

# 不同粒度续断饮片中 续断皂苷 VI 溶出速率及其雌激素样作用研究\*

张艳青,张春风,杨中林

(中国药科大学教育部现代中药重点实验室,南京 210038)

**[摘要]** 目的 研究不同粒度续断饮片中有效成分续断皂苷 VI 溶出速率及雌激素样作用。方法 采用高效液相色谱法分别测定续断粗粉、细粉和超微粉中续断皂苷 VI 的含量和溶出速率;采用小鼠子宫增重法测定子宫系数,研究不同粒度续断饮片的雌激素样作用。结果 续断超微粉饮片中续断皂苷 VI 溶出速度较快,且雌激素作用较强。结论 续断超微粉饮片疗效好,优于续断粗粉饮片和细粉饮片。

**[关键词]** 川续断;溶出速率;子宫系数

**[中图分类号]** R286;R927.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2009)11-1402-03

## Dissolution Property and Estrogenic Effects of Asperosaponin VI with Different Particle Sizes from *Radix Dipsaci*

ZHANG Yan-qing, ZHANG Chun-feng, YANG Zhong-lin (Key Lab of Modern Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

**ABSTRACT Objective** To study the dissolution property and estrogenic effects of asperosaponin VI from *Radix Dipsaci* with different sizes of particle. **Methods** The contents, dissolution quantity and rate of asperosaponin VI were determined by HPLC. The estrogenic actions of asperosaponin VI with coarse, fine and superfine powders were studied on mice. **Results** The superfine powder had a good dissolution rate and strong estrogenic effects. **Conclusion** The superfine powder is better than the others on estrogenic effects.

**KEY WORDS** *Radix Dipsaci*; Dissolution rate; Uterus coefficient

川续断为川续断科植物川续断 *Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T. M. Ai 的干燥根,具有补肝肾、强筋骨、续折伤之功效<sup>[1]</sup>。目前随着超微粉碎技术的广泛应用,通过将药材超微粉碎,有利于提高药材生物利用率,减少药材使用量<sup>[2]</sup>。笔者在本实验中通过比较不同粒度川续断饮片川续断皂苷 VI 溶出速率变化和其雌激素样作用,以确定川续断超微粉饮片在应用方面是否有优势。

### 1 仪器与试药

**1.1 仪器** RCZ-8A 智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂),LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津),HMB-701 型超微粉碎机(北京环亚天元机械技术有限公司),RT-02 小型高速粉碎机(浙江武义屹立工具有限公司),Zetasizer 300Hs<sub>s</sub> 激光粒子测定仪(英国, Malvern),电子读数分析天平(BS124S-Satorius),普通

手术器械。

**1.2 试药** 川续断饮片(购于亳州市永刚饮片有限公司),川续断粗粉饮片[过筛孔内径 0.600 ~ 2.000 mm(10 ~ 30 目)筛],川续断细粉饮片[过筛孔内径(75.0 ± 4.1) ~ (90.0 ± 4.6) μm(150 ~ 200 目)筛],川续断超微粉饮片(粒径 3.8 μm),川续断皂苷 VI(购自中国药品生物制品检定所),乙腈(色谱纯, Tedia),己烯雌酚片(上海信谊药业有限公司)。

**1.3 动物** 昆明种小鼠 50 只,雌性,出生后 21 d,体质量 10 ~ 13 g,购自扬州大学比较医学中心。实验过程室温保持(22 ± 1)℃,所有小鼠均自由饮水,摄食,动物购进后适应性喂养 3 d 后开始实验。

### 2 不同粒度川续断饮片溶出速率研究

**2.1 3 种川续断饮片中川续断皂苷 VI 含量测定** 分别取川续断粗粉饮片、细粉饮片和超微粉饮片各 3 份,按照《中华人民共和国药典》(2005 年版一部)<sup>[1]</sup>的测定方法测定其含量。结果显示,川续断粗粉饮片、极细粉饮片和超微粉饮片中川续断皂苷含量 VI 分别为 4.71%、4.73% 和 4.78%。

