

- ryl-hydrazyl radical [J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, 56(2): 213-222.
- [9] Chen F, Zhang L, Zong S, et al. Antioxidant capacity and proanthocyanidin composition of the bark of *Metasequoia glyptostroboides* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 36203.
- [10] Filaire E, Dupuis C, Galvaing G, et al. Lung cancer: What are the links with oxidative stress, physical activity and nutrition [J]. *Lung Cancer*, 2013, 82(3): 383-389.
- [11] 张会从, 林能明, 韩江敏, 等. 中肺合剂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(1): 155-158.
- [12] 何福根, 林能明, 韩江敏, 等. 中肺合剂对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤组织血管生成的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(2): 355-357.
- [13] 林能明, 张会从, 徐海燕, 等. 中肺合剂抗小鼠 Lewis 肺癌肺转移作用及相关机制的实验研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(22): 1729-1733.
- [14] Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 20(7): 933-956.
- [15] Pietta P G. Flavonoids as antioxidants [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(7): 1035-1042.
- [16] 林能明, 张如松, 方 罗, 等. HPLC 测定中肺合剂中防己诺林碱和粉防己碱的含量 [J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(20): 1593-1595.
- [17] 陈凌亚, 周晓芳, 翁 琳, 等. 薄层色谱法鉴别中肺合剂的主要成分 [J]. *医药导报*, 2005, 24(10): 945-946.
- [18] 曹莹莹, 林能明, 方 罗. 清肺合剂 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *中国药房*, 2012, 23(3): 256-258.

不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用

郭东艳¹, 范 妤¹, 赵晓平², 覃鸿恩¹

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘要: 目的 研究不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用。方法 150 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、原药液组、醇沉组、壳聚组、膜分离组。然后, 建立大脑中动脉缺血 (MCAO) 再灌注损伤模型, 观察不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经行为学评分和脑梗死体积的影响, 并检测脑组织中丙二醛 (MDA) 和一氧化氮 (NO) 含量, 以及超氧化物歧化酶 (SOD) 和还原型谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性, 免疫组化法检测脑组织中 TNF- α 和 NF- κ B 表达。结果 不同制备工艺的健脑益智胶囊均可显著降低脑缺血再灌注大鼠所致的神经行为学评分, 减少脑梗死比率和脑组织 MDA 及 NO 水平, 提高 T-SOD 和 GSH-PX 活力, 抑制 NF- κ B 信号通路上 TNF- α 和 NF- κ B 表达。其中, 醇沉组的改善作用更为明显。结论 健脑益智胶囊对缺血再灌注损伤大鼠具有明显保护作用, 其机制可能与改善神经功能、减少自由基损伤和抑制炎症因子表达有关。而且, 不同制备工艺的药物对其神经保护作用有所差异, 其中醇沉组作用最显著。

关键词: 健脑益智胶囊; 制备工艺; 脑缺血再灌注损伤; 神经行为学; 自由基; 炎症因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-4528(2015)11-2530-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-4528.2015.11.045

健脑益智胶囊由水蛭、葛根、郁金、石菖蒲、白茅根等中药组成, 具有豁痰开窍、活血化痰、通脉益智作用, 临床上主要用于预防和治疗外部颅脑损伤、缺血性脑损伤、脑震荡及脑水肿等疾病^[1-4]。为了提高健脑益智胶囊的质量以及降低临床服药量, 本实验将在前期提取工艺研究的基础上^[5], 考察不同制备工艺的健脑益智胶囊对大鼠脑缺血模型的影响, 为进一步筛选其制备工艺提供可靠的实验依据。

1 材料

1.1 药品 葛根 (批号 121101, 产地广西)、白茅根 (批

号 130401, 产地陕西)、郁金 (批号 130101, 产地广西)、石菖蒲 (批号 130401, 产地四川) 饮片 (西安盛兴中药饮片有限责任公司), 经陕西中医药大学王继涛老师鉴定, 分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根、禾本科植物白茅 *Imperata cylindrica* Beauv. Var. *major* (Nees) C. E. Hubb 的干燥根茎、姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥块根、天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎。葛根素对照品 (批号 110752-201313, 中国食品药品检定研究院); 壳聚糖 (批号 69047438, 国药集团化学试剂有限公司);

