

[制剂]

四神丸中3种成分在正常大鼠及抑郁大鼠体内药动学的比较

孙红, 宋珊珊, 井汶, 张优, 谷雨, 居文政*
(南京中医药大学附属医院, 江苏南京 210029)

摘要: **目的** 比较四神丸中3种成分在正常大鼠及抑郁大鼠体内的药动学。**方法** 12只大鼠随机分为正常组和模型组, 每组6只, 灌胃给予四神丸混悬液(4.63 mL/kg), 于5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480、720、960、1440 min采血, LC-MS/MS法测定补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲血药浓度, 绘制血药浓度-时间曲线, 计算主要药动学参数。**结果** 模型组3种成分 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 及补骨脂素 t_{max} 高于正常组($P<0.05$, $P<0.01$), 2组3种成分 $t_{1/2}$ 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 四神丸中补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲在抑郁大鼠体内的吸收程度高于正常大鼠体内, 而消除程度无明显变化。

关键词: 四神丸; 补骨脂素; 异补骨脂素; 五味子醇甲; 抑郁症; LC-MS/MS

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)05-1109-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.001

Comparison of *in vivo* pharmacokinetics of three constituents in Sishen Pills in normal rats and depressed rats

SUN Hong, SONG Shan-shan, JING Wen, ZHANG You, GU Yu, JU Wen-zheng*
(The Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT: AIM To compare the *in vivo* pharmacokinetics of three constituents in Sishen Pills in normal rats and depressed rats. **METHODS** Twelve rats were randomly assigned into normal group and model group, 6 rats in each group, all of which were given intragastric administration of Sishen Pills suspension (4.63 mL/kg). Blood collections were performed at 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720, 960, 1440 min, LC-MS/MS was adopted in the plasma concentration determination of psoralen, isopsoralen and schisandrin A, plasma concentration-time curves were drawn, and main pharmacokinetic parameters were calculated. **RESULTS** The C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ of three constituents and t_{max} of psoralen in the model group were higher than those in the normal group ($P<0.05$, $P<0.01$), and the $t_{1/2}$ of three constituents in the two groups demonstrated no obvious differences ($P>0.05$). **CONCLUSION** Psoralen, isopsoralen and schisandrin A in Sishen Pills display higher absorption degrees in depressed rats *in vivo* than those in the normal rats *in vivo*, while elimination degrees exhibit no obvious changes.

KEY WORDS: Sishen Pills; psoralen; isopsoralen; schisandrin A; depression; LC-MS/MS

抑郁症具有高发病、高自杀、高复发和低识别、低就诊、低治疗等特点, 已成为21世纪最主要的精神疾病, 据WHO统计, 全球抑郁症患者达12.8%, 预计2030年将成为仅次于心血管疾病的第二大疾病^[1-2], 我国患病率高达6.1%^[3]。目前,

抗抑郁西药以单胺类抑制剂为主^[4], 但这些药物起效慢, 不良反应明显, 而且30%~50%的患者不敏感。近年来, 中医药在防治抑郁症上获得较好的临床疗效。

四神丸出自《证治准绳》, 由肉豆蔻、补骨

收稿日期: 2019-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573685)

作者简介: 孙红(1994—), 女, 硕士生, 从事临床药学研究。Tel: (025) 86617141, E-mail: 1848646256@qq.com

*通信作者: 居文政(1965—), 男, 教授, 主任药师, 博士生导师, 从事中药临床药理学研究。Tel: (025) 86617141, E-mail: wzhju333@163.com

