

青钱柳胶囊的装量稳定性 及其降糖功效评价

李婷婷, 吴彩娥*, 方升佐, 范龚健, 应瑞峰, 吴海霞

(南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏南京 210037)

摘要: 对影响青钱柳硬胶囊装量稳定性的相关指标进行了考察, 并通过动物实验评价了该青钱柳硬胶囊的药效学作用。装量稳定性主要检测了青钱柳硬胶囊颗粒的含水量、堆密度和休止角等指标。药效学作用则通过链佐霉素 (STZ) 诱导建立了糖尿病小鼠模型, 将其随机分成模型组、消渴丸阳性对照组、青钱柳胶囊高、中、低剂量组, 同时以正常小鼠做对照组, 连续给药 3 周后, 测定各组小鼠的多项生理生化指标, 并取胰腺进行病理组织检查。结果显示, 该青钱柳硬胶囊颗粒的含水量、堆密度和休止角, 均在较理想的范围内。青钱柳胶囊高剂量组不仅可以极显著的降低 (与模型组相比 $p < 0.01$) 糖尿病小鼠的血糖值和总胆固醇量, 改善肝糖原含量和受试小鼠的体质量, 而且可以增加胰岛数目, 增大胰岛面积, 减轻胰岛细胞变性程度。上述结果表明该青钱柳胶囊的装量稳定性较好, 且对 STZ 所诱导的糖尿病小鼠的典型病症具有改善和治疗作用。

关键词: 青钱柳硬胶囊, 装量稳定性, 降糖作用, 糖尿病小鼠模型

Content stability and hypoglycemic effect of *Cyclocarya paliurus* capsule

LI Ting-ting, WU Cai-e*, FANG Sheng-zuo, FAN Gong-jian, YING Rui-feng, WU Hai-xia

(College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The factors affected content stability and the hypoglycaemic activity of *Cyclocarya paliurus* capsule were examined in this paper. The content stability of *Cyclocarya paliurus* capsule was evaluated by measuring the values of moisture content, bulk density and angle of repose. Diabetes was induced in mice by using streptozotocin (STZ), diabetic mice were randomly divided into model control, normal control, positive control and low, medium and high-dose *Cyclocarya paliurus* capsule treatment groups. After feeding for 3 weeks, several physiological indexes were measured, and histopathological examination of mouse pancreas was observed. The results showed the values of moisture content, bulk density and angle of repose were all in the ideal range. Compared with model control, high-dose *Cyclocarya paliurus* capsule not only significantly reduced ($p < 0.01$) blood glucose and total cholesterol levels, improved body weight and hepatic glycogen levels in diabetic mice, but also increased the number and area of islet cell, promoted the recovery of islet cell necrosis. *Cyclocarya paliurus* capsule present better content stability and had therapeutic effects on diabetic mice induced by STZ.

Key words: *Cyclocarya paliurus* capsule; content stability; hypoglycaemic activity; diabetic mice model

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)19-0337-04

据报道截止 2010 年, 全球范围内有 2.85 亿人受到糖尿病的影响, 而预计到 2030 年糖尿病患者的人数将增加到 4.39 亿^[1]。可见, 在糖尿病的形势日趋严重的今天, 探索具有糖尿病预防和治疗作用的功能成分显得尤为重要。目前口服降糖产品很多, 但临床治疗用药大多为西药, 其作用机制不同, 主要包括促胰岛素分泌, 增加外围组织对葡萄糖的利用和

敏感性, 抑制肝糖异生和 α -葡萄糖苷酶活性等^[2], 西药所带来的不良反应较多^[3], 因此, 积极寻找能够治疗糖尿病的天然植物活性成分成为众学者研究热点^[4]。青钱柳是我国独有的单种属植物, 系双子叶植物纲, 胡桃科青钱柳属^[5]。作为我国特有的保健食品资源, 自青钱柳的降血糖生理活性被发现以来^[6-7], 青钱柳的功效作用逐渐被大众所熟悉, 市面上青钱柳的初级产品也逐渐增多, 然而其精深加工产品以及产品的基础功能学评价仅有较少的报道^[8], 因此, 其进一步深入加工应用及产品的功效评判显得尤为重要。硬胶囊具有可掩盖内容物不适气味、美观、易服、崩解快、溶出度高、吸收好、生物利用度高等优点, 是中药和保健食品的常用剂型, 但随着硬胶囊剂

