

• 药剂与工艺 •

粒子设计对参苓白术散在大鼠体内药动学过程的影响

周 晓¹, 李婧琳¹, 邹俊波¹, 张小飞¹, 郭东艳¹, 程江雪¹, 史亚军^{1*}, 石心红², 贾晓斌²

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

摘要:目的 借助 LC-MS 探讨参苓白术散经粒子设计改性后在大鼠体内的药动学过程。方法 采用粒子设计技术制备参苓白术粒子设计散。建立科学可行的 LC-MS 分析方法, 对给药后不同时间点大鼠血浆中人参皂苷 Re (GI-Re)、人参皂苷 Rb₁ (GI-Rb₁)、人参皂苷 Rg₁ (GI-Rg₁)、白术内酯 I (AT-I)、白术内酯 II (AT-II)、茯苓酸 (PA) 指标成分的血药浓度进行测定, 并采用 DAS 3.2.8 药动学软件对数据进行智能化分析, 选择非房室模式对药动学参数进行统计。结果 建立的 LC-MS 分析方法对大鼠血浆中的指标性成分均具有良好的线性关系和专属性, 且精密度、准确度、提取回收率的 RSD 值均小于 5%, 稳定性的 RSD 值小于 10%。给药后粒子设计散中指标成分 GI-Re、GI-Rb₁、GI-Rg₁、AT-I、AT-II、PA 的达峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 (AUC_{0-∞}) 较普通散均有不同程度的增加, AUC_{0-∞} 分别为改性前的 1.52、2.02、1.22、1.41、1.13、1.43 倍。结论 LC-MS 分析方法符合《中国药典》生物样品分析要求, 参苓白术散经粒子设计改性后在体内的吸收速度变快, 生物利用度提高。

关键词: 参苓白术散; 粒子设计; 改性; LC-MS; 药动学; 生物利用度; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rg₁; 白术内酯 I; 白术内酯 II; 茯苓酸

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)19-4925-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.011

Effect of particle design on pharmacokinetics of Shenling Baizhu Pulvis in rats

ZHOU Xiao¹, LI Jing-lin¹, ZOU Jun-bo¹, ZHANG Xiao-fei¹, GUO Dong-yan¹, CHENG Jiang-xue¹, SHI Ya-jun¹, SHI Xin-hong², JIA Xiao-bin²

1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective Using LC-MS to explore the pharmacokinetic process in rats of Shenling Baizhu Pulvis (SBP), which was modified by particle design technology. **Methods** Particle design powder of SBP was prepared by particle design technology. A scientific and feasible LC-MS analysis method was established to determine the blood concentration of index compounds such as ginsenoside Re (GI-Re), ginsenoside Rb₁ (GI-Rb₁), ginsenoside Rg₁ (GI-Rg₁), atractylenolide I (AT-I), atractylenolide II (AT-II) and pachymic acid (PA) in rats at different time points after administration. DAS 3.2.8 pharmacokinetic software was adopted to analyze the data, which related to blood concentration of index compounds, and the pharmacokinetics parameters were calculated by the non-compartmental model. **Results** LC-MS analysis method was established, which has a good linear relationship and specificity for the index compounds in rats, and the RSD of precision, accuracy, extraction recovery and stability were all less than 5% or 10%. Compared with ordinary powder, the particle design powder displayed increased C_{max} and AUC_{0-∞} after administration, and the AUC_{0-∞} of GI-Re, GI-Rb₁, GI-Rg₁, AT-I, AT-II and PA were increased to 1.52, 2.02, 1.22, 1.41, 1.13 and 1.43 times, respectively. **Conclusion** The LC-MS analysis method meet the requirements of biological sample analysis in Pharmacopoeia of the People's

收稿日期: 2020-04-26

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1706904); 陕西省自然科学基金项目 (2018JM7157); 陕西省中医药管理局中药制药工程重点学科项目 (2017 [A2]); 陕西中医药大学学科创新团队项目 (2019-YL11)

作者简介: 周 晓, 女, 硕士在读, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: 851622177@qq.com

*通信作者 史亚军, 男, 博士, 教授, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: 2051004@sntcm.edu.cn

Republic of China. After particle design and modification, the absorption speed of SBP *in vivo* become faster and the bioavailability is improved significantly.

Keyword: Shenling Baizhu Pulvis; particle design; modification; LC-MS; pharmacokinetics; bioavailability; ginsenoside Re; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rg₁; atractylenolide I; atractylenolide II; pachymic acid

参苓白术散 (Shenling Baizhu Pulvis, SBP) 是由人参、山药、莲子、白扁豆、薏苡仁、桔梗、白术、茯苓、砂仁、甘草 10 味药材组成的用于消化科、呼吸科、儿科等的经典方剂^[1]。《中国药典》2015 年版中 SBP 的制法为称取各药材粉碎成细粉, 过筛、混匀, 即得^[2]。SBP 中各药材的质地、粉碎难易程度及溶出度均存在明显差异, 制成的散剂虽然能保证疗效, 但各药材在接受机械力粉碎时的程度有限, 有效成分的比表面积、溶出程度及生物利用度未必达到理想状态, 药材的利用率受限, 易造成资源浪费。此外, 多成分散剂普遍存在润湿性能差、溶出度低、含量均匀度差等制剂学缺陷及生物利用度差等问题^[3-4]。粒子设计技术^[5]是粉体改性技术的一种, 常用于中药粉体的探索研究, 是从微观层面对药材粉体进行了分散和重组, 形成的重组粒子分散均匀、稳定可控, 可以有效改善粉体的制剂学性质, 增大比表面积, 增加润湿性, 改善溶解性能, 提高药材的生物利用度^[6-10]。

