

参瓜颗粒制备工艺及药效学研究

王莲¹, 田焱¹, 肖继椿¹, 庞文悦¹, 张荣泉^{1*}, 赵永泉²(1.天津市医药科学研究所, 天津 300020; 2.天津核生科技生物工程有限公司, 天津 300000)

摘要: 目的 优选参瓜颗粒制备工艺, 并对其辅助降糖作用进行观察。方法 采用正交试验法, 考察润湿剂(乙醇)浓度、黏合剂(聚维酮)浓度以及辅料配比对制备工艺的影响, 用多指标综合评分方法进行数据处理, 确定本方的最佳制备工艺。将链脲佐菌素致化学损伤性糖尿病小鼠随机分为正常对照组、模型对照组、阳性药组、参瓜颗粒给药组, 分别灌胃给药(模型对照组给予蒸馏水, 阳性药组给予二甲双胍 250 mg·kg⁻¹, 参瓜颗粒给药组给予参瓜颗粒 3 g·kg⁻¹), 记录血糖变化并进行统计学分析。结果 实验确定参瓜颗粒最佳制备工艺: 以 70%乙醇作为润湿剂, 1%聚维酮作为黏合剂, 辅料选择淀粉-糊精质量比为 1:1。阳性药组和参瓜颗粒给药组血糖水平均低于模型对照组, 且具有统计学意义($P<0.05$)。结论 实验确定的制备工艺设计合理, 生产操作简单可行, 产品质量稳定可靠, 参瓜颗粒对链脲佐菌素所致化学损伤性糖尿病小鼠具有降低空腹血糖的功效, 为相关中药制剂的研发提供了参考。

关键词: 参瓜颗粒; 制备工艺; 药效

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)14-1779-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.14.010

引用本文: 王莲, 田焱, 肖继椿, 等. 参瓜颗粒制备工艺及药效学研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(14): 1779-1782.

Study on Preparation Process and Pharmacodynamics of Shengua Granules

WANG Lian¹, TIAN Yao¹, XIAO Jichun¹, PANG Wenyue¹, ZHANG Rongquan^{1*}, ZHAO Yongquan²(1.Tianjin Institute of Pharmaceutical and Medical Science, Tianjin 300020, China; 2.Tianjin Hesheng Science and Technology Biotechnology Co., Ltd., Tianjin 300000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the preparation process of Shengua granules and observe its auxiliary hypoglycemic effect. **METHODS** The orthogonal experiment was adopted to investigate the effects of wetting agent(ethanol) concentration, binder(povidone) concentration and excipients ratio on the preparation process. Data processing was carried out with the multi-index comprehensive scoring method, and the best preparation process was determined. The streptozotocin-induced diabetic mice were randomly divided into normal control group, model control group, positive drug group and Shengua granules treatment group, and administered by intragastric(the model control group was given the distilled water, the positive drug control group was given the metformin 250 mg·kg⁻¹, the Shengua granules treatment group was given the Shengua granules 3 g·kg⁻¹). The blood glucose changes were recorded and the statistical analysis was carried out. **RESULTS** The optimal preparation process of Shengua granules was as following: 70% ethanol as the wetting agent, 1% povidone as the binder, and the excipients was the starch : extrin=1:1. The blood glucose levels of the positive drug group and the Shengua granules treatment group were lower than that of the model control group, and the difference was statistically significant($P<0.05$). **CONCLUSION** The optimal preparation process is reasonable, simple and feasible, and the quality of the product is stable and reliable. Shengua granules has the effect of reducing fasting blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice, which provides inspiration for the research and development of related Chinese medicine preparations.

