

基于多成分测定的血竭三七接骨膏中粉体粒径与溶出度的相关性研究

闫丹^{1,2}, 江敏瑜^{1,2}, 张传辉^{2*}, 王云红², 赵凤平², 张琳^{1,2}, 杨荣平^{1,3*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065

3. 西南大学药学院, 重庆 400715

摘要: **目的** 考察血竭三七接骨膏(XSJP)中不同粉体粒径和体外溶出度之间的相关性。**方法** 采用激光粒度仪测定3种不同XSJP粉体(超微粉、极细粉、细粉)的粒径分布;采用浆法,以羟基红花黄色素A、三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、川续断皂苷VI、人参皂苷Rb₁、血竭素6种成分为评价指标考察上述不同粉体溶出度,采用SPSS 17.0软件对不同粒径粉体与所对应的溶出度进行相关性分析。**结果** 3种粉体的粒径与指标成分溶出度具有相关性,其中羟基红花黄色素A、三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁、川续断皂苷VI、人参皂苷Rb₁5种成分累积释放率与粒径呈负相关,超微粉较细粉累积溶出率分别提高6.8%、16.6%、6.6%、6.7%、5.4%,血竭素无相关性。**结论** 含有细胞结构的纤维类药材不同粉体粒径与其溶出度存在相关性。

关键词: 血竭三七接骨膏;粉体;粒径;溶出度;多指标评价;相关性;超微粉;极细粉;细粉;羟基红花黄色素A;三七皂苷R₁;人参皂苷Rg₁;川续断皂苷VI;人参皂苷Rb₁;血竭素

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)21-4432-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.011

Correlation of powder particle size and *in vitro* dissolution rate in Xuejie Sanqi Jiegu Paste based on multi-components determination

YAN Dan^{1,2}, JING Min-yu^{1,2}, ZHANG Chuan-hui², WANG Yun-hong², ZHAO Feng-ping², ZHANG Lin^{1,2}, YANG Rong-ping^{1,3}

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chongqing Academy of Chinese Traditional Materia Medica, Chongqing 400065, China

3. College of Pharmacy, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between powder particle size and dissolution of Xuejie Sanqi Jiegu Paste (XSJP) *in vitro*. **Methods** The particle size of three kinds of XSJP was measured by laser particle size instrument. The hydroxysafflor yellow A, asperosaponin VI, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁, notoginsenoside R₁, dracorhodin were taken as indexes, and the feature of dissolution for the above three kinds of XSJP was examined by grouting method. The correlation between the powders in different particle sizes and their corresponding dissolution was analyzed by software SPSS 17.0. **Results** The particle size of the three kinds of powders was correlated with the dissolution of index components. The powders in different particle sizes were negatively correlated with the relative cumulative dissolution of hydroxysafflor yellow A, asperosaponin VI, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁ and notoginsenoside R₁. The cumulative dissolution of superfine powder was respectively increased by 6.8%, 16.6%, 6.6%, 6.7%, and 5.4%, while the dracorhodin had no direct correlation. **Conclusion** There is a correlation between the particle size and dissolution of Chinese medicine with fibre which contains cellular structure.

收稿日期: 2017-05-20

基金项目: 重庆市科委应用开发重大项目 (cstc2014yykfC10006)

作者简介: 闫丹 (1991—), 女, 硕士研究生, 从事中药新制剂、新剂型及新技术的研究与应用。

Tel: 15184386317 E-mail: 843920587@qq.com

*通信作者 杨荣平 (1975—), 女, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药新制剂、新剂型及新技术的研究与应用。

Tel: 13668023788 E-mail: 550277369@qq.com

张传辉 (1988—), 男, 硕士, 助理研究员, 从事中药新制剂、新剂型及新技术的研究与应用。

Tel: 17623235872 E-mail: 1066165073@qq.com

Key words: Xuejie Sanqi Jiegu Paste; powder; particle size; dissolution; multi-indicators assessment; correlation; superfine powder; impalpable powder; fine powder; hydroxysafflor yellow A; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rg₁; asperosaponin VI; ginsenoside Rb₁; dracorhodin

血竭三七接骨膏 (Xuejie Sanqi Jiegu Paste, XSJP) 来源于医院制剂, 由血竭、三七等 11 味药材组成^[1-2], 具有活血化瘀、消肿止痛的功效。原制剂采用药物直接粉碎入药, 药味众多, 药量庞大, 存在药物释放不完全、质量可控性差的缺点。目前, 中药超微粉碎的研究以单味药 (如人参^[3]、三七^[4]、铁皮石斛^[5]、杜仲^[6]、桑叶^[7]、石榴皮^[8]、连翘^[9]等) 较多^[10-12], 对复方制剂的研究也多停留在中药汤剂、散剂^[13-14]、丸剂^[15]、胶囊剂^[16]等剂型, 其在外用制剂 (如传统膏剂等) 中应用的报道相对较少, 目前对复方膏剂的超微粉碎技术还缺乏相对系统的研究。本研究在前期实验的基础上, 对超微粉、极细粉、细粉 3 种粉体粒径分布进行了测定, 并对其溶出度作比较, 旨在为传统中药外用制剂研究提供依据, 提高传统制剂有效成分的利用率, 保证疗效。