本课题组根据药材自身性质, 将 SBP 分为难粉碎和易粉碎物料, 通过粒子设计技术^[11-12], 基于“药辅合一”的原理^[13-14], 改变处方中物料的投料顺序、加入时间等实现壳核包覆, 制备了 SBP 的粒子设计散^[15]。本实验通过对比研究 SBP 普通散和经粒子设计改性后的粒子设计散在体内的血药浓度、生物利用度等药动学参数^[16], 对粒子设计在散剂体内溶出度、吸收效率及药动学过程的影响进行探讨研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

QE-300 高速万能粉碎机, 浙江屹立工贸有限公司; TYM-8L 细胞级超微粉碎机, 济南天宇专用设备有限公司; DHG-9140 电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科技有限公司; DSA-100 光学接触角测定仪, 德国 Kreuss 公司; S3500 激光粒度仪, 日本 Microtrac 公司; 769YP-5T 多功能压片机, 上海减压器厂有限公司; BP-121S 电子分析天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; BT-100 粉体综合特性测定仪, 山东丹东百特仪器有限公司; 20A HPLC/Q-trap 4500 MS 的 LC-MS 系统, 日本岛津公司; TESCAN VEGA3 钨丝灯扫描电镜, 上海泰斯肯贸易有限公司。

1.2 试药

人参为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎 (批号 20151201)、白术 (麸炒) 为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎 (批号 20160301)、茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf. 的干燥菌核 (批号 20160401)、山药为薯蓣科薯蓣属植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎 (批号 20151201)、莲子为睡莲科莲属植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的干燥成熟种子 (批号 20160101)、白扁豆 (炒) 为豆科扁豆属植物扁豆 *Dolichos lablab* L. 的干燥成熟种子 (批号 20160101)、薏苡仁 (麸炒) 为禾本科薏苡属植物薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf 的干燥成熟种仁 (批号 20151201)、砂仁为姜科豆蔻属植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实 (批号 20151201)、桔梗为桔梗科桔梗属植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根 (批号 20160221)、甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎 (批号 20160301), 以上药材均购自陕西兴盛德药业有限责任公司, 经陕西中医药大学生药教研室颜永刚副教授鉴定。

对照品人参皂苷 Re (GI-Re, 批号 110754-201626, 质量分数 97.4%)、人参皂苷 Rg₁ (GI-Rg₁, 批号 110703-201731, 质量分数 93.6%) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品人参皂苷 Rb₁ (GI-Rb₁, 批号 41753-43-9, 质量分数 ≥ 98%)、白术内酯 I (AT-I, 批号 73069-13-3) 购自北京北纳创联生物研究院。对照品茯苓酸 (PA, 批号 MUST-17061410, 质量分数 98.12%)、白术内酯 II (AT-II, 批号 MUST-17030202, 质量分数 99.9%) 购自成都曼斯特生物制品有限公司; 内标薯蓣皂苷元 (DI, 批号 1539-201901, 质量分数 ≥ 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SD 雄性大鼠, 体质量 180~220 g, 许可证号: SCXK (陕) 2017-003, 购于西安交通大学医学部, 陕西中医药大学中药药理学三级实验室饲养。

2 方法与结果

2.1 样品制备及表征

2.1.1 SBP 普通粉 称取 SBP 各药材粉碎成细粉，过筛、混匀，即得。

2.1.2 SBP 粒子设计散 按处方比例称取适量人参、山药、莲子、白扁豆、薏苡仁、桔梗粗粉（过 3 号筛）投入超微粉碎机中粉碎 45 min（-10 °C）

后加入白术、茯苓、砂仁、甘草粗粉继续粉碎 4 min，即得。

2.1.3 粒径、接触角、休止角的测定

(1) 粒径测定：取适量 2 种散剂样品粒子在马尔文激光粒度仪干法测试项下测定，并记录各样品累计粒度分布达到 10%、50%、90% 时所对应的粒径 (d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90})，结果见表 1 和图 1。

表 1 2 种 SBP 散剂的粒径、接触角、休止角比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Comparison on particle diameter, contact angle and angle of repose of two kinds of SBP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 名称 | 粒径/ μm | | | 接触角/ $^{\circ}$ | | 休止角/ $^{\circ}$ |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|
| | d_{10} | d_{50} | d_{90} | 初始 | 平衡 | |
| 普通散 | 7.56 ± 0.33 | 136.20 ± 0.75 | 211.56 ± 0.04 | 84.73 ± 2.94 | 8.50 ± 1.18 | 48.37 ± 2.73 |
| 粒子设计散 | 2.56 ± 0.04 | 83.40 ± 0.65 | 100.53 ± 1.76 | 81.67 ± 1.66 | 6.37 ± 1.49 | 45.81 ± 1.34 |

