

左归浓缩丸稳定性评价

李 玲¹, 袁秀荣², 杨 骏³, 杨 莉¹, 王 冰^{1*}, 张 彤^{1*}

(1. 上海中医药大学教学实验中心, 上海 201203; 2. 上海中医药大学中药产学研合作中心, 上海 201203; 3. 香山中医医院, 上海 200020)

摘要: 目的 评价左归浓缩丸的稳定性。方法 HPLC 法测定毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷含有量, 经典恒温加速试验检测其相对含有量, 拟合动力学方程。经典恒温法和多元线性模型预测有效期, 高温、高湿、强光照、加速、长期试验考察稳定性。结果 毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷的降解均符合一级动力学过程, 2 种方法所测左归浓缩丸的有效期分别为 25.6 个月和 23.9 个月。在各试验下, 3 种成分含有量、外观性状、溶散时限、水分、重量差异均无明显变化。结论 左归浓缩丸稳定性较好, 有效期暂定为 2 年。

关键词: 左归浓缩丸; 稳定性; 毛蕊花糖苷; 马钱苷; 金丝桃苷; 有效期

中图分类号: R927.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)06-1165-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.06.011

Evaluation of stability of Zuogui Concentrated Pills

LI Ling¹, YUAN Xiu-rong², YANG Jun³, YANG Li¹, WANG Bing^{1*}, ZHANG Tong^{1*}

(1. Experiment Center for Teaching and Learning, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Collaboration Center of Industry-University for Chinese Medicine Development, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Xiangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200020, China)

ABSTRACT: AIM To evaluate the stability of Zuogui Concentrated Pills. **METHODS** HPLC was applied to determining the contents of acteoside, loganin and hyperoside, whose relative contents were detected by classical constant temperature accelerated test, after which the fitting of kinetic equation was conducted. The period of validity was predicted by classical constant temperature method and multivariate linear model, and the stability was investigated by high temperature, high humidity, strong light, accelerated and long-term tests. **RESULTS** The degradation of acteoside, loganin and hyperoside accorded with the first-order kinetic process. The periods of validity were found to be 25.6 months and 23.9 months by two methods, respectively. No obvious changes were observed on three constituents' contents, appearance and character, disintegration time limit, moisture content and weight variation under various tests. **CONCLUSION** A tentatively scheduled two-year validity period is suitable for Zuogui Concentrated Pills due to its good stability.

KEY WORDS: Zuogui Concentrated Pills; stability; acteoside; loganin; hyperoside; validity period

左归丸处方源于《景岳全书》卷五十一, 是明代医学家张景岳(温补派代表)由六味地黄丸化裁而成, 全方由熟地黄、菟丝子、牛膝、山药、

山茱萸、枸杞子 6 味常用中草药和龟甲胶、鹿角胶 2 味动物药组成, 具有滋补肝肾, 填精益髓的功效^[1]。研究表明, 左归丸对骨质疏松症^[2-3]、自身

收稿日期: 2016-09-08

基金项目: 新世纪优秀人才支持计划 (NCET-10-0944); 上海市教委知识服务平台项目 (2013)

作者简介: 李 玲 (1990—), 女, 硕士, 助理实验师, 从事中药新药研究。Tel: (021) 51322332, E-mail: liling_sh@163.com

* 通信作者: 王 冰 (1974—), 女, 博士, 副教授, 从事中药纳米给药系统研究。Tel: (021) 51323123, E-mail: annabel_cn@163.com

张 彤 (1972—), 男, 博士, 教授, 从事中药制药及中药分析技术研究。Tel: (021) 51322318, E-mail: zhangtdmj@hotmail.com

免疫性脑脊髓炎^[4-6]、阿尔茨海默症^[7]、更年期综合征^[8]等疾病有良好的治疗效果。课题组前期已对左归丸进行提取、纯化、制剂工艺等研究,制得了左归浓缩丸^[9-10]。

