

原生药材超细微粉制剂的药效学研究

山东省医药工业研究所(济南 250100) 杜晓敏*
国家药品监督管理局药品审评中心 刘 璐
济南倍力粉技术工程有限公司 何 煜

摘 要 采用超细微粉技术对原生药材进行微粉加工制成的外用和内服制剂与传统工艺比较,动物实验证明可提高后者的生物学效应,与传统粉碎工艺的制剂比较可明显提高药效学活性。

关键词 超细微粉技术 生物学效应 活性

超细微粉技术是近年来国际上发展起来的一项新技术,它可将原生药材从传统粉碎工艺得到中心粒径 150~200 目的粉末(75 μm 以下),提高到现在的中心粒径为 5~10 μm 以下,对于一般药材在该细度条件下,细胞破壁率 $\geq 95\%$ 。这种新技术的采用,不仅适合于各种不同质地的药材,而且可使其中的有效成分直接暴露出来,而不是以往的通过细胞壁(膜)释放,从而使药物起效更加迅速、完全。通过对两种不同粉碎技术加工的原生药材制成的同样产品(包括外用制剂诚年月泰和內服制剂糖泰胶囊)进行药效学比较发现,二者的药效学指标存在着较大的差异,采用超细微粉技术制成的制剂药理效应明显高于传统粉碎工艺的制剂。

1 两种工艺诚年月泰(外用)的主要药效学比较

诚年月泰是青岛诚年保健品有限责任公司生产的用于妇科痛经及人工流产的外用贴脐剂,由香附、当归、益母草、丁香、姜黄等十余味中药组成,具有行瘀止痛、活血止血、温经散寒等功效。据此,我们对其进行了镇痛、活血化瘀等方面的药效学比较研究。

1.1 材料

1.1.1 药品:诚年月泰 A,山东省医药工业

研究所研制(采用微粉技术处理原生药材),批号 951210;诚年月泰 B,山东省医药工业研究所研制(采用传统粉碎技术处理原生药材),批号 951212;阿司匹林,济南第三制药厂,批号 930818。

1.1.2 动物:昆明种小鼠,20~24 g,由山东医科大学实验动物中心提供,合格证号:鲁动质 930103。

1.1.3 粉碎设备:BFM-6 型混炼机,济南倍力粉技术工程有限公司研制。

1.2 方法与结果

1.2.1 热板法试验:取雌性小鼠,按常规实验方法,调节恒温水浴水温在(55 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$,将 800 mL 烧杯放入其中,使烧杯底部完全接触水面,杯内每次放入 1 只小鼠,记录其自放入烧杯至出现舔后足所需时间,以两次测量平均值作为该鼠的痛阈值,凡 30 s 内不出现舔后足者,淘汰不用。取筛选合格小鼠 50 只,分为空白对照组、阿司匹林组、诚年月泰 A 大、小剂量组、诚年月泰 B 大剂量共 5 组,分别按表 1 中剂量给各组动物后足掌涂抹不同药物,并于给药 30,60,90 min 时测定各鼠痛阈值。若小鼠在热板上 60 s 仍无痛觉反应,按 60 s 计,见表 1;并按不同时间测定的各组平均痛阈值计算用药后痛阈值提高百分

* Address: Du Xianmin, Shandong Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan

杜晓敏 山东省医药工业研究所中药研究室主任,副主任药师。1982 年毕业于沈阳药学院(现沈阳药科大学)药学系药学专业,获理学学士学位。曾从事中医学药理学教学,中药新药药理研究等工作。主要科研成果有“石楠绣线菊水提取物药理作用初探”、“雷丸多糖 S4002 抗炎免疫活性研究”、“诚年月泰制剂工艺、药效、毒理学研究”、“大黄石苇汤治疗慢性肾炎药理作用研究”、“昆虫粘多糖免疫活性研究”等。现主要从事中药(药理、制剂、标准)新药的研究工作。

率,计算公式如下:

痛阈提高百分率(%)=

$$\frac{\text{用药后平均痛阈} - \text{用药前平均痛阈}}{\text{用药前平均痛阈}} \times 100\%$$

各组不同时间的痛阈提高百分率见表

2。试验表明,诚年月泰 A, B 均可明显提高小

表 1 两种工艺的诚年月泰(A 与 B)对小鼠痛阈的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	给药前 痛阈(s)	给药后痛阈(s)		
				30 min	60 min	90 min
空白对照	10	—	19.55±3.39	20.30±3.41	21.30±3.85	19.40±5.20
阿司匹林	10	0.4	18.75±4.36	32.20±6.57***	41.10±9.51***	39.60±9.86***
诚年月泰 A	10	0.25	19.25±2.50	28.20±5.40**	28.20±7.18**	26.80±7.39*
诚年月泰 A	10	0.5	19.25±2.69	33.00±6.15***	42.10±11.29***△	40.30±10.08***△
诚年月泰 B	10	0.5	19.34±1.67	30.30±6.43***	33.40±8.52***	29.80±8.16***

与空白对照组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001; 诚年月泰 A 与 B 比较: △P<0.05

表 2 两种工艺的诚年月泰对小鼠痛阈提高百分率的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	痛阈提高百分率(%)		
			30 min	60 min	90 min
空白对照	10	—	3.84	8.95	-0.77
阿司匹林	10	0.4	71.73	119.20	111.20
诚年月泰 A	10	0.25	46.49	46.49	39.22
诚年月泰 A	10	0.5	71.43	118.70	109.35
诚年月泰 B	10	0.5	56.67	72.70	54.08

1.2.1 方法随机分为 5 组, 各组按表 3 中剂量将不同药物涂于小鼠腹部皮肤, 50 min 后每鼠分别 ip 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL, 观察小鼠 5 min 内因疼痛引起的扭体次数, 结果见表 3。试验表明诚年月泰有较好的镇痛作用, 扭体次数均明显低于空白对照组; 且 A 与 B 同剂量组比较, A 的镇痛作用强于 B; 而小剂量 A 组的镇痛作用与 B 组相当。

表 3 两种工艺的诚年月泰对小鼠醋酸致痛扭体试验的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	扭体次数 ($\bar{x} \pm s$, 次)
阿司匹林组	10	0.4	3.70±4.96**
诚年月泰 A	10	0.25	3.10±2.26***
诚年月泰 A	10	0.5	4.30±4.84**
诚年月泰 B	10	0.5	4.40±4.59**

与对照组比较: **P<0.01 ***P<0.001

1.2.3 活血化瘀试验: 取健康小鼠 40 只, 随机分为阴性对照组(赋形剂)与诚年月泰 A 大、小剂量组和诚年月泰 B 大剂量组, 用

鼠痛阈值, 各时间点同空白对照组比较差异显著; 相同剂量时, A 组痛阈值较 B 组提高 15%~55%, 而 A 组小剂量则与 B 组大剂量痛阈值较为相似。

1.2.2 扭体法试验: 取健康小鼠 50 只, 按

0.2% 戊巴比妥钠 ip 30 mg/kg 麻醉, 保持实验环境及所给药物恒温(30±0.5)℃, 将麻醉小鼠放于观察台上, 耳廓去毛, 并垫耳托, 使其平展以便于观察, 在耳廓与耳托间滴加液体石蜡, 将观察板置于多部位微循环观察系统显微镜下进行观察, 并用计算机进行数据处理和显示, 记录给药前小鼠耳中动脉第三分支微动脉、微静脉的血管直径及血流速度, 作为正常指标, 分别在耳廓涂以不同药物(25 μg/只); 10 min 后用棉试子轻擦去所涂药物, 观察上述各项指标的变化情况, 结果见表 4~6。用药后血管直径及血液流速增加百分率计算公式为:

血管直径增加%=

$$\frac{\text{用药后血管直径} - \text{用药前血管直径}}{\text{用药前血管直径}} \times 100\%$$

血液流速增加%=

$$\frac{\text{用药后血液流速} - \text{用药前血液流速}}{\text{用药前血液流速}} \times 100\%$$

实验表明, 诚年月泰对小鼠耳廓微动脉、微静脉均有明显扩张作用, 并使血管内血流速度明显增加, 尤以动脉扩张、动脉血流速增加为显著。显示其有较好的改善微循环作用; 相同剂量时, A 的扩张血管作用明显强于 B, 而小剂量的 A 则与 B 的血管扩张效果相同。

