

• 制剂工艺 •

红花普通粉体与超微粉体溶出度比较试验

丁志平, 肖相国, 杨帆, 唐正平, 蔡光先*
(湖南省中医药研究院, 湖南长沙 410006)

[摘要] 目的: 对红花的普通粉体和不同粒径的超微粉体中有效成分羟基红花黄色素 A、山柰素进行溶出度比较试验, 为红花超微粉体的应用与粒径控制提供试验依据。方法: 浆状搅拌法, 用高效液相法测定其含量。结果: 红花普通粉体与 3 种超微粉体(D_{50} 分别为 14.71、22.42 和 35.33 μm) 羟基红花黄色素 A 的溶出量分别为 1.99%、2.20%、2.23% 和 2.25%, 山柰素溶出量分别为 0.16%、0.20%、0.21% 和 0.21%。红花普通粉体与 3 种超微粉体羟基红花黄色素 A 的 T_{50} 、 T_d 为别为 14.66、61.21、6.97、30.67、4.28、19.28、3.63、15.31 min; 红花普通粉体与 3 种超微粉体山柰素的 T_{50} 、 T_d 为别为 36.74、670.96、17.17、417.36、12.36、200.72、10.91、160.05 min。结论: 3 种红花超微粉体有效成分的溶出量明显高于普通粉体, 溶出速度明显快于普通粉体, 且随着超微粉体粒径减小, 有效成份溶的出速率加快。

[关键词] 红花; 红花黄色素 A; 山柰素; 溶出度; 高效液相色谱法

[中图分类号] R286.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)12-0026-04

通常认为, 当药物溶出速率成为药物吸收的限制步骤时, 药物的生物利用度与药物成分的溶出量和溶出速率在一定程度上具有相关性, 通过适当的工艺改变药物的溶出速率可以提高生物利用度^[1]。排除其他因素的影响, 从理论上讲, 药物的溶出速度主要取决于与溶剂液体接触的颗粒表面积的大小, 而表面积与颗粒粒度成反比^[2]。为了提高中药饮片的生物利用度, 我们将 400 多种中药加工成超微粉, 并对不同种类的中药超微粉的体外溶出度进行了研究。红花是我们研究的花类药材中的一种, 本实验通过对不同粒径的红花粉体中主要药效成分的溶出情况进行比较研究, 初步探讨其溶出特性, 为红花超微粉体的应用与粒径控制提供实验依据。

1 仪器与试药

1.1 材料 红花购自三湘中药饮片有限公司, 经湖南省中医药研究院温俊达副研究员鉴定为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花。

红花普通粉: 红花原药材经倍力粉碎机粉碎 5 min, 过 100 目筛。 D_{50} 59.28 μm , D_{90} 98.47 μm 。红花超微粉 1: 红花原药材经倍力粉碎机粉碎 10 min, D_{50}

35.33 μm , D_{90} 71.02 μm 。红花超微粉 2: 红花原药材经倍力粉碎机粉碎 20 min, D_{50} 22.42 μm , D_{90} 59.10 μm 。红花超微粉 3: 红花原药材经倍力粉碎机粉碎 30 min, D_{50} 14.71 μm , D_{90} 53.04 μm 。

1.2 仪器 BFM-6 型倍力微粉机(济南倍力微粉技术工程有限公司)、101-2AB 型电热器鼓风干燥箱(余姚市东方电工仪器厂)、T-214 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)、RCZ-8A 高能药物溶出仪(天津大学无线电厂)、Aglient 1100 高效液相色谱仪(浙江大学高能信息工程研究所)、DZG-303A 分子超纯化技术。

1.3 试药 乙腈、甲酸为色谱纯, 其余试药均为分析纯, 流动相用水为高纯水。

羟基红花黄色素 A 对照品购自中国药品生产制品检定所(111637-200502)。

山柰素对照品均购自中国药品生产制品检定所(0861-200001)。

2 方法与结果

2.1 红花普通粉体和超微粉体的羟基红花黄色素 A 溶出试验

2.1.1 羟基红花黄色素 A 含量测定方法^[3] 色谱条件 Inertsil[®] ODS-3(5 μm , 4.6 mm \times 150 mm) 色谱柱, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 流动相用甲醇: 乙腈: 0.7% 磷酸溶液(26: 2: 72), 流速为 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长 403 nm。