药品稳定性研究是确定其有效期的主要依据,常用方法为留样观察法,但其耗时长、效率低,无法得到精确结果。经典恒温加速试验法可模拟药物在不同温度下的化学动力学过程,得到药物降解趋势,可在短时间内了解制剂稳定性。由于中药复方成分复杂,某一成分的稳定性考察并不足以代表中药复方整体的稳定性情况,故采用多指标成分综合评价是未来发展的必然趋势^[11]。本实验选择与左归丸药效关系最密切、化学结构相差较大的3个活性成分(熟地黄中毛蕊花糖苷、山茱萸中马钱苷、菟丝子中金丝桃苷)作为综合检测指标,进行稳定性影响因素考察、加速及长期稳定性试验,并进一步采用经典恒温法和多元线性模型预测该制剂的有效期。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200 series 高效液相色谱仪,配置VWD检测器、四元恒流泵、在线脱气机、自动进样器、柱温箱; XMTF-6000 电热恒温水浴锅(上海申生科技有限公司); XMTD-8222 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); LHS-100CL恒湿恒温箱(上海一恒科学仪器有限公司); LS-4000 低温药物光照仪(上海黄海药检仪器有限公司);

1.2 试药 左归浓缩丸(5 g/袋,上海中药制药工程有限公司代加工制备,批号分别为20150107、20150108、20150109)。毛蕊花糖苷(批号111530-201411)、马钱苷(批号111640-201005)、金丝桃苷(批号111521-201406)对照品均购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈为色谱纯(安徽时联特种溶剂股份有限公司);其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);水为纯净水(杭州娃哈哈百立食品有限公司)。

2 方法与结果

2.1 毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷含有量测定^[12]

2.1.1 色谱条件

2.1.1.1 毛蕊花糖苷 AlltimaTM C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相乙腈-1%乙酸(13:87);体积流量1 mL/min;柱温30 °C;检测波长334 nm;进样量20 μL。

2.1.1.2 马钱苷 AlltimaTM C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相甲醇-水(25:75);体积流量1 mL/min;柱温30 °C;检测波长240 nm;进样量10 μL。

2.1.1.3 金丝桃苷 AlltimaTM C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相乙腈-0.1%磷酸(14:86);体积流量1 mL/min;柱温30 °C;检测波长360 nm;进样量10 μL。

2.1.2 对照品贮备液制备 精密称取毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷对照品各10 mg,甲醇溶解并定容至20 mL,摇匀,即得。

2.1.3 线性关系考察 以毛蕊花糖苷对照品贮备液为母液,流动相依次稀释为2.63、5.26、6.57、13.14、32.85 μg/mL系列质量浓度,各吸取20 μL注入色谱仪,以峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X)进行回归(下同),得标准曲线为Y=36.297X-49.091(r=0.9995),在2.63~32.85 μg/mL范围内线性关系良好。以马钱苷对照品贮备液为母液,80%甲醇依次稀释为3.07、6.14、12.28、30.70、61.40 μg/mL系列质量浓度。各吸取10 μL注入色谱仪,得标准曲线为Y=17.768X-11.747(r=0.9999),在3.07~61.40 μg/mL范围内线性关系良好。以金丝桃苷对照品贮备液为母液,甲醇依次稀释为2.87、4.59、11.47、28.68、45.88 μg/mL系列质量浓度,各吸取10 μL注入色谱仪,得标准曲线为Y=22.082X-18.929(r=0.9994),在2.87~45.88 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.4 供试品溶液制备 精密称取左归浓缩丸细粉2 g,加80%甲醇70 mL,称定质量,加热回流15 min,冷却后称定质量,80%甲醇补足减失的质量,过滤,即得马钱苷和金丝桃苷供试品溶液。取滤液35 mL,水浴蒸至近干,流动相溶解并定容至5 mL,过滤,取续滤液,即得毛蕊花糖苷供试品溶液。

