

“护肝 I 号”口崩片的制备及药效学研究

相聪坤¹, 胡等慧², 郑玉光^{3,4*}

1. 河北省中医院, 河北 石家庄 050011

2. 北京中医药大学, 北京 102488

3. 河北中医学院, 河北 石家庄 050200

4. 河北化工医药职业技术学院, 河北 石家庄 050026

摘要: 目的 优化“护肝 I 号”口崩片处方及制备工艺, 并考察其对小鼠急性肝损伤的保护作用。方法 对崩解剂、润滑剂、填充剂进行单因素筛选, 以片剂外观、硬度、脆碎度、崩解时间作为综合评价指标, 选取崩解剂、微粉硅胶、硬脂酸镁三者用量为考察因素, 采用 Box-Behnken 响应面法设计优化制备工艺。以一次性大剂量 ig 给予对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP, 500 mg/kg) 复制小鼠急性肝损伤模型, 考察口崩片对血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 活性、肝组织中还原型谷胱甘肽 (GSH) 和丙二醛 (MDA) 含量及肝组织形态学变化的影响。结果 最优处方为干膏粉 22.00%、微晶纤维素 18.00%、山梨醇 20.00%、甘露醇 16.00%、阿斯巴甜 0.50%、柠檬酸 0.50%、L-HPC 20.00%、微粉硅胶 2.50%、硬脂酸镁 0.50%, 以此处方制备口崩片的硬度为 4~7 kg, 平均崩解时间 50 s, 平均脆碎度 0.85%; 与模型组相比, 联苯双酯对照组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组小鼠血清中 2 种转氨酶 ALT、AST 含量明显降低, 存在显著性差异 ($P < 0.01$); 肝组织中 MDA 含量降低, 存在显著性差异 ($P < 0.01$), 显著改善 APAP 对肝组织的破坏。结论 “护肝 I 号”口崩片处方工艺可行、操作简便, 与“护肝 I 号”水煎液均能有效预防 APAP 导致的肝损伤, 且两者药效作用差异无显著性。

关键词: 护肝 I 号; 口崩片; Box-Behnken 响应面法; 肝损伤; 药效学; 崩解时间; 对乙酰氨基酚

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)12-3194-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.12.011

Preparation and pharmacodynamic study of Oral Disintegration Tablets of “Hugan I”

XIANG Cong-kun¹, HU Deng-hui², ZHENG Yu-guang^{3,4}

1. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

3. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

4. Hebei Chemical & Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050206, China

Abstract: Objective To optimize the prescription and preparation process of “Hugan I” Orally Disintegrating Tablets, and investigate its efficacy against acute liver injury in mice. **Methods** Single factor method was used for disintegrants, lubricants, and fillers screening. Taking the appearance, hardness, friability and disintegration time of the tablets as the comprehensive evaluation index, the dosage of disintegrant, micro-silica gel and magnesium stearate was selected as the investigation factor. The Box-Behnken response surface method was used to optimize the orally disintegrating tablets. Acetaminophen (APAP, 500 mg/kg) was used to replicate acute liver injury model by one-time high-dose intragastric administration to investigate the effects of orally disintegrating tablets on the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum, the content of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) and morphological changes in liver tissue. **Results** The optimal prescription was as following: dry paste powder 22.00%, microcrystalline cellulose 18.00%, sorbitol 20.00%, mannitol 16.00%, Aspartame 0.50%, citric acid 0.50%,

收稿日期: 2020-01-03

基金项目: 孙宝惠全国名老中医药专家传承工作室 (7002016008005)

作者简介: 相聪坤 (1973—), 女, 河北新乐人, 主任药师, 硕士, 研究方向为中药学。Tel: 13832150858 E-mail: 541944966@qq.com

*通信作者 郑玉光 (1973—), 男, 河北安国人, 教授, 硕士学位, 主要从事中药资源与鉴定研究工作。E-mail: zyg314@163.com

disintegration agent L-HPC 20.00%, micro-powder silica gel 2.50% and magnesium stearate 0.50%. The hardness of the orally disintegrating tablets was 4—7 kg, the mean disintegration time was about 50 s, and the mean friability was around 0.85%. Compared with the model group, there were significant differences ($P < 0.01$) in Biphenyl diester control group, “Hugan I” Decoction group and “Hugan I” Orally Disintegrating Tablets group, and the levels of ALT and AST in the serum of the mice were significantly decreased. The content of MDA in the liver tissue was decreased, which improved the damage of APAP to liver tissue. **Conclusion** The formulation of the “Hugan I” Orally Disintegrating Tablet is feasible and easy to operate, which achieves the same effect with “Hugan I” Decoction that effectively prevent liver damage caused by acetaminophen with no significant differences.

