

蒙古族药文冠木超微粉与普通粉中表儿茶素的溶出度比较

鞠爱华, 蔡丽娟, 庄志鹤, 张静

(内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110)

[摘要] **目的:**对蒙古族药文冠木普通粉与超微粉中主要有效成分表儿茶素的体外溶出进行考察。**方法:**采用 HPLC 测定表儿茶素含量。色谱条件为 Agilent Eclipse-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 280 nm, 流动相乙腈-0.04% 磷酸水溶液(15:85), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL。测定文冠木普通粉与超微粉的溶出量和溶出速率, 并对体外溶出行为进行溶出动力学分析。**结果:**普通粉与超微粉中表儿茶素的溶出量分别为 5.868, 8.440 mg·g⁻¹, 二者中表儿茶素的体外溶出曲线均符合 Weibull 分布。普通粉中表儿茶素的溶出参数 T_{50} , T_d , T_{70} , T_{80} , T_{90} 分别为 0.476, 1.952, 2.939, 5.488, 9.961 min, 超微粉则依次为 0.180, 0.348, 0.469, 0.768, 1.249 min。超微粉中表儿茶素的溶出速率明显高于普通粉($P < 0.01$), 单位时间内(1 h)体外溶出量较普通粉提高约 44%。**结论:**超微粉碎能明显促进文冠木中表儿茶素的体外溶出速率及溶出量, 说明超微粉碎技术应用于蒙古族药文冠木是切实可行的。

[关键词] 蒙古族药文冠木; 超微粉体; 体外溶出度; 表儿茶素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0057-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020057

Comparison of Exoteric Dissolution of *L*-epicatechin from the Ultra-micro and Traditional Powder of *Xanthoceras sorbifolia* JU Ai-hua, CAI Li-juan, ZHUANG Zhi-he, ZHANG Jing (College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the dissolution of *L*-epicatechin from the ultra-micro and traditional powder of *Xanthoceras sorbifolia*. **Method:** HPLC technique was used to detect the content of *L*-epicatechin. Chromatographic conditions were as follows: Agilent Eclipse-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), detection wavelength 280 nm, mobile phase of acetonitrile-0.04% H₃PO₄ (15:85), flow rate 1.0 mL·min⁻¹, injection volume 20 μL. Dissolution amount and the dissolution rate of *L*-epicatechin from the ultra-micro and traditional powder of *X. sorbifolia* were determined, and exoteric dissolution behavior was analyzed. **Result:** Dissolution amount of *L*-epicatechin from ultra-micro and traditional powder were 5.868 mg·g⁻¹ and 8.440 mg·g⁻¹, respectively. Exoteric dissolution curves were in line with Weibull distribution. T_{50} , T_d , T_{70} , T_{80} , T_{90} of traditional powder were 0.476, 1.952, 2.939, 5.488, 9.961 min, respectively, but these of ultra-micro powder were 0.180, 0.348, 0.469, 0.768, 1.249 min. The dissolution rate of ultra-micro powder of *X. sorbifolia* was increased obviously ($P < 0.01$). Per unit of time (1 h) dissolution amount increased by about 44% compared with traditional powder. **Conclusion:** Superfine grinding can promote the dissolution of *L*-epicatechin in *X. sorbifolia*, and application of superfine grinding is feasible and necessary.

[Key words] *Xanthoceras sorbifolia*; ultrafine powder; exoteric dissolution; *L*-epicatechin

文冠木为蒙古族医常用特色药材^[1], 蒙药名“森登”, 味甘, 微苦涩, 凉、轻、动、燥, 具有燥“协日乌素”、清热消肿止痛之功效。临床主要用于风湿性关节炎、风湿内热、皮肤风湿病等^[1]。文冠木中

含有黄酮类成分, 其中表儿茶素的含量较高。表儿茶素具有明显的清除体内自由基、抗癌、抗炎、抗突变、抗衰老及改善肝功能等生物活性^[2]。本品用药历史悠久, 多以生药原粉入汤、散剂等。超微粉碎技

[收稿日期] 20140924(015)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI28B01)

[第一作者] 鞠爱华, 教授, 从事中蒙药鉴别、质量标准及新药研发等方面的研究, Tel: 13474911168, E-mail: hhhntmyxyjih5511@sina.com

术的利用一方面可使有效成分溶出阻力减小,另一方面,微细化的物料具有很强的表面吸附力、亲和力、分散性和溶解性,从而提高了有效成分的溶出速度及溶出率^[3-4]。

本实验以文冠木中所含的主要活性成分表儿茶素为检测指标,采用浆状搅拌法,以高效液相色谱法对文冠木超微粉与普通粉进行溶出量和溶出速率的比较研究,旨在为传统蒙古族药文冠木超微饮片(破壁饮片)的开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 BFM-6 型倍力微粉机(济南倍力微粉技术工程有限公司), AB135-S 型电子分析天平(瑞士, Mettler Toledo), AL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), RC806 型溶出试验仪(天津因赛科技发展有限公司), P-230 型高效液相色谱仪(依利特,包括 UV230⁺ 型紫外-可见检测器)。