收稿日期: 2013-02-25 * 通讯联系人

作者简介: 李婷婷 (1982-), 女, 博士, 研究方向: 食品功能成分及其新资源开发利用。

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD); 国家林业局林业公益性行业科研专项项目 (200904046)。

的广泛应用,其装量稳定性成为影响硬胶囊质量的主要因素之一^[9],也是产品开发过程中需要解决的问题之一。本实验对青钱柳硬胶囊颗粒的装量稳定性进行了考察,并通过链佐霉素(STZ)诱导建立了小鼠糖尿病模型,由小鼠的多项生理生化指标变化评价了该硬胶囊的降糖功效,为青钱柳的这一新型药用资源的深入研究开发提供实验科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

青钱柳胶囊 南京林业大学食品科学实验室研制提供;链佐霉素 美国 Sigma 公司产品;柠檬酸、甲醛、蒽酮、浓硫酸等药品 南京化学有限公司,均为分析纯;消渴丸 广州中一药业有限公司;SPF 级 ICR 小鼠 72 只,每只体质量 18~22g 南通大学实验动物中心提供,分笼饲养,保持环境温度 20~25℃,湿度 40~70%,饲以实验动物用普通饲料,自由进食饮水。

ACCU-CHEK Advantage 血糖检测系统 罗氏诊断产品(上海)有限公司;AU2700 全自动生化分析仪

日本 Olympus 公司;UVmini-1240 型紫外分光光度计 日本岛津公司;Sigma 2-16K 型冷冻离心机 德国 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 青钱柳硬胶囊的制备 青钱柳硬胶囊是将青钱柳中的活性成分高效提取出来后,经配方优化筛选、制粒、填充等工序,由南京林业大学食品实验室研制所得,其详细制备工艺参照专利^[10]《青钱柳胶囊及其制备方法》的内容。

1.2.2 青钱柳硬胶囊的装量稳定性

1.2.2.1 硬胶囊颗粒含水量的测定 参照《中国药典》(2010 年版)一部附录附录 IX.水分测定法^[11]。取供试品 2~5g,平铺于干燥至恒重的扁形称瓶中,厚度不超过 5mm,疏松供试品不超过 10mm,精密称定,打开瓶盖在 100~105℃干燥 5h,将瓶盖盖好,移置干燥器中,冷却 30min,精密称定重量,再在上述温度干燥 1h,冷却称重,至连续两次称重的差异不超过 5mg 为止。

1.2.2.2 硬胶囊颗粒堆密度的测定 参照国标 GB/T13566.1-2008^[12]中疏松堆密度(ρ ,单位为 g/cm³)的测定方法,具体操作即:取足够量的硬胶囊粉末,从漏斗中垂直自由落入已知重量(m_1 ,单位为 g)和容积(V ,单位为 cm³)的无嘴量筒中,当粉末溢出测量筒后,用刮板刮去多余的粉末,测量筒在填充时避免振动,小心地称量满载测量筒的重量(m_2),其堆密度 $\rho = (m_2 - m_1) / V$ 。

1.2.2.3 硬胶囊颗粒休止角的测定 采用固定漏斗法,参照国标 GB 11986-89^[13]中休止角(α)的测定方法略有改动,具体操作为:将漏斗固定于水平放置的坐标纸上一定高度处(H),小心地将硬胶囊粉末沿漏斗壁倒入漏斗中,直到坐标纸上形成的粉末圆锥体尖端接触到漏斗口为止,由坐标纸测出圆锥底部的直径($2R$),计算出休止角 $\tan \alpha = H/R$ 。

1.2.2.4 装量差异 参照中国药典(2010 年版)附录 I L.胶囊剂装量差异^[14],取供试品 10 粒,分别精密称

定每粒重量后,打开囊帽,倾出内容物(不得损失囊壳),硬胶囊囊壳用小刷拭净,分别精密称定其重量,计算出每粒的净重量,并求得平均值,各个胶囊净重量与平均值之差占平均值的百分数,即为该粒胶囊的装量差异值。