Key words: Hugan I; orally disintegrating tablets; Box-Behnken response surface method; liver injury; pharmacodynamics; disintegration time; acetaminophen

“护肝 I 号”水煎液是河北省中医院临床经验方,其能够在一定程度上对肝损伤起到保护作用,但存在携带、储存不便,稳定性差,每次开具处方需现煎,调剂耗时,患者依从性差等缺点。而口崩片是一种新型速释制剂,无需咀嚼,不需要水送服,在口腔内可自行快速崩解,与普通片剂相比,能部分通过黏膜吸收,具有吸收快,生物利用度高,携带、服用方便等优势^[1]。但目前市场流通的口崩片制剂,多为精神类药物、微量元素补充制剂等所需药物含量很低的制剂,因为口崩片快速崩解的特点,导致处方中崩解剂及有助于崩解又口感好的填充剂占比较大,不适合口崩片承载过多药物,所以中药复方提取物制备口崩片的报道很少。本实验经过优化处方,成功制备“护肝 I 号”口崩片,实现了对复方提取浸膏粉的较大剂量承载。并通过药效学实验比较了“护肝 I 号”水煎液与“护肝 I 号”口崩片的治疗作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器设备

ZP10 旋转式压片机,上海信源制药机械有限公司;FA1204B 分析天平,上海精密仪器仪表有限公司;FT104B 休止角测定仪,宁波海曙瑞柯仪器有限公司;YD1 片剂硬度测试仪,天津市国铭医药设备有限公司;1011AB 电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;ZBID 智能崩解仪,天津市精拓仪器科技有限公司;FT-2000SE 脆碎度检查仪,天津市天大发科有限公司;电热恒温水浴锅,林茂科技有限公司。

1.2 试剂材料

“护肝 I 号”水煎液,河北省中医院制剂科提供,批号 190317;丹参、黄芪、甘草、五味子等中药材,河北安国药材市场,均经河北中医学院郑玉光教授鉴定为正品,基原分别为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎、豆科黄

芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、五味子科五味子属植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实等;交联聚维酮 XL (PVPP-XL),安徽山河药用辅料股份有限公司,批号 141006;低取代羟丙基纤维素 (L-HPC),安徽山河药用辅料股份有限公司,批号 161003;羧甲基淀粉钠 (CMS-Na),安徽山河药用辅料股份有限公司,批号 171204;微晶纤维素 (MCC),上海昌为医药辅料技术有限公司,批号 P0101F1510;甘露醇、山梨醇,天津市福晨化学试剂厂,批号分别为 20150912、20150912;对乙酰氨基酚 (APAP),天津中兴药业有限公司,批号 0717201;联苯双酯滴丸,广州白云山星群药业有限公司,批号 NF40008;丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 和丙二醛 (MDA) 试剂盒均购买于上海碧云天生物技术公司。

1.3 动物

SPF 级昆明种小鼠购于北京斯贝福实验动物有限公司,雄性,5 周龄,体质量 20~25 g,许可证号 SCXK9 (京) 2016-0002。

2 方法与结果

2.1 口崩片检测方法^[2]

2.1.1 硬度测定 取口崩片 5 片置硬度仪中测定,取平均值,使片剂硬度始终在 4~7 kg。

2.1.2 崩解时间的测定 参照《中国药典》2015 年版片剂崩解时间测定方法,每次取 1 片口崩片于崩解篮中,浸入 1 000 mL 烧杯中,杯内盛有温度为 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的水约 900 mL,调节水位高度使不锈钢管最低位时筛网在水面下 (15 ± 1) mm,从口崩片接触水面开始计时,全部颗粒通过筛网的时间为体外崩解时间。

2.1.3 脆碎度测定 参照《中国药典》2015 年版片剂脆碎度测定方法, 取样品 10 片进行试验, 未检出断裂、龟裂或粉碎片, 减失质量未超过 1% 判为符合规定。

2.2 “护肝 I 号”口崩片的制备

2.2.1 干膏粉的制备 按处方比例称取丹参、黄芪、甘草、五味子等药材, 80 ℃ 水提 2 次, 第 1 次 8 倍量水提 1.5 h, 第 2 次 6 倍量水提 1 h, 合并滤液, 减压浓缩, 浓缩液加入适量微粉硅胶, 真空干燥得提取干浸膏, 粉碎, 过 100 目筛, 得干浸膏粉。