KEYWORDS: Shengua granules; preparation process; pharmacodynamics

糖尿病的发病率逐年上升, 已成为继肿瘤、心脑血管疾病之后的第 3 大严重危害人类健康的慢性疾病^[1]。随着我国经济快速发展, 人们的生活水平不断提高, 生活方式改变、膳食结构不合理等危险因素流行, 导致我国糖尿病患病率快速增长^[2]。参瓜颗粒是天津市医药科学研究所与天津核生科技生物工程有限公司根据多年临床经验组方研发的

一种中药制剂, 是以西洋参、苦瓜等植物药为主要原料, 配合枸杞等制备而成, 具有修复胰岛细胞, 改善胰岛素抵抗, 调节体内血糖的功效^[3-7]。本研究通过正交试验, 采用多指标综合分析法优化了参瓜颗粒的最佳制备工艺, 确定最佳制剂参数, 并对其辅助降糖药效作用进行观察, 为制备质量可靠、安全有效的中药制剂提供了科学参考。

作者简介: 王莲, 女, 硕士, 助理研究员 Tel: 18602208876
13602046819 E-mail: zhangrongquan928@126.com

E-mail: dunaine@sina.com *通信作者: 张荣泉, 男, 研究员 Tel:

1 仪器与材料

1.1 仪器

SPECORD 210 PLUS 紫外可见分光光度计(德国耶拿分析仪器股份公司); AB204-E 电子天平(精确值 0.000 1 g, Mettler Toledo); KQ-100 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DL-203B 电热干燥箱(天津实验仪器厂); LDZ5-2 低速自动平衡离心机(北京京立离心机有限公司); DL- I -15 台式封闭电炉(天津市泰斯特仪器有限公司); SHH.W21.CR420 恒温水浴锅(北京长安科学仪器厂); YK-160A 摇摆式颗粒机、CH200A 槽形混合机均来自江苏常州市双东制药机械厂。

1.2 材料与试剂

提取物 I (西洋参, 批号: Cxys20150809)、提取物 II (苦瓜, 批号: Ckg20151017)、提取物 III (枸杞, 批号: Cgq20150615) 均由陕西嘉禾植物化工有限责任公司提供; 玉米淀粉(河北海玉食品有限责任公司, 批号: 20151112); 糊精(辽宁奥达制药有限公司, 批号: 20160110); 无水乙醇(批号: 20141103)、甲醇(批号: 20160308)、香草醛(批号: 20151208)、冰乙酸(批号: 20161125) 均为分析纯, 均购自天津市化学试剂批发公司; 100~200 目中性氧化铝(江苏长丰化工有限公司, 批号: 160122); Amberlite-XAD-2 大孔树脂(Sigma 公司, 批号: EXP05/2018); 人参皂苷 Re 对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110754-201626; 含量以 97.4% 计); 盐酸二甲双胍(天津太平洋制药有限公司, 批号: 3314215); 链脲佐菌素(Sigma 公司, 批号: 101539533); 血糖仪及血糖试条(三诺生物传感股份有限公司)。

SPF 级昆明小鼠, 体质量 24~28 g, ♂, 由中国人民解放军军事医学科学院卫生环境医学研究所动物实验中心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(军)2014-0001。动物房温度 20~25 °C, 相对湿度 40%~70%。

2 方法与结果

2.1 参瓜颗粒的制备

分别称量提取物 I 20 g、提取物 II 60 g、提取物 III 20 g 及辅料 200 g, 混合均匀后, 加入润湿剂与黏合剂, 搅拌制软材, 14 目筛网制粒, 65 °C 干燥后整粒, 以 80 目筛网筛除细粉后, 备用。

2.2 制备工艺研究

2.2.1 功效成分指标 本处方以西洋参、苦瓜为

主要原料, 二者的主要功效成分皆为总皂苷, 故本实验选取总皂苷作为制备工艺研究的功效成分控制指标。

2.2.1.1 溶液制备 精密称取人参皂苷 Re 对照品适量, 用甲醇溶解配制成浓度为 2.0 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

精密称取参瓜颗粒供试品约 1.0 g, 置于 100 mL 量瓶中, 加入少量水, 超声提取 30 min, 用水定容至 100 mL, 摇匀后静置, 吸取上清液作为供试品溶液。

2.2.1.2 显色测定 在 10 mL 注射器内装入 3 cm Amberlite-XAD-2 大孔树脂, 上加 1 cm 中性氧化铝, 制成层析柱。分别精密加入适量对照品溶液及供试品溶液, 先用适量水洗脱, 弃去, 再用 70% 乙醇进行洗脱, 收集乙醇洗脱液, 置于 60 °C 水浴蒸干。蒸干后, 加入 0.2 mL 5% 香草醛冰乙酸溶液, 溶解残渣, 再加入 0.8 mL 高氯酸, 60 °C 水浴加热 10 min, 冷却后, 加入 5.0 mL 冰乙酸, 于 560 nm 处比色测定。将供试品溶液的吸光度值与对照品进行比较, 以外标法计算出供试品中总皂苷的含量。

