

• 药剂与工艺 •

基于溶剂挥发法的粒子设计技术提升羚珠散品质

詹麒鸿¹, 杨艳君¹, 朱毛毛², 瞿钟欢¹, 石如玉¹, 封亮^{1,3*}, 贾晓斌^{1*}

1. 中国药科大学中药学院 儿科与传统中药产教融合创新中心, 江苏省儿科中药与特色制剂重点实验室, 江苏 南京 211198
2. 南京市产品质量监督检验院, 江苏 南京 210019
3. 南京市江宁区中医院, 中国药科大学附属江宁中医院, 江苏 南京 211100

摘要: **目的** 在不改变儿科中药羚珠散抗惊厥药效的前提下, 基于溶剂挥发法的粒子设计技术对羚珠散进行制剂改良, 提高其流动性和均一性, 降低其 Hg 元素的暴露量, 保证其用药安全性。**方法** 借助粒子设计技术对羚珠散进行制剂改良, 制备并表征“朱砂-琥珀”复合粒子, 通过构建幼龄大鼠惊厥模型, 对比羚珠散及其改良制剂的抗惊厥效果, 探讨两者的体内药动学行为, 分析其体内过程 and 安全性。**结果** 以复合粒子与琥珀表面润湿性差异最小的各比例参数水平为优化目标对复合粒子进行工艺优化, 得到最优制备工艺为溶剂体积 250 mL, 超声 20 min, 转速 15 r/min。复合粒子表征结果表明, 粒子设计羚珠散(后简称为粒子设计散)为结构均一的粒子, 其流动性和均匀性均优于物理混合物, 且溶剂挥发法改变了朱砂和琥珀的表面形貌, 使得其形成了全新的微观结构。溶剂残留实验结果表明, 样品中不存在二氯甲烷残留。药效实验结果表明, 羚珠散组、粒子设计散组可显著延长惊厥潜伏期 ($P < 0.05$ 、 0.01), 缩短惊厥持续时间 ($P < 0.001$), 显著降低酰化刺激蛋白 (acylated stimulatory protein, ASP) 含量, 且对肝肾没有明显的毒性作用。药动学结果表明粒子设计散中 Hg 元素的 AUC_{0-12} 、 C_{max} 是羚珠散的 0.80、0.66 倍, 一定程度上降低了 Hg 元素的暴露量。另外, 粒子设计散的胆酸和猪去氧胆酸的药时曲线与羚珠散的基本一致, 均表现出先吸收后降低的趋势。**结论** 粒子设计技术成功改善了儿科中药羚珠散的流动性和均一性, 并在一定程度上降低了 Hg 元素的溶出, 且羚珠散及其粒子设计散均表现出良好的抗惊厥效果。粒子设计散相较于传统羚珠散而言, 能够保障在不影响有效成分胆酸和猪去氧胆酸的体内药动学行为的前提下, 一定程度上降低制剂中 Hg 元素的暴露量, 从而提升该制剂的安全性, 保障儿童的用药安全。

关键词: 儿科中药; 羚珠散; 粒子设计技术; 均一性; 抗惊厥; 品质提升; 暴露量

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)19-6990-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.012

Enhancing quality of Lingzhu Powder by particle design technology based on solvent evaporation method

ZHAN Qihong¹, YANG Yanjun¹, ZHU Maomao², QU Zhonghuan¹, SHI Ruyu¹, FENG Liang^{1,3}, JIA Xiaobin¹

1. Innovation Center for Industry-Education Integration of Pediatrics and Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Pediatric Traditional Chinese Medicine and Specialized Formulations, School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China
2. Nanjing Municipal Product Quality Supervision and Inspection Institute, Nanjing 210019, China
3. Nanjing Jiangning District Hospital of Chinese Medicine, Affiliated Jiangning Hospital of Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 211100, China

收稿日期: 2025-04-28

基金项目: 国家重点研发计划中药现代化专项 (2018YFC1706900); 江苏省科技成果转化专项资金 (BA2020077)

作者简介: 詹麒鸿 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂与创新中药研究。E-mail: 2694853227@qq.com

*通信作者: 贾晓斌 (1966—), 男, 博士, 博士研究生导师, 教授, 研究方向为中药炮制与特色制药技术的传承与创新。

E-mail: jiaxiaobin2015@163.com

封亮 (1981—), 男, 博士, 博士研究生导师, 教授, 研究方向为中药制剂与创新中药研究。E-mail: wenmoxiushi@163.com

Abstract: Objective Without compromising the anticonvulsant efficacy of pediatric medicine Lingzhu Powder (LP, 羚珠散), this study employed particle design technology based on solvent evaporation to improve the formulation of LP. The aim was to enhance its flowability and uniformity, reduce the exposure to mercury (Hg) element, and ensure its safety for use. **Methods** In this study, particle design technology was used to improve the formulation of LP by preparing and characterizing “Cinnabar-Amber” composite particles. Using a juvenile rat convulsion model, the anticonvulsant effects of LP and its improved formulation were compared. The pharmacokinetic behavior of both formulations *in vivo* was explored, and their *in vivo* processes and safety were analyzed. **Results** Based on the objective of minimizing the wettability difference between composite particles and amber surfaces across various parameter ratios, the process was optimized. The optimal preparation parameters were determined as follows: solvent volume of 250 mL, ultrasonic treatment for 20 min, and stirring speed of 15 r/min. The optimized composite particles exhibited uniform structure, improved flowability, and better homogeneity compared to physical mixtures. The solvent evaporation method altered the surface morphology of cinnabar and amber, creating a novel microstructure. No dichloromethane residue was detected in the samples. Both LP and the particle-designed formulation significantly prolonged the latency to convulsion ($P < 0.05, 0.01$), shortened the duration of convulsion ($P < 0.001$), and reduced Acylated stimulatory protein (ASP) content without causing significant toxicity to the liver or kidneys. Pharmacokinetic results showed that the area under the curve (AUC) and maximum concentration (C_{max}) of Hg in the particle-designed formulation were 0.80 and 0.66 times those of the original LP, respectively, indicating reduced exposure to Hg. The pharmacokinetic profiles of bile acid and hyodeoxycholic acid in both formulations were similar, showing an initial increase followed by a decrease. **Conclusion** Particle design technology successfully improved the flowability and uniformity of pediatric medicine LP and to some extent reduced the leaching of elemental Hg. Both the original and optimized formulations demonstrated good anticonvulsant effects. The particle-designed formulation, while maintaining the pharmacokinetic behavior of the active components bile acid and hyodeoxycholic acid, reduced Hg exposure the preparation to a certain extent, thereby enhancing the safety of the formulation for pediatric use.

Key words: pediatric traditional Chinese medicine; Lingzhu Powder; particle design technology; uniformity; anticonvulsant; quality improvement; exposure

羚珠散是中国百年老字号儿科药物，由吴门医派金氏儿科第五代传承人、名老中医金绍文^[1]创制。该制剂是一种独特的儿科中药，组成包括羚羊角粉、珍珠粉、人工牛黄、僵蚕、朱砂、琥珀、胆南星、冰片和石菖蒲油^[2]。方中君药羚羊角粉、人工牛黄和珍珠粉平肝泻火、熄风止痉、清热解毒；臣药僵蚕祛风解痉，胆南星清热豁痰；佐药朱砂、琥珀镇心安神、安神定惊；使药冰片、石菖蒲油则起到药引的作用，开窍醒神以助诸药化痰祛风、镇惊退热之功。

尽管该制剂在临床上表现出显著的抗惊厥效果，由于其传统散剂形式，药味原料来源广泛，且贵细药材（如羚羊角、琥珀）占比较高，加之处方中包含植物类、动物类、矿物类、树脂类和挥发油类等多种饮片，物质组成极为复杂，导致制剂容易存在流动性差和均一性不足的问题。此外，处方中的朱砂等药味虽为有效药味，但其含有的重金属 Hg 易引发安全性问题^[3]。传统制备工艺可能导致有效成分分布不均或毒性成分难以精准控制，影响制剂的稳定性和安全性。因此，为提升该制剂的品质，在不引入外来辅料的前提下，基于“药辅合一”^[4-6]的思想，引入粒子设计技术。粒子设计技术是指根