[收稿日期] 2008-06-14

[基金项目] 湖南省科技厅重点资助项目(06FJ2005)

[通讯作者] * 蔡光先, Tel: (0731) 8881651

2.1.2 标准贮备液制备 精密称取羟基红花黄色素 A 对照品适量加 25% 甲醇制成每 1 mL 中含 0.16 mg 羟基红花黄色素 A 的标准贮备液。

2.1.3 线性关系考察 精密吸取标准贮备液 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 mL 于 6 个 10 mL 容量瓶中, 加 25% 甲醇定容至刻度。各进样 10 μ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算回归方程为 $Y = 1.12 \times 10^6 X - 8.63 \times 10^2$, $r = 0.9996$ 。表明羟基红花黄色素 A 测定进样量在 0.16~1.6 μ g 间线性良好。

2.1.4 对照品溶液的制备 精密量取羟基红花黄色素 A 标准贮备液, 加 25% 用醇制成每 1 mL 中含 0.13 mg 的溶液即得。

2.1.5 供试品溶液的制备 取红花普通粉体和不同粒径的超微粉体约 0.4 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中精密加入 25% 甲醇 50 mL 称定重量超声处理(功率 300 W 频率 50 kHz) 40 min, 放冷再精密称重, 用 25% 甲醇补足重量摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L 注入液相色谱仪, 测定。结果见表 1。

表 1 红花普通粉体和超微粉体羟基红花黄色素 A 溶出量 ($n = 3$)

项目	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
100 g 药材溶出量(g)	1.99	2.20	2.23	2.25

2.1.7 羟基红花黄色素 A 溶出度测定 采用浆状搅拌器法^[4], 溶出介质 1 000 mL 水, 置于溶出杯内, 加温待溶出介质温度恒定在 37 $^{\circ}$ C (± 0.5 $^{\circ}$ C) 后, 转速为 150 $r \cdot \min^{-1}$, 各个粉碎时间样品采样 8 g 精密称定, 自供试品接触溶出介质起立即计时采样。(2.4、8.15 30.45 .60 .80 .120 .180 min) 各采样 8 mL 溶出液并及时补充溶出介质, 立即用滤膜滤过, 精密量取 5 mL, 水浴蒸干, 残渣用适量 25% 甲醇溶解, 置 5 mL 量瓶中, 加 25% 甲醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 滤膜过滤, 按前述液相色谱条件测定, 结果见表 2, 图 1。

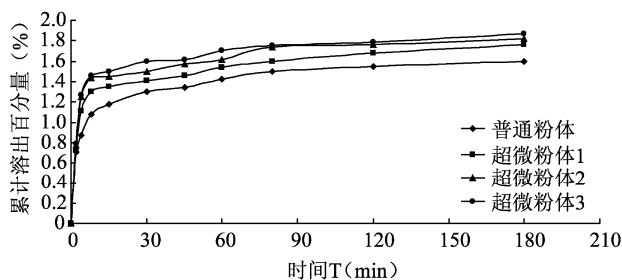


图 1 红花普通粉体和超微粉体羟基红花黄色素 A 累计溶出百分量变化曲线

表 2 红花普通粉体和超微粉体羟基红花黄色素 A 累计溶出百分量 ($n = 3$)

采样时间 (min)	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
2	0.71	0.73	0.77	0.79
4	0.87	1.11	1.25	1.27
8	1.08	1.30	1.43	1.46
15	1.18	1.35	1.45	1.50
30	1.30	1.41	1.51	1.59
45	1.34	1.46	1.57	1.61
60	1.42	1.54	1.63	1.70
80	1.50	1.62	1.74	1.75
120	1.55	1.68	1.76	1.79
180	1.60	1.76	1.82	1.87

2.2 红花普通粉体和超微粉体的山柰素溶出试验

2.2.1 山柰素含量测定方法^[3] 色谱条件 Inertsil[®] ODS-3 (5 μ m, 4.6 mm \times 150 mm) 色谱柱, 柱温 25 $^{\circ}$ C; 流动相用甲醇: 0.4% 磷酸溶液 (52: 48), 流速为 1.0 mL $\cdot \min^{-1}$; 检测波长 367 nm。