2.2.2 口崩片的制备 称取处方量干浸膏粉、崩解剂、填充剂、微粉硅胶、硬脂酸镁, 采用等量递增法用研钵混匀, 过 80 目筛, 粉末直接压片法压片^[3], 控制片剂硬度在 4~7 kg。

2.3 单因素筛选实验

2.3.1 崩解剂的选择 根据处方量, 固定原料药、微粉硅胶、硬脂酸镁、MCC、山梨醇、甘露醇等辅料的比例, 控制片剂硬度 4~7 kg, 考察不同崩解剂 PVPP、L-HPC、CMS-Na 对片剂崩解时限的影响, 结果崩解时限分别为 182、178、316 s。结果表明, L-HPC 和 PVPP 崩解效果最好, 考虑到经济成本及价格问题, 故最终选用 L-HPC 作为崩解剂^[4]。

2.3.2 润滑剂的选择 根据处方量, 固定原料药、崩解剂 L-HPC、填充剂 MCC、山梨醇、甘露醇等辅料的比例, 控制片剂硬度 4~7 kg, 考察硬微粉硅胶和硬脂酸镁对粉末流动性及片剂崩解时间的影响, 结果见表 1。结果表明, 当微粉硅胶和硬脂酸镁二者联合使用时, 该处方粉末流动性好, 口崩片崩解时限优。

2.3.3 填充剂的选择 根据处方量, 固定原料药、崩解剂 L-HPC、润滑剂微粉硅胶和硬脂酸镁等辅料的比例, 控制片剂硬度 4~7 kg, 考察不同填充剂糖粉、甘露醇、山梨醇、MCC 对崩解时间的影响, 结果见表 2。当蔗糖与其他填充剂混合使用, 虽能改善口感, 但崩解时间明显较长。当甘露醇、山梨醇、

表 1 不同润滑剂对粉末流动性和崩解时限的影响

Table 1 Effect of different lubricants on powder fluidity and disintegration time limit

序号	微粉硅胶/%	硬脂酸镁/%	休止角/(°)	崩解时限/s
1	2.5		41	79
2		0.5	59	98
3		1.0	55	101
4	2.5	0.5	37	72

表 2 不同填充剂对口崩片崩解时限的影响

Table 2 Effect of different fillers on disintegration time limit of orally disintegrating tablets

序号	蔗糖粉/%	甘露醇/%	山梨醇/%	MCC/%	崩解时限/s
1	25.00	25.00			118
2	25.00		25.00		127
3	25.00			25.00	134
4		25.00	25.00		100
5		25.00		25.00	89
6			25.00	25.00	93
7		20.00	15.00	15.00	83
8		15.00	20.00	15.00	70
9		15.00	15.00	20.00	79
10		14.00	20.00	16.00	76
11		16.00	20.00	14.00	78
12		16.00	20.00	16.00	73
13		16.00	20.00	18.00	65
14		18.00	20.00	16.00	70
15		16.00	22.00	18.00	86

MCC 三者以不同比例混合使用时, 崩解效果相比于二者混合使用明显改善, 进一步筛选三者用量, 最终选定甘露醇 16.00%、山梨醇 20.00%、MCC 18.00%。

2.4 Box-Behnken 响应面法优选“护肝 I 号”口崩片的成型工艺

2.4.1 实验设计及结果 本实验在前期预试验和单因素的考察基础上, 将崩解剂用量 (A)、微粉硅胶用量 (B)、硬脂酸镁用量 (C) 3 个因素设为自变量, 以口崩片的外观、硬度、脆碎度、崩解时限作为综合评价指标, 以百分制计, 各项权重比为 2: 2: 2: 4。考察各因素对口崩片成型工艺的影响, 每个因素选取低、中、高 3 个水平, 实验设计因素水平及结果见表 4。

2.4.2 模型拟合 采用 Design-Expert 对上面数据进行分析, 以 Y 对变量进行模型拟合, 并通过相关系数 (r^2) 等对拟合自模型进行评价, 通过比较各拟合方程的拟合度, 得到 2 次多项式回归方程 $Y = 85.80 + 1.75 A - 2.63 B - 5.13 C - 3.75 AB - 0.25 AC + 1.00 BC - 11.40 A^2 - 8.15 B^2 + 2.358 C^2$, $r^2 = 0.9839$, 方差分析结果 (表 5) $P < 0.01$, $F = 47.62$, 表明模型具有极显著差异性; 失拟项 $P = 0.9625 > 0.01$, 失拟项不显著, 说明该模型拟合度和可信度均有效, 试验误差小, 可以用此模型对“护肝 I 号”