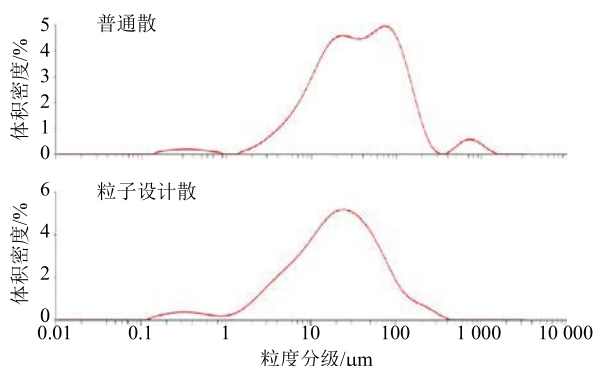


图 1 2 种散剂粒径体积累积分布

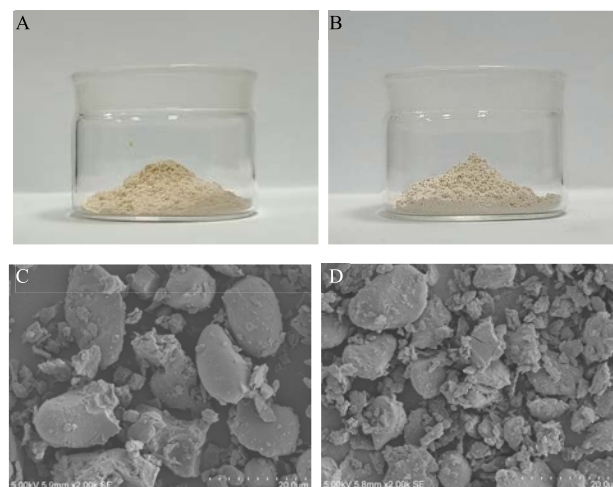
Fig. 1 Particle diameter volume cumulative distribution of two kinds of SBP

(2) 接触角测定：采用光学接触角测定仪测定 2 种散剂的接触角。在测定前用多功能压片机将待测物粉体压制成片，每片 0.3 g，硬度不高于 100 N。以水为测试液，每次测定时测定液体积 3 μL ，背光值 30，放大倍数 3 000，平行 3 次，结果见表 1。

(3) 休止角测定：运用 BT-100 粉体综合特性测定仪对 2 种散剂的休止角分别进行测定，平行 3 次，结果见表 1。

与 SBP 普通散相比，粒子设计散粉体粒子属于微粉范畴，粒子粒径分布更加集中，更加均匀，在高频数处无双峰。经单因素 ANOVA 两两多重比较分析，2 种 SBP 散剂粒子粒径大小无统计学差异。

2.1.4 外观形态及微观结构 取适量 2 种 SBP 散剂样品粒子在自然环境下观察并记录其外观形态。另取少许 2 种散剂样品粒子于离子溅射装置中，镀金后置于扫描电镜下观察样品粒子外观形貌特征，结果见图 2。SBP 普通散外观呈黄褐色，粒子设计散



A-普通散 B-粒子设计散 C-普通散 SEM ($\times 2\ 000$ 倍) D-粒子设计散 SEM ($\times 2\ 000$ 倍)
A-ordinary powder B-particle design powder C-ordinary powder SEM ($\times 2\ 000$) D-particle design powder SEM ($\times 2\ 000$)

图 2 2 种 SBP 散剂粒子外观及微观形貌

Fig. 2 Appearance and micro-morphology of powder particles

成乳白色，质地疏松。

2 种 SBP 散剂的微观形貌可以看出，普通散中圆球状和块状粒子共存，微小粒子在大粒子上无明显的附着关系，呈无规律分散，粒子间的内聚效应和包覆效应不明显；粒子设计散中多呈块状，视野中可清晰的看到微小的壳粒子附着在大粒径的核粒子表面，粒子间存在着有序的包覆关系，形成了包覆层厚度不一的“壳-核”包覆结构。

2.2 动物分组及给药

取 168 只雄性 SD 大鼠，随机分为 2 组，分别按 10.8 g/kg 剂量 ig 给药 SBP 普通散和粒子设计散，

给药 1 次。分别于给药后 0、5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480、720、1 440 min 于大鼠眼底静脉丛采血 0.5 mL 置于抗凝 EP 管中，每个采血点取样大鼠 6 只。在 4 °C 下经 4 000 r/min 离心 10 min，取上清液于 -20 °C 下储存备用。

2.3 血浆样品的处理

取血浆样品 150 μL，加入内标 DI(31.36 ng/mL) 50 μL；涡旋混合 1 min，加入甲醇 500 μL 萃取，涡旋混合 3 min，15 000 r/min 离心 10 min，取上清液，N₂ 吹干后残渣用 100 μL 甲醇复溶，涡旋混合 3 min，超声 2 min，15 000 r/min 离心 10 min，取上清进行分析。

2.4 对照品溶液的配制

配制质量浓度分别为 GI-Rg₁ 490.0 mg/mL、GI-Re 25.00 mg/mL、GI-Rb₁ 55.20 mg/mL、PA 1.970 mg/mL、AT-I 1.870 mg/mL、AT-II 1.227 mg/mL 的对照品储备液，分别吸取 500 μL 至 5 mL 量瓶中，用甲醇定容，摇匀，得混合对照品溶液。

对混合对照品溶液进行稀释，制得各指标成分质量浓度分别如下的系列混合对照品溶液：GI-Re 分别为 2.0、2.5、25.00、50.00、125.0、1 250、2 500 ng/mL；GI-Rb₁ 分别为 4.420、5.520、55.20、110.4、276.0、2 760、5 520 ng/mL；GI-Rg₁ 分别为 39.20、49.00、490.0、980.0、2 450、24 500、49 000 ng/mL；AT-I 分别为 0.150、0.187、1.870、3.740、9.350、93.50、187.0 ng/mL；AT-II 分别为 0.098、0.123、1.230、2.454、6.135、61.35、122.7 ng/mL；PA 分别为 0.158、0.197、1.970、3.940、9.850、98.50、197.0 ng/mL。

精密称取 DI 对照品适量，置于 5 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，得到质量浓度为 0.392 mg/mL 的内标储备液。对内标储备液进行稀释，得到质量浓度分别为 392.0、31.36 ng/mL 的内标溶液。