2.2.2 标准贮备液制备 精密称取山柰素对照品适量加甲醇制成每 1 mL 中含 15 μ g 山柰素的标准贮备液。

2.2.3 线性关系考察 精密吸取标准贮备液 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 mL 于 6 个 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度。各进样 10 μ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算回归方程为 $Y = 1.32 \times 10^6 X + 2.69 \times 10^2$, $r = 0.9995$ 。表明山柰素测定进样量在 0.015~0.15 μ g 间线性良好。

2.2.4 对照品溶液的制备 精密量取山柰素的标准贮备液, 加甲醇制成每 1 mL 含 9 μ g 的溶液, 即得。

2.2.5 供试品溶液的制备 取红花普通粉体和不同粒径的超微粉体 0.5 g 精密称定, 精密加入甲醇 25 mL, 称定重量, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 15 mL, 置平底烧瓶中, 加盐酸溶液 (15 \rightarrow 37) 5 mL, 摇匀, 置水浴中加热水解 30 min 立即冷却, 转移至 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度、摇匀、滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.6 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 结果见表 3。

表 3 红花普通粉体和超微粉体山柰素溶出量 (n = 3)

项目	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
100 g 药材 溶出量(g)	0.16	0.20	0.21	0.21

2.2.7 山柰素溶出度测定 采用浆状搅拌器法^[4]。溶出介质 1 000 mL 水, 置于溶出杯内加温待溶出介质温度恒定在 37℃ (±0.5℃) 后, 转速为 150 r·min⁻¹, 取各个不同粉碎时间样品各 15 g, 精密称定, 自供试品接触溶出介质起开始计时于 (8、12、16、20、25、40、60、90、130、180 min) 各采样 5 mL, 同时补充同温水 5 mL, 滤膜滤过, 精密量取滤液 3 mL, 置 5 mL 量瓶中, 加盐酸溶液 (15→37) 1 mL 摇匀, 置水浴中加热水解 30 min, 立即冷却用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 按前述液相色谱条件测定, 结果见表 4、图 2。

表 4 红花普通粉体和超微粉体山柰素累计溶出百分量 (n = 3)

采样时间 (min)	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
2	0.074 4	0.091 8	0.092 2	0.095 3
4	0.092 8	0.095 7	0.094 6	0.097 2
8	0.094 7	0.096 4	0.102 0	0.098 8
15	0.096 6	0.102 4	0.104 0	0.102 8
30	0.102 6	0.104 3	0.108 2	0.110 5
45	0.104 2	0.110 2	0.114 2	0.116 9
60	0.107 0	0.114 4	0.116 7	0.120 5
80	0.111 3	0.118 6	0.120 4	0.124 4
120	0.116 6	0.122 4	0.126 4	0.130 2
180	0.122 6	0.135 4	0.140 5	0.144 2

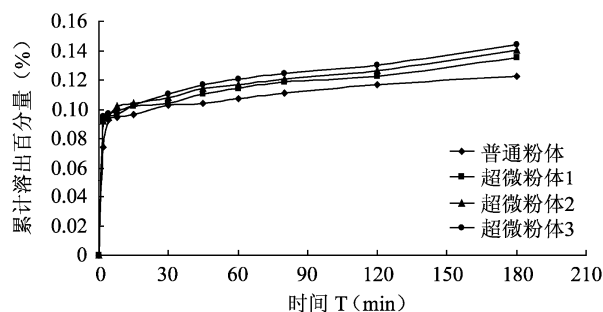


图 2 红花普通粉体和超微粉体山柰素
累计溶出百分量变化曲线

2.3 数据处理 根据威布尔分布函数进行数据处理, 拟合参数。以 $\ln t$ 、 $-\ln[1 - F]$ 为变量计算出回归方程, 相应的 Weibull 参数见表 6 与表 7。

