

基于物料性质表征的小儿蒲地蓝消炎糖浆剂型优化评价研究

李萱¹, 丁珂¹, 杨挡¹, 姜梦华¹, 李超², 朱法根², 邵建国², 孙娥^{1*},
封亮^{3*}, 贾晓斌³

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏南京 210028; 2. 济川药业集团有限公司江苏省儿科中药与特色制剂重点实验室, 江苏泰兴 225400; 3. 中国药科大学中药学院, 江苏南京 211198)

[摘要] 通过对蒲地蓝消炎口服液的口感分析可知, 口服液不良口感主要来源于中药本身所固有的不良口感和制剂过程中引入的不良口感, 导致其口感很难受儿童欢迎。因此, 针对儿童这一特殊患群, 通过工艺优化和剂型改进技术, 制成小儿蒲地蓝消炎糖浆剂来改善不良口感, 从而提高儿童服药依从性。以蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆的流浸膏物料性质为基础, 通过比较两者的制剂性质(pH、密度、浊度、黏度、色度、粒径)、口感、5种质量标志物含量以及体内的药动学特征, 评价小儿蒲地蓝消炎糖浆剂型优化的适宜性。结果表明, 与蒲地蓝消炎口服液相比, 小儿蒲地蓝消炎糖浆的pH、密度、浊度、黏度和色度性质显著改变, 不良口感降低26%, 主要有效成分菊苷酸转移率升高, 黄芩苷的转移率与口服液相差较小; 同时通过药代动力学可知, 黄芩苷体内吸收总量较高, 糖浆中黄芩苷和汉黄芩素的达峰时间 T_{max} 显著延长, 紫萼灵的体内滞留时间 MRT_{0-1} 显著延长; 小儿蒲地蓝消炎糖浆和蒲地蓝消炎口服液在体内的吸收程度相同; 黄芩苷>汉黄芩素>紫萼灵。新剂型工艺较原剂型简单, 符合大生产需求, 安全环保, 合理可行, 为小儿蒲地蓝消炎糖浆剂型优化的适宜性和科学性提供了依据, 同时也为小儿蒲地蓝消炎糖浆进一步安全、合理用药奠定基础, 从而扩大儿童临床应用范围。

[关键词] 小儿蒲地蓝消炎糖浆; 剂型优化; 物料性质表征; 口感; 有效性; 药动学

Optimization and evaluation of Xiaer Pudilan Xiaoyan Syrup based on characterization of material properties

LI Xuan¹, DING Ke¹, YANG Dang¹, JIANG Meng-hua¹, LI Chao², ZHU Fa-gen², SHAO Jian-guo², SUN E^{1*},
FENG Liang^{3*}, JIA Xiao-bin³

(1. *Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China*; 2. *Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine and Characteristic Preparations for Pediatrics, Juncan Pharmaceutical Co., Ltd., Taixing 225400, China*; 3. *School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China*)

[Abstract] According to the taste analysis of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid, the unpleasant taste of the oral liquid is mainly caused by the inherent taste of Chinese medicine and the taste introduced in the preparation process, which leads to its unpopularity among children. Therefore, aiming at the special children patient group, Xiaer Pudilan Xiaoyan Syrup was developed via technology optimi-

[收稿日期] 2022-04-27

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1706902); 江苏省儿科中药与特色制剂重点实验室开放课题项目(BM2019011); 江苏省科技成果转化专项(BA2020077); 江苏省医学创新团队项目(CXTDB2017003); 江苏省研究生实践与创新计划项目(SJCX21-0716); 中国药科大学双一流创新团队项目(CPU2018GY11); 江苏省卫生健康发展研究中心开放课题团队项目(JSJD2021040); 天然药物活性组分与药效国家重点实验室自主项目(SKLNZZ202025)

[通信作者] *孙娥, 研究员, 研究方向为中药制剂与炮制, E-mail: sune0825@163.com; *封亮, 博士, 副教授, 博士生导师, 研究方向为中药制剂与创新中药, E-mail: wenmoxishi@163.com

[作者简介] 李萱, 硕士研究生, E-mail: lixuan542021@163.com

zation and dosage form improvement to improve the unpleasant taste and enhance the medication compliance among children. Based on the material properties of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup extracts, the authors compared the properties (pH, density, turbidity, viscosity, chromaticity, particle size), taste, content of five quality markers and *in vivo* pharmacokinetic characteristics of these two preparations, to evaluate the suitability of Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup. The results showed that compared with those of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid, the pH, density, turbidity, viscosity and chromaticity of Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup were significantly changed, and the unpleasant taste was reduced by 26%; the transfer rate of the main active ingredients chicoric acid was increased, while the transfer rate of baicalin had small difference from that of the oral liquid. In addition, pharmacokinetics revealed that the total absorption amount of baicalin *in vivo* was higher, and the time to peak T_{max} of baicalin and oroxindin in the syrup and the mean residence time MRT_{last} of corynoline *in vivo* were significantly prolonged. The absorption degree of Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup and Pudilan Xiaoyan Oral Liquid in the body was the same; baicalin>oroxindin>corynoline. The new dosage form process was simpler than that of the original dosage form, safe, environmentally friendly, reasonable and feasible, meeting the mass production demand. This provided a basis for the reasonable and scientific optimization of Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup, and also laid a foundation for its further safe and rational use, so as to expand the clinical application in children.

[Key words] Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup; dosage form optimization; characterization of material properties; taste; effectiveness; pharmacokinetics

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20220609.302

蒲地蓝消炎口服液由蒲公英、苦地丁、板蓝根和黄芩4种中药组成,方中蒲公英可清热解毒、消痈散结;黄芩可清热燥湿、泻火解毒^[1];苦地丁可活血消肿;板蓝根可凉血利咽,诸药合用,使表里之邪透泄而愈,具有抗炎和消肿作用^[2-3]。目前,临床上蒲地蓝消炎口服液可用于治疗儿童扁桃体炎^[4]、儿童手足口病^[5]、儿童上呼吸道感染^[6]、小儿风热感冒^[7]等疾病,疗效明显,不良反应发生频率较低^[8]。但蒲地蓝消炎口服液不良口感仍限制其在儿童临床上的应用,课题组前期研究发现,其不良口感主要来源于中药本身所固有的不良口感和制剂过程中引入了不良口感^[9]。方中4味药皆有苦味,四药合用,苦味更甚。同时在制剂过程中,由于碱提酸沉、调节pH等工艺中加入了氢氧化钠和盐酸,而且氢氧化钠咸、涩、有辣感,稀盐酸有微辣感,更是加重蒲地蓝消炎口服液的不良口感^[10]。前期通过采用添加辅料的复合矫味技术对不良口感进行改善,但效果有限。

