

超临界快速膨胀法制备厚朴 SCF-CO₂ 萃取物超微颗粒及其溶出度和药动力学考察

贺 帅, 雷正杰, 张守尧, 张忠义*

(南方医科大学珠江医院, 广东 广州 510282)

摘要: 应用超临界快速膨胀技术 (RESS) 制备中药厚朴超临界 CO₂ (SCF-CO₂) 萃取物超微颗粒, 初步探讨该技术应用于中药领域的可行性和优越性。以平均粒径、厚朴酚 (magnolol, MN) 及厚朴酚 (honokiol, HN) 的总酚含量为考察指标, 采用 L₉(3³) 正交实验, 对影响 RESS 制备厚朴 SCF-CO₂ 萃取物超微颗粒的因素 (萃取温度、萃取压力、喷嘴孔径) 进行优选, 并通过扫描电镜、HPLC、结合溶出度及体内动物实验对粒子各评价指标进行考察。该法最佳制备条件为: 萃取温度 $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、萃取压力 $P = 25\text{ MPa}$ 、喷嘴孔径 $d = 100\text{ }\mu\text{m}$; 此条件下得到灰白色粒子, 电镜下观察为不规则的片状或块状, 平均粒径为 $4.7\text{ }\mu\text{m}$, 粒子中总酚含量为 91.2%。在 15% 甲醇中 90 min 内厚朴 SCF-CO₂ 萃取物超微颗粒的溶出度为 $14.77\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 显著高于厚朴 SCF-CO₂ 萃取物原料粒子的溶出度 $6.37\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$); 两组大鼠分别灌胃原料粒子混悬液和 RESS 粒子混悬液后, 于不同时间测定血药浓度, 得 HN 和 MN 的平均血药浓度-时间曲线, 采用 WINNONLN 软件计算求得药动力学参数, 对两组药动力学参数进行 t 检验, 结果表明 RESS 粒子中 HN、MN 的 AUC_{0-t} 值 [(5.41 ± 0.63) 和 $(7.24 \pm 0.83)\text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$] 和 C_{max} 值 [(2.31 ± 0.17) 和 $(2.84 \pm 0.21)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] 均显著高于原料粒子组中 HN、MN 的 AUC_{0-t} 值 [(4.23 ± 0.36) 和 $(5.46 \pm 0.57)\text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$] 和 C_{max} 值 [(1.55 ± 0.22) 和 $(2.35 \pm 0.14)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$] ($P < 0.05$)。RESS 技术可用于厚朴 SCF-CO₂ 萃取物超微粒子的制备, 得到的粒子粒径小, 分布均匀, 其溶出度、AUC 和 C_{max} 值均明显高于普通工艺制备的厚朴提取物粒子, 且操作温度低、工艺流程简单、对环境无污染及无有机溶剂残留。

关键词: 超临界 CO₂; 超临界快速膨胀; 厚朴; 超微颗粒

中图分类号: R943.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 05-0532-08

Micronization of magnolia bark extract by RESS as well as dissolution and pharmacokinetics evaluation

HE Shuai, LEI Zheng-jie, ZHANG Shou-yao, ZHANG Zhong-yi*

(Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China)

Abstract: The purpose of this study is to explore the feasibility and superiority of using rapid expansion of supercritical solution (RESS) technology in the field of traditional Chinese medicine. The extract of magnolia bark (EMB) was obtained by supercritical carbon dioxide (SCF-CO₂) extraction technology. Microparticles of EMB were manufactured by RESS technology. The effects of operating temperature and pressure on the contents of the active ingredient in the particles were evaluated by HPLC. The effect of expansion conditions on the particle size distribution of EMB particles was investigated. The smallest sample (mean size: $4.7\text{ }\mu\text{m}$) was obtained under the RESS condition: pressure of 25 MPa, temperature of $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ and a nozzle size of $100\text{ }\mu\text{m}$. The characteristics of microparticles were also studied by differential scanning calorimetry (DSC), scanning electron microscopy (SEM) and image analysis. The dissolution rate study showed that microparticles had a

收稿日期: 2008-11-19.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30572377); 广东省科技计划项目 (2005B33001009).

*通讯作者 Tel: 86-20-61643499, Fax: 86-20-84300639, E-mail: zhang43499@sohu.com

significantly faster dissolution rate than normal material particles. After oral raw EMB suspension, the mean areas under the plasma concentration-time curves (AUC_{0-t}) of honokiol and magnolol were found to be (4.23 ± 0.36) and (5.46 ± 0.57) $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, which were increased significantly, i.e. (5.41 ± 0.63) and (7.24 ± 0.83) $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ when micronized EMB suspension was administered orally in SD rats ($P < 0.05$). Similarly, the mean maximum plasma concentrations of honokiol and magnolol increased from (1.55 ± 0.22) and (2.35 ± 0.14) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (raw EMB) to (2.31 ± 0.17) and (2.84 ± 0.21) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (micronized EMB), respectively. The results of t -test demonstrated that AUC_{0-t} and C_{\max} value for honokiol and magnolol was significantly increased with the micronization compared to raw EBM ($P < 0.05$). This study demonstrated that the RESS was applicable for preparing microparticles of EMB at low operating temperature. The process was simple, free of environment pollution and without residual solvent.

