

人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒的制备工艺¹⁾

柴艳敏 陈宁 张紫微 周婉梅 郑威

(哈尔滨商业大学, 哈尔滨, 150076)

摘要 以人参皂苷 R_{g_1} 为原料、羟丙基- β -环糊精为载体、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径为评价指标, 通过单因素试验、正交试验优化制备工艺, 制备人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒; 应用红外光谱、扫描电镜、X射线衍射、热质量分析、体外缓释试验, 对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒进行表征。结果表明: 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒的最优制备工艺—— $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 为 1 g : 20 mL, $m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 为 4 g : 1 g、反应温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间为 45 min; 制备的人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒平均粒径为 (405 ± 20) nm, 具有良好的水溶性和体外释放效果。

关键词 人参皂苷 R_{g_1} ; 羟丙基- β -环糊精; 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒; 制备工艺

分类号 R94; R97

Preparation Technology of Water-soluble Nanoparticles of Ginsenoside R_{g_1} // Chai Yanmin, Chen Ning, Zhang Ziwei, Zhou Wanmei, Zheng Wei (Harbin University of Commerce, Harbin 150076, P. R. China) // Journal of Northeast Forestry University, 2022, 50(2): 130–134.

Using ginsenoside R_{g_1} as raw material, hydroxypropyl- β -cyclodextrin as carrier, and ginsenoside R_{g_1} water-soluble nanoparticle size as evaluation index, the preparation process was optimized by single factor experiment and orthogonal experiment, and the water-soluble ginsenoside R_{g_1} was prepared. Nanoparticles; using infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, X-ray diffraction, thermal mass analysis, and in vitro sustained-release tests, the optimal preparation process for ginsenoside R_{g_1} water-soluble nanometer $m(\text{ginsenoside } R_{g_1}) : V(\text{water})$ is 1 g : 20 mL, $m(\text{hydroxypropyl-}\beta\text{-cyclodextrin}) : m(\text{ginsenoside } R_{g_1})$ is 4 g : 1 g, the reaction temperature is 25 $^{\circ}\text{C}$, and the reaction time is 45 min; the average particle size of the prepared ginsenoside R_{g_1} water-soluble nanoparticles is (405 ± 20) nm, and has good water solubility and in vitro release effect.

Keywords Ginsenoside R_{g_1} ; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin; Water-soluble Nanoparticles of Ginsenoside R_{g_1} ; Preparation process

人参是名贵药材, 主要含有人参皂苷、人参多糖等活性成分, 广泛用于多种疾病的治疗^[1]。人参皂苷 R_{g_1} 属四环三萜类皂苷, 具有抗氧化、抗衰老、提高免疫力、保护心血管系统和神经系统等多种药理作用^[2-7]。人参皂苷 R_{g_1} 应用的研究, 较多集中于改善认知功能障碍、学习记忆能力、抑制阿尔茨海默病 β -淀粉样蛋白 (A β) 沉积方面的研究。由于人参皂苷 R_{g_1} 具有多靶点、毒性低等优势, 可以降低活性氧 (ROS) 的过多积累, 保护神经元, 能有效抑制乙酰胆碱水解酶 (AChE) 活性的能力, 进而减少 β -淀粉样蛋白的产生, 提高阿尔茨海默症 (AD) 小鼠学习与记忆的能力, 发挥抗阿尔茨海默症的作用^[8-10]。人参皂苷 R_{g_1} 是一种包含亲脂性类固醇骨架和亲水性糖环的固醇类化合物, 水溶性欠佳、亲水性糖环易发生水解、稳定性差, 影响了其治疗效果。但是, 关于

人参皂苷 R_{g_1} 水溶性的纳米颗粒制备的研究较少。

羟丙基- β -环糊精 (HP- β -CD) 属环糊精衍生物, 内部筒状空腔结构, 具有水溶性好、安全性高等特点, 是优选的包合壁材, 作为药物辅料在药剂学方面已经有广泛的应用^[11]。为此, 本研究以人参皂苷 R_{g_1} 为原料、羟丙基- β -环糊精为载体、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径为评价指标, 通过单因素试验、正交试验优化制备工艺, 制备人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒; 应用红外光谱、扫描电镜、X射线衍射、热质量分析、体外缓释试验, 对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒进行表征; 旨在为人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒制备工艺参数的优选提供技术参考。

