



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102258552 B

(45) 授权公告日 2012. 12. 05

(21) 申请号 201110135578. 4

A61P 37/08 (2006. 01)

(22) 申请日 2011. 05. 24

A61P 43/00 (2006. 01)

(66) 本国优先权数据

201010181860. 1 2010. 05. 24 CN

(73) 专利权人 成都中医药大学

地址 611137 四川省成都市温江区柳台大道
1166 号

(72) 发明人 马逾英 蒋桂华 张利 米小琴
郭沛琳 杨枝中

(56) 对比文件

谷雨等. 超微粉碎技术对白芷中香豆素类成分的影响. 《中华中医药学会第九届制剂学术研讨会论文汇编》. 2008, 98-102.

谷雨. 痛宁胶囊制剂工艺及原料药超微粉碎研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 工程技术 I 辑》. 2009, (第 10 期), B016-166.

审查员 盛倩

(74) 专利代理机构 成都高远知识产权代理事务
所(普通合伙) 51222

代理人 李高峡

(51) Int. Cl.

A61K 36/232 (2006. 01)

A61P 9/00 (2006. 01)

A61P 25/20 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

A61P 31/00 (2006. 01)

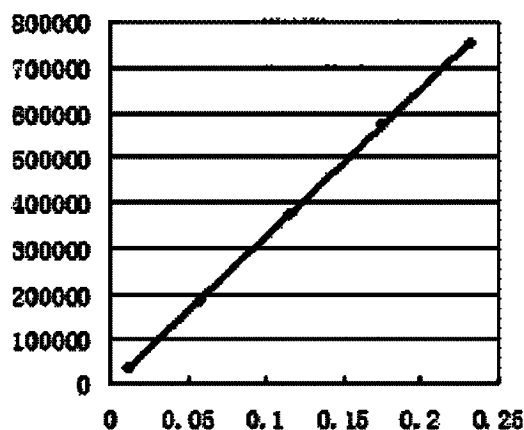
权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种白芷饮片的制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种白芷饮片的制备方法, 它包括下述步骤: (1) 取白芷药材粉碎成粗粉; (2) 将步骤 (1) 制得的粗粉, 干燥, 贝利超微粉碎机 BFM-100B 于 12℃~16℃ 粉碎 20 分钟, 粉碎粒径: 300 目-500 目, 即得。本发明还提供了该方法制备得到的白芷饮片。本发明方法制备得到的白芷饮片, 超微药材经细胞级粉碎后, 表面积大大增加, 有效成分溶出加快; 同时能很好的与胃肠粘膜接触, 更易吸收, 且保留了生物活性, 增强药效; 本发明所得白芷超微细粉在 300-500 目间就能够达到良好的体内吸收, 极大地降低了在白芷超微粉碎过程中的能耗。



1. 一种白芷饮片的制备方法,其特征在于:它包括下述步骤:
 - (1) 取白芷药材粉碎成粗粉;
 - (2) 将步骤(1)制得的粗粉,干燥,贝利超微粉碎机 BFM-100B 于 12℃ ~16℃粉碎 20 分钟,粉碎粒径:350 目,即得。
2. 根据权利要求 1 所述的白芷饮片的制备方法,其特征在于:步骤(1)所述白芷药材为白芷鲜品,将其直接切片或切丁后,干燥。
- 3、根据权利要求 2 所述的白芷饮片的制备方法,其特征在于:所述干燥的方法为日晒法、烘房烘干法、炕床烘干法、微波干燥法或吸附式低温干燥法。
- 4、根据权利要求 1 所述的白芷饮片的制备方法,其特征在于:步骤(2)所述的干燥的方法为 60℃恒温干燥 14 小时。
- 5、权利要求 1-4 任意一项所述的制备方法制备得到的白芷饮片。
- 6、一种药物组合物,其特征在于:它是由有效量的权利要求 5 所述的白芷饮片为活性成分,加入药学上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。
- 7、根据权利要求 6 所述的药物组合物,其特征在于:所述的制剂是固体制剂或液体制剂。

一种白芷饮片的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种白芷饮片的制备方法,具体地,是对白芷鲜品进行超微粉碎方法。

背景技术

[0002] 白芷为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.)Benth. et Hook.f. 或杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch.ex Hoffm.)Benth. et Hook.f. var. *formosana*(Boiss.)Shan et Yuan 的干燥根,具有散风除湿,通窍止痛,消肿排脓的功效。现代药理研究表明白芷具有解热镇痛、抗炎、抗病原微生物、抗光敏、调节心血管、调节平滑肌、镇静催眠等作用。白芷除供药用外,在食品、保健品、香料、护肤美容、日用化工等方面都有广泛的应用,国内外市场需求量大白芷传统饮片系白芷药材略浸,润透,切厚片,干燥。而目前商品白芷药材均为熏硫加工,大量研究结果表明,熏硫对药材质地、化学成分及药效均造成影响,且使药材 SO_2 超标,这就间接影响到白芷饮片的质量和安全性;另外白芷传统饮片加工时需加水软化,极易造成成分的损失及微生物污染,同时还增加了加工成本。

