

· 论著 ·

六种人参皂苷的制备及体外抗氧化活性研究

张馨妍¹, 洪新悦¹, 高连丛², 马莹慧¹, 韩柳^{1*}

(1. 吉林医药学院药学院, 吉林; 2. 吉林医药学院临床医学院, 吉林)

摘要:目的 从西洋参总皂苷中制备出 6 种人参皂苷, 并研究其体外抗氧化能力。方法 利用皂苷分组、高温碱降解、氧化环合等方法制备分离出六种人参皂苷, 通过试剂盒分别以总抗氧化能力, 羟自由基清除能力为检测指标, 设计浓度梯度, 以抗坏血酸 (VC) 为阳性对照, 对 6 种的人参皂苷的抗氧化能力进行评价。结果 制备出的 6 种皂苷分别为 (20S)-原人参二醇、(20S)-原人参三醇、(20S, 24R)-奥克梯隆、(20S, 24S)-奥克梯隆、(20S, 25R)-26-羟基二醇和 (20S, 25S)-26-羟基二醇, 其抗氧化能力有剂量效应, 浓度越大, 抗氧化能力与羟自由基清除能力越强。六种人参皂苷羟自由基清除能力 > 抗氧化能力。抗氧化能力的大小依次为 (20S)-原人参二醇 > (20S)-原人参三醇 > (20S, 25S)-26-羟基二醇 > (20S, 24R)-奥克梯隆 > (20S, 24S)-奥克梯隆 > (20S, 25R)-26-羟基二醇。结论 六种人参皂苷体外均具有一定的抗氧化活性, 为人参皂苷发挥药理作用及相关机制研究提供参考和借鉴。

关键词: 人参皂苷; 羟自由基清除能力; 抗氧化能力

中图分类号: R-33

文献标识码: A

DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.102.006

本文引用格式: 张馨妍, 洪新悦, 高连丛, 等. 六种人参皂苷的制备及体外抗氧化活性研究 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(102): 14-17.

Study on Preparation of six Ginseng Soaps and Their Antioxidant Activity in Vitro

ZHANG Xin-yan¹, HONG Xin-yue¹, GAO Lian-cong², MA Ying-hui¹, HAN Liu^{1*}

(1. Pharmaceutical College of Jilin Medical College, Jilin; 2. Clinical Medical College of Jilin Medical College, Jilin)

ABSTRACT: Objective To prepare six ginsenosides from total saponins of panax quinquefolium and to study their antioxidant activities in vitro. **Methods** Six kinds of ginsenosides were prepared by the methods of saponin grouping, high temperature alkali degradation and oxidative cyclization. The total antioxidant capacity and hydroxyl radical scavenging ability were taken as the detection indexes, and the concentration gradients were designed by the Kit. The antioxidant capacity of six ginsenosides was evaluated using ascorbic acid (VC) as positive control. **Results** The six ginsenosides were (20S)-Protopanaxadiol, (20S)-Protopanaxatriol, (20S, 24R)-Ocotillol, (20S, 24R)-Ocotillol, (20S, 25R)-26-Hydroxy-diol, (20S, 25S)-26-Hydroxy-diol. The antioxidant activity of the six ginsenosides was dose-dependent, and the higher the concentration was, the stronger the antioxidant ability and the hydroxyl radical scavenging ability. Six kinds of ginsenoside hydroxyl radical scavenging ability > antioxidant ability. The order of antioxidant capacity was (20S)- Protopanaxadiol > (20S)- Protopanaxatriol > (20S, 25R)-26-Hydroxy-diol > (20S, 24R)-Ocotillol > (20S, 24S)- Ocotillol > (20S, 25S)-26-Hydroxy-diol. **Conclusion** All of the six ginsenosides have antioxidant activity in vitro, which can be used for reference in the study of pharmacological action and related mechanism of ginsenosides.