据粉体的理化性质，在微观层面对粉体进行结构设计和功能设计，提高粉体使用性能的一项技术^[7]，包括粒子复合与粉体表面改性^[8]两方面的手段。粒子复合通过重组或分散构建如壳核结构、框架结构等特殊的粒子结构，从而改变粉体的某些性质^[9]，且颗粒尺寸一般小于 10 μm ^[10]。而根据药物的粉体特性，通常可将药物分为 2 类：稳定药物（壳粒子）和不稳定药物（核粒子）。通过超微粉碎将壳粒子物料粉碎至细小的颗粒，再加入粒径较大的核粒子，小粒径的粒子迅速包覆粒径较大的粒子，再通过调整细胞级超微粉碎机的运行参数，即可完成壳核包覆结构的构建，进而实现不同种类粒子在空间结构上的有序复合（如图 1 所示）。目前，在中药剂型现代化的实践中得到充分应用^[11-12]。在中药制剂中，复合粒子技术通过构建多尺度结构，优化粉体的流动性、分散性和稳定性，从而提高药物的有效成分释放效率，以达到减毒增效的目的。

本研究拟采用溶剂挥发法以处方中质轻的树脂类药材琥珀包覆于朱砂表面，制备“朱砂-琥珀”复合粒子，改善羚珠散的流动性和均一性，同时在不影响有效成分胆酸和猪去氧胆酸体内药动学行为的基础上，一定程度上降低 Hg 元素的暴露量。

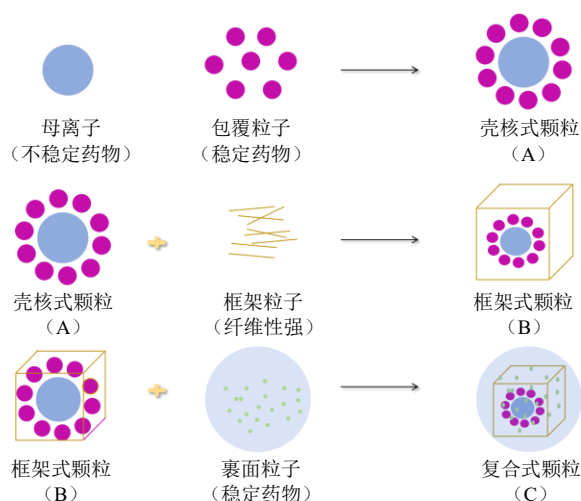


图 1 粒子设计示意图

Fig. 1 Schematic diagram of particle design

此外,通过构建幼龄大鼠惊厥模型,验证了羚珠散和粒子设计散均具有良好的抗惊厥作用,进一步证明了粒子设计技术在提升药物安全性和疗效方面的潜力。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市科瑞仪器有限公司;DZF-6050 型真空干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;Sigma 300 型扫描电子显微镜(SEM),德国 ZEISS 公司;SC7620 型溅射镀膜仪,无锡科罗玛特科技有限公司;X-max 50 型能量色散 X 射线光谱仪,牛津仪器科技(上海)有限公司;S3500 型激光粒度仪,日本麦奇克拜尔有限公司;BT-1001 型智能粉体综合特性测试仪,丹东市百特仪器有限公司;TENSOR-27 型傅里叶变换红外光谱仪,德国布鲁克公司;7890B/5977B GC-MS 型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦科技有限公司;FA1004B 型万分之一电子天平,上海赫尔普国际贸易有限公司;PX125DZH 型十万分之一电子天平,奥豪斯仪器常州有限公司;XPR 型百万分之一天平,梅特勒-托利多国际贸易有限公司;KH-300TDB 型高频数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;TG16A 型高速离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;Milli-Q Reference 型超纯水系统,美国默克密理博公司;Multiskan GO 型多功能酶标仪,赛默飞世尔科技公司;6470LC-QQQ 型液质联用仪,美国安捷伦科技有限公司;Acquity UPLC HSS T3 色谱柱,沃特世科技(上海)有限公司;UGC-24M 型氮吹仪,天津力辰科技有限公司。

1.2 药品与试剂

朱砂(批号 20220802-221010)、羚珠散(批号 WA06008)、琥珀(批号 220901-220922)均购自雷允上药业集团有限公司;N,N-二甲基甲酰胺(批号 20200408)、二氯甲烷(批号 20220824)均购自上海凌峰化学试剂有限公司;二氯甲烷对照品(批号 C16039965)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;大鼠谷氨酸 ELISA 试剂盒(批号 202409)、大鼠天冬氨酸转氨酶 ELISA 试剂盒(批号 202409)、大鼠 γ -氨基丁酸 ELISA 试剂盒(批号 202409)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号 20240926)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号 20240925)、肌酐含量检测试剂盒(批号 20240925)均购自南京建成生物工程研究所;胆酸(批号 T16J8Q28663)、猪去氧胆酸(批号 N121B231316)、芦丁(批号 T27F10Z81699)均购自上海源叶生物科技有限公司;琥珀细粉、粒子设计散(批号 20240829)为实验室自制;质谱甲酸(批号 225583 T-33362)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;质谱乙腈(批号 JA141830)、质谱甲醇(批号 I1338707412)均购自 Merck KGaA 公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na,批号 20120110)购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级 SD 大鼠(3 周龄)66 只,雌雄各半,购于斯贝福(苏州)生物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(苏)2022-0006。饲养于中国药科大学新动物中心,每笼 3 只,饲养温度为 25 °C,湿度为 50%,12 h 昼夜交替,实验动物可以自由饮食和饮水。动物实验经中国药科大学动物伦理委员会批准(批号 2024-05-017),本实验所有流程严格遵循中华人民共和国国家科学技术委员会发布的实验动物管理指南。

2 方法与结果

2.1 羚珠散复合粒子设计及工艺优化

按处方比例称取 5 g 琥珀细粉(按《中国药典》2020 年版一部凡例粉末分等项下“细粉”标准制备)溶于 250 mL 二氯甲烷中,冰浴超声处理 10 min,加入处方比例朱砂细粉 2.5 g 共混匀,40 °C 磁力搅拌至稠膏状,置于真空干燥箱 60 °C 干燥 7 d,研细(过 5 号筛),密封保存。

在此基础上,以复合粒子与琥珀表面润湿性差

值为评价参数,分别考察二氯甲烷溶剂体积、超声时间、磁力搅拌转速对朱砂-琥珀复合粒子样品的影响。由表1可知,随溶剂体积增加复合粒子与琥珀的润湿性差异呈现先下降后上升的趋势,当溶剂体积为250 mL时,复合粒子的表面润湿性与琥珀更为接近,提示复合粒子的表面性质更接近琥珀,故

确定二氯甲烷体积为250 mL。

表1提示超声时间为20 min,磁力搅拌转速为15 r/min时复合粒子与琥珀的润湿性差异最小。因此,选择溶剂体积为200、250、300 mL,超声时间为15、20、25 min,磁力搅拌转速为10、15、20 r/min进行响应面优化实验。

表1 朱砂-琥珀复合粒子制备工艺单因素考察结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Results of single-factor investigation on preparation process of cinnabar-amber composite particles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

溶剂体积/mL	润湿性差异/(°)	超声时间/min	润湿性差异/(°)	磁力搅拌转速/(r·min ⁻¹)	润湿性差异/(°)
150	2.16±1.17	10	1.87±0.17	10	5.36±1.75
200	2.48±0.91	15	2.01±0.88	15	1.31±0.45
250	1.87±0.17	20	1.31±0.45	20	1.95±0.90
300	3.77±1.31	25	3.10±1.12	25	3.17±1.23
350	4.77±1.52	30	3.67±0.78	30	5.59±1.82

在单因素结果的基础上,以复合粒子与琥珀表面润湿性差异为指标,进一步对二氯甲烷体积(X_1)、超声时间(X_2)、磁力搅拌转速(X_3)进行工艺优化。采用Box-Behnken设计方法进行3因素3水平优化设计(表2)。响应面试验设计及结果如表2所示。以复合粒子与琥珀的润湿性差异为指标,将表2的结果导入Design-Expert 13进行回归分析,获得润湿性差异对 X_1 、 X_2 、 X_3 的回归方程为 $Y=$