2.5 LC-MS 条件^[17-18]

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil Gold (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm)，流动相为乙腈-0.05%甲酸水溶液，体积流量 0.3 mL/min，进样量为 5 μL，柱温 40 °C，洗脱梯度见表 2。

2.5.2 质谱条件 采用多反应离子监测模式 (MRM) 进行测试，喷雾电压 4.5 kV，毛细管温度为 550 °C，辅助气体压力 68.948 kPa (10 psi)，碰撞气体压力 41.369 kPa (6 psi)，指标成分质谱条件的相关参数见表 3。

表 2 液相梯度洗脱条件

Table 2 Liquid phase gradient elution conditions

| t/min | 乙腈/% | 0.05%甲酸水溶液/% |
|-------|------|--------------|
| 0.10 | 19.0 | 81.0 |
| 9.00 | 24.7 | 75.3 |
| 16.00 | 60.0 | 40.0 |
| 29.00 | 95.0 | 5.0 |
| 31.00 | 19.0 | 81.0 |
| 35.00 | 19.0 | 81.0 |
| 35.10 | stop | |

表 3 指标成分质谱条件

Table 3 Index compounds mass spectrometry conditions

| 化合物 | 检测通道 | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | DP/V | CE/V |
|--------------------|------|----------|----------|---------|--------|
| GI-Rg ₁ | 负离子 | 799.4 | 637.4 | -150.00 | -38.00 |
| GI-Rb ₁ | 负离子 | 1 107.6 | 945.4 | -160.00 | -69.00 |
| GI-Re | 负离子 | 945.4 | 637.2 | -220.00 | -53.61 |
| PA | 负离子 | 527.3 | 465.4 | -150.00 | -38.00 |
| AT-I | 正离子 | 233.2 | 187.0 | 91.30 | 21.16 |
| AT-II | 正离子 | 233.1 | 215.1 | 94.80 | 20.70 |
| DI | 正离子 | 152.2 | 110.1 | 62.07 | 20.23 |

2.6 方法学考察

2.6.1 专属性 取大鼠空白血浆、混合对照品及内标血浆、给药后血浆，按“2.3”项下方法处理样品，考察各待测指标的专属性。结果表明，大鼠血浆中内源性杂质不干扰内标物与待测物的测定，具有良好的专属性，典型色谱图见图 3。

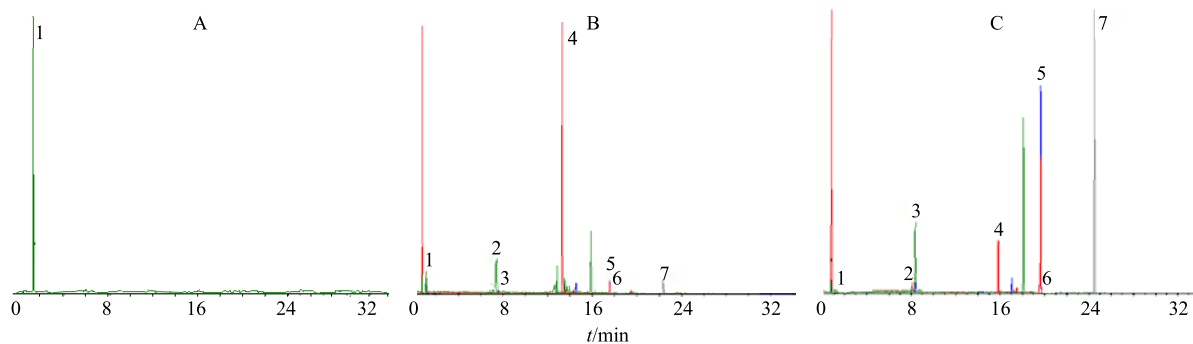
2.6.2 标准曲线与线性范围 取 150 μL 空白血浆，加入 50 μL 内标溶液 (31.36 ng/mL) 及一定体积的对照品溶液，按照“2.3”项下方法处理样品，以血浆中待测物质量浓度为横坐标 (X)，待测物与内标峰面积之比为纵坐标 (Y)，用加权 (W=1/X²) 最小二乘法进行线性回归。结果表明，大鼠血浆中的指标成分 GI-Re、GI-Rb₁、GI-Rg₁、PA、AT-I 和 AT-II 分别在 2.000~2 500.000、4.420~5 520.000、39.200~49 000.000、0.158~197.000、0.150~187.000、0.098~122.700 ng/mL 具有良好的线性关系，工作曲线及定量限等详细结果见表 4。

2.6.3 精密度及准确度 取空白血浆 150 μL，制备如下高、中、低质量浓度的质控样品 (QC)：GI-Re 25.00、125.0、2 500 ng/mL；GI-Rb₁ 5.520、110.4、2 760 ng/mL；GI-Rg₁ 49.00、980.0、24 500 ng/mL；AT-I 0.187、3.740、93.50 ng/mL；AT-II 0.123、2.454、

61.35 ng/mL; PA 0.197、3.940、98.50 ng/mL。

按“2.3”项下方法处理样品，分别在 1 d 内连续进样和连续测定 3 d，计算日内、日间精密度及准确度，考察日内及日间样品的变异程度。结果表明，各指标成分高、中、低质量浓度 QC 的日间及日内准确度、精密度的 RSD 均小于 5%，符合药典生物样品分析要求，结果见表 5。