收稿日期: 2014-12-15

基金项目: 陕西省科技厅资助项目 (2011KTCL03-02)

作者简介: 郭东艳 (1973—), 女, 博士, 教授, 从事中药新制剂开发研究。Tel: (029) 38185180, E-mail: winter180@163.com

甲醇、乙腈均为色谱纯(德国 Merck 公司); 水为超纯水(自制); 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); L-520 离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); HH-2 恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司); GB204 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); Leica DM4000B 生物显微镜(德国徕卡公司); GQ76 管式离心机(上海市离心机机械研究所有限公司); PFT-A500 电子天平(福州华志科学仪器有限公司)。

1.3 实验试剂 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC, 美国 Sigma 公司); 一氧化氮(NO, 批号 A012)、总超氧化物歧化酶(T-SOD, 批号 A001-1)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX, 批号 A005)、丙二醛(MDA, 批号 A003-1)、蛋白定量试剂盒(批号 A045-2)及试剂盒(南京建成生物工程研究所); TNF- α 、NF- κ B 一抗、SABC 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.4 实验动物 雄性 SD 大鼠 150 只, 体质量 300 ~ 350 g(西安交通大学动物实验中心, 动物合格证号 SCXK [陕] 2013-003), 饲养环境为 SPF 级。

2 方法

2.1 不同工艺健脑益智胶囊的制备 按处方比例称取白茅根、葛根、郁金和石菖蒲适量, 其中往郁金和石菖蒲中加入 10 倍量水, 浸泡 2 h 后提取 6 h, 收集挥发油和水溶液备用; 往药渣、白茅根、葛根中加入 10 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 2 h, 水煎液和蒸馏后的水溶液合并, 过滤, 即得水提液。然后, 将水提液分成 4 等份, 除 1 份备用外, 其余 3 份分别进行醇沉^[6]、壳聚糖^[7]和膜分离^[8]制备工艺处理; 将挥发油分成 4 等份, 分别加入原水提液及 3 种不同纯化工艺处理后的溶液中, 混匀。接着, 按处方比例称取水蛭适量, 分成 2 份。其中, 1 份粉碎, 过 40 目筛, 60% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 过滤, 滤液浓缩至无醇味, 分成 4 等份, 分别加入上述 4 种溶液, 混匀; 另 1 份粉碎, 过 100 目筛, 分成 4 等份, 分别加入上述 4 种溶液, 混匀, 干燥, 粉碎, 填充, 即得不同制备工艺制备的健脑益智胶囊。

2.2 动物分组与给药 取体质量 300 ~ 350 g 的雄性大鼠 150 只, 随机分成 6 组, 每组 25 只, 分别设置为假手术组、模型组、原药液组、醇沉组、壳聚组、膜分离组。其中, 给药组提前给药一周, 给药剂量按健脑益智胶囊内容物计, 为 0.6 g/100g, 给药容积为 1 mL/100 g。

2.3 大鼠脑缺血再灌注损伤模型的制备 将经“2.2”项方法处理后的大鼠禁食不禁水 12 h, 参照 Zea Longa 改良法, 建立左侧大脑中动脉阻塞(MCAO)模型^[9]。具体方法为大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 3 mL/kg 麻醉, 于颈部偏右侧切口, 分离右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA), 结扎右 CCA 近心端、ECA 及其分支动脉。然后, 分离右侧 ICA, 向下分离翼腭动脉, 根部结扎动脉分支, 在 CCA 近心端备线, 另一端加动脉夹, 在距

离颈动脉分叉 0.5 cm 处剪开一小口, 将处理后的渔线经 ECA 插入 ICA, 进入大脑中动脉分支处, 用于阻断大脑中动脉的所有血流来源, 缺血 1.5 h 后, 拔出渔线, 再灌注 48 h。另外, 假手术组只做动脉分离暴露, 不插拴线, 其余操作步骤相同。在手术过程中, 大鼠体温保持在 37 °C 左右。