Key words: supercritical carbon dioxide; rapid expansion of supercritical solution; magnolia bark; microparticle

超临界萃取技术能提取分离中药易氧化、脂溶性及易挥发的有效成分,但这些有效成分脂溶性较强,体内生物利用度低,如何增加难溶性药物的溶解度,是中药现代化的重要研究内容之一。超临界流体快速膨胀法 (rapid expansion of supercritical solutions, RESS) 是近年来发展起来的制备药物微粒的新方法,所得到的微米甚至纳米级粒子大大提高了药物的溶解性,为难溶性药物提供了新的增加溶出度的方法;而且在常温下可操作,也为中药提取物中的脂溶性强、易氧化、易挥发成分的制剂研究提供了新的方法。国内外对该技术已有较多研究^[1-4],但对中药提取物的微粒化研究应用基本属于空白。厚朴为木兰科植物厚朴 (*magnolia bark*) 的干燥茎皮、根皮和枝皮,是常用的中药材,具有燥湿消痰、下气除满等功效^[5]。药理实验证明:厚朴有中枢镇静、抗痉挛、抗溃疡、肌肉松弛以及抗菌等多方面作用^[6,7]。厚朴主要有效成分为和厚朴酚 (HN)、厚朴酚 (MN)。本实验利用 RESS 技术制备了厚朴 SCF-CO₂ 萃取物超微颗粒,并对制备超微粒子的各个因素以及粒子的基本理化性质进行了考察。

材料与方法

材料与试剂 厚朴 SCF-CO₂ 萃取物 (本实验室制备, HN 与 MN 的总含量为 80.4%), β -环糊精 (β -CYD, 广东郁南县永光环状糊精有限公司, 批号: 20060322), 厚朴酚及和厚朴酚对照品 (批号: 110729-200310, 中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 (276 ± 28) g, 南方医科大学实验动物中心提供 (合格证号: SCXK 粤 2006-0015), 实验前禁食 12 h。

仪器设备 ZRS-4 智能溶出实验仪, Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国), 配二极管阵列检测器及化学工作站, S-3000N 扫描电子显微镜 (日本), DSC204 差示扫描量热仪 (德国)。SPM-9500J3 原子力显微镜 (日本 Shimadzu)。RESS 制粒装置 (南通市飞宇石油科技开发有限公司)。

RESS 超微颗粒的制备 取制粒原料约 30.0 g (厚朴 SCF 萃取物粒子/ β -CYD 为 1:2, 研磨混合), 按 $L_9(3^3)$ 正交表设置萃取温度、萃取压力以及喷嘴孔径大小, 待压力恒定, 30 min 后, 打开与喷嘴相连的阀门 V3, 进行制粒, 同时打开高压泵, 使得萃取釜压力恒定在预先设定的压力值, 预膨胀温度为室温 (即膨胀开始时结晶釜温度), 结晶釜压力为大气压; 最后在收集缸中得到粒子, 氮气吹干, 即得。

正交实验 采用 $L_9(3^3)$ 正交实验, 以平均粒径和厚朴的总酚含量为参考指标, 对 RESS 制粒工艺的 3 个主要影响因素: 萃取压力、喷嘴孔径和萃取温度、进行优选, 各因素水平见表 1。

Table 1 The orthogonal design of factors and levels

Level	Factor		
	A Extraction pressure / MPa	B Nozzle size / μm	C Extraction temperature / $^{\circ}\text{C}$
1	20	50	30
2	25	100	40
3	30	200	50

粒子的形态和粒径考察 取少量样品于扫描电镜下观察其形态, 并记录电镜图, 采用 SPM 显微图像分析软件, 对电镜图中 320 个粒子进行分析统计, 计算平均粒径及其分布。

粒子热重分析 精密称取 β -CYD、原料粒子、 β -CYD 与原料粒子物理混合物、RESS 粒子、萃取釜

残留物 5 个样品各 4 mg, 采用 DSC204 差示扫描量热仪进行热重分析, 气氛为 N_2 , 流量为 $20 mL \cdot min^{-1}$, 室温以 $10 \text{ }^\circ C \cdot min^{-1}$ 升至 $250 \text{ }^\circ C$, 记录各样品的升温曲线。