1 材料与方法

材料: 人参皂苷 R_{g_1} 标准品、人参皂苷 R_{g_1} (质量分数 > 90%)、羟丙基- β -环糊精 (质量分数 > 98%), 由上海源叶生物科技有限公司购入; 超纯水、无水乙醇。

仪器与设备: 紫外-可见分光光度计 UV-2600 (岛津仪器有限公司)、ZetaPALS 激光粒度仪 (美国布鲁克海文仪器公司)、IRAffinity-1 傅里叶变换红外色谱 (FTIR, 日本岛津公司)、1525 高效液相

1) 哈尔滨商业大学青年创新人才支持计划 (2019CX09)、黑龙江省博士后启动基金 (LBH-Q20103)。

第一作者简介: 柴艳敏, 女, 1972 年 4 月生, 哈尔滨商业大学药学院, 硕士研究生; 现工作于东北林业大学医院, 主管药师。E-mail: 13104513582@163.com。

通信作者: 郑威, 哈尔滨商业大学药学院, 副教授, E-mail: wei2013zheng@163.com。

收稿日期: 2021 年 10 月 12 日。

责任编辑: 张 玉。

色谱仪(HPLC, WATERS)、NETZ5CH 热质量分析仪(德国耐驰)。

人参皂苷 R_{g_1} 纳米颗粒制备方法:参照文献[12]精密称取一定量羟丙基- β -环糊精,加入一定体积的超纯水,60℃溶解后冷却至所需温度;另取一定质量的人参皂苷 R_{g_1} ,用适量的无水乙醇溶解,超声后用有机滤膜过滤,将人参皂苷 R_{g_1} 乙醇溶液缓慢滴加到羟丙基- β -环糊精溶液中,恒温下磁力搅拌一定时间,负压旋蒸除去乙醇,冷冻干燥,制得人参皂苷 R_{g_1} 纳米颗粒,室温保存备用。

单因素试验设计:以人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒的粒径为评价指标,分析 m (人参皂苷 R_{g_1}): V (水)、 m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})、反应温度、反应时间、搅拌速度对粒径的影响。

正交试验设计^[11]:在单因素试验基础上,以人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒的粒径为评价指标,采用正交试验设计($L_9(3^4)$)对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒制备工艺进行优化;各工艺参数设计3个梯度(见表1),每组进行3次平行试验。

表1 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒制备工艺参数遴选的梯度设计

梯度	R_{s-1}	R_m	反应时间/min
1	1 g : 10 mL	3 g : 1 g	30
2	1 g : 20 mL	4 g : 1 g	45
3	1 g : 30 mL	5 g : 1 g	60

注: R_{s-1} 为 m (人参皂苷 R_{g_1}): V (水), R_m 为 m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})。

人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒样品中人参皂苷 R_{g_1} 质量分数测定:借鉴文献[13]~[15],将标准储备液($1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)稀释成不同的质量浓度,采用1525高效液相色谱仪检测,检测波长为203 nm;色谱柱为 C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)、流动相为 V (乙腈): V (水)=1:4、流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、柱温30℃、进样量10 μL 、保留时间36 min。人参皂苷 R_{g_1} 回归方程为 $Y=3\times 10^6x-112\ 555$ ($R^2=0.999\ 7$, $n=8$),式中的 Y 为峰面积, x 为人参皂苷 R_{g_1} 质量浓度。通过人参皂苷 R_{g_1} 标准品的标准曲线及保留时间,计算出人参皂苷 R_{g_1} 在人参皂苷 R_{g_1} 颗粒中的质量分数。

羟丙基- β -环糊精对人参皂苷 R_{g_1} 包合效果检测方法:应用红外光谱、X射线衍射分析法进行羟丙基- β -环糊精对人参皂苷 R_{g_1} 包合效果检测。红外光谱检测的扫描波长范围为400~4 000 cm^{-1} ,分别称取200 mg 溴化钾样品、2.0 mg 人参皂苷 R_{g_1} 、2.0 mg 羟丙基- β -环糊精、2.0 mg 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒,混匀研磨压片进行检测,以溴化钾作空白