1.2 试剂 表儿茶素对照品(批号 878-200001, 中国食品药品检定研究院), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 药材 文冠木采于内蒙古呼和浩特市大青山, 经内蒙古医科大学药学院鞠爱华教授鉴定为无患子科植物文冠果 *Xanthoceras sorbifolia* 的干燥茎干或枝条。常规粉体为文冠木药材常规粉碎, 过 5 号筛(自制); 超微粉体为文冠木药材经超微粉碎粒径为 2~60 μm(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent Eclipse-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 280 nm, 流动相乙腈-0.04% (15: 85), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 进样量 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 溶出量溶液 称取文冠木普通粉和超微粉各 5 g, 精密称定, 分别置于溶出仪中, 加 900 mL 人工胃液(将 2 g NaCl 与 2 mL 稀盐酸加入到 1 000 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 得到 pH 为 2.25 的人工胃液)作为溶出介质, 采用浆状搅拌器法, 恒温 37 °C, 搅拌转速为 100 r · min⁻¹, 溶出时间为 1 h, 取样 5 mL, 离心 15 min(4 000 r · min⁻¹), 取上清液 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2.2 溶出速率溶液 称取文冠木普通粉和超微粉各 5 g, 精密称定, 分别置于溶出仪中, 加 900 mL 人工胃液作为溶出介质, 采用浆状搅拌器法, 恒温 37 °C, 搅拌转速为 100 r · min⁻¹, 分别于 1, 2, 3, 5,

10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 min 定时定位吸取 5 mL(同时将相同温度的 5 mL 人工胃液补充到溶出度仪中), 离心 15 min(4 000 r · min⁻¹), 取上清液用 0.45 μm 滤膜过滤, 即得。

2.2.3 对照品溶液 取表儿茶素对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成 0.83 g · L⁻¹ 的溶液, 即得表儿茶素对照品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取表儿茶素对照品溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别吸取 1, 6, 10, 12, 16, 20 μL 进样, 按色谱条件测定, 以表儿茶素色谱峰面积为纵坐标, 进样量(μg)为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 570.17X - 21.277$ ($r = 0.9995$)。表儿茶素在 0.083~1.66 μg 线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, RSD 0.5%, 表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一供试品溶液, 每隔 2 h 进样 1 次, 共进样 6 次, 测定峰面积, RSD 0.7%。表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 取同一普通粉样品 6 份, 按溶出量测定方法进行测定, 测得样品中表儿茶素的平均溶出量为 8.757 2 mg · g⁻¹, RSD 1.0%。结果表明, 该方法的重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 取已知含量的药材粉末 6 份, 每份 2.5 g, 精密称定, 分别加入表儿茶素对照品适量, 按 2.2.1 项下方法操作, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 文冠木普通粉中表儿茶素的加样回收率试验

Table 1 Recovery test of *L-epicatechin* in *Xanthoceras sorbifolia* traditional powder

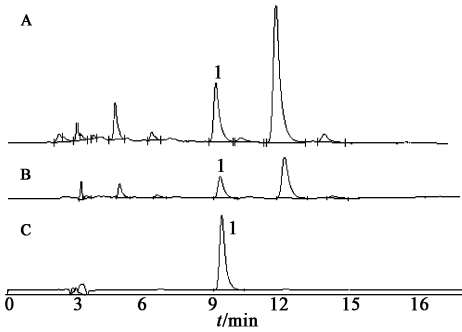
样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
14.40	29.40	103.79		
14.39	29.10	101.70		
14.39	29.00	100.99	101.49	1.6
14.39	29.72	99.05		
14.39	29.22	102.55		
14.39	28.98	100.86		

注: 加入量均为 14.46 mg。

2.4 溶出试验

2.4.1 文冠木普通粉与超微粉中表儿茶素溶出量

的比较 分别按照 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,精密吸取 20 μL 进样,测定峰面积(图 1)。计算普通粉和超微粉中表儿茶素的溶出量,采用 SPSS 13.0 处理,对超微粉与普通粉中表儿茶素的溶出量进行配对 *t* 检验,结果普通粉与超微粉中表儿茶素的溶出量分别为 (5.867 8 ± 0.032 0), (8.440 1 ± 0.092 5) mg·L⁻¹ 存在显著性差异。



