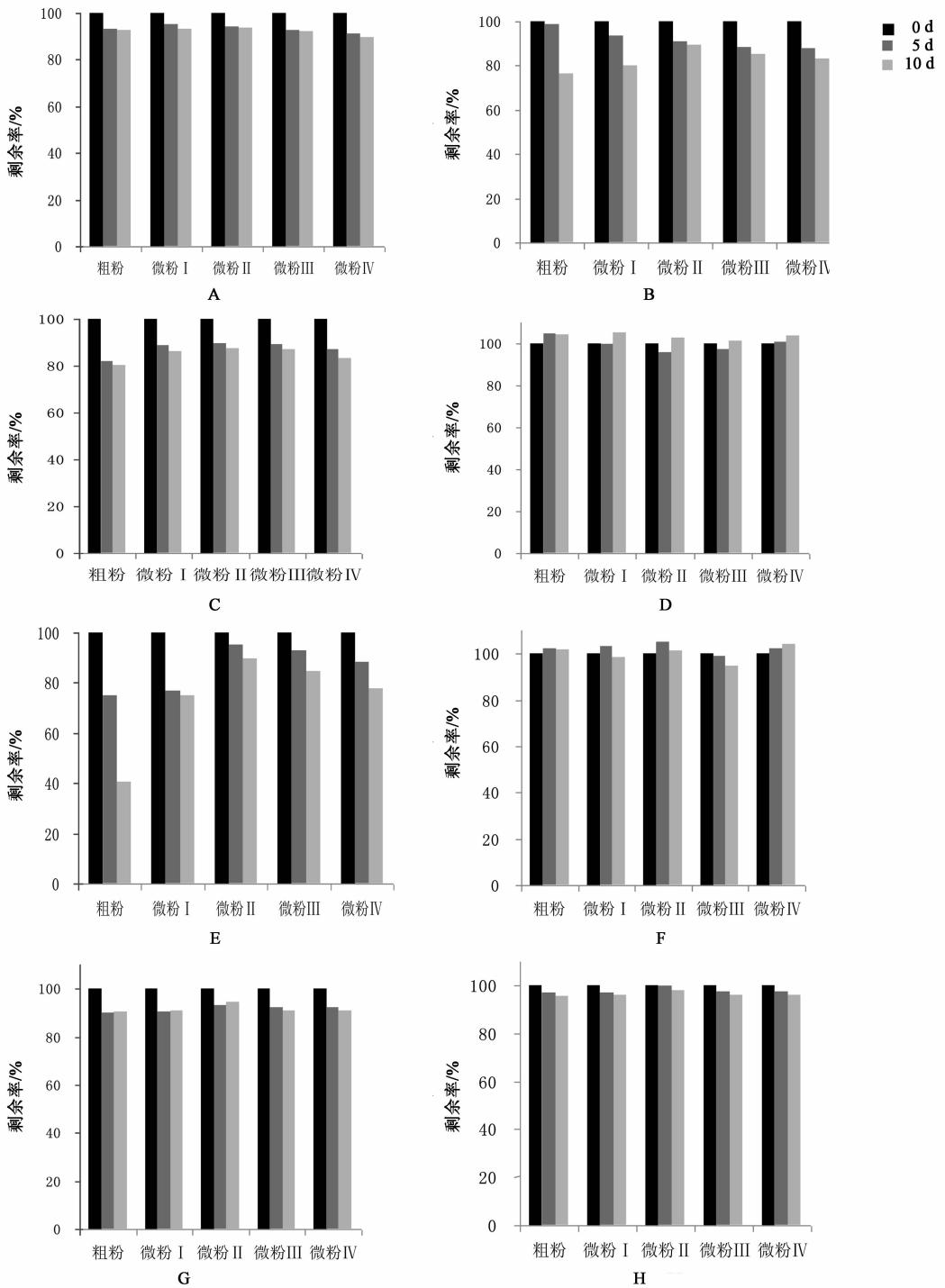
2.7 综合变化率评价^[6] 由于不同粒径粉末中各指标成分在高温、高湿、光照下的变化均不相同,故采用“欧氏距离”变化的百分数来表示这些成分的综合变化量,称之为综合变化率(V),综合变化率越小,表明该粒径粉末的稳定性相对较好。

$$V = \left[\frac{\sum_{k=1}^n W_i (X_{ik} - X_{rk})^2}{\sum_{k=1}^n X_{rk}} \right] \times 100\%$$