对照。在检测范围 $5^\circ\sim 90^\circ$ 、速度 $5^\circ\cdot\text{min}^{-1}$,将这3种样品放到具有转动探头的X射线衍射仪上(飞利浦,荷兰),进行分析。

人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒热稳定性分析方法:应用热质量分析方法分析人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒热稳定性。分别称取20~25 mg 人参皂苷 R_{g_1} 、羟丙基- β -环糊精、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒放在氧化铝坩埚,氮气气氛,加热温度从40~800℃,升温速率为 $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$;以空坩埚作为基线,对3种样品的热分解规律进行检测。

3种样品的表面形态观察方法:将人参皂苷 R_{g_1} 、羟丙基- β -环糊精、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒真空镀金后,通过电子显微镜(MX2600FE, Camscan, UK)扫描,观察3种样品的表面形态特征。

人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒体外释放量检测方法:借鉴文献[16],以浓度为 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸盐缓冲盐溶液为溶出介质,将人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒样品分别放置在透析袋中,分别在设定的时间取样,通过紫外光度计对样品溶液中人参皂苷 R_{g_1} 释放量进行检测分析。

2 结果与分析

2.1 各因素对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响

m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响:当其他因素固定(m (人参皂苷 R_{g_1}): V (水)为1 g:20 mL、反应温度25℃、反应时间45 min、搅拌速度1 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),不同 m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})时(1 g:1 g、2 g:1 g、3 g:1 g、4 g:1 g、5 g:1 g),人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为(1 019 \pm 37)、(622 \pm 25)、(496 \pm 23)、(401 \pm 21)、(406 \pm 22) nm;随着羟丙基- β -环糊精用量的增大,人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现先急剧降低,而当羟丙基- β -环糊精用量比超过4 g:1 g时,趋于平缓。因此,选择 m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})为4 g:1 g。

m (人参皂苷 R_{g_1}): V (水)对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响:当其他因素固定(m (羟丙基- β -环糊精): m (人参皂苷 R_{g_1})为4 g:1 g、反应温度25℃、反应时间45 min、搅拌速度1 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),不同 m (人参皂苷 R_{g_1}): V (水)时(1 g:5 mL、1 g:10 mL、1 g:20 mL、1 g:30 mL、1 g:40 mL),人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为

(867 ± 34)、(582 ± 23)、(399 ± 21)、(376 ± 22)、(385 ± 20) nm。随着 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 的增大, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现趋势为先急剧降低后趋于平缓; 当 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 高于 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 时, 降低幅度不大, 过大的 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 会使后续处理的能耗增加。因此, $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 确定为 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 。

反应温度对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响: 当其他因素固定($m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 为 $4 \text{ g} : 1 \text{ g}$ 、 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 为 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 、反应时间 45 min 、搅拌速度 $1200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 不同反应温度时(25 、 40 、 55 、 70 、 85 $^{\circ}\text{C}$), 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为(365 ± 20)、(376 ± 23)、(391 ± 21)、(382 ± 22)、(362 ± 21) nm。当反应温度在 $25\sim55$ $^{\circ}\text{C}$ 时, 随着温度升高, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现逐渐增加的趋势, 这主要是因为温度较高使其团聚; 当反应温度高于 55 $^{\circ}\text{C}$ 时, 随着温度的升高, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现逐渐降低的趋势, 这主要是因为高温使乙醇挥发, 有利于其形成; 但低温条件更有利于制备, 因此, 反应温度设置为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。

反应时间对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响: 当其他因素固定($m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 为 $4 \text{ g} : 1 \text{ g}$ 、 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 为 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 、反应温度 25 $^{\circ}\text{C}$ 、搅拌速度 $1200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 不同反应时间时(15 、 30 、 45 、 60 、 90 min), 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为(454 ± 21)、(416 ± 20)、(387 ± 22)、(643 ± 25)、(829 ± 31) nm。人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现先逐渐降低、后增加的趋势, 这主要是因为随着反应时间延长而使人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒团聚。因此, 反应时间选定为 45 min 。

