

表1 样品中各有效成分的测定结果(n=3)

Table 1 Analysis results of samples (n=3)

样品	收购地(批次)	芍药内酯苷/%	芍药苷/%	苯甲酰芍药苷/%
1	浙江磐安新渥镇上葛南坡(药材)	0.306	1.991	0.177
2	浙江磐安大盘镇学田(药材)	0.211	2.043	0.165
3	浙江磐安冷水镇岩潭(药材)	0.250	2.489	0.181
4	浙江磐安新渥镇上葛北坡(药材)	0.378	2.276	0.299
5	浙江磐安新渥镇祠下(药材)	0.241	2.379	0.117
6	浙江杭州武林药店(生白芍饮片)	0.618	0.510	0.083
7	浙江杭州张同泰药店(生白芍饮片)	0.992	0.734	0.080
8	浙江杭州天天好大药房(生白芍饮片)	0.773	0.607	0.069
9	浙江磐安(炒白芍饮片, 040814)	0.579	0.312	0.051
10	浙江磐安(炒白芍饮片, 050621)	0.504	1.004	0.067
11	浙江磐安(炒白芍饮片, 060224)	0.557	0.475	0.057

成分的峰形也得到了优化, 最终选择水-乙腈-磷酸体系为流动相体系。

在所测样品中, 杭白芍饮片中芍药苷和苯甲酰芍药苷的量均明显低于杭白芍药材。以往研究亦有报道芍药中芍药苷在炮制后的量均有所下降^[3], 通过比较杭白芍药材与饮片的HPLC图谱, 发现饮片中出现一新成分(峰4)。通过进一步质谱分析, 该化

合物相对分子质量 m/z 544, 通过多级质谱研究其与芍药苷裂解规律, 推测该化合物为芍药苷4位羟基与 SO_2 结合形成的人工产物芍药苷磺酸酯(paeoniflorin sulfonate)^[4], 苯甲酰芍药苷与芍药苷有相似的母核, 也生成相应的磺酸酯导致其量下降。测定结果表明饮片中的芍药苷的量未能达到《中国药典》2005年版一部的要求, 而芍药苷磺酸酯的量较高, 按照《中国药典》2005年版一部规定, 生白芍的炮制工艺: 洗净, 润透, 切薄片, 干燥; 炒白芍: 取白芍净片清炒至微黄, 根据上述研究, 推测白芍在炮制过程中可能采用硫磺熏制, 从而导致芍药苷的量下降。

参考文献

- [1] 周强, 栗占国. 白芍总苷的药理作用及其在自身免疫性疾病中的应用[J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(11): 687-691.
- [2] 王巧, 刘荣霞, 毕开顺, 等. HPLC法测定白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷[J]. 中草药, 2005, 36(11): 1630-1632.
- [3] 张家富, 孟楣, 邢安之. HPLC法测定白芍不同饮片中芍药苷的含量[J]. 安徽医药, 2005, 9(8): 588-589.
- [4] Hayes P Y, Lehmann R, Penman K. Sodium paeoniflorin sulfonate, a process derived artifact from paeoniflorin [J]. Tetrahedron Letters, 2005, 46: 2615-2618.

超微冻干人参的粉体特征、皂苷测定及功效研究

赵伯涛¹, 钱 骅¹, 徐德然², 张卫明¹, 戴 岳², 黄晓德^{1*}

(1. 南京野生植物综合利用研究院, 江苏 南京 210042; 2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210038)

摘要: 目的 研究超微粉碎对冻干人参粉体特征、皂苷的量及功效影响。方法 采用电子显微镜扫描、HPLC分析、动物试验对超微粉碎冻干人参粉进行粉体特征观察、皂苷溶出量测定和抗应激能力比较。结果 超微粉碎使冻干人参细胞壁破碎, 皂苷溶出量提高, 小鼠耐缺氧和低温游泳时间显著延长。结论 超微粉碎可提高冻干人参功效。

