

供了新的方法。

3.4 溶剂提取后的原料只能丢弃,超临界 CO₂ 提取后,原料的性状、结构、形态几乎没有任何改变,可以继续提取超临界不适合的组分,为中药资源的合理开发利用提供了新方法。

References:

- [1] Xu D R, Ding Q, Wang Z T. Determination of urosolic acid and oleanolic acid in Zhibai Dihuang Pill by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (11): 996-997.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [3] Xie Y, Hang T J, Chen Z. Determination of oleanolic acid and urosolic acid in Chinese traditional drugs by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26 (9): 615-616.

纳米黄芪粉的显微结构和有效成分溶出的研究

马培艳^{1,2}, 傅正义¹, 苏艳丽¹

(1. 武汉理工大学 材料复合新技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430070; 2. 武汉理工大学理学院, 湖北 武汉 430070)

摘要:目的 对黄芪药材进行纳米级粉碎的研究。方法 采用 HSCS 超细粉碎机进行纳米粉碎, Zeta PALS 光散射粒度分布及电位分析仪进行粒度分析和 Zeta 电位测定, 并采用显微观察法对药物组织结构进行显微特征的观察。结果 纳米黄芪悬浮液中固体颗粒平均粒径为 81.7 nm, 大部分细胞壁被破碎, 黄芪皂苷和多糖直接进入水中。结论 黄芪纳米化后可促进有效成分的溶出。

关键词: 蒙古黄芪; 纳米粉碎; 显微特征; 皂苷

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2005)08-1162-03

Microscopic characteristics and effective component's dissolution of nano particles of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*

MA Pei-yan^{1,2}, FU Zheng-yi¹, SU Yan-li¹

(1. State Key Laboratory of Advanced Technology for Material Synthesis and Processing, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. School of Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Key words: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao; nano-pulverization; microscopic characteristics; saponin

纳米技术在生物、医学领域的飞速发展对传统中医药产生了深刻的影响。纳米雄黄、纳米石决明等药物已被制备出来^[1~4], 但是草药由于多纤维而使其纳米化成为难题。日本奈良机械所研制的 HSCS 超细粉碎机采用先进的超细粉碎方式, 通过高速自转的粉碎环获得传统粉碎机粉碎介质所得不到的强大离心力和剪切力, 在短时间内将植物粒子粉碎成亚微米的超细粉末。该仪器的密闭磨腔外套有水冷却装置, 使整个粉碎过程在接近室温、无污染环境下操作, 保证了药物在粉碎过程中活性成分不被破坏。

黄芪为豆科植物, 具有强心利尿、降血压等作用。现代药理研究表明, 该药对心血管系统、血液系统、肾功能、物质代谢及肿瘤均有良好的作用。有研究表明黄芪有增强机体非特异免疫和增强机体抵抗力的功能^[5]。其主要的化学成分为黄芪皂苷和多糖。本实验通过 HSCS 超细粉碎机将黄芪粉碎到纳米量

级, 并研究了粉碎前后药物的显微特征的变化, 为研究纳米技术对中药有效成分的溶出、生物利用度的影响提供参考。

1 仪器与材料

HSCS 超细粉碎机(日本奈良机械所), Zeta PALS 光散射粒度分布及电位分析仪(美国 Brookhaven 公司), Orthoplan 偏光显微镜(西德莱茨公司)。黄芪药材购于武汉街道口中药店, 经湖北省中医药研究院中药研究中心鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 的干燥根; 所用试剂均为分析纯。

2 纳米黄芪粉体制备和表征

2.1 纳米黄芪粉体的制备: 将黄芪洗净烘干, 常规粉碎, 过 180 目筛, 得黄芪细粉。取 10 g 细粉, 加蒸馏水作分散剂, 投入 HSCS 超细粉碎机的投料罐中

进行粉碎。控制转速 1 200 r/min, 粉碎时间 45 min。

2.2 粒度分布和 Zeta 电位的测定: 将纳米黄芪粉悬浮液置光散射粒度分布及电位分析仪中进行粒度和 Zeta 电位的测定, 结果见图 1。可见固体颗粒平均粒径为 81.7 nm, 颗粒大小分布均匀。黄芪在纳米粉碎后, 不溶于水的纤维和淀粉等物质颗粒大小急剧降低, 表面能大大增加, 颗粒间易发生团聚, 纳米黄芪悬浮液的 Zeta 电位为 -23.07 mV, 说明纳米黄芪颗粒表面吸附有一定量的电荷, 相同电荷的排斥作用使悬浮液的稳定性较好。