搅拌速度对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响: 当其他因素固定($m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 为 $4 \text{ g} : 1 \text{ g}$ 、 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 为 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 、反应温度 25 $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 45 min), 不同搅拌速度时(400 、 800 、 1200 、 1600 、 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为(1724 ± 39)、(826 ± 33)、(397 ± 22)、(406 ± 21)、(421 ± 22) nm。随着搅拌速度的增加, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径呈现先急剧降低、后缓慢增加的趋势。这主要是因为充分的搅拌有利于纳米颗粒子形成和分散, 当搅拌速度过高时, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒团聚作用增加。因此, 最优搅拌速度为 $1200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

2.2 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒制备工艺参数遴选

本研究按照三因素三水平设计正交试验, 遴选人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒制备工艺参数。按照试验方案($L_9(3^4)$), 9 组试验结果的人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径分别为(786 ± 24)、(516 ± 27)、(559 ± 29)、(492 ± 22)、(441 ± 23)、(460 ± 26)、(588 ± 31)、(472 ± 32)、(410 ± 28) nm; 对试验结果进行极差分析(见表2)、方差分析(见表3)。由表2、表3可见: 3 个因素对人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径的影响, 由大到小依次为 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ (因素 A)、 $m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ (因素 B)、反应时间(因素 C); 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒最佳制备工艺为 $A_2B_2C_2$ ($m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 为 $1 \text{ g} : 20 \text{ mL}$ 、 $m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 为 $4 \text{ g} : 1 \text{ g}$ 、反应时间为 45 min)。在此条件下, 3 次平行验证试验获得平均粒径为(405 ± 20) nm、人参皂苷 R_{g_1} 平均包合率为(87.95 ± 3.41) %。

表2 正交试验结果的各因素不同梯度的均值及极差

极差	人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒粒径/nm		
	因素 A	因素 B	因素 C
均值 1	620.333	622.000	572.667
均值 2	464.333	476.333	472.667
均值 3	490.000	476.333	529.333
极差	156.000	145.667	100.000

注: 因素 A 为 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 、因素 B 为 $m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 、因素 C 为反应时间; 最佳工艺参数为 $A_2B_2C_2$ 。

表3 正交试验中各因素对试验结果影响的显著性

因素	平方和	自由度	F 值
A	41 981.556	2	18.886
B	42 437.556	2	19.091 *
C	15 088.889	2	6.788
误差	2 222.890	2	

注: 因素 A 为 $m(\text{人参皂苷 } R_{g_1}) : V(\text{水})$ 、因素 B 为 $m(\text{羟丙基-}\beta\text{-环糊精}) : m(\text{人参皂苷 } R_{g_1})$ 、因素 C 为反应时间。* 表示因素 B 影响显著($F \text{ 值} = 19.091 < F_{0.05}$)。

2.3 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒性能

由图1可见: 人参皂苷 R_{g_1} 原料为淡黄色块状粉末, 而人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米粉为均匀乳白色粉末。由扫描电子显微镜扫描结果(见图C)可见, 人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米粉呈不规则簇状, 表面形态为结构松散的短棒状纳米颗粒, 颗粒之间缝隙明显, 说明其具有较大的比表面积, 水溶解性能得到较明显提高。

人参皂苷 R_{g_1} 水溶性纳米颗粒的热稳定性: 物

质热解过程通常分为 3 个阶段^[17],差热质量分析法曲线的峰值表示该温度下样品的最大质量损失。人参皂苷 Rg₁ 原料、羟丙基-β-环糊精、人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒热质量分析表明:在 200~220 ℃ 处,人参皂苷 Rg₁ 有明显的低相对分子质量组分热解峰,并且在 300~390 ℃ 处还有较宽的高相对分子质量组分热解峰;而羟丙基-β-环糊精,在 350 ℃ 附近只有 1 个明显的高相对分子质量组分热解峰;人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉,不仅在 230 ℃ 附近有低相对分子质量组分热解峰,在 345 ℃ 附近还有 1 个明显的高相对分子质量组分热解峰;说明人参皂苷 Rg₁ 和羟丙基-β-环糊精,可以通过实验方法很好地形成人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉。