表 4 Box-Behnken 响应面法优选制备工艺实验设计的因素水平及其结果

Table 4 Box-Behnken response surface method optimization design and results of processing experiments

试验号	A/%	B/%	C/%	综合评分
1	20.00 (0)	3.00 (+1)	0.50 (-1)	81
2	15.00 (-1)	2.50 (0)	0.50	80
3	20.00	3.00	1.50 (+1)	73
4	20.00	2.50	1.00 (0)	86
5	25.00 (+1)	2.50	1.50	73
6	20.00	2.50	1.00	87
7	25.00	2.00 (-1)	1.00	74
8	20.00	2.50	1.00	87
9	25.00	3.00	1.00	62
10	20.00	2.00	0.50	89
11	25.00	2.50	0.50	84
12	15.00	2.00	1.00	63
13	15.00	3.00	1.00	66
14	15.00	2.50	1.50	70
15	20.00	2.50	1.00	83
16	20.00	2.50	1.00	87
17	20.00	2.00	1.50	77

表 5 方差分析

Table 5 Variance analysis

项目	平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
回归模型	1 227.48	9	47.62	<0.01	极显著
A	24.50	1	8.55	0.022 2	显著
B	55.12	1	19.25	0.003 2	极显著
C	210.13	1	73.36	<0.01	极显著
AB	56.25	1	19.64	0.003 0	极显著
AC	0.25	1	0.087	0.776 2	
BC	4.00	1	1.40	0.275 9	
A ²	547.20	1	191.04	<0.01	
B ²	279.67	1	97.64	<0.01	
C ²	23.25	1	8.12	0.024 7	
剩余	20.05	7			
失拟值	1.25	3	0.09	0.962 5	不显著
误差	18.80	4			
总和	1 247.53	16			

口崩片的制备工艺进行分析和预测。

2.4.3 响应面优化分析 根据拟合方程, 通过 Design-Expert V 8.0.6.1 软件绘制口崩片综合评价指标随因素变化的等高线图和响应面图 (图 1)。由等