[0003] 中药经超微粉碎后粒径 $< 10 \mu\text{m}$,溶出度、体内吸收、药理作用等方面都比普通粉碎效果好,目前无人对白芷超微粉碎这种特殊饮片进行研究。超微药材经细胞级粉碎后,表面积大大增加,有效成分溶出加快;同时能很好的与胃肠粘膜接触,更易吸收,且保留了生物活性,增强药效;超微粉碎的速度很快,所耗时间相对缩短,甚至可以在低温下操作,因此避免了有效成分破坏,提高了疗效。减少用药量,节省了资源。

[0004] 谷雨等研究了超微粉碎技术对白芷的影响,选用北京同仁堂药店购买的杭白芷,采用振动磨进行超微粉碎,粉碎后粒径主要分布在 $1-10 \mu\text{m}$,该类白芷超微粉中的欧前胡素含量比100目细粉中的含量高(谷雨等,超微粉碎技术对白芷中香豆素类成分的影响,中华中医药学会第九届制剂学术研讨会论文汇编。)由于目前市售品多为熏硫品,因此可认为该文献中所用杭白芷也是熏硫白芷,文中未对白芷超微细粉的粉碎粒径与溶出度、体内吸收、药效和安全性的关系进行研究,并且,该文献中需要将白芷粉碎到 $1-10 \mu\text{m}$ (1250-12500目),粉碎粒径越低,耗能越高。

[0005] 目前,还未见通过超微粉碎将白芷鲜品直接制备成体内吸收良好、生物利用度高、毒副作用低的饮片的报道。

发明内容

[0006] 本发明的技术方案是提供了一种白芷的超微粉碎方法。本发明另一技术方案是提供了该方法制备得到的白芷饮片及含有该饮片的药物组合物。

[0007] 本发明提供了一种白芷饮片的制备方法,它包括下述步骤:

[0008] (1) 取白芷药材粉碎成粗粉;

[0009] (2) 将步骤(1)制得的粗粉,干燥,贝利超微粉碎机BFM-100B于 $12^{\circ}\text{C} \sim 16^{\circ}\text{C}$ 粉碎20分钟,粉碎粒径:300目-500目,即得。

[0010] 其中,步骤(1)所述白芷药材为白芷鲜品,将其直接切片或切丁后,干燥;其中,所

述干燥的方法为日晒法、烘房烘干法、炕床烘干法、微波干燥法或吸附式低温干燥法。

[0011] 进一步地,步骤(2)所述的粒径为300-350目。

[0012] 进一步优选地,所述的粒径为350目。

[0013] 进一步地,步骤(2)所述的干燥的方法为60℃恒温干燥14小时。

[0014] 本发明还提供了上述的制备方法制备得到的白芷饮片。

[0015] 本发明还提供了一种药物组合物,它是由有效量的上述的白芷饮片为活性成分,加入药学上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

[0016] 其中,所述的制剂是固体制剂或液体制剂。

[0017] 本发明方法制备得到的白芷饮片,超微药材经细胞级粉碎后,表面积大大增加,有效成分溶出加快;同时能很好的与胃肠粘膜接触,更易吸收,且保留了生物活性,增强药效;超微粉碎的速度很快,所耗时间相对缩短,避免了有效成分破坏,提高了疗效,减少用药量,节省了资源;不仅如此,本发明所得白芷超微细粉在300-500目间就能够达到良好的体内吸收,极大地降低了在白芷超微粉碎过程中的能耗。

[0018] 显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

[0019] 以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

附图说明

[0020] 图1线性考察结果图;

[0021] 图2不同粒径的白芷超微粉碎饮片经体内吸收后,在不同时间下的欧前胡素血药浓度。

具体实施方式

[0022] 实施例1 本发明白芷超微细粉的制备

[0023] 制法:取白芷鲜品,洗净,直接切片或切丁,干燥后,粉碎成粗粉,60℃恒温干燥14小时,贝利超微粉碎机(BFM-100B)于12℃~16℃粉碎20分钟,即得。粉碎粒径:300目、350目、400目、500目,得率为95-98%。

[0024] 上述对白芷鲜品切片或切丁的干燥方法可以采用以下方法中的任意一种:

[0025] (1)日晒法

[0026] 将鲜白芷洗净用专用切片刀切为厚度5~6mm的横切片,将鲜切片平铺在竹席上,置于室外阳光下日晒,遇阴雨天铺于室内通风干燥处。晾晒过程中时常翻动,以便尽快干燥,防止生霉。