脂、五味子、吴茱萸、大枣等药材组成^[5]，具有温补脾肾的功能，组方加减后用于治疗脾肾阳虚患者有一定疗效^[6]。原发性抑郁、内源性抑郁、恶劣心境中的抑郁情绪在本质上“属虚”，五脏阳气不足是其病理基础^[7]，根据中医郁证病机中“阳虚致郁”的理论^[8-9]，四神丸可改善脾肾阳虚所致的抑郁状态，动物实验表明^[10-14]，方中补骨脂和五味子中主要成分补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲具有抗抑郁作用，但作用机理尚不明确，虽然已有方中补骨脂素、异补骨脂素在正常大鼠中的药动学研究^[15]，但尚未见在抑郁大鼠中的相关报道。因此，本实验将比较四神丸中上述3种成分在正常大鼠和抑郁大鼠体内的药动学，探索其作用机理。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪，配置 API 4000 LC-MS/MS 三重四级杆质谱仪（美国 Agilent 公司）；MS105 电子天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；Centrifuge-5417R 冷冻离心机（德国 Eppendorf 公司）；Advantage A10 超纯水机（法国 Millipore 公司）；MIX-25P 旋涡混合仪（杭州米欧仪器有限公司）；Labconco 离心浓缩仪（美国 Labconco 公司）；RE-52CS 旋转蒸发器（上海亚荣生化仪器厂）。

1.2 试剂与药物 肉豆蔻（煨）（批号 171001）、补骨脂（盐炒）（批号 180404006）、五味子（醋制）（批号 170513001）、吴茱萸（制）（批号 160623）、大枣（去核）（批号 170520001）均购于北京同仁堂南京药店，经江苏省中医院药学部副主任中药师张倩鉴定为正品，符合《中国药典》标准。对照品补骨脂素（批号 17092820）、异补骨脂素（批号 18062910）、五味子醇甲（批号 17021905）均购于成都曼思特生物科技有限公司，纯度均 $\geq 98.5\%$ ；替硝唑（批号 100126-200402）购于中国食品药品检定研究院，纯度 $\geq 95\%$ 。四神丸根据 2015 年版《中国药典》处方自制，补骨脂、肉豆蔻、五味子、吴茱萸、大枣比例为 4 : 2 : 2 : 1 : 2，上述药材用 10 倍量 75% 乙醇浸泡 30 min，回流提取 2 h，滤渣再加 8 倍量 75% 乙醇回流提取 1 h，合并滤液，减压浓缩至无醇味， $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存，1 100 g 药材浓缩至 785 mL，即每 1 mL 药液含 1.4 g 原药材（分别含补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲 1.60、1.36、0.65 mg）。甲醇、乙腈购自德国 Merck 公司；水为超纯水。

1.3 动物 SD 大鼠，雄性，12 只，体质量

(190 \pm 10)g，由南通大学实验动物中心提供，动物生产许可证号 SCXK（苏）2019-0001。实验前大鼠适应性饲养 1 周，保持 12 h 昼夜节律，室温 (22 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ ，自由摄食饮水。

2 方法与结果

2.1 色谱、质谱条件 ACE Excel 3 C₁₈-PFP 色谱柱 (100 mm \times 3.0 mm)；流动相乙腈-0.1% 甲酸 (36 : 64)；体积流量 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ ；柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ；离子源 ESI⁺，多反应检测模式 (MRM)；离子源电压 4 000 V；离子源温度 400 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱参数见表 1。

表 1 各成分质谱参数

Tab. 1 MS parameters for various constituents

成分	离子化	母离子	子离子	锥孔	碰撞
	模式	<i>m/z</i>	<i>m/z</i>	电压/V	电压/V
补骨脂素	[M+H] ⁺	187.0	131.0	84	35
异补骨脂素	[M+H] ⁺	187.0	131.1	81	32
五味子醇甲	[M+H-H ₂ O] ⁺	415.2	384.2	112	30
替硝唑(内标)	[M+H] ⁺	248.0	121.1	80	20

2.2 溶液制备 精密称取补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲对照品适量，甲醇分别溶解定容至 2.07、2.14、2.00 mg/mL，以此为母液，临用前稀释。再精密称取替硝唑适量，配制成 100 ng/mL 内标液。

2.3 血浆样品处理 取 100 μL 空白血浆，加入 10 μL 内标溶液，涡旋混匀 30 s，加入 800 μL 乙酸乙酯，振荡 3 min，12 000 r/min 离心 10 min，取 700 μL 上清液，40 $^{\circ}\text{C}$ 下离心浓缩，加入 100 μL 50% 乙腈复溶，振荡 3 min，12 000 r/min 离心 10 min，取 5 μL 上清液进样分析。

