

三七普通细粉与超微粉中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rb₁ 及人参皂苷 Rg₁ 体外溶出行为的比较研究

吴小明, 梁少瑜, 程文胜, 陆 珩, 汪 涛, 向飞军*

广东康美药物研究院有限公司, 广东 广州 510000

摘要: **目的** 研究三七普通细粉与超微粉中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rb₁ 及人参皂苷 Rg₁ 的溶出行为, 探讨粉体粒径对皂苷类成分溶出的影响。**方法** 采用浆法和 HPLC 技术同时分析不同粒径三七粉中三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 的体外溶出情况, 比较不同粒径粉末的溶出速率。**结果** 超微粉碎后 3 种皂苷类成分的溶出速率均显著提高。**结论** 超微粉碎有助于三七饮片中皂苷类成分的溶出, 粉碎粒度对有效成分的溶出有显著的影响。

关键词: 三七; 超微粉; 溶出度; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rg₁

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)24-3489-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.011

Comparison on *in vitro* dissolution behavior of notoginsenoside R₁, ginsenosides Rb₁ and Rg₁ between ordinary fine and ultrafine powder of *Panax notoginseng*

WU Xiao-ming, LIANG Shao-yu, CHENG Wen-sheng, LU Heng, WANG Tao, XIANG Fei-jun

Guangdong Kangmei Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangzhou 510000, China

Abstract: Objective To compare the dissolution behavior of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rb₁ and Rg₁ between the ordinary fine and ultrafine powder of *Panax notoginseng* and to investigate the effect of micronization on the dissolution of saponin ingredients in *P. notoginseng*. **Methods** The oar method was adopted. The *in vitro* dissolution of the three kinds of saponins including notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ and Rb₁ in different particle sizes was determined by HPLC. The dissolving rates of the powder in various particle sizes were compared. **Results** The dissolving rates of the three kinds of saponins were greatly increased after ultramicro-pulverization. **Conclusion** The ultramicro-pulverization is helpful to the dissolution of saponins in *P. notoginseng* pieces, and the particle size of the powder exerts the great influence on the dissolution of the three kinds of saponins.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; ultrafine powder; dissolving rate; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rg₁

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 具有显著的活血化瘀、消肿定痛的功效, 素有“金不换”、“南国神草”之美誉。其有效活性物质质量和数量多于人参, 故又被现代中药药物学家称为“参中之王”。其主要有效成分三七总皂苷为目前临床心脑血管疾病用药的主要成分之一, 具有抑制血小板聚集、抗血栓形成、改善微循环、扩张脑血管、增加脑血流量、抗心脑血管缺血, 降低机体耗氧量、提高机体对缺氧的耐受力等作用^[1-5]。

三七药材质重而坚硬, 普通粉碎难以达到合适的粒度范围, 使三七临床使用有效成分利用率低, 汤剂煎煮耗时。超微粉碎技术又称细胞级粉碎技术, 作为近年来国际飞速发展的一项新技术, 其最终产品是粒径范围 1~75 μm 的超微粉。高等植物的细胞直径通常在 10~200 μm, 超微粉碎使中药材细胞破壁率达 90% 以上。超微粉碎后的中药, 其有效成分充分暴露, 有利于药物的释放和吸收, 提高其生物利用度。超微粉由于粒径小、比表面积大, 具有一般颗粒所不具有的特殊理化性质, 如良好的溶解

收稿日期: 2013-06-28

基金项目: 广东省经济和信息化委员会(康美药业三七规范化种植基地建设)资助项目

作者简介: 吴小明(1979—), 男, 硕士, 研究方向为天然药物开发。Tel: 18927510545 E-mail: 40268647@qq.com

*通信作者 向飞军, 教授级高级工程师。Tel: (020)39389798 E-mail: xiangfeijun@126.com

性、分散性以及生物活性等。研究表明,三七超微粉中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Rg_1 的溶出速率及累积溶出量均高于细粉^[3-4]。本研究对三七普通细粉和超微粉的粒径分布范围及体外溶出行为进行比较,为三七超微粉的临床使用提供依据。