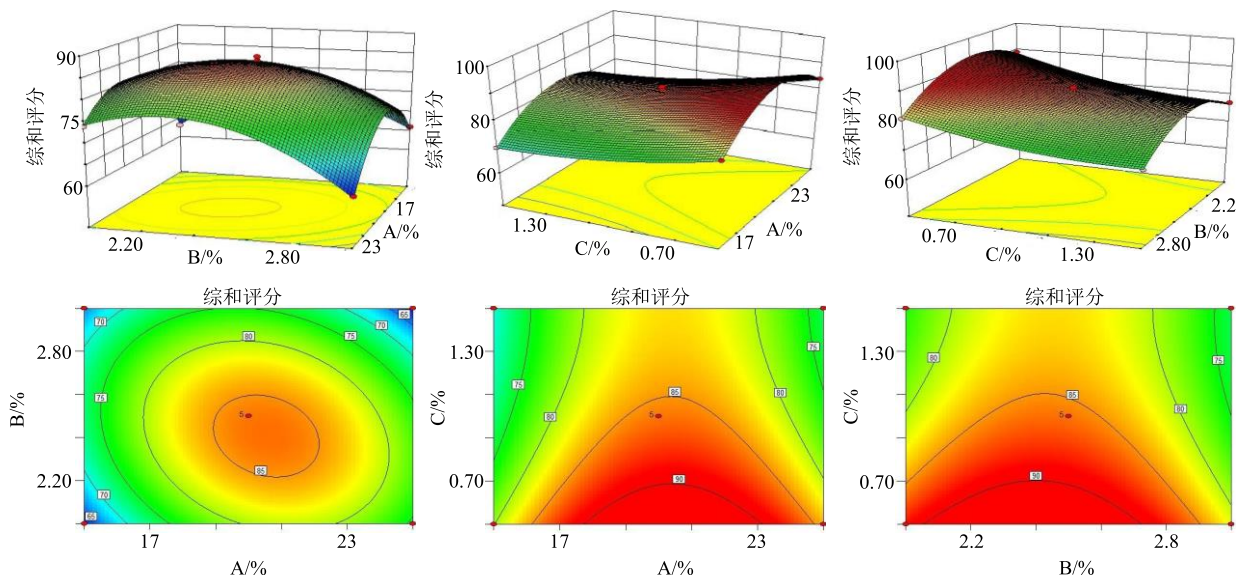


图 1 A~C 的响应面图和等高线图

Fig. 1 Contour plot and response surface diagram of A—C

高线图可以看出, 崩解剂的用量对综合评分的影响成抛物线, 即在一定范围内, 随着崩解剂用量的增加, 综合评分呈现先增大后减小的趋势; 由响应面图可以看出, 当崩解剂用量一定时, 综合评分随着硬脂酸镁的含量增大而减小, 二者呈负相关; 由图

1 可以看出, 微粉硅胶的用量对综合评分的影响也成抛物线, 随着微粉硅胶用量的增大, 综合评分呈现先增大后减小的趋势。

2.4.4 优化结果 根据回归模型分析可知, 制备“护肝 I 号”口崩片的最优条件为崩解剂量 20.65%、微

粉硅胶 2.37%、硬脂酸镁 0.50%。按照优化的处方剂量,考虑实际操作可行性,各因素值保留为整数,即崩解剂量 20.00%、微粉硅胶 2.50%,硬脂酸镁 0.50%。

2.5 “护肝 I 号”口崩片的优化制备工艺

按处方量浸膏粉 22.00%、MCC 18.00%、山梨醇 20.00%、甘露醇 16.00%、L-HPC 20.00%、阿斯巴甜 0.50%、柠檬酸 0.50%称取药粉和辅料,采用等量递增法混匀,最后加入微粉硅胶 2.50%、硬脂酸镁 0.50%,混匀,粉末直接压片法压片,片剂硬度 4~7 kg,崩解时限 45~54 s,脆碎度 0.85%,口感酸甜适中,片质量 0.4 g,浸膏含量 10%。

2.6 验证实验

采用粉末直接压片法按最优处方配比制备 3 批“护肝 I 号”口崩片进行验证。结果所得口崩片片形完整,厚薄一致,色泽均匀,崩解时限迅速,硬度适宜,脆碎度、片质量差异均符合《中国药典》2015 版要求,结果见表 6。

表 6 验证实验表 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 6 Verification test result ($\bar{x} \pm s, n=8$)

批号	崩解时限/s	硬度/%	脆碎度/%	片质量差异
1	47.67±1.03	5.20±0.11	0.81±0.02	符合要求
2	51.5±1.05	5.44±0.04	0.79±0.01	符合要求
3	48.33±0.82	4.85±0.13	0.82±0.02	符合要求

2.7 药效学研究

2.7.1 小鼠急性肝损伤模型建立 小鼠适应性饲养 1 周后根据随机数字表随机分为对照组、模型组、阳性对照组(联苯双酯组)、“护肝 I 号”口崩片组、“护肝 I 号”水煎液组,每组 8 只小鼠。各组均 ig 给药,根据人与小鼠的用药剂量换算,对照组与模型组给予等体积生理盐水,阳性组给予联苯双酯 4.05 mg/kg,“护肝 I 号”口崩片组给予 400 mg/(kg·d), (取适量药物粉末用蒸馏水配成溶液),“护肝 I 号”水煎液给予 20 mL/kg,即每只小鼠给药 0.5 mL,连续给药 7 d,1 次/d。末次给药 1 h 后,除对照组外,各组小鼠均 ig 给予对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP, 500 mg/kg)建立小鼠急性肝损伤模型^[6],造模期间禁食,不禁水,24 h 后进行相关指标的检测。

2.7.2 样品采集与处理 造模 24 h 后,小鼠摘眼球取血于 1.5 mL 肝素钠 EP 管中,4 000 r/min 离心 20 min,取上层血浆,-20 °C 保存待检。小鼠脱颈椎处死摘取肝脏,取左叶肝脏用 10%福尔马林溶液固定,常规病理切片,HE 染色光镜下观察肝脏组织

病理变化,其余肝脏组织于-80 °C 保存。

2.7.3 检测指标及方法

(1) 血清肝功能指标的检测^[7]:血清中 ALT、AST 的活性按照试剂盒说明方法,采用酶标仪测定并按照具体提供公式计算血清中 ALT、AST 的含量。

(2) 肝组织抗脂质过氧化指标的检测^[8]:摘取肝脏后用预冷的生理盐水冲洗,擦干后称取 0.3 g,加入 9 倍体积量的预冷生理盐水,制成 10%的肝组织匀浆,然后 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用于 MDA 和 GSH 的含量测定。

