

基于药效作用值的双黄连系列制剂再评价研究

刘 钱¹, 张文文¹, 姚运秀³, 李 彬², 彭晓宇², 曾 立², 刘 涛^{2*}

1. 成都大学 四川抗菌素工业研究所, 四川 成都 610106

2. 成都大学药学与生物工程学院, 四川 成都 610106

3. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530001

摘要:目的 以药效作用值为指标,对双黄连口服液、双黄连片剂及双黄连颗粒药效进行再评价。方法 测定并计算双黄连口服液、双黄连片剂及双黄连颗粒药效作用值,并采用经典的抗炎、解热及体外抑菌药效模型对这3种制剂药效进行验证。结果 双黄连口服液、双黄连片剂及双黄连颗粒抗炎药效作用值分别为2.80、3.57、2.66 mg,解热药效作用值分别为9.59、14.86、13.42 mg,抗菌药效作用值分别为996.72、2 011.64、1 691.98 mg,表明双黄连片剂抗炎作用、解热及抗菌作用最强,体内外药效研究也表明双黄连片剂在抗炎、解热及抗菌作用方面较其他2种剂型显著。结论 双黄连3种制剂的药效实验验证结果与其药效作用值预测结果一致,药效作用值可作为双黄连系列制剂药效作用再评价研究的指标。

关键词:双黄连系列制剂;药效作用值;抗炎;解热;抗菌;再评价

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:0253-2670(2019)04-0903-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.04.017

Re-evaluation of Shuanghuanglian series preparations based on pharmacodynamics action value

LIU Qian¹, ZHANG Wen-wen¹, YAO Yun-xiu³, LI Bin², PENG Xiao-yu², ZENG Li², LIU Tao²

1. Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610106, China

2. College of Pharmacy and Biotechnology Industry, Chengdu University, Chengdu 610106, China

3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

Abstract: Objective To re-evaluate the pharmacodynamics of Shuanghuanglian Oral Liquid, Shuanghuanglian Tablet, and Shuanghuanglian Granules with the index of pharmacodynamics action value. **Methods** The pharmacodynamics action values of Shuanghuanglian Oral Liquid, Shuanghuanglian Tablet, and Shuanghuanglian Granules were determined and calculated. And the classical models of anti-inflammatory, antipyretic and antibacterial *in vitro* were used to verify the effect of these three preparations. **Results** The pharmacodynamics action values of anti-inflammatory effect of Shuanghuanglian Oral Liquid, Shuanghuanglian Tablet, and Shuanghuanglian Granules were 2.80, 3.57, and 2.66 mg, respectively; The pharmacodynamics action values of antipyretic effect were 9.59, 14.86, and 13.42 mg respectively; The pharmacodynamics action values of antibacterial effect were 996.72, 2 011.64, and 1 691.98 mg respectively, which indicated that Shuanghuanglian Tablet had the strongest anti-inflammatory, antipyretic, and antibacterial effect, and the results of pharmacodynamics *in vivo* and *in vitro* studies also showed that Shuanghuanglian Tablet had better anti-inflammatory, antipyretic, and antibacterial effects than the other two preparations. **Conclusion** In this study, the pharmacodynamic test verification results of these three preparations were consistent with the predicted results of pharmacodynamics action value. Therefore, the pharmacodynamics action value can be used as an index to re-evaluate the effect of Shuanghuanglian series preparations.

Key words: Shuanghuanglian series preparation; pharmacodynamics action value; anti-inflammatory; antipyretic; antibacterial; re-evaluation

双黄连系列制剂处方由金银花、黄芩、连翘3品种有双黄连口服液、双黄连片剂、双黄连颗粒及种药配伍而成,《中国药典》2015年版一部收录的双黄连栓等^[1]。双黄连口服液、双黄连片剂、双黄

收稿日期:2018-06-13

基金项目:四川省科技厅2018年科技项目(2018ZR0107);四川省科技厅2018年科技项目(2018TJPT0049)