目前儿童口服中药剂型包括口服液、颗粒剂、散剂、糖浆剂、胶囊剂和片剂等,据某院用药信息统计,临床儿童口服中成药共有56种,其中口服液占比32.14%,糖浆剂占比次于口服液为5.36%^[11]。且糖浆剂甜味纯正,掩盖了药物的不良气味,深受儿童喜欢。因此,针对儿童这一特殊患群,通过工艺优化和剂型改进技术,制成小儿蒲地蓝消炎糖浆剂来改善不良口感,从而提高儿童服药依从性。

本文对蒲地蓝消炎口服液的流浸膏以及生产工艺关键环节中间体的不良口感进行系统分析,通过工艺优化和剂型改进制成小儿蒲地蓝消炎糖浆。对比蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆改变工艺和剂型后对流浸膏物料性质、制剂性质、有效性以及口感方面的影响,并结合两者黄芩苷、汉黄芩素和紫堇灵在幼年大鼠体内的药动学过程,以评价其剂型优化的科学性。为小儿蒲地蓝消炎糖浆进一步安全、合理用药奠定基础。

1 材料

FE28型pH计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];RE52CS-1型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);WH-B06型电子秤(广州市威衡电子有限公司);AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];1.0-1.1型浮子式密度计(上海方瑞仪器设备有限公司);NDJ-5S型旋转黏度仪[邦西仪器科技(上海)有限公司];AQ4500型浊度仪(上海昕瑞仪器仪表有限公司);Nano-ZS型粒径仪(英国马尔文仪器有限公司);SD9011B型色度仪(上海昕瑞仪器仪表有限公司);Waters 2695型高效液相色谱仪系统(美国Waters公司);MT5型百万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];TS-5000Z型电子舌(日本INSENT公司);ABQ-Trap5500液相色谱质谱联用仪(配有在线脱气系统、超高压四元泵、自动进样器、柱温箱、DAD紫外检测器、三重四极杆质谱检测器及LC-MS化学工作

站);DW-86L578S型-80℃低温冰箱(青岛海尔生物医疗股份有限公司);Centrifuge 5430R型离心机(艾本德中国有限公司);VM-300S型混匀仪(群安实验仪器有限公司);LABCONCO型离心浓缩仪(北京照生行仪器设备有限公司)。

对照品腺苷(批号110879-201703,质量分数99.7%)、菊苣酸(批号111752-201703,质量分数98.3%)、紫堇灵(批号111734-201602,质量分数98.2%)、黄芩苷(批号110715-201821,质量分数95.4%)和汉黄芩素(批号111514-201706,质量分数99.92%)均购自中国食品药品检定研究院;蒲地蓝消炎口服液(批号2007094)、小儿蒲地蓝消炎糖浆(批号1612012)、蒲公英(批号190112)、板蓝根(批号190201)、苦地丁(批号190118)、黄芩(批号190201),以上制剂及药材均由济川药业集团有限公司提供。甲醇(M. TEDIA)为色谱纯;盐酸(批号18101781pk,南京化学试剂股份有限公司);氢氧化钠(批号GB/T629-1997,天津市博迪化工有限公司);实验用水为娃哈哈纯净水。

雄性SD大鼠12只,SPF级,出生21~45d幼龄大鼠(40~60g,相当于2~12岁儿童)。动物由江苏省中医药研究院/蚌埠依诺佳生物科技有限公司提供,许可证号SYXK(苏)2021-0025。所有动物分笼饲养于江苏省中医药研究院动物实验中心SPF环境下。

2 方法与结果

2.1 流浸膏和制剂制备

单味浓缩液的制备:取蒲公英加水煎煮2次,每次煎煮1h,滤过,合并滤液,浓缩至清膏。苦地丁、板蓝根和黄芩浓缩液同法制备,其中黄芩沸投。

单味流浸膏的制备:蒲公英流浸膏按“单味浓缩液的制备”方法得到清膏,醇沉除杂。苦地丁、板蓝根流浸膏同法制备。

黄芩流浸膏的制备:取黄芩投入沸水中,煎煮2次,每次先煎煮10min,用氢氧化钠溶液调节pH,再煎煮1h,滤过,合并滤液,浓缩至清膏,醇沉过滤,酸沉除杂。

三味流浸膏的制备:取蒲公英、板蓝根、苦地丁加水煎煮2次,滤过,合并滤液,浓缩至清膏,醇沉除杂。

蒲地蓝消炎口服液流浸膏的制备:将三味流浸膏和黄芩流浸膏合并即得。

小儿蒲地蓝消炎糖浆流浸膏的制备:蒲公英、板

蓝根、苦地丁、黄芩,以上4味,加水煎煮3次(黄芩沸投),滤过,合并滤液,浓缩至清膏,醇沉除杂。

蒲地蓝消炎口服液的制备:取蒲地蓝消炎口服液流浸膏,用氢氧化钠溶液调节pH,加入甜菊糖苷,加水分装,灭菌即得。

小儿蒲地蓝消炎糖浆的制备:取小儿蒲地蓝消炎糖浆流浸膏,用氢氧化钠溶液调节pH,加入蔗糖、甜菊糖苷、三氯蔗糖,煮沸,过滤,加入桔子香精,加水分装,灭菌即得。

2.2 电子舌法评价方法的建立^[12-14]

蒲地蓝消炎口服液的主要不良口感为苦涩咸味,因此采用电子舌测定样品溶液的苦味、苦味回味、涩味、涩味回味和咸味,以雷达曲线面积的大小表征其不良口感的严重程度,面积越大,不良口感越严重,反之则不良口感较轻。其计算公式及雷达曲线面积见图1。

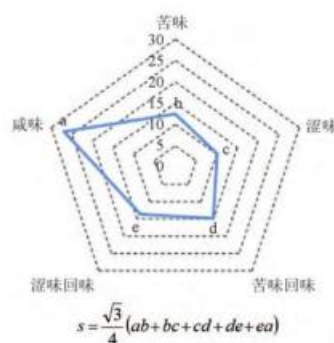


图1 雷达曲线面积图

Fig. 1 Radar curve area icon

2.3 不良口感分析

2.3.1 单味流浸膏

黄芩流浸膏在苦味、涩味、苦味回味、涩味回味、咸味均较重,且流浸膏各味道相比,黄芩流浸膏苦涩味最重,其次是板蓝根流浸膏,见图2。四味流浸膏均具有较重的咸味,其中蒲公英与苦地丁咸味值最大。各流浸膏不良口感综合分析得出:流浸膏不良口感程度由重较轻依次为黄芩>板蓝根>蒲公英>苦地丁,且黄芩流浸膏不良口感显著高于其余三味流浸膏。

