

- Chin Tradit Herb Drugs*. (中草药), 2001, 32(2): 184-186.
- [2] Qu C H. Pharmacology and clinical uses of cinobufagin injection [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1999, 10(5): 382-383.
- [3] Zhu W W. Study on quality standards for Chansu Injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(2): 63-65.
- [4] Su Y H, Yin X C, Xie J M, et al. Inhibition effects of three kinds of bufotoxins on human SMMC-7721 and BEL-7402 hepatoma cells lines [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2003, 24(4): 393-395.
- [5] Gao Y R, Zhang L, Zhang L, et al. Progress on pharmacology and mechanism of Chansu with the active components [J]. *Acta Acad Med CPAPF* (武警医学院学报), 2003, 12(5): 406-408.
- [6] Zhang M. The optimum extraction technology of *Venenum bufonis* in venenum bufonis analgesic plaster [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2003, 14, (12): 744-745.
- [7] Su Y H, Huang X Q, Zhang D Z, et al. HPLC Separation and determination of bufadienolide in cinobu-facini injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(1): 24-27.
- [8] Peng J, Guo X M, Zhou Y R, et al. Determination of bufogenin in Liushen Pills by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析), 1996, 16(2): 117-118.
- [9] Jiang W J, Peng Y Z, Xu R L. Determination of cinobufagin and resibufogenin in Shexiangbaixin Pill by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(12): 924-926.
- [10] Zhang L, Bai X, Qi G, et al. RP-HPLC Determination of bufalin in rat serum [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析), 2004, 24(5): 523-525.

纳米化对三七中有效成分溶出的影响

苏艳丽¹, 傅正义^{1*}, 马培艳^{1,2}, 马晶晶¹, 王为民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 研究三七纳米化前后显微结构及其有效成分的变化。方法 采用高速离心剪切式超细粉碎仪对三七进行纳米化粉碎,通过光散射粒度分析仪进行粒度分析、扫描电镜、透射电镜观察其显微结构,采用 HPLC 法测定了纳米化对人参皂苷 Rb₁ 的影响。结果 随着主轴转速的增大和粉碎时间的延长,三七粉碎颗粒尺寸呈逐渐减小趋势,在主轴转速 1 500 r/min,固体比例 5.5%,粉碎时间 50 min 时,三七颗粒平均尺寸达到 133.5 nm;三七纳米化后人参皂苷 Rb₁ 的溶出率有较大提高,与原粉相比提高了 59.7%。结论 高速离心剪切式超细粉碎仪可以对根茎类中药进行超细粉碎,纳米化后可促进中药有效成分的溶出。

关键词:三七; 纳米粉碎; 人参皂苷 Rb₁; 高效液相色谱

中图分类号: R284.2; R286.06

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)02-0202-03

Effect of nano-grinding on dissolving-out ratio of active constituents from *Panax notoginseng*

SU Yan-li¹, FU Zheng-yi¹, MA Pei-yan^{1,2}, MA Jing-jing¹, WANG Wei-min¹

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

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; nano-grinding; ginsenoside Rb₁; HPLC

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根,具有活血化瘀、散瘀定痛等功效,用于治疗心血管疾病。中药产生的药理效应不能唯一地归功于该药特有的化学组成,还与药物的物理状态密切相关。当颗粒尺寸小到一定程度时,药效可能会发生突变。据此提出了纳米中药的概念。目前,获得纳米中药的方法为高能球磨法^[1~4]和超音速射流喷雾干燥法^[5,6]。本实验采用高速离心剪切技术研究了三七纳米化,并观察了粉碎前后三

七颗粒显微结构的变化,采用 HPLC 法考察了三七纳米化对其有效成分人参皂苷 Rb₁ 的影响。

1 仪器与试剂

Micros-0 高速离心剪切式超细粉碎仪(日本奈良机械制作所); Zeta PALS 光散射粒度分析仪(美国 Brookhaven 公司); JSM-5610LV 型扫描电子显微镜、JEM-2000FX II 分析型透射电镜(日本电子株式会社); Agilent 1110 高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技公司)。

收稿日期: 2006-04-29

基金项目: 国家自然科学基金资助(50272047, 50220106657)

作者简介: 苏艳丽(1979—),女,湖北荆州人,博士,主要从事中药纳米化的研究。 Tel: (027)87865484 E-mail: susiay@sohu.com

* 通讯作者 傅正义 Tel: (027)87865484 E-mail: zyfu@public.wh.hb.cn

三七粉购于武汉刘有余药堂,产地为云南,经湖北省中医药研究院中药研究中心鉴定为三七 *P. notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根。甲醇、无水乙醚、正丁醇(分析纯);乙腈(色谱纯,Merck 公司);人参皂苷 Rb_1 对照品购于中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 三七纳米粒的制备:将三七原粉(过 80 目筛)与蒸馏水按照一定比例投入到粉碎仪装料罐中,利用高速离心剪切式超细粉碎仪获得三七纳米粒。

