

红景天微粉与粗粉中有效成分的溶出度比较

牛耀虎¹, 王兰霞², 李士博², 丁永辉^{3*}

(1. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 2. 甘肃省药品检验所, 兰州 730000;
3. 甘肃省食品药品监督管理局, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 探讨红景天微粉(粒径 99% 以上分布在 0~20 μm), 与粗粉[过 50 目筛(355 ± 13) μm]体外溶出情况的变化。方法: 采用透析法, 选取红景天中主要成分没食子酸、红景天苷及儿茶素作为指标, 用反相 HPLC 测定不同时间点红景天微粉和粗粉中这 3 种成分从透析袋中的溶出情况。结果: 红景天微粉中红景天苷和儿茶素溶出的速度及程度均较粗粉有明显提高(15~45 min, $P < 0.05$, 45~60 min, $P < 0.01$), 但是没食子酸在 2 种粉体中的溶出差异并不明显。结论: 红景天制成微粉后, 能有效改善大部分有效成分的溶出速率和溶出效率, 对药物作用有一定的促进作用, 但进一步的评价有待于更多的试验数据支持。

[关键词] 红景天; 超微粉碎; 没食子酸; 红景天苷; 儿茶素; 溶出度

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0064-04

Comparing Dissolution of Effective Ingredients from Micro-powder and Crude Powder of *Rhodiola rosea*

NIU Yao-hu¹, WANG Lan-xia², LI Shi-bo², DING Yong-hui^{3*}

(1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;
2. Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou 730000, China; 3. Gansu Food and Drug Administration)

[Abstract] **Objective:** To investigate the experimental proof for the application of super fine crushing technique (SFCT) to the traditional Chinese medicinal herb and develop new methods to evaluate the effect of SFCT on drug. **Method:** The dissolution of *Rhodiola rosea* prepared by different techniques was investigated by dialysis determining gallic acid, salidroside and catechin as the test marker. These markers were determined at different time by RP-HPLC. **Result:** The speed and degree of dissolution of salidroside and catechin were improved in micro-powder than those in crude powder after a certain time (15-45 min, $P < 0.05$, 45-60 min, $P < 0.01$), but the difference of the gallic acid dissolution in the two kinds of powder were not obvious. **Conclusion:** Both the dissolution of effect component in *R. rosea* and the effect of *Rhodiola rosea* can be improved by SFCT.

[Key words] *Rhodiola rosea*; super-fine crushing technique; gallic acid; salidroside; catechin; dissolution

红景天 *Rhodiola rosea* 是景天科多年生草木或灌木植物, 生长于世界各地的高原地区, 为亚洲地区常用传统药材, 具有刺激神经系统、增加工作效率、

消除疲劳和预防高山症等作用。目前, 国内对红景天的研究还远远不及对人参、刺五加等那么透彻、深入, 对其有效成分的研究, 亦仅限于红景天苷及其苷元的研究。关于超微粉碎技术在红景天中的应用, 吕惠子等^[1-2]通过研究发现红景天微粉对急性肝损伤有保护作用, 且红景天超微粉作用优于其乙醇提取物, 在红景天微粉化后的有效成分、溶出度测定研究尚未见报道。本试验采用激光粒度分析法对红景天粉末进行粒度分析, 用自动溶出仪、高效液

[收稿日期] 20100524(012)

[第一作者] 牛耀虎, 在读硕士研究生, 研究方向为中药制剂新技术与应用

[通讯作者] * 丁永辉, 主任药师, 硕士生导师, E-mail: dingyonghui@gsda.gov.cn, Tel: 13893612269

相色谱(HPLC)同时测定红景天中没食子酸、红景天苷、儿茶素体外溶出率,旨在为传统中药超微粉的合理使用、减量增效及提升制剂工艺水平提供试验依据。

1 材料

1.1 药品和试剂 红景天购自甘肃兰州黄河药材市场,经甘肃药监局丁永辉主任药师鉴定为大红花红景天拉丁。分别制成微粉和粗粉[50目,按《中国药典》2005年版(一部)过三号筛,孔径(355±13)μm];红景天苷对照品(110818-200404,中国药品生物制品检定所);没食子酸对照品(110831-200302,中国药品生物制品检定所);儿茶素对照品(877-200001,中国药品生物制品检定所);甲醇(色谱级,山东禹王实业有限公司化工分公司);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈百立食品有限公司);透析袋(相对分子质量为8 000~14 000)。

1.2 主要实验仪器及设备 气流超微粉碎机(甘肃奇正藏药集团自行研制),Mastersizer Microplus Vr. 2.18 粒径测定仪(Malven UK),高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂),电子分析天平 Mettler AE-163(瑞士),尼康显微成像系统(日本日康公司);BT-2001 型激光粒度分析仪(丹东市百特仪器有限公司);ZDR-8C 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂);Waters 高效液相色谱仪(515 泵,717 进样器,2487 紫外检测器)。