溶出度比较 根据预实验结果, 精密称取 RESS 粉末粒子约 105.0 mg (粒子中 HN 与 MN 总量约为 100.0 mg)、原料粒子 125.0 mg (粒子中 HN 与 MN 总量为 100.0 mg) 各 3 份, 进行溶出度实验。按药典 2005 年版第二部溶出度测定法中转篮法, 以 15% 甲醇为溶出介质^[8], 溶出介质体积为 900 mL, 转速为 $100 r \cdot min^{-1}$, 温度为 $37 \text{ }^\circ C$, 分别于 5、10、20、30、45、60 和 90 min 定点取样 5 mL (同时立即补充释放介质 5 mL), 微孔滤膜过滤, 取滤液 25 μL 按上述 HPLC 法测定。根据回归方程计算出各时间点 MN 和 HN 的量, 以两者之和作为溶出量。

给药方案^[9]和血样采集 取 108 只大鼠, 平均分为两组, 给药前禁食 12 h, 一组灌胃原料粒子混悬液 (45% 乙醇为溶剂, HN 和 MN 含量分别为 10.06 和 8.53 $g \cdot L^{-1}$), 另一组灌胃 RESS 粒子混悬液 (45% 乙醇为溶剂, HN 和 MN 的含量分别为 10.27 和 8.26 $g \cdot L^{-1}$), 每只大鼠灌胃 5 mL, 分别于给药 0.5、0.8、1.2、1.5、2.5、4、7、12 和 24 h 后, 水合氯醛麻醉, 经心脏取血 1.5 mL (每时间点 6 只大鼠), 置肝素预先处理的 EP 管中, $8000 r \cdot min^{-1}$ 离心 6 min, 分离血浆, $-20 \text{ }^\circ C$ 保存备用。

血浆样品预处理^[10] 取血浆 600 μL , 置 EP 管中, 加入 2 mL 乙腈, 振荡摇匀 $1200 r \cdot min^{-1}$ 离心 2 min, 取上清液, 于 $40 \text{ }^\circ C$ 水浴下氮气吹干, 残渣加 200 μL 甲醇, 涡旋振荡溶解, $1200 r \cdot min^{-1}$ 离心 2 min, 取上清液 25 μL 进样测定。

血药浓度测定

色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS C_{18} 柱 (4.0 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相 (甲醇-1% 醋酸溶液 79 : 21); 流速 $1 mL \cdot min^{-1}$; 检测波长 294 nm; 柱温 $25 \text{ }^\circ C$ 。

方法专属性 取 HN 和 MN 对照品溶液, 大鼠空白血浆, 空白血浆加对照品溶液和灌胃厚朴粒子混悬液后的血浆样品, 按“血浆样品预处理”项下方法操作, 进样 25 μL , 记录色谱图。

混合对照系列溶液的配制 精密称取 HN 对照品 6.35 mg、MN 对照品 6.75 mg 至同一个 50 mL 量瓶中, 先加少量甲醇溶解后再稀释至刻度, 取 5 mL 溶液至 50 mL 量瓶中用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备液。精密量取对照品储备液适量, 用甲醇

稀释成分别含 HN: 12.70、6.35、2.54、1.27、0.127 和 $0.064 \text{ mg} \cdot L^{-1}$; 分别含 MN: 13.50、6.75、2.70、1.35、0.135 和 $0.067 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ 的混合对照品系列溶液, 冰箱中冷藏保存备用。

标准曲线 取空白血浆 300 μL , 顺序加入混合对照系列溶液 600 μL , 按“血浆样品预处理”项下方法操作, 每个浓度连续进样 3 次, 建立标准曲线。以峰面积 (X) 为横坐标, 浓度 (Y) 为纵坐标, 计算回归方程。

精密度和回收率 取空白血浆 3 份各 300 μL , 加入混合对照品溶液, 配制成低、中、高 3 个不同浓度的血浆样品, 使 HN 质量浓度分别为 0.254、2.54 和 $12.70 \text{ mg} \cdot L^{-1}$, MN 质量浓度分别为 0.27、2.70 和 $13.50 \text{ mg} \cdot L^{-1}$, 按“血浆样品预处理”方法操作, 分别在同日内测定 6 次, 计算日内 RSD, 再连续测定 3 d, 计算日间 RSD。绝对回收率 (萃取回收率): 高、中、低 3 个浓度的混合对照品溶液各 2 份, 一份分别加入空白血浆 300 μL , 按“血浆样品预处理”方法操作, 重复测定 3 次, 求平均值; 另一份直接进样, 重复测定 3 次, 求平均值, 两次操作结果的比值即绝对回收率。相对回收率 (方法回收率): 按照标准曲线的制备方法, 配制高、中、低 3 个浓度的血浆样品, 并按“血浆样品预处理”方法操作, 每份样品重复测定 3 次, 求平均值, 由标准曲线方程计算出 HN 和 MN 的检出血量, 计算相对回收率。

