

生脉散超微粉的显微特征和溶出度研究

李守信^{1,2}, 张则平^{1,2}, 邱新建^{1,2}, 贺凤成^{1,2}, 苏瑞强^{1,2}, 赵志全^{1,2}

1. 鲁南制药集团股份有限公司, 山东 临沂 276006

2. 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276006

摘要: **目的** 研究生脉散超微粉的显微特征和溶出度差异, 为生脉超微粉应用提供实验依据。**方法** 采用光学显微镜观察颗粒显微结构; 电镜扫描观察微观形貌; 以五味子甲素和五味子乙素为指标, 采用 HPLC 法测定生脉散细粉和超微粉在不同时间溶出的量, 计算累积溶出度。**结果** 生脉散经超微粉碎后, 基本无完整细胞存在, 粒度均匀; 生脉散超微粉中五味子甲素和五味子乙素溶出速率高于细粉, 但是 180 min 后累积溶出量没有明显差异。**结论** 超微粉碎可使生脉散显微特征变化明显, 化学成分五味子甲素和五味子乙素溶出速率加快。

关键词: 生脉散; 超微粉; 显微特征; 五味子甲素; 五味子乙素; 溶出度

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2013)02-0175-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2013.02.017

Micro-characteristic and dissolution of ultra-micro Shengmai Powder

LI Shou-xin^{1,2}, ZHANG Ze-ping^{1,2}, QIU Xin-jian^{1,2}, HE Feng-cheng^{1,2}, SU Rui-qiang^{1,2}, ZHAO Zhi-quan^{1,2}

1. Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Linyi 276006, China

2. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Linyi 276006, China

Abstract: **Objective** To study the micro-characteristic and dissolution of ultra-micro powder in Shengmai Powder, and to provide experimental foundation for the application of ultra-micro powder in Shengmai Powder. **Methods** The microstructure was observed by light microscope and the micro shape was observed by electron microscope scanning. The dissolutions of Shengmai Powder and ultra-micro powder in Shengmai Powder at different time were determined by HPLC using schizandrins A and B as indexes. **Results** Compared with the common powder, the cellules of ultra-micro powder were pulverized, and the particles were tiny without intact cells and uniform. The cumulative dissolution rates of schizandrins A and B in ultra-micro powder were higher than those in the traditional common powder, but there was no significant difference after 180 min. **Conclusion** The micro-characteristic of ultra-micro powder in Shengmai Powder is obviously changed after ultrafine grinding, and the dissolution velocity of schizandrins A and B increases.

Key words: Shengmai Powder; ultra-micro powder; micro-characteristics; schizandrin A; schizandrin B; dissolution

生脉散为中医经典名方, 由人参、麦冬、五味子组成, 具有益气生津、养心补肺、大补元气、固脱复脉的功效, 临床上常用于治疗气阴两虚患者。生脉散含有木质素、人参皂苷、麦冬皂苷、多糖等多种成分, 具有改善心肌代谢、保护心肌、调节血压、抗休克作用, 临床广泛应用于治疗多种疾病, 特别在治疗心血管疾病方面取得显著疗效^[1-2]。中药材多来源于天然的动植物组织, 有效成分存在于细胞内, 只有释放出来才能被机体吸收利用, 细胞膜

(壁) 是限制成分扩散溶出的最主要障碍^[3]。中药超微粉碎是以中药材细胞破壁为目的的粉碎作业, 能将中药材从传统粉碎工艺得到粒径为 150 μm (100 目) 的粉末提高到中心粒径为 5~47 μm 的超微粉, 粒径分布在 1~75 μm , 药材细胞壁破壁率 $\geq 90\%$ ^[4-5], 细胞内物质可充分暴露出来, 消除了细胞壁和细胞膜对物质交换的障碍, 从而提高有效成分的释放速度和量, 提高生物利用度和药效作用, 并可减轻制剂服用时的砂粒感, 该技术在中药生产中

收稿日期: 2012-12-29

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目 (2010CB735604)

作者简介: 李守信 (1969—), 男, 高级工程师, 从事中药新药研究与开发。Tel: (0539)8336639 E-mail: yihelaosou@sohu.com