2.4 神经行为评分 参照 Bederson 评分标准^[10], 将缺血 48 h 后的大鼠进行神经功能评分。其中, 0 分为无神经功能缺损症状; 1 分为左侧前肢屈曲, 不能完全伸直, 提起时左上肢不能上抬; 2 分为行走时向左侧旋转; 3 分为行走时向左侧倾倒; 4 分为不能自己行走或昏迷。得分越低, 表示动物神经损伤越小。

2.5 脑梗死范围检测 每组取大鼠 5 只, 腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后迅速断头, 取出全脑, -20 °C 下冷冻 20 min, 去除嗅球、小脑和低位脑干, 将鼠脑平均横切成 5 段冠状脑片, 立刻置于配制好的 2% TTC 染液中, 37 °C 下避光孵育 30 min, 每隔 8 min 翻动一次, 取出脑片, 10% 甲醛溶液固定。结果, 梗塞区显示为白色, 而非梗塞区显示为玫瑰红色。拍照后, 用 Adobe Photoshop Cs 软件处理图像, 用图像体积处理软件求出梗塞区体积, 计算脑梗死灶比率, 计算公式为脑梗死灶比率% = (梗塞区体积/全脑体积) × 100%。

2.6 脑组织中 MDA、NO、T-SOD、GSH-PX 检测 每组取大鼠 8 只, 缺血再灌注 48 h 后 10% 水合氯醛(350 mg/kg)腹腔注射麻醉, 迅速开颅取脑, 称取大鼠缺血区和健侧相同部位的脑组织 100 mg, 加入 0.9% 生理盐水 1 mL, 4 °C 冰浴下在组织匀浆器中研磨, 制成 10% 组织匀浆, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液。然后, 按试剂盒操作说明, 考马斯亮蓝法测定总蛋白, 羟胺法测定脑组织中 MDA、NO、T-SOD、GSH-PX 的含有量。

2.7 免疫组化法检测缺血侧脑组织 TNF- α 和 NF- κ B 的表达 每组取大鼠 8 只, 灌流固定后取缺血侧脑组织, 常规固定、脱水、石蜡包埋后, 制作标本切片, 按试剂盒操作说明进行 SABC 染色和 DAB 显色, 光镜(×400)下观察, 阳性细胞为棕褐色着色。然后, 每张切片随机取大脑皮质内视野计数阳性细胞 5 个, 计数不分细胞种类。

2.8 统计学分析 利用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注大鼠神经功能评分和脑梗死体积的影响 脑缺血再灌注 48 h 后, 进行神经行为学评分。结果显示, 假手术组均正常; 模型组与假手术组有非常显著的差异($P < 0.01$), 行为学变化明显, 说明造模成功; 健脑益智胶囊不同制备工艺组均可显著改善脑缺血再灌注所致的神经行为障碍, 与模型组比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 其中, 醇沉组和膜分离组的改善作用更明显($P < 0.01$), 见表 1。

TTC 染色结果显示, 模型组脑组织中的白色梗死灶明

显,脑梗死比率为(64.36 ± 7.58)%,而健脑益智胶囊不同制备工艺组的梗死灶比率显著降低,差异具有统计学意义(P < 0.01)。其中,醇沉组降低程度最为明显,脑梗死比率为(29.86 ± 8.78)%,见图1和表1。

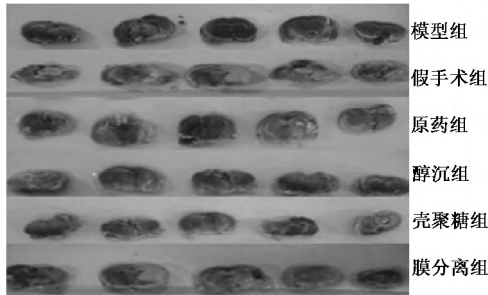


图1 大鼠脑缺血再灌注损伤脑组织 TTC 染色结果

3.2 不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注大鼠脑组织 MDA、NO、T-SOD、GSH-PX 的影响 与假手术组比

