

• 药剂与工艺 •

复方丹参双相胶囊体内外评价研究

夏明艳^{1,2}, 吴秋焱^{1,3#}, 王灿坚^{1,2}, 阳 涛¹, 李东勲^{1,2}, 魏鑫华^{1,2}, 王堂勋^{1,2}, 张观生^{1,2}, 张文毓^{1,2*}, 张国松^{1,2*}

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330006

2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

3. 康龙化成(北京)新药技术股份有限公司, 北京 101100

摘要: 目的 对比研究复方丹参双相胶囊(Fufang Danshen Biphasic Capsules, FDBC)与复方丹参胶囊(Fufang Danshen Capsules, FDC), 证实复方丹参双相胶囊可降低冰片挥发损失且不会影响其他有效成分的体内外释药行为。方法 采用 GC 法测定 FDBC 与 FDC 处于高温、高湿、光照及加速实验条件后冰片的含量; 以 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液和纯水为溶出介质, 采用小杯法测定 FDBC 和 FDC 中丹参酮 II_A、丹酚酸 B、三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 在不同时间点的累积溶出率, 绘制溶出曲线; 采用盐酸异丙肾上腺素(isoprenaline hydrochloride, ISO)制备大鼠急性心肌缺血模型, 预防给药 7 d 后监测大鼠心电图 ST 段变化, HE 染色观察心肌组织病理损伤, 并利用试剂盒测定大鼠血清中肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、心肌肌钙蛋白-T(cardiac troponin-T, cTn-T)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、肿瘤坏死因子- α (tumornecrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)水平。结果 FDBC 在高温、高湿、光照条件下及加速实验条件下冰片含量均保持在 94.61%以上, 而 FDC 中冰片含量显著降低; FDBC 与 FDC 的体外溶出曲线相似; FDBC 可以改善 ISO 致心肌缺血大鼠心电图 ST 段改变, 减少血清中心肌酶的含量, 保持心肌细胞结构完整, 具有明显的抗心肌缺血作用, 与 FDC 具有相同的抗心肌缺血作用。结论 与 FDC 相比, FDBC 可以显著减少冰片挥发损失, 且不会影响其他成分的体外释放和药理作用, 显示出 FDBC 的优越性。

关键词: 复方丹参双相胶囊; 复方丹参胶囊; 稳定性; 体外溶出; 冰片; 丹参酮 II_A; 丹酚酸 B; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 R_{g1}; 人参皂苷 R_{b1}; 心肌缺血; 心肌酶

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)04-1064-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.006

In vitro and in vivo evaluation of Fufang Danshen Biphasic Capsules

XIA Ming-yan^{1,2}, WU Qiu-yang^{1,3}, WANG Can-jian^{1,2}, YANG Tao¹, LI Dong-xun^{1,2}, WEI Xin-hua^{1,2}, WANG Tang-xun^{1,2}, ZHANG Guan-sheng^{1,2}, ZHANG Wen-liu^{1,2}, ZHANG Guo-song^{1,2}

1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

2. National Engineering Research Center of Chinese Medicine Solid Preparation Manufacturing Technology, Nanchang 330006, China

3. Pharmaron Beijing Co., Ltd., Beijing 101100, China

收稿日期: 2022-08-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81660667); 国家自然科学基金资助项目(81960720); 江西省主要学科科学技术带头人资助项目(20182BCB22023); 江西中医药大学创新药物研究与开发创新团队资助; 南昌市高层次科技创新人才“双百计划”项目资助; 江西中医药大学博士科研启动基金项目资助(2021BSZR014)

作者简介: 夏明艳(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为新药开发及仿制药一致性评价研究。Tel: (0791)87119617 E-mail: 2844797505@qq.com

***通信作者:** 张国松(1981—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为药物新剂型与新技术研究。

Tel: (0791)87119623 E-mail: zhgs81411@aliyun.com

张文毓(1976—), 男, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药新型给药系统的研究。

Tel: (0791)87119623 E-mail: 1764523036@qq.com

#共同第一作者: 吴秋焱(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型与新技术。

Abstract: Objective In order to confirm that Fufang Danshen Biphasic Capsules (FDBC, 复方丹参双相胶囊) can reduce the mass loss caused by volatilization of borneol without affecting the *in vitro* and *in vivo* drug release behavior of other active ingredients, a comparative study was conducted between FDBC and Fufang Danshen Capsules (FDC, 复方丹参胶囊). **Methods** GC method was used to determine the content of borneol in FDBC and FDC under high temperature, high humidity, bright light and accelerated experimental conditions. Using pH 1.2 hydrochloric acid solution, pH 4.5 acetate buffer, pH 6.8 phosphate buffer and pure water as the dissolution medium, the cumulative dissolution rate of tanshinone II_A, salvianolic acid B, notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Rb₁ at different time points was adopted by the small cup method, then the dissolution curve was drawn. The rat model of acute myocardial ischemia was prepared by isoprenaline hydrochloride (ISO). After 7 days of prophylactic administration, the changes of ST segment of the rat's electrocardiogram were monitored, the pathological damage of myocardial tissue was observed by hematoxylin-eosin staining, and the levels of creatine kinase (CK), lactic dehydrogenase (LDH), cardiac troponin-T (cTn-T), superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA), tumornecrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in rat serum were determined with kits. **Results** The content of borneol in FDBC remained above 94.61% under high temperature, high humidity, bright light conditions and accelerated experimental conditions, while the content of borneol in FDC decreased significantly. The dissolution profiles of FDBC and FDC were similar. FDBC could improve the changes of ST segment of ECG in rats with myocardial ischemia induced by ISO, reduce the content of myocardial enzymes in serum, keep the structure of myocardial cells intact, and have obvious anti-myocardial ischemia effect. FDC had the same anti-myocardial ischemia effect. **Conclusion** Compared with FDC, FDBC can significantly reduce the mass loss caused by volatilization of borneol without affecting the *in vitro* release and pharmacological effects of other components, showing the advantages of FDBC.

Key words: Fufang Danshen Biphasic Capsules; Fufang Danshen Capsules; stability; *in vitro* dissolution; borneol; tanshinone II_A; salvianolic acid B; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁; myocardial ischemia; myocardial enzymes

复方丹参制剂是临床常用的治疗冠心病心绞痛的经典中药复方制剂, 临床常用剂型有片剂、滴丸和颗粒等, 由丹参、三七、冰片 3 味中药组成, 具有活血化瘀、理气止痛的功效^[1]。其中, 冰片可“引药入心经”, 对心脑血管疾病具有重要的药效作用^[2]。现代研究表明, 冰片可以显著增加心血管制剂中有效成分的血药浓度并提高生物利用度^[3-8]、舒张血管^[9]、提高血脑屏障通透性^[10]。冰片主要成分龙脑是一种双环单萜类化合物, 此外, 冰片中还含有多种倍半萜及三萜类化合物^[11], 具有挥发性, 对热、空气和光照敏感, 常规处理工艺难以解决其稳定性问题^[12-13], 影响制剂的质量与药理作用^[14-15]。因此, 合理有效解决冰片的稳定性问题, 是保证含冰片制剂质量和药效的关键所在。

针对上述问题, 课题组设计构建一种“液相”与“固相”并存的新型释药系统——复方丹参双相胶囊 (Fufang Danshen Biphasic Capsules, FDBC), 即将冰片与适量溶剂制成“液相”封装于微型软胶囊中, 丹参、三七提取物制成颗粒/微丸/小片, 与软胶囊装填于同一硬胶囊中, 通过处方筛选与优化, 确定了丹参水溶性颗粒、丹参脂溶性固体分散体、三七总皂苷提取物颗粒和冰片软胶囊的制备工艺, 评价了软胶囊壳的性能, 结果表明其具有优良的溶解、隔水和机械性能, 并以纯水为溶出介质, 对

FDBC 进行了体外释药初步评价, 各成分均可快速溶出^[16]。本课题在前期研究的基础上, 拟对 FDBC 中冰片的稳定性进行考察, 通过对比 FDBC 与复方丹参胶囊 (Fufang Danshen Capsules, FDC) 的体外溶出行为和大鼠体内药效学差异, 为阐释 FDBC 的优越性提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