2.2 经典恒温加速试验 取样品适量,粉碎过60目筛,精密称取4 g,置于10 mL安瓿瓶中,熔融封口,置于恒温恒湿箱中,温度分别为80、90、100、110、120 °C,在试验设计的时间点取样,按“2.1.4”项下方法制备供试品溶液,平行2份,在“2.1.1”项色谱条件下测定,计算相对含有量,公式为相对含有量=(不同取样时间点供试品中成分含有量/制剂中原有成分含有量)×100%,重复2次。结果见表1。

表1 各成分相对含有量测定结果 (n=2)

Tab. 1 Results of relative content determination of various constituents (n=2)

| 温度/℃ | 取样时间点/h | 相对含有量/% | | |
|------|---------|---------|--------|--------|
| | | 毛蕊花糖苷 | 马钱苷 | 金丝桃苷 |
| 80 | 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 24 | 93.56 | 97.56 | 92.59 |
| | 48 | 87.21 | 95.39 | 88.02 |
| | 72 | 81.38 | 93.19 | 81.38 |
| | 96 | 76.73 | 90.95 | 75.95 |
| | 120 | 71.84 | 88.74 | 70.87 |
| 90 | 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 12 | 87.46 | 95.13 | 79.68 |
| | 24 | 76.62 | 92.60 | 68.73 |
| | 36 | 68.09 | 88.91 | 55.16 |
| | 48 | 59.37 | 85.98 | 42.13 |
| | 72 | 46.73 | 79.41 | 31.13 |
| 100 | 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 4 | 95.54 | 98.62 | 88.73 |
| | 8 | 87.35 | 97.20 | 71.21 |
| | 12 | 80.13 | 96.00 | 65.64 |
| | 24 | 63.67 | 92.50 | 46.73 |
| | 48 | 38.89 | 85.16 | 22.01 |
| 110 | 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 4 | 86.75 | 91.09 | 80.14 |
| | 6 | 80.75 | 86.88 | 61.15 |
| | 8 | 75.75 | 83.51 | 50.70 |
| | 12 | 64.59 | 76.64 | 39.90 |
| | 24 | 43.77 | 59.67 | 15.79 |
| 120 | 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 2 | 72.23 | 87.57 | 54.89 |
| | 4 | 56.44 | 82.55 | 44.11 |
| | 6 | 45.08 | 79.54 | 23.93 |
| | 8 | 36.19 | 74.26 | 14.93 |
| | 12 | 22.50 | 64.96 | 6.61 |

表2 动力学方程拟合结果
Tab. 2 Results of kinetic equation fitting

| 温度/℃ | 毛蕊花糖苷 | | | 马钱苷 | | | 金丝桃苷 | | |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | R ² (n=0) | R ² (n=1) | R ² (n=2) | R ² (n=0) | R ² (n=1) | R ² (n=2) | R ² (n=0) | R ² (n=1) | R ² (n=2) |
| 80 | 0.995 2 | 0.999 3 | 0.998 9 | 0.999 7 | 0.999 8 | 0.999 2 | 0.996 5 | 0.998 0 | 0.994 4 |
| 90 | 0.981 4 | 0.999 5 | 0.989 5 | 0.995 0 | 0.996 9 | 0.995 8 | 0.956 7 | 0.993 1 | 0.975 1 |
| 100 | 0.986 3 | 0.998 8 | 0.980 2 | 0.999 4 | 0.999 5 | 0.998 7 | 0.931 5 | 0.995 8 | 0.967 1 |
| 110 | 0.976 2 | 0.999 0 | 0.989 8 | 0.988 4 | 0.999 4 | 0.996 7 | 0.896 1 | 0.994 2 | 0.946 1 |
| 120 | 0.917 5 | 0.996 1 | 0.962 8 | 0.952 0 | 0.983 9 | 0.983 7 | 0.837 0 | 0.992 8 | 0.880 6 |

2.3 影响因素试验^[15]

2.3.1 高温试验 将样品置于洁净的平面皿中，在60℃下放置10 d，于0、5、10 d取样，按稳定性考察项目进行检测。结果，与第0天比较，马钱苷含有量基本不变，毛蕊花糖苷和金丝桃苷略有下降，但均小于5%，外观性状无变化，表明该制剂在高温下稳定性良好。