上述试验结果表明, 诚年月泰有明显的镇痛作用, 可使小鼠痛阈值提高 100% 以上; 皮肤用药可明显改善局部微循环状态, 使微

表 4 两种工艺的诚年月泰对小鼠耳廓微动、静脉血管直径的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	微动脉变化值(μm)		微静脉变化值(μm)	
			正常值	给药 10 min	正常值	给药 10 min
空白对照	10	—	18.09±2.83	18.25±2.75	24.13±4.26	24.35±4.68
诚年月泰 A	10	1.25	17.23±2.10	21.46±3.38*	20.75±2.91	23.59±2.93
诚年月泰 A	10	2.50	16.92±2.35	22.27±1.73***	23.14±4.47	26.32±4.86
诚年月泰 B	10	2.50	19.46±2.88	24.10±2.25***	23.05±3.32	25.57±4.86

与空白对照组比较: * $P<0.05$ *** $P<0.001$

表 5 两种工艺的诚年月泰对小鼠耳廓微动、静脉血流速的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	微动脉变化值(mm/s)		微静脉变化值(mm/s)	
			正常值	给药 10 min	正常值	给药 10 min
空白对照	10	—	103.87±11.74	100.19±17.96	97.18±4.26	95.47±12.35
诚年月泰 A	10	1.25	104.09±15.68	140.11±30.75*	92.92±18.32	103.36±11.39
诚年月泰 A	10	2.50	112.23±9.58	157.01±21.66**	99.46±14.72	118.52±18.42*
诚年月泰 B	10	2.50	106.09±11.32	139.18±35.37*	99.00±3.32	119.86±30.26*

与空白对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

表 6 两种工艺的诚年月泰对小鼠耳廓微循环影响

组别	剂量 (mg/kg)	血管扩张变化(%)		血流速变化(%)	
		微动脉	微静脉	微动脉	微静脉
空白对照	—	0.88	0.91	-3.54	-1.76
诚年月泰 A	1.50	24.55	13.69	34.60	11.24
诚年月泰 A	2.50	31.62	13.74	34.55	19.16
诚年月泰 B	2.50	23.84	10	31.19	21.07

动、静脉均呈扩张状态,血流速亦有明显增加;采用微粉技术与传统粉碎技术加工原生药材再以相同制剂工艺制成的诚年月泰 A 与诚年月泰 B 在药效学方面存在着明显的差异,相同剂量时诚年月泰 A 镇痛及改善微循环作用均强于诚年月泰 B,而小剂量的诚年月泰 A 与大剂量的诚年月泰 B 的药效作用相当接近;提示采用超细微粉技术制成的诚年月泰 A 制剂与采用传统粉碎工艺制成的诚年月泰 B 比较,有提高疗效的作用。

2 两种工艺糖泰胶囊(内服)的主要药效学比较

糖泰胶囊是由人参、黄柏、枸杞子等中药材经超细(微)粉碎后制成的微粉胶囊,具有清热养阴、益气固本之功效,采用传统粉碎技术对原生药材进行加工制成的胶囊剂对Ⅱ型糖尿病的临床症状有良好的治疗与改善作用;而采用微粉技术对原生药材加工制成的胶囊剂临床更受欢迎。为比较两种粉碎技术制成的胶囊剂在药效学方面的差异,我们对

其进行了有关降糖方面的药效学比较实验。

2.1 材料

2.1.1 药品:糖泰胶囊 A(采用超细微粉技术制成),山东省医药工业研究所中药室提供,970806;糖泰胶囊 B(采用传统粉碎技术制成),山东省医药工业研究所中药室提供,970804;盐酸苯乙双胍,山东省莒南制药厂 97030201;格列齐特,山东省医药工业研究所 960808;以上各药用时以水配成不同浓度溶液。

2.1.2 动物:昆明种小白鼠,♂ 20~24 g;Wistar 种大鼠,♂,200~250 g;由山东医科大学实验动物中心提供(鲁动质 970101)。

2.1.3 仪器及试剂:GME 血糖分析仪(GT-4310 型)广西桂林医疗电子仪器厂,日本京都第一科学株式会社合作生产;WFJ-I 型 722 分光光度计,上海电子光学技术研究所;葡萄糖测定试剂盒,北京化工厂 970828;Streptozotocin(STZ,链脲霉素)BF0202. Sigma S0130;Alloxan (Allo, 四氧嘧啶) Farco Chemical Hongkang FL0610021153。