作者简介:刘 钱(1995—),在读研究生。Tel:18215681720 E-mail:liu_qian77@163.com

*通信作者 刘 涛(1976—),博士,研究员级高级工程师,主要从事中成药新药开发及再评价工作。

Tel:13378118375 E-mail:liutao0578@sina.com

连颗粒等品种虽然处方相同,但在工艺生产上有明显差异,其中所含的化学成分或有效成分可能不一样,但其标示功能主治均为“疏风解表,清热解毒的功效,用于外感风热所致的感冒,症见发热、咳嗽、咽痛,以及上呼吸道感染、急性支气管炎、急性扁桃腺炎、轻型肺炎等”^[2],其合理性有待评价。目前,中成药的质量标准多以化学成分的量测定为核心指标,但由于中成药成分复杂性,化学成分定量难以体现药物的临床效果。本课题组前期提出中成药的“药效作用值”来表征中成药的临床有效性^[3],所谓药效作用值是指结合药物中化学成分的量 and 临床的不同药效作用,通过权重系数来进行综合计算所得到的值。本课题组前期对双黄连系列制剂的物质基础及成分含量的研究结果表明,双黄连系列制剂中“药效作用值”的量不同,在临床上可能的药效作用各有侧重,故本研究通过药效作用值对双黄连系列制剂进行再评价,为其临床合理使用提供参考。

1 材料

1.1 仪器

FA2004 分析电子天平,上海良平仪器仪表有限公司;P230 II 型高效液相色谱仪,大连依利特分析仪器有限公司;YB5001B 游标卡尺,卡夫威尔实业有限公司;KD-112 电子体温计,东莞市黄江百绿电子厂;HS-3120 超声波清洗器,天津恒奥科技发展有限公司;XFS-280MB 手提式蒸汽灭菌锅,浙江新丰医疗器械有限公司;JJ-CJ-2FD 超净工作台,苏州金净净化设备有限公司;DH 系列电热恒温培养箱,西安禾普生物科技有限公司;麦氏比浊管,温州市康泰生物科技有限公司。

1.2 动物

SPF 级昆明种小鼠,雌雄各半,SD 大鼠,雌雄各半,合格证号 SCXK(川)2015-030,均购自成都达硕科技有限公司。

1.3 药品与试剂

黄芩(批号 20180102)、金银花(批号 20180102)、连翘(批号 20180102)均购自成都市荷花池中药材市场,经成都大学刘涛研究员鉴定,分别为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花、木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vah 的干燥果实,且均符合《中国药典》2015 年版一部相关项下要求;二甲苯(批号 2016101301)、琼脂粉(批号

2017031301),成都市科隆化学品有限公司;阿司匹林泡腾片(批号 1708164),阿斯利康制药有限公司;双黄连胶囊(批号 161203),广东省惠州市中药厂有限公司;鸡蛋清(自制);2,4-二硝基酚(批号 J4361),成都西亚化工股份有限公司;阿莫西林(批号 170616),国药集团汕头金石制药有限公司;双黄连口服液(批号 20180206)、双黄连片(批号 20180224)、双黄连颗粒(批号 20180224),成都大学药学与生物工程学院中药新药研究及中成药质量再评价实验室依据《中国药典》2015 年版一部制得;牛肉膏(批号 20160303),北京双旋微生物培养基制品厂;蛋白胨(批号 20170716)-营养肉汤(批号 20170108),北京奥博星生物技术有限责任公司;氯化钠(批号 2A20171108CE3),四川久大制盐有限责任公司;大肠杆菌、金黄色葡萄球菌,由成都大学生物技术实验室提供。

2 方法与结果

2.1 样品制备

目前市场上出售的双黄连制剂有双黄连口服液、双黄连片剂、双黄连栓剂、双黄连颗粒、双黄连胶囊等,各个厂家的制备工艺参数有别,工艺规程有异,为避免相同的制剂在不同厂家由于其生产环境、原药材来源、设备设施各异等因素导致在药效方面的差异,为减少实验误差,本实验未购买已上市中成药作为样品,而是取黄芩 187.5 g、金银花 187.5 g 及连翘 375.0 g,按照《中国药典》2015 年版一部相应品种项目的工艺参数,分别制得双黄连口服液(批号 20180206,含生药量 1.50 g/mL)、双黄连片(批号 20180224,含生药量 6.15 g/g)及双黄连颗粒(批号 20180224,含生药量 5.80 g/g)。