1 仪器与材料

RC-8DA 型药物溶出试验仪, 天津创兴电子设备制造有限公司; 岛津 20A 系列高效液相色谱仪 (含二元泵, 在线脱气, DAD 检测器, 自动进样器, 柱温箱)、AW220 型电子天平 (万分之一)、AUW220D 型电子天平 (十万分之一), 日本岛津公司; CS-700 型高速多功能粉碎机, 永康市天祺盛世工贸有限公司; Malvern-3000 激光粒度仪, 英国 Malvern 公司; FZ102 微型植物粉碎机, 天津市泰斯特仪器有限公司; P5 行星式高能球磨机, 德国 Fritsch 公司。

三七 *Notoginseng Radix et Rhizoma* (批号渝 20100061) 为五加科植物三七的干燥根和根茎、红花 *Carthami Flos* (批号渝 20100061) 为菊科植物红花的干燥花、川续断 *Dipsaci Radix* (批号渝 20100061) 为川续断科植物川续的干燥根、烫狗脊 *Cibotii Rhizoma* (批号渝 20100061) 为蚌壳蕨科植物金毛狗脊的干燥根茎的炮制加工品、五加皮 *Acanthopanax Cortex* (批号渝 20100061) 为五加科植物细柱五加的干燥根皮、醋制乳香 *Olibanum* (批号渝 20100061) 为橄榄科植物乳香树及同属植物树皮渗出的树脂的炮制加工品、醋制没药 *Myrrha* (批号渝 20100061) 为橄榄科植物地丁树或哈地丁树干燥树脂的炮制加工品、自然铜 *Pyritum* (批号渝 20100061) 为硫化物类矿物黄铁矿族黄铁矿、花鹿

茸 *Cervi Cornu Pantotrichum* (批号渝 20100061) 为鹿科动物梅花鹿的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角, 均购于重庆市慧远药业有限公司, 血竭 *Draconis Sanguis* (JY20120042) 由四川青神康华制药有限公司、新加坡华诚行提供, 各药材经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定所用药材均符合《中国药典》2015 年版要求。

对照品羟基红花黄色素 A (批号 111637-201308, 质量分数 96.5%)、川续断皂苷 IV (批号 111685-201305, 质量分数 91.3%)、人参皂苷 Rg₁ (批号 110703-201128, 质量分数 93.4%)、人参皂苷 Rb₁ (批号 110704-201223, 质量分数 95.9%)、三七皂苷 R₁ (批号 110745-201318, 质量分数 94.0%)、血竭素高氯酸盐 (批号 110811-2011105, 质量分数 99.2%), 中国食品药品检定研究院; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为自制超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 粉体的制备

药粉一: 分别取处方量三七、五加皮、鹿茸、续断、狗脊适量于 80 °C 干燥 4 h, 并与自然铜、乳香、没药按比例相混合。采用多功能粉碎机粉碎, 按照《中国药典》2015 年版^[17]一部凡例项下要求进行筛分, 制备细粉与极细粉, 取细粉用 P5 行星式高能球磨机 (介质填充率 25%, 转速为 250 r/min) 超微粉碎 80 min 制备超微粉。

药粉二: 分别取红花于 80 °C 干燥 4 h, 与血竭混合, 采用上述方法制备细粉和极细粉, 取细粉用 P5 行星式高能球磨机 (介质填充率 50%, 转速为 250 r/min) 超微粉碎 10 min 制备超微粉。

2.2 粒径的测定

采用马尔文激光粒度分析仪干法测定所有粉体的粒径及其分布, 取中间粒径 D_{50} (粒径分布的累积频率等于 50% 颗粒的粒径, 表示样品中粒径大于它的颗粒占 50%, 小于它的颗粒也占 50%)、边界粒径 D_{10} 和 D_{90} (以此表示样品粒度分布范围)、分布宽度 span [$\text{span} = (D_{90} - D_{10}) / D_{50}$, span 越小则大颗粒越少] 等相关参数^[18]。粉体的粒度分布见表 1, 由表 1 可知粒径变小, 大颗粒减少, 粒径分布也更均匀。

表1 复方粉体粒径分布测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Distribution of particle size of power compound ($\bar{x} \pm s, n=3$)

名称	粉体类型	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	span
药粉一	细粉	2.95 ± 0.06	18.23 ± 0.06	15.70 ± 5.00	8.45 ± 0.28
	极细粉	2.62 ± 0.15	13.67 ± 0.12	78.90 ± 3.92	5.58 ± 0.34
	超微粉	1.13 ± 0.04	9.64 ± 0.01	49.47 ± 0.59	5.02 ± 0.06
药粉二	细粉	4.84 ± 0.11	39.73 ± 0.61	147.33 ± 11.15	3.59 ± 0.06
	极细粉	3.43 ± 0.06	27.60 ± 0.25	92.80 ± 1.14	3.24 ± 0.04
	超微粉	1.34 ± 0.03	14.23 ± 0.12	45.87 ± 0.60	3.13 ± 0.05