表2 健脑益智胶囊对脑缺血再灌注大鼠脑组织 MDA、NO、T-SOD 和 GSH-PX 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	NO/(μmol·gprot ⁻¹)	T-SOD/(U·mgprot ⁻¹)	GSH-PX/(U·mgprot ⁻¹)
假手术组	11.06 ± 3.45	17.74 ± 4.53	148.45 ± 25.54	56.84 ± 5.13
模型组	20.46 ± 4.39 ^{##}	30.24 ± 4.29 ^{##}	97.86 ± 22.40 ^{##}	37.02 ± 5.09 ^{##}
原药液组	15.32 ± 3.52 [*]	24.13 ± 3.98 [*]	130.43 ± 21.76 [*]	47.47 ± 5.34 ^{**}
醇沉组	13.34 ± 4.32 ^{**}	24.06 ± 4.05 [*]	140.76 ± 22.21 ^{**}	50.31 ± 5.46 ^{**}
壳聚糖组	14.78 ± 4.01 [*]	24.64 ± 4.45 [*]	127.56 ± 25.12 [*]	48.21 ± 6.12 ^{**}
膜分离组	16.24 ± 3.21 [*]	26.39 ± 5.36	121.45 ± 21.13 [*]	46.67 ± 6.35 ^{**}

注:与假手术组比较,^{##}P < 0.01;与模型组比较,^{*}P < 0.05,^{**}P < 0.01

3.3 不同制备工艺的健脑益智胶囊对脑缺血再灌注大鼠脑组织 TNF-α、NF-κB 表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠皮质中 TNF-α 和 NF-κB 的表达显著增强,差异具有统计学意义(P < 0.01);与模型组比较,健脑益智胶囊不同制备工艺组脑组织中 TNF-α 和 NF-κB 的阳性表达细胞数明显减少,而且着色强度减弱,差异具有统计学意义(P < 0.05)。其中,醇沉组对 TNF-α 和 NF-κB 表达有更明显的抑制作用,见表3、图2、图3。

表3 健脑益智胶囊对脑缺血再灌注大鼠脑组织中 TNF-α 和 NF-κB 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	NF-κB	TNF-α
假手术组	12.91 ± 1.92	8.83 ± 2.71
模型组	30.63 ± 2.26 ^{##}	58.25 ± 5.43 ^{##}
原药液组	20.22 ± 2.59 ^{**}	2.00 ± 0.53 [*]
醇沉组	22.09 ± 1.58 ^{**}	1.88 ± 0.35 ^{**}
壳聚糖组	18.94 ± 2.70 ^{**}	2.00 ± 0.53 [*]
膜分离组	24.44 ± 2.13 ^{**}	1.88 ± 0.64 [*]

注:与假手术组比较,^{##}P < 0.01;与模型组比较,^{*}P < 0.05,^{**}P < 0.01

4 讨论

缺血性脑血管病是临床常见和多发病,具有恢复慢、致残率高、复发率高等特点,而缺血再灌注损伤是导致病情加重的重要原因。大量研究显示,氧化应激和炎症反应是脑缺血再灌注损伤的主要原因,其中,自由基过量蓄积

表1 健脑益智胶囊对脑缺血再灌注损伤大鼠神经行为学评分和脑梗死体积比的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	神经行为评分	脑梗死体积比率/%
假手术组	0	0
模型组	2.63 ± 0.52 [#]	64.36 ± 7.58 ^{##}
原药液组	2.00 ± 0.53 [*]	32.38 ± 9.81 ^{**}
醇沉组	1.88 ± 0.35 ^{**}	29.86 ± 8.78 ^{**}
壳聚糖组	2.00 ± 0.53 [*]	32.02 ± 7.09 ^{**}
膜分离组	1.88 ± 0.64 [*]	38.11 ± 6.80 ^{**}

注:与假手术组比较,[#]P < 0.05,^{##}P < 0.01;与模型组比较,^{*}P < 0.05,^{**}P < 0.01

较,模型组脑组织中 MDA 和 NO 水平明显升高(P < 0.01),T-SOD 和 GSH-PX 水平显著降低(P < 0.01);与模型组比较,健脑益智胶囊不同制备工艺组脑组织中 MDA 和 NO 水平降低,T-SOD 和 GSH-PX 水平升高,差异均有统计学意义(P < 0.05)。其中,醇沉组 MDA、T-SOD、GSH-PX 的变化最为显著,见表2。