KEY WORDS: Ginsenoside; Scavenging rate of hydroxyl radical; Resistance to oxidation

0 引言

人参属于五加科多年生草本植物, 具有补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、除邪气、明目开心益智之功效^[1]。现代医学研究发现, 人参的功效成分主要是人参皂苷和人参多糖。人参皂苷根据皂苷元的不同, 主要包括达玛烷型四环三萜 (包括原人参二醇型和原人参三醇型皂苷)、奥克梯隆型四环三萜和齐墩果酸型五环三萜^[2-4]。随着人参皂苷研究的不断深入, 目前人参皂苷的制备方法主要有酸水解法、碱水解法、酶解法、缩合法、氧化环合等。现代研究表明, 人参皂苷中的部分单体皂苷如 Rb1、Rb2、Rd、Re、Rg1、Rg2、Rh1 等可不同程度地减少体内自由基含量, 可延缓神经细胞衰老并降低老年发生的记忆损伤、以及发挥心脑血管和抗癌方面的药理作用。

本文利用碱降解和氧化环合两种方法的结合制备出了六种人参皂苷, (20S)-原人参二醇、(20S)-原人参三醇、(20S, 24R)-奥克梯隆、(20S, 24S)-奥克梯隆、(20S, 25R)-26-羟基二醇和 (20S, 25S)-26-羟基二醇, 并以总抗氧化能力, 羟自由基清除能力为检测指标, 设计浓度梯度, 以抗坏血酸 (VC) 为阳性对照, 对六种的人参皂苷的抗氧化能力进行评价。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

电热恒温水浴锅; 电子天平 (ESJ200-4B): 沈阳龙腾电子有限公司; 紫外可见分光光度计 (UV2800): 日本岛津; 移液枪: 大龙兴创实验仪器 (北京) 有限公司; 95% 乙醇; 西洋参总皂苷; 柱层析硅胶 (200-300 目): 青岛海洋化工有限公司; 硅胶 G 板: 青岛海洋化工有限公司; 1,2 丙二醇, 氢氧化

钠, 硫酸, 无水乙醇, 二氯甲烷, 甲醇, 乙酸乙酯, 石油醚, 盐酸, 二氧六环, 过氧间氯苯甲酸均为分析纯; 总抗氧化能力试剂盒 (货号: YX-C-A504): 上海优选生物科技有限公司; 羟自由基清除能力测定试剂盒 (货号: YX-C-A505): 上海优选生物科技有限公司; 双蒸水自制。

1.2 样品制备

西洋参总皂苷 200g 以 500mL 95% 乙醇加热溶解, 取氢氧化钠 20g 加入 32mL 水溶解, 待全部溶解后加入 2000mL 乙醇, 混匀 (醇钠溶液), 将醇钠溶液缓缓加入到总皂苷乙醇溶液中, 边加边搅拌, 放置过夜。沉淀部分为二醇组粗品, 转移至搪瓷盘中水浴加热蒸干, 滤液部分为三醇组粗品, 以盐酸调 pH 值 6.5-7.0, 回收乙醇, 蒸干, 得三醇组粗品。将二醇组粗品和三醇组粗品分别加入到反应釜中, 以 1,2 丙二醇为溶剂, 加入 375g NaOH, 并使釜内温度保持 170℃ 36h。反应结束后用适量自来水稀释, 沉淀析出, 放置过夜。抽滤, 滤液弃掉, 沉淀用水反复冲洗, 至 pH~7.0, 转移至搪瓷盘, 85℃ 干燥, 即得的原人参二醇和原人参三醇粗品, 分别经柱层析分离, 以二氯甲烷: 甲醇 (25:1) 为洗脱剂洗脱, 得 (20S)-原人参二醇 (PPD)、(20S)-原人参三醇 (PPT)。将 PPD 和 PPT 中分别加入 1,4-二氧六环中, 经浓硫酸调节 pH 值为 3-5, 在搅拌下逐滴加入氧化剂过氧间氯苯甲酸, 于 75℃ ~85℃ 加热回流 40 分钟, 冷却至室温, 用 0.1M 氢氧化钠水溶液调节 pH 值 7.0, 过滤并浓缩滤液。再以石油醚: 乙酸乙酯 (1.5:1) 为洗脱剂经柱层析分离、重结晶得纯品。经与文献中质谱和碳谱比对^[4-5], 该四种人参皂苷分别为 (20S, 25R)-26-羟基二醇简称 (25R)-HPD、(20S, 25S)-26-羟基二醇简称 (25S)-