最低检测限 按信噪比 2 : 1 计算 HN 和 MN 最低检测浓度。

数据分析 正交实验分析 (软件版本: SPSS 13.0): 对正交实验结果进行方差分析, 比较各个因素水平之间的变化对粒径和总酚含量的影响是否存在显著差异, 确定最佳制备工艺参数; 溶出度数据分析: 以总酚溶出量为考察指标, 对溶出度结果采用单因素方差分析比较两组重复测量数据是否存在显著差异。药动学参数分析: 将所得的两组 MN 和 HN 在大鼠体内的血药浓度-时间数据, 采用 WINNONLN 软件进行计算, 求得相应的药动学参数, 采用两样本 t 检验分析比较两组药动学参数是否存在显著差异。

结果

1 RESS 粒子正交实验

根据正交设计表安排实验, 制得 9 个 RESS 粒子样品, 样品的编号与正交表实验号相对应, 所得样品为灰白色或黄白色粒子, 于扫描电镜下观察为不规则

块状、片状或柱状, 电镜图如图 1 所示, 采用 SPM 显微图像分析软件, 对电镜图中 420 个粒子进行分析统计, 计算得 9 个样品粒子的平均粒径分布在 4.7~10.2 μm (表 2), 应用 SPSS 13.0 统计学软件对正交实验结果进行分析, 计算 K 值和 R 值, 结果表明喷嘴孔径、萃取压力及萃取温度 3 个因素水平的变化对粒径的影响均无显著差异 ($P > 0.05$); 9 个样品中平均总酚含量分布在 75.1%~90.3% (表 2), 萃取温度和萃取压力两个因素水平的变化对总酚含量的影响存在显著差异 ($P < 0.05$), 根据 R 值确定各因素主次为 $C > A > B$, 综合粒径和总酚含量的影响, 结合粒

子制备时能源消耗、产率等实际情况, 选择最佳制备工艺条件为 $A_2B_2C_3$, 在此条件下制备的粒子粒径最小 (4.7 μm), 总酚含量最高 (91.2%)。

2 粒子的形态和粒径考察

取原料粒子和最佳工艺条件下制备的 RESS 粒子各一份, 于扫描电镜下观察两组粒子的形态, 并记录电镜图, 采用 SPM 显微图像分析软件, 对电镜图中粒子进行分析统计, 计算两组粒子的平均粒径及其分布。RESS 粒子为灰白色粉末, 电镜下观察为不规则块状或片状, 粒子间较为分散 (图 2), 采用 SPM 显微图像分析软件, 对电镜图中 420 个粒子进行分析

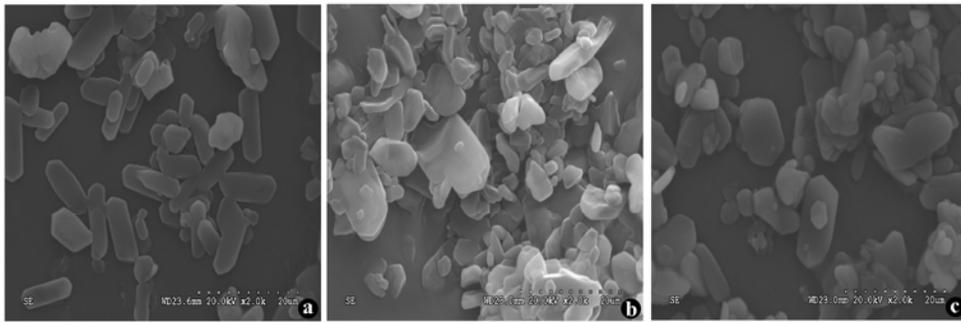


Figure 1 SEM pictures of RESS particles ($\times 2000$). a: 50 $^{\circ}\text{C}$ /25 MPa, nozzle size = 100 μm ; b: 40 $^{\circ}\text{C}$ /25 MPa, nozzle size = 50 μm ; c: 40 $^{\circ}\text{C}$ /30 MPa, nozzle size = 200 μm . Bar length = 20 μm

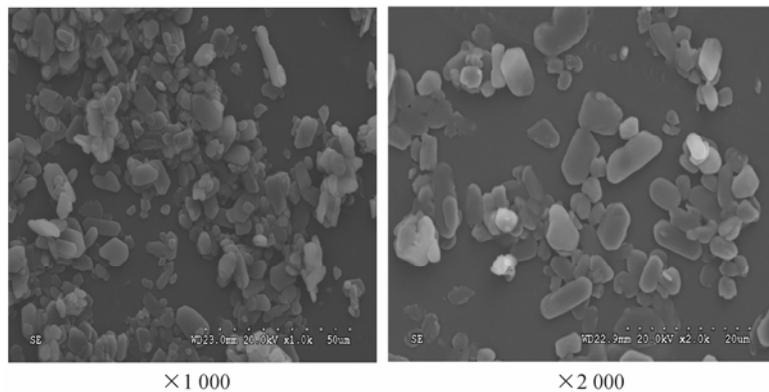


Figure 2 Microparticles produced from RESS at 25 MPa / 50 $^{\circ}\text{C}$, nozzle size = 100 μm