6890N 气相色谱仪, 美国 Agilent 公司; MS 105DU 型分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; 安捷伦 7890 B-7000 D 气质联用仪, 美国 Agilent 公司; 101-3-BS-II 电热恒温鼓风干燥箱, 上海跃进医疗器械厂; LS-3000UV 低温光照仪, 北京天星科仪科技有限公司; TEMI800 恒温恒湿试验箱, 北京中科环试仪器有限公司; LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; ZRS-8G 溶出试验仪, 天津市天大天发科技有限公司; FE28 pH 计, 瑞士 Mettler Toledo 公司; HC-3016R 高速冷冻离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; Genius 3 型涡旋混合器, 德国 IKA 集团; YB-6LF 生物组织石蜡包埋机, 湖北亚光医用电子技术有限公司; RM2235 石蜡切片机、DM2500 光学显微镜, 徕卡公司; PT-3502C 光栅型全波长酶标仪, 江西华科精密仪器有限公司; PowerLad 生理记录仪, AD Instrument 公司。

1.2 材料与药品

萘标准品, 质量分数 99.9%, 批号 C10636105, 北京盛世康普化工技术研究院; 龙脑对照品, 质量分数 $\geq 98.0\%$, 批号 DST210312-194, 成都乐美天医药科技有限公司; FDC, 批号 202101001, 葵花药业集团(佳木斯)有限公司; 对照品丹酚酸 B (质量分数 96.6%, 批号 111562-201917)、丹参酮 II_A (质量分数 98.9%, 批号 110760-202022)、三七皂苷 R₁ (R₁, 质量分数 93.1%, 批号 110745-201820)、人参皂苷 R_{g1} (R_{g1}, 质量分数 91.7%, 批号 110703-201530)、人参皂苷 R_{b1} (R_{b1}, 质量分数 93.1%, 批号 110704-201424) 均购自中国食品药品检定研究院; 丹参水溶性提取物 (批号 MZ180420)、冰片 (批号 TB20180801), 均购自西安明泽生物科技有限公司; 丹参脂溶性提取物, 批号 20180820, 四川宏益生物工程有限公司; 三七总皂苷提取物, 批号 TB20180801, 西安天宝生物科技有限公司; 糊精, 批号 2016081101, 广饶丽枫生物科技有限公司; 十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS), 批号 20170306, 湖南尔康制药有限公司; 泊洛沙姆 188, 批号 WPAK524B, 上海昌为医药辅料有限公司; 聚氧乙烯氢化蓖麻油 RH40, 批号 57184468EO, 德国巴斯夫公司; 聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 400, 批号 160524, 西陇科学股份有限公司; 明胶, 批号 20170328, 广东罗塞洛明胶股份有限公司; 甘油, 批号 20170624, 南昌白云药业有限公司; 山梨醇, 批号 F010G423165004H, 广西南宁化学制剂有限公司; 0 号胶囊, 苏州胶囊有限公司; 聚山梨酯 80 (Tween 80, T80), 批号 170402, 四川金山制造有限公司; 盐酸 (批号 180108)、氯化钠 (批号 120108)、醋酸 (批号 200914)、氢氧化钠 (批号 190218)、磷酸二氢钠 (批号 100107), 均购自西陇科学股份有限公司; 无水乙酸钠, 批号 20130117, 广东光华科技股份有限公司; 盐酸异丙肾上腺素 (isoprenaline hydrochloride, ISO), 美国 Sigma 公司; 羧甲基纤维素钠, 批号 170308, 安徽山河药用辅料股份有限公司; 乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 试剂盒 (批号 20211229)、肌酸激酶 (creatine kinase, CK) 试剂盒 (批号 20211229)、心肌肌钙蛋白-T (cardiac troponin-T, cTn-T) 试剂盒 (批号 20220105)、丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 试剂盒 (批号 20211229)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (批号 20211229)、肿瘤

坏死因子- α (tumornecrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒 (批号 20220105)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 试剂盒 (批号 20220105) 均购自南京建成生物工程研究所; 三氯乙醛水合物, 麦克林公司; 4% 多聚甲醛, 阿达玛斯公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色液, 福州飞净生物科技有限公司; 正己烷、甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯; 水为超纯水; 其他为分析纯试剂。

1.3 动物

SD 大鼠 48 只, 雄性, SPF 级, 体质量 180~220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004。本研究动物实验方案已获得江西中医药大学动物伦理委员会的批准 (JZLLSC20210021)。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 FDBC 的制备及老化 按照课题组前期优化的处方工艺^[6], 称取处方量丹参水溶性提取物、糊精, 混合均匀, 制粒, 得颗粒①, 备用; 称取处方量丹参脂溶性提取物、SDS、泊洛沙姆 188, 采用熔融法制备固体分散体, 制粒, 得颗粒②, 备用; 称取处方量三七总皂苷提取物、糊精, 制粒, 得颗粒③, 备用; 称取适量冰片细粉于研钵中, 加入聚氧乙烯氢化蓖麻油 RH40、PEG400, 研磨混合, 得冰片内容物, 备用; 再以明胶、甘油、山梨醇、PEG 400 为胶皮配方, 采用滴制法制备冰片微型软胶囊④, 备用; 将处方量的颗粒①②③混合均匀, 与④装入同一 0 号胶囊中, 即得 FDBC。将 FDBC 置于 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度 $(75 \pm 5)\%$ 的条件下加速 1 个月, 即得老化的 FDBC。

2.1.2 FDC 的制备及老化 按“2.1.1”项下方法制备颗粒①②③, 将处方量冰片细粉与颗粒①②③混合均匀, 装入 0 号胶囊中, 即得 FDC。将 FDC 置于 $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度 $(75 \pm 5)\%$ 的条件下加速 1 个月, 即得老化的 FDC。

2.2 FDBC 中冰片稳定性考察

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 DB-WAX (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm) 柱; 进样口温度 180 $^\circ\text{C}$; 检测器温度 220 $^\circ\text{C}$; 柱温 120 $^\circ\text{C}$; 载气为 N₂; 体积流量 1 mL/min; 进样量 1 μL ; 分流比 10:1。

2.2.2 溶液的配制

(1) 对照品溶液的配制: 精密称取一定量龙脑对照品于棕色量瓶中, 醋酸乙酯溶解并定容, 得质

量浓度为 1.41 mg/mL 的龙脑对照品溶液。

(2) 内标溶液的配制: 精密称取一定量萘标准品于棕色量瓶中, 醋酸乙酯溶解并定容, 得质量浓度为 1.38 mg/mL 萘内标溶液。

(3) 供试品溶液的配制: 取 FDBC 内容物约 0.5 g, 精密称定, 剪破微型软胶囊后置量瓶中, 精密加入 0.8 mL 内标溶液, 加醋酸乙酯超声 10 min (250 W、40 kHz), 放冷, 醋酸乙酯定容, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

(4) 阴性对照溶液的配制: 取不含冰片的 FDBC 内容物约 0.5 g, 精密称定, 剪破微型软胶囊后置量瓶中, 精密加入 0.8 mL 内标溶液, 加醋酸乙酯超声 10 min (250 W、40 kHz), 放冷, 醋酸乙酯定容, 过 0.45 μm 滤膜, 取续滤液作为阴性对照溶液。

2.2.3 方法学考察

(1) 系统适用性试验: 在样品气相色谱图中, 龙脑的理论塔板数为 6110, 分离度为 2.47, 拖尾因子为 0.81, 系统适用性良好。

(2) 专属性考察: 将对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液依法测定, 结果表明该方法专属性良好。

(3) 线性关系考察: 以龙脑质量浓度为横坐标 (X), 龙脑与内标峰面积之比为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=7.424\ 5\ X+0.013\ 8$, $R^2=0.999\ 6$, 结果表明龙脑在 0.028~1.125 mg/mL 线性关系良好。

(4) 精密度考察: 取同一龙脑对照品溶液重复进样 6 次, 得龙脑与内标峰面积比值的 RSD 为 0.63%, 结果表明仪器精密度良好。

(5) 稳定性试验: 取 FDBC 供试品溶液, 分别

于制备后 0、2、4、8、10、12 h 进样分析, 得龙脑与内标峰面积比值的 RSD 为 0.53%, 供试品溶液在 12 h 内稳定。

(6) 重复性试验: 平行制备 6 份 FDBC 供试品溶液, 进样分析, 得龙脑与内标峰面积比值的 RSD 为 1.63%, 结果表明该方法重复性良好。

(7) 加样回收试验: 取已测定龙脑含量的 FDBC 内容物, 精密加入定量龙脑对照品溶液, 平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样分析, 计算得龙脑的平均加样回收率为 96.29%, RSD 为 1.72%。