[0027] (2)烘房烘干法

[0028] 将鲜白芷洗净后,一部分用直线往复式切药机切为厚度约6mm的横切片;一部分用专用切片刀切为厚度5~6mm的横切片;一部分用单相切片机切为厚度2~3mm的纵切片;另一部分用手工切为长宽高厚约1.0~1.5cm的立方块。

[0029] 将药材平铺于不锈钢筛子上(单层),再将筛子置于药架上,待热风循环干燥烘房

温度达到 55-60℃时,将药架推入烘房,每隔 2 ~ 3h 开烘房翻药材及检查烘干程度直至干燥。

[0030] (3) 炕床烘干法

[0031] 将日晒 1 ~ 2 天后的鲜白芷,一部分洗净后用专用切片刀切为厚度 5 ~ 6mm 的横切片铺于炕床上,表面盖上麻布,外用鼓风机向炕床下吹入带有由无烟煤燃烧的热风,烘干过程注意时常上下翻动,使受热均匀,完整药材炕至表面干燥时停止吹入热风,使回潮发汗后再继续加热,如此反复直至完全干燥。整个干燥过程中,保持温度在 60℃ ~ 70℃。

[0032] (4) 微波干燥法

[0033] 将新鲜白芷洗净,一部分用专用切片刀切为厚 5 ~ 6mm 的横切片,另一部分用菜刀手工切为长宽高 3 ~ 5mm 的立方块。

[0034] 横切片采用间歇加热方式,将其放入微波炉内(烘烤架上),低火加热 10min,取出放冷,再放入微波炉内低火加热,重复两次(共 3 次);然后用低火加热 5min,取出放冷,重复 1 次,最后放入烘箱中低温 50 ~ 60℃烘至干燥,取出晾至室温,密封贮藏。

[0035] 切丁颗粒放入微波炉内,用中高火加热 5min,取出放凉,再放入微波炉,用中火加热 5min,取出放凉,再放入炉内解冻火力加热 5min,取出放凉,再用低火加热 5min,最后放入烘箱中低温 50 ~ 60℃烘至干燥,取出晾至室温,密封贮藏。

[0036] (5) 吸附式低温干燥法

[0037] 吸附式低温干燥技术是采用吸附式转轮除湿器和表面式冷却器提供温度为 10 ~ 30℃,相对湿度 5%以下的低温低露点空气为干燥介质。将日晒 1 ~ 2 天后的鲜白芷,分为完整药材和切片药材放入无热再生吸附式干燥设备中,注意上下翻动,直至干燥。

[0038] 实施例 2 本发明白芷超微细粉的制备

[0039] 制法:取白芷鲜品,洗净,直接切片或切丁,干燥后,粉碎成粗粉,再次干燥至恒重,贝利超微粉碎机(BFM-100B)于 12℃ ~ 16℃粉碎 20 分钟,即得。粉碎粒径:300 目、350 目、400 目、500 目。

[0040] 实施例 3 本发明白芷超微细粉流动性研究

[0041] 微粉的流动性与粒子间的作用力(如范德华力、静电力等)、粒度、粒度分布、粒子形态及表面摩擦力等因素有关。有些粉末松散并能自由流动;有的则具有黏着性。一般微粉的粒径小于 10 μm 可以产生胶黏性,当把小于 10 μm 的微粒除去或把小于 10 μm 的微粒吸附在较大的微粒上时,其流动性便可以变好;若因微粒湿度大而导致流动性不好,可将其干燥而使流动性改善。

[0042] 1、休止角

[0043] 休止角是表示微粒间相互作用力的主要方法之一。其测定方法一般使微粉经一漏斗流下并成圆锥体堆。设锥体高为 H,锥体底部半径为 R,则 $\tan a = H/R$, a 角即为休止角。

[0044] 试验结果:

[0045] 测定了不同粒径白芷超微细粉的流动性,并与普通粉末进行了比较,结果见表 1。

[0046] 2、堆密度(松密度)

[0047] 系指单位溶剂微粉的质量。堆密度所用的容积是指包括微粒本身的孔隙以及微粒间的空隙在内的总容积。

[0048] 2.1 测定方法:将微粉充填于量筒中,并按一定的方式震动,以保证实验条件一

致,重现性好,量得微粉容积,由质量及容积求得堆密度。

[0049] 2.2 试验结果

[0050] 测定了不同粒径白芷超微细粉的堆密度,并与普通粉末进行了比较,结果见表 1

[0051] 表 1 流动性、堆密度测定结果

	粉末	休止角	堆密度 (g/ml)
[0052]	普通粉末	45.8°	0.38
	300 目	40.1°	0.41
	350 目	41.3°	0.40
	400 目	39.3°	0.42
	500 目	44.5°	0.415