2.3 HPLC 定量方法的建立

2.3.1 供试品溶液的制备

(1) 三七、续断供试品溶液制备: 取药粉 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 放置过夜, 置 80 °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, 滤过, 取续滤液, 加氨试液 25 mL 复溶, 用 50 mL 水饱和正丁醇萃取 3 次, 取正丁醇层挥干, 残渣用甲醇定容至 50 mL, 即得。

(2) 红花供试品溶液制备: 取药粉 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 25% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 300 W, 频率 50 kHz) 40 min, 放冷, 再称定质量, 用 25% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

(3) 血竭供试品溶液制备: 取药粉 0.10 g, 精密称定, 置具塞试管中, 精密加入 3% 磷酸甲醇溶液 10 mL, 密塞, 振摇 3 min, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 5 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 取续滤液, 即得。

2.3.2 对照品溶液的制备 分别精密称取三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 适量, 用甲醇分别制成质量浓度为 0.24、0.82、0.61、0.81 mg/mL 的混合对照品溶液。

取羟基红花黄色素 A 对照品适量, 精密称定, 加 25% 甲醇制成质量浓度 0.26 mg/mL 的对照品溶液, 即得。取血竭素高氯酸盐对照品适量, 精密称定, 加 3% 磷酸甲醇溶液制成含血竭素 27 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 即得。

2.3.3 阴性溶液的制备 按处方分别称取除三七、续断、红花、血竭药粉以外的其他药材, 依处方工艺制备药粉阴性样品, 按“2.3.1”项下方法制备阴性对照溶液, 即得。

2.3.4 色谱条件

(1) 三七、续断色谱条件: 色谱柱为 Boston

Symmetrie ODSAQ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%~22% 乙腈; 20~25 min, 22%~23% 乙腈; 25~40 min, 23%~30% 乙腈; 40~60 min, 30% 乙腈; 60~80 min, 30%~40% 乙腈; 80~95 min, 40% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 203 nm; 色谱图见图 1。

(2) 红花色谱条件: 色谱柱为 Boston Symmetrie ODSAQ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液 (26:2:72); 等度洗脱 25 min; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长为 403 nm; 色谱图见图 2。

(3) 血竭色谱条件: 色谱柱为 Boston Symmetrie ODSAQ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (30:70); 等度洗脱 20 min; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 °C; 检测波长为 440 nm; 柱温 40 °C; 上述色谱条件下, 各组分离度良好, 色谱图见图 3。

2.3.5 线性关系考察 取“2.3.2”项下混合对照品溶液适量, 用甲醇分别稀释成系列质量浓度混合对照品溶液, 其中三七皂苷 R_1 分别为 0.008、0.015、0.030、0.060、0.120、0.240 mg/mL; 人参皂苷 R_{g1} 分别为 0.026、0.051、0.103、0.206、0.412、0.823 mg/mL, 人参皂苷 R_{b1} 分别为 0.025、0.051、0.102、0.203、0.406、0.812 mg/mL; 川续断皂苷 VI 分别为 0.019、0.038、0.076、0.152、0.305、0.609 mg/mL; 羟基红花黄色素 A 分别为 0.008 3、0.016 5、0.033 1、0.066 1、0.132、0.264 mg/mL; 血竭素高氯酸盐分别为 8.6、17.2、34.4、68.7、137.0、275.0 ng/mL。

精密吸取上述混合对照品溶液 10 μL , 进样, 按“2.3.4”项下色谱条件测定峰面积 (Y)。以 Y 对进样量 (X) 进行线性回归, 得回归方程分别为三七皂苷 R_1 $Y=2\,424\,681X-5\,880$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 0.08~2.40 μg ; 人参皂苷 R_{g1} $Y=3\,616\,005$