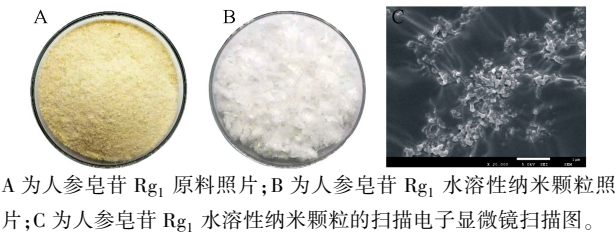


图 1 人参皂苷 Rg₁ 原料及人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒的表面形态特征

羟丙基-β-环糊精对人参皂苷 Rg₁ 的包合效果:①经人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉、原料及羟丙基-β-环糊精红外谱图分析,在 3 266 cm⁻¹处人参皂苷 Rg₁ 有较强的羟基伸缩振动吸收峰,羟丙基-β-环糊精也有此现象,而人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉的羟基伸缩振动吸收峰则明显减弱;这表明人参皂苷 Rg₁ 和羟丙基-β-环糊精之间,通过氢键缔合反应,形成稳定的人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉。在 2 982、2 853 cm⁻¹处为甲基和亚甲基振动吸收峰;在 1 692 cm⁻¹处为羰基(—C=O)伸缩振动峰;此外,位于 935 cm⁻¹处吸收峰,代表双键上的—CH 平面外变形振动。人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉的谱图和羟丙基-β-环糊精的吸收光谱相似,也说明羟丙基-β-环糊精对人参皂苷 Rg₁ 形成了很好的纳米包合作用。②羟丙基-β-环糊精、人参皂苷 Rg₁ 原料、人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒的 X 射线衍射实验结果表明,羟丙基-β-环糊精和人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉有 2 个相似的 X 射线衍射峰,分别在衍射角 11°、18°有衍射峰出现。人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉的峰型,没有羟丙基-β-环糊精的峰型尖锐,其中人参皂苷 Rg₁ 的特征峰消失,而人参皂苷 Rg₁ 在衍射角 17°左右有尖锐的衍射峰。这些都说明,羟丙基-β-环糊精对人参皂苷 Rg₁ 进行了很好的包合,形成结构均一的人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉。

人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒体外溶出性能:

依据 2020 年版《中国药典》测定溶出度。称取一定质量的人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒、人参皂苷 Rg₁,以 pH 为 6.8 的磷酸盐缓冲液为溶媒,配置释放溶液体系,溶液温度控制在(37.0±0.5)℃ 范围,转速为 100 r·min⁻¹,按照预定时间分别吸取这两种样品溶液 5.0 mL,并补充等体积新鲜的磷酸盐缓冲液到溶液体系,以便保持溶液总体积不变。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过后,参照高效液相色谱法测定峰面积,计算人参皂苷 Rg₁ 溶出度(见表 4)。由表 4 可见:人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒、人参皂苷 Rg₁ 在溶解 25 min 时的溶出率,分别达到了 90.88%、58.42%,具有显著差异性;表明人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒的溶出更迅速、水溶性更好、生物活性更佳。

表 4 人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米粉和人参皂苷 Rg₁ 原料体外溶出时效

溶出时间/min	人参皂苷 Rg ₁ 水溶性纳米粉溶出率/%	人参皂苷 Rg ₁ 原料溶出率/%
10	43.49	20.78
15	70.64	27.98
20	86.64	43.87
25	90.88	58.42
30	86.77	63.48
60	83.22	67.11
90	81.97	68.76
120	80.23	70.69

3 结论

本研究以人参皂苷 Rg₁ 为原料、羟丙基-β-环糊精为载体、人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒的粒径为评价指标,通过单因素试验、正交试验对人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒制备工艺进行优化,并获得最优制备工艺(*m*(人参皂苷 Rg₁):*V*(水)为 1 g:20 mL、*m*(羟丙基-β-环糊精):*m*(人参皂苷 Rg₁)为 4 g:1 g、反应温度为 25 ℃、反应时间为 45 min)。通过验证试验获得平均粒径为(405±20) nm 的人参皂苷 Rg₁ 水溶性纳米颗粒,具有良好的水溶性和体外释放能力。本研究为难溶性的人参皂苷开发和利用提供了基础数据和技术支撑,将为一些退行性神经疾病治疗药物的开发提供参考,也为人参皂苷 Rg₁ 广泛的应用前景提供支持。