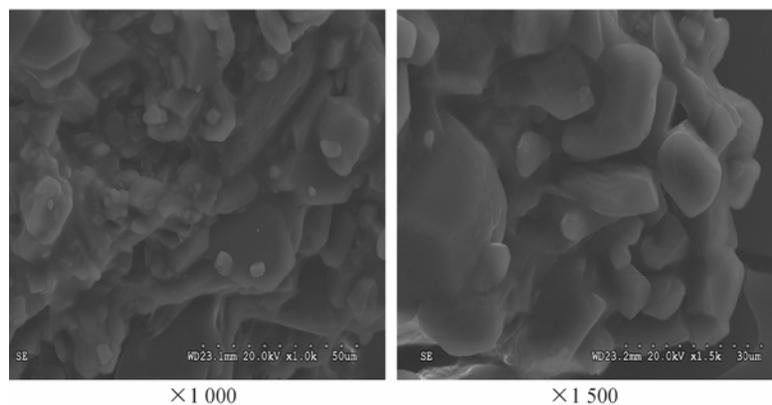


Figure 3 SEM pictures of materials

Table 2 Results of orthogonal experiment of RESS particles ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

No	A Extraction pressure / MPa	B Nozzle size / μm	C Extraction pressure / $^{\circ}\text{C}$	Mean size/ μm	Total-phenol amount/%
1	1	1	1	6.1 \pm 2.4	75.1 \pm 0.8
2	1	2	2	5.6 \pm 1.7	81.1 \pm 1.2
3	1	3	3	10.2 \pm 3.1	86.1 \pm 0.6
4	2	1	2	6.7 \pm 2.3	86.8 \pm 0.4
5	2	2	3	4.7 \pm 1.1	90.3 \pm 1.0
6	2	3	1	4.9 \pm 1.5	84.2 \pm 0.3
7	3	1	3	9.3 \pm 3.6	87.3 \pm 0.8
8	3	2	1	8.4 \pm 3.2	82.5 \pm 0.5
9	3	3	2	5.1 \pm 1.4	85.8 \pm 0.6
Mean size					
K1	21.90	22.10	19.40		
K2	16.30	18.70	17.40		
K3	22.80	20.20	24.20		
R	6.50	3.40	6.80		
Total-phenol amounts					
K1	242.30	249.20	241.80		
K2	261.30*	253.90	253.70		
K3	255.60*	256.10	263.70*		
R	19.00	6.90	21.90		

R refers to the result of extreme analysis; * $P < 0.05$ vs K1

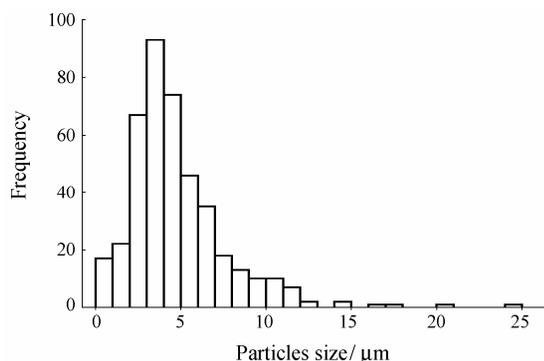


Figure 4 Particles size distribution of extract of magnolia bark (EMB) particles from SEM pictures; RESS treated sample with the preparation condition of 25 MPa and 50 $^{\circ}\text{C}$, nozzle size = 100 μm

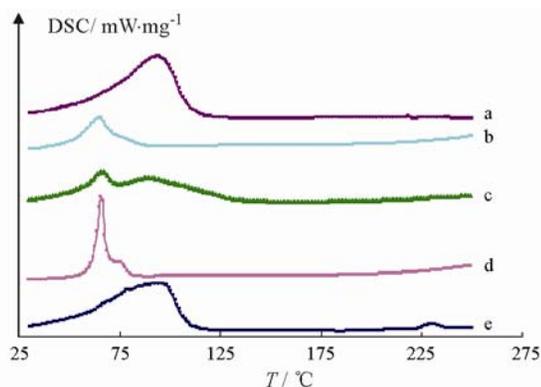


Figure 5 DSC curves of β -CYD (a), materials (b), mixture of EMB with β -CYD (c), microparticles (d), and residual material in extraction unit (e); RESS-treated sample with preparation condition of 25 MPa / 50 $^{\circ}\text{C}$, nozzle size = 100 μm