$59.144 2 - 0.255 7 X_1 - 2.029 8 X_2 - 0.925 4 X_3 + 0.001 8 X_1 X_2 - 0.001 1 X_1 X_3 + 0.011 7 X_2 X_3 + 0.000 4 X_1^2 + 0.035 5 X_2^2 + 0.033 5 X_3^2$,显著性检验和方差分析见表3。由表3可知,试验所建立的回归方程模型具有极显著性差异($P=0.000 6 < 0.01$);失拟项($0.674 3 > 0.05$)不显著,这代表在实验过程中非实验因素对结果影响较小,上述结果证明模型成立。模型回归系数 R^2 为0.955 2,表明实验结果拟合情

表2 Box-Behnken设计因素水平、试验设计及结果

Table 2 Factor levels, experimental design and results of Box-Behnken design

序号	X_1 /mL	X_2 /min	X_3 /(r·min ⁻¹)	润湿性差异/(°)	序号	X_1 /mL	X_2 /min	X_3 /(r·min ⁻¹)	润湿性差异/(°)
1	300 (+1)	25 (+1)	15 (0)	4.15	10	300	20	10	3.73
2	200 (-1)	15 (-1)	15	3.46	11	300	20	20	3.60
3	200	20 (0)	10 (-1)	2.40	12	300	15	15	3.16
4	250 (0)	15	20 (+1)	2.40	13	250	20	15	1.10
5	250	25	20	3.50	14	250	25	10	2.95
6	200	20	20	3.45	15	250	20	15	1.15
7	250	15	10	3.02	16	250	20	15	1.10
8	250	20	15	1.89	17	250	20	15	0.95
9	200	25	15	2.61					

表3 回归方程各项的方差分析

Table 3 Analysis of variance for each term in regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	16.68	9	1.85	16.58	0.000 6	X_1^2	6.24	1	6.24	55.80	0.000 1
X_1	0.92	1	0.92	8.27	0.023 8	X_2^2	3.33	1	3.33	29.81	0.000 9
X_2	0.17	1	0.17	1.53	0.225 9	X_3^2	2.97	1	2.97	26.56	0.001 3
X_3	0.09	1	0.09	0.81	0.398 6	残差	0.78	7	0.11		
$X_1 X_2$	0.85	1	0.85	7.57	0.028 4	失拟项	0.23	3	0.08	0.55	0.674 3
$X_1 X_3$	0.35	1	0.35	3.11	0.121 0	纯误差	0.55	4	0.14		
$X_2 X_3$	0.34	1	0.34	3.06	0.123 7	总和	17.46	16			

况较好,因此,可以用此模型预测和分析朱砂-琥珀复合粒子的制备工艺参数。方程中一次项 X_1 项以及交互项 X_1X_2 对复合粒子的润湿性影响达到显著水平 ($P < 0.05$)。根据 F 值可知,各因素对复合粒子润湿性的影响顺序为 X_1 (二氯甲烷体积) $> X_2$ (超声时间) $> X_3$ (磁力搅拌转速)。

图2为各因素交互作用对复合粒子润湿性的影响,通过三维响应面和二维等高线图分析,溶剂体积响应面曲面弯曲程度较大,表明对朱砂-琥珀复合粒子的润湿性影响显著 ($P < 0.05$),从而影响琥珀在朱砂表面的包覆效果。等高线呈现出的形态反映

了因素之间相互作用的强度是否显著,当图形呈现出椭圆形时,2个因素之间的相互作用显著。图2表明, X_1X_2 之间的相互作用比 X_1X_3 和 X_2X_3 更为显著,这与方差分析结果想一致。

以复合粒子与琥珀表面润湿性差异最小的各比例参数水平为优化目标,通过分析得到复合粒子最优制备工艺为溶剂体积为 242.80 mL,超声时间为 19.85 min,转速为 14.59 r/min。考虑到实际情况的限制,将实验条件调整为溶剂体积为 250 mL,超声时间为 20 min,转速为 15 r/min,即 $X_1 = 250$ mL, $X_2 = 20$ min, $X_3 = 15$ r/min。

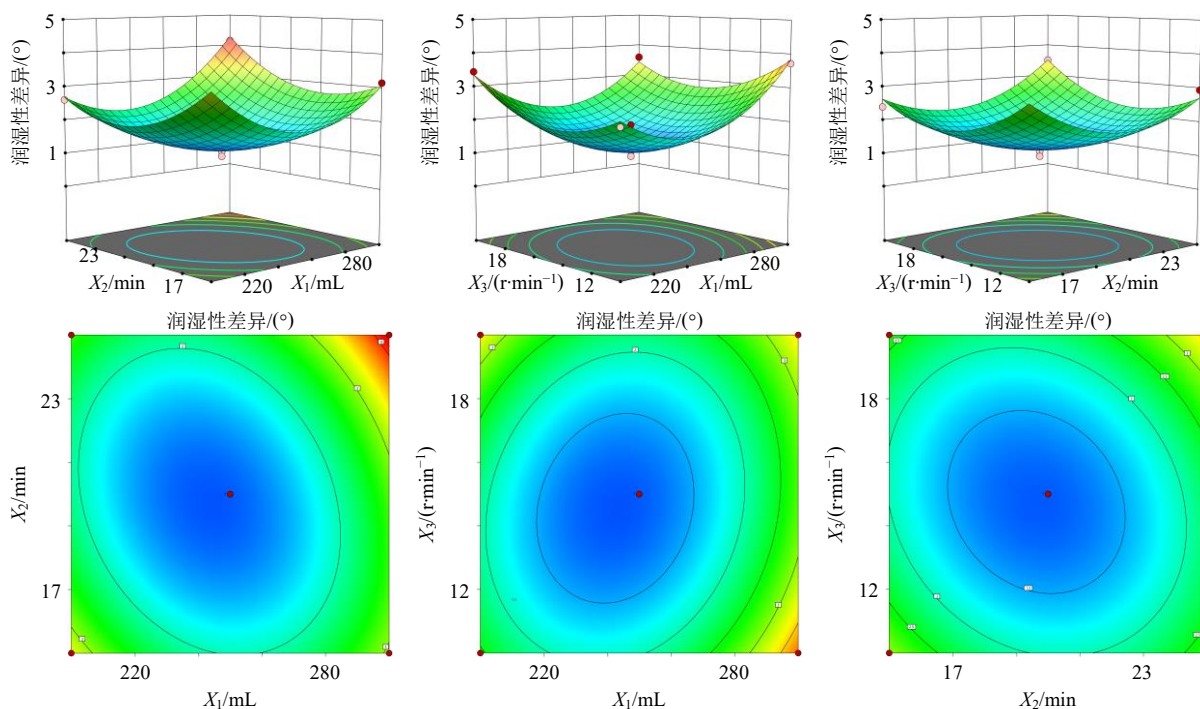


图2 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 之间交互的响应面分析图和等高线图

Fig. 2 Response surface analysis graphs and contour plots of interaction among X_1X_2 , X_1X_3 and X_2X_3

根据响应面优化研究工艺进行3个不同批次的验证试验,最终测得润湿性差异分别为 1.01° 、 1.19° 、 1.02° ,与预测值接近,表明该工艺稳定可靠,验证结果详见表4。

表4 基于响应面设计的复合粒子制备工艺优化研究的验证
Table 4 Verification of optimization study on preparation process of composite particles based on response surface design

实验号	二氯甲烷 体积/mL	超声时 间/min	磁力搅拌调 速/(r·min ⁻¹)	润湿性 差异/(°)
1	250	20	15	1.01 ± 0.20
2	250	20	15	1.19 ± 0.82
3	250	20	15	1.02 ± 0.51

2.2 羚珠散复合粒子的表征

2.2.1 粒径分析 使用激光粒度分析仪测量复合粒子和物理混合物样品的粒径。设定样品测量时间为 12 s,背景测量时间为 10 s,分散气压为 200 kPa,遮光度范围 0.8%~3.0%,进样速度为 50%,建立 SOP 测量文件,加入适量样品粒子,开始测量并记录各样品粒子粒径分布特征值 d_{10} 、 d_{50} 、 d_{90} ^[1]。由表 5 可见,复合粒子的 d_{90} 为 203.17 μm ,大于物理混合物的 164.90 μm ,其原因可能为复合粒子中琥珀包覆于朱砂表面,为结构均一的粒子,而物理混合物为琥珀和朱砂的简单组合,其中朱砂为极细粉,体现在粒径上则偏小。