2.2.4 影响因素考察 取 FDBC、自制 FDC 与市售 FDC, 置于蒸发皿中, 于高温 (40±2) °C、高湿 (25 °C, 相对湿度 92.5%)、光照 (4500±500) lx 条件下分别放置 15 d, 分别于 0、3、5、7、10、15 d 取样, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 计算冰片相对含量 (相对于冰片初始值的含量, 以龙脑含量计), 结果如表 1 所示。FDBC 于高温 (40±2) °C、高湿 (25 °C, 相对湿度 92.5%)、光照 (4500±500) lx 条件下放置 15 d, 冰片含量相对稳定, 自制和市售 FDC 于 3 种条件下放置, 随着时间延长, 冰片含量逐渐下降, 结果表明在高温、高湿和光照条件下 FDBC 中冰片稳定存在, 而自制和市售 FDC 中冰片不稳定。

2.2.5 加速实验 取 FDBC、自制 FDC、市售 FDC, 置于 (30±2) °C、相对湿度 (65±5) % 的恒温恒湿试验箱中, 分别于 1、2、3、6 个月末取样, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 计算冰片相对含量 (以龙脑含量计), 结果如表 2 所示。加速实验 6 个月后, FDBC 中冰片稍有下降, 但仍大于 90%; 自制和市售 FDC 加速实验 2 个月后, 冰片含量已不

表 1 高温、高湿、光照对冰片稳定性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Effect of high temperature, high humidity and light on stability of borneol ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

影响因素	样品	龙脑相对含量/%				
		3 d	5 d	7 d	10 d	15 d
高温	FDBC	97.95±1.49	96.76±1.38	96.53±1.40	96.41±1.34	95.67±1.08
	自制 FDC	80.52±1.14	62.03±2.02	47.96±1.17	36.14±1.52	29.40±1.13
	市售 FDC	94.28±1.45	86.19±1.26	73.56±1.18	58.15±1.22	42.41±2.04
高湿	FDBC	99.06±1.57	98.55±1.55	97.30±1.10	95.46±1.09	95.38±1.09
	自制 FDC	82.40±1.62	58.42±0.98	50.13±1.08	45.95±1.31	40.34±1.06
	市售 FDC	79.66±1.16	51.61±1.33	50.57±1.25	47.92±1.41	43.12±1.48
光照	FDBC	99.87±1.49	98.72±1.52	97.55±1.58	96.56±1.29	94.77±2.07
	自制 FDC	73.28±1.44	49.61±1.57	45.76±1.29	44.83±1.38	39.12±1.21
	市售 FDC	75.35±1.32	61.33±2.11	56.13±1.27	48.98±1.18	41.16±0.98

表 2 加速实验结果

Table 2 Results of accelerated experiments

样品	龙脑相对含量/%			
	1 个月	2 个月	3 个月	6 个月
FDBC	99.47±1.42	98.29±1.12	97.39±1.50	94.61±1.33
自制 FDC	48.66±2.06	40.53±1.08	35.41±1.53	33.46±1.59
市售 FDC	53.97±2.01	47.61±1.02	43.16±1.05	42.86±1.03

足 50%，加速实验 6 个月后，冰片质量分数分别下降至 33.46% 和 42.86%。表明在加速实验条件下，FDBC 中冰片相对稳定，自制和市售 FDC 中冰片不稳定。

2.3 FDBC 体外溶出评价

2.3.1 溶液的制备

(1) 对照品溶液的制备：①丹参混合对照品溶液：精密称取一定量丹酚酸 B、丹参酮 II_A 对照品置量瓶中，甲醇溶解并定容，得丹参混合对照品溶液（丹酚酸 B 与丹参酮 II_A 的质量浓度分别为 114.43、40.12 μg/mL）。②三七混合对照品溶液：精密称取一定量 R₁、R_{g1}、R_{b1} 对照品置量瓶中，甲醇溶解并定容，得三七混合对照品溶液（质量浓度分别为 R₁ 140.5 μg/mL、R_{g1} 282.4 μg/mL、R_{b1} 293.9 μg/mL）。

(2) 供试品溶液的制备：取 FDBC 内容物约 0.5 g，精密称定，剪破微型软胶囊后置量瓶中，加 70% 甲醇超声 30 min（250 W、40 kHz），放冷，70% 甲醇定容，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液作为供试品溶液。

(3) 阴性对照溶液的制备：取不含丹参水溶性、脂溶性提取物和三七总皂苷提取物的 FDBC 内容物约 0.5 g，精密称定，剪破微型软胶囊后置量瓶中，加 70% 甲醇超声 30 min（250 W、40 kHz），放冷，70% 甲醇定容，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液作为阴性对照溶液。

(4) 龙脑对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液的制备：同“2.2.2”项。

2.3.2 丹参和三七成分色谱条件

(1) 丹参成分色谱条件：色谱柱为 Diamonisl C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.5% 甲酸水溶液，梯度洗脱：0~12 min，30% 乙腈；12~20 min，30%~80% 乙腈；20~30 min，80% 乙腈；30~35 min，80%~30% 乙腈；35~40 min，30% 乙腈；柱温 30 ℃；体积流量 1 mL/min；进样量 20 μL；检测波长 286、270 nm。

(2) 三七成分色谱条件：色谱柱为 Diamonisl C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水，梯度洗脱：0~12 min，19% 乙腈；12~35 min，19%~38% 乙腈；35~45 min，38% 乙腈；45~50 min，38%~19% 乙腈；50~55 min，19% 乙腈；柱温 30 ℃；体积流量 1 mL/min；进样量 20 μL；检测波长 203 nm。

(3) 专属性考察：在上述色谱条件下分别进样测定对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液，各成分的分离度、理论塔板数、拖尾因子与信噪比结果见表 3，均符合要求，专属性良好。

表 3 各成分系统适用性结果

Table 3 System suitability results of each component

化合物	理论塔板数	拖尾因子	分离度	信噪比
丹酚酸 B	4102	1.708	8.169	128.63
丹参酮 II _A	184 832	1.103	71.134	59.03
R ₁	144 579	1.044	3.314	432.55
R _{g1}	170 719	1.048	3.445	1 706.74
R _{b1}	308 151	1.009	36.473	870.89

2.3.3 龙脑检测条件

(1) 色谱条件：色谱柱为 VF-WAXms 毛细管柱（30 m×250 μm，0.25 μm）；柱温 145 ℃；进样口温度 250 ℃；载气 He；体积流量 1 mL/min；分流比 20:1；进样量 1 μL。

(2) 质谱条件：传输线温度 250 ℃；EI 源能量 70 eV；离子源温度 230 ℃；溶剂延迟 4 min；SIM 扫描（龙脑 *m/z* 95，萘 *m/z* 128）。

(3) 专属性考察：在上述检测条件下分别进样测定龙脑对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液，结果表明该方法专属性良好。

2.3.4 方法学考察

(1) 线性关系考察：以质量浓度为横坐标（*X*），峰面积为纵坐标（*Y*）进行线性回归，得丹酚酸 B、丹参酮 II_A、R₁、R_{g1}、R_{b1} 的回归方程分别为 $Y=21\ 123\ X-72\ 007$ ($R^2=0.999\ 8$)、 $Y=32\ 760\ X-5\ 709.9$ ($R^2=1.000\ 0$)、 $Y=4\ 532.7\ X+9\ 797.1$ ($R^2=0.999\ 5$)、 $Y=8\ 716.3\ X+14\ 709$ ($R^2=0.999\ 9$)、 $Y=4\ 324.9\ X+3\ 682.2$ ($R^2=0.999\ 8$)，线性范围分别为 4.005~114.427、1.404~40.118、2.195~140.500、2.206~282.400、2.296~293.900 μg/mL，结果表明各成分线性关系良好。

以龙脑质量浓度为横坐标（*X*），龙脑与内标峰

面积之比为纵坐标 (Y)，进行线性回归，得线性回归方程 $Y=0.3575X+0.0306$ ， $R^2=0.9997$ ，结果表明龙脑在 $0.793\sim 317.200\ \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

(2) 精密度考察：分别取丹参混合对照品溶液、三七混合对照品溶液，重复进样 6 次，得丹酚酸 B、丹参酮 II_A、R₁、R_{g1} 和 R_{b1} 的 RSD 分别为 1.34%、1.10%、1.95%、1.59%、1.59%，结果表明仪器精密度良好。