2.6.4 提取回收率 取 150 μL 空白血浆，按“2.3”项下方法处理样品后，加入各待测指标高、中、低 3 个不同质量浓度的对照品溶液与 50 μL 内标，N₂ 挥干后用 100 μL 甲醇复溶，记录峰面积 (A₁) 与内标峰面积 (S₁)；另取 150 μL 空白血浆，加入各待测指标高、中、低 3 个不同质量浓度的对照品溶液与 50 μL 内标，按要求处理样品，N₂ 挥干后用 100 μL



A-空白血浆及内标 B-混合对照品及内标血浆 C-给药后血浆 1-DI 2-GI-Re 3-GI-Rg₁ 4-GI-Rb₁ 5-AT-I 6-AT-II 7-PA
A-blank plasma and internal standard B-mixed reference substance and internal standard plasma C-plasma after administration
1-DI 2-GI-Re 3-GI-Rg₁ 4-GI-Rb₁ 5-AT-I 6-AT-II 7-PA

图 3 SBP 指标成分和内标的血浆样品典型色谱图

Fig. 3 Typical chromatogram of plasma samples of index compounds and internal standard of SBP

表 4 指标成分线性回归考察结果

Table 4 Linear regression of index compounds

| 成分 | 工作曲线 | r | 线性范围/(ng·mL ⁻¹) | 定量限/(ng·mL ⁻¹) | 检出限/(ng·mL ⁻¹) |
|--------------------|---|---------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| GI-Re | $Y=9.837 \times 10^{-5} X - 1.428 \times 10^{-3}$ | 0.999 0 | 2.000~2 500.000 | 25.000 | 12.000 |
| GI-Rb ₁ | $Y=1.689 \times 10^{-5} X + 1.450 \times 10^{-5}$ | 0.996 0 | 4.420~5 520.000 | 4.420 | 1.768 |
| GI-Rg ₁ | $Y=2.050 \times 10^{-4} X + 1.625 \times 10^{-3}$ | 0.996 0 | 39.200~49 000.000 | 30.150 | 8.500 |
| PA | $Y=1.619 \times 10^{-3} X + 1.383 \times 10^{-3}$ | 0.996 0 | 0.158~197.000 | 0.158 | 0.062 |
| AT-I | $Y=0.208 0 X + 0.102 0$ | 0.997 0 | 0.150~187.000 | 0.026 | 0.008 |
| AT-II | $Y=0.227 9 X + 0.066 88$ | 0.998 0 | 0.098~122.700 | 0.012 | 0.004 |

表 5 指标成分的日内与日间精密度及准确度 (n = 6)

Table 5 Intra-day and inter-day precision and accuracy of index compounds (n = 6)

| 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 精密度 RSD/% | | 准确度 RSD/% | | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 精密度 RSD/% | | 准确度 RSD/% | |
|--------------------|---------------------------------|-----------|------|-----------|------|-------|---------------------------------|-----------|------|-----------|------|
| | | 日内 | 日间 | 日内 | 日间 | | | 日内 | 日间 | 日内 | 日间 |
| GI-Re | 25.00 | 2.37 | 4.35 | 3.21 | 3.64 | AT-I | 0.19 | 1.02 | 1.01 | 0.84 | 1.53 |
| | 125.00 | 3.55 | 3.28 | 1.05 | 1.04 | | 3.74 | 1.31 | 2.57 | 2.20 | 1.83 |
| | 2 500.00 | 2.94 | 4.91 | 2.22 | 3.76 | | 93.50 | 0.97 | 1.38 | 0.83 | 2.03 |
| GI-Rg ₁ | 49.00 | 3.42 | 3.25 | 4.09 | 3.85 | AT-II | 0.12 | 1.74 | 2.41 | 1.52 | 1.58 |
| | 980.00 | 5.31 | 4.36 | 2.36 | 3.20 | | 2.45 | 1.23 | 1.55 | 1.03 | 2.36 |
| | 24 500.00 | 2.36 | 2.71 | 1.92 | 2.15 | | 61.35 | 1.10 | 1.63 | 0.84 | 0.58 |
| GI-Rb ₁ | 5.52 | 1.12 | 1.58 | 2.07 | 1.33 | PA | 0.20 | 0.93 | 1.29 | 1.04 | 0.80 |
| | 110.40 | 2.94 | 2.74 | 3.71 | 2.68 | | 3.94 | 0.87 | 0.82 | 0.62 | 1.47 |
| | 93.50 | 3.61 | 1.74 | 1.22 | 2.03 | | 98.50 | 1.21 | 1.03 | 1.51 | 2.56 |

甲醇复溶，记录峰面积 (A_2) 与内标峰面积 (S_2)；峰面积比值 $R=A_2/A_1$ ， $RS=S_2/S_1$ 即为提取回收率。结果表明，本实验各指标成分 GI-Re、GI-Rb₁、GI-Rg₁、AT-I、AT-II、PA 的 RS 均在 85%~115%，RSD 均不高于 5%，提取回收率良好，结果见表 6。

2.6.5 基质效应 取 150 μ L 空白血浆，加入各待测指标高、中、低 3 个不同质量浓度的对照品溶液与 50 μ L 内标，按“2.3”项下方法处理样品，记录

峰面积 (M_1) 及内标峰面积 (N_1)。另取各待测指标高、中、低 3 个不同质量浓度的对照品溶液与 50 μ L 内标，同法操作，记录峰面积 (M_2) 及内标峰面积 (N_2)。计算峰面积比值 $T=N_1/N_2$ ， $TS=M_1/M_2$ 即为基质效应。结果表明，TS 均在 85%~115%，在该色谱及质谱条件下，不存在明显的基质效应，结果见表 7。

2.6.6 稳定性 取高、中、低 3 个质量浓度水平的

表 6 指标成分的提取回收率 ($n=6$)