2.2.2 休止角、崩溃角、差角、平板角测定 使用

表5 复合粒子与物理混合物粒径分布对比 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 Comparison of particle size distribution between composite particles and physical mixtures ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	$d_{10}/\mu\text{m}$	$d_{50}/\mu\text{m}$	$d_{90}/\mu\text{m}$
复合粒子	66.46 ± 3.74	150.33 ± 1.50	203.17 ± 4.22
物理混合物	41.54 ± 4.85	113.97 ± 1.80	164.90 ± 1.90

BT-1001 智能粉体综合特性测试仪, 测定样品的休止角、崩溃角和平板角。由表6可见复合粒子的休止角为 35.87° , 明显小于物理混合物的 42.56° , 说明复合粒子的流动性较物理混合物优异; 复合粒子崩溃角 19.39° 大于物理混合物的 11.88° ; 复合粒子差角为 16.48° 小于物理混合物差角 30.69° , 提示物理混合物的飞溅性更强; 复合粒子平板角为 42.48° 小于物理混合物 61.96° , 再次表明复合粒子的流动性好于物理混合物。

表6 复合粒子与物理混合物粉体学表征对比 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 6 Comparison of powder characterization between composite particles and physical mixtures ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	休止角/ $^\circ$	崩溃角/ $^\circ$	差角/ $^\circ$	平板角/ $^\circ$
复合粒子	35.87 ± 0.49	19.39 ± 1.00	16.48 ± 1.45	42.48 ± 0.89
物理混合物	42.56 ± 0.48	11.88 ± 2.20	30.69 ± 1.90	61.96 ± 2.24

2.2.3 松装密度和振实密度测定 通过 BT-1001 智能粉体综合特性测试仪, 测定样品的测定样品粒子的松密度、振实密度及压缩度 (C_P)。

$$C_P = (\rho_a - \rho_t) / \rho_t$$

C_P 为压缩度, ρ_a 为松装密度, ρ_t 为振实密度

实验结果 (表7) 表明, 复合粒子的粉体 C_P 为 28.07%, 明显小于物理混合物的粉体 C_P (41.39%), 上述结果表明, 经工艺设计后的复合粒子的流动性明显优于物理混合物, 提示该方法能够有效提高朱砂的混合均匀性, 从而确保最终产品的质量和安全。

表7 复合粒子与物理混合物的 ρ_a 、 ρ_t 、 C_P ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 7 ρ_a, ρ_t, C_P of composite particles and physical mixtures ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	$\rho_a/(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$\rho_t/(\text{g}\cdot\text{cm}^{-3})$	$C_P/\%$
复合粒子	0.6613 ± 0.0042	0.9194 ± 0.0078	28.07
物理混合物	0.5855 ± 0.0044	0.9989 ± 0.0049	41.39

2.2.4 流动性指数测定 依照 GB/T 31057.3—2018 第3部分流动性指数测量^[13]中流动性指数计算方法, 复合粒子和物理混合物均属于不易团聚的粉末, 二者流动性指数计算方法如下。

$$F_W = F_1 + F_2 + F_3 + F_4$$

F_W 为流动性指数, F_1 为休止角指数, F_2 为压缩度指数, F_3 为平板角指数, F_4 为均匀度指数

由表8可知, 复合粒子 F_W 为 73.0, 物理混合物 F_W 为 55.5, 这一结果提示经过溶剂挥发法设计后, 复合粒子的流动性得到明显提升。

表8 复合粒子与物理混物流动性指数组成

Table 8 Composition of flowability index for composite particles and physical mixtures

样品	F_1	F_2	F_3	F_4	F_W
复合粒子	20.0	12.0	18.0	23.0	73.0
物理混合物	16.0	2.0	14.5	23.0	55.5

2.2.5 傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 分析 分别取适量的复合粒子及其物理混合物, 以 1:100 的比例与干燥溴化钾混合, 并在研钵中将混合物研磨至面粉糊状。设置压力为 8 N, 使用粉末压制机将混合物压成透明片状。检测范围为 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 。由各样品的 FTIR 图谱 (图3) 可知, 琥珀在 1708.20 、 1461.19 、 1041.79 cm^{-1} 处表现出尖锐且较强的特征峰。复合粒子红外图谱与琥珀较为相似, 复合粒子在 $3000 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$ 区间存在明显的 C-H 伸缩振动, 与琥珀相似; 且其在 1459.70 cm^{-1} 处存在尖锐的强吸收峰, 在 1710.45 、 1042.54 cm^{-1} 处存在吸收峰, 均表现出与琥珀粒子相同峰位的特征峰, 表明复合粒子可能存在与琥珀粒子相似的性质。朱砂在 1742.54 cm^{-1} 处有特征峰, 琥珀粒子在 1708.20 cm^{-1} 处吸收峰的强度大于 1735.82 cm^{-1} 处, 而复合粒子中 1737.31 、 1710.45 cm^{-1} 2 处吸收峰的强度基本一致, 这可能是由于同时存在 2 种物质, 官能团之间相互影响, 使得原来的吸收特性被部分改变或重叠。同时复合粒子中未产生明显的

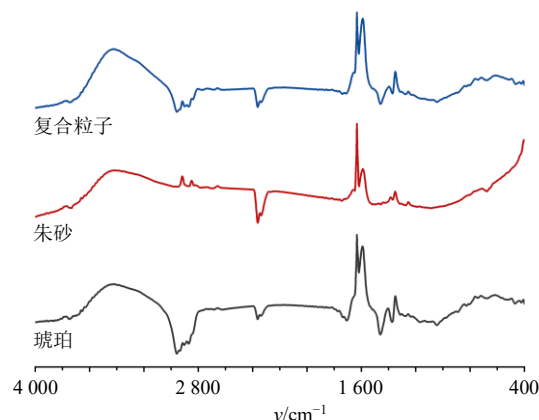


图3 复合粒子、朱砂、琥珀的 FTIR 图谱

Fig. 3 FT-IR spectra of composite particles, cinnabar and amber

新吸收峰, 说明没有新的化学键形成。

2.2.6 SEM 及表面元素分析 采用 SEM 观察复合粒子和物理混合物的表面形态^[4], 并进行表面元素分析。样品经喷金后, 使用 SEM 拍摄形貌及表面元素分布分析, 加速电压分别为 3 kV (形貌) 和 15 kV (表面元素分布分析)。由图 4 可知, 琥珀粒子多呈

方形或长块状; 朱砂粒子呈不规则块状, 细小颗粒分散在四周; 复合粒子的微观形态与琥珀、朱砂不同, 表面呈不光滑、结构紧密的包覆结构, 并且周围分布着较多结构相似的二次聚集小粒子团块体。这表明溶剂挥发法操作改变了朱砂和琥珀的表面形貌, 形成了全新的微观结构。

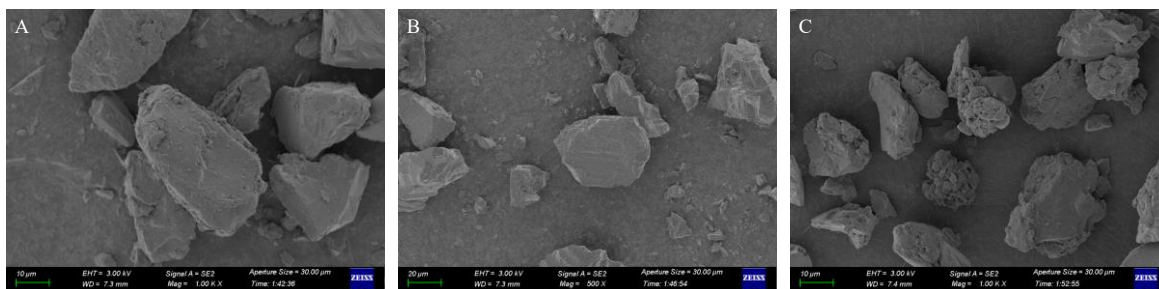


图 4 琥珀 (A)、朱砂 (B)、及复合粒子 (C) 的 SEM 图像

Fig. 4 SEM images of amber (A), cinnabar (B), and composite particles (C)

表面元素分析结果如图 5 和表 9 所示, 结果表明琥珀的主要元素为 C (84.68%) 和 O (7.68%), 累积总和为 92.36%; 朱砂的主要元素为 Hg (75.04%) 和 S (14.91%); 复合粒子的主要表面元素为 C (89.18%) 和 O (8.44%) 元素, 累积总和为 97.62%, 其中 Hg 和 S 元素含量较朱砂粒子相比明显减少, 提示溶解于二氯甲烷中的琥珀逐渐析出并