是造成脑缺血再灌注后神经组织损伤的重要环节。当脑缺血损伤时,氧化应激反应导致机体内自由基大量堆积,进而破坏不饱和脂肪酸双链的生物膜结构,引发脂质过氧化“瀑布状”连锁反应,产生大量脂质过氧化物(如丙二醛 MDA、一氧化氮 NO),远远超过了超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH-PX)等自由基清除剂的抗氧化能力。当形成的自由基显著增多时,SOD 和 GSH-PX 消耗增加,其活性明显下降^[11-13],使膜性结构遭到破坏,蛋白降解,核酸主链断裂,透明质酸解聚,细胞崩解并发生不可逆性改变^[14]。

本实验在前期研究的基础上,采用不同制备工艺制得健脑益智胶囊,然后建立大鼠左侧大脑中 MCAO 模型,观察其对缺血性脑损伤的改善作用。结果表明,不同制备工艺组药物均能显著降低脑组织中 MDA 和 NO 的含有量,并增加 SOD 和 GSH-PX 的活性,显示健脑益智胶囊能通过对抗自由基和过氧化损伤来保护脑组织。其中,醇沉组的作用最为显著。

另外,炎症反应也是导致脑缺血再灌注损伤发生的重要原因。NF-κB 信号通路是细胞活动的关键媒介^[15-16],而 NF-κB 是细胞内最重要的核转录因子之一,广泛分布于神经元、小胶质细胞和星形胶质细胞中。在静息状态下,NF-κB 与其抑制因子 IκB 结合,形成复合物,以无活性形式存在于胞浆中;在应激条件下,IκB 激酶复合物被磷酸化后

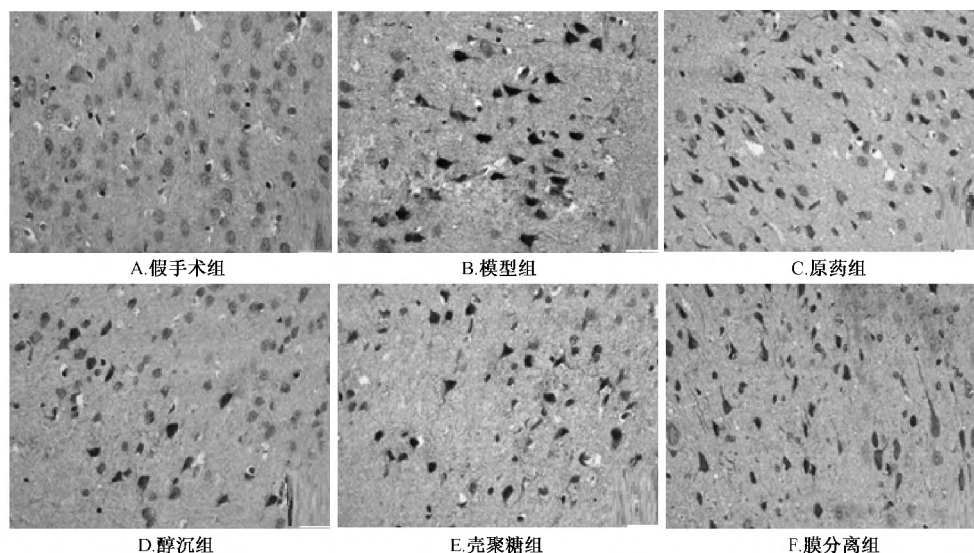


图2 大鼠大脑皮质中 TNF- α 的阳性表达 ($\times 400$)