2.3.2 流浸膏与成品

黄芩流浸膏苦味值明显高于三味合提流浸膏,表明蒲地蓝口服液苦味主要来源于黄芩流浸膏,而涩味、咸味主要来源三味合提流浸膏。不良味道综

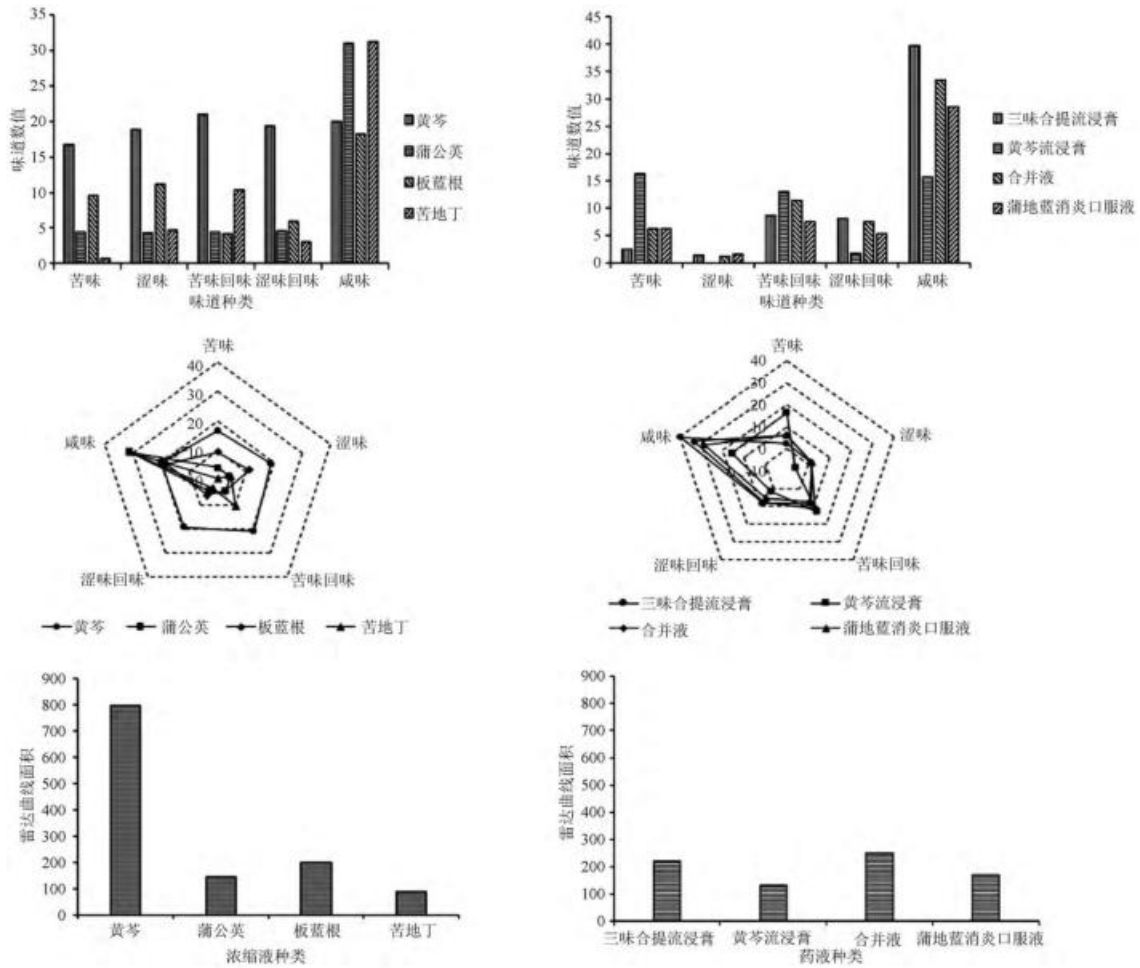


图2 单味流浸膏及成品流浸膏味道分析
Fig. 2 Taste analysis of single and finished liquid extracts

合分析得出:不良口感轻重依次为合并液>三味合提流浸膏>蒲地蓝口服液>黄芩流浸膏,表明蒲地蓝口服液总体不良口感主要由三味合提流浸膏引起。

2.3.3 黄芩单提环节

黄芩单独提取,从提取液到浓缩液,不良口感有

所增加,但是在醇沉之后,不良口感下降,尤其在得到黄芩苷粗品之后,其溶液不良口感显著降低,见图3。此过程可能是因为只保留了黄芩苷粗品,而黄芩中绝大部分其他成分及其大分子物质被除去,致使其不良口感显著降低。

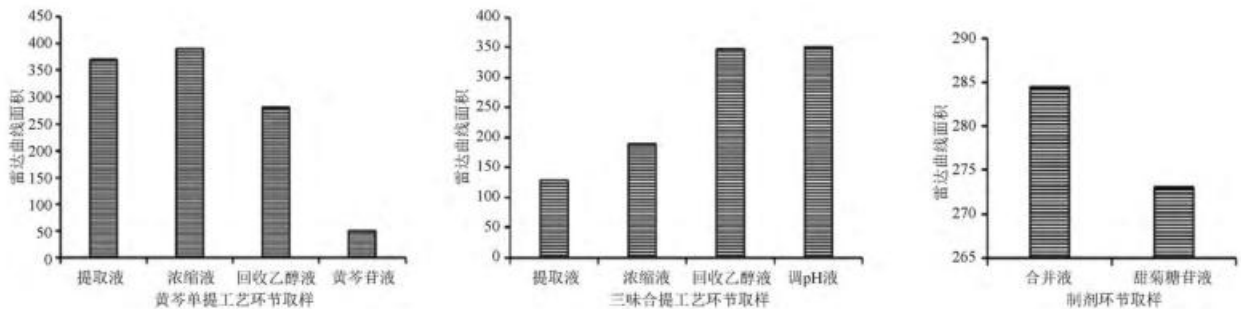


图3 生产工艺各环节样品不良口感分析
Fig. 3 Analysis of unpleasant taste of samples in various links of production process

2.3.4 三味合提环节

蒲公英、苦地丁、板蓝根三味药合提,从提取、浓缩、醇沉后回收乙醇,不良口感呈现增大趋势。调节pH之后,不良口感有所增加,说明制剂工艺过程中也引入蒲地蓝口服液不良口感。

2.3.5 制剂环节

加入5%甜菊糖苷矫味,成品与合并液相比,不良口感有所降低。说明甜菊糖苷能降低蒲地蓝口服液的不良口感,但是单用甜菊糖苷,不良口感改善效果并不是很理想。

2.4 流浸膏物料性质与制剂性质分析

2.4.1 生产工艺对比

蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆二者工艺流程图见图4。原制剂黄芩经碱提、醇沉后再经酸沉得黄芩苷粗品,生产工艺复杂,操作繁琐,耗时长。而小儿蒲地蓝消炎糖浆删除黄芩单独提取工序,节约时间;黄芩由原来的碱提变为水提,降低安全隐患及环保压力;且还删除了酸沉工序,提高生产效率;与此同时减少了盐酸和氢氧化钠的加入,改善其口感。