关键词: 人参; 冻干; 超微粉碎; 粉体特征; 皂苷溶出; 耐缺氧

中图分类号: R 286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)03-0380-03

人参是我国传统滋补中药。冻干加工的人参其热敏性成分丙二酸单酰基皂苷损失很少, 传统经热处理加工的人参(如红参等)中丙二酸单酰基皂苷成分大部分降解; 人参冻干加工可保留鲜人参中绝大部分的活性成分, 药性与鲜人参相同, 偏凉平和, 适合大部分人群应用^[1]。冻干人参抗疲劳作用显著^[2]。超微粉碎技术是近年来发展起来的一种粉碎新技术, 在中药加工上的应用研究日趋增多, 取得了良好的效果。由于超微粉碎使颗粒微细化导致表面积和

孔隙率增加, 细胞破壁, 活性成分溶出速率和含量提高, 因而能加强生物活性。对冻干人参进行超微粉碎加工, 在保持成分稳定和药性平和基础上, 可提高人参的生物利用度、减少用药量、使活性作用增强。本实验研究了冻干人参超微粉碎对粉体特征、皂苷成分和小鼠抗应激能力的影响。

1 仪器与材料

GQU S-300型气流粉碎机, Agilent 1100高效液相色谱系统, G1312A泵, G1313A自动进样器,

* 收稿日期: 2007-05-08
基金项目: 科技部成果转化项目(05EFN2172200440)

G1315B 二极管阵列检测器, G1316A 柱温箱; Agilent Rev.A . 0901 化学工作站, JSM —5610LV 型扫描电子显微镜。

人参皂苷R_e、R_{b1}、R_{b2}、R_d、丙二酸单酰基R_{b1} 对照品由吉林农业大学郑毅男教授提供, 质量分数>99%; 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水。冻干人参由本课题用吉林长白参隆集团提供鲜人参制备。

雄性ICR 小鼠由中国药科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK (苏) 2002-0011。

2 方法与结果

2.1 粉体的制备: 取冻干人参粗粉, 然后采用气流粉碎, 得冻干超微粉。气流粉碎条件: 进料粒度≥80 目, 进气工作压力0.8 MPa, 空气耗量6 m³/min。其中粉碎1 次, 得率为98%。

2.2 粉末特征观察: 分别取2 种中药的细粉和超微粉适量, 铺于电镜铜台上, 喷金镀膜后置电镜下观察、摄影、测量、描绘, 结果见图1。可见用常规方法粉碎的颗粒较大, 形状不规则, 粒径不均匀, 可以看到原药材的粉末特征; 超微粉碎粒度明显变小, 且大小均匀, 已很难观察到明显的原药材特征。颗粒由几个、十几个、甚至更多的细胞组成, 偶尔见个别细胞壁破裂。超微粉在电子显微镜下看到绝大多数是细胞碎片, 仅有极个别完整的细胞存在。传统的中药粉碎一般颗粒大小约100 μm, 而超微粉碎则粉碎到几个微米。中药经过超微粉碎后, 除了植物的细胞壁破碎外, 颗粒的表面积增大了, 其分散性、吸附能力、表面活性等都起了综合性变化。表明利用气流粉碎对冻干人参进行超微粉碎后, 在电子显微镜下观察大多数细胞都已破壁, 且粒度均匀。

2.3 人参皂苷的比较

2.3.1 人参皂苷对照品溶液的配制: 人参皂苷对照品R_e 6.26 mg、R_{b1} 5.38 mg、R_{b2} 5.31 mg、R_d 5.65 mg, 分别用甲醇定容到5 mL, 取1 mL 配制好的母液, 置于10 mL 量瓶中, 再加入甲醇定容至刻度; 精密称取丙二酸单酰基R_{b1} 2.13 mg 于10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容到刻度, 即得不同对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的配制: 精密称取人参冻干普通粉和超微粉各1.5 g, 分别倒入50 mL 三角瓶中, 加入10 mL 甲醇, 精密称重, 超声提取20 min, 然后静置, 滤过, 即得。

2.3.3 色谱条件: 色谱柱为Merk LichroCART RP C₁₈ (250 mm ×4.6 mm), 流动相: 0.04% 磷酸(A) - 乙腈(B), 梯度洗脱: 0~20 min, 20%B; 20~30 min, 20%~32%B; 30~60 min, 32%~33%B; 60~80