依据处方组成, 取除提取物 I、II、III 外的辅料, 制成阴性对照品, 按照“2.2.1.1”项下供试品制备方法制备成为阴性对照品溶液, 进行显色测定。实验结果显示, 阴性对照品溶液在 560 nm 处未有吸收, 实验专属性良好。

2.2.2 制剂工艺指标 为获得最佳制备工艺参数, 考虑到不同制剂工艺对制备过程及颗粒成品的影响, 本实验确定以制粒情况(包括制粒过程是否顺畅、成品颗粒质量情况)、成品收率、粒度分布(80 目以上颗粒比例)、颗粒流动性、溶化性、压缩度等作为制剂工艺考察指标, 按照一定权重分别量化分值, 考察制剂工艺情况。

颗粒的流动性和压缩度与制剂的装量差异、成分稳定性、包装速率等密切相关。颗粒流动性以休止角表示, 休止角测定采用固定圆锥底法, 计算公式为 $\text{tg}\theta=H/R$; 压缩度测定参考文献[8]方法。

2.2.3 制备工艺优化 植物提取物本身具有一定吸湿性, 对制剂成型和贮存具有一定的影响, 故本实验选取吸湿性较低的淀粉与糊精作为制剂辅料^[9], 并对二者比例进行了考察。制软材过程中, 在润湿剂的基础上配合使用了一定量的黏合剂, 可达到制粒顺畅、粒型饱满不松散的效果。结合实际综合考虑, 本实验选取润湿剂(乙醇)浓度、黏

合剂(聚维酮)含量以及辅料配比作为制剂工艺考察的3个主要因素,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验进行筛选,见表1。依据制药过程的流畅程度及粒型情况进行评分,再对成品颗粒的一系列剂型指标进行评测,量化成分值(压缩度=实测值倒数 $\times 100$;成品收率=实际收率/10;粒度分布=80目以上收率值/10;流动性=压缩角度数倒数 $\times 300$;溶化性=溶化时间倒数/10),同时与成品功效成分含量控制相结合,以总皂苷含量计分,综合评定确定本方的最佳制备工艺,结果见表2。

表1 正交试验因素与水平

Tab. 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素		
	A 乙醇浓度/%	B 聚维酮含量/%	C 淀粉:糊精
1	70	1	1:1
2	80	2	1:2
3	90	3	2:1

表2 正交试验各指标评分

Tab. 2 Quantitative scores of the orthogonal experiment

实验编号	制粒情况	压缩度	成品收率	粒度分布	流动性	溶化性	总皂苷/ $g \cdot (100g)^{-1}$	综合评分
1	8	6.33	9.81	9.27	8.98	6.10	2.42	50.91
2	7	4.64	9.35	8.66	9.10	6.02	2.41	47.18
3	5	4.41	8.89	8.23	9.18	5.91	2.36	43.98
4	7	6.58	7.95	6.33	8.44	5.35	2.50	44.15
5	8	4.15	8.52	6.05	8.63	6.80	2.43	44.58
6	9	5.01	8.17	5.65	8.83	7.04	2.37	46.07
7	2	4.49	9.51	7.36	8.75	5.92	2.05	40.08
8	3	4.80	9.27	6.46	8.48	5.95	2.39	40.35
9	3	3.67	9.52	5.82	8.60	5.32	2.35	38.28

由直观分析和方差分析结果显示,正交试验筛选出的最佳制剂工艺为 $A_1B_1C_1$,即以70%乙醇作为润湿剂,1%聚维酮作为黏合剂,辅料选择淀粉:糊精=1:1。各因素对参瓜颗粒制备工艺均无显著性影响($P < 0.05$),综合分析,乙醇浓度对制备工艺影响较大,其次为辅料配比,聚维酮含量的影响最小,结果见表3~4。

2.2.4 验证试验 按照正交试验优选出的最佳制备工艺参数生产3批参瓜颗粒(批号:201701,201702,201703),进行验证实验,制剂过程制粒顺畅,成品颗粒粒型适宜,颜色均匀,质量良好。分别测定3批样品的主要质量控制指标,均符合标准规定,结果见表5。验证试验结果表明,所选用的制备工艺可行,能够保证制剂质量稳定可靠。