HPD、(20S, 24R)- 奥克梯隆简称 (24R)-Ocotillol、(20S, 24S)-

奥克梯隆简称 (24S)-Ocotillol。6 种人参皂苷的制备见图 1。

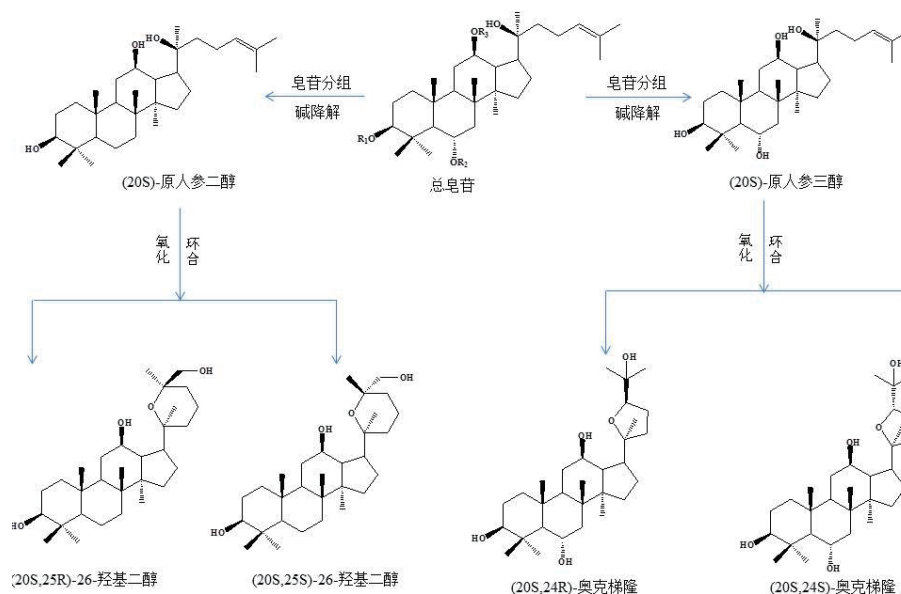


图 1 6 种人参皂苷的制备工艺

1.3 抗氧化试验

1.3.1 总抗氧化能力检测

将 PPD、PPT、(24R)-Ocotillol、(24S)-Ocotillol、(25R)-HPD 和 (25S)-HPD 分别配制成 3.0mg/mL 母液, 配制 VC 阳性对照母液 3.0mg/mL。再将上述母液分别稀释为 1.5mg/mL、0.75mg/mL、0.375mg/mL 的样品, 运用上海优选生物科技有限公司试剂盒(货号: YX-C-A504)测定, 详细步骤按试剂盒说明书进行操作, 配置成反应总体积为 1.02mL, 反应中样品体积为 0.03mL 的反应液, 经过显色和紫外下比色, 可测得其体外总抗氧化能力, 实验按浓度梯度进行, 每个浓度样品做两次平行试验。同时按照同样方法做一组抗坏血酸(VC)阳性对照, 进行总抗氧化对比。实验原理是: 在酸性环境下, 物质还原 Fe^{3+} -三吡啶三吡啶(Fe^{3+} -TPTZ)产生蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ 的能力反映了其总抗氧化能力, 通过比色测定便得知其抗氧化能力高低。定义: 样品的抗氧化能力以达到同样吸光度变化值(ΔA)所需的标准液离子浓度表示。标准曲线为 $y=0.6308x+0.1291$, $R^2=0.9989$ 。按液体体积计算, 测定总抗氧化能力单位(U/mL)。计算公式:

$$\text{总抗氧化能力(U/mL)} = 1 \div 0.6308 \times (\Delta A - 0.1291) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} = 53.9 \times (\Delta A - 0.1291) \div C_{\text{pr}}$$

$$\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$$

式中 $V_{\text{反应}}$: 反应总体积, 1.02mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.03mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL

1.3.2 羟自由基清除能力测定

将 PPD、PPT、(24R)-Ocotillol、(24S)-Ocotillol、(25R)-HPD 和 (25S)-HPD 分别配制成 3.0mg/mL 母液, 配制 VC 阳性对照母液 3.0mg/mL。再将上述母液分别稀释为 1.5mg/mL、0.75mg/mL、0.375mg/mL 的样品, 运用上海优选生物科技有限公司试剂盒(货号: YX-C-A505)测定, 详细步骤按试剂盒说明书进行操作, 配制为反应总体积为 1.0mL, 反应中样品体积为 0.25mL 的反应液, 浓度梯度平行测两组, 紫外下记录各自吸收度。其原理是: $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 通过 Fenton 反应产生羟自由基, 将邻二氮菲- Fe^{2+} 水溶液中 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , 导致 536nm 吸光度下降, 样品对 536nm 吸光度下降速率的抑制程度, 反映了样品清除羟自由基的能力。定义在 37℃ 下 60min 反应, 按照公式计算羟自由基清除率 D%。

$$\text{羟自由基清除率 D\%} = (\text{OD 测定管} - \text{OD 对照管}) \div (\text{OD 空白管} - \text{OD 对照管}) \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 样品分离结果

经过皂苷分组, 高温碱降解, 氧化环合分别得到六种人参皂苷元, 分别为 (20S)- 原人参二醇 (10g)、(20S)- 原人参三醇 (5.6g)、(20S, 24R)- 奥克梯隆 (1.1g)、(20S, 24S)- 奥克梯隆 (0.7g)、(20S, 25R)-26- 羟基二醇 (0.8g)、(20S, 25S)-26- 羟基二醇 (0.5g)。

2.2 抗氧化试验结果

2.2.1 总抗氧化能力

不同浓度的六种人参皂苷总抗氧化能力由总抗氧化能力检测试剂盒测定, 结果见表 1 和图 2。

表 1 VC 与六种人参皂苷总抗氧化能力测定

浓度 (mg/mL)	人参皂苷种类	总抗氧化能力 (U/mL)	变化幅度 (%)
0.075	VC	9.858	
	PPD	4.306	-56.32%
	PPT	2.043	-52.55%
	(25S)-HPD	1.827	-10.57%
	(24R)-Ocotillol	1.180	-35.41%
	(24S)-Ocotillol	0.372	-68.47%
	(25R)-HPD	0.156	-58.06%
0.15	VC	18.321	
	PPD	6.678	-63.55%
	PPT	5.654	-15.33%
	(25S)-HPD	4.468	-20.98%
	(24R)-Ocotillol	3.229	27.73%
	(24S)-Ocotillol	1.288	-60.11%
	(25R)-HPD	0.372	-71.12%
0.3	VC	23.397	
	PPD	8.618	-63.17%
	PPT	7.271	-15.63%
	(25S)-HPD	5.380	-26.01%
	(24R)-Ocotillol	4.522	-15.95%
	(24S)-Ocotillol	3.768	-16.66%
	(25R)-HPD	3.175	-15.74%