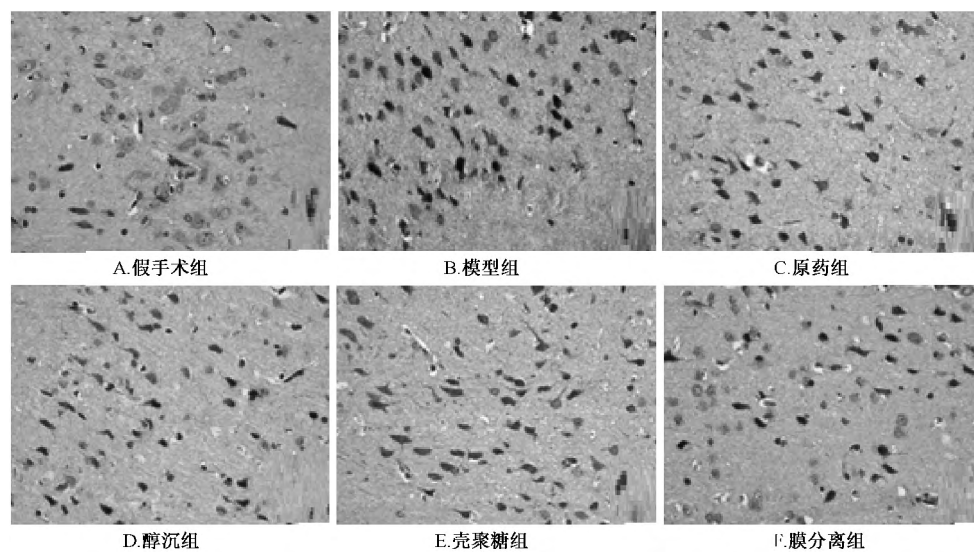


图3 大鼠大脑皮质中 NF- κ B 的阳性表达 ($\times 400$)

降解,胞浆中游离的 NF- κ B 迅速转运到胞核,与特异性 κ B 序列结合,诱导下游 TNF- α 等多种促炎症因子的表达,导致炎症反应产生^[17]。本实验结果显示,健脑益智胶囊不同制备工艺组均能显著抑制 NF- κ B 信号通路上 NF- κ B 和 TNF- α 的表达,通过抑制 NF- κ B 活化,从而减少 TNF- α 生成,抑制炎症级联反应发生。其中,醇沉组的抗炎作用最好。

综上所述,健脑益智胶囊能通过改善脑缺血再灌注损伤后神经功能缺失,减小脑梗死体积,对抗自由基损伤,减轻炎症反应,从而实现缺血后神经保护的作用。而且,不同制备工艺组对其神经保护作用有所差异,其中醇沉组作用最显著。

参考文献:

[1] 张宝丽,范小璇,赵晓平. 健脑益智胶囊对基底节区脑出

血术后的疗效观察[J]. 陕西中医学院学报, 2007, 30(5): 10-11.

[2] 范小璇,赵晓平,梁格婷. 健脑益智胶囊对外伤性脑出血患者 IgG-CSF 的影响[J]. 中国中医急症, 2011, 20(10): 1552-1554.

[3] 周振国,范小璇,赵晓平,等. 健脑益智胶囊对颅脑损伤大鼠血浆 NPY 含量的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(31): 3437-3439.

[4] 畅涛,赵晓平,周振国. 健脑益智胶囊治疗脑震荡疗效观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(11): 120-121.

[5] 赵晓平,吕杨,范小璇,等. 健脑益智胶囊提取工艺研究[J]. 陕西中医学院学报, 2013, 36(5): 83-85.

[6] 郭东艳,覃鸿恩,赵晓平,等. 健脑益智胶囊水提部位精制工艺研究[J]. 陕西中医学院学报, 2014, 37(5): 66-69.

[7] 杨伟平,郭东艳,赵晓平,等. 壳聚糖澄清剂对健脑益智

- 胶囊水提部位的纯化工艺研究[J]. 现代中医药, 2014, 34(6): 72-74.
- [8] 郭东艳, 覃鸿恩, 赵晓平, 等. ZrO_2 无机陶瓷膜微滤技术精制健脑益智胶囊水提部位的研究[J]. 现代中医药, 2014, 34(5): 69-72.
- [9] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [10] 乔琳, 胡彬, 常明则, 等. 两种神经功能评分评价大鼠局灶性脑缺血模型的初步研究[J]. 山西医科大学学报, 2012, 43(12): 893-895.
- [11] 汪兴宇, 张宇燕, 万海同, 等. 参芎注射液对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 503-506.
- [12] 韦海珠. 蛙血清去蛋白提取物保护大鼠脑缺血再灌注损伤的机制[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4511-4513.
- [13] 石孟琼, 贺海波, 覃宁玲, 等. 珠子参水提物预处理对小鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(3): 290-293.
- [14] 刘筱蔼, 吴伟康. 中药防治脑缺血再灌注损伤的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(10): 794-796.
- [15] 邓昌, 欧阳波, 陶然, 等. 虫草素对小鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护作用及炎症调节[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(3): 687-690.
- [16] Benakis C, Bonny C, Hirt L. JNK inhibition and inflammation after cerebral ischemia [J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(5): 800-811.
- [17] 谢宗志, 兰岚, 陈阿贞, 等. 从 $NF-\kappa B$ 信号通路探讨电针治疗脑缺血再灌注损伤抗凋亡机制[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(4): 19-20.