已显露出特有的优势^[6-8]。本实验通过比较生脉散超微粉和细粉的显微特征以及活性成分五味子甲素、五味子乙素的溶出情况,为生脉散超微粉应用提供实验数据。

1 仪器与试药

LRVM—MHS—BE 型高频震动研磨机; Winner 3003 全自动干法激光粒度仪、Winner 90D 颗粒图像分析仪(济南微纳颗粒仪器股份有限公司); SUPRA55 热场发射扫描电子显微镜(德国 Zeiss 公司); ZRS—8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Mettler Toledo AG285 电子分析天平($d=0.01$ mg, 梅特勒托利多仪器有限公司); KQ 5200DB 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

红参、麦冬、五味子经我公司分析室检验,均符合《中国药典》2010 年版一部要求;生脉散细粉(100 目,红参、麦冬、五味子比例为 1:2:1)由鲁南厚普制药有限公司提供,批号 20110101、20110102、20110103;五味子甲素(批号 110764-201010)、五味子乙素(批号 110765-200407)由中国药品生物制品检定所提供,乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超微粉的制备

取生脉散细粉,置高频震动研磨机中,装料系数 55%,0℃研磨 15 min,过 300 目筛,即得。

2.2 粒径分布的测定

分别取生脉散细粉和超微粉适量,置激光粒度分布仪中干法测定粒径分布,见图 1。生脉散细粉的 D_{50} 、 D_{90} 分别为 103.6、191.6 μm ;生脉散超微粉的 D_{50} 、 D_{90} 分别为 33.6、66.7 μm ,粒径显著的减小。

2.3 显微结构观察

分别取生脉散细粉和超微粉适量,用水合氯醛透化,置显微镜下观察粉末显微结构。

生脉散细粉来源于红参的主要是簇晶和导管:可见草酸钙簇晶,直径 20~68 μm ,棱角尖锐;可见网纹导管或梯纹导管,直径 10~56 μm ;来源于五味子的主要是石细胞:可见多角形石细胞,直径 18~50 μm ,壁厚,孔沟细密。可见不规则形石细胞,直径约 83 μm ,壁稍厚,纹孔较大。来源于麦冬的主要是针晶束和木纤维:可见草酸钙针晶散在或成束;可见木纤维的纤维束。

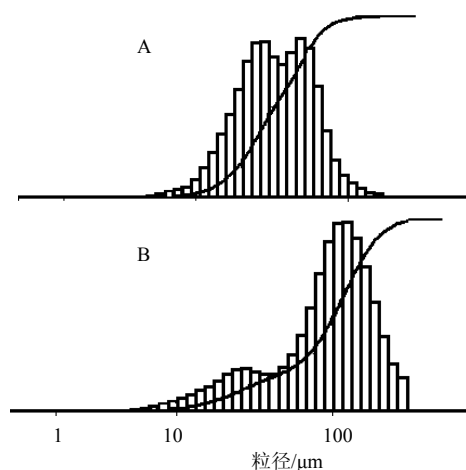


图 1 生脉散超微粉(A)和细粉(B)的粒径分布

Fig. 1 Particle diameters of ultra-micro powder (A) and common powder (B) in Shengmai Powder

生脉散超微粉多见黄绿色或黄棕色小颗粒状物,可见石细胞碎片,壁厚或稍厚;可见导管碎片;未见完整细胞。

2.4 微观形貌观察

取样品适量,喷金镀膜后,置于电镜下进行微观形貌观察。生脉散细粉颗粒大,组织结构特征明显,可见导管纹理和球形石细胞,见图 2。生脉散超微粉颗粒细小均匀,团聚明显,组织结构特征不明显,见图 3。

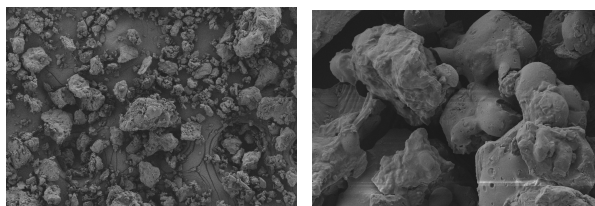


图 2 生脉散细粉的电镜观察图

Fig. 2 Electronic microscopy of common powder in Shengmai Powder

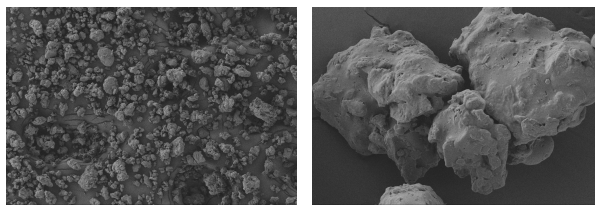


图 3 生脉散超微粉的电镜观察图

Fig. 3 Electronic microscopy of ultra-micro powder in Shengmai Powder

2.5 五味子甲素和五味子乙素的 HPLC 法测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(69:31); 检测波长为 254 nm; 柱温为 40 ℃; 体积流