[0053] 以上结果表明,不同粒径超微细粉休止角差异不大,均小于普通粉末,说明超微细粉的粉体流动性低于普通粉末;不同粒径超微细粉的堆密度没有明显的差异,均大于普通粉末,说明超微细粉的粒径小于普通粉末。

[0054] 3、性状

[0055] 对 4 批不同粒径的白芷超微细粉与普通白芷粉末进行了对比观察:

[0056] 本品为黄白色细粉,气芳香,味辛微苦。与普通白芷粉末的区别为粉末较细腻,易结块。

[0057] 4、含量测定

[0058] 总香豆素及欧前胡素测定,结果见表 2:

[0059] 表 2 白芷超微细粉总香豆素、欧前胡素含量测定结果 (n = 2)

	粉末	总香豆素 (%)	欧前胡素 (%)
[0060]	300 目	1.40	0.14
	350 目	1.31	0.10
	400 目	1.38	0.13
	500 目	1.41	0.11
	普通粉末	1.20	0.12

[0061] 结果表明不同粒径白芷超微细粉的总香豆素含量较普通粉末高,欧前胡素含量无明显差异。

[0062] 以下通过具体药效学试验证明本发明的有益效果。

[0063] 试验例 1 本发明饮片与普通粉末的比较试验

[0064] 1 受试物及制法

[0065] 1.1 本发明饮片与普通粉末对照提取液的制法

[0066] 取白芷普通粉末与本发明饮片各 100g,加入适量 70%乙醇浸润 4h 后,将药材粉末装入渗滤桶中,用 70%乙醇渗滤,收集得到 600ml 溶液(流速为 0.5ml · min),减压浓缩渗滤液至 100ml,制得浓度为 1g · ml 的白芷醇提液。

[0067] 1.2 阳性对照药

[0068] 试剂、试药:乙酸、吡啶美辛肠溶片,25mg/片。由江苏亚邦爱普森药业有限公司出品。批号:0809029。

[0069] 1.3 试剂及仪器

[0070] 冰乙酸,分析纯,成都市联合化工试剂研究所

[0071] 1.4 实验动物

[0072] 小鼠昆明种小鼠(一级),体重 18 ~ 22g,由简阳市简城比尔动物养殖场提供。合格证号:SCXK(川)2008-10。

[0073] 1.5 动物饲料

[0074] 鼠全价颗粒料,由省实验动物管理委员会养殖场提供。

[0075] 1.6 实验条件

[0076] 成都中医药大学附属医院药理实验室(开发系统动物实验室)。使用证号:省动物管委会 029 号。

[0077] 1.7 统计软件

[0078] SPSS 15.0 统计软件

[0079] 2、实验方法

[0080] 本发明饮片与普通粉末提取液镇痛作用的对比研究—小鼠醋酸扭体法。

[0081] 取健康昆明种小鼠 80 只,体重 18 ~ 22 克,按体重随机分为 8 个组:空白对照组、阳性药对照组、试验药大、中、小剂量组。试验药大剂量组灌胃给予超微细粉和普通粉 20g 生药/Kg 体重(po 1.0g/ml 药液,0.2ml/10g 体重);试验药中剂量组灌胃给予超微细粉和普通粉 10g 生药/Kg 体重(po 0.5g/ml 药液,0.2ml/10g 体重);试验药小剂量组灌胃给予超微细粉和普通粉 5g 生药/Kg 体重(po 0.25g/ml 药液,0.2ml/10g 体重);阳性药对照组灌胃给予贝诺酯吲哚美辛肠溶片 16mg/Kg 体重(po 0.8mg/ml 药液,0.2ml/10g 体重);空白对照组灌胃给予等容量饮用水(po0.2ml/10g 体重)。每天给一次药,超微细粉和普通粉连续给药 3 天,吲哚美辛片连续给药 2 天。

[0082] 最后一次给药 50min 后,每只小鼠 ip0.7%冰醋酸溶液 0.2ml,立即观察并记录注射冰醋酸后 20min 内各组小鼠出现扭体反应的次数。进行组间 t 检验显著性比较,并计算各给药组的镇痛抑制率,实验结果见表 3:

[0083] 表 3 对冰醋酸致小鼠扭体的影响

[0084]	组别	给药剂量/g·kg ⁻¹	扭体次数	扭体抑制率
	空白对照		33.00±8.50	
	吲哚美辛肠溶片	0.016	6.89±4.76 ^{**}	79.12
	普通细粉	20	24.83±9.05 [*]	24.74
		10	26.10±8.29	20.91
		5	27.89±9.96	15.48
	本发明饮片	20	6.40±8.07 ^{**}	80.60
		10	12.40±9.40 ^{**}	62.42
		5	29.30±11.50	11.21