1.3 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm) 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(2:7),流速 0.9 mL·min⁻¹ 检测波长 280 nm,进样量 10 μL,柱温室温,见图 1。

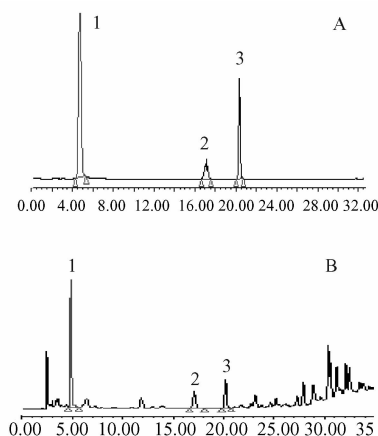


图 1 红景天样品高效液相色谱图

1. 没食子酸;2. 红景天苷;3. 儿茶素;A. 对照品;B. 样品

2 方法

2.1 粉体制备 选取一定量红景天药材,切成适合的小块,洗净,晾干后置烘箱中 40℃ 低温干燥,待用。称取上述处理好的红景天药材 0.5 kg 于高速万能粉碎机中进行常规粉碎,过三号筛,得 50 目粗粉;另称取 2 kg 用气流超微粉碎机进行超微粉碎,得红景天超微粉。

2.2 粒度分析 取上述红景天粗粉和红景天超微粉体适量,分别置于激光粒度分析仪中,采用粒度测定法(以 70% 乙醇为分散介质)测定 2 种粉末的粒径。

2.3 粉体形貌观察 浆法分别取样品适量,加一定量的分散剂铺于载玻片上,然后将载玻片放于电镜载物板上,置电镜下观察。

2.4 红景天粉体溶出实验

2.4.1 浆法 分别取红景天微粉和粗粉约 4 g,精密称定,投入溶出仪中,按照《中国药典》(2005 年版附录)溶出度测定法^[3],以 400 mL 50% 甲醇溶液为溶剂,浆法,转速为 50 r·min⁻¹,温度为(37±0.5)℃,分别于 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 min 取样 2 mL,同时向溶出杯中补充相同温度和体积的溶剂,滤过,取续滤液 10 μL 用反相 HPLC 测定红景天苷、没食子酸、儿茶素的含量。计算不同时间这 3 种指标的溶出百分率。

2.4.2 转篮法 转篮地分别取红景天微粉和粗粉约 1 g,精密称定,置入透析袋中,扎紧两端^[4,5],按照《中国药典》(2005 年版附录)溶出度测定法,以 100 mL 50% 甲醇溶液为溶剂,转篮法,转速为 100 r·min⁻¹,温度为(37±0.5)℃,分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 h 取样 2 mL,同时向溶出杯中补充相同温度和体积的溶剂,滤过,取续滤液 20 μL 用反相 HPLC 测定红景天苷、没食子酸、儿茶素的含量。计算不同时间这 3 种指标的溶出百分率。

2.4.3 样品含量测定 取红景天微粉约 1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入 100 mL 50% 甲醇水溶液,超声处理 60 min,放冷,滤过,取续滤液 10 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过微孔滤膜(0.45 μm),取续滤液作为供试品溶液。

2.5 分析方法考察

2.5.1 标准曲线制备 分别精密称取干燥至恒重的没食子酸对照品 13.08 mg,红景天苷对照品 6.15 mg,儿茶素对照品 14.27 mg,分别置 50 mL 量瓶中,

加甲醇溶解并定容, 摇匀, 作为对照品储备溶液, 用时各精密量取 2 mL 混合即得对照品溶液, 作为贮备液。取贮备液加甲醇标准系列进样测定。以色谱峰面积 A 对进样量 $M(\mu\text{g})$ 进行线性回归, 结果表明各组分在各自进样量范围内线性关系良好, 线性范围、回归方程、回归系数见表 1。

表 1 3 种对照品标准曲线

对照品种类	线性范围/ μg	回归方程	r
没食子酸	0.174 4 - 1.308 0	$A = 276.22M - 80512$	0.999 9
红景天苷	0.057 4 - 0.861 0	$A = 36.498M - 5926.2$	0.999 8
儿茶素	0.180 2 - 1.424 5	$A = 70.923M - 6991.7$	0.999 5

2.5.2 精密度试验 在上述色谱条件下, 分别精密吸取对照品溶液各 10 μL , 重复进样 6 次, 结果测得峰面积的 RSD 分别为没食子酸 0.6%, 红景天苷 0.3%, 儿茶素 0.5% ($n=6$)。