A. 超微粉; B. 普通粉; C. 对照品; 1. 表儿茶素

图 1 文冠木溶出量 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC dissolution amount of *Xanthoceras sorbifolia*

2.4.2 文冠木普通粉与超微粉中表儿茶素溶出速率的比较 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,精密吸取各溶液 20 μL,分别进样,测定峰面积,计算普通粉与超微粉中表儿茶素的溶出量和累计溶出率,绘制溶出曲线(见图 2,表 2)。

$$\text{累计溶出率} = [C_n \times D \times V_{\text{介质}} + V_{\text{样}} \times (C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_{n-1}) \times D] \times 100\%$$

式中: C_n 为表儿茶素在取样时间点下质量浓度, D 为样品稀释倍数, $V_{\text{介质}}$ 为溶出介质体积 900 mL, $V_{\text{样}}$ 为取样体积 10 mL。

从以上结果可以看出,文冠木超微粉中总黄酮的单位时间内溶出速率明显快于普通粉,超微粉的累积溶出百分率在 5 min 之内较普通粉提高了约 34%,在 20 min 之内提高了约 28%,至 60 min 时提高了约 22%。

表 3 文冠木普通粉与超微粉中表儿茶素体外溶出拟合分布

Table 3 The fitted distribution *L*-epicatechin of *Xanthoceras sorbifolia* in vitro dissolution

拟合模型	普通粉回归方程	<i>r</i>	超微粉回归方程	<i>r</i>
零级动力学	$F = 0.421 4t + 56.115$	0.743 4	$F = 0.421 6t + 80.364$	0.321 8
对数正态	$F = 16.714 \log t + 47.668$	0.988 2	$F = 21.349 \log t + 67.069$	0.697 5
Higuchi	$F = 4.041 2 \sqrt{t} + 48.806$	0.888 7	$F = 4.497 9 \sqrt{t} + 71.21$	0.476 3
Weibull	$\ln[1/\ln(1-F)] = 0.056 9 \ln t - 1.391 1$	0.990 2	$\ln[1/\ln(1-F)] = 0.475 7 \ln t - 1.449 2$	0.992 8

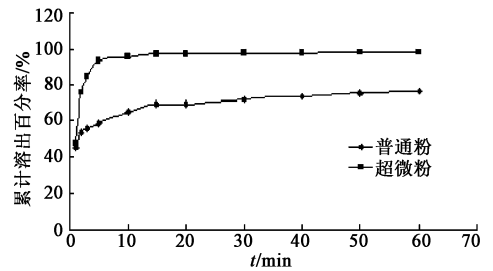


图 2 文冠木普通粉和超微粉表儿茶素溶出曲线

Fig. 2 Dissolution profile of *L*-epicatechin from ultramicro and traditional powder

表 2 普通粉与超微粉体表儿茶素的累积溶出量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Dissolution amount of *L*-epicatechin from ultramicro and traditional powder ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

时间/min	普通粉	超微粉
1	45.599 9 ± 0.334 2	47.964 7 ± 0.273 1
2	54.049 2 ± 0.656 7	76.341 8 ± 0.887 1
3	55.999 ± 0.406 7	84.438 8 ± 0.461 9
5	59.132 1 ± 0.773 3	93.163 9 ± 0.912 6
10	64.771 5 ± 0.333 3	95.787 1 ± 0.408 1
15	69.429 8 ± 0.186 7	97.024 3 ± 0.483 5
20	69.567 8 ± 1.103 3	97.013 6 ± 1.284 4
30	72.100 4 ± 0.490 0	97.547 3 ± 0.611 8
40	74.057 3 ± 0.666 7	97.923 8 ± 0.874 4
50	75.491 4 ± 1.026 7	98.067 6 ± 0.950 8
60	76.531 8 ± 0.786 7	98.225 2 ± 0.606 6

2.4.3 溶出曲线的拟合 分别以文冠木普通粉和超微粉中表儿茶素溶出量测定结果,近似地作为 100% 的溶出量,计算不同时间点各种粉体中溶出成分的累计溶出百分率 (F)。将表 2 中的数据按零级动力学函数,对数正态函数, Higuchi 分布, Weibull 分布曲线进行拟合,结果见表 3。由表可知,文冠木普通粉与超微粉中表儿茶素的体外溶出曲线符合 Weibull 分布,其 r 分别为 0.990 2 和 0.992 8。

2.4.4 溶出参数的比较 利用 Excel 电子表格软件计算 T_{50} , T_d , T_{70} , T_{80} , T_{90} 等溶出参数。分别对文冠木普通粉和超微粉中表儿茶素的溶出参数进行 t 检验比较,用 SPSS 14.0 统计处理,见表 4, 结果发现普通粉和超微粉中表儿茶素的溶出参数 T_{50} , T_d , T_{70} , T_{80} , T_{90} 之间 P 均 < 0.01 , 说明两种粉体中表儿茶素的溶出参数之间存在显著性差异。