[0085] 与空白对照组比较:*P < 0.05,**P < 0.01

[0086] 超微细粉的高、中剂量组与空白对照组比较,均能明显抑制冰醋酸所致的小鼠扭体次数,有显著性差异(P < 0.01);同时,它的高、中剂量组与普通粉末比较,也有显著性差异(P < 0.01),镇痛效果较正常粉碎粒度的白芷明显。

[0087] 试验例 2 本发明药物安全性评价

[0088] 1 受试物及制法

[0089] 1.1 白芷超微细粉供试液的制法

[0090] 称取白芷超微细粉 50g, 加蒸馏水 100ml, 搅拌均匀制成 0.5g/ml 混悬液作为供试液, 备用。

[0091] 1.2 实验动物

[0092] 小鼠昆明种小鼠(一级), 体重 18 ~ 22g, 由简阳市简城比尔动物养殖场提供。合格证号: SCXK(川)2008-10。

[0093] 1.3 动物饲料

[0094] 鼠全价颗粒料, 由省实验动物管理委员会养殖场提供。

[0095] 2 试验方法及结果

[0096] 2.1 预试验:

[0097] 将 4 只小鼠随机分为 2 组, 分设给药组和对照组, 雌雄各半, 灌胃前禁食不禁水 12h。给药组: 以白芷粉末混悬液 0.5g/ml 最大给药剂量 (0.2ml/10g) 给小鼠一次灌胃。给药后常规饲养, 连续观察 7d。对照组灌胃等量饮用水, 其余操作同给药组。记录期间小鼠死亡数和一般情况, 若死亡数 $\geq 30\%$, 则进行半数致死量 (LD_{50}) 的测定, 若不足以引起死亡, 则测定最大耐受量。

[0098] 结果: 给小鼠最大给药剂量一次灌胃后未引起小鼠死亡, 因此测定其最大耐受量。

[0099] 2.2 最大耐受量

[0100] 小鼠 30 只, 禁食不禁水 12h, 根据性别、体重随机分成三组, 雌雄各半, 每组 10 只。分设对照组、实验 I 组、实验 II 组, 对照组给予同量饮用水; 实验组以最大给药浓度, 最大剂量 (0.2ml/10g) 灌胃, 其中实验 I 组灌胃每日 2 次, 实验 II 组灌胃每日 3 次。灌胃 1d, 连续观察 7d, 详细记录对照组、试验组动物每天反应及体重变化、摄食量变化和死亡情况。实验结束时, 将全部动物处死, 解剖, 肉眼检查主要脏器组织病变情况, 计算 MTD。

[0101] 实验组小鼠三次灌胃 20g 生药/kg, 1h 后出现轻微的毒性反应, 匍匐闭眼, 活动量下降。1d、2d、3d 天后均有小鼠死亡, 表现为精神萎靡, 身体蜷缩, 全身抽搐, 四肢痉挛, 约维持 2 ~ 3min 即死亡, 处死解剖观察各主要脏器组织, 并未发现异常。动物死亡情况见表 4:

[0102] 表 4 小鼠死亡结果

	天数/死亡数量 (只)	空白对照组	实验 I 组	实验 II 组
	1	—	—	—
	2	—	2	—
[0103]	3	—	2	1
	4	—	1	2
	5	—	—	—
	6	—	—	—
	7	—	—	—

[0104] 由最大耐受性实验结果得出, 小鼠对白芷超微粉末最大耐受量为 20g/kg, 相当临床日用量的 133 倍 (临床日用量 0.15g/kg)。课题组前期进行了白芷标准汤剂的最大耐受量试验, 为 80g 生药/kg, 是临床给药量的 533 倍。由结果可知, 白芷超微细粉毒性较汤剂大, 但相对于以人耐受量 100 倍以上为安全, 白芷超微细粉临床使用仍比较安全。

[0105] 试验例 3 本发明白芷超微细粉体内吸收研究

[0106] 超微粉碎技术是近 20 年发展起来的一种高新技术,作为一种跨学科、跨行业的高新技术,在中药制药工业中的应用尚处于起步阶段,但利用该技术研制的中药制剂如微米中药等已引起医药界广泛关注。服用超微细粉可减少服用量,节约中药资源,由于生物利用度的提高,在保证生物等效性的前提下,一些中药材用量可以相应减少,降低成本,节约资源,从而有效地利用中药资源,尤其是珍稀资源的保护和可持续发展;由于超微粉碎设备的合理设计,使物料在全封闭及洁净状态下进行超微粉碎,不会产生新的污染。