1 仪器与材料

F—300 摇摆式高速中药粉碎机,江苏省常熟市中药机械厂;ZRS—8G 智能溶出试验仪,天津大学无线电厂;Winner 3001 型激光粒度测定仪,济南微纳仪器有限公司;高效液相色谱仪-DAD 检测器,Agilent 公司。

三七药材,康美药业有限公司,产地云南,批号 121102461,经广东药学院副教授刘基柱鉴定为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎;三七超微粉(康美药业股份有限公司,批号 130150851);对照品三七皂苷 R_1 (批号 110745-200415)、人参皂苷 Rb_1 (批号 110704-200318)、人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-200726) 购自中国药品生物制品检定所;乙腈为色谱纯;水为超纯水;其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 自制三七普通细粉

取三七药材 300 g,于摇摆式高速中药粉碎机中粉碎 3 min,过 80 目筛网,制备三七细粉(不过筛网者继续粉碎至完全粉碎过筛为止)。

2.2 粉体粒径检测

取自制三七普通细粉及康美三七超微粉各 0.07 g,加 1 mL 乙醇润湿后,加 50 mL 水,超声 1 min,于激光粒度测定仪进行检测,得到中位粒径($d_{0.5}$)和众位粒径($d_{0.9}$)。结果见图 1 和表 1。

2.3 溶出度测定^[6-7]

2.3.1 色谱条件 色谱柱 Inertsil ODS-SP (250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为乙腈-水,梯度洗脱程序:0~12 min, 19%乙腈;12~60 min, 19%~36%乙腈;60~70 min, 36%~19%乙腈;70~80 min, 19%乙腈;体积流量 1.0 mL/min,进样量 10 μ L,柱温 30 $^{\circ}$ C,检测波长 203 nm。理论塔板数按三七皂苷 R_1 峰计算不低于 4 000。色谱见图 2。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 及人参皂苷 Rb_1 对照品适量,加甲醇制成含三七皂苷 R_1 126 μ g/mL、人参皂苷 Rg_1 489 μ g/mL、人参皂苷 Rb_1 317 μ g/mL 的混合溶液,备用。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密量取溶出度测定时

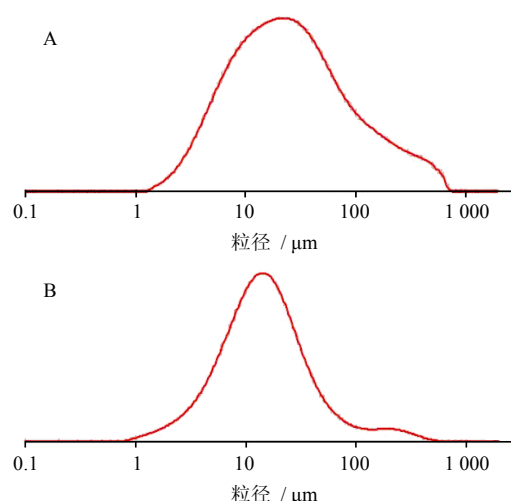


图1 自制三七普通细粉(A)和康美三七超微粉(B)的粒径分布图

Fig. 1 Particle size distribution of self-made ordinary fine powder of *P. notoginseng* (A), and Kangmei ultrafine powder of *P. notoginseng* (B)

表1 三七粉体粒径测定结果

Table 1 Determination of powder particle sizes of *P. notoginseng*

粉体规格	$d_{0.1}$ / μ m	$d_{0.5}$ / μ m	$d_{0.9}$ / μ m
自制三七普通细粉	2.524	38.778	167.375
康美三七超微粉	2.647	12.348	31.527

所得续滤液 0.5 mL,至 1 mL 量瓶中,加入甲醇适量,超声 5 min,放冷,甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,备用。

2.3.4 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品储备液 1、2、4、6、8、10 mL,置 10 mL 量瓶中,甲醇定容,摇匀。进样量 10 μ L,按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析,测定 3 种皂苷的峰面积。以进样量为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y)进行线性回归,得到 3 种对照品的线性回归方程:三七皂苷 R_1 $Y=45.7664X+84.3319$, $r=0.9997$,线性范围 0.126~1.26 μ g;人参皂苷 Rg_1 $Y=67.2537X+176.5817$, $r=0.9999$,线性范围 0.489~4.89 μ g;人参皂苷 Rb_1 $Y=71.4281X+105.9972$, $r=1.0000$,线性范围 0.317~3.17 μ g。