参 考 文 献

[1] 孙立伟,李香艳,赵大庆.人参“大补元气”中医及生物学内涵研究[J].世界科学技术—医药现代化,2016,18(11):1969-1974.
[2] 张语迟,李赛男,刘春明,等.人参叶提取物的提取工艺及抗氧化活性评价研究[J].中华中医药学刊,2017,35(2):326-329.
[3] SUN J Z, ZHANG L H, ZHANG J, et al. Protective effects of ginsenoside Rg₁ on splenocytes and thymocytes in an aging rat model induced by D-galactose[J]. International Immunopharmacology,

- 2018, 58; 94–102. doi: 10.1016/j.intimp.2018.03.017.
- [4] WANG L, ZHAO H, ZHAI Z Z, et al. Protective effect and mechanism of ginsenoside Rg₁ in cerebral ischaemia-reperfusion injury in mice [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2018, 99: 876–882. doi: 10.1016/j.biopha.2018.01.136.
 - [5] 万芳, 杨万哲熙, 朱宏飞, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对心跳骤停后小鼠心肌细胞正五聚蛋白 3 表达的影响 [J]. *数理医药学杂志*, 2019, 32(10): 1423–1425.
 - [6] 冷雪, 臧安缘, 李其芳. 人参皂苷 Rg₁ 通过 PI3K/Akt/e NOS 信号通路调控异丙肾上腺素致急性心肌梗死大鼠心肌的抗氧化作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(11): 145–150.
 - [7] 雷勋明. 人参皂苷 Rg₁ 对新生鼠缺氧缺血性脑损伤海马神经元凋亡及学习记忆能力的影响 [J]. *中国中西医结合儿科学*, 2018, 10(4): 277–279.
 - [8] 李沐哲, 吴文辉, 吴之平, 等. 三七皂苷 Rg₁ 改善阿尔茨海默病大鼠空间认知能力及海马 tau 蛋白磷酸化 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2017, 46(3): 248–252.
 - [9] XU T Z, SHEN X Y, SUN L L, et al. Ginsenoside Rg₁ protects against H₂O₂-induced neuronal damage due to inhibition of the NLRP₁ inflammasome signalling pathway in hippocampal neurons in vitro [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 43(2): 717–726.
 - [10] SWOMLEY A M, BUTTERFIELD D A. Oxidative stress in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: evidence from human data provided by redox proteomics [J]. *Archives of Toxicology*, 2015, 89(10): 1669–1680.
 - [11] 张明明, 刘宇, 刘墨祥. 20(S)-原人参二醇-羟丙-β-环糊精包合物制备工艺优化研究 [J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2016, 37(1): 22–26.
 - [12] 张乃先, 艾莉, 董英杰, 等. 人参皂苷 Rg₃ 羟丙基-β-环糊精包合物的制备与表征 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2017, 34(12): 1033–1037.
 - [13] 黄晓燕, 罗时, 李瑞莲, 等. HPLC 法测定血络通胶囊中人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re 和人参皂苷 Rb₁ 的含量 [J]. *中国药师*, 2017, 20(12): 2248–2250.
 - [14] 付娟, 李家春, 张海霞, 等. HPLC-ELSD 法同时测定益心舒片中人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 的含量 [J]. *广东药学院学报*, 2015, 31(1): 62–65.
 - [15] 张泰, 袁萍, 茅仁刚, 等. RP-HPLC 同时测定西洋参总皂苷转化产物中人参皂苷 Rh₁、Rg₃ 和 Rh₂ 的含量 [J]. *中成药*, 2010, 32(6): 1059–1061.
 - [16] 刘其媛, 张振海, 金鑫, 等. 人参皂苷 Rg₃ 二元固体分散体的制备及体外特性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(24): 4298–4302.
 - [17] SÁNCHEZ-SILVA L, LOPEZ-GONZALEZ D, VILLASEÑOR J, et al. Thermogravimetric-mass spectrometric analysis of lignocellulosic and marine biomass pyrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 109: 163–172. doi: 10.1016/j.biortech.2012.01.001.
-
- (上接 120 页)