Table 6 Extraction recovery of index compounds ($n=6$)

| 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 回收率/% | RSD/% | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 回收率/% | RSD/% | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 回收率/% | RSD/% |
|--------------------|---------------------------------|-------|-------|--------------------|---------------------------------|--------|-------|-------|---------------------------------|--------|-------|
| GI-Re | 25.00 | 88.42 | 3.32 | GI-Rg ₁ | 49.00 | 89.37 | 1.22 | AT-II | 0.12 | 112.38 | 0.84 |
| | 125.00 | 93.45 | 2.58 | | 980.00 | 90.41 | 1.21 | | 2.45 | 105.27 | 0.85 |
| | 2 500.00 | 88.42 | 2.23 | | 24 500.00 | 96.73 | 2.57 | | 61.35 | 112.10 | 0.26 |
| GI-Rb ₁ | 5.52 | 93.01 | 2.68 | AT-I | 0.19 | 103.21 | 0.93 | PA | 0.20 | 102.54 | 1.01 |
| | 110.40 | 98.25 | 3.49 | | 3.74 | 99.85 | 1.05 | | 3.94 | 104.26 | 1.26 |
| | 2 760.00 | 93.50 | 1.48 | | 93.50 | 100.34 | 0.45 | | 98.50 | 104.82 | 1.02 |

表 7 指标成分的基质效应 ($n=6$)

Table 7 Matrix effect of index compounds ($n=6$)

| 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 基质效应/% | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 基质效应/% |
|--------------------|---------------------------------|---------|-------|---------------------------------|--------|
| GI-Re | 25.000 | 93.400 | AT-I | 0.187 | 88.390 |
| | 125.000 | 94.350 | | 3.740 | 87.550 |
| | 2 500.000 | 103.200 | | 93.500 | 96.570 |
| GI-Rb ₁ | 5.520 | 89.730 | AT-II | 0.123 | 87.420 |
| | 110.400 | 92.100 | | 2.454 | 89.140 |
| | 2 760.000 | 95.340 | | 61.350 | 97.320 |
| GI-Rg ₁ | 49.000 | 98.240 | PA | 0.197 | 92.100 |
| | 980.000 | 90.430 | | 3.940 | 90.820 |
| | 24 500.000 | 97.200 | | 98.500 | 99.530 |

QC，分别进行短期稳定性（室温放置，24 h 内重复测定）、长期冷冻稳定性（-20 $^{\circ}$ C 保存 15 d）、冻融稳定性（1 周内反复冻融 3 次）实验。结果表明不同浓度待测物的血浆样品溶液在室温 24 h、-20 $^{\circ}$ C 保存 15 d 及冻融储藏条件下稳定性良好，RSD 均小于 10%，符合《中国药典》2015 年版生物样品分析要求，结果见表 8。

2.6.7 药动学参数测定结果 借助 LC-MS 测定不同时间点 GI-Re、GI-Rb₁、GI-Rg₁、AT-I、AT-II、PA 的血药浓度，结果见图 4。经 DAS 3.2.8 药动学软件对测试数据进行智能化分析，选择非房室模式统计，药动学参数结果见表 9。

采用 t 检验进行统计分析。其中粒子设计散中

表 8 指标成分的稳定性 ($n=6$)

Table 8 Stability of index compounds ($n=6$)

| 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 稳定性 RSD/% | | | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 稳定性 RSD/% | | | 指标成分 | 质量浓度/ (ng·mL ⁻¹) | 稳定性 RSD/% | | |
|--------------------|---------------------------------|-----------|------|------|--------------------|---------------------------------|-----------|------|------|-------|---------------------------------|-----------|------|------|
| | | 短期 | 长期冷冻 | 冻融 | | | 短期 | 长期冷冻 | 冻融 | | | 短期 | 长期冷冻 | 冻融 |
| GI-Re | 25.00 | 1.59 | 4.32 | 6.45 | GI-Rg ₁ | 49.00 | 5.27 | 6.58 | 4.98 | AT-II | 0.12 | 8.54 | 5.62 | 2.84 |
| | 125.00 | 3.46 | 2.25 | 3.35 | | 980.00 | 4.39 | 5.90 | 5.63 | | 2.45 | 4.26 | 1.83 | 5.91 |
| | 2 500.00 | 5.53 | 5.97 | 5.89 | | 24 500.00 | 7.32 | 6.38 | 3.26 | | 61.35 | 3.47 | 1.57 | 6.27 |
| GI-Rb ₁ | 5.52 | 2.51 | 7.25 | 6.03 | AT-I | 0.19 | 6.57 | 2.36 | 6.01 | PA | 0.20 | 2.37 | 5.39 | 2.49 |
| | 110.40 | 4.31 | 7.93 | 5.36 | | 3.74 | 5.83 | 1.28 | 1.23 | | 3.94 | 5.92 | 6.49 | 3.04 |
| | 2 760.00 | 1.64 | 8.52 | 2.57 | | 93.50 | 7.22 | 3.82 | 4.02 | | 98.50 | 6.81 | 5.83 | 5.93 |