2.2 药效作用值的测定

2.2.1 双黄连系列制剂中绿原酸、黄芩苷、连翘苷含量测定 采用 HPLC 法测定双黄连系列制剂中绿原酸、黄芩苷、连翘苷的含量,色谱条件参考《中国药典》2015 年版一部对应项下含量测定方法。测定结果见表 1。

2.2.2 双黄连系列制剂指标成分每日用量 在双黄连口服液、双黄连片及双黄连颗粒的现行质量标准中,3 种制剂的定量测定成分均为黄芩苷、绿原酸及连翘苷,故选取了上述 3 种成分的含量作为表征双黄连系列制剂的主要药效作用特点。金银花、黄芩及连翘中主要有效成分分别为绿原酸^[4-5]、黄芩苷^[6-7]及连翘苷^[8-9],其有效成分在药效上起主要作用,本

表 1 双黄连系列制剂中主要成分含量

Table 1 Content of main components in Shuanghuanglian series preparations

制剂	绿原酸	黄芩苷	连翘苷
双黄连口服液	11.02 mg·mL ⁻¹	23.40 mg·mL ⁻¹	1.84 mg·mL ⁻¹
双黄连片	27.60 mg·g ⁻¹	219.17 mg·g ⁻¹	2.39 mg·g ⁻¹
双黄连颗粒	33.83 mg·g ⁻¹	168.94 mg·g ⁻¹	4.45 mg·g ⁻¹

实验主要根据绿原酸、黄芩苷、连翘苷的含量以及每日给药量计算其成分每日用量，本实验抗炎药效采用二甲苯致小鼠耳肿胀与鸡蛋清致小鼠足跖肿胀 2 个经典模型来进行实验，解热药效采用 2,4-二硝基酚致大鼠发热的经典模型来进行实验，体外抗菌研究采用牛津杯法测定双黄连系列制剂对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌抑菌作用，故要比较药效作用值与药效关系需将每日用量分别折算为小鼠每日用量、大鼠每日用量及临床用量，具体见表 2~4。

2.2.3 药效作用值计算 据文献报道，黄芩苷以抗

表 2 双黄连系列制剂指标成分小鼠每日用量

Table 2 Daily dosage of index components Shuanghuanglian series preparations in mice

组别	每日用量/mg		
	黄芩苷	绿原酸	连翘苷
双黄连口服液	5.62	2.64	0.44
双黄连片	12.83	1.62	0.14
双黄连颗粒	10.94	2.10	0.28

表 3 双黄连系列制剂指标成分大鼠每日用量

Table 3 Daily dosage of index components Shuanghuanglian series preparations in rats

组别	每日用量/mg		
	黄芩苷	绿原酸	连翘苷
双黄连口服液	28.08	13.22	2.21
双黄连片	64.13	8.08	0.70
双黄连颗粒	52.44	10.50	1.38

表 4 双黄连系列制剂指标成分抗菌每日用量

Table 4 Daily dosage of index components of Shuanghuanglian series preparations in antibacterial

组别	每日用量/mg		
	黄芩苷	绿原酸	连翘苷
双黄连口服液	1 404.00	660.96	110.64
双黄连片	3 206.46	403.85	34.97
双黄连颗粒	2 621.95	525.00	69.06

菌作用为主，抗炎、解热作用次之^[10-13]，绿原酸以抗炎作用为主，抗菌、解热作用次之^[14-16]，连翘苷以解热作用为主，抗菌、抗炎作用次之^[17-18]。根据药效确定权重分别为抗菌作用：黄芩苷、绿原酸、连翘苷为 6:2:2，抗炎作用：黄芩苷、绿原酸、连翘苷为 2:6:2，解热作用：黄芩苷、绿原酸、连翘苷为 2:2:6。根据上述权重，结合每日用量，分别计算出 3 种制剂在抗炎、解热及抑菌方面的药效作用值，具体按如下公式计算。

$$E=A \times M_a+B \times M_b+C \times M_c+\dots+N \times M_n$$

E 为药效作用值 (mg); A, B, C, ……，N 为药物中的 A, B, C, ……，N 成分的每日用量 (mg); M_a 为药物在发挥某一药效作用时，A 成分的贡献率，且 M_a+M_b+M_c+…+M_n=100%

如表 5 所示，3 种制剂中，双黄连片抗菌、抗炎及解热药效作用值最大，故其抗菌、抗炎及解热药效最强；双黄连口服液抗菌及解热药效作用值最小，故其抗菌、解热药效最弱。