表 6 红花普通粉体和超微粉体羟基红花黄色素 A 溶出度参数

参数	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
T ₅₀	14.66	6.97	4.28	3.63
T _d	61.21	30.67	19.28	15.31
M	0.256 5	0.247 5	0.243 6	0.254 5
Q ₍₄₅₎ (%)	60.31	66.70	70.75	73.17

表 7 红花普通粉体和超微粉体山柰素溶出度参数

参数	普通粉体	超微粉体 1	超微粉体 2	超微粉体 3
T ₅₀ (min)	36.74	17.17	12.36	10.91
T _d (min)	670.96	417.36	200.72	160.05
M	0.126 2	0.114 9	0.131 5	0.136 5
Q ₍₄₅₎ (%)	50.89	53.89	56.02	56.87

注: 均以超微粉体 3 的羟基红花黄色素 A 与山柰素溶出量测定结果为 100% 溶出。T₅₀ 为累积溶出 50.0% 的时间, T_d 为累积溶出 63.2% 的时间, m 为曲线的形状参数, Q₍₄₅₎ 为 45 min 时的累计溶出百分率。

3 讨论

一般情况下, 植物药细胞中的化学成分受细胞屏障的阻碍, 难于提取完全。超细粉碎技术可以使中药材达到细胞级粉碎, 破除了有效成分溶出的屏障, 因而能增加有效成分溶出, 缩短提取时间, 提高药效, 减少药材用量, 这对汤剂的制备和药效成分的提取等具有很大意义。

红花有效成份提取试验结果为红花普通粉体和 3 种超微粉体的羟基红花黄色素 A 的溶出量分别为 1.99%、2.20%、2.23% 和 2.25%, 山柰素溶出量分别为 0.16%、0.20%、0.21% 和 0.21%, 表明红花超微粉中的羟基红花黄色素 A 和山柰素的溶出量比常规粉明显增加。这可能由于红花羟基红花黄色素 A 和山柰素的溶出受到细胞壁的限制, 细胞内的羟基红花黄色素 A 和山柰素难于提取出来。红花制成超微粉后药材中的细胞壁被破坏, 成分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。而对 3 种红花超微粉体来说, 虽然其粒径不一样, 其细胞壁受到的破坏程度也可能不一样, 但只要细胞壁被破坏, 则细胞壁的溶出限制(屏障)就被解除, 在加热回流的条件下可使细胞内的羟基红花黄色素 A 和山柰素充分提取出来, 故 3 种不同粒径的红花超微粉体中羟基红花黄色素 A 和山柰素在加热回流提取时溶出量差异不大。

红花的溶出度试验结果表明红花超微粉中的羟基红花黄色素 A 和山柰素的溶出速率比常规粉明显

增加。按威布尔溶出动力学模型拟合的结果显示红花普通粉体羟基红花黄色素 A 的 T_{50} 、 T_d 为别为 14.66、61.21 min, 山柰素的 T_{50} 、 T_d 为别为 36.74、670.96 min; 而 3 种超微粉体羟基红花黄色素 A 的 T_{50} 、 T_d 则分别为 6.97、30.67, 4.28、19.28, 3.63、15.31 min, 山柰素的 T_{50} 、 T_d 为别为 17.17、417.36, 12.36、200.72, 10.91、160.05 min。而红花普通粉体和 3 种超微粉体的粒径(D_{50}) 分别为 59.28、35.33、22.42 和 14.71 μm 表明随着超微粉体粒径减小, 有效成份溶出的速率加快。其中红花超微粉 2 与红花超微粉 3 的粒径相差不大, 其溶出参数也比较接近, 提示红花制备超微粉时, 控制粉碎时间在 20~30 min 时比较合适的。

粉体颗粒大小与中药有效成分的释放, 溶出及吸收之间密切相关, 中药粉末经过超微化后, 使中药有效成分的溶出过程发生新的变化。本实验结果表明超微粉的溶出量和速率比常规粉要多而快, 从而有利人体对药物有效成分的吸收利用。

[参考文献]

- [1] 奚念朱. 药剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 3.
- [2] 宋辉, 张周萍. 粉碎度对中药煎出量影响的探讨[J]. 中国药房, 1994, 5(1): 48.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 103.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 二部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 附录 73.