2.3.5 精密度试验 取同一混合对照品溶液,重复进样 6 次,每次 10 μ L,按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析。根据所得 3 种皂苷的峰面积并计算其在样品中的量,结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 质量分数的 RSD 分别为 1.08%、

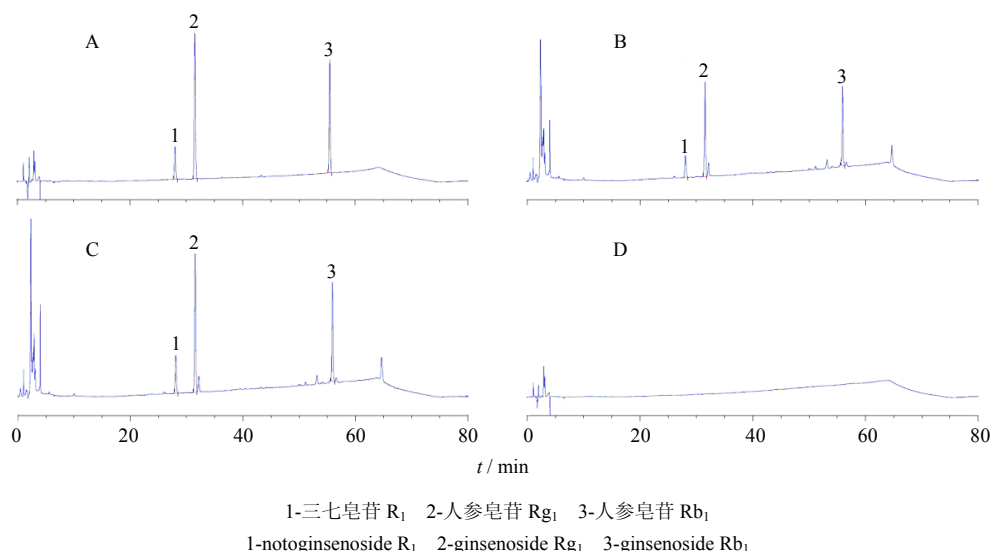


图2 混合对照品 (A)、自制三七普通细粉 (B)、康美三七超微粉 (C) 和空白溶液 (D) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatogram of mixed reference substances (A), self-made ordinary fine powder of *P. notoginseng* (B), Kangmei ultrafine powder of *P. notoginseng* (C), and blank solution (D)

2.13%、1.59%，表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24、48 h，精密吸取 10 μ L 按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析。根据所得 3 种皂苷的峰面积并计算其在样品中的量，结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 质量分数的 RSD 分别为 1.64%、2.41%、2.16%，表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.3.7 重复性试验 取同一样品液 6 份，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析。根据所得 3 种皂苷的峰面积并计算其在样品中的量，结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 质量分数的 RSD 分别为 1.81%、1.63%、1.04%，表明方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密吸取同一样品液 6 份，每份样品液加入混合对照品溶液适量，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析。根据测得量和加入量计算其回收率。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 的平均加样回收率分别为 98.69%、101.37%、101.81%，RSD 分别为 1.24%、0.97%、1.35%。

2.3.9 100%溶出量的测定 以样品中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 的量为 100%溶出量，样品处理方法见《中国药典》2010 年版三七药材定量测定项下。取粉末 0.6 g，精密称定，精密加入甲醇 50 mL，称定质量，放置过夜，置 80 $^{\circ}$ C 水浴上

保持微沸 2 h，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μ m 微孔滤膜滤过，取续滤液，按“2.3.1”项下色谱条件进行测定。