(3) 肝组织形态学检查:取左叶肝脏置于 10% 甲醛溶液中固定,常规脱水,石蜡包埋,切片,HE 染色进行组织形态学观察。

(4) 统计学分析:采用 SAS 8.2 软件进行统计学分析,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)比较组间差异。

2.7.4 “护肝 I 号”对小鼠急性肝损伤的药效结果

(1) “护肝 I 号”对 APAP 所致小鼠急性肝损伤血清 ALT、AST 活性的影响:血清中 ALT、AST 水平常用来作为判断肝损伤程度的指标。与对照组相比,模型组中小鼠血清中 ALT、AST 水平明显提高,具有显著性差异($P<0.01$),表明一次性 ig 给予 APAP 造模成功。与模型组相比,联苯双酯对照组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组小鼠血清中 ALT、AST 活性均有不同程度的降低,并且对于 AST 和 ALT 的活性抑制,联苯双酯组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组均存在显著性差异($P<0.01$),说明联苯双酯组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组作用效果相似,都能减轻肝损伤的程度,达到保肝的作用效果。结果见表 7。

(2) “护肝 I 号”对 APAP 所致小鼠急性肝损伤肝组织中 MDA、GSH 水平的影响:与对照组相比,模型组小鼠肝匀浆液中 MDA 含量明显上升,说明 APAP 可引起小鼠氧化应激。与模型组相比,联苯双酯组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组小鼠肝匀浆液中 MDA 的含量均有不同程度的下降,且存在显著性差异($P<0.01$),说明给药后能够降低小鼠肝脏氧化应激。GSH 是肝脏细胞的有效抗氧化剂,其含量直接影响肝脏的解毒能力。与对照组相比,模型组、阳性药物组、给药组 GSH 含量均有不同程度降低,且数值变化存在显著性差异($P<0.01$),与模型组相比,联苯双酯组、“护肝

表 7 “护肝 I 号”对 APAP 所致小鼠肝损伤血清转氨酶的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Effect of orally disintegrating tablets on serum transaminase in mice with liver injury induced by APAP ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	ALT/(ng·L ⁻¹)	AST/(ng·L ⁻¹)
对照	40.08 ± 3.91	89.53 ± 11.46
模型	62.10 ± 4.70 ^{##}	120.14 ± 13.29 ^{##}
联苯双酯	47.62 ± 7.09 ^{**}	95.79 ± 9.44 ^{**}
“护肝 I 号”水煎液	47.80 ± 3.15 ^{**}	93.43 ± 6.70 ^{**}
“护肝 I 号”口崩片	47.09 ± 5.39 ^{**}	93.80 ± 10.58 ^{**}

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

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

I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组无显著性差异,这可能与 GSH 在 APAP 给药后的水平变化有关,文献报道 GSH 水平 24 h 即可恢复正常值^[9],从而导致结果异常,说明不了给药组具有提高 GSH 水平的能力。结果见表 8。

表 8 “护肝 I 号”对 APAP 所致肝损伤小鼠肝组织的 MDA、GSH 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