2.5.3 重复性试验 在上述色谱条件下, 取同一样品按样品溶液的制备方法平行制备 5 份, 分别进样 10 μL , 同时取混合对照品溶液进样 10 μL , 按外标法测定其含量并计算 RSD, 没食子酸 2.55%, 红景天苷 1.87%, 儿茶素 2.38%。

2.5.4 加样回收率试验 取已知含量的大花红景天药材细粉 6 份, 精密称定, 分别精密加入对照品溶液, 按照样品溶液制备方法制备并测定, 计算平均回收率。结果没食子酸的平均回收率为 98.4%, RSD 2.78%; 红景天苷的平均回收率为 99.2%, RSD 2.35%; 儿茶素的平均回收率为 98.7%, RSD 2.43%。

3 结果

3.1 粒度分析结果 超微粉碎后样品粒径明显变小。红景天粗粉和红景天超微粉体粒径分析结果见表 2; 红景天粉末粒径分布图见图 2。

表 2 红景天粗粉和红景天超微粉体粒径分析

样品	平均直径/ μm	中粒径/ μm	比表面积/ $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$
红景天粗粉	234.13	246.43	102.18
红景天微粉	9.04	8.71	389.23

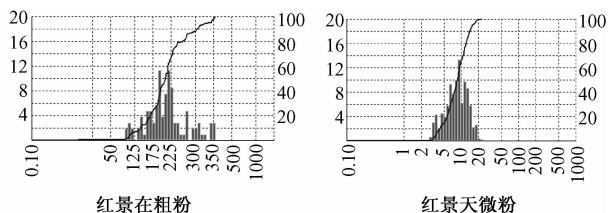


图 2 红景天粉末粒径分布图

3.2 粉末形貌观察结果 扫描电镜观察显示, 红景

天普通粉颗粒大小不均, 仍可见原药材形貌; 经超微粉碎后, 粉末颗粒大小均匀, 不见原药材形貌特征, 图 3。

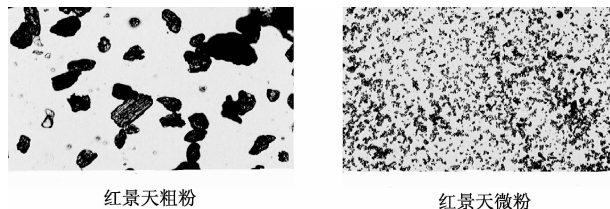


图 3 红景天粉末形貌 (10×10)

3.3 色谱行为 在上述色谱条件下, 没食子酸、红景天苷、儿茶素的保留时间分别为 5.306, 12.675, 17.652 min, 它们和其他组分得到良好分离。

3.4 含量结果集溶出情况 红景天中没食子酸、红景天苷及儿茶素的含量分别为 1.02, 2.74, 2.01 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 3 种成分的溶出百分率见图 4、5。

3.4.1 由图 4A 可知, 红景天微粉和粗粉直接加入溶出杯时没食子酸溶出率分析 15 ~ 60 min, 微粉和粗粉的累积溶出率从统计学意义上比较分析无显著差异 ($P > 0.05$) 由图 4B 可知, 红景天微粉和粗粉直接加入溶出杯时红景天苷的溶出率分析 2 ~ 60 min, 微粉和粗粉的累积溶出率从统计学意义上比较分析差异非常显著 ($P < 0.01$)。

由图 4C 可知, 红景天 2 种粉体直接加入溶出杯时儿茶素的溶出率分析 ① 15 ~ 45 min, 微粉和粗粉的累积溶出率从统计学意义上比较分析差异显著 ($P < 0.05$); ② 45 ~ 60 min, 微粉和粗粉两者的累积溶出率从统计学意义上比较分析差异非常显著 ($P < 0.01$)。

3.4.2 由图 5 可知, 红景天微粉和粗粉样品以半透膜为屏障时没食子酸、红景天苷及儿茶素溶出率分析 0.5 ~ 12 h, 微粉与粗粉两者的没食子酸、红景天苷和儿茶素的累积溶出率从统计学意义上比较分析无明显差异 ($P > 0.05$), 说明 2 种粉体在有半透膜介质存在时对 3 种有效成分的溶出度影响差异不明显。

4 讨论

人们预期应用超微粉碎技术将提高中药有效成分的溶出速度、溶出量、生物利用度, 减少用药量并促进中药现代化研究水平。但是以往学者对中药超微粉碎研究多只选用一种指标成分进行溶出率方面的研究, 而忽视了中药是一种多种成分协调作用的复方药, 仅靠一种成分并不能充分说明超微粉碎技术的优势。藏药红景天主要有效成分为红景天苷、