(3) 稳定性考察：取 FDBC 供试品溶液，分别于制备后 0、2、4、8、10、12、24、36、48、60、72 h 进样分析，得丹酚酸 B、丹参酮 II_A、R₁、R_{g1} 和 R_{b1} 的 RSD 分别为 1.82%、1.86%、1.00%、2.06%、1.59%，结果表明供试品溶液在 72 h 内稳定。

(4) 重复性考察：平行制备 6 份 FDBC 供试品溶液进样分析，得丹酚酸 B、丹参酮 II_A、R₁、R_{g1} 和 R_{b1} 的 RSD 分别为 1.85%、1.54%、1.65%、1.57%、1.45%，结果表明该方法重复性良好。

(5) 加样回收率考察：取已测定各成分含量的 FDBC，精密加入定量丹参混合对照品溶液和三七混合对照品溶液，平行制备 6 份供试品溶液进样分析，得丹酚酸 B、丹参酮 II_A、R₁、R_{g1} 和 R_{b1} 的平均加样回收率分别为 92.36%、91.05%、101.87%、102.01%、96.53%，RSD 分别为 1.44%、2.19%、

1.95%、1.25%、1.99%。

2.3.5 体外溶出试验

(1) 溶出介质：本实验选择 pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.5 醋酸缓冲液、含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液和纯水 4 种溶出介质进行溶出度试验。

(2) 介质体积的选择：分别以上述 4 种介质进行测试，介质体积 500 mL，转速 100 r/min，取 FDBC，按《中国药典》2020 年版四部通则溶出度测定方法第二法^[17]操作，在 60 min 时取样，进样分析，结果只有丹参酮 II_A 的信噪比 > 10，可以定量，其他 4 种成分的信噪比 < 10，无法定量，故考虑采用小杯法，介质体积 250 mL。

(3) 溶出转速的选择：取 FDBC，以 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶出介质，体积为 250 mL，转速分别为 50、75、100 r/min，按《中国药典》2020 年版四部通则溶出度测定方法第三法操作，在 5、10、15、30、45、60 min 取样 5 mL，过 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜，取续滤液适量，分别按“2.3.2”项下丹参和三七色谱条件进样分析。另取剩余续滤液 1 mL，加入 0.8 mL 萘内标溶液，振摇 1 min 后，以 3500 r/min（离心半径 16 cm）离心 5 min，取上层液，按“2.3.2”项下龙脑检测条件进样。各成分累积溶出率测定结果见图 1。由结果可知，转速为 75、100 r/min 时，

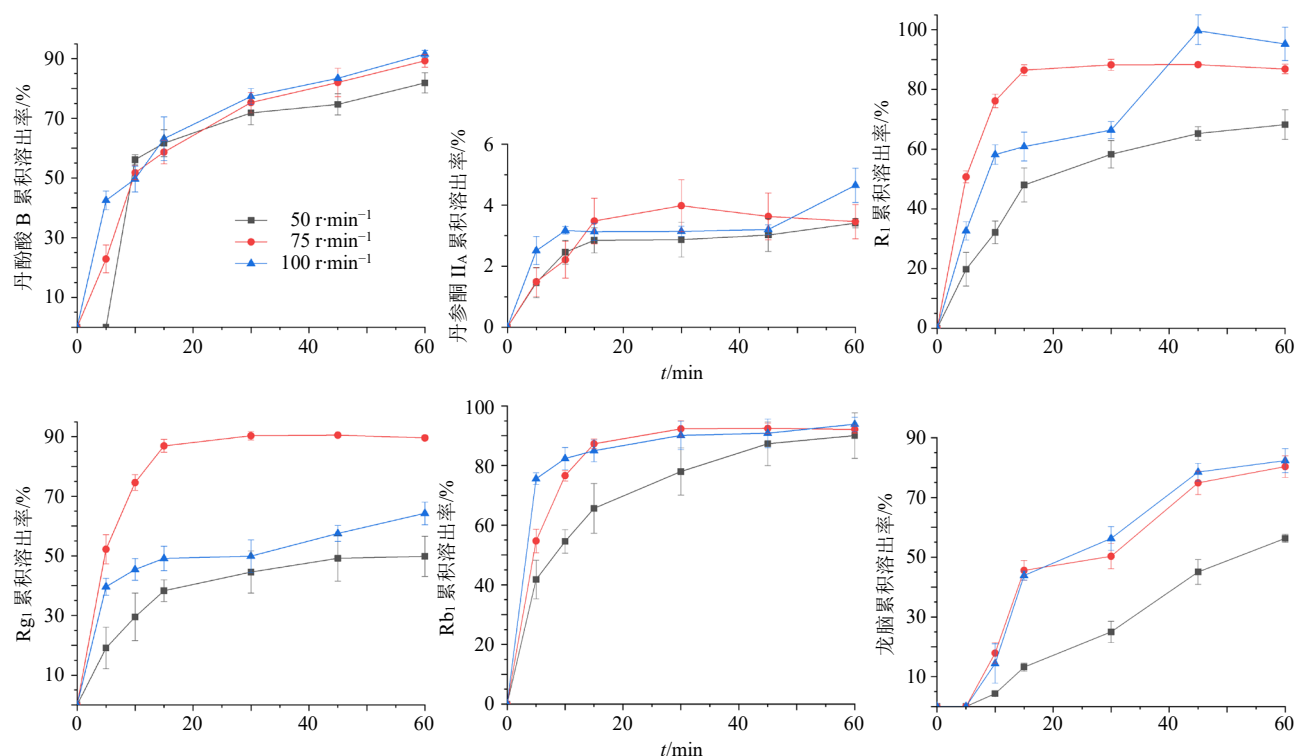


图 1 各成分在不同转速下的溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves of each component at different rotational speeds

各成分的累积溶出率均优于 50 r/min; 其中, R_{g1} 在 75 r/min 时的累积溶出率明显高于 100 r/min 时的累积溶出率, 而其他成分在 75、100 r/min 时累积溶出率差异不明显。故综合来看, 转速选择 75 r/min。由于在 3 种转速下, 丹参酮 II_A 的累积溶出率均极小, 故考虑在溶出介质中添加表面活性剂来增加其溶出度。

(4) 表面活性剂种类及用量的选择: 取 FDBC, 分别以 pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 含 0.01%、0.1%、0.5% T80 及 SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶出介质, 体积为 250 mL, 转速为 75 r/min, 按《中国药典》2020 年版四部通则溶出度测定方法第三法操作, 分别在 5、10、15、30、45、60 min 取样, 按“2.3.2”项下丹参色谱条件检测丹参酮 II_A, 计算累积溶出率, 结果见图 2。由结果可知, 添加 0.1% SDS、0.5% T80 和 0.5% SDS 后可显著提高丹参酮 II_A 在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的累积溶出率, 且丹参酮 II_A 在含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中累积溶出率最大, 故表面活性剂选择 SDS, 用量为 0.5%。

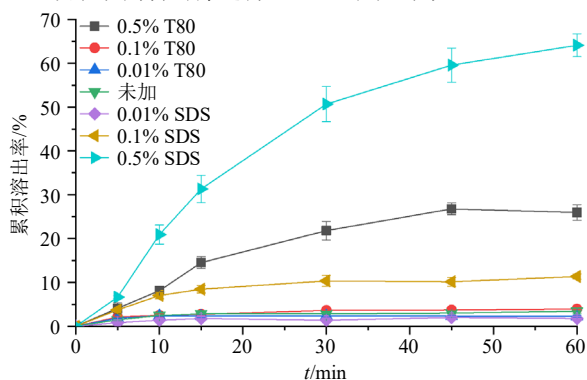


图 2 添加不同表面活性剂后丹参酮 II_A 的溶出曲线

Fig. 2 Dissolution curves of tanshinone II_A after adding different surfactants

(5) 溶出曲线的测定: 按照《中国药典》2020 年版四部通则溶出度测定方法第三法, 取脱气后的溶出介质 250 mL, 温度 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 转速 75 r/min, 取 FDBC 6 粒, 分别投入溶出杯中, 分别于 5、10、15、30、45、60、90、120、180、240、300 min 取样 5 mL, 同时补充等温等体积溶出介质, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜, 取续滤液适量按“2.3.2”项下丹参和三七色谱条件进样测定各成分的含量。