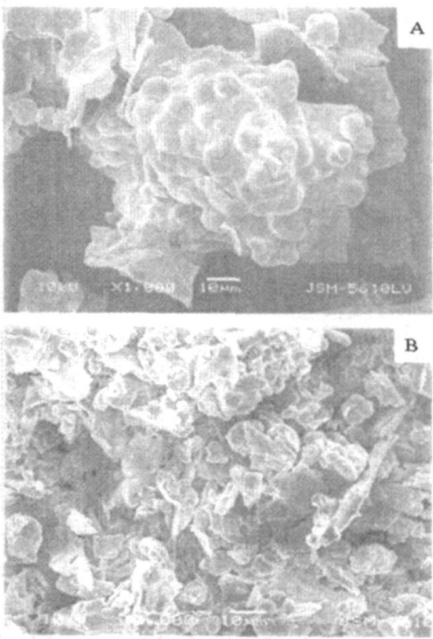


图1 冻干人参普通粉(A)和超微粉(B)的电镜照片
Fig. 1 Scanning electron microscopic observation of common powdered samples (A) and ultra-fine powdered samples (B)

min, 33%~42%B, 柱温: 30 °C, 检测波长: 203 nm。

2.3.4 冻干人参不同粉碎处理的人参皂苷溶出的比较: 取供试品溶液和对照品溶液各适量, 进样测定, 采用外标法计算样品中各对应成分的量, 结果见图2 和表1。冻干人参经超微粉碎后, 人参皂苷溶出量明显增加, 表明人参超微粉碎后, 细胞破碎, 细胞内含有的有效成分充分暴露, 能够释放出来使其量增加。

表1 不同粉碎冻干人参粉中皂苷的测定

Table 1 Content of ginsenosides in ultra-fine powdered and common powdered samples

样 品	丙二酸单				
	人参皂苷	人参皂苷	酰基人	人参皂苷	人参皂苷
	Re/%	Rb1/%	参皂苷	Rb2/%	Rd/%
			Rb1/%		
冻干超微粉	0.432	0.685	0.634	1.099	0.085
冻干普通粉	0.131	0.340	0.332	0.519	0.040

2.4 小鼠耐缺氧试验: 雄性ICR 小鼠70 只, 体重18~22 g, 随机分为7 组, 每组10 只, 分别为空白对照组(蒸馏水20 mL/kg), 普通粉低、中、高剂量(1.5、3、6 g/kg)组, 超微粉低、中、高剂量(0.75、1.5、3 g/kg)组。ig 给药, 每日1 次, 连续7 d。末次给药后1 h, 将小鼠置于装有20 g 钠石灰的250 mL 广口瓶中, 5 min 后密闭瓶盖, 记录小鼠存活时间, 结果见表2。可见人参普通粉3、6 g/kg和超细粉