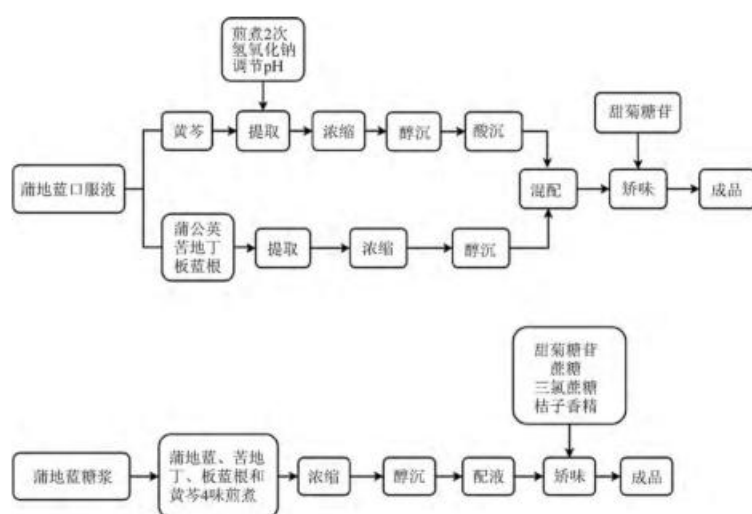


图4 蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆工艺流程图

Fig. 4 Process flow chart of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup

2.4.2 物料性质指标研究

采用pH计、浮子式密度计、浊度仪、旋转黏度仪、色度仪和粒径仪等物理性质测定的相关仪器,按照2020年版《中国药典》规定的合剂通则^[15]对蒲地蓝消炎口服液流浸膏、小儿蒲地蓝消炎糖浆流浸膏、蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆测定pH、密度、浊度、黏度、色度和粒径。

在流浸膏阶段,小儿蒲地蓝消炎糖浆流浸膏的浊度和黏度发生了显著性降低,浊度从51.70 NTU显著降低到19.27 NTU ($P < 0.01$),黏度从13.76 mPa·s降低到7.59 mPa·s ($P < 0.01$),见图5。在制剂阶段,小儿蒲地蓝消炎糖浆的pH、密度、浊度、黏度和色度均发生显著性变化,pH从5.82显著降低到5.55 ($P < 0.01$),密度从1.039 g·cm⁻³增加到1.265 g·cm⁻³ ($P < 0.01$),浊度从7.84 NTU增加到9.80 NTU ($P < 0.01$),黏度从3.70 mPa·s增加到

20.67 mPa·s ($P < 0.01$),增加将近6倍。由于糖浆在矫味过程中加入了甜菊糖苷、蔗糖和三氯蔗糖,其中三氯蔗糖的pH呈弱酸性^[16],所以pH降低;加入的3种矫味剂均属于糖类,糖类物质会增加药液的黏稠性,所以糖浆的黏度显著性升高,浊度和色度也随之改变。

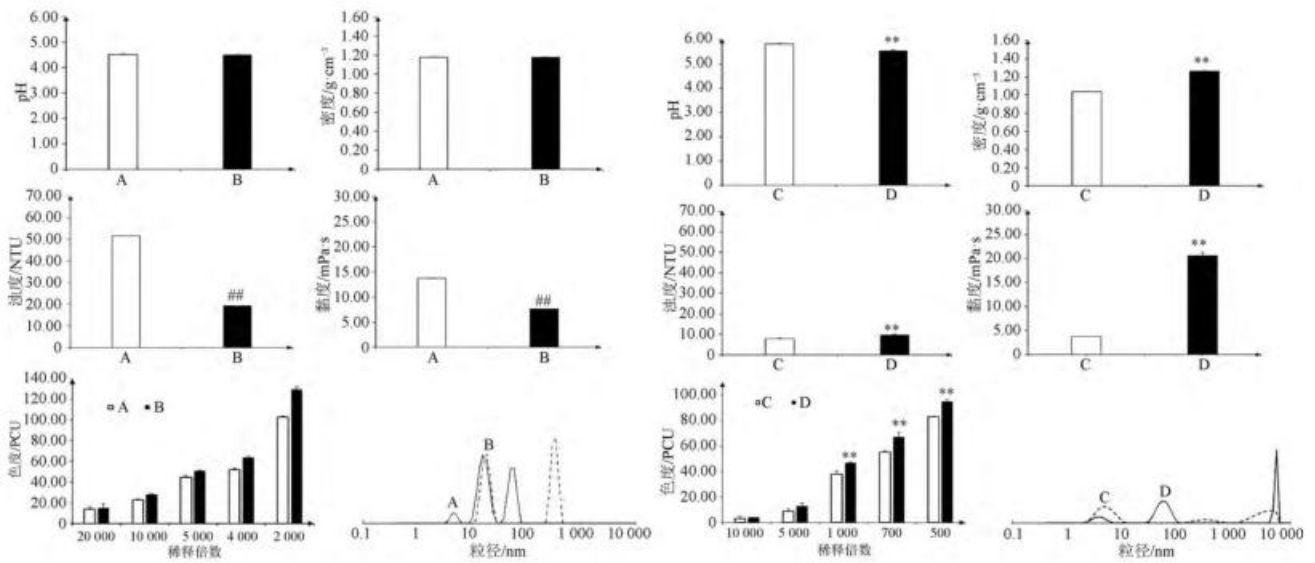
2.5 电子舌法和人体口尝法相结合测定流浸膏与制剂口感

2.5.1 基于电子舌技术的不良口感分析

糖浆流浸膏雷达曲线面积由385降低到316,不良口感降低18%,糖浆制剂雷达曲线面积由250降低到184,不良口感降低26%,见图6。

2.5.2 基于人体口尝法的不良口感分析

电子舌是模拟人体味觉受体感知的仪器,可以客观地以数字化形式表现出不同味道。但是电子舌并不能完全表示人体味觉。因此,将电子舌法和人



A. 蒲地蓝消炎口服液流浸膏; B. 小儿蒲地蓝消炎糖浆流浸膏; C. 蒲地蓝消炎口服液; D. 小儿蒲地蓝消炎糖浆 (图 6、7、9 同); 与蒲地蓝消炎口服液流浸膏相比[#] $P < 0.01$; 与蒲地蓝消炎口服液相比^{**} $P < 0.01$ 。

图 5 流浸膏和制剂性质测定 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Determination of liquid extracts and preparations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