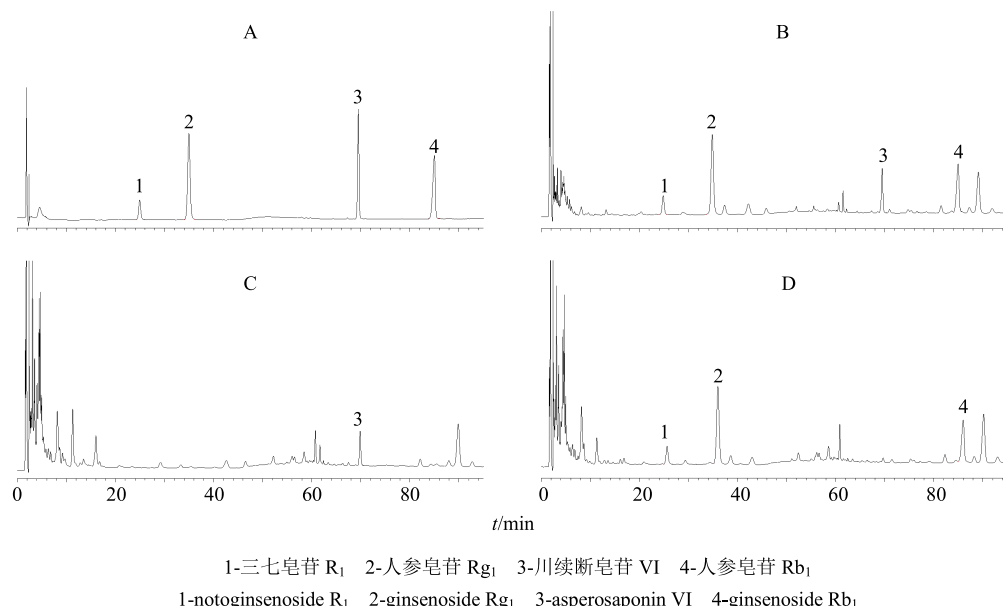


图 1 混合对照品溶液 (A)、XSJP 供试品溶液 (B)、缺三七阴性对照溶液 (C)、缺续断阴性对照溶液 (D) HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A), XSJP samples (B), *Notoginseng Radix et Rhizoma* negative sample (C), and *Dipsaci Radix* negative samples (D)

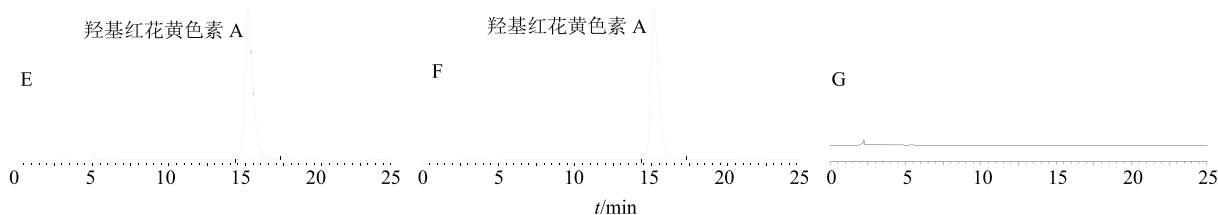


图 2 羟基红花黄色素 A 对照品溶液 (E)、XSJP 供试品溶液 (F)、缺红花阴性对照溶液 (G) HPLC 图谱
Fig. 2 HPLC of hydroxysafflor yellow A reference substance (E), XSJP sample (F), and *Carthami Flos* negative sample (G)

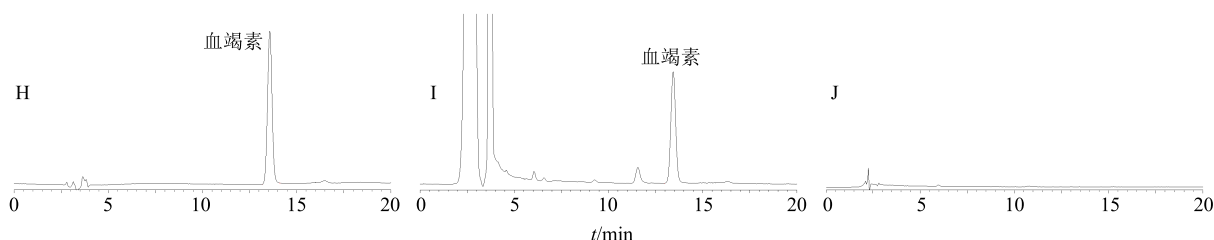


图 3 血竭素对照品溶液 (H)、XSJP 供试品溶液 (I)、缺血竭阴性对照溶液 (J) HPLC 图谱
Fig. 3 HPLC of dracorhodin perchlorate reference substance (H), XSJP sample (I), and *Draconis sanguis* negative sample (J)

$X-9\ 855$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 $0.26\sim 8.23\ \mu\text{g}$;
人参皂苷 Rb_1 $Y=3\ 433\ 686\ X-3\ 458$, $R^2=1.000\ 0$,
线性范围 $0.25\sim 8.12\ \mu\text{g}$; 川续断皂苷 VI $Y=3\ 433\ 686\ X-3\ 458$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 $0.19\sim 6.09\ \mu\text{g}$; 羟基红花黄色素 A $Y=2\ 865\ 705\ X+31\ 447$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 $0.083\sim 2.64\ \mu\text{g}$; 血竭素 $Y=2\ 330\ 257\ X+12\ 703$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 $0.08\sim 2.75\ \text{ng}$ 。

2.3.6 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 按照“2.3.4”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果羟基红花黄色素 A、三七皂苷 R_1 、

人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素高氯酸盐峰面积的 RSD 分别为 0.36%、1.74%、1.25%、1.29%、1.88%、0.47%, 表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性试验 按照“2.3.1”项下方法制备三七、续断供试品, 红花供试品, 血竭供试品, 各重复制备 6 份, 按照“2.3.4”项下相应的色谱条件于不同时间注入液相色谱仪, 进样测定, 计算质量分数。结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、羟基红花黄色素 A、血竭素质