#### 2.2 不同粒度川续断饮片溶出速率的测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱: Heder<sup>TM</sup> ODS-2 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈:水(3 :

**[收稿日期]** 2009-01-11

**[基金项目]** \* 国家自然科学基金重点资助项目(基金编号:30730113)

**[作者简介]** 张艳青(1985 -),女,在读硕士,主要从事中药新药开发研究。E-mail: ganlanyezhyq@163.com。

**[通讯作者]** 杨中林,教授,博士生导师。电话:025 - 85322508。

7); 检测波长: 212 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量: 20 μL。

**2.2.2 线性关系考察** 取川续断皂苷 VI (干燥至恒重) 5.0 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 稀释至刻度, 其浓度为 1.0 mg · mL<sup>-1</sup>。分别取上述溶液 1.000, 0.500, 0.250, 0.125, 0.100 mL 置于 1 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 其浓度为 1.000, 0.500, 0.250, 0.125, 0.100 mg · mL<sup>-1</sup>。进样 20 μL, 以浓度为横坐标 (*X*), 峰面积为纵坐标 (*Y*), 作图, 求得回归方程为  $Y = 12\ 635\ 602X - 65\ 023$ ,  $r = 0.999\ 8$ 。结果表明川续断皂苷 VI 测定在 0.1 ~ 1.0 mg · mL<sup>-1</sup> 间线性关系良好。

**2.2.3 精密度实验** 取同一对照品溶液, 重复进样 6 次, 测得川续断皂苷 VI 峰面积  $RSD = 1.2\%$ 。

**2.2.4 稳定性实验** 取同一对照品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定峰面积。测得川续断皂苷 VI 峰面积  $RSD = 2.0\%$ , 表明溶液在 24 h 内稳定。

**2.2.5 重复性实验** 平行取 6 份川续断超微粉, 按“2.2.6”项下制备样品液 (40 min 时取样), 测定峰面积, 计算其百分含量。结果显示 6 份样品平均含量为 4.80%,  $RSD = 1.7\%$ 。

**2.2.6 溶出量的测定**<sup>[3]</sup> 溶出时间为 1 h 时, 分别取样 0.5 mL, 迅速过孔径 0.45 μm 滤膜, 按前述色谱条件进行测定。结果粗粉饮片、细粉饮片和超微粉饮片中川续断皂苷 VI 的溶出量分别为 (47.3 ± 0.8), (47.8 ± 0.6), (48.1 ± 0.5) mg · g<sup>-1</sup>。采用两样本间均数的 *t* 检验表明, 川续断粗粉饮片、细粉饮片和超微粉饮片均差异无显著性。

**2.2.7 溶出速率的测定** 分别于 1, 2, 3, 5, 10, 20, 40 min 时定位吸取 0.5 mL, 其余按“2.2.6”项下操作, 测得不同时间川续断皂苷 VI 的溶出量, 并计算各时间的累积溶出百分率 [累积溶出百分率 (%) = (溶出量/

1 h 溶出量) × 100%], 结果见表 1。由表 1 中数据可看出, 川续断超微粉饮片中川续断皂苷 VI 溶出较快, 且溶出率很快达到平衡, 与川续断粗粉饮片和细粉饮片比较, 其溶出速率差异有显著性。

### 3 不同粒度川续断饮片雌激素样作用比较

**3.1 药液的制备** 川续断药液 (含生药 2 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>): 分别精密称取川续断粗粉、细粉和超微粉各 5 g, 用 0.5% CMC-Na 溶液 25 mL 溶解, 制成浓度为 0.2 g · mL<sup>-1</sup> 混悬液; 阳性对照溶液: 取己烯雌酚片 1 片研成细粉, 用 0.5% CMC-Na 溶液制成浓度为 0.004 mg · mL<sup>-1</sup> 溶液。

**3.2 分组与给药** 将实验动物按体质量均衡和随机原则分为 5 组各 10 只: 正常对照组、阳性对照组以及 3 个药物组。正常对照组每天给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液, 阳性对照组每天灌胃己烯雌酚药液, 3 个药物组每天给予等体积药液, 给药体积均为 0.1 mL · (10 g)<sup>-1</sup>。灌服给药, 持续给药 6 d。