1.2.3 青钱柳硬胶囊的药效学评价

1.2.3.1 STZ 诱导糖尿病小鼠模型的建立及给药方法 将 72 只 ICR 小鼠随机分成 6 组,每组 12 只,除正常组外,其余各组小鼠尾部静脉注射浓度为 20mg/mL 链佐霉素柠檬酸(0.05mol/L)溶液,注射剂量为 10mL/kg,48h 后取血检测小鼠空腹血糖值。检测血糖浓度在 15~30mmol/L 时表明 STZ 诱导糖尿病小鼠模型成功。(正常小鼠空腹血糖参考值:3.5~7.1mmol/L)。

将造模成功的高血糖小鼠,按照青钱柳胶囊高剂量组 2g/kg,中剂量组 1g/kg,低剂量组 0.5g/kg,阳性对照组给予消渴丸 2g/kg,将上述药粉分别溶于纯净水中,各给药组给予 10mL/kg 供试液,每天上午 9 点按每只动物的体质量将药液灌胃给药 1 次,连续给药 21d。正常对照组和模型对照组给予等体积蒸馏水灌胃。实验期间自由饮水,给予普通饲料。

1.2.3.2 实验小鼠相关生理指标的检测 血糖、体质量的检测:每给药 1 周鼠尾静脉采血一次测量空腹血糖、以血糖检测仪测其血糖,并以电子天平称其体质量,按照新体质量新计算给药量。给药期间观测小鼠的形态变化,末次给药后,测量体质量、血糖值。

总胆固醇和甘油三酯的检测:在末次灌胃后,分别眼眶后静脉丛取血,取全血离心得血清,用全自动生化分析仪对小鼠的总胆固醇和甘油三酯进行检测分析。

肝糖原含量的检测:动物取血死亡后即刻解剖,取新鲜肝脏样本用生理盐水漂洗后,滤纸吸干,称重。按照文献方法^[15]采用蒽酮硫酸法显色测定小鼠肝糖原含量。

1.2.3.3 实验小鼠胰腺组织的病理学检查 将高、中、低剂量组、阳性对照组、正常组以及模型组小鼠的胰脏组织取出后,浸泡于 10 倍体积的 10% 甲醛溶液中固定 48h,常规乙醇脱水,石蜡包埋,将其制成连续切片,苏木素伊红(HE)染色,光学显微镜下观察病理变化并拍照。同时用显微测微器在 100 倍镜下观察胰岛的面积以及每视野的胰岛数。

1.3 统计学方法

各组数据均采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计数资料以“平均值 ± 标准误”形式表示,组间比较采用 t 检验, $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 青钱柳硬胶囊的装量稳定性

2.1.1 青钱柳硬胶囊内容物的流动性和含水量 硬胶囊在填充时其装量稳定性受充填物料的流动性影响最大,物料流动性越好,胶囊填充的装量稳定性越易于控制。考察内容物流动性好坏最直观的指标有:内容物的休止角、堆密度、粒度分布性及含水量等。不同制备工艺、配方生产出的胶囊内容物其流动性不同,表现出的休止角和堆密度也不同,因此,

表2 青钱柳硬胶囊的装量差异

Table 2 The content uniformity of *Cyclocarya paliurus* capsule

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
重量(g)	0.322	0.351	0.34	0.325	0.339	0.326	0.334	0.342	0.346	0.318
差异(%)	-3.679	4.996	1.705	-2.782	1.406	-2.483	-0.090	0.770	3.500	-4.876