2.4 造模及血浆样品采集 大鼠按体质量均衡和随机的原则分为正常组和模型组，每组 6 只，正常组每笼 3 只，模型组单笼饲养，并在 21 d 内接受 10 种刺激因子，包括禁食、禁水、潮湿垫料、昼夜颠倒、闪光、4 $^{\circ}\text{C}$ 冰水游泳、热刺激 5 min、束缚应激 6 h、水平振荡 10 min、触摸陌生异常物品。确认造模成功后，第 22 天大鼠禁食不禁水 12 h，灌胃给予四神丸混悬液 6.48 g/kg（即 4.63 mL/kg），于给药前及给药后 5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480、720、960、1 440 min 眼眶取血各约 0.3 mL，置于肝素化 EP 管中，4 000 r/min 离心 10 min，取上层血浆保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测。

2.5 行为学实验 在造模 3 周后开始。

2.5.1 糖水消耗实验 大鼠在适应性期间给予 2 瓶 2% 蔗糖溶液适应 3 d 后，才进行实验。大鼠禁

水 18 h, 每只给予体积相同的 1 瓶 2% 蔗糖溶液和 1 瓶纯水, 测试 4 h, 其中每 2 h 2 瓶水交换位置。实验结束后, 计算糖水消耗率, 公式为糖水消耗率 = [(蔗糖消耗量) / (纯水消耗量 + 蔗糖消耗量)] × 100%。

2.5.2 旷场实验 实验前需提前将大鼠搬入测试室使其适应环境 1 h, 再放入长、宽、高均为 50 cm, 内壁涂黑的纸箱中心, 底面平均分为 25 个 10 cm × 10 cm 的小方格。以 5 min 内大鼠三爪以上穿越底面的方格数为水平得分, 穿越 1 格得 1 分; 以大鼠双前肢抬起 1 cm 以上次数为垂直得分, 离地一次得 1 分。实验过程进行摄像和计时。

2.5.3 强迫游泳实验 正式实验前 1 d 大鼠进行预游泳, 将其放入 (24 ± 2) °C 水中并保持悬浮, 四肢不能触及桶底, 15 min 后取出, 擦干放回笼中, 整个实验过程保持安静。次日在相同条件下大鼠强迫游泳 5 min, 记录后 4 min 内不动时间 (大鼠仅有头部露出水面, 呈漂浮状态, 四肢可有微动)。

2.5.4 结果分析 经过 21 d 造模后, 与正常组比

较, 模型组大鼠糖水消耗率、水平得分、竖直得分降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 不动时间延长 ($P < 0.05$), 显示造模成功, 见表 2。

表 2 各组大鼠行为学实验结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

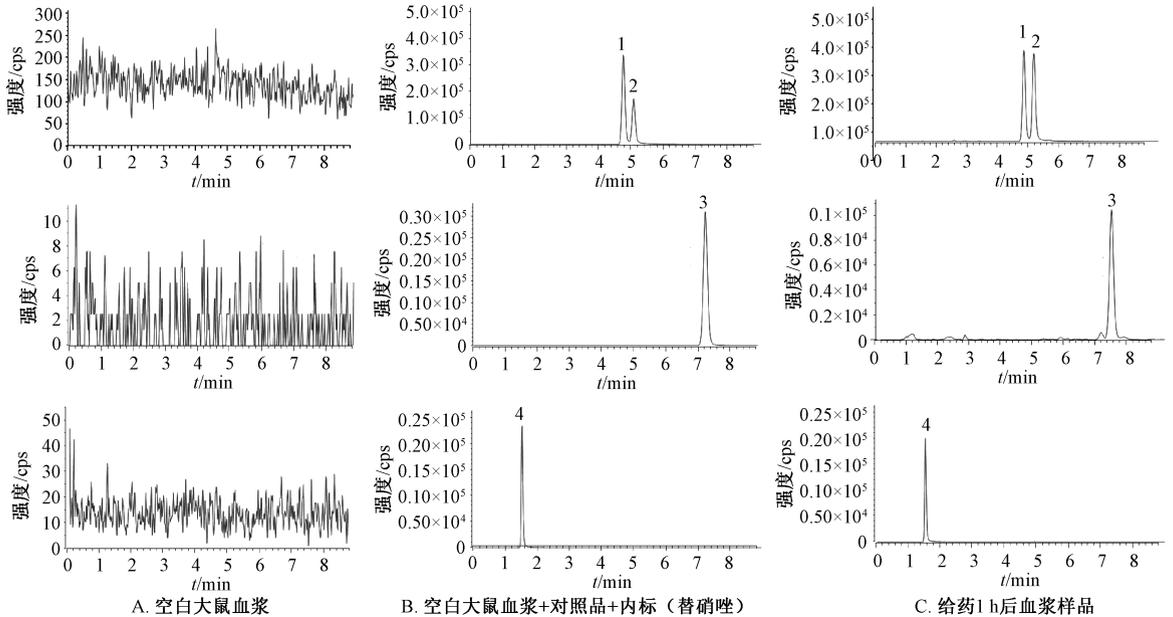
Tab. 2 Results of behavioral tests for rats in various groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