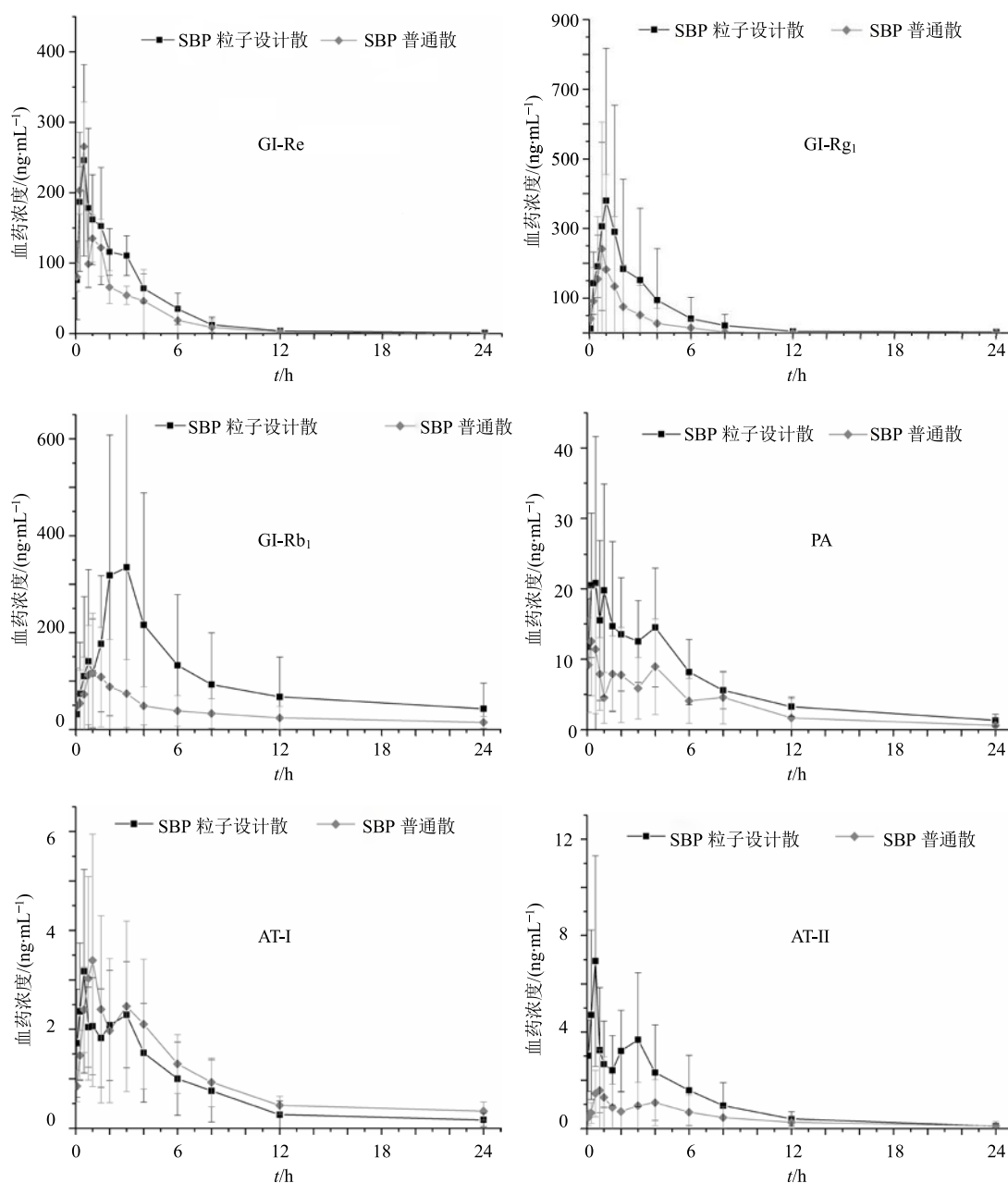


图 4 大鼠口服普通散和粒子设计散后指标成分的 C-T 曲线图 (n = 6)

Fig. 4 Cmurt curve of index compounds after oral administration of ordinary powder and particulate design powder in rats (n = 6)

GI-Rb₁ 和 AT-I 的 t_{max} 增加, GI-Re、GI-Rg₁、GI-Rb₁、PA、AT-I、AT-II 的 C_{max} 都有不同程度增加, 说明粒子设计散较普通散更容易被机体吸收; 有效成分在粒子设计散中的 $AUC_{0-\infty}$ 值均大于普通散, 分别为改性前的 1.52、2.02、1.22、1.41、1.13、1.43 倍, 表明散剂经微粒设计后, 代表性成分在体内的吸收速度加快, 生物利用度提高。

3 讨论

本实验建立的 LC-MS 分析方法对大鼠血浆中

指标成分的线性关系、专属性良好, 精密度、准确度、提取回收率的 RSD 值均小于 5%, 待测物血浆样品溶液在室温 24 h、-20 °C 保存 15 d 及冻融储藏条件下稳定性均良好, RSD 均小于 10%, 表明建立的 LC-MS 分析方法科学可行。

粒子设计是从微观层面对粉体的结构和功能进行设计, 通过表面自由能、范德华力等将易粉碎的小粒径物料作为壳粒子吸附在难粉碎的大粒径核粒子表面形成有序, 稳定的壳核包覆结构^[19]。课题组