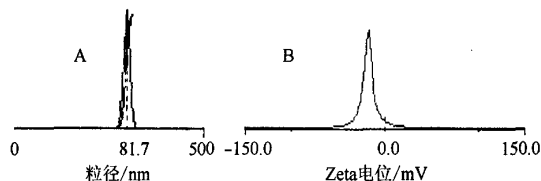
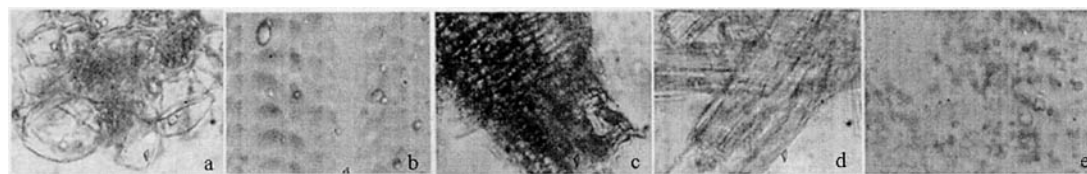


图 1 纳米黄芪粉的粒径分布(A)和 Zeta 电位(B)

Fig. 1 Particle size division (A) and Zeta potential (B) of nano *A. membranaceus* var. *mongholicus* powder



a-木栓细胞 b-淀粉粒 c-导管 d-纤维 e-纳米粉
a-phellem cell b-starch c-vessel d-fiber e-nano-particles

图 2 黄芪细粉和纳米粉的显微特征

Fig. 2 Microscopic characteristics of fine particles and nano particles of *A. membranaceus* var. *mongholicus*

用 20 mL 正丁醇萃取 2 次, 合并萃取液, 130 ℃ 油浴, 蒸去正丁醇, 将所得固体物质溶于氯仿, 然后加入浓硫酸, 振荡、静置。在紫外灯下观察浓硫酸层的颜色, 如有绿色荧光, 说明有皂苷从细粉中溶出。取相应量的黄芪纳米粉悬浮液, 直接滤过, 滤液按上述方法检验有无皂苷的直接溶出。

乙醇回流后的药渣, 挥去乙醇, 加入 100 mL 水, 水浴回流, 滤过, 滤液蒸至一定体积, 加 3 倍体积的无水乙醇, 产生乳白色沉淀, 滤过, 烘干, 得浮白色黏稠固体, 称重。在溶液中加入碱性酒石酸铜试剂, 水浴加热至沸, 保持 2~3 min, 观察有无橙色沉淀产生, 如出现, 说明有黄芪多糖的析出。

结果表明, 黄芪细粉虽然经过 45 min 的蒸馏水浸泡, 但因有效成分都存在于细胞内, 需要经过细胞膜和细胞壁的扩散、渗透作用, 析出速率较慢, 因此没有检验到黄芪皂苷和多糖的溶出。黄芪纳米粉因

2.3 粉体的显微特征观察: 分别挑取黄芪细粉和纳米悬浮液少许, 置载玻片上, 蒸馏水湿润(细粉), 水合氯醛液透化装片, 置显微镜下观察。见图 2。在黄芪细粉中木栓细胞表面呈类多角形或类方形, 细胞壁呈微波状弯曲(图 2-a)。淀粉粒大量存在, 单粒呈类圆形或类椭圆形, 直径在 10 μm, 复粒由 2~4 分粒组成, 在偏光下呈黑十字状(图 2-b)。淡黄色的导管呈缘纹孔(图 2-c)。纤维大量存在于细粉中, 束状, 直径 10~30 μm, 在偏光下呈亮橙黄色间多彩状(图 2-d)。黄芪在纳米粉碎后没有原药材的显微特征, 只有分布均匀的颗粒。明显看到黄芪中各类成分已经均质化。在纳米粉中没有完整细胞存在, 说明组织中各类细胞均被破壁, 此时细胞内的有效成分呈释放状态, 在水的溶剂化作用以及粉碎机主轴的高速旋转的条件下, 直接进入水中(图 2-e)。

2.4 黄芪皂苷和多糖的溶出^[6]: 称取黄芪细粉 10 g, 用 20 mL 蒸馏水浸泡 45 min 后滤过, 取滤液, 在烘箱内将水分蒸干。取固体物质用 95% 乙醇作溶剂, 超声提取 2h, 滤液蒸干, 然后将所得固体物质

为细胞壁和细胞膜的破碎, 黄芪皂苷和多糖呈释放状态, 直接进入水中。另外, 黄芪细粉在水中超细粉碎后的悬浮液出现大量持久的气泡, 不因加热而消退, 这是因为皂苷本身具有降低水溶液表面张力的作用^[6], 该现象也证明了黄芪皂苷在纳米粉悬浮液中直接溶出。在粉碎机主轴高速旋转下, 皂苷作为表面活性剂, 与各物质充分混合, 有助于保持纳米悬浮液的稳定性。

3 结论

本实验通过超细粉碎的方法制备了纳米黄芪悬浮液, 并通过 Zeta 电位、粒度分布等测试方法, 对纳米黄芪进行了表征。使用 HSCS 超细粉碎技术可以将黄芪细粉均匀粉碎到 81.7 nm。纳米粉碎后, 黄芪中细胞壁和细胞膜大部分被破碎, 有效成分不经提取可以直接溶出。黄芪内在物质皂苷对纳米黄芪悬浮液起到了稳定的作用。