本实验通过测定上述指标可以评价该青钱柳胶囊的装量稳定性。休止角的大小反映出粉末颗粒之间的相对运动的自由程度,当其越小时,表明物料流动性越好,胶囊填充的装量稳定性易于控制。一般认为^[16],休止角小于30°时,其流动性良好;而大于40°时,流动性不好,当休止角小于40°时可以直接充填。通过实验测定本胶囊的休止角为30.1°,处于适宜的范围内,表明该硬胶囊的流动性较好。堆密度是物料单位容积的重量,在充填过程中若单位容积的重量较大,则流动性较好,易于保证胶囊填充时装量的稳定性,反之,较为困难。据资料报道^[17],当其堆密度在500mg/cm³以上时,易于控制胶囊填充时的装量稳定性。本实验测定结果该青钱柳胶囊的堆密度为770mg/cm³,处于理想值的范围内,较容易控制装量稳定性。此外,物料的吸湿性同样影响到胶囊装量的稳定性,当充填物料的含水量越高时,物料颗粒间的相对自由运动则越困难,容易粘结成块,影响到胶囊填充时的装量稳定性,一般要求胶囊颗粒的含水量在9%以下^[14]。实验测定的硬胶囊颗粒含水量为6.22%,符合药典要求,反映出青钱柳硬胶囊的装量稳定性较好。

表1 青钱柳硬胶囊内容物的流动性和含水量(n=5)

Table 1 The flowability and moisture content of *Cyclocarya paliurus* capsule contents(n=5)

指标	休止角(°)	堆密度(g/cm ³)	含水量(%)
值	30.1 ± 1.36	770 ± 2.42	6.22 ± 0.28

2.1.2 青钱柳硬胶囊的装量差异 装量差异是反映胶囊装量稳定性的最直观指标,根据国家药典(2010年版)附录 I L 胶囊剂的要求,胶囊剂的装量差异限度应在标示装量(或平均装量)的±10.0%以内,超出装量差异限度的不得多于2粒,并不得有1粒超出限度一倍。参照药典方法对该青钱柳硬胶囊的装量差异进行考察,其结果见表2。可以看出十个样品中,装量差异最大的在4.996%,最小的为0.090%,均在药典要求的范围内没有超出差异限度(±10%),由此可见,该青钱柳胶囊的装量相对稳定,这也与流动性检测结果反映出的装量稳定性较好相一致。

2.2 青钱柳硬胶囊对实验小鼠相关生理指标的影响

2.2.1 对实验小鼠血糖和体质量的影响 青钱柳硬胶囊对实验小鼠的血糖和体质量的影响结果见表3。从中可以看出模型组小鼠血糖值远远高于正常组小鼠的血糖值,且在给予受试样品的情况下血糖值一直维持在比较高的水平,模型组小鼠体型消瘦,体质量较轻,表现出糖尿病典型的特征。而阳性对照组和青钱柳胶囊不同剂量组的小鼠,其血糖值有显著的下降,胶囊高剂量组的血糖值下降最为明显,

降到12.4mmol/L,与模型组相比达到了极显著的水平($p < 0.01$),胶囊中剂量和低剂量组血糖值的下降相对高剂量组稍差,但与模型组相比也达到了显著水平($p < 0.05$)。小鼠体质量的变化,以阳性对照组和胶囊高剂量组改善最为明显,与模型组相比均有极显著($p < 0.01$)的好转。由上述两个反应糖尿病典型特征指标的变化,可以看出,青钱柳胶囊可以良好的控制血糖,改善糖代谢,恢复病鼠的体质量,显著的改善糖尿病的典型症状。

表3 青钱柳硬胶囊对实验小鼠血糖和体质量的影响(n=12)

Table 3 Effect of *Cyclocarya paliurus* capsule on body weight and blood glucose of diabetic mice(n=12)

项目	血糖值(mmol/L)	体质量(g)
正常对照组	65 ± 07	284 ± 19
模型对照组	324 ± 09 ^{ΔΔ}	182 ± 16 ^{ΔΔ}
阳性对照组	88 ± 70 ^{**}	264 ± 13 ^{**}
胶囊高剂量组	124 ± 38 ^{**}	238 ± 27 ^{**}
胶囊中剂量组	164 ± 86 [*]	207 ± 22 [*]
胶囊低剂量组	173 ± 71 [*]	217 ± 17 ^{**}

注: *:与模型对照组有显著性差异($p < 0.05$); **:与模型对照组有极显著性差异($p < 0.01$); ΔΔ:与正常对照组比较, $p < 0.01$;表4同。