另取剩余续滤液 1 mL 加入 0.8 mL 茚内标溶液, 振摇 1 min 后, 以 3500 r/min (离心半径 16 cm) 离心 5 min, 吸取上层液, 按“2.3.2”项下龙脑检测条件进样测定龙脑的含量。

依次更换溶出介质, 分别按照上述方法进行溶出测定。FDC 及老化后的 FDBC、FDC 的溶出度测定与上述方法相同。结果见图 3~6。

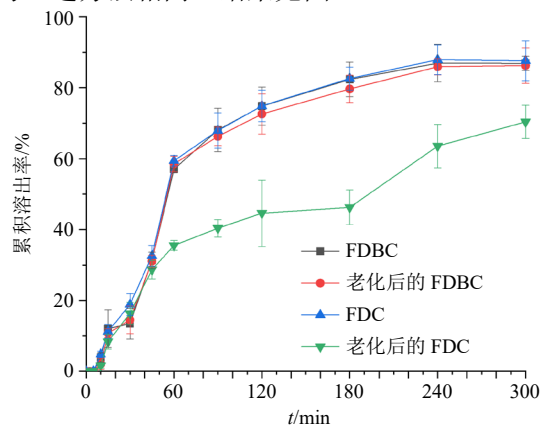


图 3 pH 1.2 盐酸溶液中龙脑的溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curve of borneol in pH 1.2 acetate buffer

由图 3 可知, 在 pH 1.2 盐酸溶液中, 前 45 min 各胶囊中龙脑的累积溶出率差异不大, 45~60 min 老化的 FDC 中龙脑的累积溶出率明显低于其他 3 种胶囊。在 pH 1.2 盐酸溶液中, 300 min 内 4 种胶囊中除龙脑外其他有效成分的累积溶出率均不足 10%, 可能是在酸性条件下, 大部分丹酚酸 B、 R_{g1} 及 R_{b1} 发生了降解反应^[18-19], 导致检测到的浓度减少, 计算所得累积溶出率相应减少。

由图 4~6 可知, ①在 pH 4.5 醋酸缓冲液、含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液和纯水 3 种溶出介质中, 与 FDC 相比, FDBC 和老化的 FDBC 中各成分的溶出曲线均相似, 表明 FDBC 将冰片制备成微型软胶囊不会对各有效成分的体外释药行为产生影响; ②老化的 FDC 在 3 种溶出介质中各有效成分的溶出曲线均与 FDC 有明显差异, 表明 FDC 老化后会影 响有效成分的体外释药行为; ③FDBC 与老化的 FDBC 相比, 各有效成分的溶出曲线无明显差异, 表明老化处理对 FDBC 中各有效成分的体外释药行为无明显影响, 冰片微型软胶囊没有导致释药迟缓。

2.4 FDBC 对急性心肌缺血大鼠的保护作用

2.4.1 动物分组与给药 SD 大鼠, 雄性, 48 只, 适应性饲养 7 d, 随机分为 6 组: 对照组、模型组 (ISO, 5 mg/kg)、FDBC 组 (SX-Z, 400 mg/kg)、FDBC 老化组 (SX-L, 400 mg/kg)、FDC 组 (PT-Z, 400 mg/kg) 和 FDC 老化组 (PT-L, 400 mg/kg)。FDC 和 FDBC 中的固体颗粒用 0.5% 羧甲基纤维素钠按所需剂量配制成混悬液, ig 给药, 给药体积为