2.1.4 粉碎设备:济南倍力粉技术工程有限公司研制(BFM-6 型)。

2.2 方法与结果

2.2.1 对正常动物血糖的影响:取 18~22 g 健康雄性小鼠 50 只,取血,以葡萄糖氧化酶

法测定血糖(BG)值,按检测值随机分为正常对照组,阳性药对照组,糖泰胶囊A大、小剂量和糖泰胶囊B大剂量共5组,每天各组分别ig生理盐水,0.5%格列齐特(100 mg/kg),糖泰胶囊A 10%,5%(2,1 g/kg)与糖

泰胶囊B 10%溶液(2 g/kg),容积均为0.2 mL/10 g,连续4 d,于末次给药前禁食3 h,ig给药,给药后2 h取各组动物血清检测血糖值,并进行统计学处理,结果见表7。

结果显示,糖泰胶囊A与B的3个剂量

表7 两种工艺的糖泰胶囊对正常小鼠BG的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	BG(mmol/L)		血糖浓度变化 (%)
			给药前	给药后	
正常对照	10	—	8.19±1.03	8.01±1.46	-2.2
格列齐特	9	0.1	8.17±1.32	4.98±1.69***	-39.05
糖泰胶囊A	10	2	8.16±1.46	4.89±2.33**	-40.07
糖泰胶囊B	10	2	8.14±1.57	6.36±1.64*	-21.87
糖泰胶囊A	10	1	8.17±1.66	6.48±0.93*	-20.69

与正常对照组比较:* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

组均有降低正常动物血糖的作用,相同剂量下糖泰胶囊A的作用强于B,而糖泰胶囊A小剂量组与糖泰胶囊B大剂量组对正常小鼠的血糖降低作用几乎相同。

2.2.2 对STZ模型小鼠血糖的影响:参照文献^[1,2]的方法,取22~24 g健康雄性小鼠,随机分组,实验前禁食18 h,自由饮水。

(1)糖尿病动物模型制备:链脲霉素(STZ)于注射前溶于0.05 mol/L枸橼酸冰浴缓冲溶液中(pH4.2~4.3),配制成13 mg/mL溶液,经腹腔1次注射,剂量为130 mg/kg。

(2)分组与给药:除正常对照组动物未注

射STZ外,其余造型动物随机分为模型对照组与实验给药组,造型72 h后各组ig给药:正常对照组与模型对照组给予生理盐水,阳性对照药组给予0.5%盐酸苯乙双胍水溶液(100 mg/kg)、糖泰胶囊A大、小剂量组分别给予10%,5%的A药液(2,1 g/kg)、糖泰胶囊B大剂量组给予10%的B药液(2 g/kg),各组给药体积均为0.2 mL/10 g;每天1次,连续14 d。

(3)结果:于末次给药前禁食3 h,给药后2 h取血测BG值,并进行统计学处理,结果见表8。

结果显示,糖泰胶囊对STZ造成小鼠胰

表8 两种工艺的糖泰胶囊A与B对STZ模型小鼠BG的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (n)	剂量 (g/kg)	BG(mmol/L)		浓度变化 (%)
			造型前	治疗后	
正常对照	10	—	9.11±1.02	9.86±0.95	8.23
模型对照	12	—	20.96±4.95	21.47±5.28	2.43
苯乙双胍	10	0.1	20.13±5.32	14.45±2.61**	-28.21
糖泰胶囊A	10	2	20.38±3.85	14.79±2.88**	-27.43
糖泰胶囊B	10	2	21.03±4.42	16.87±3.66*	-19.78
糖泰胶囊A	10	1	20.31±4.45	17.25±1.66*	-15.07

与模型组比较:* $P<0.05$ ** $P<0.01$

岛β细胞损伤所致的血糖升高有明显的降低作用;降低率在15%~27%之间,相同剂量下,采用超细微粉技术制成的糖泰胶囊A与传统粉碎技术制成的糖泰胶囊B比较,降糖作用更为明显,降糖幅度亦较大,而糖泰胶囊A小剂量组的降糖作用与糖泰胶囊B大剂