[0107] 中药材中的有效成分通常分布于细胞内与细胞间质,而以细胞内为主。中药若采用常规方式粉碎,其单个粒子常由数个或数十个细胞所组成。细胞的破壁率极低。药物粉粒进入胃中在胃液作用下吸水溶胀,进入小肠的过程中有效成分根据简单扩散的原理不断地通过细胞壁及细胞膜释放出来,由小肠吸收。由于药物有效成分必须在细胞外浓度低于细胞内浓度时方可释放出来,浓度差越小释放速度越慢,浓度一旦平衡则停止释放。因药物粒子较粗,位于粒子内部的有效成分将穿过几千或数十千细胞壁及细胞膜方可释放出来,每个细胞壁及细胞膜两侧的浓度差会非常低,则释出速度很慢,因药物在体内停留的时间有限,在低速释放的情况下释出率也不会很高。由于药物粒子较粗,吸附在肠壁上的可能性较少,小肠的蠕动方式造成了有效成分在细胞周围的浓度会高于小肠壁的浓度,使细胞壁内外的浓度差难提高,减缓了释放速度。其中一部分药物粒子的有效成分在未完全释放出来之前就被排出体外,使药物的生物利用度较低。

[0108] 将植物药材经过细胞级微粉碎时,其有效成分被人体吸收则较为简单。药物进入胃中,可溶性成分在胃酸作用下即溶解,进入小肠后溶解的成分开始被吸收。由于药物为超细粒子,其不溶性成分也极易附着在上肠壁上,吸附在细胞壁上的有效成分会快速通过肠壁吸收。进入血液。而且这些超微粒子受附着力的影响排出体外所需时间较长,提高药物的吸收率。

[0109] 本实验为了比较普通粉末与超微细粉在体内吸收情况,采用高效液相色谱法对给药大鼠血清中欧前胡素含量进行了测定。

[0110] 1 试剂、试药与仪器

[0111] 试剂、试药:甲醇(分析纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(分析纯)、欧前胡素(购于中国药品生物制品检定所,批号 110826-200511)。

[0112] 仪器:电子恒温水浴锅 DZKW-4;旋转蒸发仪;WH-2 微型涡旋仪;离心机(TGL-16G);瓦里安 210 高效液相色谱仪;迪马 C18 柱(5 μ m, 250mm $\times$ 4.6mm)(迪马公司)。

[0113] 试验动物:SD 大鼠(三级),体重(200~300g)由简阳市简城比尔动物养殖场提供,动物合格证号:SCXK(川)2008-15。

[0114] 2 试验方法:

[0115] 2.1 给药方法

[0116] SD 大鼠雌雄各 3 只,体质量(200~300)g,禁食 12h,自由饮水,口服给予白芷超微粉末 0.54g/100g,分别于给药 0.5、1、2、3、4h 后,于眼眶取血 2ml,所有血液样品立即离心(3000r $\cdot$ min⁻¹)10min,分离得到血浆转移至于净塑料 EP 管。

[0117] 2.2 血浆样品预处理

[0118] 取大鼠空白血浆 200 μ l 置 5.0ml 离心管中,乙腈 500 μ l 沉淀蛋白,涡旋 5min,

离心 (3000r · min⁻¹) 10min, 取上清液转移至另一 5ml 试管中, 于 40℃ 水浴中氮气吹干, 加 200 μl 流动相充分溶解试管中的残留物, 涡旋 3min, 离心 (3000r · min⁻¹) 10min, 取上清液 20 μl 进样。

[0119] 2.3 血清中欧前胡素血药浓度的测定

[0120] 色谱条件与系统适应性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以甲醇: 水 (70 : 30) 为流动相; 检测波长为 300nm, 理论塔板数按欧前胡素峰计算应不低于 3000。

[0121] 对照品溶液的制备 精密称取欧前胡素对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含 10 μg 的溶液, 将对照品加入到空白血浆中, 按 2.2 方法处理, 即得。

[0122] 线性关系考察 取上述对照品溶液, 分别吸取该溶液 1 μl、5 μl、10 μl、15 μl、20 μl 以欧前胡素的质量浓度 x (p) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 进行回归运算, 求得的直线平均回归方程即为标准曲线 $Y = 3E+06X - 1452.1$, 线性考察结果如图 1 所示。

[0123] 以上结果表明, 供试品进样量早 0.0116 ~ 0.232 μl 内, 欧前胡素峰面积值与进样量呈现良好的线性关系。

[0124] 精密度试验 精密吸取对照品溶液 (11.6 μg/ml) 20 μl, 连续进样 5 次, 测定峰面积值, 结果见表 5。

[0125] 表 5 精密度试验结果

	实验次数	峰面积	均值	RSD(%)
[0126]	1	753784	752996.8	0.24%
	2	751726		
	3	752048		
	4	755806		
	5	751620		