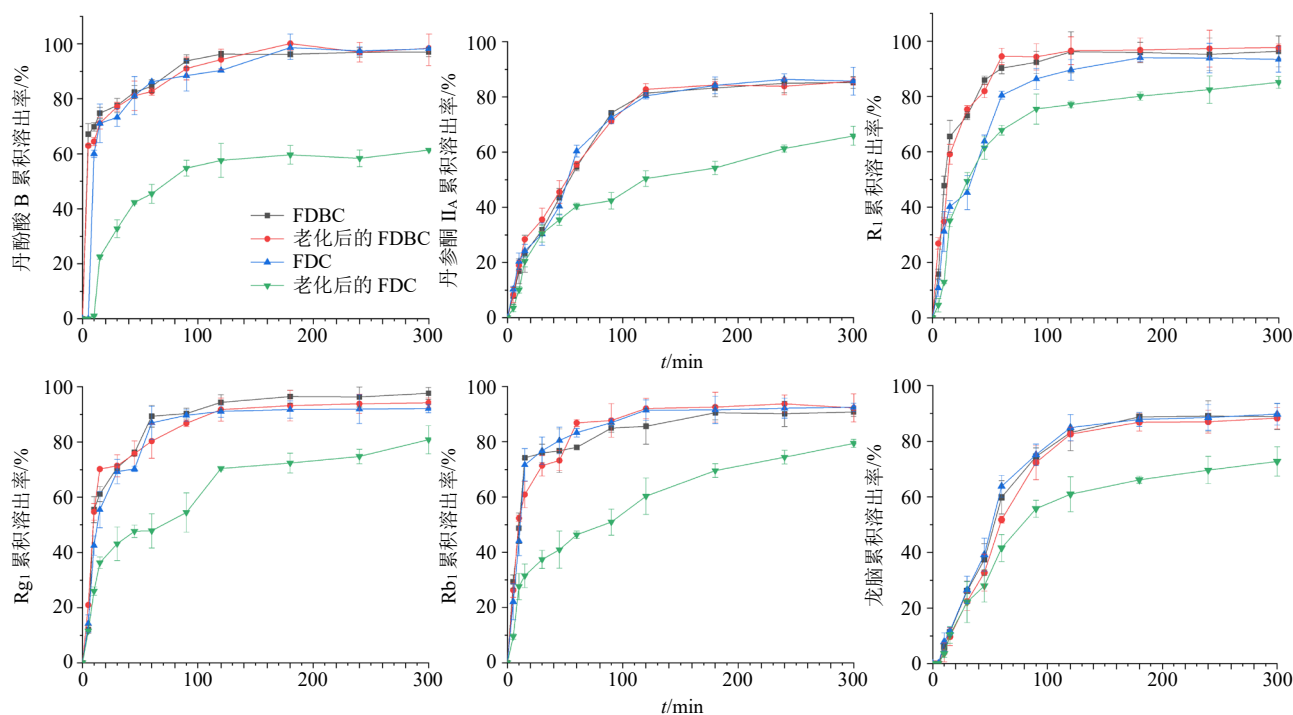


图 4 pH 4.5 醋酸缓冲液中各有效成分溶出曲线

Fig 4 Dissolution curve of each active component in pH 4.5 acetate buffer

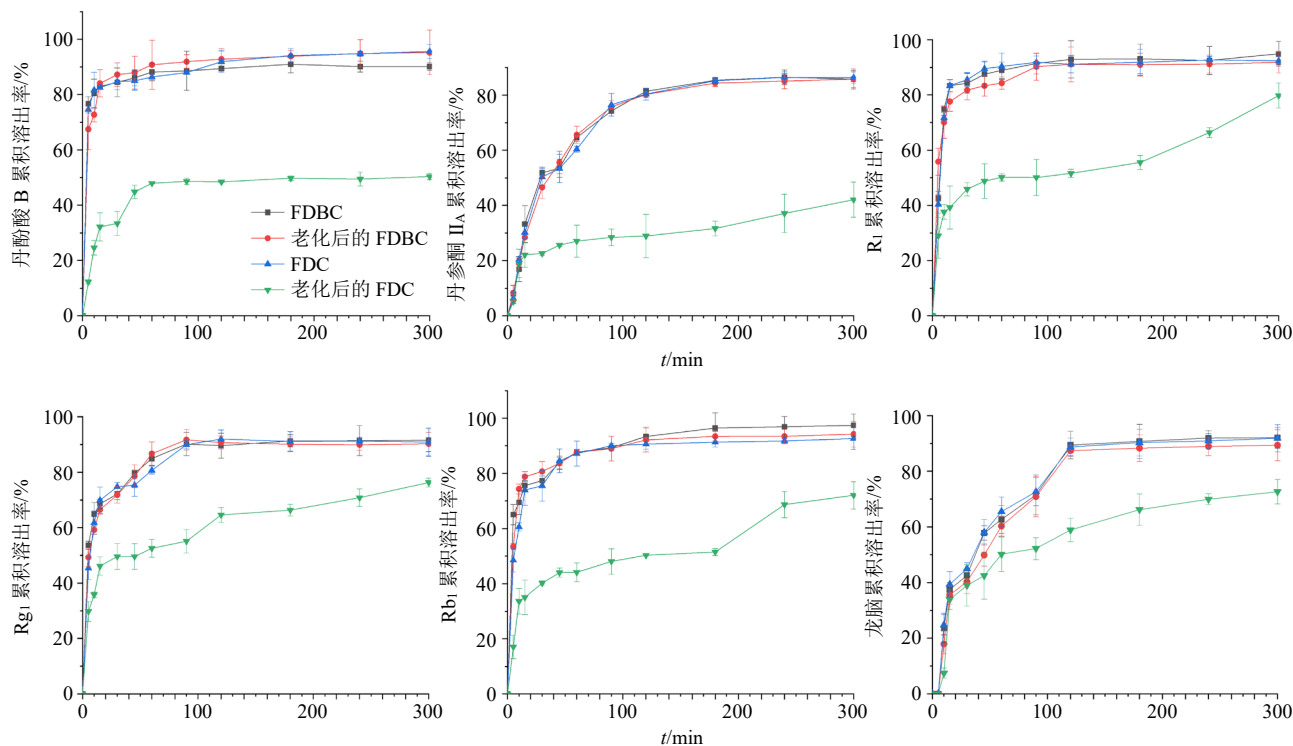


图 5 含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中各有效成分溶出曲线

Fig 5 Dissolution curve of each active component in pH 6.8 phosphate buffer containing 0.5% SDS

10 mL/kg, FDBC 中的冰片软胶囊用胶囊投灌胃药器给予, 每天 1 次, 对照组和模型组 ig 相同体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液, 连续给药 7 d。

2.4.2 异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血模型的制

备 给药第 5~7 天, 除对照组外, 所有各组给药 30 min 后, 背部多点 sc ISO (5 mg/kg), 每天 1 次, 连续 3 d 制作急性心肌缺血模型, 时间间隔 24 h, 对照组注射等体积生理盐水^[20], 实验期间动物自由

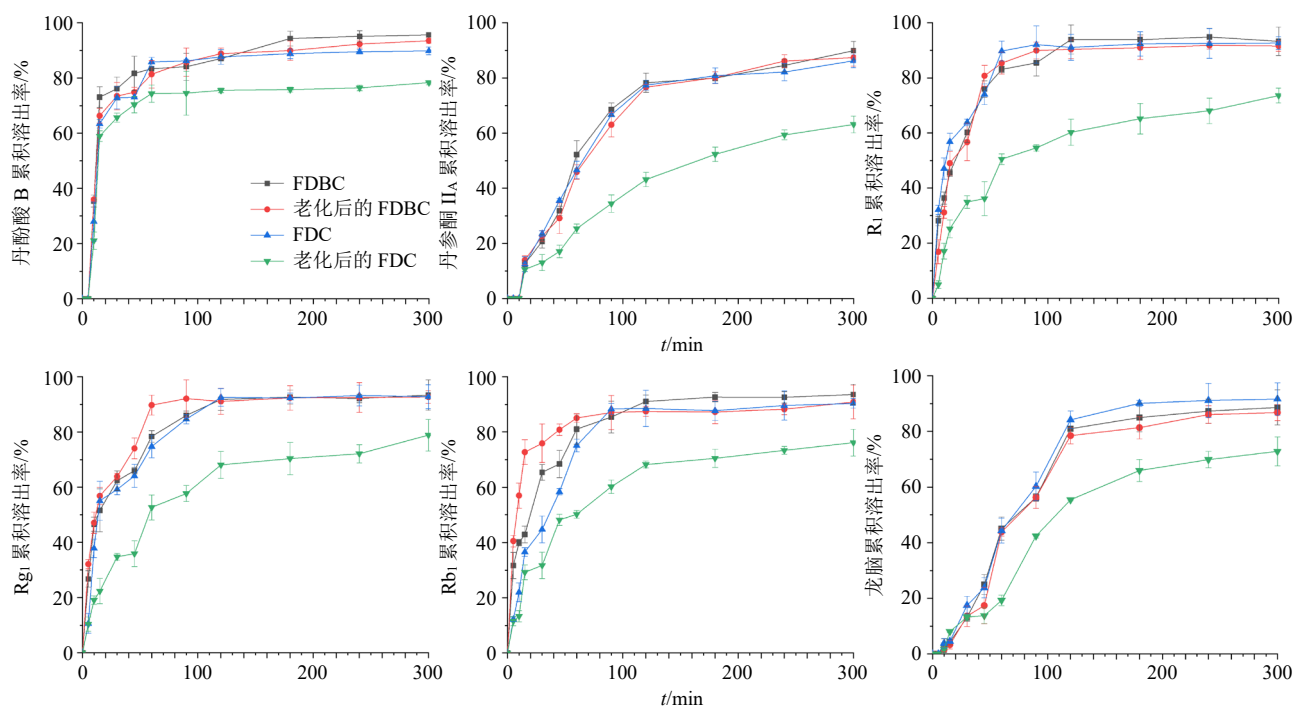


图 6 含 0.5% SDS 的纯水中各有效成分溶出曲线

Fig. 6 Dissolution curve of each active component in pure water containing 0.5% SDS

饮食和饮水。

2.4.3 心电图的测量 末次 sc ISO 前, 以 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 麻醉大鼠, 仰卧固定, 连接生理记录仪, 记录肢体 II 导联体表心电图, 分析 ST 段的变化, 结果见表 1。由结果可知, ISO 诱导前, 各组大鼠心电图 ST 段无明显差异; ISO 诱导后, 与对照组比较, 模型组大鼠 ST 段值升高近 0.2 mV, 差异显著 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠 ST 段值均降低, 其中 SX-Z 组、SX-L 组与 PT-Z 组降低显著, 有统计学差异 ($P < 0.05$), PT-L 组无统计学差异。

表 1 各组心电图 ST 段变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 1 Changes of ST segment of electrocardiogram in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	ST 段变化	
		ISO 诱导前	ISO 诱导后
对照		0.185 ± 0.012	0.202 ± 0.006
模型	5	0.195 ± 0.005	0.401 ± 0.020 ^{##}
SX-Z	400	0.205 ± 0.034	0.272 ± 0.012*
SX-L	400	0.198 ± 0.047	0.292 ± 0.031*
PT-Z	400	0.195 ± 0.032	0.306 ± 0.028*
PT-L	400	0.203 ± 0.027	0.331 ± 0.022

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$, 表 2 同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ vs model group, same as table 2

2.4.4 心脏指数的测定 实验完毕处死大鼠, 迅速开胸取心脏, 生理盐水冲洗余血, 至心脏基本不出血为止, 滤纸吸干多余水分后称定质量, 计算心脏指数 (心脏指数 = 心脏质量/大鼠体质量), 结果见表 2。与对照组相比, 模型组大鼠心脏指数显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SX-Z 组、SX-L 组、PT-Z 组和 PT-L 组心脏指数明显降低 ($P < 0.05$)。

表 2 各组心脏指数测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 2 Measurement results of cardiac index in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	心脏指数/%
对照		0.30 ± 0.02
模型	5	0.38 ± 0.01 ^{##}
SX-Z	400	0.33 ± 0.01*
SX-L	400	0.32 ± 0.02*
PT-Z	400	0.33 ± 0.02*
PT-L	400	0.32 ± 0.04*

2.4.5 心肌病理学检查 心脏称定质量后, 取心尖组织, 4% 多聚甲醛固定 24~72 h, 固定好的组织经系列乙醇、二甲苯脱水处理后, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, 苏木素染色, 1% 盐酸乙醇溶液分化, 自来水洗反蓝后, 伊红染色, 中性树脂封片。光镜下观察各组大鼠心肌组织形态学变化并拍照, 结果见图 7。