量分数的 RSD 分别为 1.56%、1.30%、0.75%、0.97%、0.46%、1.95%，表明供试品溶液制备方法重复性良好。

2.3.8 稳定性试验 分别精密吸取“2.3.1”项下方法制备的三七、续断供试品、红花供试品、血竭供试品各 10 μ L，按照“2.3.4”项下相应的色谱条件于不同时间注入液相色谱仪，记录峰面积。结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 、羟基红花黄色素 A、血竭素峰面积 RSD 分别为 0.51%、1.65%、1.48%、0.55%、0.83%、1.23%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.9 加样回收率试验 三七、续断：分别取药粉 6 份，精密称定，分别精密加入三七皂苷 R_1 (0.113 mg/mL)、人参皂苷 R_{g1} (0.377 mg/mL)、川续断皂苷 VI (0.380 mg/mL)、人参皂苷 R_{b1} (0.275 mg/mL) 混合对照品溶液，按照“2.3.1”项下方法制备三七、续断供试品溶液，进样测定，计算得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 平均回收率分别为 97.58% (RSD 为 1.32%)、96.65% (RSD 为 1.93%)、102.41% (RSD 为 1.58%)、99.47% (RSD 为 1.58%)。红花：分别取药粉 6 份，精密称定，分别精密加入羟基红花黄色素 A (0.132 mg/mL) 对照品溶液，按照“2.3.1”项下方法制备红花供试

品溶液，进样测定，计算羟基红花黄色素 A 平均回收率为 100.26% (RSD 为 1.88%)。血竭：分别取药粉 6 份，精密称定，分别精密加入血竭素 (0.109 μ g/mL) 对照品溶液，按照“2.3.1”项下方法制备血竭供试品溶液，进样测定，计算血竭素平均回收率为 96.67% (RSD 为 1.62%)；结果表明该方法的回收率符合要求。

2.4 溶出度测定

采用《中国药典》2015 年版四部溶出度与释放度测定法中第二法（桨法）进行测定，相关参数：温度为 37.5 $^{\circ}$ C、溶出介质为脱气纯净水 800 mL、转速为 100 r/min。取药粉（细粉、极细粉、微粉各 3 份，每份各 15 g），分别置于杯内，桨落入溶出介质中，立即计时，分别于 0、15、30、45、60、90、120 min 定位吸取溶液 20 mL（同时补充同温介质 20 mL）制备供试品溶液。取供试品溶液各 10 μ L，在“2.3.4”项色谱条件下进样，记录峰面积，依法计算样品中羟基红花黄色素 A、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、血竭素的量，代入回归方程中，计算不同时间 6 种成分的平均累积溶出率，结果见表 2，并分别绘制相对累积释放曲线，见图 4。

表 2 各化学成分累积溶出率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Accumulative dissolution of six chemical components ($\bar{x} \pm s, n=3$)