参数	正常组	模型组
糖水消耗率/%	91.18 ± 0.99	53.64 ± 3.54**
水平得分/分	118.20 ± 6.28	95.33 ± 3.79*
垂直得分/分	25.00 ± 1.24	20.00 ± 1.51*
不动时间/s	54.67 ± 4.48	82.50 ± 10.24*

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.6 方法学考察

2.6.1 专属性考察 取空白大鼠血浆、空白大鼠血浆 + 对照品 + 内标 (替硝唑)、给药 1 h 后血浆样品, 按“2.3”项下方法处理, 在“2.1”项条件下进样测定, 结果见图 1。由此可知, 补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲、内标 (替硝唑) 保留时间分别为 4.72、5.24、7.34、1.5 min, 各成分与内标色谱峰峰形良好而且互不干扰, 同时血浆中杂峰也无干扰, 基线平稳, 表明该方法专属性良好。



1. 补骨脂素 2. 异补骨脂素 3. 五味子醇甲 4. 内标 (替硝唑)
1. psoralen 2. isopsoralen 3. schisandrin A 4. internal standard (tinidazole)

图 1 各成分 LC-MS/MS 色谱图

Fig. 1 LC-MS/MS chromatograms of various constituents

2.6.2 线性关系考察 取 100 μL 空白大鼠血浆, 加入对照品、内标溶液各 10 μL, 按“2.3”项下方法处理, 在“2.1”项条件下进样测定。以各成

分峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 溶液质量浓度为横坐标 (X) 进行回归, 以 $S/N \geq 10$ 为最低定量限, 结果见表 3, 可知各成分在各组范

围内线性关系良好。

表3 各成分线性关系

Tab.3 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/ (ng·mL ⁻¹)	r	最低定量限/ (ng·mL ⁻¹)
补骨脂素	Y=0.13X+0.099 8	1.6~1 600	0.996 4	1.6
异补骨脂素	Y=0.073 2X+0.035 1	0.8~800	0.994 9	0.8
五味子醇甲	Y=0.344X+0.025 7	0.16~160	0.995 4	0.16

表4 各成分准确度、精密度、基质效应试验结果

Tab.4 Results of accuracy, precision and matrix effect tests for various constituents

成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内(n=5)		日间(n=15)		基质效应	
		准确度/%	精密度 RSD/%	准确度/%	精密度 RSD/%	平均值/%	RSD/%
补骨脂素	3.2	104.86	3.97	105.07	6.08	104.99	0.35
	80	101.62	3.27	104.29	3.16	100.38	0.33
	1 200	100.50	2.03	100.69	1.79	99.38	0.72
异补骨脂素	1.6	103.84	5.72	102.74	4.65	99.63	1.18
	40	100.38	3.73	102.91	3.66	100.59	0.82
	600	99.02	1.66	101.88	1.84	97.04	0.90
五味子醇甲	0.32	104.20	1.58	105.07	2.77	102.40	0.47
	8	98.72	2.03	102.97	3.58	99.85	0.26
	120	97.72	0.82	99.83	2.03	100.06	0.20

2.6.4 基质效应试验 精密加入低、中、高质量浓度对照品溶液及内标溶液各 10 μL, 复溶到 80 μL, 振荡 3 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 5 μL, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 峰面积为 A₁; 按“2.3”项下方法提取空白血浆(不加内标), 离心浓缩后同法操作, 峰面积为 A₂, 计算基质效应, 公式为基质效应 = A₂/A₁ × 100%, 结果见表 4, 可知内源性物质对 3 种成分无影响。