中心复合设计法优化制备丹参酮 II_A 鱼精蛋白纳米粒

冯博, 承伟*

(辽宁医学院药学院, 辽宁锦州 121000)

摘要: 目的 采用中心复合设计法优化制备丹参酮 II_A 鱼精蛋白纳米粒。方法 以鱼精蛋白为载体材料, 应用去溶剂法制备丹参酮 II_A 鱼精蛋白纳米粒。再以丹参酮 II_A 与鱼精蛋白比例、药物在乙醇中质量浓度、乙醇与水体积比为考察因素, 以包封率为考察指标, 根据中心复合设计原理安排实验, 筛选最佳工艺, 并对所得纳米粒进行形态、粒径及释放度等体外表征。结果 最优工艺条件为丹参酮 II_A 与鱼精蛋白比例 (m/m) 0.25, 药物在乙醇中质量浓度 10 mg/mL, 乙醇与水体积比 1:1。在此条件下, 纳米粒包封率为 86.05%, 模型预测值和实测值接近。所得纳米粒外观呈球形, 平均粒径为 (112.3 ± 20.4) nm, 体外释放行为呈良好的缓释特性。结论 该工艺条件准确可靠, 具有实用价值, 所建立模型的预测性良好。

关键词: 丹参酮 II_A; 鱼精蛋白; 纳米粒; 中心复合设计法

中图分类号: R944

文献标志码: B

文章编号: 1001-4528(2015)11-2534-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-4528.2015.11.046

中心复合设计 (central composite design, CCD) 是近年来国外常采用的实验优化方法, 具有试验次数少、精度高等特点, 相较于国内普遍应用的正交设计和均匀设计, 该设计在试验安排及结果预测上更接近真实值, 因而在处方设计和工艺筛选中的优势更为显著^[1]。丹参酮, 亦称总丹参酮, 是从中药丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 根部提取出的具有抑菌作用的脂溶性化合物, 包括丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参酮 II_B、隐丹参酮、异隐丹参酮等多个单体, 其中丹参酮 II_A 为主要的脂溶性成分。研究表明, 丹参酮 II_A 能有效改善冠状动脉循环及微循环障碍, 促进心肌再生, 抑制细胞损伤等, 同时还具有抗感染、抗氧化、抗肿瘤、改善肝

功能、改善微循环等药理作用, 其抗肿瘤活性, 尤其在胃部肿瘤等临床治疗上的疗效确切^[2-4]。研究表明, 丹参酮 II_A 能降低 RNAP II 的蛋白水平, 同时激活 P53, 诱导细胞凋亡, 依赖于这种 DNA 分子构象损伤的 RNAP II 响应是决定丹参酮 II_A 发挥抗肿瘤活性的分子基础^[5], 因此可认为它是一种极有应用前景的抗肿瘤药物。但是, 由于丹参酮 II_A 水溶性较差, 口服生物利用度较低, 体内消除半衰期短, 临床上常采用其磺酸钠盐注射液, 但它稳定性较差, 刺激性较强, 临床表现复杂, 主要为皮肤及其附件损害、全身性反应, 严重者可出现过敏性休克^[6]。本实验针对丹参酮 II_A 的理化性质, 采用去溶剂化交联法制备丹参酮 II_A 鱼精

收稿日期: 2015-02-11

作者简介: 冯博 (1989—), 女, 硕士, 从事中西药物新型给药系统研究。Tel: 13940536239, E-mail: lyxfengbo@163.com

* 通信作者: 承伟 (1958—), 男, 博士, 教授, 从事中西药物新型给药系统研究。Tel: 13019810828, E-mail: cheng2553807@126.com

2534