表3 正交试验设计和结果

Tab. 3 Orthogonal design and results of the orthogonal experiment

试验号	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	50.91
2	1	2	2	2	47.18
3	1	3	3	3	43.98
4	2	1	2	3	44.15
5	2	2	3	1	44.58
6	2	3	1	2	46.07
7	3	1	3	2	40.08
8	3	2	1	3	40.35
9	3	3	2	1	38.28
K_1	47.357	45.047	45.777	44.590	
K_2	44.933	44.037	43.203	44.443	
K_3	39.570	42.777	42.880	42.827	
R	7.787	2.270	2.897	1.763	

表4 方差分析表

Tab. 4 Results of analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F值	F临界值	显著性
A	95.270	2	3.076	4.460	$P < 0.05$
B	7.761	2	0.251	4.460	
C	15.117	2	0.488	4.460	
D	5.744	2	0.185	4.460	

表5 质量控制指标检测结果

Tab. 5 Detection results of the quality controlling index

批号	粒度分布/%	溶化时间	总皂苷/ $g \cdot (100g)^{-1}$	水分/%	灰分/%	菌落总数/ $CFU \cdot g^{-1}$	霉菌、酵母计数/ $CFU \cdot g^{-1}$	大肠埃希菌
201701	92.71	2 min 38 s	2.42	3.92	0.9	<10	<10	未检出
201702	91.55	2 min 55 s	2.34	4.02	0.9	<10	<10	未检出
201703	90.89	2 min 23 s	2.4	3.88	0.89	<10	<10	未检出

2.3 药效学研究

2.3.1 分组与给药 将80只小鼠随机分为4组,每组20只,分别为正常对照组、模型对照组、阳性药组、参瓜颗粒给药组。除正常对照组腹腔注射生理盐水,灌胃蒸馏水外,其余3组动物均腹腔注射链脲佐菌素 $150 mg \cdot kg^{-1} [0.2 mL \cdot (10g)^{-1}]$ 。给予链脲佐菌素后第7天,所有动物禁食4h后采血,测定动物空腹血糖。而后开始灌胃给药(模型对照组给予蒸馏水,阳性药组给予二甲双胍 $250 mg \cdot kg^{-1}$,参瓜颗粒给药组给予参瓜颗粒 $3 g \cdot kg^{-1}$),给药容积均为 $0.2 mL \cdot (10g)^{-1}$,每日1次,连续30d。末次给药后禁食4h,测定动物血糖,记录血糖值并进行统计学分析。

2.3.2 数据处理与统计分析 考虑到动物实验存在一定的偶然性,为了对参瓜颗粒辅助降糖功效的评价更为全面准确,本研究采取2种统计处理方案,即方案一:采取所有实验动物数据计入统计分析;方案二:每组实验动物(正常对照组动物

除外)均剔除 1 只血糖值数据最低者, 其余数据计入统计处理。

实验结果采用 SPSS statistics 17.0 统计分析软件进行处理, 以单因素方差分析进行分析, 各实验组间均数比较采用 *t* 检验。

2.3.3 结果 2 种统计处理方案皆显示, 模型对照组与正常对照组比较, 血糖值显著提高($P<0.05$), 高血糖动物模型造型成功; 阳性药组和参瓜颗粒给药组血糖水平均低于模型对照组, 且具有统计学意义($P<0.05$)。参瓜颗粒给药组对链脲佐菌素所致化学损伤性糖尿病小鼠具有降低其空腹血糖的功效。结果见表 6。

表 6 辅助降糖功效实验结果

Tab. 6 Experimental results of the auxiliary hypoglycemic effect

组别	方案一		方案二	
	样本数	血糖值/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	样本数	血糖值/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照组	20	6.42±0.93	20	6.42±0.93
模型对照组	20	20.84±6.79 ¹⁾	19	21.48±6.37 ²⁾
阳性药组	20	12.82±6.34 ¹⁾	19	13.27±6.18 ²⁾
参瓜颗粒给药组	20	16.09±7.23 ¹⁾	19	16.68±6.97 ²⁾