注: - 表示未作比较

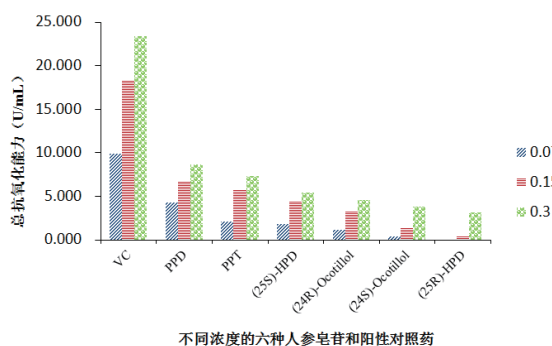


图2 六种人参皂苷的总抗氧化能力

由表1和图1可知,与阳性对照抗坏血酸相比,六种人参皂苷均有不同程度的抗氧化活性,并且在0.075mg/mL~0.3mg/mL浓度范围内有一定的浓度依赖性。同浓度下的六种人参皂苷的体外总抗氧化活性大小依次为PPD>PPT>(25S)-HPD>(24R)-Ocotillol>(24S)-Ocotillol>(25R)-HPD, PPD总抗氧化能力最高, (25R)-HPD最低。

2.2.2 羟自由基清除能力

不同浓度的六种人参皂苷羟自由基清除能力见表2和图3。

表2 VC与六种人参皂苷羟自由基清除率			
浓度 (mg/mL)	人参皂苷种类	羟自由基清除率 (%)	变化幅度 (%)
0.075	VC	87.21%	
	PPD	69.36%	-20.47%
	PPT	69.70%	-0.49%
	(25S)-HPD	62.63%	-10.14%
	(24R)-Ocotillol	57.24%	-8.61%
	(24S)-Ocotillol	34.34%	-40.01%
	(25R)-HPD	29.63%	-13.72%
0.15	VC	93.60%	
	PPD	83.84%	-10.43%
	PPT	68.35%	-18.48%
	(25S)-HPD	66.67%	-2.46%
	(24R)-Ocotillol	59.93%	-10.11%
	(24S)-Ocotillol	34.01%	-43.25%
	(25R)-HPD	32.32%	-4.97%
0.3	VC	96.97%	
	PPD	93.94%	-3.12%
	PPT	89.90%	-4.30%
	(25S)-HPD	79.80%	-11.23%
	(24R)-Ocotillol	66.60%	-16.54%
	(24S)-Ocotillol	68.69%	-3.14%
	(25R)-HPD	59.90%	-12.84%

注: - 表示未作比较

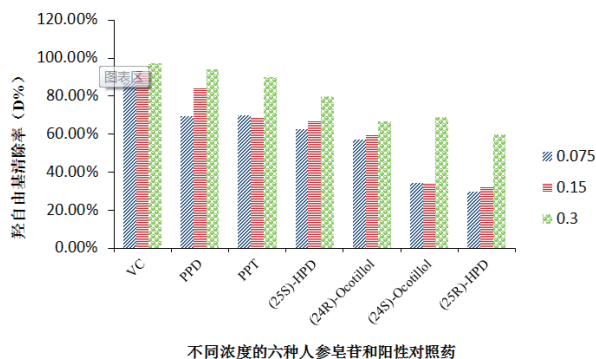


图3 六种人参皂苷的羟自由基清除率结果图

与阳性对照抗坏血酸相比,六种人参皂苷均有较强的羟自由基清除能力。在0.075mg/mL~0.3mg/mL的浓度范围内,六种人参皂苷与VC的羟自由基清除能力均具有浓度依赖性,随着浓度的升高,其能力也逐渐提高。羟自由基清除能力在六种人参皂苷上区别表现明显,大小依次为:

PPD>PPT>(25S)-HPD >(24R)-Ocotillol>(24S)-Ocotillol >(25R)-HPD

由总体羟自由基清除率数据可以看出 (24S)-Ocotillol 的羟自由基清除能力随浓度变化影响较大。

3 结论与讨论

人参皂苷药理作用包括对神经系统的作用,对心血管系统的作用以及抗肿瘤等方面。卞俊等^[7]发现人参皂苷可通过减少淀粉样多肽的形成,来抑制微管相关蛋白磷酸化,从而减少脑内老年斑的形成及神经纤维缠结,提高神经的可塑性,对老年痴呆、阿尔茨海默病的治疗提供了药理基础。李娜等^[8]在研究人参皂苷 Rg1 时发现人参皂苷通过抗氧化应激等活动,可以保护脑组织黑质多巴胺能神经元,进而在治疗帕金森病上发挥药理作用。陈兆耀等^[9]通过研究人参皂苷阐述了人参皂苷在提高记忆力方面的药理基础。杜依楚^[10]在研究人参皂苷 Rg1 时,得出结论人参皂苷通过促进神经递质的释放,使神经元之间的信息传递加快,从而解释了人参皂苷对记忆能力提高的原理。丁艳芬等^[11]的实验结果表明人参皂苷可以提高机体抗氧化应激能力。张宏伟等^[12]在研究人参皂苷 Rb3 中发表人参皂苷可以增强脑组织的能量代谢和抗氧化作用,可以保护脑组织的结论。另外,西洋参茎叶皂苷具有抗失血性休克及对心脏的保护作用。关利新等^[13]在用钙离子荧光指示剂 Fura-2/AM 检测西洋参茎叶皂苷对大鼠心肌细胞 Ca²⁺ 内流的影响的试验中,得出西洋参茎叶皂苷对心肌细胞的电压依赖性钙通道有阻断作用的结论。Stavro PM 等^[14]发现西洋参有中等强度的降压作用。Shao ZH 等^[15]的研究表明,西洋参果提取物可以清除心肌细胞氧自由基。Xie J T 等^[16]的实验结果表明,人参皂苷 Re 对 H₂O₂ 和 OH⁻ 有清除作用,从而起到抗鸡心肌细胞氧化的作用。在抗肿瘤方面,黄海英等^[17]对人参皂苷 Rg1 的药理活性研究实验表明,人参皂苷可以通过多种途径破坏线粒体膜,释放与凋亡相关的因子,阻碍细胞周期,诱导细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用。杨逸等^[18]同样发现了人参皂苷通过影响细胞周期来抑制肿瘤细胞增殖。Yun T K 等^[19]对人参皂苷 Rh2 的抗肿瘤活性进行研究,结果表明人参皂苷对肿瘤细胞的生长有抑制作用。Wang CZ 等^[20]证明人参皂苷是抗癌活性成分。程汝滨等^[21]在人参皂苷 Rh2 的抗肿瘤转移的功能研究中提出核转录因子- κ B、丝裂原活化蛋白激酶、细胞外调节蛋白激酶和转化生长因子- β 等信号通路均与肿瘤的发生和发展存在一定关系。Yoon JH 等^[22]研究发现,人参皂苷可调控核转录因子- κ B、丝裂原活化蛋白激酶、细胞外调节蛋白激酶和转化生长因子- β 等信号通路,来抑制肿瘤细胞的转移。人参皂苷还可以提高小鼠血清中的抗体 IgG,激活 Th1 和 Th2 细胞因子的生成释放,调节机体免疫功能,影响肿瘤细胞的转移和生长等^[23]。

人参皂苷大多具有抗氧化作用,并且已经广泛应用于食品、药品、化妆品和保健品等领域。在生命过程中生物体不断产生有很强生物活性的氧自由基,过量自由基会造成细胞损伤,张振明等^[24]研究表明抗氧化剂可直接清除过剩自由基或者可以提高体内抗氧化系统功能,从而起到抗氧化的作用,保护机体细胞不受皮损伤。Huang D 等^[25]提出了体外抗氧化实验方法的基础理论,即依靠氢原子转移和电子转移机理。人参皂苷类的抗氧化作用可能是其延缓衰老,抗动脉粥样硬化,抗缺血再灌注损伤等药理作用的共同机制。