名称	粉体类型	累积溶出率/%					
		15 min	30 min	45 min	60 min	90 min	120 min
羟基红花黄色素 A	细粉	80.28 $\pm$ 0.91	83.77 $\pm$ 1.75	87.77 $\pm$ 0.55	89.13 $\pm$ 0.85	91.98 $\pm$ 0.70	93.06 $\pm$ 0.46
	极细粉	84.00 $\pm$ 1.92	89.83 $\pm$ 0.45	91.91 $\pm$ 0.47	93.05 $\pm$ 0.48	96.04 $\pm$ 0.49	96.87 $\pm$ 0.84
	超微粉	91.12 $\pm$ 1.55	93.44 $\pm$ 1.12	94.83 $\pm$ 0.55	96.20 $\pm$ 1.30	97.49 $\pm$ 0.55	99.43 $\pm$ 0.49
三七皂苷 R_1	细粉	72.15 $\pm$ 0.66	77.24 $\pm$ 0.54	79.60 $\pm$ 1.48	82.39 $\pm$ 1.34	83.22 $\pm$ 0.75	83.67 $\pm$ 0.86
	极细粉	77.97 $\pm$ 0.89	84.69 $\pm$ 0.79	86.65 $\pm$ 0.67	87.55 $\pm$ 0.80	88.17 $\pm$ 1.00	91.56 $\pm$ 0.90
	超微粉	87.87 $\pm$ 0.60	88.56 $\pm$ 1.04	89.77 $\pm$ 1.25	90.79 $\pm$ 1.57	93.19 $\pm$ 1.2	97.70 $\pm$ 0.75
人参皂苷 R_{g1}	细粉	84.90 $\pm$ 1.60	86.44 $\pm$ 0.79	89.58 $\pm$ 1.03	90.99 $\pm$ 1.14	91.73 $\pm$ 0.82	92.79 $\pm$ 0.98
	极细粉	87.27 $\pm$ 1.06	89.86 $\pm$ 0.69	91.97 $\pm$ 0.56	92.51 $\pm$ 0.46	94.82 $\pm$ 0.65	96.04 $\pm$ 0.45
	超微粉	90.78 $\pm$ 0.73	92.35 $\pm$ 0.42	93.42 $\pm$ 1.24	94.08 $\pm$ 0.79	96.72 $\pm$ 0.78	98.10 $\pm$ 0.45
川续断皂苷 VI	细粉	63.50 $\pm$ 0.74	69.11 $\pm$ 0.82	70.90 $\pm$ 0.88	71.39 $\pm$ 0.65	72.54 $\pm$ 0.53	73.36 $\pm$ 0.43
	极细粉	66.96 $\pm$ 0.64	70.79 $\pm$ 0.28	71.95 $\pm$ 0.76	72.93 $\pm$ 0.39	73.86 $\pm$ 0.33	75.42 $\pm$ 0.89
	超微粉	69.93 $\pm$ 0.64	72.96 $\pm$ 0.74	74.78 $\pm$ 0.58	75.28 $\pm$ 0.94	76.70 $\pm$ 0.92	78.26 $\pm$ 0.73
人参皂苷 R_{b1}	细粉	77.68 $\pm$ 0.93	82.14 $\pm$ 0.68	84.70 $\pm$ 0.55	87.16 $\pm$ 0.75	88.70 $\pm$ 0.62	90.07 $\pm$ 0.66
	极细粉	80.19 $\pm$ 0.58	84.99 $\pm$ 0.83	86.41 $\pm$ 0.82	89.24 $\pm$ 0.52	90.50 $\pm$ 0.43	92.12 $\pm$ 0.70
	超微粉	86.34 $\pm$ 0.81	88.30 $\pm$ 1.62	89.58 $\pm$ 0.72	90.78 $\pm$ 0.89	92.51 $\pm$ 0.61	94.93 $\pm$ 1.01
血竭素	细粉	75.30 $\pm$ 0.81	81.44 $\pm$ 0.78	83.19 $\pm$ 1.26	85.21 $\pm$ 0.84	87.04 $\pm$ 0.66	88.55 $\pm$ 0.79
	极细粉	75.40 $\pm$ 1.51	81.89 $\pm$ 0.68	83.28 $\pm$ 0.47	84.52 $\pm$ 0.73	87.74 $\pm$ 1.20	88.48 $\pm$ 0.97
	超微粉	76.10 $\pm$ 0.64	83.20 $\pm$ 1.02	84.95 $\pm$ 0.72	86.01 $\pm$ 0.89	88.04 $\pm$ 0.32	89.62 $\pm$ 1.43