2.2.1 反应级数确定 将表1数据进行拟合，根据R²来判断各成分的降解动力学过程 (R²越大，与对应方程的拟合度越好。零级、一级、二级反应，n=0、1、2)，结果见表2。由表可知，当n=1时，3种成分的R²均最大，即均符合一级动力学过程。

2.2.2 降解速率常数 (k) 结果见表3。

2.2.3 经典恒温法预测有效期^[13] 将Arrhenius公式 $k(T) = Ae^{-E/(RT)}$ 的等式两边取自然对数，可得 $\ln[k(T)] = \ln(A) - E/(RT)$ ，即 $\ln[k(T)]$ 与 $1/T$ 呈线性关系，故以 $\ln[k(T)]$ 对 $1/T$ 线性回归，可求出 $T = 298$ K 时 $\ln[k(298)]$ 的值，从而推断药物在25℃室温下有效成分减少10%所需的时间， $t_{0.9} = 0.1054/k$ 。结果见表4。

2.2.4 多元线性模型预测有效期^[14] 结合药物降解反应恒温动力学的基本公式 $f(C_0) - f(C) = k(T)t$ 和Arrhenius公式 $k(T) = Ae^{-E/(RT)}$ ，代入后等式两边取对数，得到多元线性模型的基本计算公式 $\ln t = \ln[f(C_0) - f(C)] + E/(RT) - \ln A$ 。由于毛蕊花糖苷、金丝桃苷、马钱苷的降解均符合一级动力学过程， $f(C) = \ln C$ ，即 $\ln t = \ln(\ln C_0 - \ln C) + E/(RT) - \ln A$ ，在表1各温度条件下，任选2个数据进行计算，结果见表5。

采用SPSS 19.0软件，以 $\ln t$ 对 $\ln(\ln C_0 - \ln C)$ 、 $1/T$ 进行多元线性回归，得回归方程，再以 $C = 0.9$ 、 $C_0 = 1$ 、 $T = 298$ K 代入，即得药物在25℃室温下浓度下降10%所需的时间。结果见表6。

2.3.2 高湿试验 将样品置于恒湿密闭容器内(放置KNO₃饱和溶液)，于温度25℃、相对湿度(92.5±5)%条件下放置10 d，于0、5、10 d取样，按稳定性考察项目进行检测，同时准确称量试验前后样品的质量，以考察其吸湿增重。结果，与第0天比较，高湿放置10 d后，样品具有一定吸湿性，但吸湿增重均小于5%；毛蕊花糖苷、马钱

表3 降解速率常数(k)测定结果Tab. 3 Results of degradation rate constant (k) determination

| 成分 | 温度/℃ | (1/T)/K ⁻¹ | k | ln k |
|-------|------|-----------------------|---------|--------|
| 毛蕊花糖苷 | 80 | 0.002 833 | 0.002 8 | -5.878 |
| | 90 | 0.002 755 | 0.010 6 | -4.547 |
| | 100 | 0.002 681 | 0.020 0 | -3.912 |
| | 110 | 0.002 611 | 0.037 5 | -3.283 |
| | 120 | 0.002 545 | 0.121 4 | -2.109 |
| | 80 | 0.002 833 | 0.000 9 | -7.013 |
| 马钱苷 | 90 | 0.002 755 | 0.002 6 | -5.952 |
| | 100 | 0.002 681 | 0.003 2 | -5.745 |
| | 110 | 0.002 611 | 0.021 4 | -3.844 |
| | 120 | 0.002 545 | 0.033 5 | -3.396 |
| | 80 | 0.002 833 | 0.002 9 | -5.843 |
| | 90 | 0.002 755 | 0.016 5 | -4.104 |
| 金丝桃苷 | 100 | 0.002 681 | 0.028 9 | -3.544 |
| | 110 | 0.002 611 | 0.077 7 | -2.555 |
| | 120 | 0.002 545 | 0.225 4 | -1.490 |
| | 80 | 0.002 833 | 0.002 9 | -5.843 |
| | 90 | 0.002 755 | 0.016 5 | -4.104 |
| | 100 | 0.002 681 | 0.028 9 | -3.544 |