2.6.5 稳定性试验 取 100 μL 空白大鼠血浆, 按“2.6.3”项下方法制成低、中、高 3 个质量浓度的样品各 3 份, 分别在室温下放置 12 h、-20 °C 下反复冻融 3 次、-80 °C 下保存 30 d 后, 在“2.1”项色谱条件下进样测定。结果, 补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲峰面积 RSD 分别为 0.99% ~ 5.16%、1.09% ~ 4.78%、0.90% ~ 4.24%, 表明该方法稳定性良好, 符合生物样品分析要求。

2.6.6 提取回收率 取 100 μL 空白大鼠血浆, 按“2.6.3”项下方法制成低、中、高 3 个质量浓度的质控样品, 各 5 份, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 峰面积为 A₃, 计算提取回收率, 公式为提取回收率 = A₃/A₂ × 100%。结果, 补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲提取回收率分别为 66.33% ~ 70.28%、61.28% ~ 74.45%、61.93% ~ 68.16%。

2.7 药动学研究 各成分在正常大鼠、抑郁大鼠体内的血药浓度-时间曲线见图 2, 经 DAS1.0 软件处理分析后主要药动学参数见表 5。由此可知, 各

2.6.3 准确度、精密度试验 取 100 μL 空白大鼠血浆, 制成低、中、高 3 个质量浓度的样品(补骨脂素 3.2、80、1 200 ng/mL, 异补骨脂素 1.6、40、600 ng/mL, 五味子醇甲 0.32、8、120 ng/mL), 按“2.3”项下方法处理, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 连续 3 d, 结果见表 4, 可知该方法准确度、精密度良好。

成分药动学均符合一室模型; 与正常组比较, 模型组各成分 C_{max}、AUC_{0-t} 升高 (P<0.05, P<0.01), 以异补骨脂素更明显。

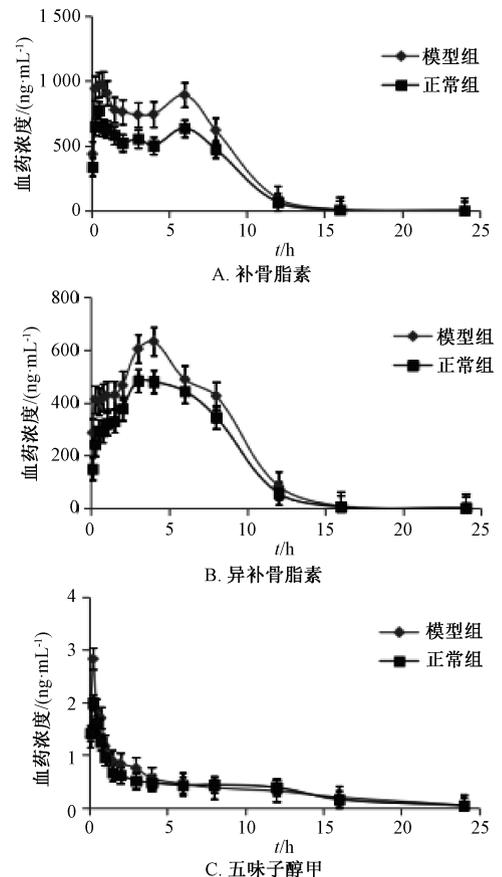


图2 各成分血药浓度-时间曲线

Fig.2 Plasma concentration-time curves for various constituents

表5 各成分主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab. 5 Main pharmacokinetic parameters for various constituents ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	正常组			模型组		
		补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲	补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲
$t_{1/2}$	h	1.91±0.57	1.83±0.17	5.67±0.57	1.89±0.41	1.80±0.21	5.44±0.72
t_{max}	h	0.38±0.14	3.33±0.52	0.33±0.13	0.71±0.19**	3.50±0.55	0.29±0.10
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	790.67±168.98	509.50±39.70	1.97±0.84	1 075.17±247.32*	660.33±45.53**	2.89±0.93*
AUC_{0-t}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	5 745.40±659.61	4 147.32±303.08	6.75±1.18	7 954.86±1 088.43*	5 245.99±463.40**	9.45±2.94*
$AUC_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	5 748.12±660.19	4 176.77±302.32	7.60±1.32	7 958.85±1 087.07*	5 248.33±464.75**	10.12±3.06*