**3.3 观察指标与方法** 各组动物于最后一次给药后第 2 天称质量, 断颈处死后迅速剖开腹腔, 分离、剪下子宫称质量; 计算子宫系数 [子宫系数 (%) = 子宫湿质量/体质量 × 100%]。

**3.4 统计学方法** 应用 SPSS11.5 软件进行数据处理, 采用 *t* 检验进行统计学分析。

**3.5 结果** 结果见表 2。由表 2 结果可知, 阳性对照组雌激素样作用较明显, 与空白对照组比较, 差异有极显著性 ( $P < 0.01$ ); 川续断各给药组与空白对照组比较, 亦均差异有极显著性 (均  $P < 0.01$ ), 且川续断超微粉组的雌激素样作用强于粗粉和细粉组。

### 4 讨论

通过测定川续断粗粉、细粉及超微粉中川续断皂苷的含量, 结果显示三者差异无显著性, 表明川续断超

表 1 3 种川续断饮片川续断皂苷 VI 累积溶出率测定结果

% ,  $\bar{x} \pm s, n = 3$

饮片类型	1 min	2 min	3 min	5 min	10 min	20 min	40 min
粗粉	58.3 ± 1.2	65.2 ± 1.3	73.5 ± 1.8	83.3 ± 2.7	90.2 ± 1.1	93.8 ± 0.9	94.0 ± 1.6
细粉	68.5 ± 2.1	79.2 ± 1.3	86.5 ± 1.8	92.1 ± 2.7	96.5 ± 1.1	96.8 ± 0.9	96.9 ± 1.6
超微粉	87.3 ± 1.3	97.4 ± 2.4	98.2 ± 2.8	98.3 ± 1.9	98.5 ± 2.8	98.7 ± 1.3	98.7 ± 1.5

表 2 5 组性未成熟小鼠子宫系数测定结果

$\bar{x} \pm s$

组别	大鼠/ 只	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup> )	子宫湿质量/		子宫系数/ %
			体质量/ g	g	
川续断粗粉组	10	2	16.6 ± 1.0	0.015 5 ± 0.001 4	0.093 2 ± 0.003 5 <sup>*1</sup>
川续断细粉组	10	2	16.3 ± 1.0	0.016 4 ± 0.001 4	0.100 6 ± 0.053 1 <sup>*1</sup>
川续断超微粉组	10	2	16.3 ± 1.0	0.019 6 ± 0.001 4	0.120 5 ± 0.025 3 <sup>*1</sup>
阳性对照组	10	4 × 10 <sup>-5</sup>	16.9 ± 1.0	0.064 6 ± 0.021 0	0.382 3 ± 0.105 2 <sup>*1</sup>
正常对照组	10	-	16.2 ± 1.5	0.008 5 ± 0.001 0	0.052 3 ± 0.002 6

与正常对照组比较, <sup>\*1</sup> $P < 0.01$

微粉碎过程中川续断皂苷的成分未发生损失或改变;体外溶出试验结果表明,川续断超微粉溶出速率明显优于川续断粗粉和细粉,说明川续断超微粉可显著加快川续断皂苷溶出速率。

通过子宫增重实验观察川续断粗粉、细粉和超微粉的雌激素样作用,结果显示,三者均具有雌激素样作用,与空白对照组比较,差异有极显著性。同时川续断超微粉的雌激素样作用强于粗粉和细粉。

通过对不同粒度续断饮片川续断皂苷VI溶出速率及其雌激素样作用研究发现,川续断皂苷VI的溶出速率与其雌激素样作用有一定关系,超微粉饮片组的川续断皂苷VI溶出较快,其雌激素样作用较强,可能是因为超微粉饮片组的川续断皂苷VI在体内溶出较快,提高了其生物利用度,从而提高了药效。

超微粉碎技术能使动植物类药材的细胞破壁率达到90%,将川续断进行超微粉碎,使有效成分直接暴露出来,有利于有效成分的快速溶出,该技术可能为传

统中药饮片的适用带来巨大的变化<sup>[4]</sup>。笔者在本实验中把川续断中有效成分的溶出特性和药效指标相结合,通过比较川续断粗粉、细粉及超微粉中有效成分川续断皂苷的溶出度及雌激素样作用,结果表明川续断超微粉能够加快川续断皂苷的溶出,且增强其药效作用,说明川续断超微粉在实际运用中有一定优势。

[DOI] 10.3870/yydb.2009.11.004

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[Z]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 231.