量为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL。按上述条件, 五味子甲素、五味子乙素与其他成分的峰分离较好, 样品色谱峰保留时间与相应的对照品保持一致, 见图 4。

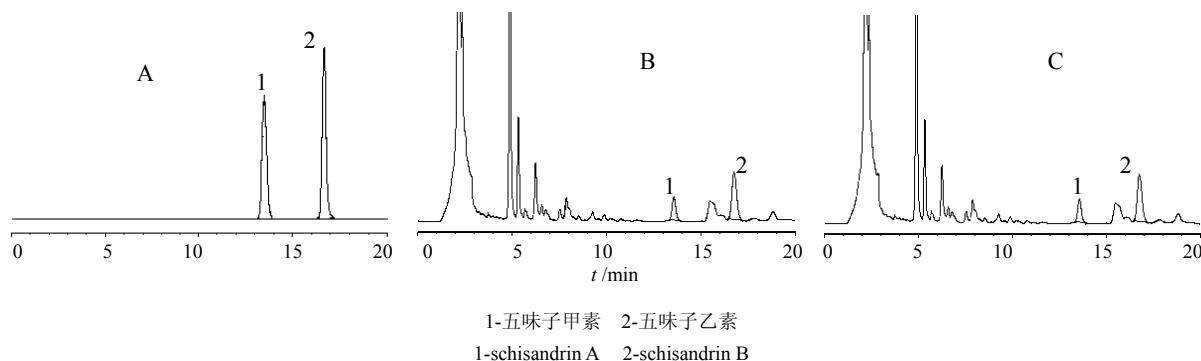


图 4 混合对照品 (A)、生脉散细粉 (B) 和生脉散超微粉 (C) 的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), common powder(B) and ultra-micro powder (C) in Shengmai Powder

2.5.2 对照品溶液的制备 分别精密称取五味子甲素、五味子乙素对照品适量, 用甲醇配制成质量浓度分别为 18.1、46.1 μg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.5.3 供试品溶液的制备 分别生脉散细粉和超微粉约 2 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 160 W, 频率 40 kHz) 60 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 1、2、4、8、10 μL, 进样分析, 各进样 3 次, 取平均值。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算得回归方程。五味子甲素: $Y=18\ 015 X+1.024\ 1$ ($r=0.999\ 9$), 五味子乙素: $Y=16\ 213 X+0.125\ 3$ ($r=0.999\ 9$), 结果表明五味子甲素、五味子乙素分别在 0.018 1~0.181 μg、0.046 1~0.461 μg 线性关系良好。

2.5.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 10 μL, 计算得五味子甲素、五味子乙素峰面积的 RSD 值分别为 0.65%、0.39%。

2.5.6 重现性考察 取生脉散超微粉 (批号 20110101) 样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样分析, 计算五味子甲素、五味子乙素质量分数, 结果五味子甲素、五味子乙素质量分数的 RSD 值分别为 0.75%、1.33%。

2.5.7 稳定性试验 精密吸取生脉散超微粉 (批号 20110101) 供试品溶液, 分别测定 0、1、2、4、8、12 h 的峰面积, 结果五味子甲素、五味子乙素峰面积的 RSD 值分别为 1.05%、1.31%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.8 加样回收率试验 分别取生脉散超微粉 (批号 20110101) 6 份, 每份约 1 g, 精密称定, 分别精密加入含五味子甲素 0.312 mg/mL、五味子乙素 0.891 mg/mL 混合对照品溶液各 1 mL, 制备供试品溶液, 进样分析, 计算回收率。结果五味子甲素、五味子乙素平均回收率分别为 100.3%、99.8%, RSD 值分别为 2.0%、1.0%。