表4 经典恒温法所预测的有效期

Tab. 4 Periods of validity predicted by classic constant temperature method

| 成分 | 回归方程 | r | ln k | $t_{0.9}/月$ |
|-------|---------------------------------|---------|-----------|-------------|
| 毛蕊花糖苷 | ln k = -12.102 × 1/T + 28.528 | 0.987 3 | -12.082 7 | 25.6 |
| 马钱苷 | ln k = -12.399 × 1/T + 28.163 | 0.965 1 | -13.444 4 | 99.6 |
| 金丝桃苷 | ln k = -14.261 × 1/T + 34.795 | 0.989 7 | -13.060 7 | 67.9 |

苷、金丝桃苷含有量略有下降，可能是由于吸湿后含水量增加所致；外观性状无变化，说明该制剂宜采用防潮包装。

2.3.3 强光照试验 将样品置于洁净的平面皿中，放在装有日光灯的光照箱内，于(4500 ± 500)lx条件下放置10 d，于0、5、10 d取样，按稳定性考察项目进行检测。结果，与第0天比较，毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷含有量基本不变，外观性状无变化，表明该制剂在强光照射下稳定。

2.4 加速试验^[15] 取样品3批(批号分别为20150107、20150108、20150109)，按市售铝箔袋包装，在温度(40 ± 2)℃、相对湿度(75 ± 5)%条件下放置6个月，于0、1、2、3、6月取样1次。结果，与0月比较，毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷含有量基本不变，外观性状、溶散时限、水分、重量差异检查等指标均合格。

2.5 长期试验^[15] 取样品3批(批号分别为20150107、20150108、20150109)，按市售铝箔袋包装，在温度(40 ± 2)℃、相对湿度(60 ± 5)%条件下放置12个月，于0、3、6、9、12取样1次。结果，毛蕊花糖苷、马钱苷、金丝桃苷含有量基本不变，12个月内外观性状、溶散时限、水分

和重量差异等指标与0月相比均无明显改变。

表5 多元线性模型数据

Tab. 5 Data on multivariate linear model

| 成分 | 温度/℃ | (1/T)/K ⁻¹ | t/h | ln t | ln(ln C_0 - ln C) |
|-------|------|-----------------------|-------|---------|------------------------|
| 毛蕊花糖苷 | 80 | 0.002 83 | 72 | 4.277 0 | -1.579 6 |
| | 80 | 0.002 83 | 120 | 4.787 0 | -1.106 6 |
| | 90 | 0.002 75 | 24 | 3.178 0 | -1.323 0 |
| | 90 | 0.002 75 | 72 | 4.277 0 | -0.273 4 |
| | 100 | 0.002 68 | 8 | 2.079 0 | -2.000 6 |
| | 100 | 0.002 68 | 48 | 3.871 0 | -0.057 2 |
| 马钱苷 | 100 | 0.002 61 | 12 | 2.485 0 | -1.507 2 |
| | 110 | 0.002 61 | 24 | 3.178 0 | -0.190 8 |
| | 120 | 0.002 54 | 2 | 0.693 0 | -1.122 9 |
| | 120 | 0.002 54 | 12 | 2.485 0 | 0.399 8 |
| | 80 | 0.002 83 | 24 | 3.178 0 | -3.700 6 |
| | 80 | 0.002 83 | 96 | 4.564 0 | -2.354 9 |
| 金丝桃苷 | 90 | 0.002 75 | 12 | 2.485 0 | -2.997 1 |
| | 90 | 0.002 75 | 72 | 4.277 0 | -1.467 3 |
| | 100 | 0.002 68 | 4 | 1.386 0 | -4.279 3 |
| | 100 | 0.002 68 | 48 | 3.871 0 | -1.828 3 |
| | 110 | 0.002 61 | 8 | 1.386 0 | -1.713 9 |
| | 110 | 0.002 61 | 12 | 3.178 0 | -1.324 1 |
| 金丝桃苷 | 120 | 0.002 54 | 2 | 0.693 0 | -2.019 2 |
| | 120 | 0.002 54 | 12 | 2.485 0 | -0.840 9 |
| | 80 | 0.002 83 | 24 | 3.178 1 | -2.564 1 |
| | 80 | 0.002 83 | 72 | 4.276 7 | -1.579 4 |
| | 90 | 0.002 75 | 24 | 3.178 1 | -0.981 0 |
| | 90 | 0.002 75 | 48 | 3.871 2 | -0.145 7 |
| 金丝桃苷 | 100 | 0.002 68 | 12 | 2.484 9 | -0.865 0 |
| | 100 | 0.002 68 | 48 | 3.871 2 | 0.414 7 |
| | 110 | 0.002 61 | 6 | 1.791 8 | -0.709 7 |
| | 110 | 0.002 61 | 24 | 3.178 1 | 0.612 8 |
| | 120 | 0.002 54 | 2 | 0.693 1 | -0.511 0 |
| | 120 | 0.002 54 | 12 | 2.484 9 | 0.999 2 |