式中X_{ik}为第k个成分在i(5,10 d)时的质量分数,X_{rk}为第k个成分在初始样品中的质量分数(100%),W_i为权重因子,表示相对生物活性,选择的8个成分均具有生物活性,故W_i均设定0.125,结果见表2。表明不同粒径的复方丹参粉末在高温、高湿及光照条件下放置5,10 d后,8个成分的综合变化率均较大,以光照的影响最大;微粉Ⅱ的综合变化率相对其他粒径粉末较小,说明相对稳定。不同粒径复方丹参粉末中各活性成分在高温、高湿环境中,前5 d的变化速率较快,后5 d的变化速率

表2 不同粒径复方丹参粉末在不同条件下

	条件	8个活性成分的综合变化率					%
		粗粉	微粉Ⅰ	微粉Ⅱ	微粉Ⅲ	微粉Ⅳ	
放置5 d后	高湿	11.83	10.19	6.38	7.16	8.57	
与0 d相比	高温	13.09	14.01	11.05	11.77	9.86	
	光照	23.76	18.58	15.95	16.71	16.95	
放置10 d后	高湿	20.10	13.00	7.52	9.93	12.55	
与0 d相比	高温	19.58	21.43	14.47	15.41	15.87	
	光照	37.05	33.73	29.20	29.62	29.58	
放置10 d后	高湿	8.27	2.81	1.14	2.77	3.98	
与5 d相比	高温	6.49	7.42	3.42	3.64	6.01	
	光照	13.29	15.15	13.25	12.91	12.63	



A. 丹参酮 I; B. 隐丹参酮; C. 丹参酮 II_A; D. 丹参素; E. 丹酚酸 B; F. 三七皂苷 R₁; G. 人参皂苷 Rg₁; H. 人参皂苷 Rb₁ (图 2, 3 同)

图 1 湿度对不同粒径复方丹参粉末中指标成分稳定性的影响

减小并趋于稳定;而光照对各活性成分的影响则随时间的延长而持续影响。

3 讨论

复方丹参方由丹参、三七、冰片组成,丹参为君药,三七为臣药,冰片为佐使药,由于实验条件有限同时考虑到冰片在方中用量较小,故本文仅考察了

不同粒径的复方丹参粉末中丹参和三七中活性成分的稳定性。

不同粒径复方丹参粉末中丹参的各指标成分在高温、高湿、光照条件下含量均有不同程度的变化,而三七的各指标成分含量变化幅度较小,相对较稳定,说明三七粗粉和超微粉的稳定性均较好,粒径的