统计, 计算得平均粒径为 4.7 μm , 粒径分布在 0.2~24.1 μm (图 3); 原料粒子具油黏性, 电镜下观察呈团状或块状, 粒子之间紧密黏聚, 采用 SPM 显微图像分析软件, 对电镜图中 320 个粒子进行分析统计, 计算得平均粒径为 55.2 μm , 粒径分布在 8.3~102.4 μm (图 4)。

3 粒子热重分析

采用 DSC204 差示扫描量热仪对 β -CYD、原料粒子、 β -CYD 与原料粒子物理混合物、RESS 粒子、萃取釜残留物进行热重分析, 精密称取各样品 4 mg, 氮气流下, 流速 20 mL·min⁻¹, 室温以 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 记录升温曲线 (图 5), 曲线 a、b、c、d 和 e 依次代表 β -CYD、原料粒子、 β -CYD 与原料粒子物理混合物、RESS 粒子、萃取釜残留物的升温曲线, 曲线 d 中只存在一个放热峰, 该放热峰位置与曲线 b 相同, 但峰型明显尖锐, 说明 RESS 粒子中不含 β -CYD, 经 HPLC 测定, RESS 粒子中 HN 和 MN 总含量高达 91.2%, 高出原料粒子 10.8%, 峰型变窄有可能是纯度提高所致; 曲线 e 中原料粒子的放热峰消失, 与曲线 a、c 比较, β -CYD 放热峰的峰值温度由 89.4 $^{\circ}\text{C}$ 升高至 95.4 $^{\circ}\text{C}$, 并且在 228.7 $^{\circ}\text{C}$ 出现一个较小的放热峰, 推断残留物中 β -CYD 发生了包合现象, 经 HPLC 测定, 残留物中总酚含量为 16.8%, 进一步表明原料粒子放热峰的消失是被 β -CYD 包合所致。

4 溶出度实验

原料粒子在 90 min 内, 15% 甲醇中累积溶出量为 6.37 mg·L⁻¹; RESS 粒子在 90 min 内, 15% 的甲醇中累积溶出量为 14.77 mg·L⁻¹。方差分析结果显示, 原料粒子和 RESS 粒子 90 min 内的溶出度存在显著差异 ($P < 0.01$), 结果如图 6 所示。

5 动物实验

5.1 方法专属性 取 HN 和 MN 对照品溶液、大鼠空白血浆、空白血浆加对照品液和灌胃厚朴粒子混悬液的血浆样品, 按“血浆样品预处理”项下方法操作, 进样 25 μL, 记录色谱图, 如图 7 所示, 空白血浆中的内源性物质和厚朴粒子混悬液中的其他组分及其代谢物不干扰血浆中待测组分的测定。

5.2 标准曲线 和厚朴酚及厚朴酮的标准曲线方程如下:

$$\text{和厚朴酚} \quad Y = 0.0088X + 0.1375 \quad r = 0.9976$$

$$\text{厚朴酮} \quad Y = 0.0098X - 0.1529 \quad r = 0.9978$$

5.3 精密度和回收率 HN 日内 RSD = 6.8%, 日间 RSD = 9.7%; MN 日内 RSD = 7.2%, 日间 RSD = 9.1%。HN 的绝对回收率为 91.8%, RSD = 3.4% ($n = 3$), 相对回收率为 102.5%, RSD = 3.5% ($n = 3$); MN 绝对回收率为 92.8%, RSD = 3.3% ($n = 3$), 相对回收率为 97.4%, RSD = 3.8% ($n = 3$)。

5.4 最低检测限 按信噪比 2:1 计算最低检测浓度, HN 为 0.045 mg·L⁻¹, MN 为 0.055 mg·L⁻¹。

5.5 血浆样品测定 两组大鼠分别灌胃原料粒子混悬液和 RESS 粒子混悬液后, HN 和 MN 的平均药物浓度-时间曲线如图 8, 主要药动学参数见表 3, t 检验分析结果表明, RESS 粒子的 AUC 值、 C_{\max} 值均明显高于原料粒子组。

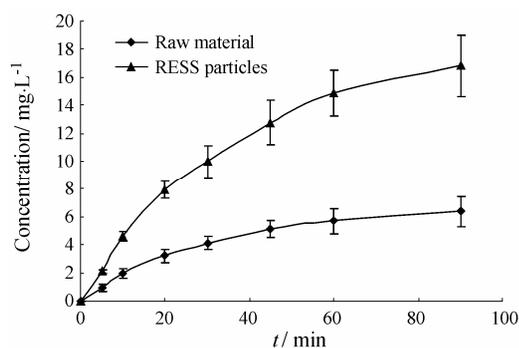


Figure 6 Dissolution curves for materials and RESS particles prepared at 25 MPa / 50 °C, nozzle size = 100 μm