本文从西洋参总皂苷中制备出六种人参皂苷, (20S)- 原人参二醇、(20S)- 原人参三醇、(20S, 24R)- 奥克梯隆、(20S, 24S)- 奥克梯隆、(20S,25R)-26- 羟基二醇、(20S,25S)-26- 羟基二醇, 经过体外总抗氧化研究实验表明, 六种人参皂苷均具有一定的体外抗氧化活性。由两个实验对比看出, 抑制羟自由基能力比总抗氧化能力强。在本研究的浓度范围内, 六种人参皂苷的抗氧化能力呈剂量效应。当然, 也存在一些不足, 如六种人参皂苷制备过程中产率不高, 且体外抗氧化活性能力数据并不明显, 因而在制备工艺方面还有待进一步研究, 另外 6 种皂苷自由基清除能力较弱, 对氧自由基本身影响较少, 推断可能是通过提高体内 SOD、CAT 等抗氧化酶的活性来增强机体的抗氧化系统功能, 因此, 还需进行体内抗氧化活性实验研究, 进一步为人参皂苷的药理作用和机制探讨提供理论依据和基础。

参考文献

- [1] 朱晓丽. 人参皂苷药理作用研究进展[J]. 中国药物经济学, 2017,12(12):152-154.
- [2] 李振国, 高泽斌, 官爱华, 等. 质谱连用法研究奥克梯隆皂苷元在大鼠体内的药代动力学行为[J]. 中国药理学杂志, 2018,53(9):749-754.
- [3] 杨强刚, 李阳, 杨青, 等. 拟人参皂苷 HQ 的简明高效合成[J]. 有机化学, 2017,37(6):1530-1536.
- [4] 赵连信. 人参皂苷对常见肝脏疾病药理作用的研究现状[J]. 辽宁医学杂志, 2015(2):100-103.
- [5] 李平亚, 刘金平. 人参皂苷 NMR 标准图谱(M). 北京: 化学工业出版社, 2012.
- [6] Liu Han, Zhuo Li, Qian Zheng, et al. A new triterpenoid compound from stems and leaves of *American ginseng*[J]. *Natural Product Research*, 2016,1(30):13-19.
- [7] 卞俊, 陈海飞, 鲍蕾蕾. 人参皂苷 Rg1 预防阿尔茨海默病病理机制研究进展[J]. 海军医学杂志, 2015,36(1):91-93.
- [8] 李娜. 人参皂苷 Rg1 治疗神经退行性疾病的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2012,32(15):3345-3347.
- [9] 陈兆耀, 刘新峰, 徐格林. 人参皂苷改善认知功能作用的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2011,31(24):4980-4982.
- [10] 杜依楚, 潘玉君. 人参皂苷 Rg1 在神经系统疾病中的作用机制进展[J]. 医学研究杂志, 2016,45(10):178-182.
- [11] 丁艳芬, 李江霞, 杨崇仁. 人参皂苷 Rh1 的药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2013,15(4):282-285.
- [12] 张宏伟, 孙伟伦, 李凤, 等. 人参皂苷 Rb3 对大鼠实验性脑缺血的保护作用[J]. 人参研究, 2013,25(3):2-5.
- [13] 关利新, 衣欣, 杨世杰, 等. 西洋参茎叶皂苷对大鼠心肌细胞 Ca²⁺ 内流的影响[J]. 中药药理与临床, 2004,20(6):8-9.
- [14] Stavro PM, Woo M, Heim TF, et al. North American ginseng exerts a neutral effect on blood pressure in individuals with hypertension[J]. *Hypertension*, 2005, 46(2):406-411.
- [15] Shao ZH, Xie JT, Vanden Hoek TL, et al. Antioxidant effects of American ginseng berry extract in cardiomyocytes exposed to acute oxidant stress[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1670(3): 165-171.
- [16] Xie J T, Mehendale SR, Wang A, et al. American ginseng leaf: ginsenoside analysis and hypoglycemic activity[J]. *Pharmacol Res*, 2004,49(2):113-117.
- [17] 黄海英. 人参皂苷 Rg1 药理作用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2012,28(7):608-609.
- [18] 杨逸, 杨丽瑛, 戴景峰, 等. 人参皂苷 Rg1 药理活性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2012,23(12):3121-3123.
- [19] Yun T K. Experimental and epidemiological evidence on nonorgan specific cancer preventive effect of Korean ginseng and identification of active compounds[J]. *Mutat Res*, 2003(523-524): 63-74.
- [20] Wang CZ, Aung HH, Zhang B, et al. Chemopreventive effects of heat-processed *Panax quinquefolius* root on human breast cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2008,28(5A):2545-2551.
- [21] 程汝滨, 葛宇清, 黄真. 人参皂苷 Rh2 抗肿瘤转移的功能研究进展[J]. 中南药学, 2013,11(3):211-213.
- [22] Yoon JH, Choi YJ, Cha SW, et al. Anti-metastatic effects of ginsenoside Rd via inactivation of MAPK signaling and induction of focal adhesion formation[J]. *Phytomedicine*, 2012,19(3-4):284-292.
- [23] 贺兼斌, 廖慧中, 杨凯, 等. 人参皂苷 Rg3 对小鼠 Lewis 肺癌生长和转移的抑制作用及其与肿瘤相关巨噬细胞的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2012,39(12):1411-1415.
- [24] 张振明, 葛斌, 许爱霞, 等. 雪莲花水提物的抗氧化活性及其机制[J]. 第二军医大学学报, 2005(5):568-570.
- [25] Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005,(53):1841-1856.
- [26] 王晶. 五加科人参属中药皂苷类化合物的分离提取及抗氧化活性研究[D]. 吉林: 长春师范大学, 2016.
- [27] Chan LY, Chiu PY, Lau TK. An in-vitro study of ginsenoside Rb1-induced teratogenicity using a whole rat embryo culture model[J]. *Hum Reprod*, 2003,18(10):2166-2168.
- [28] 周琳, 黄嘉嘉, 罗志勇. 人参皂苷 Rh2 诱导肿瘤细胞凋亡信号转导通路研究进展[J]. 生命科学, 2010,22(5):421-425.
- [29] 李建明, 陈赞, 章莉娟, 等. 西洋参中皂苷类成分提取方法对比[J]. 中药材, 2008(12):1896-1898.
- [30] Kim YS, Jin SH, Lee YH, et al. Differential expression of protein kinase subtypes during ginsenoside Rh2-induced apoptosis in SK-N-BE(2) and C6 Bu-1 cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23: 518-524.
- [31] Bultz BD, Carlson LE. Emotional distress: the sixth vital sign in cancer care[J]. *Clin Oncol*, 2005, 23(26): 6440-6441.