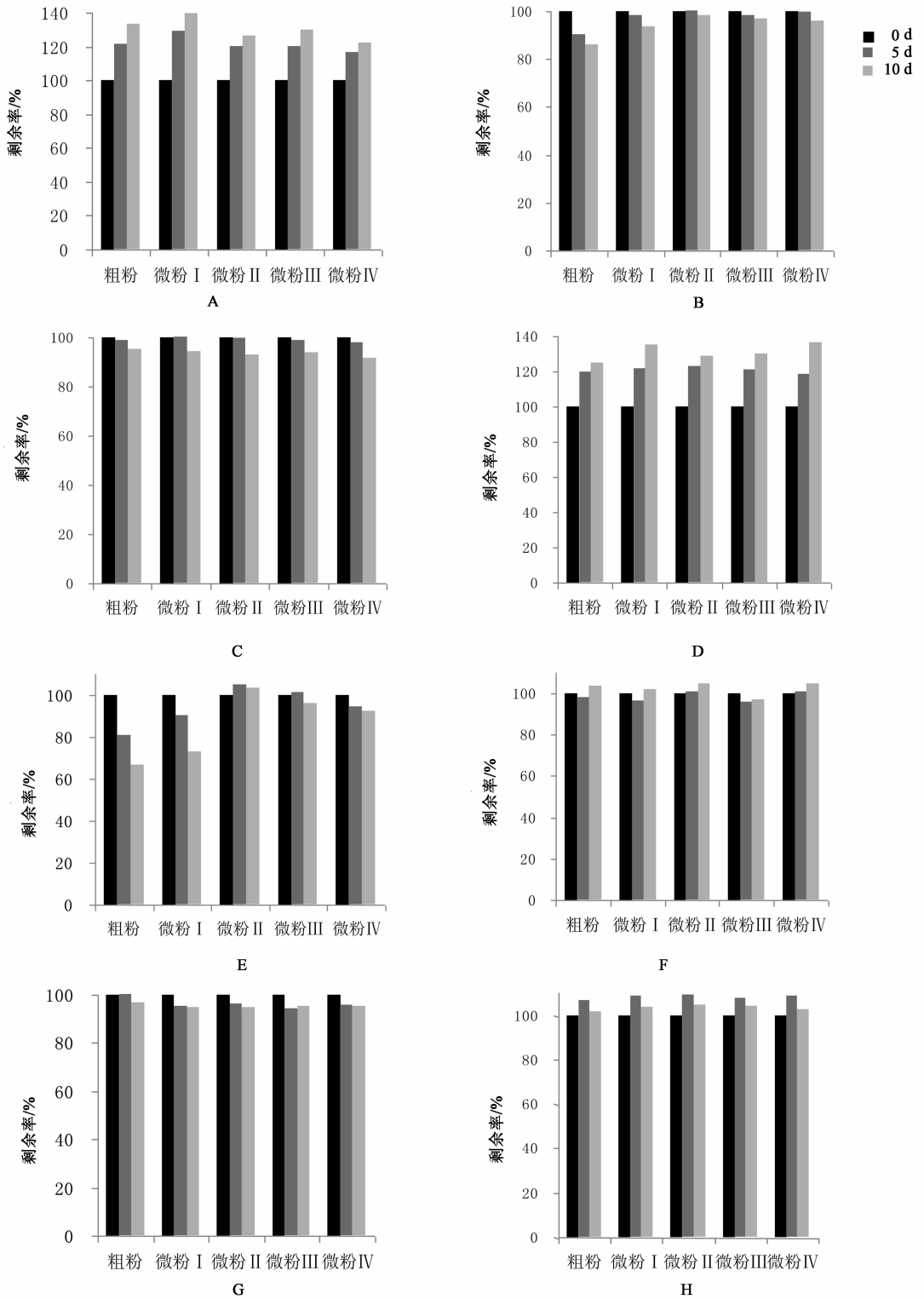


图2 温度对不同粒径复方丹参粉末中指标成分稳定性的影响

减小未影响三七中指标性成分的稳定性。丹参中各指标成分在光照条件下含量变化幅度高湿、高湿条件下更为显著,故复方丹参粉末应避免强光照射,需避光保存。

隐丹参酮在高湿条件下含量会有一定程度的下

降,粗粉由于粒径较大,表面积比微粉小,吸湿相对较慢,故前5 d含量变化较小,而到10 d时,粉末的湿度较大,因此含量降低较大;微粉则由于粒径小吸湿快,因此在5 d时含量已经会降低一些,随着放置时间的延长含量继续减少。高温条件下,粗粉中隐