通过以上对文冠木普通粉和超微粉的表儿茶素溶出量、溶出速率的测定、溶出曲线的绘制及溶出动力学分析证明,文冠木超微粉中表儿茶素在单位时间内的溶出速率明显高于普通粉,表儿茶素最高累计溶出百分率较普通粉提高了 21.69%。从溶出参数上也可以看出超微粉均明显小于普通粉,提示超微粉中表儿茶素溶出速率明显快于普通粉。

表 4 文冠木中表儿茶素溶出参数

Table 4 Dissolution parameters of *L-epicatechin* of *Xanthoceras sorbifolia*

参数	普通粉/min	超微粉/min	P
T_{50}	0.475 8 ± 0.003 3	0.179 6 ± 0.002 6	0.000
T_d	1.952 4 ± 0.055 7	0.347 5 ± 0.043 5	0.000
T_{70}	2.938 8 ± 0.204 8	0.468 7 ± 0.041 1	0.003
T_{80}	5.488 3 ± 0.329 1	0.768 0 ± 0.026 7	0.001
T_{90}	9.961 3 ± 0.171 1	1.249 1 ± 0.233 4	0.001

注:均以普通粉与超微粉的表儿茶素溶出量测定结果为 100% 溶出量。 T_{50} 为累计溶出 50% 的时间。 T_d 为累计溶出 63.2% 的时间, T_{70} 为累计溶出 70% 的时间, T_{80} 为累计溶出 80% 的时间, T_{90} 为累计溶出 90% 的时间。

3 讨论

从表 2 的结果看出,文冠木超微粉在模拟人工胃液为溶出介质中的最高累积溶出百分率(98.22%)较文冠木普通粉(76.53%)提高了 21.69%,证明超微粉碎的确可以大大提高文冠木中表儿茶素的体外溶出度。这可能是由于文冠木的表儿茶素主要存在于细胞内,表儿茶素的溶出受到细胞壁的限制。将文冠木制成超微粉后药材中的细胞壁被破坏,有效成分的溶出不受细胞壁和细胞膜的阻碍,使得有效成分溶出量增多。

从图 2 可以看出,文冠木中表儿茶素在溶出的起始阶段有一个很快的释放过程,随后表儿茶素的溶出渐渐平稳,文冠木超微粉体在 15 min 后处于平稳阶段,常规粉体则在 30 min 后处于平稳阶段。这

可能与中药材经过超微粉碎后,粒度均匀细密,细胞壁破壁率高,增加了药材的比表面积,有利于药物有效成分的溶出有关。

实验参照文献[5]及《中国药典》(2010 年版)有关溶出度的试验,比较了水与人工胃液^[6]两种介质。结果表明,在人工胃液中,表儿茶素的溶出量较水为溶出介质的;且溶出速率曲线也比水为溶出介质的。所以本实验采用人工胃液为溶出介质。

实验根据文献[7-9]及 2010 年版《中国药典》^[10]中有关表儿茶素的测定波长均为 280 nm。经在 200 ~ 800 nm 波长进行光谱扫描证明对照品及供试品均在 280 nm 处有最大吸收。故选择 280 nm 为检测波长,既可保证样品测定,又可排除其他组分的干扰。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准. 蒙药分册[M]. 1998:2.

[2] 刘超,陈若芸. 儿茶素及其类似物的化学和生物活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10): 1017-1021.

[3] 张军武,王昌利. 超微粉碎技术在中药剂型改革中的应用与思考[J]. 现代中医药, 2004, 5(6): 64-65.

[4] 黄金,王冬妮. 纳米技术在中药中的应用[J]. 黑龙江医药, 2005, 18(1): 15-16.

[5] 易延逵,张璐,刘莉,等. 超微粉与普通粉田七痛经胶囊比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 34-36.

[6] 刘莉,刘强,吴伟健. 丁香普通粉与超微粉中丁香酚体外溶出度的比较[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1070-1071.

[7] 边宝林. 王宏洁,司南. 鸡血藤药材中表儿茶素的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 6(10): 31-32.

[8] 林俐莎,葛建,杨晶晶,等. 高效液相色谱法测定茶叶中儿茶素含量[J]. 医药导报, 2011, 12(30): 1639-1641.

[9] 洪建文,叶曼红,贾宜军. HPLC 法测定腹痛水中儿茶的含量[J]. 中药材, 2007, 9(30): 1171.

[10] 国家药典委员. 中国华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:9.

[责任编辑 顾雪竹]