[2] 陈力, 吴懿平. 微米中药及其制备技术[J]. 中草药, 2002, 33(10): 865-868.

[3] 丁志平, 孙毅坤, 乔延江. 不同粒径黄连粉体中小檗碱体外溶出研究[J]. 北京中医药大学学报, 2004, 27(3): 60-62.

[4] 杜晓敏, 刘璐, 何煜. 原生药材超细粉制剂的药效学研究[J]. 中草药, 1999, 30(9): 680.

## 地锦草提取物抗真菌作用及对红色毛癣菌角鲨烯环氧化酶的影响\*

古力娜·达吾提<sup>1</sup>, 斯拉甫·艾白<sup>2</sup>, 李治建<sup>2</sup>, 安惠霞<sup>3</sup>, 高莉<sup>2</sup>, 彭晓明<sup>2</sup>

(1. 新疆维吾尔自治区维吾尔医医院, 乌鲁木齐 830049; 2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 乌鲁木齐 830049; 3. 石河子大学药学院, 832000)

[摘要] 目的 对地锦草提取物(EHE)进行体外抗真菌实验,探讨其抗真菌作用机制。方法 采用美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的《产孢丝状真菌的液基稀释法抗真菌药物敏感性试验方案》(M38-A),测定地锦草提取物对82株临床常见真菌的最低抑菌浓度值(MIC);酶联免疫吸附试验(ELISA)研究其对红色毛癣菌角鲨烯环氧化酶的影响。结果 地锦草提取物对红色毛癣菌的平均MIC为446 μg·mL<sup>-1</sup>,石膏样毛癣菌值的平均MIC为652 μg·mL<sup>-1</sup>,紫色毛癣菌的平均MIC为1 024 μg·mL<sup>-1</sup>,许兰毛癣菌的平均MIC为896 μg·mL<sup>-1</sup>,疣状毛癣菌平均MIC为853 μg·mL<sup>-1</sup>,犬小孢子菌及4种念珠菌的平均MIC均>1 024 μg·mL<sup>-1</sup>;地锦草提取物256 μg·mL<sup>-1</sup>时,可显著降低红色毛癣菌中角鲨烯环氧化酶的活性(P<0.01)。结论 地锦草提取物有显著的抗真菌活性,对皮肤癣菌的敏感性比念珠菌高;其抗真菌机制可能与抑制角鲨烯环氧化酶的活性有关。

[关键词] 地锦草提取物;抗真菌;最低抑菌浓度;酶联免疫吸附试验;角鲨烯环氧化酶

[中图分类号] R286;R965 [文献标识码] A [文章编号] 1004-0781(2009)11-1404-04

### Antifungal Action of *Euphorbia Humifusa* Extracts and Effect on Squalene Epoxidase of *Trichophyton Rubrum*

GULNAR · Dawuti<sup>1</sup>, SILAFU · Aibai<sup>2</sup>, LI Zhi-jian<sup>2</sup>, AN Hui-xia<sup>3</sup>, GAO li<sup>2</sup>, PENG Xiao-ming<sup>2</sup> (1. *Uyгур Medicine of Xinjiang Uyгур Autonomous Region Hospital, Urumqi 830049, China*; 2. *Institute of Uyгур Medicine, Xinjiang Uyгур Autonomous Region, Urumqi 830049, China*; 3. *School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China*)

**ABSTRACT Objective** To study *in vitro* antifungal activity of *Euphorbia humifusa* extract (EHE), and its mechanism of action against *T. rubrum*. **Methods** The MICs of 82 strains of common clinical fungi treated by EHE were measured by the