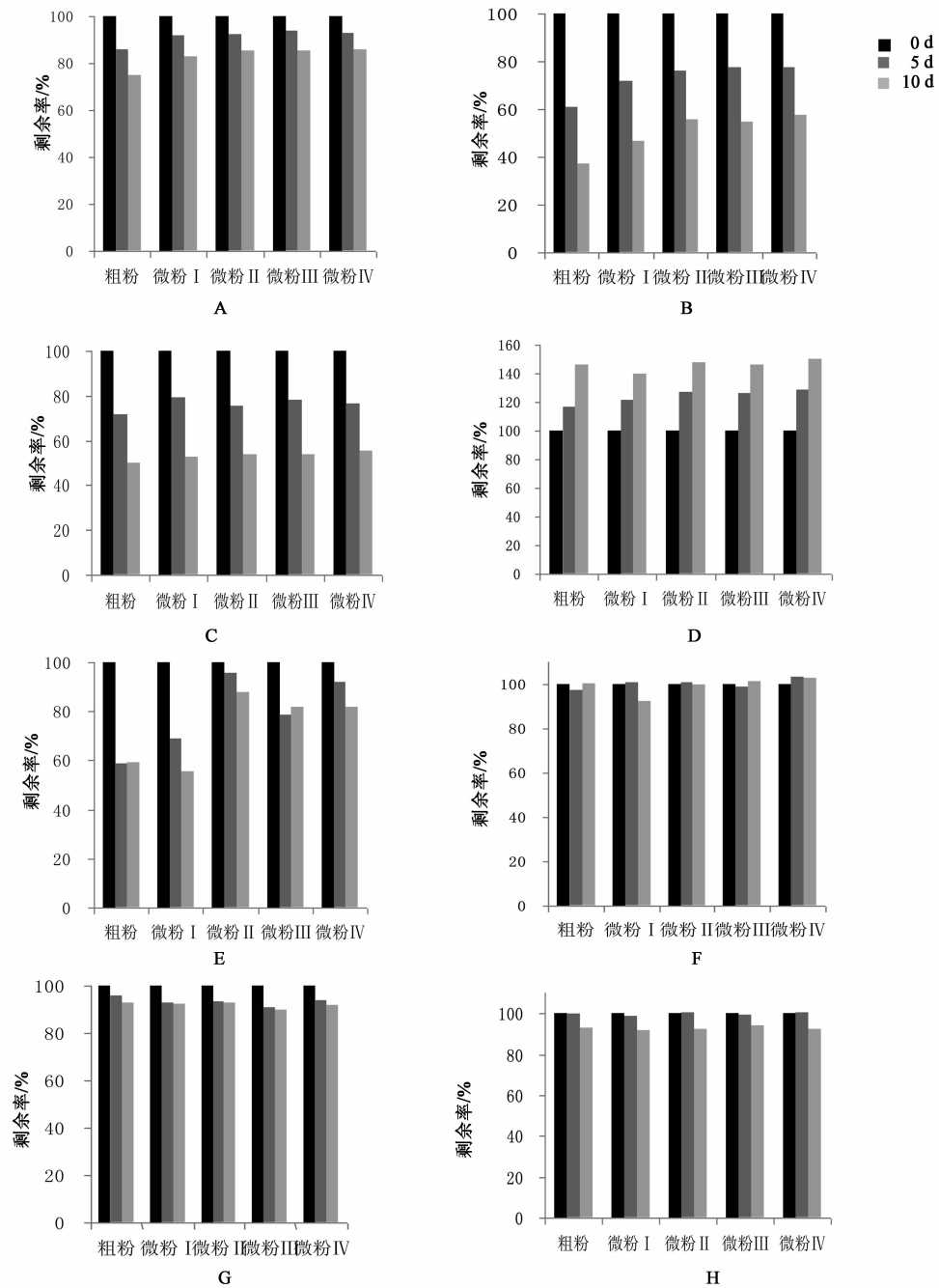


图 3 光照对不同粒径复方丹参粉末中指标成分稳定性的影响

丹参酮含量降低,微粉中则较稳定;光照条件下各粉末中隐丹参酮均不稳定。李士博等^[7]研究发现隐丹参酮溶液对热极不稳定,结合本文研究结果,表明隐丹参酮以粉末形式存在较溶液要稳定。刘梅^[8]等研究显示丹参酮 II_A 对照品溶液在 90 ℃ 高温和强光照下不稳定,会发生降解反应;崔颖^[9]等研究表明丹参酮 II_A 的分解虽受温度影响,但在药材中较稳定,与本文研究结果一致,说明丹参酮 II_A 与隐丹参酮类似,高温仅对其以溶液形式存在时影响较大。丹参酮 I 在高湿条件下较稳定,高温会使其含