表 9 琥珀、朱砂及复合粒子的表面元素分布

Table 9 Surface element distribution of amber, cinnabar, and composite particles

样品	元素	信号类型	线系	ω/%	σ/%	原子占比/%
琥珀	B	EDS	K	5.60	1.18	6.40
	C	EDS	K	84.68	1.06	87.14
	O	EDS	K	7.68	0.15	5.93
	Si	EDS	K	0.49	0.02	0.22
	S	EDS	K	0.56	0.02	0.21
	Fe	EDS	K	0.17	0.06	0.04
	W	EDS	M	0.81	0.06	0.05
朱砂	O	EDS	K	10.05	0.09	6.45
	S	EDS	K	14.91	0.07	4.04
	Hg	EDS	M	75.04	0.20	3.44
复合粒子	C	EDS	K	89.18	0.11	92.46
	O	EDS	K	8.44	0.11	6.57
	Al	EDS	K	0.14	0.01	0.06
	Si	EDS	K	0.59	0.02	0.26
	S	EDS	K	1.64	0.03	0.64
	Hg	EDS	M	0.00	0.13	0.00

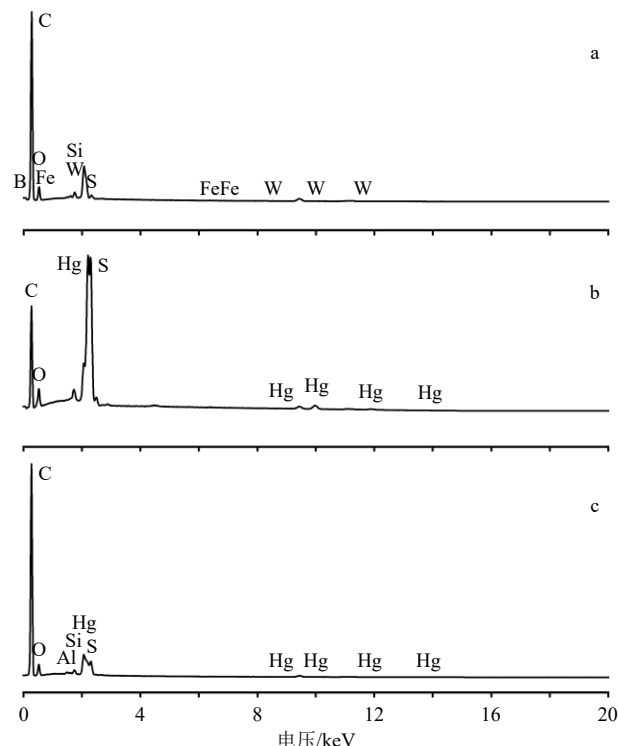


图 5 琥珀 (a)、朱砂 (b)、及复合粒子 (c) 的表面元素分析
Fig. 5 Surface element analysis of amber (a), cinnabar (b), and composite particles (c)

包覆在朱砂颗粒表面, 这一过程显著改变了其表面元素分布。

2.2.7 均匀性评价 参考 FDA《药品抽样指导原则》进行取样^[15], 通过固定漏斗、固定样品体积测定 2 种样品粒子的堆密度。结果表明 2 种粒子的堆密度具有显著性差异 ($P < 0.05$)。物理混合物的堆密度离散程度较大, RSD 达 2.71%; 复合粒子的堆密度离散程度较小, RSD 为 2.02%, 提示复合粒子的混合均匀性好于物理混合物。

2.3 羚珠散复合粒子溶剂残留的测定

取复合粒子制备过程中所使用的二氯甲烷、复合粒子溶液(含*N,N*-二甲基甲酰胺)以及*N,N*-二甲基甲酰胺标准品溶液适量,分别注入气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)进行分析。

色谱条件:初始温度 40 °C,保持 4 min,以 20 °C/min 的速率升温至 200 °C,保持 5 min。进样量为 1 μL,分流比为 100:1,溶剂延迟时间为 1 min,载气为氦气。

质谱条件:电子轰击源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,扫描模式为全扫描(scan)。

二氯甲烷属于第 2 类有机溶剂,目前尚无长期毒性试验结果^[16]。根据人用药物注册技术要求,以及国际人用药品注册技术协调会(International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH)中二氯甲烷的限量不得超过 0.06%。按照色谱条件对本品 3 批小试样品进行溶剂残留测定,3 批小试样品中 1.8 min 左右处未检出二氯甲烷的峰(如图 6 所示),表明 3 批复合粒子小试样品中二氯甲烷溶剂残留符合规定。

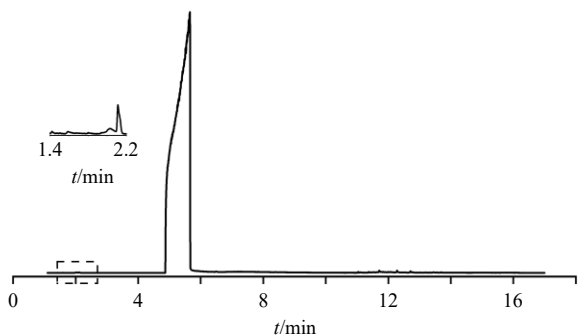


图 6 朱砂-琥珀复合粒子溶剂残留色谱图

Fig. 6 Chromatogram of solvent residues in cinnabar-amber composite particles

2.4 抗惊厥药效评价及毒性评价

2.4.1 动物分组与给药 适应性喂养结束后,幼龄鼠按照随机数字表法分为 5 组:对照组、模型组、阳性组(苯巴比妥, 12.6 mg/kg)、羚珠散组(0.4 g/kg)、粒子设计散组(0.4 g/kg),每组 6 只。每日于固定时间 ig 给药 7 d 后,各组 ip 戊四氮溶液(35 mg/kg) 5 d 诱导惊厥模型。给药期间自由饮水、摄食,并记录体质量变化和死亡情况。造模结束后,进行禁食处理,24 h 后称质量。麻醉处理后腹主动脉取血,以 3 500 r/min 离心(离心半径为 8.5 cm)

10 min,取上层血清并于-80 °C 冻存备用。

造模后,记录 30 min 内各组幼龄大鼠的惊厥表现,对大鼠惊厥行为进行评分,凡显示连续 5 次 2 级以上惊厥的个体被认定为模型大鼠。惊厥潜伏期:指末次 ip 戊四氮溶液至大鼠首次出现 2 级反应之间的时间。惊厥持续时间:指从首次出现 2 级反应至末次出现 2 级反应之间的时间。对照组未发生惊厥行为,模型组发生惊厥现象,且惊厥级别 2 级以上发生率为 100%。如表 10 所示,与模型组比较,羚珠散组、粒子设计散组均可显著延长惊厥潜伏期($P<0.01$),缩短惊厥持续时间($P<0.001$),两者无明显差异。结果表明,羚珠散及粒子设计散均能显著改善幼龄大鼠惊厥行为。

表 10 2 种羚珠散制剂对幼龄大鼠惊厥行为的影响
($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 10 Effect of two types of Lingzhu Powder preparations on convulsive behaviors in juvenile rats ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	潜伏时间/s	持续时间/s
模型	-	99.25 ± 21.75	67.50 ± 9.15
苯巴比妥	12.6	144.50 ± 10.08*	50.50 ± 10.21*
羚珠散	400.0	149.75 ± 18.55**	36.00 ± 3.74***
粒子设计散	400.0	154.00 ± 18.60**	39.00 ± 5.29***

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs with model group.