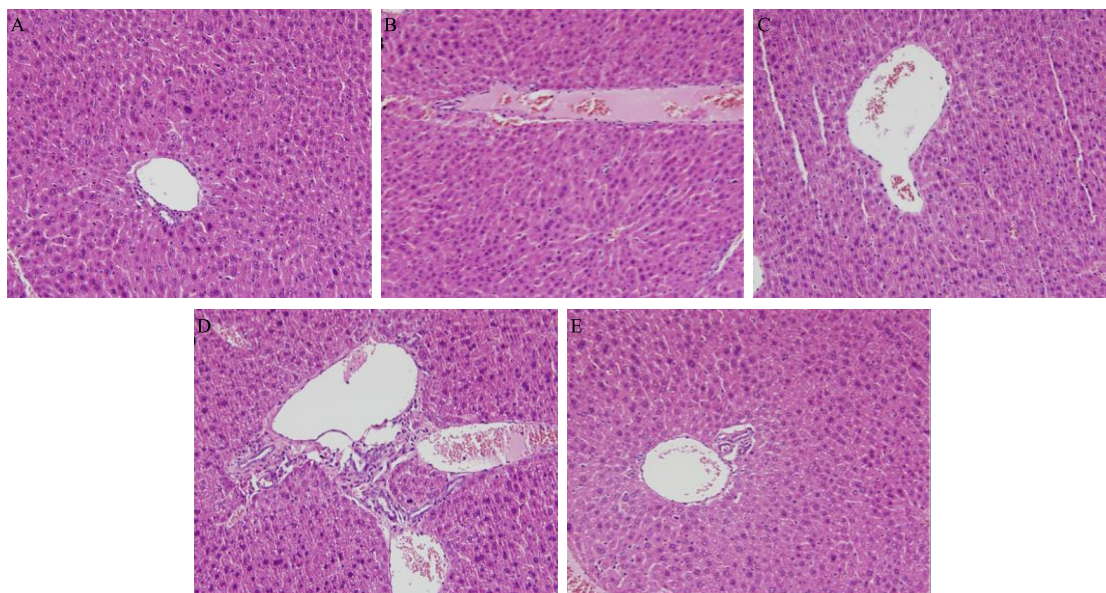
Table 8 Effect on MDA and GSH content in liver tissue of mice with liver injury caused by APAP ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	MDA/(nmol·L ⁻¹)	GSH/(ng·L ⁻¹)
对照	10.95 ± 2.50	194.05 ± 23.50
模型	16.20 ± 3.51 ^{##}	158.34 ± 13.70 ^{##}
联苯双酯	9.55 ± 3.12 ^{**}	156.01 ± 12.15 ^{##}
“护肝 I 号”水煎液	10.06 ± 1.37 ^{**}	161.69 ± 6.89 ^{##}
“护肝 I 号”口崩片	9.72 ± 2.75 ^{**}	163.33 ± 15.00 ^{##}

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

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

(3) “护肝 I 号”对肝组织病理的影响:“护肝 I 号”口崩片对肝脏组织病理的影响如图 2 所示,对照组小鼠肝组织结构正常,肝小叶清晰,肝核细胞形态正常。肝细胞排列规则整齐。模型组小鼠给予 500 mg/kg 的 APAP 处理后肝组织破坏,肝小叶不清晰且肝细胞被炎症细胞浸润,细胞出现液化性



A-对照组 B-模型组 C-联苯双酯阳性药组 D-“护肝 I 号”口崩片组 E-“护肝 I 号”水煎液组

A-control group B-model group C-Bifendate positive group D-“Hugan I” Oral Disintegrating Tablets group E-“Hugan I” Decoction group

图 2 口崩片对小鼠肝组织病理形态影响 (HE, ×20)

Fig. 2 Effect of orally disintegrating tablets on pathological morphology of liver tissue in mice (HE, ×20)

坏死呈溶解状态并伴有出血。与模型组相比较,联苯双酯阳性药组、“护肝 I 号”水煎液组和“护肝 I 号”口崩片组病变程度有明显的减轻,使肝组织结构趋于正常水平。说明“护肝 I 号”水煎液和“护肝 I 号”口崩片均可减轻 APAP 所致的肝细胞病变,对 APAP 引起的肝毒性具有保护作用,且“护肝 I 号”水煎液和“护肝 I 号”口崩片对肝毒性保护作

用相似,无显著性差别。

3 讨论

3.1 处方分析

“护肝 I 号”处方主要由丹参、黄芪、甘草、五味子等中药组成。现代药理研究显示,丹参能够清除氧自由基、抗脂质过氧化,抑制炎症因子释放,控制炎症,有效改善残缺肝脏的微循环,改善肝功

能;黄芪可以通过黄芪甲苷、黄芪多糖等多种化学成分对肝脏进行保护;甘草可显著降低肝损伤小鼠血清 ALT 和 AST 活性,降低脂肪肝模型小鼠的胆固醇和三酰甘油;五味子能够降低血清中 ALT 的活性,增加小鼠的肝糖原含量,抑制过氧化反应,增加肝脏的抗氧化能力^[10-14]。方中各药作用机制不同,多靶点协同增效,奠定了“护肝 I 号”良好的治疗物质基础。

3.2 口崩片的选择

口崩片是近几年来一种新型口服固体速释制剂,可在唾液中几十秒内快速溶解,或在口腔内快速崩解^[15-16]。选择口崩片作为给药剂型,不仅可以提高患者的依从性,还有利于提高临床治疗效果。对于口崩片而言,最关键的是既要保证有较短的崩解时限,又要有足够的硬度,本实验发现口崩片的硬度对崩解时限影响较大,当控制片剂硬度为 4~7 kg 时,口崩片外观光滑有光泽,崩解时间在 50 s 以内。本实验通过对口崩片制备工艺的处方的筛选和优化,确定了将“护肝 I 号”水煎液改造成“护肝 I 号”口崩片的最佳工艺。