- [3] 祝晓蕊, 许开华, 王新芳, 等. 一种食线虫性真菌: 厚垣普可尼亚菌 (*Pochonia chlamydosporia*) ARSEF3539 生长特性的研究 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2017, 38(4): 1–4.
 - [4] 林润茂. 线虫生防菌厚垣普可尼亚菌的基因组学研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
 - [5] 祝明亮, 张克勤. 根结线虫生防菌 ZK7 和 IPC 在烟草根部定殖的显微观察 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2008, 36(7): 201–206.
 - [6] GAO L, LIU X Z, SUN M H, et al. Use of a novel two-stage cultivation method to determine the effects of environmental factors on the growth and sporulation of several biocontrol fungi [J]. *Mycoscience*, 2009, 50(4): 317–321.
 - [7] THAPA S, THAMSBORG S M, WANG R, et al. Effect of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on soil content of ascarid eggs and infection levels in exposed hens [J]. *Parasites & Vectors*, 2018, 11: 319. https://doi.org/10.1186/s13071-018-2898-1.
 - [8] BRAGA F R, ARAÚJO J V, CARVALHO R O, et al. Ovicidal action of a crude enzymatic extract of the fungus *Pochonia chlamydosporia* against cyathostomin eggs [J]. *Veterinary Parasitology*, 2010, 172(3/4): 264–268.
 - [9] PODESTÁ G S, AMORA D X, MAFFIA L A, et al. Effect of time between soil infestation with *Pochonia chlamydosporia* and planting on the efficacy of the fungus in managing *Meloidogyne javanica* [J]. *Crop Protection*, 2016, 90: 77–83.
 - [10] 聂福贵. 厚垣普可尼亚菌微胶囊的研制 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
 - [11] 沈宝明. 厚垣孢普可尼亚菌线虫卵寄生相关胞外蛋白酶功能研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
 - [12] 石妍, 肖顺, 刘国坤, 等. 两步培养法测定厚垣孢普可尼亚菌产孢的最佳条件 [J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(26): 16–19.
 - [13] 石妍. 厚垣孢普可尼亚菌 PC152 菌株生物学及制剂工艺研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2011.
 - [14] 张壤心, 梁英辉, 逯昕明, 等. 淡紫拟青霉 PT1 菌株液态发酵条件的筛选 [J]. *东北林业大学学报*, 2018, 46(5): 101–104.
 - [15] 陆洪省, 张雪, 高宇婷, 等. 哈茨木霉 SKD-ZX-1 的鉴定、发酵及其生防效果 [J]. *生物技术通报*, 2019, 35(11): 132–140.
 - [16] 陈海念, 冯蓉, 杨胜竹, 等. 1 株生防菌的鉴定及其发酵条件优化 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2020, 46(2): 177–188.
 - [17] XU L L, LI F, XIE H Y, et al. A novel method for promoting conidial production by a nematophagous fungus, *Pochonia chlamydosporia* AS6.8 [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2009, 25(11): 1989–1994.
 - [18] 池玉杰, 伊洪伟, 吉海龙. 长枝木霉菌株 T05 液态发酵产孢和菌丝生物量条件的筛选 [J]. *东北林业大学学报*, 2016, 44(1): 110–113.
 - [19] GAO L. Application of two-stage cultivation for exploring the nutritional requirements for sporulation of three biocontrol fungi [J]. *Biotechnology Research International*, 2015, 7. doi: 10.1155/2015/682839.
 - [20] GAO L, LIU X Z. Effects of carbon concentrations and carbon to nitrogen ratios on sporulation of two biological control fungi as determined by different culture methods [J]. *Mycopathologia*, 2010, 169(6): 475–481.
 - [21] 景芳, 张树武, 刘佳, 等. 长枝木霉 T6 生防菌剂发酵条件优化及其对辣椒立枯病的防治效果 [J]. *中国生物防治学报*, 2020, 36(1): 113–124.