表6 多元线性模型所预测的有效期

Tab. 6 Periods of validity predicted by multivariate linear model

| 成分 | 回归方程 | ln t | $t_{0.9}/月$ |
|-------|---|--------|-------------|
| 毛蕊花糖苷 | ln t = -27.285 + 0.833 5ln(ln C_0 - ln C) + 11.600.188/T | 9.767 | 23.9 |
| | ln t = -28.992 + 0.872 2ln(ln C_0 - ln C) + 12.553.527/T | 11.172 | 97.3 |
| 金丝桃苷 | ln t = -34.835 + 0.958 5ln(ln C_0 - ln C) + 14.244.407/T | 10.809 | 67.8 |
| | | | |

3 讨论

熟地黄中的毛蕊花糖苷具有抗氧化、抗炎、细胞调控等作用，可改善Aβ25-35诱导细胞，有治疗阿尔茨海默症的潜力^[16-19]；山茱萸中的马钱苷具有抗氧化、改善学习和记忆功能、神经保护等作用，对阿尔茨海默症中的记忆障碍有显著疗效，是治疗神经退行性病变的潜在药物^[20-22]；菟丝子中的金丝桃苷具有抗氧化、抗骨质疏松、抗老年痴呆

等作用^[23-25]，三者均与左归浓缩丸的临床药效有密切关系。前期研究表明，其对热降解速率的差异较大，能反映复方制剂的稳定性。

本实验分别对加速试验条件下试验0、1、2、3、6个月和长期试验条件下0、3、6、9、12个月时左归浓缩丸的稳定性进行了考察，发现其稳定性较好。同时，采用经典恒温法与多元线性模型预测有效期，发现2种方法所得结果基本一致。综合考虑以上3种成分，应以预测有效期最短的毛蕊花糖苷为指标，故暂定左归浓缩丸的有效期为2年。

经典恒温加速法与多元线性模型预测有效期相比，前者取样点多、数据处理繁琐、工作量大，但准确率高；后者取样点少、计算简单、工作量小，但必须知道反应级数才能进行计算。另外，后者在每个温度下随机选取的点不同，计算得到的有效期有一定差异，线性回归系数(*r*)对其预测有效期的准确度有较大的影响，即*r*值越接近于1，准确度越高。