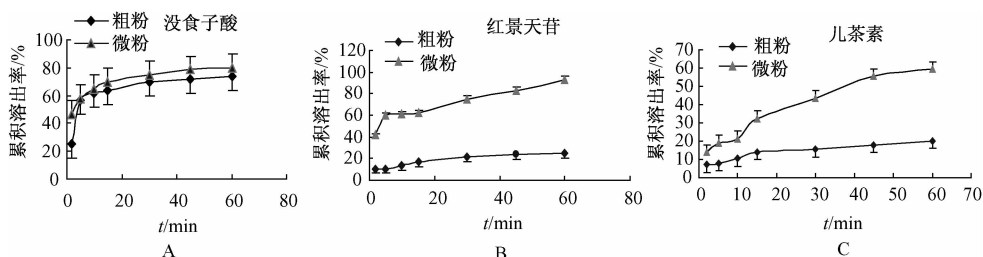


图 4 红景天微粉和粗粉直接加入溶出杯时没食子酸、红景天苷及儿茶素溶出曲线 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

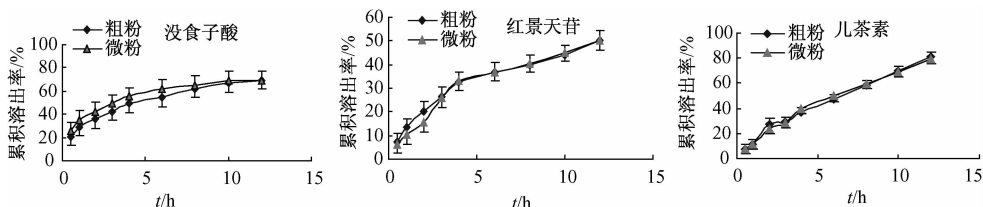


图 5 红景天微粉和粗粉以半透膜为屏障时没食子酸、红景天苷及儿茶素溶出曲线 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

酪醇、黄酮化合物、酚类化合物及微量挥发油,还含有具有生物活性的微量元素铁、铝、锌等^[6]。而这些植物复杂而完美组合正是红景天能有复杂的生理保健作用的原因,但是这些植化成分如果单独存在或组合改变,可能无法如分布于红景天中完美组合的协同加成效果。当红景天药材超微粉碎后是否会改变其所含成分的溶出比例,将成为超微技术应用于中药生产重点考虑的因素。本课题组选取红景天中具有代表性意义的红景天苷、没食子酸及儿茶素 3 种活性成分,采用 HPLC 对它们进行溶出量测定,方法简便快速,结果准确可靠。

本试验中采用半透膜作为屏障,主要是想为超微粉碎工艺制备的药物的体外溶出试验寻找一种评价的方法和指标。在如此细度条件下,用电子显微镜观察很难看到完整的细胞,基本上是细胞碎片,这样就减少了细胞壁和细胞膜对细胞内有效成分释放形成的阻力,从而使有效成分的溶出更快而安全。试验中使用半透膜,与未用半透膜相比,没食子酸、红景天苷和儿茶素的溶出时间明显延长;但在微粉与粗粉从半透膜中溶出的速度和程度上,3 种成分却并不一致,红景天苷和儿茶素无明显差异,而没食子酸有或未使用半透膜时,微粉和粗粉的溶出速度和程度均无明显差异,与理论上预测的结果不太一致,因而可以看出中药超微粉碎后,并不是所有成分都会一致提高溶出量,而是有些成分明显提高,有些提高量并不显著,因此多选几种指标评价才会更加

合理。另外,我们在做半透膜试验时分别以样品干粉和润湿后进行试验,结果发现对整个试验目的的影响并不明显,因此,本文不作叙述。

以上试验结果表明,超微粉碎工艺对药物溶出及药物作用并不是均显著提高,这样会不会改变有效成分的组合协同作用,会不会改变药物的药效及毒性作用,进一步的评价有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] 吕惠子,朴光春,李镐,等.红景天超微粉对乙醇所致小鼠急性肝损伤的保护作用.时珍国医国药,2008,19(2):405.
- [2] 吕惠子,黄顺福.红景天超微粉对小鼠急性肝损伤的保护作用.延边大学医学学报,2007,4:259.
- [3] 中国药典[S].一部.2005:106.
- [4] HE Xi-hui, CHENG Jie. Investigation on dissolution and in vivo activity of Panax notoginseng prepared by superfine crushing technique [J] Chin Pharm J(中国药学杂志) 2004,39(1):14.
- [5] ZHAI Xu-feng, ZHANG Chen, GUO Xiao-lei. Comparing the Dissolution of Rb1 from the micro-powder and common powder of Radix Panacis Quinquefolii [J]. Journal of Chinese medicinal Materials(中药材) 2009,32(2):290.
- [6] LI Hao. Progress in pharmacological research of Integripetal Rodiola herb [J]. Strait Pharmaceutical Journal(海峡药学) 2008,20(10):5.

[责任编辑 顾雪竹]