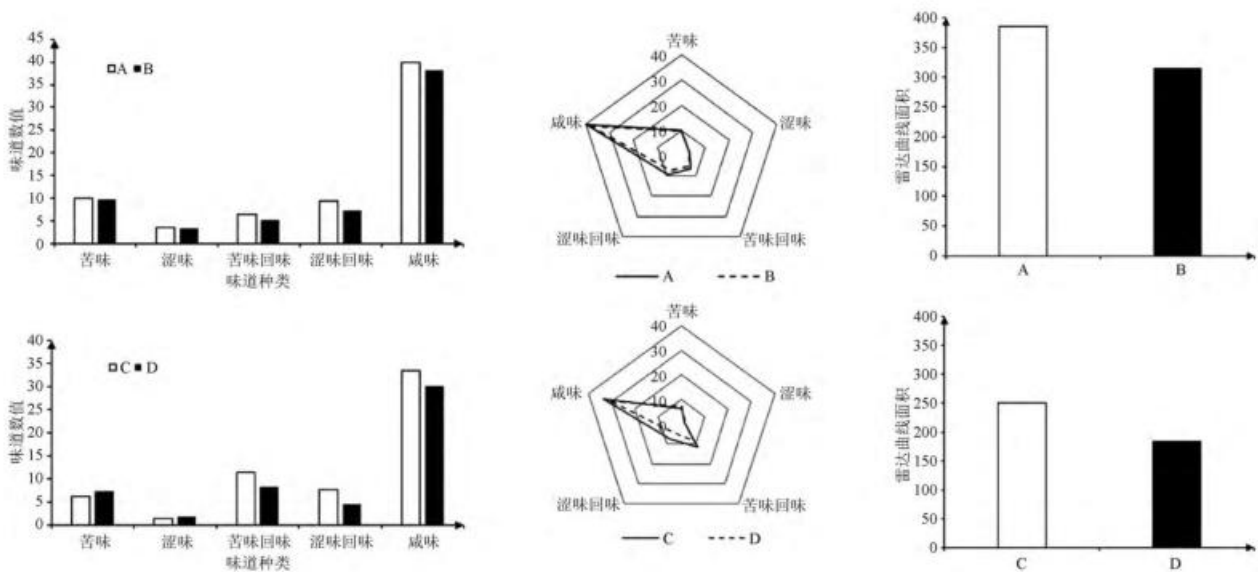


图 6 蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆的流浸膏与制剂味道分析及雷达图

Fig. 6 Taste analysis and radar diagram of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoyer Pudilan Xiaoyan Syrup extracts and preparations

体口尝法相结合评价口感,首先对招募的志愿者进行苦味敏感度、年龄、身体健康状态的考察^[17],参加品尝样品并评估其味觉感知能力等方面的培训,通过测试后参加试验,最终选取健康志愿者作为受试对象。总体口感等级划分为极好(8分),很好(7分),较好(6分),稍微好(5分),一般(4分),稍微

差(3分),较差(2分),很差(1分)和极差(0分)9个等级,并赋予每一等级特定的分值见表1,并以最终的得分作为总体口感优劣的评价标准。其中各等级都是以蒲地蓝消炎口服液原液的口感参照设立的^[9]。箱式图见图7,小儿蒲地蓝消炎糖浆苦味及甜味相较于蒲地蓝消炎口服液都得到显著性改善,

使总体口感较好,提高服药顺应性。

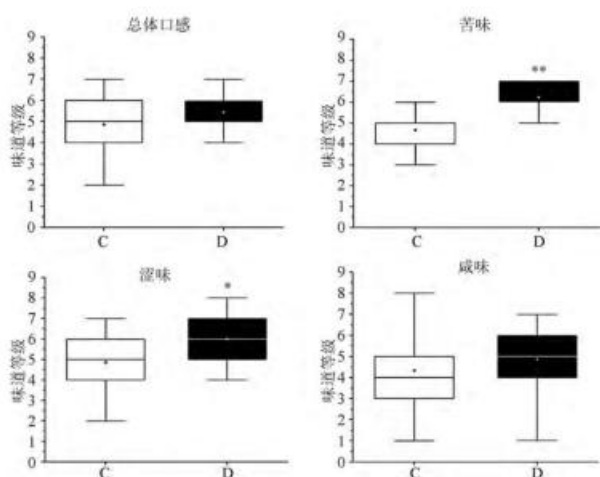
表1 人体口尝评分

评分	总体口感	苦味	涩味	咸味
0	极差	极苦	极涩	极咸
1	很差	很苦	很涩	很咸
2	较差	较苦	较涩	较咸
3	稍微差	稍微苦	稍微涩	稍微咸
4	一般	一般	一般	一般
5	稍微好	稍微不苦	稍微不涩	稍微不咸
6	较好	较不苦	较不涩	较不咸
7	很好	很不苦	很不涩	很不咸
8	极好	极不苦	极不涩	极不咸

2.6 HPLC分析蒲地蓝消炎口服液与小兒蒲地蓝消炎糖浆中质量标志物的含量

2.6.1 对照品溶液的制备

精密称取腺苷、菊苣酸、紫堇灵、黄芩苷和汉黄芩素对照品适量,用50%甲醇溶解配制成单一对照品储备液(分别为0.942、2.039、0.497、2.024、0.395 mg·mL⁻¹);各精密吸取适量于5 mL量瓶中,50%甲醇定容,配制成每1 mL含腺苷37.68 μg、菊苣酸407.8 μg、紫堇灵19.88 μg、黄芩苷1.214 mg和汉黄芩素7.90 μg的混合对照品储备液。



与蒲地蓝消炎口服液相比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图7 蒲地蓝消炎口服液和小兒蒲地蓝消炎糖浆的口感箱式图

Fig. 7 Box plot of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup

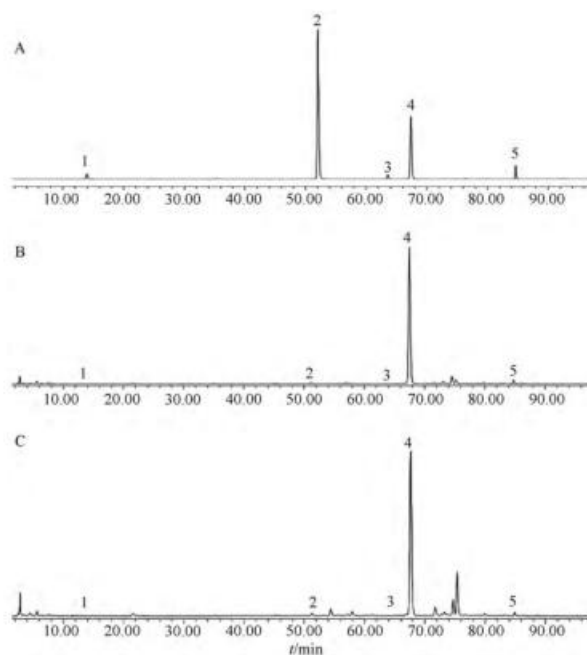
2.6.2 供试品溶液的制备

精密吸取蒲地蓝消炎口服液流浸膏1.0 mL于5752

10 mL量瓶中,平行2份,50%甲醇定容,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过即得。蒲地蓝消炎口服液、小兒蒲地蓝消炎糖浆流浸膏及其制剂的供试品溶液同法制备。

2.6.3 色谱条件

Agilent SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水(B),梯度洗脱(0~10 min, 0~5% A; 10~15 min, 5%~15% A; 15~30 min, 15% A; 30~35 min, 15%~25% A; 35~70 min, 25%~50% A; 70~90 min, 50%~80% A; 90~100 min, 80%~0 A),检测波长280 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30 ℃,进样量10 μL。色谱图见图8。线性关系、精密性、重复性、稳定性和加样回收率试验均符合要求^[18]。