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3 讨论

本实验在测定大鼠血浆中补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲含有量时发现,补骨脂素、异补骨脂素是同分异构体,质荷比相同,质谱无法区分,故应用液相色谱将两者分离开。在考察流动相时发现,乙腈作为有机相峰形和出峰时间较好,而0.1%甲酸作为水相同分异构体峰形良好。再通过考察不同型号和牌色谱柱,确定 ACE Excel 3 C₁₈-PFP色谱柱(100 mm×3.0 mm)能满足分析要求。

在血浆样本处理过程中,本实验考察了蛋白沉淀(甲醇、乙腈、10%三氯乙酸)和液液萃取(乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷),发现甲醇、乙腈蛋白沉淀的提取回收率与乙酸乙酯萃取的相近,且后者萃取后能明显减少血浆样本内源性物质干扰,提高基质效应,故选择乙酸乙酯萃取作为前处理方法。

不同文献报道的补骨脂素、异补骨脂素药动学参数并不一致^[15],其原因可能是本实验采用75%乙醇作为提取溶剂,而文献采用水煎煮法,提取出来成分相差较大,给药剂量也有所差异。与正常组大鼠比较,模型组补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲 $t_{1/2}$ 无明显差异;异补骨脂素、五味子醇甲 T_{max} 无明显差异,而补骨脂素 T_{max} 高于正常组;3种成分在抑郁大鼠体内的 C_{max} 分别为在正常大鼠体内的1.36、1.30、1.47倍, AUC_{0-t} 分别为1.38、1.27、1.40倍, $AUC_{0-\infty}$ 分别为1.38、1.26、1.33倍,表明各成分吸收程度在抑郁大鼠体内明显提高,而消除速度无明显变化,其原因可能是疾病状态导致其吸收过程发生改变^[16-17]。综上所述,大鼠在抑郁状态下四神丸中补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲血药浓度明显改变,对临床上抑郁症患者用药量具有一定参考意义。

参考文献:

[1] Dennis C L, Allen K. Interventions (other than

pharmacological, psychosocial or psychological) for treating antenatal depression [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008 (4): CD006795.

[2] Dennis C L, Ross L E, Grigoriadis S. Psychosocial and psychological interventions for treating antenatal depression [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007, 3(3): CD006309.

[3] Phillips M R, Zhang J X, Shi Q C, et al. Prevalence, treatment, and associated disability of mental disorders in four provinces in China during 2001-05: an epidemiological survey [J]. *Lancet*, 2009, 373 (9680): 2041-2053.

[4] 李云峰. 快速起效抗抑郁药研发策略: 单胺(5-HT)-非单胺(Glu/GABA)长反馈神经环路候选假说的提出 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(3): 161-173.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[6] 王浩. 四神丸加味治疗抑郁性神经官能症30例 [J]. *中华现代医学与临床*, 2007, 6(6): 68.

[7] 田青, 包祖晓. 抑郁情绪的中医学认识 [J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(9): 1360-1362.

[8] 江泳, 江瑞云, 陈建杉. 论肾虚与抑郁症发病的关联性 [J]. *四川中医*, 2009, 27(8): 30-31.

[9] 杨娟, 李志刚. 基于中医身心医学思想谈抑郁症从肾论治 [J]. *世界中医药*, 2014, 9(6): 736-739.

[10] Xu Q, Pan Y, Yi L T, et al. Antidepressant-like effects of psoralen isolated from the seeds of *Psoralea corylifolia* in the mouse forced swimming test [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(6): 1109-1114.

[11] Mao H P, Wang H, Ma S W, et al. Bidirectional regulation of bakuchiol, an estrogenic-like compound, on catecholamine secretion [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 274 (1): 180-189.

[12] Yan T X, He B S, Wan S T, et al. Antidepressant-like effects and cognitive enhancement of Schisandra chinensis in chronic unpredictable mild stress mice and its related mechanism [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6903.