2.2.2 对实验小鼠总胆固醇、甘油三酯和肝糖原的影响 青钱柳硬胶囊对实验小鼠总胆固醇、甘油三酯和肝糖原的影响见表4。可以看出,模型组小鼠的总胆固醇为3.311mmol/L,有明显的升高,与正常组相比达到极显著的水平($p < 0.01$),而甘油三酯并无显著的异常变化。由此可知由STZ诱导的糖尿病模型小鼠,不仅对血糖和体质量有明显的影响,而且还能明显升高总胆固醇的含量。经过给药治疗3周后,与模型对照组相比较,青钱柳胶囊高剂量组和阳性对照组小鼠的总胆固醇水平极显著下降($p < 0.01$),中剂量组和低剂量组的效果依次减弱。该实验表明,青钱柳硬胶囊除了对糖尿病小鼠的典型病状有治疗作用外,还可以对其并发症总胆固醇的升高具有明显的控制作用,但对甘油三酯的影响受到模型的限制,并未呈现出明显影响。

实验数据表明,模型组小鼠的肝糖原含量比正常组有明显的下降,这可以看出,该模型糖尿病小鼠肝脏糖代谢出现紊乱,糖原合成降低,葡萄糖利用减少,糖异生加强,导致血糖升高。经过青钱柳胶囊治疗3周后,与模型对照组相比较,青钱柳胶囊高、中剂量组小鼠的肝糖原水平极显著升高($p < 0.01$),低剂量组的效果相对较弱,阳性对照组变化不显著,该实验表明,青钱柳硬胶囊能调节糖尿病小鼠肝脏糖代谢,增加肝糖原合成,抑制肝糖异生,从而辅助调节小鼠血糖。

表4 对实验小鼠总胆固醇、甘油三酯和肝糖原的影响($n=12$)Table 4 Effect of *Cyclocarya paliurus* capsule on serum total Cholesterol, triglyceride and hepatic glycogen content levels of diabetic mice($n=12$)

项目	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	肝糖原 (mg/g)
正常对照组	2075 ± 0248	1456 ± 0462	2514 ± 0241
模型对照组	3311 ± 0565 ^{ΔΔ}	1245 ± 0436	1837 ± 0342 ^{ΔΔ}
阳性对照组	2453 ± 0432 ^{**}	1428 ± 0120	2105 ± 0169
胶囊高剂量组	2479 ± 0490 ^{**}	1309 ± 0380	2949 ± 0612 ^{**}
胶囊中剂量组	2703 ± 0452 [*]	1191 ± 0396	2305 ± 0172 ^{**}
胶囊低剂量组	2918 ± 0644	1566 ± 0434	2155 ± 0142 [*]

2.3 青钱柳硬胶囊对实验小鼠胰腺组织的影响

实验小鼠胰腺组织切片的病理图片见图1,可以看出,正常组的胰岛分布于腺泡之间,排列呈团索状,边缘整齐。经STZ诱导的糖尿病模型组小鼠胰岛数目明显减少,存留的胰岛体积小,边缘不整齐。胰岛内细胞数目减少,排列松散,呈不同程度的变性。经给药3周后,阳性对照组的胰岛的数量及每个胰岛的面积比模型组明显增多和增大,胰岛细胞变性的程度减轻,细胞排列较模型组致密程度增加。青钱柳硬胶囊高剂量组小鼠的平均胰岛数量、面积较模型组胰岛增多,胰岛细胞变性程度较模型组减轻,而中、低剂量组的效果较模型组差异不显著,无明显改善。