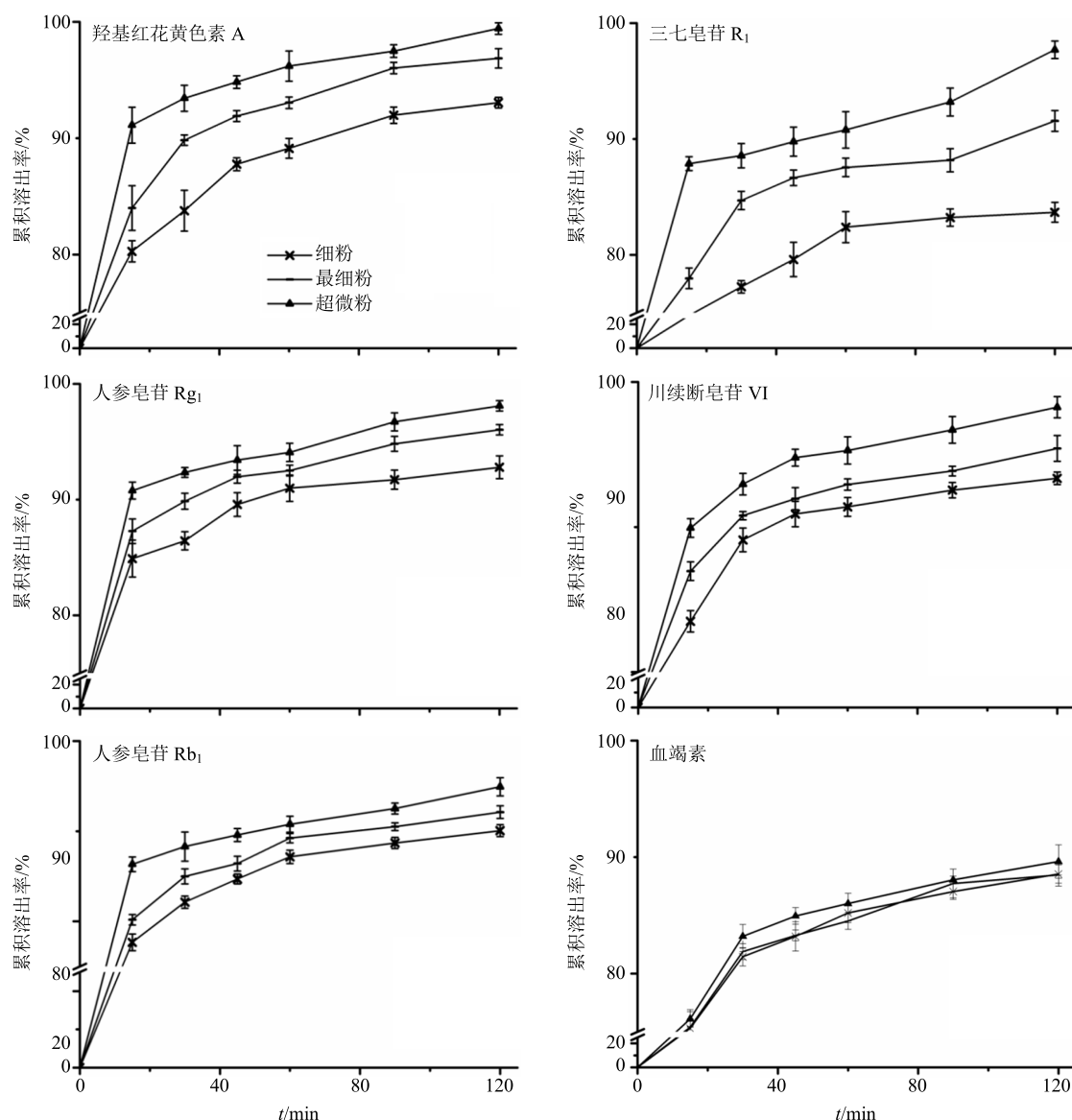


图4 各成分在3种不同粒径药粉中的累积溶出率曲线

Fig. 4 Relative cumulative dissolution rates of ingredients in three kinds of powders

累积溶出率 $=[\rho_n+(\rho_1+\rho_2+\cdots+\rho_{n+1})]V_{\text{取}}/(\rho_0V_{\text{总}})$

ρ_n 为第 n 个取样点的质量浓度, $V_{\text{总}}$ 为溶出体积, $V_{\text{取}}$ 为取样体积, ρ_0 为超声提取液质量浓度

2.5 粒径与成分溶出率的相关性分析^[19-21]

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行回归性分析, 对不同粒径粉体所对应的溶出成分进行点对点线性回归, 考察粒径与多成分指标间累积溶出率的相关性。以粒径为自变量 (X), 各指标性成分的累积溶出率为因变量 (Y), 得回归方程 $Y_A=-1.6354X+113.62$, $r=0.9993$; $Y_B=-0.6202X+104.23$, $r=0.9961$; 大于相应相关系数临界值 $r_{(0.05, 1)}=0.996$ ($P<0.05$, $n=3$), 即粒径与三七皂苷 R_1 (A)、人参皂苷 Rg_1 (B) 累积溶出率具有显著相关性。

$Y_C=-0.5678X+83.543$, $r=0.9919$; $Y_D=-0.5632X+100.17$, $r=0.9921$; $Y_E=-0.2488X+103.22$, $r=0.9901$; 大于相应相关系数临界值 $r_{(0.1, 1)}=0.987$ ($P<0.1$, $n=3$), 粒径与川续断皂苷 VI (C)、人参皂苷 Rb (D)、羟基红花黄色素 A (E) 的累积溶出率具有一般相关性。 $Y_F=-0.0427X+90.044$, $r=0.8523$, $P>0.1$, 粒径与血竭素的累积溶出率之间无相关性。

从粒径和指标成分的回归方程可以看出, 粒径与各成分溶出率之间均呈负相关, 从线性回归的方程系数可以看出, 粒径对各指标的影响大小为三七皂苷 R_1 >人参皂苷 Rg_1 >川续断皂苷 VI>人参皂苷 Rb₁>羟基红花黄色素 A。由此可知粒径减小时可以

使纤维性药材的累积溶出率提高,具体表现在三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 的溶出度较减小前显著提高,川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 、羟基红花黄色素 A 普遍提高,而无细胞结构的药材(血竭素),粒径与溶出度之间无相关性,粒径的减小并不能使其溶出增加。

3 讨论

XSJP 为传统制剂,药物均以粉末入药。复方制剂的药效是多成分协同作用,有效物质的释放程度决定着药效强弱,本研究选取了羟基红花黄色素 A、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 、血竭素 6 种化学成分为评价指标,化学成分之间极性差异大;处方涵盖了细胞结构的纤维类药物及不含细胞结构的树脂类药物,通过溶出度比较能更加全面地反映处方整体溶出的特征。

药物超微粉碎的目的是细胞级粉碎,即将中药材的细胞壁打破,使胞内有效成分的溶出阻力减小,加快一般药材的浸润、溶胀、渗透和扩散的溶出过程^[22-23]。制剂中血竭为树脂类药物,不存在细胞结构,3 种粉体不存在有效物质的溶出过程,粒径与溶出度之间无明显相关性,从侧面反映出对含有细胞结构的纤维类药材破壁超微粉碎的必要性。