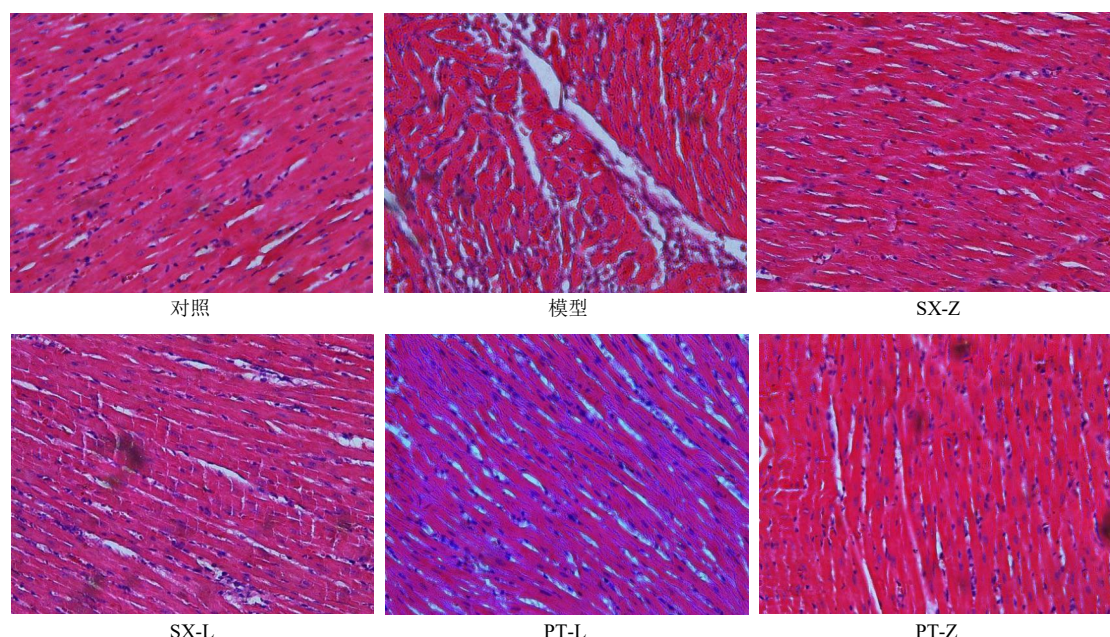


图 7 各组 HE 染色结果 (HE, $\times 20$)

Fig. 7 Resultant HE staining for each group (HE, $\times 20$)

可知, 对照组心肌细胞纹理清晰排列整齐, 结构完整, 无炎细胞浸润; 模型组心肌细胞纹理界限模糊, 排列紊乱, 心肌细胞水肿, 有大量炎细胞浸润; SX-Z 组、SX-L 组、PT-L 组和 PT-Z 组均可不同程度减轻 ISO 引起的心肌组织病变, 心肌细胞水肿减轻, 炎细胞浸润明显减少。

2.4.6 血清指标的测定 心电图监测完成后, 腹主动脉取血 6 mL, 室温凝聚 1 h 后, 3500 r/min (离心半径 13.5 cm) 离心 10 min, 分离上层血清放入 EP 管内, -80°C 冰箱保存。测定时快速解冻, 按照试剂盒说明书检测血清中 CK、LDH、cTn-T、SOD、MDA、TNF- α 和 IL-6 水平, 结果见表 3。

与对照组相比, 模型组大鼠血清中 CK 活力和 cTn-T 水平显著升高 ($P < 0.01$), LDH 活力也明显

升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, SX-Z 组、SX-L 组、PT-Z 组和 PT-L 组大鼠血清中 CK 活力显著降低 ($P < 0.01$), LDH 活力也明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, SX-Z 组和 PT-Z 组大鼠血清中 cTn-T 水平显著降低 ($P < 0.01$), SX-L 组和 PT-L 组大鼠血清中 cTn-T 水平也明显降低 ($P < 0.05$)。

与对照组相比, 模型组大鼠血清中 SOD 活力显著降低, MDA、TNF- α 和 IL-6 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, SX-Z 组、SX-L 组和 PT-Z 组大鼠血清中 SOD 活力明显升高 ($P < 0.05$), 炎症因子 IL-6 含量显著降低 ($P < 0.01$), PT-L 组大鼠血清中 SOD 活力无明显差异, IL-6 含量明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, SX-Z 组、SX-L 组、PT-L 组和 PT-Z 组大鼠血清中 MDA 含量显著降低 ($P <$

表 4 血清中 CK、LDH、cTn-T、SOD、MDA、IL-6 和 TNF- α 测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Determination results of CK, LDH, cTn-T, SOD, MDA, IL-6 and TNF- α in serum ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	CK/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	cTn-T/(ng·L ⁻¹)	SOD/(U·L ⁻¹)	MDA/ (nmol·mL ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	TNF- α /(ng·L ⁻¹)
对照		283.16 $\pm$ 57.94	4 673.93 $\pm$ 507.59	61.21 $\pm$ 14.21	4 880.19 $\pm$ 866.70	12.63 $\pm$ 3.81	121.76 $\pm$ 70.50	305.36 $\pm$ 58.51
模型	5	747.80 $\pm$ 109.56 ^{##}	7 017.32 $\pm$ 992.94 [#]	173.38 $\pm$ 19.77 ^{##}	3 361.88 $\pm$ 833.22 ^{##}	26.51 $\pm$ 6.06 ^{##}	566.62 $\pm$ 77.75 ^{##}	1 003.57 $\pm$ 27.31 ^{##}
SX-Z	400	341.53 $\pm$ 103.72 ^{**}	4 792.28 $\pm$ 807.78 [*]	101.36 $\pm$ 15.31 ^{**}	4 348.99 $\pm$ 780.81 [*]	9.88 $\pm$ 1.56 ^{**}	412.24 $\pm$ 21.27 ^{**}	749.60 $\pm$ 65.15 ^{**}
SX-L	400	317.80 $\pm$ 113.78 ^{**}	4 946.14 $\pm$ 587.18 [*]	126.48 $\pm$ 2.72 [*]	4 401.16 $\pm$ 923.14 [*]	12.12 $\pm$ 2.71 ^{**}	429.56 $\pm$ 41.59 ^{**}	809.35 $\pm$ 54.68 [*]
PT-Z	400	311.92 $\pm$ 57.07 ^{**}	4 728.13 $\pm$ 631.16 [*]	93.56 $\pm$ 4.19 ^{**}	4 362.22 $\pm$ 360.18 [*]	10.44 $\pm$ 4.12 ^{**}	421.40 $\pm$ 23.62 ^{**}	782.98 $\pm$ 68.79 [*]
PT-L	400	402.91 $\pm$ 63.72 ^{**}	4 553.00 $\pm$ 388.10 [*]	123.97 $\pm$ 17.15 [*]	3 932.96 $\pm$ 911.50	15.01 $\pm$ 2.64 ^{**}	474.20 $\pm$ 75.70 [*]	847.98 $\pm$ 68.29

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

0.01); 与模型组相比, SX-Z 组大鼠血清中炎症因子 TNF- α 含量显著降低($P<0.01$), SX-L 组和 PT-Z 组大鼠血清中炎症因子 TNF- α 含量明显降低($P<0.05$), PT-L 组大鼠血清中炎症因子 TNF- α 含量无明显差异。

3 讨论

3.1 FDBC 对冰片稳定性的影响

通过比较 FDBC 与 FDC 在高温、高湿、光照条件下放置 15 d 及加速实验 6 个月后冰片含量的变化, 发现 FDBC 中冰片含量更为稳定, 表明将冰片制成微型软胶囊后再与其它固体成分装填于同一硬胶囊的处理方式可以显著提高冰片的稳定性。

3.2 FDBC 对其他成分体外释放的影响

通过对溶出转速、介质体积及表面活性剂等进行了考察, 确立了丹参酮 II_A、丹酚酸 B、R₁、R_{g1} 及 R_{b1} 溶出度测定方法。比较发现, FDBC 与 FDC 的溶出曲线基本一致, 表明 FDBC 对冰片的特殊处理不会对其体外释药行为产生影响。其次 FDC 老化后各时间点的累积溶出率明显减少, 说明 FDC 老化后释药速率降低, 释药迟缓, 而 FDBC 老化后, 各时间点的累积溶出率与 FDBC 无明显差异, 说明老化处理不会影响其体外释药行为, 显示出 FDBC 的优越性。

3.3 FDBC 对急性心肌缺血大鼠的保护作用

ISO 是一种 β 受体激动剂, 可兴奋心脏, 造成心肌细胞缺血缺氧, 其发病机制可能与氧化应激、内质网应激、炎症反应、脂质过氧化、细胞自噬和凋亡等直接或间接相关, 与人体心肌缺血损伤的代谢和形态学异常有许多相似之处^[21]。ISO 诱导的动物模型, 实验操作简单易行、成本低, 常用于制备轻度心肌损伤、心肌肥厚(多用 5 mg/kg)、心肌梗死(10~120 mg/kg 或 150~400 mg/kg, 常用 85 mg/kg) 以及心力衰竭等动物模型^[22], 因此, 本实验采用 5 mg/kg 的 ISO 制备 SD 大鼠急性心肌缺血模型。