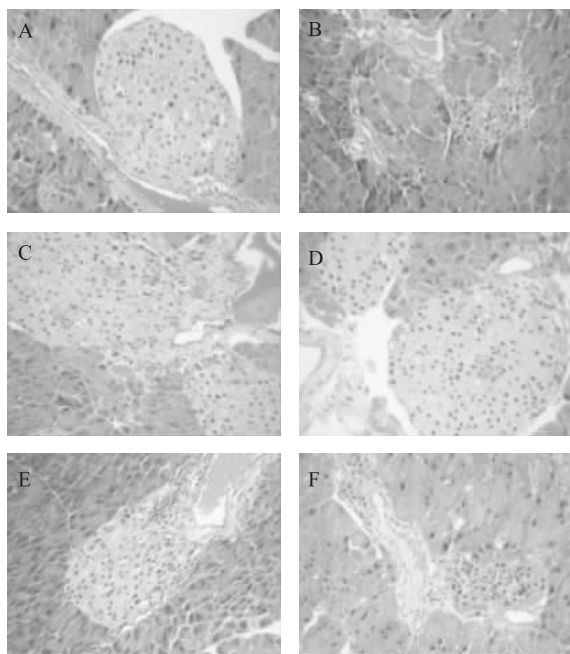


图1 青钱柳硬胶囊对实验小鼠胰腺组织的影响

Fig.1 Effect of *Cyclocarya paliurus* capsule on mouse pancreas

注:A.正常对照组;B.模型对照组;C.阳性对照组;
D.胶囊高剂量组;E.胶囊中剂量组;F.胶囊低剂量组。

3 结论

综上,通过上述实验看出,青钱柳硬胶囊内容物的含水量为6.22%,堆密度为770g/cm³,休止角为

30.1°,装量差异最大为4.996%,均在较理想的范围内,表明该硬胶囊的流动性较好,填充易于控制,装量稳定性较好。动物实验表明该青钱柳硬胶囊可以降低糖尿病小鼠的血糖值和总胆固醇,改善小鼠的体质量,保持受试小鼠的肝糖原含量,促进肝糖原恢复至正常水平,缓解糖尿病的典型病症。其中高剂量组效果最好,该组小鼠血糖值为(12.4 ± 3.8) mmol/L,体质量为(23.8 ± 2.7) g,总胆固醇为(2.479 ± 0.490) mmol/L,肝糖原为(2.949 ± 0.612) mg/g,与模型组比较有极显著性差异($p < 0.01$)。胰腺组织病理切片则也表明青钱柳硬胶囊高剂量组治疗后有减轻胰岛病变的作用,表现为增加胰岛数目,增大胰岛面积,减轻胰岛细胞变性程度。

参考文献

- [1] Shaw J E, Sicree R A, Zimmet P Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2010, 87(1): 4-14.
- [2] 郑诗峰. 口服降糖药的作用机制及临床应用进展 [J]. 社区医学杂志, 2011, 9(1): 19-23.
- [3] 汪军荣. 口服降糖药的不良反应分析与合理应用 [J]. 临床医药实践, 2009, 18(11): 845-847.
- [4] 吴建霞, 郭利平, 王婕. 中药及其有效成分降糖作用机制的研究进展 [J]. 吉林中医药, 2010, 30(2): 181-182.
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979, 18.
- [6] LI Shan, LI Jian, GUAN Xinlan, et al. Hypoglycemic effects and constituents of the barks of *Cyclocarya paliurus* and their inhibiting activities to glucosidase and glycogen phosphorylase [J]. Fitoterapia, 2011, 82(7): 1081-1085.
- [7] Kurihara H, Fukami H, Kusumoto A, et al. Hypoglycaemic action of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in normal and diabetic mice [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(4): 877-880.
- [8] 何春年, 彭勇, 肖伟, 等. 青钱柳神茶的应用历史与研究现状 [J]. 中国现代中药, 2012, 14(5): 62-68.
- [9] 赵高潮. 影响中药硬胶囊剂质量的因素及对策 [J]. 陕西中医, 2007, 28(12): 1677-1678.
- [10] 李婷婷. 青钱柳胶囊及其制备方法 [P]. 中国: 201210007384.0, 2012-07-11.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社. 2010: 附录 IX H.
- [12] GB/T13566.1-2008 肥料堆密度的测定第1部分: 疏松堆密度 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [13] GB 11986-89 表面活性剂粉体和颗粒休止角的测量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1989.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社. 2010: 附录 I L.
- [15] 阴文姬, 曾果, 张彩云. 小鼠肝糖原测定影响因素分析 [J]. 现代预防医学, 2004, 31(3): 359-360.
- [16] 屠锡德, 张钧寿, 朱家璧. 药剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002, 168.
- [17] 万军, 肖圣红. 影响头孢克肟胶囊填充装量稳定性因素分析 [J]. 天津药学, 2011, 23(4): 25-27.