Table 3 Mean pharmacokinetic parameters of honokiol (HN) and magnolol (MN) in rats plasma after oral administration of SCF particles suspension and RESS particles suspension ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Material		RESS	
	HN	MN	HN	MN
T_{\max}/h	0.8	0.8	0.8	0.8
$T_{1/2}/h$	10.21 ± 0.76	8.74 ± 0.30	9.36 ± 0.83	8.16 ± 0.73
$C_{\max}/mg \cdot L^{-1}$	1.55 ± 0.22	2.35 ± 0.14	2.31 ± 0.17*	2.84 ± 0.21*
$AUC_{0-7}/mg \cdot h \cdot L^{-1}$	4.23 ± 0.36	5.46 ± 0.57	5.41 ± 0.63*	7.24 ± 0.83*
$AUC_{0-\infty}/mg \cdot h \cdot L^{-1}$	4.88 ± 0.38	6.12 ± 0.64	5.97 ± 0.66*	7.94 ± 0.84*
MRT/h	5.50 ± 0.34	5.26 ± 0.10	5.25 ± 0.34	5.19 ± 0.07

* $P < 0.05$ vs material group

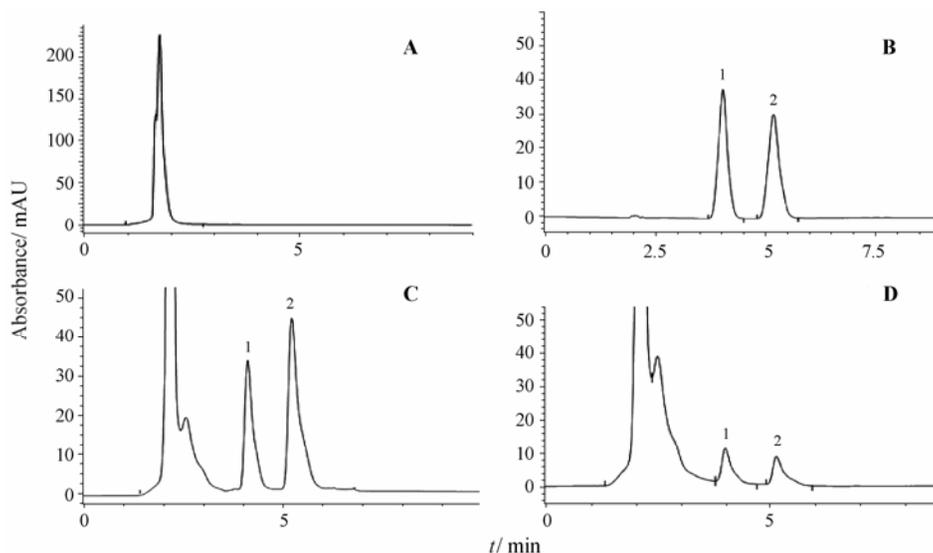


Figure 7 HPLC chromatograms of HN (1) and MN (2) in rat plasma. A: Blank plasma; B: Standards; C: Blank plasma spiked with standards; D: Plasma sample after oral administration of SCF particles for 7 h

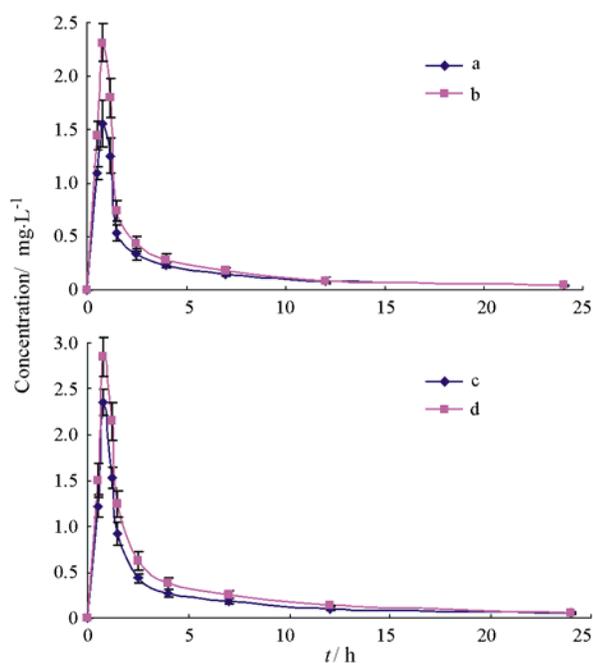


Figure 8 Mean plasma concentration-time curve of honokiol (a, b) and magnolol (c, d) in rats after oral administration of materials particles suspension (a, c) and RESS particles suspension (b, d). $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

讨论

在前期实验基础上^[11, 12], 结合预实验, 确定了正交实验的因素及水平, 实验中发现当萃取温度超过 50 °C 时, 原料开始融化, 并能在制粒过程中透过烧结板, 进入连接管道, 在膨胀时由于温度降低, 融化的原料冷却结成块状或大的颗粒, 堵塞连接管道或喷嘴。