A. 对照品; B. 蒲地蓝消炎口服液; C. 小兒蒲地蓝消炎糖浆; 1. 腺苷; 2. 菊苣酸; 3. 紫堇灵; 4. 黄芩苷; 5. 汉黄芩素。

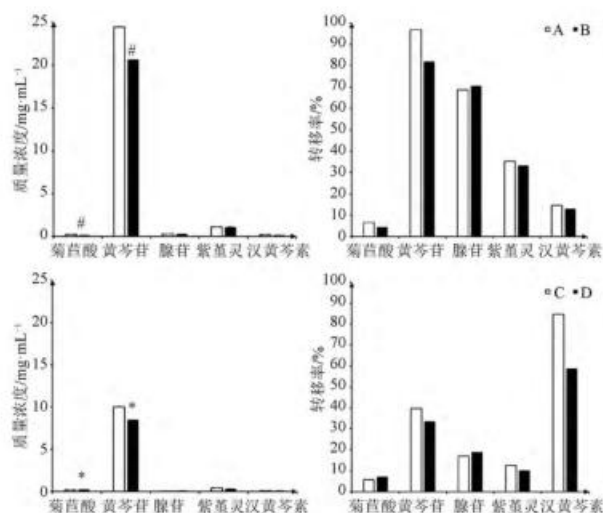
图8 混合对照品及样品的HPLC图

Fig. 8 HPLC chromatograms of mixed reference substance and Pudilan Xiaoyan Oral Liquid

2.6.4 样品测定

分别取蒲地蓝消炎口服液和小兒蒲地蓝消炎糖浆的流浸膏和制剂,按照2.6.2项下方法制备供试品溶液,并对样品中5种成分进行HPLC分析,记录5个质量标志物的峰面积并计算其在样品中的含量,见图9。通过对比蒲地蓝消炎口服液和小兒蒲

地蓝消炎糖浆中质量标志物含量及转移率可知,糖浆的菊苣酸转移率比原剂型高,黄芩苷转移率与原剂型相比相差较小,且糖浆工艺较原剂型简单,符合生产工艺需求,因此糖浆剂工艺合理可行。



与蒲地蓝消炎口服液流浸膏相比[#] $P < 0.05$,与蒲地蓝消炎口服液相比^{*} $P < 0.05$ 。

图9 蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆的流浸膏与制剂质量标志物含量与转移率

Fig. 9 Content and transfer rate of quality markers of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup extracts and preparations

2.7 LC-MS 分析幼龄大鼠体内吸收

2.7.1 动物分组、给药及样品采集

SD 幼龄大鼠 12 只,随机分为 2 组每组 6 只,分别为蒲地蓝消炎口服液组和小儿蒲地蓝消炎糖浆组。实验前禁食 12 h,自由饮水。采用眼底静脉丛取血。分别在 0、5、10、25、45 min 及 1、2、3、4、6、8、12、24 h 时间点采血 150 μL ,采集的血样置于干净、肝素抗凝的试管中,将样本 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,即得血浆。 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.7.2 对照品溶液制备

精密称取对照品腺苷、黄芩苷、汉黄芩素和紫萁灵,配制成单一对照品的甲醇母液,低温密封保存。根据各质量标志物在血浆样品中的浓度,分别精密吸取相应体积的对照品溶液混合、稀释得混标母液;一系列稀释后,得系列混标溶液。精密称取一定量的柚皮苷于 5 mL 量瓶,用甲醇定容至刻度并稀释,得内标溶液质量浓度。

2.7.3 血浆样品处理

精确吸取 100 μL 血浆于离心管中,加入 400 μL 甲醇,涡旋 2 min,在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取上清液,以除去血浆中蛋白,置于氮吹仪中吹干,再加入 100 μL 甲醇复溶,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取上清液,加入适量的内标物柚皮苷,待测^[19]。

2.7.4 色谱条件

Waters XSelect CSH C_{18} 色谱柱 (3.0 mm \times 100 mm, 2.5 μm),流动相为甲醇 (A)-0.1% 甲酸溶液 (B),梯度洗脱 (0 ~ 0.5 min, 0 ~ 15% A; 0.5 ~ 2.5 min, 15% A; 2.5 ~ 7 min, 15% ~ 80% A; 7 ~ 9 min, 80% A; 9 ~ 11 min, 80% ~ 15% A; 11 ~ 12 min, 15% A)。流速 0.4 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样量 4 μL 。

2.7.5 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI),正负离子切换模式扫描;多重反应监测模式 (MRM);源喷射电压:5 500 V (正离子模式), $-4\ 500\ \text{V}$ (负离子模式);4 个待测成分和 1 个内标成分的质谱参数见表 2。

表 2 质量标志物和内标的质谱分析参数

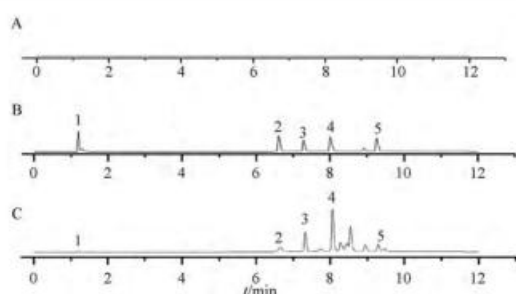
Table 2 Mass spectrometry parameters of quality markers and internal standards

化合物	定量离子 m/z	碰撞能量/V
腺苷	268.1 \rightarrow 136.0	21/16
紫萁灵	368.0 \rightarrow 289.0	35/16
黄芩苷	447.1 \rightarrow 271.1	27/22
汉黄芩素	285.1 \rightarrow 270.0	33/20
柚皮苷	581.4 \rightarrow 274.2	13/30

2.7.6 方法学考察

2.7.6.1 专属性 取已处理好的空白血浆 100 μL ,空白血浆中加入一定浓度混标溶液和内标溶液直接进样,获得相应的总离子流色谱图,见图 10。结果表明,在此色谱和质谱条件下分析物和内标在空白血浆中无杂质干扰,可用于大鼠血浆样本中腺苷、黄芩苷、汉黄芩素、紫萁灵的含量测定。

2.7.6.2 线性考察 取 2.7.2 项下制备的各浓度血浆样本溶液,按照色谱条件及质谱条件进行 HPLC-MS 分析。分别进样 4 μL ,以各分析物浓度为横坐标 X ,各分析物与内标的峰面积比值为纵坐标 Y ,得到直线回归方程,见表 3。