[0127] 以上结果表明: 本方法精密度良好。

[0128] 稳定性试验

[0129] ①对照品的稳定性 精密吸取对照品溶液 (0.0116mg/ml) 20 μl, 分别在 0h, 1h, 2h, 3h, 4h 测定一次, 测定结果见表 6。

[0130] 表 6 对照品溶液稳定性试验结果

	时间 (h)	峰面积	均值	RSD(%)
[0131]	0	758692	751274.8	0.56%
	1	750012		
	2	748125		
	3	749862		
	4	749683		

[0132] 以上结果表明, 本方法测定大鼠血清中欧前胡素含量, 4h 内稳定性良好。

[0133] ②供试品的稳定性 取给药大鼠血浆, 按 2.2 操作, 分别在 0h, 1h, 2h, 3h, 4h 测定一次, 结果见表 7。

[0134] 表 7 样品溶液稳定性试验结果

	时间 (h)	欧前胡素血药浓度 (mg/l)	均值	RSD(%)
[0135]	0	1.02		
	1	0.97		
	2	0.96	0.958	4.4%
	3	0.93		
	4	0.91		

[0136] 以上结果表明,本方法测定大鼠血清中欧前胡素含量,4h 内稳定性良好。

[0137] 加样回收试验 取空白大鼠血浆 5 份,每份 200 μ l,分别加入不同浓度的欧前胡素 10 μ l,混合均匀,配制成 0.025、1.000、2.000mg/l 三种浓度的血浆样品。每个质量浓度进行 6 个样品分析,另取空白血浆 200L,按前述操作,获得的上清液中加入相应质量浓度的标准溶液 50L,涡旋 3min,离心 (3000r $\cdot$ min) 10min,取上清液 20 μ l 进样,获得相应峰面积比 (3 次测定的平均值)。以每一质量浓度 2 种处理方法的峰面积比值计算提取回收率。结果见表 8。

[0138] 表 8 体内吸收加样回收试验结果

	序号	样品含量 (mg/l)	加入量 (mg/l)	测得量 (mg/l)	回收率	平均回收率	RSD%
[0139]	1	0.49	2.000	2.46	98.79%		
	2	0.66	1.000	1.73	104.21%	99.62%	4.26%
	3	1.44	0.25	1.62	95.86%		

[0140] 以上结果表明,平均回收率为 99.62, RSD% < 5%,表明在 95% ~ 105% 之间,回收率良好。

[0141] 样品的测定 分别精密吸取供试品各 20 μ l,注入液相色谱仪,测定。结果见表 9。

[0142] 表 9 体内吸收试验欧前胡素血药浓度 (mg/l) 结果

[0143]

组别	时间 t/h	血药浓度 (mg/l)						平均值	SD
普通粉末组	0h	0.38	0.47	0.43	0.56	0.56	0.5	0.48	0.071740
	1h	0.68	0.62	0.61	0.53	0.53	0.4	0.56	0.063061
	2h	0.56	0.71	0.65	0.49	0.49	0.65	0.59	0.080000
	3h	0.62	0.66	0.7	0.61	0.59	0.47	0.61	0.086583
	4h	0.1	0.3	0.27	0.17	0.13	0.2	0.20	0.220817
本发明饮片300目粉末组	0h	0.98	0.91	0.95	1.08	1.03	0.94	0.98	0.097860
	1h	0.97	1.14	1.07	0.91	1.03	0.96	1.01	0.083586
	2h	0.93	1.09	1.06	1.10	0.97	0.99	1.02	0.080104
	3h	0.72	0.87	0.75	0.68	0.78	0.63	0.74	0.075741
	4h	0.61	0.52	0.54	0.64	0.53	0.66	0.58	0.085654
本发明饮片350目粉末组	0h	1.19	1.22	1.13	1.21	1.01	1.2	1.16	0.092177
	1h	0.92	1.05	1.09	0.91	0.91	0.93	0.97	0.069761
	2h	1.15	1.12	1.19	1.08	1.12	1.3	1.16	0.077717
	3h	1.64	1.48	1.49	1.49	1.39	1.55	1.51	0.069785
	4h	0.86	0.78	0.89	0.91	0.91	0.92	0.88	0.067750
本发明饮片400目粉末组	0h	1.01	1.11	1.2	0.98	0.98	1.07	1.06	0.078337
	1h	2.96	3.16	3.02	2.97	2.97	2.99	1.10	0.083287
	2h	1.19	1.15	1.2	1.21	1.21	1.03	1.17	0.083106
	3h	1.57	1.45	1.43	1.32	1.52	1.41	1.45	0.087407
	4h	0.76	0.89	0.86	0.9	1.02	0.87	0.88	0.050990
本发明饮片500目粉末组	0h	1.11	1.12	1.13	1.61	1.01	1.04	1.17	0.078166
	1h	2.01	2.09	2.18	1.99	2.02	2.18	1.08	0.060882
	2h	1.16	1.02	1.01	0.99	0.99	0.98	1.03	0.052694
	3h	0.66	0.67	0.69	0.65	0.68	0.79	0.69	0.083586
	4h	0.49	0.48	0.59	0.65	0.65	0.61	0.58	0.076004