2.4.2 HE 染色实验 实验结束后,立即取各组海马体、肝脏、肾脏组织于 4% 多聚甲醛 4 °C 中固定 24 h,固定完成后梯度乙醇脱水,石蜡包埋,用切片机将蜡块切成厚度为 4 μm 的切片,HE 染色,二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水及二甲苯透明处理后用中性树胶封片。正置荧光显微镜下观察海马体、肝脏、肾脏组织神经元病理形态变化,其中肝脏和肾脏为毒性评价内容。

海马体神经元组织 HE 染色结果如图 7 所示,对照组海马体锥体细胞排列整齐,颗粒细胞完整清晰,而模型组神经元细胞间隙增大,排列散乱,出现病理损伤。给予阳性药物后的神经元健康,锥体细胞正常,给予羚珠散、粒子设计散组后海马神经细胞形态恢复,结构完整、排列较整齐。

2.4.3 血清生化指标结果 酰化刺激蛋白(acylated stimulatory protein, ASP)、谷氨酸、γ-氨基丁酸、白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、AST、ALT、肌酐参照相应的试剂盒说明书进行检测。由表 11 可知,与对照组相比,模型组 ASP 和谷氨酸

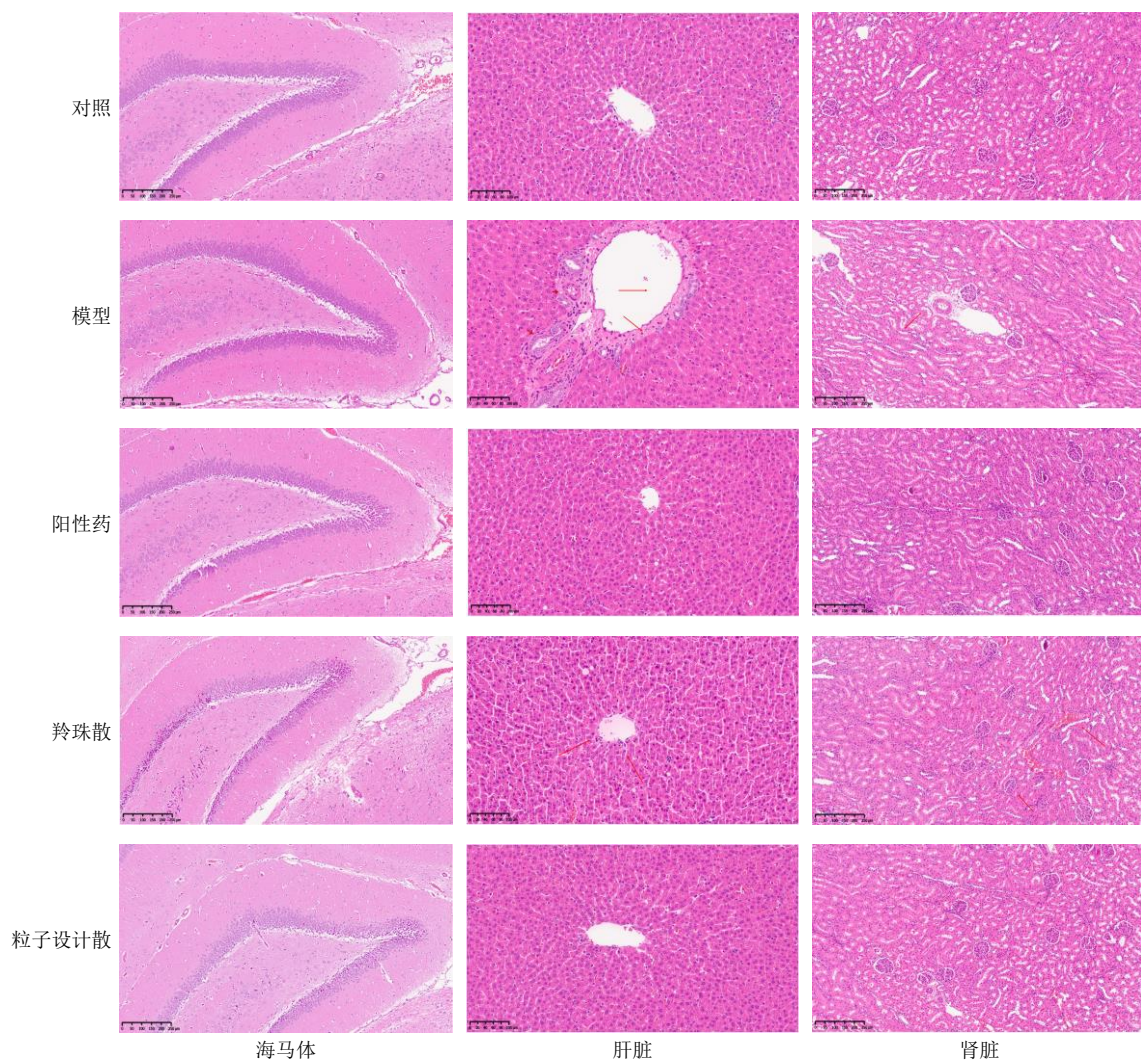


图 7 HE 染色切片

Fig. 7 HE stained sections

表 11 血清生化指标 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 11 Serum biochemical indices ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ASP/(mol·L ⁻¹)	谷氨酸/(mol·L ⁻¹)	γ-氨基丁酸/(mol·L ⁻¹)
对照	—	412.34 ± 7.27	9.80 ± 0.14	11.34 ± 0.18
模型	—	449.64 ± 24.78 ^{##}	11.54 ± 0.98 ^{###}	8.44 ± 0.30 ^{###}
阳性药	12.6	346.68 ± 9.44 ^{***}	10.48 ± 0.52 [*]	9.71 ± 0.76 ^{**}
羚珠散	400.0	365.19 ± 8.41 ^{***}	10.61 ± 0.50 [*]	9.94 ± 0.91 ^{***}
粒子设计散	400.0	380.07 ± 18.07 ^{***}	10.85 ± 0.35	9.94 ± 0.68 ^{***}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ 。

^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

显著升高 ($P < 0.01, 0.001$), γ -氨基丁酸显著下降 ($P < 0.001$), 提示惊厥模型构建成功。与模型组相比, 阳性药组、羚珠散组、粒子设计散组 ASP 含量均显著降低 ($P < 0.001$), 提示 2 种羚珠散制剂对惊厥模型大鼠体内的 ASP 均有一定的调控能力; 阳性药组和羚珠散组谷氨酸含量显著减少 ($P < 0.05$); 羚

珠散、粒子设计散组 γ -氨基丁酸水平显著升高 ($P < 0.001$)。进一步比较粒子设计散与羚珠散原制剂的差异, 发现 2 种羚珠散制剂对 γ -氨基丁酸的改善作用没有明显差异。结果表明, 粒子设计散表现出明显的抗惊厥作用。

2.4.4 羚珠散及改良制剂的毒性研究 各组肝肾组

脏器官指数与对照组无明显差异，提示羚珠散、粒子设计散在实验条件下对肝肾组织没有明显的影响（表 12）。根据 AST、ALT 和肌酐 3 项指标结果发现，羚珠散组和粒子设计散组的 AST、ALT 和肌酐与对照组无显著性差异，表明在实验设定的剂量和时间内，上述药物在实验条件下并未引起肝肾的明显损伤，与脏器官指数无显著差异的结果相一致（表 12）。

肝组织 HE 染色切片结果发现，相较于对照组，模型组肝细胞排列紊乱，局部肝小叶内可见炎性细胞浸润；给药羚珠散后肝细胞仍存在轻度水肿变

性，胞质疏松淡染，肝细胞脂肪变性胞质内可见微小的圆形空泡，而给予阳性药和粒子设计散后的肝组织结构清晰，细胞排列规则，形态正常（图 7）。同样，相较于对照组来说，模型组的肾组织出现肾脏被膜明显增生增厚，伴有炎性细胞浸润，皮质区个别肾小管的上皮细胞肿胀变性、坏死脱落的现象，羚珠散组肾脏组织结构较正常，皮质区个别肾小管的上皮细胞肿胀，而阳性药和粒子设计散组肾脏组织正常，未出现明显病理损伤（图 7）。这一结果表明羚珠散、粒子设计散在实验条件下对肝肾没有明显的毒性作用。

表 12 肝肾损伤血清生化指标及大鼠脏器指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 12 Liver and kidney injury indices and organ indices of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ALT/(mol·L ⁻¹)	AST/(mol·L ⁻¹)	肌酐/(mol·L ⁻¹)	肝脏指数	肾脏指数
对照	-	94.99±17.72	47.22±21.51	7.18±4.59	3.17±0.13	0.42±0.02
模型	-	100.77±5.15	47.15±4.40	6.25±4.46	3.15±0.25	0.41±0.02
阳性药	12.6	88.04±14.32	50.26±13.85	7.43±4.20	3.27±0.23	0.42±0.05
羚珠散	400.0	101.74±9.98	52.29±13.72	6.81±2.34	3.24±0.16	0.42±0.03
粒子设计散	400.0	97.97±11.27	51.28±10.20	8.81±3.20	3.22±0.11	0.45±0.03