心电图 ST 抬高是临床心肌缺血诊断标志之一, 其抬高程度可以反映心肌缺血和损伤的程度^[23]。本实验大鼠注射 ISO 后, 模型组心电图 ST 段明显抬高, 出现心肌缺血症状, 而 FDBC 和 FDC 干预可抑制 ST 段的抬高, 说明二者均有一定的抗心肌缺血作用。2 种胶囊老化后也均可抑制 ST 段的抬高, 其中老化的 FDBC 的抑制效果更明显。

CK、LDH 是心肌组织中特异性较高的酶, 当心肌损伤时, 心肌细胞膜通透性改变, 多种心肌酶

从心肌细胞中释放入血, 使 CK、LDH 等在血清中含量显著升高^[24]。cTn-T 是一种心肌收缩调节蛋白, 一般在心肌细胞受损 14~24 h, 其血清水平达高峰, 是反映心肌损伤的标志物之一^[25]。本实验发现, 大鼠注射 ISO 后, 大鼠血清中 CK、LDH 和 cTn-T 水平显著升高, 而 FDBC 和 FDC 干预可以明显改善这些心肌酶水平的升高。FDBC 老化后, 仍可抑制血清中 CK、LDH 和 cTn-T 水平显著升高, 只是对 cTn-T 水平的抑制作用稍减弱; FDC 老化后, 对 CK 和 cTn-T 的抑制作用均减弱。

心肌组织病理学结果显示, ISO 诱导心肌缺血后, 心肌细胞破损, 排列紊乱, 并伴有细胞间隙水肿及大量炎细胞浸润, FDBC 可以明显改善由 ISO 引起的心肌组织病理学改变, FDC 和老化后的两种胶囊也可改善该心肌组织病理学改变。

SOD 是机体内抗氧化酶防御机制之一, 在消除氧自由基中起重要作用, MDA 是脂质过氧化的产物, SOD 的活力和 MDA 的含量可间接反应细胞所承受的自由基的损伤程度^[26-27]。当心肌组织缺氧, 会引起炎症细胞的聚集并释放 IL-6、TNF- α 等炎症因子, 同时产生大量的自由基, 进一步引起心肌损伤^[28], 有文献报道丹酚酸类成分能对抗炎症因子而保护心肌^[29]。本实验结果显示, FDBC、FDBC 和老化的 FDBC 可以显著降低 ISO 诱导的心肌缺血大鼠血清中 MDA、IL-6 及 TNF- α 水平, 提高 SOD 活力, 提示其改善心肌缺血的机理可能与对抗缺血心肌的氧化应激及炎症反应有关。FDC 老化后虽仍可对抗氧化应激及炎症反应, 但抑制 TNF- α 水平和提高 SOD 活力的效果不明显。

综上所述, FDBC 特有的冰片处理方式可以显著降低冰片挥发损失, 同时不会对其有效成分的体内释药行为及药效作用产生不利影响, 显示出 FDBC 的制剂优越性, 为解决中药挥发性物质不稳定问题提供了研究思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李玥. 浅谈复方丹参方的组成及药理药效研究 [J]. 药品评价, 2020, 17(4): 25-26.
- [2] 苏坤莲, 凡永杰, 刘原, 等. 冰片对心脑血管系统药理作用及其机制的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(9): 2001-2003.
- [3] 周陆怡, 鲁澄宇. 冰片对丹参脂溶性药效成分促吸收作用研究 [J]. 中国药业, 2019, 28(1): 14-18.

- [4] 段洪彬, 徐智儒. 冰片对不同药物体内药代动力学的影响 [J]. 世界临床药物, 2021, 42(3): 232-236.
- [5] Wan R Z, Xu Y Y, Lin Y P, *et al.* Enhancing effects of different dosages of borneol on pharmacokinetics of salvianic acid B after oral administration to rats [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(6): 538-544.
- [6] Wang S X, Zang W J, Zhao X F, *et al.* Effects of borneol on pharmacokinetics and tissue distribution of notoginsenoside R₁ and ginsenosides Rg₁ and Re in *Panax notoginseng* in rabbits [J]. *J Anal Methods Chem*, 2013, 2013: 706723.
- [7] Jiang P, Fu P, Xiang L, *et al.* The effectiveness of borneol on pharmacokinetics changes of four ginsenosides in Shexiang Baoxin Pill *in vivo* [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(3): 419-427.
- [8] Lai X J, Zhang L, Li J S, *et al.* Comparative pharmacokinetic and bioavailability studies of three salvianolic acids after the administration of *Salviae miltiorrhizae* alone or with synthetical borneol in rats [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(6): 883-888.
- [9] 岳思, 李铮, 郑卫红. 冰片舒张血管作用及其机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 59-63.
- [10] 滕振飞, 朱磊, 张恒柱, 等. 天然冰片开放血-脑屏障及潜在抑制肿瘤作用机制的研究进展 [J]. 临床神经外科杂志, 2021, 18(5): 597-600.
- [11] Song H, Wei M, Zhang N, *et al.* Enhanced permeability of blood-brain barrier and targeting function of brain via borneol-modified chemically solid lipid nanoparticle [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 1869-1879.
- [12] 郭丽蓉, 周莉玲. 冰片 β -环糊精、羟丙基- β -环糊精包合物的制备及稳定性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 7-10.
- [13] 张真真, 王岩, 张振海, 等. 冰片在不同贮存条件下稳定性的考察 [J]. 抗感染药学, 2014, 11(3): 195-197.
- [14] 姜玮, 徐虹, 孔凡荣, 等. 含冰片干凝胶的制备及其降低冰片挥发性作用 [J]. 中国新药杂志, 2020, 29(8): 940-945.
- [15] Yu B, Zhong F M, Yao Y, *et al.* Synergistic protection of tetramethylpyrazine phosphate and borneol on brain microvascular endothelium cells injured by hypoxia [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(4): 2168-2180.
- [16] 艾佳佳. 复方丹参复合胶囊的制备及初步评价 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2019.
- [17] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 132.
- [18] 李思谦, 章顺楠, 张凤莲, 等. 不同工艺条件下丹酚酸 B 降解过程中产物变化规律研究 [J]. 中药材, 2020, 43(4): 903-909.
- [19] 杨崇康, 罗启鹏, 张莲, 等. 三七总皂苷酸水解产物化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1175-1182.
- [20] 牛子冉, 徐晓娜, 陈俞材, 等. 丹酚酸 A 对异丙肾上腺素致小鼠心肌缺血的保护作用及其机制 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(12): 1667-1674.
- [21] Nichtova Z, Novotova M, Kralova E, *et al.* Morphological and functional characteristics of models of experimental myocardial injury induced by isoproterenol [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2012, 31(2): 141-151.
- [22] 梁娟, 刘越, 尹新华. 异丙肾上腺素所致心肌损伤动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 110-114.
- [23] Qin R A, Lin J, Li C Y, *et al.* Study of the protective mechanisms of Compound Danshen Tablet (Fufang Danshen Pian) against myocardial ischemia/reperfusion injury via the Akt-ENOS signaling pathway in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 156: 190-198.
- [24] Wallner M, Duran J M, Mohsin S, *et al.* Acute catecholamine exposure causes reversible myocyte injury without cardiac regeneration [J]. *Circ Res*, 2016, 119(7): 865-879.
- [25] 田欢, 支文冰, 李晔, 等. 三益丹对大鼠心肌缺血的改善作用 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 598-603.
- [26] Chen M C, Wang M M, Yang Q, *et al.* Antioxidant effects of hydroxysafflor yellow A and acetyl-11-keto- β -boswellic acid in combination on isoproterenol-induced myocardial injury in rats [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(6): 1501-1510.
- [27] 孙晓萍, 顾少莉, 周军, 等. 大株红景天对心肌细胞缺氧缺氧损伤的作用及机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 87-90.
- [28] 邹吉丽, 尹照萍, 张利群, 等. 大鼠心肌缺血再灌注早期心肌及血清中 IL-6、TNF- α 的表达 [J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(9): 830-833.
- [29] 原景, 杜韩, 万梅绪, 等. 丹参有效成分及丹参类制剂抗炎药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(11): 2322-2332.

[责任编辑 郑礼胜]