(上接第 13 页)

- an advantage to an intramedullary nail? : a randomized, prospective study of 206 patients comparing the dynamic hip screw and proximal femoral nail[J]. *J orthop Trauma*, 2002,16(6):386-393.
- [8] Radford PJ, Needoff M, Webb JK. A prospective randomised comparison of the dynamic hip screw and the gamma locking nail[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 1993,75(5):789-793.
 - [9] Zhou Qing, Shen Yun. A comparative study of Gamma nail and proximal femoral nail in treatment of intertrochanteric fractures of femur[J]. *Chinese Journal of Orthopaedic Trauma*, 2005,7(8):730-733.
 - [10] Rodop O, Kiral A, Kaplan H, et al. Primary bipolar hemiprostheses for

unstable intertrochanteric hip fractures: a biomechanical evaluation[J]. *Injury*, 2006,37(10):984-989.

- [11] Feng W, Hao T, Liu WL, et al. Clinical outcome of endoprosthetic replacement for failed treatment of intertrochanteric fractures: A retrospective case series[J]. *Pak J Med Sci*, 2013,29(2):633-637.
- [12] Choy WS, Ahn JH, Ko JH, et al. Cementless bipolar hemiarthroplasty for unstable intertrochanteric fractures in elderly patients[J]. *Clin Orthop Surg*, 2010,2(4):221-226.
- [13] 甄平, 李旭升, 周胜虎. 股骨生物柄假体人工关节置换术治疗高龄不稳定型股骨转子间骨折[J]. 中华创伤骨科杂志, 2014,16(2):173-175.