注: 与正常对照组(方案一)比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与正常对照组(方案二)比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with normal control group(option one), ¹⁾ $P<0.05$; compared with normal control group(option two), ²⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

本研究通过正交试验综合评分法考察参瓜颗粒制备工艺指标, 综合评分确定其最优制备工艺: 70%乙醇作为润湿剂, 1%聚维酮作为黏合剂, 辅料为淀粉-糊精配比为 1:1, 以此工艺制备颗粒, 制粒过程顺畅, 成品颗粒粒型适宜, 颜色均匀, 质量稳定良好。本实验综合了制备过程和产品质量等多方面控制指标对制备工艺进行考察, 避免了因考察指标片面而未使制剂质量最优, 为中药制剂研发提供了科学参考。

植物提取物普遍存在易吸湿潮解的现象, 对中药固体制剂的制备、贮存都有影响, 是引发其他变化的前提条件。故本实验中润湿剂的水分含量是制粒过程中一个十分重要的影响因素: 水分过高, 极易出现黏网不出粒的现象; 水分偏低又会导致制得颗粒粒型松散, 细粉过多, 成品率过低。制剂小试中亦使用过 70%浓度以下乙醇作润湿剂, 但制粒过程极易黏网, 故本实验添加部分

黏合剂(聚维酮), 并选取吸湿性相对较低的辅料(淀粉与糊精)进行配比研究, 有效缓解了提取物对制粒过程及粒型等问题的影响。

参瓜颗粒以体内血糖水平为研究作用点, 探讨其辅助降糖功效。结果显示, 链脲佐菌素所致化学损伤性糖尿病小鼠灌胃参瓜颗粒, 剂量为 $3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每日 1 次, 连续 30 d, 可显著降低其空腹血糖, 为该制剂的开发应用提供了启示。

链脲佐菌素是一种 DNA 烷基化试剂, 可选择性的损伤多种动物的胰岛 β 细胞, 造成胰岛素分泌低下, 引起实验性糖尿病。本实验选取链脲佐菌素造模高血糖动物, 实验结果显示, 造模 35 d 血糖升高程度明显高于造模初期(造模 7 d), 动物糖尿病的形成呈逐渐加重的趋势, 所以未对实验前后的血糖降低率作出评价, 这可能与实验选取的造模药品有关。

REFERENCES

- [1] JIANG X, SUN R, FANG J, et al. Study on the clinical effects of diabetic No. 1 prescription of traditional chinese medicine [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(11): 1452-1456.
- [2] TANG X, RUAN Y, YU Y R. Status and influencing factors of glycemic control in type 2 diabetes patients in communities of Shihezi city [J]. Agric Reclam Med(农垦医学), 2017, 39(4): 331-334.
- [3] CHEN R, CHEN D J, ZHANG J X. Lowering blood glucose, blood lipids and antioxidant effects of *Panax quinquefolius* polysaccharide peptide on diabetic mice [J]. Acta Agric Boreali-Occidentalis Sin(西北农业学报), 2013, 22(11): 195-201.
- [4] LIU Y S, LI X K, WANG J J. Effects of total saponins from balsam pear on insulin resistance, adiponectin and leptin in rat model of type 2 diabetes [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(9): 177-179.
- [5] 包万员, 丁超, 刘有旺. 苦瓜降血糖作用的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(7): 1269-1270.
- [6] ZHU D J, YIN X G, LIU Z Y, et al. Effect of total saponins from bitter melon on myocardial apoptosis in type 2 diabetic rats [J]. Med J West China(西部医学), 2016, 28(10): 1360-1364, 1377.
- [7] 尹长江, 杨坤宝, 张学军, 等. 枸杞总多糖对 2 型糖尿病大鼠的降糖作用研究[J]. 中成药, 2014, 36(8): 1750-1753.
- [8] GAO C S, SHAN L, CUI G H, et al. Physical characterization of excipients used for rapid-release solid dosage forms [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2005, 14(3): 313-315.
- [9] 张荣泉, 田垚, 吕方, 等. 制粒工艺对藜精片制备的影响[J]. 中药材, 2012, 35(4): 651-653.

收稿日期: 2018-09-27

(本文责编: 李艳芳)