量组则更为接近。

2.2.3 对四氧嘧啶模型大鼠血糖的影响:参照文献^[2,3]的方法,取健康雄性大鼠,随机分组,实验前禁食18 h,自由饮水。

(1)糖尿病动物模型制备:四氧嘧啶(Alloxan)于注射前溶于生理盐水中,配制成60

mg/mL 的溶液,每天 1 次,ip 剂量为 120 mg/kg×2 d。

(2) 分组与给药治疗试验:除正常对照组(未造型)外,其余各组动物于造型后 72 h 取血测定血糖值,根据血糖测定值随机分为 5 组:模型对照组,阳性对照组,糖泰胶囊 A 与 B 大剂量组和糖泰胶囊 A 小剂量组;正常对照组与模型对照组 ig 生理盐水,阳性药对照

组 ig 0.5% 盐酸苯乙双胍(100 mg/kg);糖泰胶囊 A 大、小剂量组分别 ig 10%、5% 糖泰 A 药液(2.1 g/kg);糖泰胶囊 B 组 ig 10% 糖泰 B(2 g/kg),ig 体积均为 2 mL/100 g,每天 1 次,连续 3 周,于末次给药前禁食 10 h,给药后 1 h 取血测 BG 值,结果见表 9。

结果显示,糖泰胶囊 A 与 B 3 个组均有抑制四氧嘧啶模型大鼠血糖升高的作用,与

表 9 两种工艺的糖泰胶囊 Alloxan 模型大鼠血糖的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	BG(mmol/L)		浓度变化(%)
			造型 72 h 后	治疗 3 周后	
正常对照	9	—	6.12±0.72	6.24±0.65	-1.96
模型对照	13	—	26.53±3.08	27.85±9.85	4.98
苯乙双胍	12	0.1	25.86±3.66	17.48±9.75*	-38.41
糖泰胶囊 A	12	2	26.30±3.51	15.68±4.90**	-40.38
糖泰胶囊 B	12	2	26.18±4.46	17.02±9.10*	-34.99
糖泰胶囊 A	12	1	26.87±3.58	16.55±10.69*	-32.41

与治疗后模型组比较:* $P<0.05$ ** $P<0.01$

模型组比较均有显著性差异($P<0.05\sim 0.01$);糖泰胶囊 A 大剂量组的降糖作用与阳性对照组相仿,而糖泰胶囊 A 小剂量组的降糖作用与糖泰胶囊 B 大剂量组相似;提示原生药材经超细微粉制成的制剂药效作用强于采用传统粉碎技术的制剂。

3 讨论与小结

超细微粉技术是目前国际先进的粉碎技术,将其用于原生药材的超细粉碎,不但可以将原生药材的细胞壁完全打破,利于其中有效成分的迅速释放,而且可以大大提高机体对其的吸收和利用,使药效明显提高,各项检测指标得到明显改善。这种现象在外用药与

内服药的药效学实验中都可以观察到。实验结果提示,通过对原生药材的超细粉碎,可以得到更加适合机体吸收、利用的微粉药材,从而大大提高原生药材的生物利用度和其治疗效果;这一世界先进技术在传统中医药领域的研究与应用,为中药制剂水平的提高和成药走向世界打下了基础。

参考文献

- 1 汪锦华. 北京医科大学学报,1986,18(3):192
- 2 徐叔云. 实验药理方法学. 北京:人民卫生出版社,1991:1277
- 3 苗明三. 实验动物与动物实验技术. 北京:中国中医药出版社,1997:240

(1999-06-17 收稿)

《中草药》杂志 2000 年改版启事

为了增加刊物的信息量,进一步与国际接轨,本刊从 2000 年第 1 期开始改为大 16 开本。另外,根据《中草药》杂志第六届编委会编委的建议,为了吸引更多的学术水平高的稿件,从 2000 年第 1 期开始,下列文章将优先发表:1)国家自然科学基金项目,国家、省、部级攻关项目,开放实验室研究项目等的优秀论文;2)有重要指导性意义或发表后具有广泛引用价值的文章;3)有重大发现,发表后准备报奖的文章;4)两院院士及博士生导师的文章。以上几类论文,来稿时请附证明材料的复印件。

《中草药》杂志编辑部