综上所述，本实验可为药物包装、储存、有效期制定等方面提供依据，也能为成分复杂的中药复方制剂稳定性研究贡献思路。

参考文献：

- [1] Shu B, Shi Q, Wang Y J. Shen (Kidney) -tonifying principle for primary osteoporosis: to treat both the disease and the Chinese medicine syndrome [J]. *Chin J Integr Med*, 2015, 21 (9): 656-661.
- [2] Liu M J, Li Y, Pan J H, et al. Effects of zuogui pill (see text) on Wnt signal transduction in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. *J Tradit Chin Med*, 2011, 31(2): 98-102.
- [3] Tang D Z, Li C G, Cui X J, et al. A multicenter, randomized, double-blind, and placebo-controlled study of Chinese zuogui pill and yougui pill for improving bone mineral density [J]. *J Orthop Trans*, 2014, 2(4): 215.
- [4] Kou S, Zheng Q, Wang Y, et al. Zuo-Gui and You-Gui pills, two traditional Chinese herbal formulas, downregulated the expression of NogoA, NgR, and RhoA in rats with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 158: 102-112.
- [5] Wang Y, Kou S, Gu L, et al. Effects of Zuogui Pill and Yougui Pill on the expression of brain-derived neurotrophic factor and cyclic adenosine monophosphate/protein kinase a signaling transduction pathways of axonal regeneration in model rats with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Chin J Integr Med*, 2014, 20(1): 24-30.
- [6] Wang L, Zhao H, Fan Y, et al. Research on the mechanism of Zuogui Pill and Yougui Pill in promoting axonal regeneration in model rats of autoimmune encephalomyelitis [J]. *Chin J Integr Med*, 2010, 16(2): 167-172.
- [7] 徐晶. 左归丸加味治疗肾精亏虚型老年痴呆的临床观察 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2013.
- [8] 林源泉. 左归丸加味治疗肾阴虚型更年期综合征的临床研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2007.
- [9] 李玲, 王冰, 张彤, 等. 正交试验法优选左归丸的醇提和水提工艺 [J]. *中药材*, 2015, 38(8): 1724-1727.
- [10] 李玲, 徐本亮, 王冰, 等. 多指标综合评分法优选左归丸处方最佳醇沉浓度 [J]. *数理医药学杂志*, 2016, 29 (1): 62-65.
- [11] 王群, 刘文, 陈中芬, 等. 多指标经典恒温法预测戊己胃漂浮缓释片有效期 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(7): 2370-2373.
- [12] 李玲, 杨骏, 王冰, 等. 左归浓缩丸质量标准的研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(4): 791-794.
- [13] 汤瑾, 刘文, 冯果, 等. 复方白头翁结肠靶向片的稳定性考察 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(2): 17-19.
- [14] 洪清, 袁曦, 王友芳, 等. 多元线性模型和经典恒温法预测天宁滴丸有效期 [J]. *中国现代应用药学*, 2013, 30 (4): 416-419.
- [15] 霍秀敏, 魏农农, 何伍, 等. 解读《化学药物(原料药和制剂)稳定性研究技术指导原则》 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(10): 974-978.
- [16] Korkina L G. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2007, 53(1): 15-25.
- [17] Korkina L G, Mikhal'chik E, Suprun M V, et al. Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring biotechnologically produced phenylpropanoid glycosides [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand, France)*, 2007, 53(5): 84-91.
- [18] Wang H, Xu Y, Yan J, et al. Acteoside protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against β -amyloid-induced cell injury [J]. *Brain Res*, 2009, 1283: 139-147.
- [19] Zhang W, Huo S X, Wen Y L, et al. Pharmacokinetics of acteoside following single dose intragastric and intravenous administrations in dogs [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(8): 634-640.
- [20] Park C H, Tanaka T, Kim J H, et al. Hepato-protective effects of loganin, iridoid glycoside from *Corni Fructus*, against hyperglycemia-activated signaling pathway in liver of type 2 diabetic db/db mice [J]. *Toxicology*, 2011, 290(1): 14-21.
- [21] Kwon S H, Kim H C, Lee S Y, et al. Loganin improves learning and memory impairments induced by scopolamine in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 619(1-3): 44-49.
- [22] Kwon S H, Kim J A, Hong S I, et al. Loganin protects against hydrogen peroxide-induced apoptosis by inhibiting phosphorylation of JNK, p38, and ERK 1/2 MAPKs in SH-SY5Y cells [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(4): 533-541.
- [23] Piao M J, Kang K A, Zhang R, et al. Hyperoside prevents oxidative damage induced by hydrogen peroxide in lung fibroblast cells via an antioxidant effect [J]. *BBA-Gen Subjects*, 2008, 1780(12): 1448-1457.