References:

- [1] Yang X L, Xie C X, Xu H B, *et al.* Preparation of nano *Concha Halitidis* [P]. CN: 01106679. 2, 2001-04-30.
- [2] Xie C X, Yang X L, Xu H B, *et al.* Preparation of nano Reagler [P]. CN: 00116045. 1, 2000-09-25.
- [3] Xu H B, Xie C X, Yang X L, *et al.* Preparation of nano magnet [P]. CN: 01106680. 6, 2001-04-30.
- [4] Wang X B, Xi R G, Li Z L, *et al.* Preparation of nanoparticles Realgar powders [J]. *Pham J Chin PLA* (解放军药学报). 2002, 18 (3): 129-134.
- [5] Yang S Z. Effect of *Astragalus membranaceus* on natural killer cell activity and induction of α - and γ -interferon in patients with coxsackie B virus [J]. *Chin Med J* (中医杂志), 1990, 103: 304-308.
- [6] Liang S W. *Quantitative Analysis of Chinese Traditional Medical Preparation* (中药制剂的定量分析) [M]. Beijing: Chinese Traditional Medical Press, 1997.

高效毛细管电泳法测定玉米花粉多糖中单糖的组成

耿 越, 王建波, 刘靛雯, 张明伟, 刘书明

(山东师范大学生命科学学院, 山东 济南 250014)

摘要:目的 采用高效毛细管电泳法测定玉米花粉多糖中单糖的组成。方法 玉米花粉多糖水解后, 经 α -萘胺衍生化, 高效毛细管电泳分析。电泳条件: 缓冲液为 75 mmol/L 硼砂溶液 (pH 9.5); 柱温 22 °C; 电压 16 kV; 检测波长 200 nm; 气压进样, 进样时间 5 s。结果 玉米花粉多糖主要是由葡萄糖、阿拉伯糖和半乳糖 3 种单糖组成。结论 高效毛细管电泳可用于测定多糖中单糖的组成。

关键词:玉米花粉; 多糖; 高效毛细管电泳

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2005)08-1164-03

Determination of monosaccharide composition of maize pollen polysaccharides by HPCE

GENG Yue, WANG Jian-bo, LIU Jing-wen, ZHANG Ming-wei, LIU Shu-ming

(College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Key words: maize pollen; polysaccharides; high performance capillary electrophoresis (HPCE)

玉米花粉多糖具有多种免疫增强活性, 对肺泡及人胸腔内的巨噬细胞有明显的激活作用^[1~3], 并能明显抑制小鼠 S_{180} 肿瘤细胞的生长^[3,4]。

高效毛细管电泳 (HPCE) 技术具有样品用量少、时间短、灵敏度高、分离效果明显的特点, 在糖类物质的检测方面具有独特的优势。由于单糖在水溶液中解离能力极差, 在强碱条件下才能带上电荷。使用含硼砂的缓冲液会让单糖在较低的 pH 条件下带上足够的负电荷。不同的单糖在相同介质条件下与硼砂的络合物具有有效淌度的差异, 足以被毛细管电泳分开。单糖的紫外吸收很弱, 采用 α -萘胺为衍生试剂使其带上可被检测的基团^[5]。本实验采用此法测定了三氯醋酸法去蛋白的玉米花粉多糖中的单糖组成, 并将结果与 Sevag 法去蛋白的玉米花粉多糖中的单糖组成进行比较。

1 仪器与试剂

电泳装置为 Beckman P/ACE 5000, 操作软件为

Beckman P/ACE Station 1.0, 毛细管柱 (57 cm $\times$ 50 μ m, 有效长度 50 cm) (河北永年光导纤维厂)。

半乳糖、木糖、甘露糖对照品 (进口分装), 葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖对照品 (国产分析试剂); 玉米花粉购于济南蜂产品专卖店; 试剂均为分析纯, 水为双蒸水。

电泳条件: 缓冲液为 75 mmol/L 硼砂溶液 (pH 9.5); 柱温 22 °C; 电压 16 kV; 检测波长 200 nm; 气压进样, 进样时间 5 s; 清洗液 0.1 mol/L HCl 溶液、0.1 mol/L NaOH 溶液、重蒸水。

2 方法与结果

2.1 衍生试剂的配制: 称取 α -萘胺 143 mg 和 NaBH_3CN 35 mg, 溶于 450 μ L 无水甲醇中, 再加入 41 μ L 冰醋酸, 即得。

2.2 单糖对照品溶液的制备: 取各种单糖用重蒸水配成质量浓度为 20 mg/mL 的水溶液。各取 1 mL 制成单糖对照品混合液。

收稿日期: 2004-11-27

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (Y2002D11)

作者简介: 耿 越 (1965—), 男, 山东淄博人, 博士, 教授, 1999 年毕业于同济大学, 获博士学位, 主要从事天然产物研究。

Tel: (0531) 86180196 E-mail: gengy@sdnu.edu.cn