3.3 口崩片的优势

与其他片剂相比,口崩片能够在口腔迅速崩解这一过程极大缩短了药物在胃肠道中溶解溶出的时间,达到和口服水煎液相同的目的,并且一定量有效成分能在口腔经黏膜吸收,有助于提高生物利用度^[17]。与水煎液相比,口崩片很大程度上解决了水煎液现煎、易发霉,储存、运输不便等缺点,使得服药更加方便快捷,更加适应快速发展的现代化生活。因此,本研究将水煎液制成口崩片具有可行性、必要性和社会市场前景。

3.4 生化指标的选择

肝脏是药物代谢的主要器官,同时也是药物的毒性氧化应激靶点^[18]。本实验选择 MDA、GSH 的含量变化作为评判肝损伤的程度是因为体内大部分引起肝损伤的 APAP 主要是经细胞色素 P450 代谢排出体外,少部分的会生成 NAPQI 消耗体内 GSH,当 GSH 消耗衰竭,未被清除的 NAPQI 会与肝细胞蛋白质结合,引起肝细胞坏死。而 MDA 又是脂质过氧化的终产物,氧分子经 P450 活化成活性氧会产生大量的自由基并引起膜脂质过氧化反应^[19-20]。这样通过二者含量的变化可以在一定程度上判断肝损伤的程度,确定“护肝 I 号”的疗效。

参考文献

- [1] 余琳,李小芳,罗丽佳,等. 中药口腔崩解片的国内外研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2015, 38(4): 109-113.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 邢琦,刘怡,于海春. 银杏叶薄膜包衣片直接压片工艺的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 729-732.
- [4] 冯松浩,金云隆,白明学,等. 基于星点设计-效应面法优化元胡止痛口腔崩解片处方的研究 [J]. 中草药, 2018, 49(23): 5568-5572.
- [5] 喻樊,徐小刚,汤新慧,等. 白藜芦醇口崩片制备工艺及质量评价研究 [J]. 中草药, 2016, 47(2): 227-232.
- [6] 徐博,田晶,马宁,等. 肝损伤动物模型的研究进展 [J]. 中国当代医药, 2019, 26(14): 38-40.
- [7] 陶小芳,宿树兰,江署,等. 五味子药渣提取物中木脂素类成分分析及其对急性肝损伤模型大鼠的保护作用 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 3051-3057.
- [8] 罗晓云,麦燕随,朱丽,等. 蒲公英总黄酮对肝损伤的保护作用及机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 925-930.
- [9] 王俊先. 罗格列酮对 APAP 急性肝损伤的保护作用及机制 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
- [10] 王忠利,王洪新. 黄芪多糖对免疫性肝损伤大鼠的保护作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 77-80.
- [11] 蒋园,白云,刘萍,等. 黄芪甲苷对 CCl₄ 所致小鼠肝损伤的影响 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(6): 24-27.
- [12] 朱晓丽. 丹参等 5 种中药对肝双向作用浅析 [J]. 中国民间疗法, 2019, 27(8): 104-106.
- [13] 张霞,程富胜. 甘草提取物对酒精性肝损伤的防治作用研究 [J]. 中兽医医药杂志, 2013, 32(6): 10-14.
- [14] 胡获,魏国伟,曲中原. 五味子保肝作用的研究进展 [J]. 药学研究, 2019, 38(4): 229-232.
- [15] 龙斯思,李龙威,罗堃,等. 口腔崩解片的应用及研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(14): 92-95.
- [16] 程中宇. 世界口腔崩解片(ODTs)的发展前景 [J]. 黑龙江医药, 2011, 24(3): 432-433.
- [17] 张毅,乌兰坦娜. 口腔速崩片的研究进展及临床应用 [J]. 职业与健康, 2011, 27(19): 2254-2256.
- [18] 金永哲. 牛膝多糖对四氯化碳所诱导大鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 延边大学医学学报, 2018, 41(4): 248-251.
- [19] 林都. 双花颗粒对小鼠实验性肝损伤的保护作用 [D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [20] 潘家琪,宋丹军,李鹏旭,等. 对乙酰氨基酚肝毒性机制与防治研究新进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(4): 618-624.