中药进行超微粉碎后,一方面粉体质感细腻,色泽均一,颗粒感消失,纤维与粉末未分离、均匀性提高,药物质量得到了很大的改善;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,从而使溶出率和溶出量均增大,有利于药物的吸收^[24-25]。纤维类药材粉碎至微米级甚至纳米级微粉的过程,是粒径从细粉-极细粉-超微粉的变化过程,由相关性分析得出,粒径与累积溶出率之间呈负相关,即随着粒径的减小,5 种有效成分的溶出度均呈增大趋势,羟基红花黄色素 A、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 的累积溶出率超微粉较细粉分别提高 6.8%、16.6%、6.6%、6.7%、5.4%,一定程度上提高了药物的吸收率,使小剂量的超微粉可达到大剂量普通粉的疗效。进一步反映出粒径、疗效与剂量之间的关系。

细粉中存在着大量未破壁细胞,溶出结果显示其有效成分的溶出速率和程度均较低,一定程度上反映出原制剂具有一定的缓释特征(6 d 给药 1 次),且其起效速率缓慢。经超微粉碎后,在起始溶出过程中,超微粉较细粉羟基红花黄色素 A、三七皂苷

R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 的溶出度分别提高 13.5%、12.7%、6.9%、10.12%、11.14%,说明其可改善该制剂起效慢的缺点。粉体溶出率的高低一定程度上影响着制剂的水平,多成分累积溶出率的增加,也保证了复方膏剂疗效的发挥。

参考文献

- [1] 张传辉,贾成友,李微,等.三七接骨凝胶膏剂的制备及体外透皮特性研究[J].中草药,2015,46(5): 654-664.
- [1] 张传辉.血竭三七接骨凝胶膏剂的药学研究[D].成都:成都中医药大学,2015.
- [2] 郭常升.人参超微粉制备及其粉体特性与应用研究[D].长春:吉林农业大学,2016.
- [3] 吴小明,梁少瑜,程文胜,等.三七普通细粉与超微粉中三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{b1} 及人参皂苷 R_{g1} 体外溶出行为的比较研究[J].中草药,2013,44(24): 3489-3492.
- [4] 赵兴兵.超微铁皮石斛对脾虚便秘小鼠肠道微生物的影响研究[D].长沙:湖南中医药大学,2014.
- [5] 梁兆昌,褚洪标,肖琳,等.杜仲超微粉理化特性及体外溶出性能研究[J].中草药,2015,46(11): 1609-1614.
- [6] Chen G J, Wang L S, Zhang F S, *et al.* Effect of superfine grinding on physicochemical properties of mulberry powder[J].农业工程学报,2015,31(24): 307-314.
- [7] 祖元刚,钟晨,赵修华,等.石榴皮超微粉制备工艺优化及体内抗氧化研究[J].中草药,2015,46(10): 1454-1459.
- [8] 彭艳红,李嫦玲,刘新义.均匀设计法优选连翘超微粉碎工艺的研究[J].药物评价研究,2013,36(1): 45-47.
- [9] 赵国巍,王春柳,廖正根,等.超微粉碎在中药复方制剂中的应用研究进展[J].江西中医药大学学报,2014,26(2): 94-97.
- [10] 谢瑞红,王顺喜,谢建新,等.超微粉碎技术的应用现状与发展趋势[J].中国粉体技术,2009,15(3): 64-67.
- [11] 史冬霞,李奉勤,范文成,等.超微粉碎技术在中药生产中的研究概况[J].中国药业,2006,15(11): 61-63.
- [12] 彭艳梅.超微如意金黄散巴布膏剂的制备及其体外透皮吸收作用与主要药效、临床疗效的研究[D].长沙:湖南中医药大学,2012.
- [13] 李守信,张则平,邱新建,等.生脉散超微粉的显微特征和溶出度研究[J].现代药物与临床,2013,28(2): 175-178.
- [14] 史俊.超微与普通戊己丸的制备工艺及有效成分含

- 量比较 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2011.
- [15] 谷雨. 痛宁胶囊制剂工艺及原料药超微粉碎研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [16] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [17] 化玮, 刘洋, 艾国, 等. 3种中药最细粉的制备及理化性质考察 [J]. 中草药, 2013, 44(23): 3296-3302.
- [18] 罗云, 熊志伟, 张婧, 等. 三七总皂苷微丸的成型性与原料物性的相关性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2540-2548.
- [19] 魏艺聪, 林培玲, 陈莹, 等. 采用 ISSR 标记分析草珊瑚的 DNA 指纹图谱与其品质相关性 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1620-1624.
- [20] 曹韩韩, 杜若飞, 杨嘉宁, 等. 基于多元回归分析干法制粒工艺参数与颗粒质量的相关性 [J]. 药学学报, 2014, 2014(3): 406-410.
- [21] 叶英响, 冯超, 翁夏蒙, 等. 六味地黄丸粉体粒径与其破壁率和溶出度的相关性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2108-2112.
- [22] 乐大勇, 王琼, 安静, 等. 复方贝母散超微粉的制备及粉体表征和物理特性对比 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 9-13.
- [23] 李伟, 李茜, 张海英. 不同粒径参苓散超微粉和细粉溶出度比较 [J]. 中医药导报, 2016(6): 58-59.
- [24] 李德成, 刘庆燕, 韩传伟. 中药超微粉碎技术在中药制剂中广泛应用的优越性 [J]. 世界中医药, 2010, 5(6): 430-431.