2.5 体内药动学研究

2.5.1 动物分组与给药 适应性喂养结束后，幼龄鼠按照随机数字表法分为 6 组：对照组 1 组、对照组 2 组、羚珠散 1 组、羚珠散 2 组、粒子设计散 1 组、粒子设计散 2 组，每组 6 只。按照羚珠散 4 g/kg、粒子设计散 4 g/kg 剂量给药，对照组 ig 给予等量 0.5% CMC 溶液。给药前 12 h 禁食，自由饮水。分别于给药后 5、15、30 min 和 1、2、4、6、8、10、12 h 眼眶采血约 300 μL。其中对照组 1 组、羚珠散 1 组与粒子设计散 1 组收集全血用于测定给药后 Hg 元素的体内药动学行为；对照组 2 组、羚珠散 2 组与粒子设计散 2 组收集的全血置于肝素钠处理后的离心管中，3 500 r/min 离心（离心半径为 8.5 cm）10 min 后取上清液，于 -80 °C 冰箱保存备用，用于分析胆酸、猪去氧胆酸的体内药动学行为。

2.5.2 Hg 元素体内药动学研究 取样品微波消解（硝酸 4 mL+盐酸 1 mL），冷却后转移至 50 mL 聚四氟乙烯量瓶，用 Hg 稳定剂洗涤并用去离子水定容，混匀后采用电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）测定。ICP-MS 主要参数为射频功率为 1 550 W，载气体积流量为 1.04 L/min，采样深度固定为 8 mm。雾化室装备同心雾化器，温度维持在 2 °C。等离子体气流量设置为 15 L/min，辅助气流量为 0.8 L/min。实验采用 Ni 采样锥，采样模式为跳峰，He 气流量

为 4.3 mL/min。仪器运行在自动检测模式下，每峰检测 3 点，样品提升速率为 0.5 r/s，且每个样品重复测量 3 次。

2.5.3 胆酸、猪去氧胆酸体内药动学研究 室温下融化血浆，涡旋后混匀，精密吸取大鼠血浆 100 μL，置于 1.5 mL 离心管中，加入内标工作液（芦丁，2.24 μg/mL）20 μL，涡旋 1 min，加甲醇 500 μL 沉淀蛋白，涡旋 2 min，超声 30 min，4 °C、12 000 r/min 离心（离心半径为 8.5 cm，下同）10 min，取上清液，氮气吹干，甲醇 100 μL 复溶，超声 30 min，离心，取上清液进样分析。

色谱条件：采用 Acquity UPLC HSS T3 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）；柱温设置为 35 °C；流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液，采用梯度洗脱程序：0~4 min，10%~50%乙腈；4~5 min，50%~55%乙腈；5~8 min，55%乙腈；8~9 min，55%~10%乙腈；9~11 min，10%乙腈；体积流量 0.4 mL/min；进样量为 3 μL。

质谱条件：采用电喷雾离子源（AJS ESI），负离子方式扫描，多反应监测（MRM）模式，气体温度为 300 °C，鞘气温度为 350 °C，气体体积流量为 10.0 L/min；鞘气体积流量为 11.0 L/min；碰撞气为氦气。

2.5.4 Hg 元素体内药动学结果 图 8-A 表明，除

15~30 min 时间段外, 羚珠散给药后总 Hg 血药浓度基本高于粒子设计散, 同时粒子设计散在给药后 30 min 内呈现出明显的吸收和消除峰。

如表 13 所示, 药动学参数表明粒子设计散中 Hg 元素的 AUC_{0-t} 、 C_{max} 是羚珠散的 0.80、0.66 倍, 表明粒子设计散在降低 Hg 暴露方面取得了一定效

果。此外, 粒子设计散中 Hg 元素的 MRT_{0-t} 、 $MRT_{0-\infty}$ 分别是羚珠散的 1.16、1.06 倍, 提示粒子设计散可能因琥珀包覆朱砂的结构而具有缓释特性。整体而言, 粒子设计技术在降低 Hg 的生物利用度方面显示出一定的潜力, 但仍需进一步实验证明。

2.5.5 胆酸、猪去氧胆酸体内药动学结果 通过对

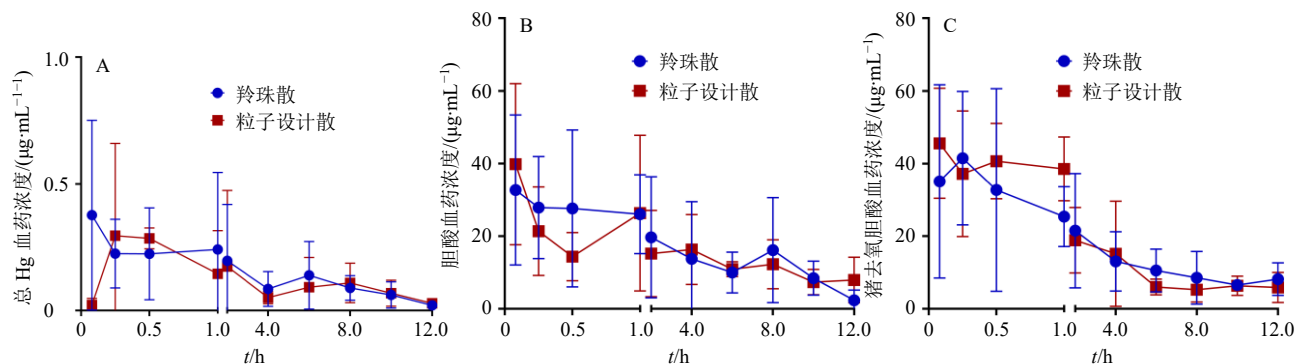


图 8 羚珠散、粒子设计散给药后总 Hg (A)、胆酸 (B) 和猪去氧胆酸 (C) 的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 8 Plasma-concentration-time curves of total Hg (A), cholic acid (B) and hyodeoxycholic acid (C) after administration of Lingzhu powder and particle-designed powder ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 13 羚珠散和粒子设计散中 Hg 主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 13 Main pharmacokinetic parameters of Hg in Lingzhu powder and particle-designed powder ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	$t_{1/2}/h$	t_{max}/h	$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	MRT_{0-t}/h	$MRT_{0-\infty}/h$	$AUC_{0-t}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$	$AUC_{0-\infty}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$
羚珠散	4.72 ± 3.07	0.37 ± 0.37	0.58 ± 0.35	4.39 ± 0.75	6.51 ± 2.92	1.42 ± 0.75	1.58 ± 0.69
粒子设计散	4.88 ± 6.57	3.21 ± 3.76	0.38 ± 0.26	5.11 ± 1.21	6.90 ± 3.98	1.14 ± 0.52	1.59 ± 0.82

比 2 种制剂 (羚珠散、粒子设计散) 中人工牛黄指标成分胆酸和猪去氧胆酸的药动学行为, 以考察制剂工艺变动对其他处方成分的影响。图 8-B、C 表明, 羚珠散原制剂中胆酸和猪去氧胆酸的药时曲线与粒子设计散基本一致, 均表现出先吸收后降低的趋势。如表 14 所示, 两者的药动学参数表明, 羚珠散组胆酸的 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 与粒子设计散基本一致, 分别是粒子设计散组的 1.10、0.94、0.91 倍; 猪去氧胆酸也表现出类似的药动学特征, 其

AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 和 C_{max} 分别是粒子设计散的 1.02、1.10、1.14 倍。

这些结果表明, 尽管对羚珠散处方中朱砂进行了相关工艺的调整, 但对处方中其他成分, 如胆酸和猪去氧胆酸的药动学行为影响较小。这一发现表明, 2 种制剂在吸收与代谢过程中的相对稳定性良好。此外, 本研究为评估不同制剂对活性成分药效的影响提供了重要依据, 进而进一步强调了制剂设计在药物开发过程中的重要性。