量增加,原因可能为丹参中其他成分转化为丹参酮 I 所致,而光照使其含量下降。

丹参素在高湿条件下较稳定,高温和光照均会使其含量增加。丹酚酸 B 在高湿和光照条件下较不稳定,含量降低较明显;在高温条件下,粗粉和微粉 I 较不稳定,含量降低较多,其他微粉中丹酚酸 B 含量则无明显变化。徐德然等^[10]研究发现丹参中丹酚酸 B 经水煎煮后会转化成丹参素和原儿茶醛,故本文中丹酚酸 B 含量降低的同时丹参素含量增加,原因为丹酚酸 B 转化成了丹参素。

一般认为,药物经超微粉碎后粒度减小,粒子表面会更容易吸附空气和带有电荷,致使存放难度增加,稳定性变差。朱兰等^[11]研究显示随着粉碎时间的增加,肉桂挥发油与肉桂微粉形成了更稳定的有机体,有效地阻止了挥发油的挥发,有利于挥发油的保存;赵国巍等^[12]研究表明在高温环境下,超微粉碎对七厘散中羟基红花黄色素 A 具有保护作用,说明超微粉碎有可能增加药材中有效成分的稳定性。由于复方丹参方中存在不同结构和性质的活性成分,导致超微粉碎后各活性成分对光、湿、热的稳定性不同,在衡量粉末稳定性时,应综合考虑多种成分的变化,故本文采用综合变化率进行综合评价,综合变化率越小,表明该粒径粉末的稳定性相对较好。综合变化率结果表明随着粒径的减小,粉末稳定性呈现先升高后降低的趋势,说明一定程度的超微粉碎可增加粉末中不稳定成分的稳定性,但并不是粒径越小稳定性越好。

[参考文献]

- [1] 刘云海,杜光.超微粉碎对中药活性成分提取率的影响[J].中国医院药学杂志,2010,30(1):66.
- [2] 申玲玲,杜光,郭俊浩.超微粉碎对中药活性成分溶出度的影响[J].中国医院药学杂志,2011,31(14):1213.
- [3] 孙文格,郑倩,刘凤琴,等.中药超微粉碎技术及粉体

- 特征的研究进展[J].中国药业,2009,19(22):74.
- [4] 陈雪琴,刘云海.超微粉碎对单味中药药效的影响[J].中中药学,2011,9(4):295.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.二部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:附录 XIX C.
- [6] 李永国,柳红,王峥涛,等.中药红曲化学稳定性多成分综合评价[J].高等学校化学学报,2006,27(1):35.
- [7] 李士博,王兰霞.丹参酮 II_A 和隐丹参酮稳定性研究[C].西宁:西北地区第五届色谱学术报告会暨甘肃省第十届色谱年会论文集,2008:209.
- [8] 刘梅,夏鑫华.丹参酮 II_A 的化学稳定性研究[J].中药材,2010,33(4):606.
- [9] 崔颖,张永旺.丹参药材稳定性研究[J].海峡药学,2009,21(11):17.
- [10] 徐德然,王康才,王铮涛,等.丹参中丹参素、原儿茶醛来源的初步研究[J].中国天然药物,2005,3(3):148.
- [11] 朱兰,宋英,黄东萍.平均粒径变化对肉桂超细粉中挥发油稳定性的影响[J].中华中医药学刊,2008,26(1):135.
- [12] 赵国巍,王春柳,廖正根.超微粉碎对七厘散中羟基红花黄色素 A 的稳定性影响研究[J].中成药,2013,35(7):1427.

[责任编辑 刘德文]

欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究成果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,242 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。