[0144] 测定结果表明,大鼠给药 0h、1h、2h、3h、4h 后 300 目、350 目、400 目、500 目超微细粉体内血药浓度与普通粉末比较,高于普通粉末,由图 2 可知 350 目白芷超微细粉在大鼠给药后体内吸收效果较好,结合生产实际,可将 350 目超微细粉作为实际生产的参考。

[0145] 本发明方法制备得到的白芷饮片,超微药材经细胞级粉碎后,表面积大大增加,有效成分溶出加快;同时能很好的与胃肠粘膜接触,更易吸收,且保留了生物活性,增强药效;超微粉碎的速度很快,所耗时间相对缩短,甚至可以在低温下操作,避免了有效成分破坏,提高了疗效,减少用药量,节省了资源;不仅如此,本发明所得白芷超微细粉在 300-500 目间就能够达到良好的体内吸收,极大地降低了在白芷超微粉碎过程中的能耗。

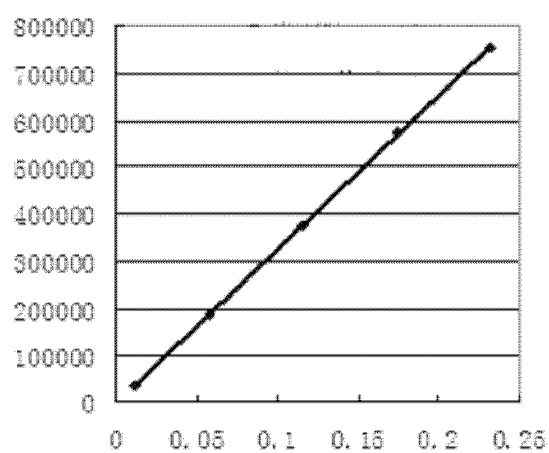


图 1

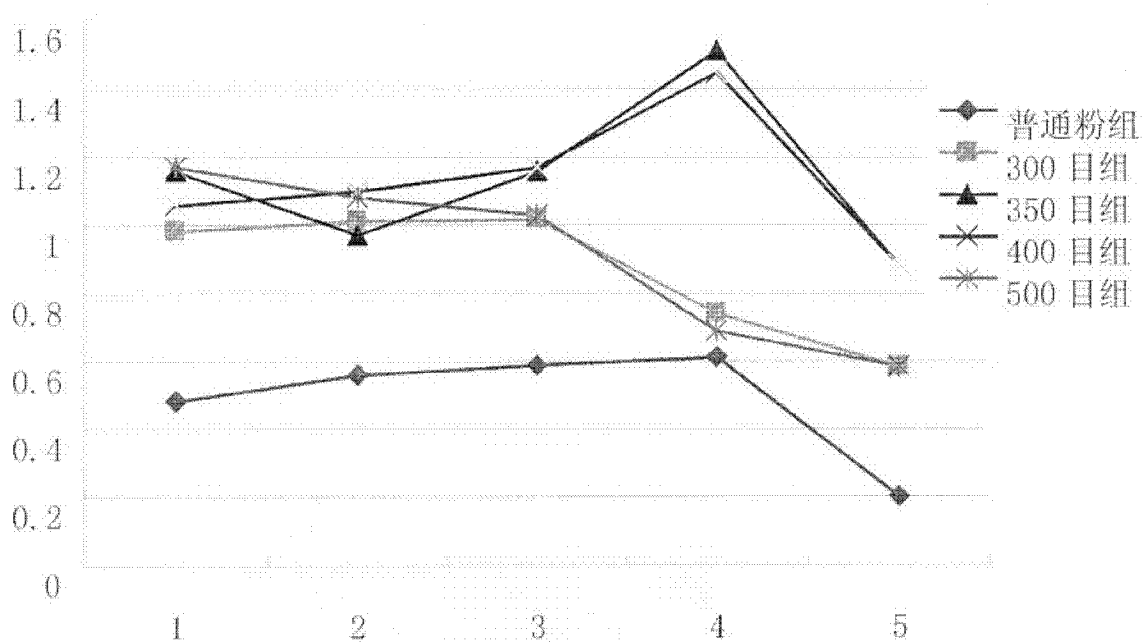


图 2