表 14 羚珠散、粒子设计散中胆酸、猪去氧胆酸主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 14 Main pharmacokinetic parameters of bile acid and hyodeoxycholic acid in Lingzhu powder and particle-designed powder ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	胆酸						
	$t_{1/2}/h$	t_{max}/h	$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	MRT_{0-t}/h	$MRT_{0-\infty}/h$	$AUC_{0-t}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$	$AUC_{0-\infty}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$
羚珠散	2.34 ± 0.99	0.85 ± 0.66	44.96 ± 15.71	4.10 ± 0.71	4.11 ± 0.69	163.18 ± 52.85	242.22 ± 137.36
粒子设计散	5.70 ± 4.22	0.89 ± 1.57	49.43 ± 19.97	4.46 ± 1.03	7.35 ± 3.95	148.62 ± 32.60	259.05 ± 110.04
组别	猪去氧胆酸						
	$t_{1/2}/h$	t_{max}/h	$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	MRT_{0-t}/h	$MRT_{0-\infty}/h$	$AUC_{0-t}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$	$AUC_{0-\infty}/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h)$
羚珠散	5.64 ± 2.54	0.53 ± 0.74	59.86 ± 21.55	3.14 ± 1.02	7.80 ± 3.23	145.73 ± 68.29	224.72 ± 119.76
粒子设计散	5.60 ± 4.17	0.33 ± 0.37	52.39 ± 10.20	3.63 ± 0.95	7.61 ± 5.12	141.64 ± 40.82	204.59 ± 43.95

2.6 统计分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。利用 SPSS 进行显著性差异分析, 对多重比较进行了 Tukey 检验。利用 GraphPad Prism 8 软件进行绘图。利用 DAS 2.0 药动学软件对测试数据进行智能化分析, 计算 Hg、胆酸和猪去氧胆酸的各项药动学参数。

3 讨论

作为传统中药的重要组成部分, 矿物药发现和应用历史悠久, 临床应用广泛, 涉及清热解毒、泻下、利水、止血、活血化瘀、止咳平喘、镇惊安神、平肝熄风和补虚, 以及外用杀虫止痒、拔毒化腐生肌等诸多功效^[17]。

但矿物药中毒性物质对儿童临床用药的潜在危害, 以及临床应用中剂量疏于控制, 是含矿物药儿科制剂主要的安全性问题之一。其中, Hg 是公认的有毒重金属, 各种形式的 Hg 化合物都可能造成体内 Hg 暴露量增高, 引发毒性反应^[18]。虽然朱砂含有的 HgS 成分的毒性远低于其他 Hg 类化合物, 例如 $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ 和 HgCl_2 ^[19-21], 但含朱砂的中药的安全性, 尤其是儿童使用的中药, 仍令人担忧^[22], 且朱砂作为含 Hg 中药材, 近年来由于其不合理使用而导致的 Hg 中毒事件时有发生, 使其安全性备受质疑^[23]。儿童作为特殊的用药群体, 其独特的生理病理特点决定了他们对 Hg 化合物的毒性尤为敏感, 即使是少量的 Hg 暴露也可能对儿童的神经系统、肝脏、肾脏等重要器官造成损害, 影响其正常的生长发育, 因此, 含朱砂药味的儿童专用制剂的临床使用成为医学界和公众关注的焦点之一^[24]。同时, 朱砂具有显著的质重特性和易离析倾向^[25], 这些固有的物理性质使得在制剂过程中难以实现理想的混合均匀, 从而难以保证药物的均一性。

本研究通过粒子设计技术制备琥珀包覆朱砂的复合粒子后, 不仅改善了药物的流动性和均一性, 并在一定程度上降低了 Hg 元素的暴露量, 保留其原有药效。但本研究仅进行了短期大剂量给药羚珠散及粒子设计散的初步毒性评估, 后续应进一步讨论羚珠散及粒子设计散长期给药的安全性, 深入探究并阐明制剂中 Hg 元素体内的转化特点和作用机制, 确保小儿用药的安全性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 周晓, 封亮, 张小飞, 等. 基于溶剂挥发法的羚珠散粒子设计技术应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23):

6028-6034.

- [2] 王海杰, 王成稷, 陆炜晟, 等. 羚珠散对幼鼠反复热惊厥的防治作用及机制研究 [J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(11): 180-184.
- [3] 徐光临, 陈旭华, 时潇丽, 等. 基于标准制剂的雄黄、朱砂配伍牛黄减毒作用研究 [J]. 中成药, 2024, 46(12): 4212-4216.
- [4] 彭磊, 封亮, 杨艳君, 等. 基于“药辅合一”理念的 Pickering 乳技术提升儿科用药羚珠散中石膏挥发油热稳定性的研究 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 544-552.
- [5] 张婷, 慈志敏, 徐小蓉, 等. 基于成分“敲出法”结合表面性质分析探究青黛低润湿性的关键影响因素 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4889-4895.
- [6] 郭亚利, 董晓函, 李阳杰. 基于“药辅合一”的茶皂素-金合欢素纳米混悬剂制备及其药动学与调血脂作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2233-2246.
- [7] 杨艳君, 邹俊波, 张小飞, 等. 基于粒子设计技术改善中药散剂口感与均一性问题: 以珠黄吹喉散为例 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23): 6035-6044.
- [8] 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.
- [9] 邹俊波, 封亮, 张小飞, 等. 粒子设计技术在中药粉体领域的实践应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23): 6011-6019.
- [10] 郭立玮, 付廷明, 李玲娟. 面向中药复杂体系的吸入给药复合粒子优化设计原理与方法 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2165-2172.
- [11] 每伟, 封亮, 史亚军, 等. 粒子设计技术改善和胃降逆胶囊内容物均一性的应用研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(23): 6045-6052.
- [12] 周晓, 李婧琳, 邹俊波, 等. 粒子设计对参苓白术散在大鼠体内药动学过程的影响 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 4925-4933.
- [13] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 颗粒材料 物理性能测试 第3部分: 流动性指数的测量: GB/T 31057.3—2018 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2019: 20.
- [14] Lu Y T, Qi W Z, Wang S, *et al.* Toxicity and risk assessment of mercury exposures from cinnabar and Baizi Yangxin Pills based on pharmacokinetic and tissue distribution studies [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 250: 112489.
- [15] 熊茜, 王小平, 张定堃, 等. 基于粒子设计原理的中药制丸粉末中间体均一性优化与评价: 以小金丸为例 [J]. 药学学报, 2017, 52(10): 1611-1620.
- [16] Yang M M, Wang L C, Zhang T, *et al.* Different proteomic profiles of cinnabar upon therapeutic and toxic exposure reveal distinctive biological manifestations [J]. *J*

- Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112668.
- [17] 刘圣金, 吴思澄, 马瑜璐, 等. 我国矿物药品种概况、市场流通与临床应用调查分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6555-6568.
- [18] Hu Z L, Wu X, Du Y, *et al.* Health risk assessment for human mercury exposure from Cinnabaris-containing Baizi Yangxin Pills in healthy volunteers Po administration [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2024, 83: 127398.
- [19] Wang Q, Yang X D, Zhang B X, *et al.* Cinnabar is different from mercuric chloride in mercury absorption and influence on the brain serotonin level [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2013, 112(6): 412-417.
- [20] Dong W, Liu J, Wei L X, *et al.* Developmental toxicity from exposure to various forms of mercury compounds in medaka fish (*Oryzias latipes*) embryos [J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2282.
- [21] Liu J, Lu Y F, Li W K, *et al.* Mercury sulfides are much less nephrotoxic than mercury chloride and methylmercury in mice [J]. *Toxicol Lett*, 2016, 262: 153-160.
- [22] Kamath S U, Pemiah B, Sekar R K, *et al.* Mercury-based traditional herbo-metallic preparations: A toxicological perspective [J]. *Arch Toxicol*, 2012, 86(6): 831-838.
- [23] Liu B H, Li L D, Xie Q, *et al.* Neurobehavioral effects of cinnabar and the cinnabar-containing pediatric prescription, Yi-Nian-Jin, in juvenile rats [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2023, 76: 127112.
- [24] Ye X S, Tian W J, Wang G H, *et al.* The food and medicine homologous Chinese Medicine from Leguminosae species: A comprehensive review on bioactive constituents with neuroprotective effects on nervous system [J]. *Food Med Homol*, 2025, 2(2): 9420033.
- [25] 周晓. 溶剂挥发法-粒子设计技术改善羚珠散质量的应用研究 [D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2021.

[责任编辑 郑礼胜]