- [24] Yang L, Chen Q, Wang F, et al. Antosteoporotic compounds from seeds of *Cuscuta chinensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(2): 553-560.
- [25] Zeng K W, Wang X M, Ko H, et al. Hyperoside protects pri-

- mary rat cortical neurons from neurotoxicity induced by amyloid β -protein via the PI3K/Akt/Bad/Bcl (XL)-regulated mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 672(1-3): 45-55.

水蜈蚣总黄酮固体脂质纳米粒处方的优化

田茜¹, 贺敬霞¹, 何晨¹, 田璐¹, 尹蓉莉^{1*}, 杨军宣², 罗开沛¹

(1. 成都中医药大学, 四川成都 611137; 2. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016)

摘要: 目的 优化水蜈蚣 *Kyllinga brevifolia* Rottb. 总黄酮固体脂质纳米粒处方。方法 乳化蒸发-低温固化法制备固体脂质纳米粒。以总黄酮含有量、泊洛沙姆 188 用量、单硬脂酸甘油酯用量为影响因素, 包封率和平均粒径为评价指标, Box-Behnken 效应面优化处方, 并通过透析法考察其体外释药性。结果 最佳处方为总黄酮含有量 7%, 泊洛沙姆 188 用量 6.73%, 单硬脂酸甘油酯用量 3.49%, 包封率 99.30%, 平均粒径 76.5 nm。固体脂质纳米粒 8 h 时累积释放度为 53.83%, 24 h 时达 90.41%, 与 Ritger-Peppas 模型拟合度最高, 为药物扩散和脂质载体材料溶蚀的协同过程。结论 该方法稳定可行, 可为开发水蜈蚣新型制剂提供依据。

关键词: 水蜈蚣; 总黄酮; 固体脂质纳米粒; Box-Behnken 效应面法

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2017)06-1170-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.06.012

Formulation optimization for *Kyllinga brevifolia* total flavonoids-loaded solid lipid nanoparticles

TIAN Qian¹, HE Jing-xia¹, HE Chen¹, TIAN Lu¹, YIN Rong-li^{1*}, YANG Jun-xuan², LUO Kai-pei¹

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Traditional Chinese Medicine College of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

KEY WORDS: *Kyllinga brevifolia* Rottb.; total flavonoids; solid lipid nanoparticles; Box-Behnken response surface method

水蜈蚣系莎草科多年生草本植物水蜈蚣 *Kyllinga brevifolia* Rottb. 的全草, 其性平, 味辛、甘、微苦, 具有消炎、消肿、止痛、治疗乳糜尿等功效。临幊上使用的水蜈蚣颗粒是其提取精制而成的制剂, 主要有效成分为总黄酮, 用于治疗乳糜尿^[1]。杨艳俊等^[2]采用微波辅助提取水蜈蚣总黄酮, 发现其不仅含挥发油、有机酸、酚类等成分, 还含有黄酮类化合物, 代表性成分有橙皮素、芸香

素、牡荆素、荭草素等^[3], 但水蜈蚣总黄酮难溶于水, 影响其体外释药, 而且口服生物利用度低, 限制了临床应用。

固体脂质纳米粒是正在发展的一种新型给药系统, 综合了脂质体和乳化剂的优点, 以天然或合成的生理相容性好、高熔点、室温下为固态的脂质为载体, 将药物包裹于类脂核中制成的固体脂质粒子, 其粒径在 10~1 000 nm 范围内, 可提高药物

收稿日期: 2016-08-05

基金项目: 重庆市科技计划项目 (cstc2014yykfA110020)

作者简介: 田茜(1988—), 女, 硕士生, 药师, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 15882044956, E-mail: cherryrz@sina.com

*通信作者: 尹蓉莉 (1952—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 13689056666, E-mail: yinronglili@163.com