2.2 影响三七纳米化的因素分析:在粉碎过程中,粉碎环产生自转同时伴随主轴公转,施加给浆液强大的离心力和剪切力,原料粒子在短时间内被粉碎成亚微米范围的超细颗粒。粉碎过程中,主轴转速、固体比例和粉碎时间都直接影响着粉碎后三七颗粒的大小。

固定三七固体比例(质量体积比为 5.0%)和粉碎时间(40 min),粉碎颗粒平均尺寸随主轴转速变化的关系见图 1。在粉碎过程中,如果固体比例过低(质量体积比小于 4.0%),各零件与粉体接触部分磨损比较严重,减少仪器使用寿命;如果固体比例较高(质量体积比大于 8%),在粉碎过程中溶液黏度会随之增大,不利于三七的纳米化,并将为粒度测试带来困难。由图 1 可见,随着主轴转速的增大,颗粒平均尺寸越来越小,这是因为主轴转速越高,施加在原料粒子上的剪切力和压缩力越大,越可以在短时间内获得超微级的粉碎效果。

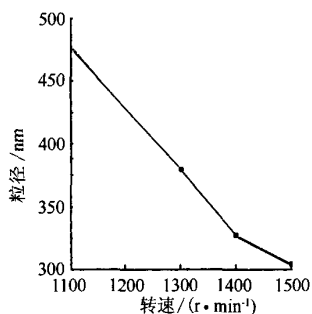


图 1 颗粒尺寸随主轴转速的变化

Fig. 1 Particle size varying with different rotating speed of principal axis

主轴转速为 1 500 r/min,改变固体比例得出的粉碎颗粒平均粒径与粉碎时间的关系见图 2。可以看出,随粉碎时间的延长,颗粒平均尺寸呈逐渐减小趋势;固体比例越高,粉碎达到相同粒径所需的时间越短,这可能是因为固体比例越大,颗粒之间距离越小,粉碎环的剪切力可以直接集中在更多的颗粒上,从而在短时间

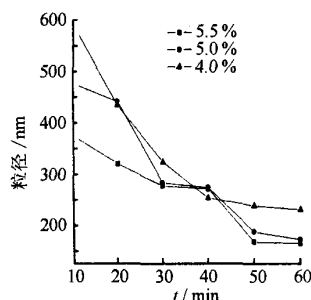


图 2 颗粒平均尺寸随粉碎时间的变化

Fig. 2 Mean particle size varying with grinding time 内得到粒径较小的粒子。在主轴转速 1 500 r/min,固体比例 5.5%,粉碎时间 50 min 时,通过光散射粒度分析仪测得粉碎颗粒平均尺寸为 133.5 nm。

2.3 颗粒显微结构表征:三七粉碎前后颗粒的显微形貌特征见图 3。可以看出,三七原粉粒径较大,大小不均,尺寸为 10~40 μm ,形状极不规则。用铜网置取经过超声分散的三七纳米悬浮液烘干后置于透射电镜下观察,可见粉碎后三七颗粒形状发生改变,大多呈球形颗粒分布,颗粒大小在 100~200 nm,分散性较好。

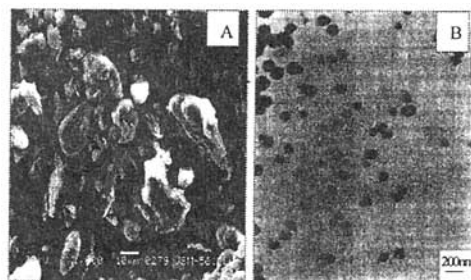


图 3 三七颗粒粉碎前(A)和粉碎后(B)的显微结构

Fig. 3 Electron micrographs of *P. notoginseng* before (A) and after (B) ground

2.4 人参皂苷 Rb_1 的 HPLC-DAD 测定^[7,8]

2.4.1 色谱条件:色谱柱为 Agilent SB C₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(40:60);体积流量为 0.8 mL/min;DAD 检测器;检测波长为 203 nm;柱温为室温;每次进样量为 20 μL 。

2.4.2 供试品溶液制备:精确称取三七原粉 1.0 g,加入 50 mL 甲醇超声处理 2 h,滤过,将滤液水浴蒸干,残渣加少量水溶解,水溶液用 20 mL 无水乙醚脱脂两次,每次 10 mL,取水层,然后用 40 mL 水饱和和正丁醇萃取 4 次,每次 10 mL,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣用适量甲醇溶解,过 0.2 μm 滤膜后置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容,摇匀,即得原粉供试品溶液。