2.5.9 样品测定 精密称取生脉散细粉和超微粉样品各 3 份, 制备供试品溶液, 分别进样 10 μL, 进样分析, 计算各成分的质量分数, 见表 1。结果表明, 两种粉末的含量无明显差异。

表 1 生脉散中五味子甲素和五味子乙素的测定

Table 1 Determination of schisandrin A and schisandrin B in Shengmai Powder

批 号	生脉散细粉/(mg·g ⁻¹)		生脉散超微粉/(mg·g ⁻¹)	
	五味子甲素	五味子乙素	五味子甲素	五味子乙素
20110101	0.305	0.879	0.312	0.893
20110102	0.314	0.885	0.319	0.897
20110103	0.308	0.883	0.310	0.889

2.6 溶出度考察

取生脉散细粉和超微粉各 4 g, 精密称定, 分别

置于溶出仪中,加 65%乙醇 500 mL 作为溶出介质,采用桨状搅拌器法,恒温 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,搅拌转速为 80 r/min,分别于 5、10、15、30、45、60、90、120、150、180 min 时定位吸取 2 mL,同时将同温的 65%乙醇 2 mL 补充到溶出仪中。取出液立即过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液测定五味子甲素、五味子乙素的质量浓度,计算各时间点的溶出率,绘制溶出曲线,见图 5。

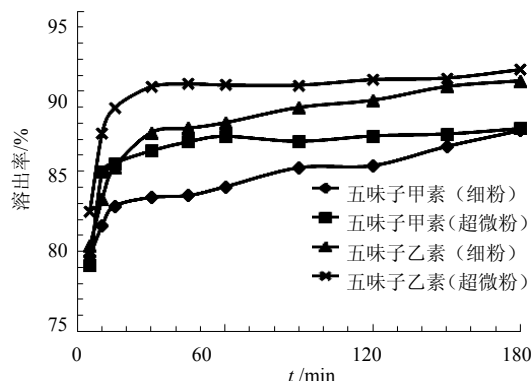


图 5 生脉散细粉和超微粉的溶出速率比较

Fig. 5 Comparison on average dissolution rates of common powder and ultra-micro powder in Shengmai Powder

结果表明,生脉散超微粉中五味子甲素在 180 min 溶出量没有差异,五味子乙素在 180 min 溶出量略高于细粉;生脉散超微粉中五味子甲素和五味子乙素溶出量达到总溶出量的 95% 只需 10 min,生脉散细粉则需要 30 min,溶出速率明显提高。

3 讨论

采用显微观测法对生脉散超微粉碎情况评价,可直观分析细胞破壁情况,表明超微粉碎可使生脉散中各种类型细胞破壁,粒度分布更均匀,有利于

质量控制。

生脉散超微粉碎后,对五味子甲素和五味子乙素含量以及溶出率没有明显影响,溶出速率有明显提高。

在作溶出度考察时,曾用水作溶出介质,但五味子甲素和五味子乙素溶出量很少,考虑到生脉制剂常用一定体积分数的乙醇作溶剂渗滤提取^[9],本实验采用 65%乙醇作溶剂,溶出率较高。

参考文献

- [1] 岳磊,朱丹妮,严永清,等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系研究—生脉散中五味子化学动态变化(VII) [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(12): 1010-1011.
- [2] 廖泽云,李玉山,刘红,等. 生脉散对小鼠免疫和造血功能影响 [J]. 中国公共卫生, 2007, 23(9): 1102-1103.
- [3] 贺福元,邓凯文,罗英杰,等. 中药复方成分提取动力学模型数学模型的初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 490-495.
- [4] 温俊达,蔡光先,杨永华,等. 微粉化对栀子等 20 种植物药细胞组织的影响 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 226-228.
- [5] 蔡光先,杨永华,李跃辉. 超微粉体技术与中药饮片改革 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2004, 6(2): 67-70.
- [6] 黄世超,邹龙,桂卉,等. 马钱子超微粉体和常规粉体中土的宁的溶出比较 [J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(2): 40-42.
- [7] 宋英,谈静,胡原. 中药微粉技术的发展与展望 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(8): 89-91.
- [8] 马镇洲. 超微粉化对生脉散抗心肌缺血大鼠心肌重塑的影响 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 653.