2.3.10 溶出度测定 为了使样品在溶剂中具有良好溶出曲线，通过预试验确定：称取自制三七普通细粉和康美三七超微粉 8 g，各 6 份。采用浆法，转速为 60 r/min，水浴温度为 (37 ± 0.5) $^{\circ}$ C，溶出介质为 900 mL 蒸馏水，进行溶出实验。分别于 2、4、6、8、10、15、20、25、30、45、60 min 取 1 mL，即时补充同温度同体积的溶出介质，1 mL 溶出液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过，备用。按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.3.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析，测定各样品中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 及人参皂苷 R_{b1} 的量，计算累积溶出率。结果见表 2。

累积溶出率 = 累积溶出药物量 / 药物总量

3 讨论

以生药入药的中药传统剂型非常丰富，如汤剂、散剂、丸剂、茶剂等。随着超微粉碎技术的应用，以生药入药的中药剂型不断被拓宽，如片剂、胶囊剂、软膏剂、吸入剂、涂膜剂等。中药超微粉碎后，有效成分充分暴露，成分释放、溶出加快，更有利于成分的吸收，但是，由于超微粉的单元粒子又易于相互吸引而发生结聚，形成超微粉的团聚体，导致超微粉的孔隙率降低，密度增大，流动性、填充性、分散性变差。

表2 三七粉各时间点3种皂苷的累积溶出率 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Table 2 Cumulative dissolving rates of three kinds of saponins in *P. notoginseng* powder at each time point ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

t / min	自制三七普通细粉溶出率 / %			康美三七超微粉溶出率 / %		
	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 R_{b1}	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 R_{b1}
2	35.12±5.18	33.85±4.76	36.64±4.96	53.64±6.88	52.14±4.87	56.17±4.37
4	48.61±4.24	47.08±3.81	49.22±5.87	69.86±4.95	67.33±3.99	72.86±3.24
6	57.83±6.06	56.88±5.06	59.84±4.75	83.17±5.04	81.08±4.12	85.38±2.95
8	66.52±3.88	64.77±3.94	68.33±3.08	92.95±3.15	91.92±4.20	94.62±3.04
10	73.64±5.79	72.52±4.17	75.15±3.33	98.41±3.27	97.53±3.86	98.39±2.88
15	82.47±5.08	83.72±4.24	88.62±4.25	97.33±2.83	97.55±2.79	98.24±1.82
20	89.96±2.16	87.28±3.88	92.24±2.84	98.24±2.79	98.37±1.94	97.61±2.15
25	91.33±4.27	90.54±1.72	93.31±1.79	98.61±1.94	98.29±2.73	98.57±1.91
30	92.45±1.92	92.32±1.96	94.53±1.93	98.94±2.66	98.76±1.85	98.79±2.02
45	94.64±2.87	94.28±2.25	94.21±2.06	99.28±1.74	98.37±1.86	99.04±1.97
60	96.48±3.64	95.56±1.86	95.26±1.69	98.19±2.13	99.08±1.77	98.62±1.80

从表2可以看出,康美三七超微粉中3种皂苷成分的溶出速度比细粉的溶出快,8 min内能达到总溶出量的90%以上,充分体现了超微粉碎在药材三七制剂过程中的优势。其流动性、分散性、吸湿速率、临界相对湿度等参数待后续研究,进一步证明其粒径选择的合理性及优越性。

参考文献

- [1] 时圣明,袁永兵,陈常青,等. HPLC法在三七及其制剂现代药学研究中的应用[J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 472-475.
- [2] 刘刚,刘育辰,鲍建才,等. 三七药理作用的研究进展[J]. 人参研究, 2005(3): 4-6.

- [3] 杨志刚,陈阿琴,俞颂东. 三七药理研究新进展[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(4): 5-8.
- [4] 蒲清荣,税丕先. 三七药理作用研究概述[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(24): 3704-3705.
- [5] 王薇. 三七总皂苷对脑出血患者血肿吸收及血浆基质金属蛋白酶-9的影响[J]. 中草药, 2011, 42(5): 963-965.
- [6] 邓雯,夏荃,詹若挺,等. 三七超微粉与细粉中三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的含量比较研究[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(6): 50-53.
- [7] 陈绪龙,赵国巍,廖正根,等. 不同粒径三七粉体物理特性及体外溶出行为的比较[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 1971-1974.