精确称取不同转速下的三七纳米悬浮液 18.2 g (固体比例以质量体积比计为 5.5%), 同原粉供试品溶液的制备操作, 得纳米供试品溶液。

2.4.3 对照品溶液制备: 精确称取 1.2 mg 人参皂苷 Rb_1 对照品置于 10 mL 量瓶中, 加入流动相溶解后稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.4.4 样品测定: 分别吸取人参皂苷 Rb_1 对照品溶液、三七原粉和纳米粉供试品溶液各 20 μ L, 进样, 测定峰面积, 每一个样分别进样 3 次后取其平均值, 根据外标法计算人参皂苷 Rb_1 的质量分数, 结果见表 1, 色谱图见图 4。可见与三七原粉相比, 在相同的提取时间内, 三七经过纳米化后, 有效成分人参皂苷 Rb_1 的溶出率有了明显提高, 并且随着主轴转速的增大, 三七颗粒粒度逐渐变小, 使其表面积增加, 液-固界面增加, 溶出率逐渐提高, 在转速为 1 500 r/min 时, 人参皂苷 Rb_1 的溶出率比原粉提高了 59.7%。在一定的粒度范围内, 有效成分的溶出主要取决于与溶剂液体直接接触的颗粒表面积的大小, 颗粒越细, 越有利于有效成分的溶出, 但由于在这个粒度范围内的药物粉体的组织细胞未发生破坏, 其常由数个或数十个完整细胞组成, 有效成分需在细胞壁内外存在一定浓度差的前提下, 穿越几个或数十个细胞壁及细胞膜通过扩散方可释放出来。同时受溶出性能等因素影响, 有效成分释放缓慢, 溶出速率小, 在限定时间内有效成分不可能充分溶出。植物细胞是由细胞壁、细胞膜、细胞质、细胞核等组成, 对植物类中药而言, 其有效成分存在于细胞内, 经过超细粉碎后, 三七药物的显微组织结构被破坏, 细胞破壁, 细胞内的有效成分充分暴露出来, 表现为充分释放状态: 其溶出量及溶出速率大幅提高, 并且溶出趋于完全。

表 1 三七原粉和三七纳米粉相关指标的比较 ($n=3$)

Table 1 Comparison of relative indexes of *P. notoginseng* raw powder and nano particle ($n=3$)

组别	转速/($r \cdot \min^{-1}$)	人参皂苷 Rb_1 /($mg \cdot g^{-1}$)	溶出率/%
三七原粉	—	22.34	2.23
	1 200	28.20	2.82
三七纳米粉	1400	31.18	3.12
	1 500	35.68	3.57

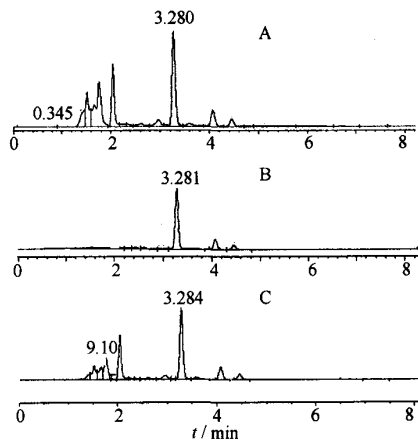


图 4 人参皂苷 Rb_1 对照品 (A)、三七颗粒粉碎前 (B) 以及 1 200 r/min (C) 粉碎后的 HPLC 图

Fig. 4 HPLC Chromatograms of ginsenoside Rb_1 reference substance (A), raw powder (B), and being ground of nano particle by 1 200 r/min (C)

3 结论

利用高速离心剪切式技术可以对中药的根茎类进行超细粉碎。本实验在合适的工艺条件下, 制备出三七纳米粒, 粉碎颗粒平均尺寸达到 133.5 nm, 且粉碎后植物细胞壁和细胞膜破碎, 有效成分可直接溶出, 溶出率与原粉相比提高了 59.7%。

References:

- [1] Xie C S, Yang X L, Xu H B. Preparation of nano reagler [P]. CN: 00116045. 1, 2000-09-25.
- [2] Xie C S, Yang X L, Xu H B. Preparation of nano mussel mineral traditional Chinese medicine [P]. CN: 01133643. 9, 2001-11-07.
- [3] Yang X L, Xu H B, Xie C S, et al. Preparation of nano *Concha Haliotidis* [P]. CN: 01106679. 2, 2001-04-30.
- [4] Yang X L, Xu H B, Xie C S, et al. Preparation of nano calamine and its purpose [P]. CN: 02115940. 8, 2002-06-06.
- [5] Yang M J. Preparation of nano Chaihu drug [P]. CN: 01102137. 3, 2001-01-20.
- [6] Yang M J. Preparation of nano compound *Rhubarb* drug [P]. CN: 01102549. 2, 2001-02-01.
- [7] Xu Q F, Fang, X L, Chen D F. Pharmacokinetics and bioavailability of ginsenoside Rb_1 and Rg_1 from *Panax notoginseng* in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84: 187-192.
- [8] Lau A J, Woo S O, Koh H L. Analysis of saponins in raw and steamed *Panax notoginseng* using high performance liquid chromatography with diode array detection [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1011: 77-87.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明: 论文内容真实, 作者排名无争议, 无一稿两投, 无泄密)。
2. 创新性论文优先发表, 新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费, 但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和 E-mail)。