[13] Dhingra D, Sharma A. Antidepressant-like activity of *n-hexane* extract of nutmeg (*Myristica fragrans*) seeds in mice [J]. *J Med Food*, 2006, 9(1): 84-89.

[14] 许方敏, 薛瑞, 叶洪涛, 等. 五味子醇甲对小鼠抑郁样行为的影响 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2017, 31(3): 244-249.

[15] 唐昌娟, 施贝, 修彦凤, 等. 四神丸水煎液中补骨脂素

和异补骨脂素的大鼠体内药动学研究[J]. 中成药, 2012, 34(2): 248-251.

[16] Huo X K, Wang B, Zheng L, *et al.* Comparative pharmacokinetic study of baicalin and its metabolites after oral administration of baicalin and Chaiqin Qingning capsule in

normal and febrile rats [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1059: 14-20.

[17] 朱立静, 白永涛, 张卫东, 等. 交泰丸在正常大鼠及抑郁大鼠体内的药代动力学比较研究[J]. 药科学报, 2018, 53(3): 425-431.

莪术醇固体脂质纳米粒的制备及其抗肿瘤活性

王风云, 李伟宏

(河南应用技术职业学院, 河南 郑州 450042)

摘要: 目的 制备莪术醇固体脂质纳米粒, 并评价其抗肿瘤活性。方法 乳化超声分散法制备固体脂质纳米粒, 测定粒径、Zeta 电位、包封率、载药量、体外释药、光稳定性 (4 500 lx, 25 ℃)。MTT 法考察固体脂质纳米粒对人宫颈癌上皮细胞 (Caski 细胞) 的抑制作用。结果 所得莪术醇固体脂质纳米粒粒径为 (198.84±4.17) nm, Zeta 电位为 (-21.8±2.5) mV, 包封率为 83.27%, 载药量为 3.83%, 36 h 内累积溶出度为 61.81%; 体外释药符合 Weibull 模型 ($R^2=0.9605$); 光照 72 h 后, 莪术醇含量仅降低了 3.42%; 对 Caski 细胞有较好的抑制作用, 并呈量效和时效依赖性 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 固体脂质纳米粒可明显提高莪术醇体外抗肿瘤活性。

关键词: 莪术醇; 固体脂质纳米粒; 制备; 抗肿瘤活性; 乳化超声分散法; MTT 法

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)05-1114-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.002

Preparation and anti-tumor activity of curcumol-loaded solid lipid nanoparticles

WANG Feng-yun, LI Wei-hong

(Henan Vocational College of Applied Technology, Zhengzhou 450042, China)

ABSTRACT: AIM To prepare curcumol-loaded solid lipid nanoparticles and to evaluate their anti-tumor activity. **METHODS** For the solid lipid nanoparticles prepared by emulsion-ultrasonic dispersion method, particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency, drug loading, *in vitro* drug release and light stability (4 500 lx, 25 ℃) were determined. MTT assay was applied to investigating the inhibitory effect of solid lipid nanoparticles on human cervical cancer epithelium cells (Caski cells). **RESULTS** The obtained curcumol-loaded solid lipid nanoparticles demonstrated the particle size, Zeta potential, encapsulation efficiency, drug loading and accumulative release rate within 36 h of (198.84±4.17) nm, (-21.8±2.5) mV, 83.27%, 3.83% and 61.81%, respectively, which displayed good inhibitory effect on Caski cells in dose-dependent and time-dependent manner ($P<0.05$, $P<0.01$). The *in vitro* drug release accorded with Weibull model ($R^2=0.9605$). Exposed to 72 h lighting, curcumol content was only reduced by 3.42%. **CONCLUSION** Solid lipid nanoparticles can obviously enhance the *in vitro* anti-tumor activity of curcumol.

KEY WORDS: curcumol; solid lipid nanoparticles; preparation; anti-tumor activity; emulsion-ultrasonic dispersion method; MTT assay

收稿日期: 2019-12-12

基金项目: 河南省高等学校重点科研计划项目 (18A320081)

作者简介: 王风云 (1973—), 女, 硕士, 副教授, 从事妇科肿瘤方面研究。Tel: (0371) 67673862, E-mail: wangfengyun1973@126.com