表 9 各成分在不同散剂中药代动力学参数 ($n = 6$)Table 9 Pharmacokinetic parameters of different compounds in different powders of traditional Chinese medicine ($n = 6$)

| 成分 | 粉末名称 | t_{\max}/h | $C_{\max}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ | $\text{AUC}_{(0-\infty)}/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ |
|--------------------|-----------|--------------|--|---|
| GI-Re | SBP 普通散 | 1.48±0.00 | 225.43±81.74 | 646.42±136.01 |
| | SBP 粒子设计散 | 1.26±0.39 | 322.36±96.26 | 985.85±454.87* |
| GI-Rb ₁ | SBP 普通散 | 1.45±0.91 | 191.31±114.04 | 2 445.72±922.03 |
| | SBP 粒子设计散 | 2.20±0.45 | 381.95±131.59* | 2 983.17±844.04 |
| GI-Rg ₁ | SBP 普通散 | 0.57±0.11 | 763.54±145.29 | 1 229.87±148.94 |
| | SBP 粒子设计散 | 0.50±0.00 | 1 719.93±868.75* | 2 485.32±452.64** |
| PA | SBP 普通散 | 0.40±0.22 | 23.27±7.00 | 115.95±76.54 |
| | SBP 粒子设计散 | 0.30±0.11 | 25.07±9.25 | 163.50±77.10 |
| AT-I | SBP 普通散 | 0.75±0.18 | 4.95±1.32 | 18.83±12.86 |
| | SBP 粒子设计散 | 0.90±0.65 | 6.49±2.65 | 21.34±17.47 |
| AT-II | SBP 普通散 | 0.65±0.14 | 4.58±3.22 | 18.83±12.86 |
| | SBP 粒子设计散 | 0.50±0.00* | 7.85±4.55 | 31.22±21.32 |

与 SBP 普通散比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs particle design powder and ordinary powder

前期对 SBP 处方药材的粉体学性质进行了深入的探索研究,制备得到了以易粉碎物料人参、山药、莲子、白扁豆、薏苡仁、桔梗粗粉为壳粒子,难粉碎物料白术、茯苓、砂仁、甘草为核粒子的粒子设计散。本实验通过比较两种散剂在给药后大鼠血浆内指标成分的含量发现,粒子设计散中 GI-Re、GI-Rb₁、GI-Rg₁、AT-I、AT-II、PA 的 C_{\max} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 值较普通散均有不同程度的增加, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 值分别为改性前的 1.52、2.02、1.22、1.41、1.13、1.43 倍,说明粒子设计改善了制剂在体内的吸收,加快了吸收速率,增加了吸收程度,提高了生物利用度。

此外,人参皂苷类成分水溶性良好,溶出速度快,但生物利用度低,而微粒设计显著的改善了 GI-Re 和 GI-Rg₁ 的生物利用度。粒子设计散中有效成分生物利用度的提高可能是因为粒子设计形成的壳核包覆结构减小了药材粉末的粒径,增加了细胞破壁率,同时减小了微粉粒子的自身团聚,使表面自由能增大,比表面积扩张,有效成分的溶出及跨膜转运速率增加,从而提高了 SBP 在体内的吸收率。这种吸收机制的改善不仅与粒子粒径减小有关,可能还与各成分间相互协同作用密切相关。

虽然改性后有效成分在体内溶出度及生物利用度增加,药材的有效利用率提高,但是制剂的服用剂量是否需要调整,制剂入血成分质和量的变化是否会产生新的药效,还有待进一步的试验研究。综合上述对改性前后散剂粒子生物利用度的评价,说

明用粉体改性技术来提高制剂的生物利用度是科学可行的。

参考文献

- [1] 许飞,赵芳昭,马少华,等. 经方参苓白术散临床应用研究进展 [J]. 中国民间疗法, 2020, 28(7): 106-108.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 杨明,韩丽,杨胜,等. 基于传统丸、散剂特点的中药粒子设计技术研究 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 9-14.
- [4] 张定堃,杨明,林俊芝,等. 中药散剂的制法研究 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(1): 21-24.
- [5] 张定堃,秦春风,韩丽,等. 粒子设计对口腔溃疡散粉体学性质的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 334-340.
- [6] 罗付生,李凤生. 超微粒子设计技术及应用 [J]. 材料科学与工程, 2001(2): 115-118.
- [7] 李婧琳,王媚,史亚军,等. 超微粉碎技术在中药制剂中的应用分析 [J]. 现代中医药, 2018, 38(5): 121-123.
- [8] 李婧琳,王媚,史亚军,等. 超微粉碎对白术饮片粉体学性质和溶出度的影响 [J]. 华西药学杂志, 2019, 34(1): 22-26.
- [9] 杨艳君,邹俊波,张小飞,等. 超微粉碎技术在中药领域的研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5887-5891.
- [10] 年娟娟,史亚军,郭东艳,等. 粉体改性及粒子重组在中药制剂中的应用研究 [J]. 中国药房, 2014, 25(27): 2578-2580.

- [11] 王小平. 粒子设计改善中药粉体均一性与溶解性的工艺原理研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [12] 张定堃, 林俊芝, 韩 丽, 等. 基于粒子设计原理的青黛-白矾复合粒子的制备及表征 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3457-3464.
- [13] 蒋且英, 曾荣贵, 赵国巍, 等. 中药粉体改性技术与改性设备研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1677-1681.
- [14] 张定堃, 傅超美, 林俊芝, 等. 中药制剂的“药辅合一”及其应用价值 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1921-1929.
- [15] 杨艳君, 李婧琳, 王 媚, 等. 粉体改性技术在中药制剂中的应用研究——以参苓白术散为例 [J]. 中草药, 2020, 51(15): 3884-3893.
- [16] 于琛琛, 张纯刚, 程 岚. 白藜芦醇 β -环糊精包合物在大鼠体内生物利用度研究 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(11): 19-21.
- [17] 高璟春, 张金超, 陈 瑶, 等. 补中益气汤的 LC-MS 分析及其对免疫抑制小鼠的调节作用 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1134-1137.
- [18] 康 安, 钱 静, 单进军, 等. 人参总皂苷主要成分大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3045-3050.
- [19] 明良山, 李 哲, 吴 飞, 等. 基于表面自由能的粒子设计研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2017, 52(14): 1201-1207.