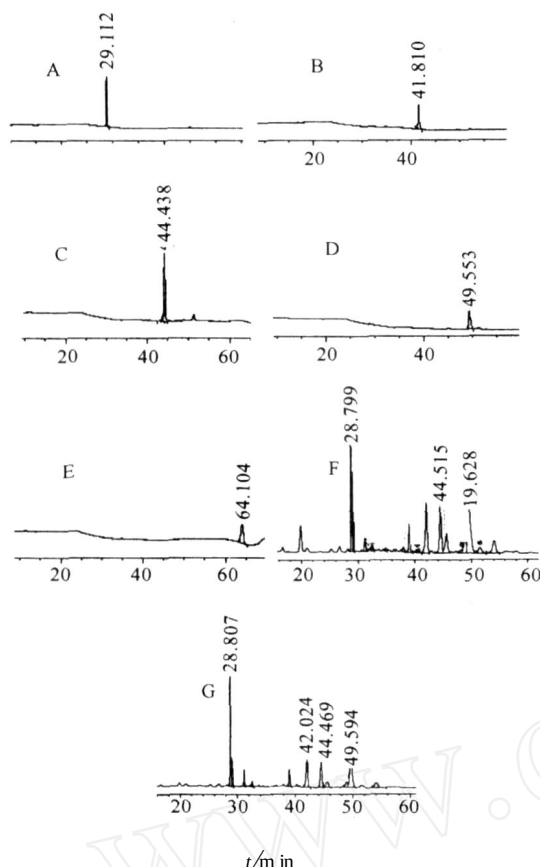


图2 人参皂苷对照品Re(A)、Rb₁(B)、丙二酸单酰基Rb₁(C)、Rb₂(D)、Rd(E)、冻干人参超微粉(F)、冻干人参普通粉(G)的HPLC图谱

Fig. 2 HPLC Chromatogram of Re (A), Rb₁(B), malonyl-ginsenoside Rb₁(C), Rb₂(D), Rd (E) reference substance, ultra-fine powdered (F), and common powdered samples (G)

表2 不同粉碎冻干人参粉对小鼠耐缺氧的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 2 Effect of ultra-fine powdered or common powdered samples on hypoxia tolerance of mice ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	耐缺氧存活时间/min	提高率/%
对照组	—	27.8 ± 3.8	—
普通粉	1.5	31.7 ± 4.9	14.0
	3	32.1 ± 3.1*	15.5
	6	35.5 ± 3.7**	27.7
超微粉	0.75	31.6 ± 3.4*	13.7
	1.5	32.5 ± 5.1*	16.9
	3	34.6 ± 4.4**	24.5

与对照组比较: *P < 0.05 **P < 0.01

*P < 0.05 **P < 0.01 vs control group

0.75、1.5、3 g/kg ig 给药7 d, 明显延长小鼠耐缺氧存活时间, 超微粉的作用强于等剂量的普通粉。

2.5 小鼠低温游泳试验: 雄性ICR小鼠70只, 体重18~22 g, 随机分为7组, 每组10只, 分别为空白对照组(蒸馏水20 mL/kg)、普通粉低、中、高剂量(1.5、3、6 g/kg)组、超微粉低、中、高剂量(0.75、1.5、3 g/kg)组。ig 给药, 每日1次, 连续7 d。末次给药后1 h, 将小鼠负重(体重的5%), 置于水深40 cm, 水温(15 ± 0.5) °C的水槽内, 记录小鼠低温游泳存活时间, 结果见表3。可见人参普通粉3、6 g/kg和超微粉1.5、3 g/kg ig 给药7 d, 明显提高小鼠低温游泳时间, 超微粉的作用强于等剂量的普通粉。

表3 不同粉碎冻干人参粉对小鼠低温游泳的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 3 Effect of ultra-fine powdered or common powdered samples on hypoxia tolerance of mice ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	游泳时间/min	提高率/%
对照组	—	10.9 ± 2.2	—
普通粉	1.5	11.3 ± 3.2	3.7
	3	14.7 ± 4.0*	34.9
	6	15.8 ± 2.9**	45.0
超微粉	0.75	11.5 ± 2.3	5.5
	1.5	14.8 ± 3.3*	35.8
	3	15.2 ± 3.1**	39.4

与对照组比较: *P < 0.05 **P < 0.01

*P < 0.05 **P < 0.01 vs control group

3 讨论

丙二酸单酰基人参皂苷是鲜人参中的特有成分, 在传统经过热处理人参加工中, 其受热极易分解, 脱去丙二酸形成相应的苷, 而且经过高温加工的人参药性发生变化, 冻干加工可以保持鲜人参特有成分和药性。冻干人参超微粉碎后, 仍然含有较高量的丙二酸单酰基-Rb₁皂苷, 表明超微粉碎对不稳定成分没有影响; 超微粉碎使冻干人参细胞破壁, 皂苷溶出量提高, 说明人参细胞内含有一定的有效成分, 而且在细胞壁未破的情况下, 细胞内成分不易溶出。动物试验证明超微粉的功能作用强于相同剂量的普通粉。冻干后再超微粉碎对保持偏凉平和的药性和提高人参的功效有明显作用, 临床应用冻干人参超微粉可提高功效和减少用量。

参考文献

- [1] 李向高. 药材加工学[M]. 北京: 农业出版社, 1994.
- [2] 谢英彪, 赵伯涛, 张卫明. 冻干活性人参脆片临床应用报告[J]. 中华医林核心杂志, 2005, 7(1): 1-2.