中药厚朴 SCF-CO₂ 萃取物成分复杂, 对其制粒时, 粒子形状极不规则、易聚集、具有油黏性, 实验中尝试 10 余种辅料来改善粒子形态, 结果发现原料中混合一定比例的 β -CYD 后, 能明显地改善粒子形态、降低油黏性, 另外, 通过实验证明 β -CYD 不溶于 SCF-CO₂ 中。实验中分别考察了厚朴 SCF-CO₂ 萃取物: β -CYD 按质量比 1:1、1:2 和 1:5 三种不同比例的去油效果, 其中 1:1 混合时效果不明显, 按 1:2 与 1:5 混合时, 均能明显降低油黏性、改善粒子形态, 实验中按 1:2 混合进行超微颗粒的制备。DSC 差示扫描量热仪的分析结果显示, β -CYD 发生了包合现象, 推断其去油原理是因为 β -CYD 包合了厚朴萃取物中油黏性成分, 从而导致粒子形态得到改善, 油黏性降低。

HPLC 测定粒子中 HN 和 MN 的含量可以作为一个控制粒子质量的参考指标, 因为改变萃取压

力和温度时, 制得的粒子中 HN 和 MN 含量随之改变。

RESS 粒子与 SCF 粒子体内外实验的初步结果表明, RESS 技术适合于中药超临界萃取物超微粒子的制备, 并能提高其有效成分的溶解度和生物利用度, 但本实验只对两组粒子进行了初步考察, 并未进行两组粒子成型制剂的体内外评价, 使本研究具有一定的局限, 将在后续的实验作进一步研究完善。

RESS 是近十年发展的一项制备超细粒子的新技术, 具有制备粒径小 (达到纳米至微米级), 形态分布均匀, 操作温度低, 无溶剂残留等优点, 在制备中药超临界流体萃取物超微粒子领域已展示出可观的应用前景, 但也存在诸多不足, 如该方法适用范围有限, 只适合能溶解在超临界流体中的物质; 对萃取物进行制粒时, 由于中药超临界萃取物成分复杂, 制得的粒子存在一定的油黏性, 必须混合一种合适的辅料, 降低其油黏性、改善其粒子形态, 期望在后续实验中寻找一种能够广泛适用于各种中药超临界流体萃取物的辅料或固体潜溶剂^[13], 加快 RESS 技术全面应用于中药制粒领域的步伐。

References

- [1] Liu HL, Pan WS, Zhou LL, et al. Preparation of budesonide-poly (ethylene oxide) solid dispersions using supercritical carbon dioxide and *in vitro* evaluation [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2007, 42: 206-210.
- [2] Chingunpitak J, Puttipipatkachorn S, Tozuka Y, et al. Micronization of dihydroartemisinin by rapid expansion of supercritical solutions [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2008, 34: 609-617.
- [3] Timothy JY, Keith PJ, Gary WP. Phospholipid-stabilized nanoparticles of cyclosporine A by rapid expansion from supercritical to aqueous solution [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2003, 5: 1-16.
- [4] Ranjit T, Ram BG. Formation of phenytoin nanoparticles using rapid expansion of supercritical solution with solid cosolvent (RESS-SC) process [J]. Int J Pharm, 2006, 308: 190-199.
- [5] The State Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Vol I. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 204-205.
- [6] Bang KH, Kim YK, Min BS, et al. Antifungal activity of magnolol and honokiol [J]. Arch Pharm Res, 2000, 23: 46-49.

- [7] Park J, Lee J, Jung E, et al. *In vitro* antibacterial and anti-inflammatory effects of honokiol and magnolol against *Propionibacterium* sp [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 496: 189-195.
- [8] Xu DH, Xu X, Chen CP. Study on the extracorporeal dissolution rate of Huoxiang zhengqi capsules [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, 31: 1201-1202.
- [9] Yuan C, Liang AJ, Zeng L, et al. Pharmacokinetics profile of magnolol and honokiol in Wistar rats [J]. *Pharm J China PLA* (解放军药学学报), 2003, 19: 258-261.
- [10] Chen SZ, Jia H, Wu YH, et al. Pharmacokinetics of honokiol in rats [J]. *J Peking Univ (Health Sci)* (北京大学学报 医学版), 2004, 36: 41-43.
- [11] Zhang ZY, Huang CC, Lei ZJ, et al. The study on magnolol extraction with supercritical carbon dioxide fluid [J]. *Guangdong Pharm J* (广东药学), 1999, 9: 20.
- [12] Su ZR, Lei ZJ, Ceng JQ, et al. The study on extraction process from magnolia bark with supercritical carbon dioxide fluid [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26: 31-33.
- [13] Thakur R, Gupta RB. Rapid expansion of supercritical solution with solid cosolvent (RESS-SC) process: formation of 2-aminobenzoic acid nanoparticles [J]. *J Supercritical Fluids*, 2006, 37: 307-315.