A. 空白血浆; B. 空白血浆加混标加内标; C. 血浆样品加内标; 1. 腺苷; 2. 紫堇灵; 3. 柚皮苷; 4. 黄芩苷; 5. 汉黄芩素。

图 10 空白血浆、混标溶液及血浆样品色谱图

Fig. 10 Chromatograms of blank plasma, mixed standard solution and plasma sample

表 3 线性方程、线性范围和相关系数

Table 3 Linear equations, linear ranges and correlation coefficients

化合物	线性方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	r
腺苷	$Y=0.0137X+0.0286$	0.734~47.000	0.9921
紫堇灵	$Y=0.0339X+0.1805$	0.432~27.675	0.9942
黄芩苷	$Y=0.0009X+0.0011$	16.716~1069.810	0.9989
汉黄芩素	$Y=0.0817X+0.1052$	0.644~10.300	0.9912

2.7.6.3 精确度、稳定性和回收率试验 取空白血浆 100 μL , 加入低、中、高 3 个浓度的混合对照品溶液各 100 μL , 放入 1.5 mL EP 管中, 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干, 制成低、中、高 3 个浓度的 QC 样品, 按 2.7.3

项下方法处理, 每个测定 5 次, 连续测定 5 d, 计算日内精密度的 RSD 在 1.3%~4.8%, 日间精密度的 RSD 在 2.8%~3.8%, 表明该方法的精密度良好。

取空白血浆 100 μL , 加入低、中、高 3 个浓度的混合对照品溶液各 100 μL , 按 2.7.3 项下方法处理, 处理后的样品进样室中放置 0、2、4、6、8、12 h 测定, 考察稳定性 RSD 均在 1.0%~9.2%, 结果表明生物样品在 12 h 内稳定。

取空白血浆 100 μL , 加入低、中、高 3 个浓度的混合对照品溶液各 100 μL , 按 2.7.3 项下方法处理, 测定各标志物的峰面积及含量, 回收率=测得含量/理论含量, 得到回收率均在 88.76%~114.5%, 符合回收率要求。

2.7.7 药代动力学参数

根据药动力学预实验分析得出, 菊苣酸在大鼠体内代谢较快, 无法测得其原型的药动力学特征; 而腺苷在幼鼠体内血药浓度低于定量限, 也无法分析其药动力学特征。所以研究了黄芩苷、汉黄芩素和紫堇灵在幼鼠体内的药动力学特征。幼龄大鼠给药后, 在不同的时间点采血并按照色谱条件测定其中黄芩苷、汉黄芩素、紫堇灵的浓度。数据采用 Phoenix WinNonlin 药代动力学软件处理, 非房室方法计算药动力学参数。平均血药浓度-时间曲线见图 11。测定结果和药动力学参数见表 4。

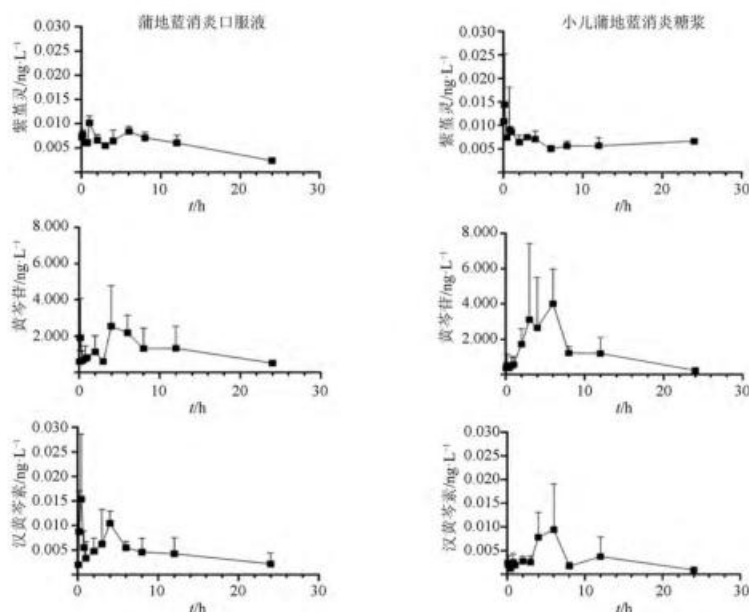


图 11 蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆在幼鼠体内血药浓度-时间曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 11 Plasma concentration-time curves of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoer Pudilan Xiaoyan Syrup in young mice

表4 蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆药动学参数($\bar{x}\pm s, n=6$)Table 4 Pharmacokinetic parameters of Pudilan Xiaoyan Oral Liquid and Xiaoeer Pudilan Xiaoyan Syrup($\bar{x}\pm s, n=6$)

参数	蒲地蓝消炎口服液			小儿蒲地蓝消炎糖浆		
	紫堇灵	黄芩苷	汉黄芩素	紫堇灵	黄芩苷	汉黄芩素
T_{max}/h	2.67±2.89	2.06±1.92	1.16±2.07	0.36±0.34 ¹⁾	5.00±1.73	5.33±1.16 ¹⁾
$C_{max}/ng\cdot L^{-1}$	0.01±0.00	3.80±1.54	0.02±0.01	0.02±0.01	4.64±3.06	0.01±0.01
$AUC_{all}/h\cdot ng\cdot L^{-1}$	0.14±0.01	29.11±13.43	0.11±0.03	0.15±0.02	32.18±16.39	0.08±0.03
$AUC_{INF-obs}/h\cdot ng\cdot L^{-1}$	0.17±0.01	46.95±10.13	0.19±0.09	1.45±0.70	33.99±17.39	0.15±0.08
MRT_{last}/h	9.47±0.32	9.76±0.79	9.40±2.27	11.88±0.31 ¹⁾	8.00±1.07	8.82±1.44

注:与蒲地蓝消炎口服液相比¹⁾ $P<0.05$ 。

由药动学参数可知,幼年大鼠分别给予蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆后,黄芩苷、汉黄芩素和紫堇灵在曲线下面积(AUC_{all})、 T_{max} 和 C_{max} 中存在差异。给予糖浆的幼年大鼠与给予口服液的幼年大鼠相比,黄芩苷的曲线下面积(AUC_{all})由 $29.11 h\cdot ng\cdot L^{-1}$ 增加到 $32.18 h\cdot ng\cdot L^{-1}$, T_{max} 由2.06 h延迟到5.00 h, C_{max} 由 $3.80 ng\cdot L^{-1}$ 增加到 $4.64 ng\cdot L^{-1}$;汉黄芩素的曲线下面积(AUC_{all})由 $0.11 h\cdot ng\cdot L^{-1}$ 降低到 $0.08 h\cdot ng\cdot L^{-1}$, T_{max} 由1.16 h显著延迟到5.33 h,紫堇灵的 T_{max} 由2.67 h显著提前到0.36 h,体内滞留时间 MRT_{last} 由9.47 h显著延迟到11.88 h。

将3个成分的最大血药浓度用相应的给药量标准化[$C_{max}/Dose, Dose = \text{给药量}(3.78 mL\cdot kg^{-1}) \times \text{单个成分的含量}$]。幼年大鼠给予蒲地蓝消炎口服液后,黄芩苷($37.891 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.100,汉黄芩素($0.435 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.023,紫堇灵($1.546 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.006。可知体内吸收程度,黄芩苷>汉黄芩素>紫堇灵。幼年大鼠给予小儿蒲地蓝消炎糖浆后,黄芩苷($32.104 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.145,汉黄芩素($0.302 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.033,紫堇灵($1.259 mg\cdot kg^{-1}$)的 $C_{max}/Dose$ 为0.016。可知体内吸收程度,黄芩苷>汉黄芩素>紫堇灵。由此可知,蒲地蓝糖浆和蒲地蓝口服液在幼鼠体内的吸收程度是一样的。

3 讨论

本文通过对蒲地蓝消炎口服液处方饮片的单味流浸膏、合提流浸膏以及工艺关键环节中间体不良口感分析可知,蒲地蓝消炎口服液的不良口感主要来源于中药本身所固有的不良口感和制剂过程中引入了不良口感。因此,优化蒲地蓝消炎口服液的生产工艺,改变剂型,制成适合儿童口服的小儿蒲地蓝

消炎糖浆。分别测定蒲地蓝口服液流浸膏和小儿蒲地蓝糖浆流浸膏的物料性质、蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆的制剂性质,以及二者的质量标志物含量及口感的差异。同时建立了LC-MS测定蒲地蓝消炎口服液和小儿蒲地蓝消炎糖浆在幼龄大鼠体内黄芩苷、汉黄芩素和紫堇灵的含量测定方法,用于对比二者在幼龄大鼠体内的药动学差异。对小儿蒲地蓝消炎糖浆剂型优化进行适宜性评价,为小儿蒲地蓝消炎糖浆安全性用药提供科学性和合理性的理论依据。

蒲地蓝消炎口服液通过优化工艺和改善剂型后,性质方面显著性变化合理;糖浆制剂不良口感降低,一是因为优化工艺后减少氢氧化钠和稀盐酸的加入,降低咸、涩味,二是因为加入糖类矫味剂增加药液黏度,可延缓味道药物的释放、扩散^[9],从而减少药物与味觉受体接触,三是因为加入的矫味剂是甜味矫味剂,可通过甜觉与苦觉产生的神经冲动来混淆味觉中枢,降低苦味受体蛋白对苦味物质的敏感程度,从而使苦味淡化^[20];糖浆中菊苣酸含量和转移率比原剂型高,黄芩苷含量显著降低,但黄芩苷转移率与原剂型相比相差较小,且均符合药典规定的蒲地蓝制剂中黄芩苷的质量标准^[21];给予糖浆后的黄芩苷曲线下面积(AUC_{all})比给予口服液后的曲线下面积(AUC_{all})大,说明幼鼠给予糖浆吸收黄芩苷总量较高,给予糖浆后黄芩苷和汉黄芩素的 T_{max} 显著延迟可知,二者在体内吸收慢,口服液和糖浆在幼鼠体内吸收程度相同,且幼鼠给予糖浆后黄芩苷在体内吸收总量较高,有利于其发挥药效,说明改变剂型科学合理。

综上所述,小儿蒲地蓝消炎糖浆通过工艺优化和剂型改变后,其口感明显改善,提高了儿童用药顺应性,且并没有改变制剂内在质量;故小儿蒲地蓝消炎糖浆工艺较原剂型简单,符合大生产需求,安全环

保,合理可行。本文为小儿蒲地蓝消炎糖浆剂型优化科学性提供了数据支撑,同时也为小儿蒲地蓝消炎糖浆合理安全用药提供了理论依据。

[参考文献]

- [1] MA L, LEI Q L, SU Q. Network pharmacology approach to determine active compounds and potential targets associated with the anti-abortion effects of scutellariae radix[J]. World J Tradit Chin Med, 2020, 6(3): 341.
- [2] 姜春燕. 蒲地蓝消炎口服液的临床应用概况[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(9): 30.
- [3] 王连心, 苗青, 谢雁鸣, 等. 蒲地蓝消炎口服液临床应用专家共识[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(24): 5277.
- [4] 高如意. 蒲地蓝消炎口服液治疗小儿肺胃实热证急性咽喉炎的临床研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [5] 王诗恒, 秦培洁, 刘剑锋, 等. 蒲地蓝口服液联合西药治疗手足口病的系统评价[J]. 世界中医药, 2021, 16(8): 1231.
- [6] 蔡永艳, 闫志新, 伊文霞, 等. 蒲地蓝消炎口服液治疗儿童急性上呼吸道感染的疗效观察与安全性评价[J]. 云南中医学院学报, 2017, 40(6): 59.
- [7] 王蓉. 蒲地蓝消炎口服液对小儿风热感冒的临床疗效观察[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [8] 刘华一, 张滨, 姜立根. 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌 63 例[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(18): 1780.
- [9] 杨挡, 姜梦华, 封亮, 等. 基于中药口服液体制剂不良口感综合分析的蒲地蓝消炎口服液顺应性改善研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(18): 4316.
- [10] 杨挡, 封亮, 刘俊, 等. 基于物料性质表征技术的蒲地蓝消炎口服液儿童用药顺应性改善研究[J]. 世界中医药, 2020, 15(15): 2221.
- [11] 刘鸽. 某院儿童患者口服中成药的用药现状及其处方用药分析[J]. 抗感染药学, 2020, 17(1): 40.
- [12] 李学林, 张耀, 陈鹏举, 等. 基于口尝评价和电子舌评价的药物苦味叠加规律研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5134.
- [13] 李学林, 康欢, 田亮玉, 等. 不同类型掩味剂对龙胆、苦参、穿心莲、莲子心 4 种中药水煎液的抑苦效能及抑苦规律评价[J]. 中草药, 2018, 49(22): 5280.
- [14] TIAN L X, LI J H, ZHANG L, et al. Discrimination of five species of *Panax* genus and their geographical origin using electronic tongue combined with chemometrics[J]. World J Tradit Chin Med, 2021, 7(1): 104.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 26.
- [16] 袁文月, 乔国桂, 王雷. 三氯蔗糖特性与应用探讨[J]. 食品安全导刊, 2019(24): 78.
- [17] 刘瑞新, 王艳丽, 田亮玉, 等. 基于口尝法和电子舌法的多类苦味抑制剂对盐酸小檗碱的抑苦效能及抑苦规律研究[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(3): 208.
- [18] 姜梦华, 李超, 朱法根, 等. 基于抗炎活性的蒲地蓝消炎口服液质量标志物的辨识[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(18): 4299.
- [19] WANG Z B, MA Y, LIU H, et al. Simultaneous Determination and pharmacokinetics of tetrandrine, fangchinoline, and cyclanoline in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry after oral administration of stephaniae tetrandrae radix extract[J]. World J Tradit Chin Med, 2021, 7(1): 130.
- [20] 吴飞, 赵春草, 冯怡, 等. 中药口服制剂矫味研究的探讨[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(8): 893.
- [21] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[责任编辑 孔晶晶]