表 5 双黄连系列制剂指标成分每日用量各药效作用值

Table 5 Pharmacodynamics' action value of daily dosage of Shuanghuanglian preparations

组别	药效作用值/mg		
	抗菌	抗炎	解热
双黄连口服液	996.72	2.80	9.59
双黄连片	2 011.64	3.57	14.86
双黄连颗粒	1 691.98	2.66	13.42

2.3 药效实验验证

2.3.1 抗炎实验

(1) 二甲苯致小鼠耳肿胀实验：SPF 级昆明种小鼠 60 只，体质量 18~22 g，购进后饲养 2 d 使其适应环境，随机分为 6 组，每组 10 只，雌雄各半，分开饲养，即对照（生理盐水）组、阿司匹林（660 mg/kg）组、双黄连胶囊（960 mg/kg）组、双黄连口服液（12 mL/kg）组、双黄连片剂（2 880 mg/kg）组、双黄连颗粒（3 120 mg/kg）组^[19]（根据《中国

药典》2015 年版一部，双黄连口服液含生药量 1.5 g/mL，一次服用 20 mL，每日服用 3 次，则成人每日用量为 60 mL，相当于服用生药量 90 g；同理双黄连胶囊、片剂及颗粒成人每日生药用量同为 90 g。本实验双黄连各制剂剂量相当于临床等效量，各组均 ig 给药，给药体积 12 mL/kg，连续给药 3 d，于末次给药 30 min 后于小鼠右耳均匀涂上 0.05 mL 二甲苯^[20-21]，10 min 后脱颈处死小鼠，用手术剪剪下双耳后，直径 5 mm 打孔器小鼠同一位置打下一耳片，右耳质量与左耳质量的差值为肿胀度。

(2) 鸡蛋清致小鼠足跖肿胀实验：小鼠分组及处理同上。每只小鼠右后足趾同一部位划一清晰标记线，并在给药前用游标卡尺测定小鼠右后足跖厚度；同上给药，连续给药 3 d，末次给药 30 min 后

注射 0.05 mL 10%鸡蛋清致敏^[22]，分别测定致敏后 30、60、90 min 足跖厚度，致敏前后右后足跖厚度差值即为肿胀度^[23]。

抗炎实验结果见表 6，在二甲苯致小鼠耳肿胀实验中，与对照组比较，阿司匹林与双黄连片剂能显著降低二甲苯致小鼠耳肿胀度 ($P < 0.05$)，其余各药均对二甲苯致小鼠耳肿胀影响较小 ($P > 0.05$)。与阿司匹林组比较，双黄连口服液组及双黄连颗粒组小鼠耳肿胀度差异显著 ($P < 0.05$)，双黄连片剂与阿司匹林药效相当 ($P > 0.05$)^[24-25]。结合双黄连制剂的抗炎作用药效作用值，结果表明双黄连片在降低二甲苯致小鼠耳肿胀度方面的作用强于双黄连口服液与双黄连颗粒。

鸡蛋清致小鼠足跖肿胀实验中，与对照组比较，

表 6 双黄连系列制剂抗炎作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Anti-inflammatory effects of Shuanghuanglian series preparations ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg	足跖肿胀度/mm		
			30 min	60 min	90 min
对照	—	5.75 ± 2.10 [#]	0.90 ± 0.33 ^{##}	0.21 ± 0.22 [#]	0.29 ± 0.27
阿司匹林	660	2.10 ± 1.85 [*]	0.29 ± 0.15 ^{**}	0.22 ± 0.08 [*]	0.12 ± 0.20
双黄连胶囊	960	3.21 ± 1.73	0.35 ± 0.24 ^{**}	0.26 ± 0.16	0.30 ± 0.19
双黄连口服液	12 mL·kg ⁻¹	4.27 ± 2.99 [#]	0.39 ± 0.19 ^{**}	0.16 ± 0.16 ^{##}	0.26 ± 0.19
双黄连片剂	2 880	5.09 ± 2.06 [*]	0.35 ± 0.12 ^{**}	0.30 ± 0.16	0.19 ± 0.17
双黄连颗粒	3 120	4.16 ± 2.22 [#]	0.48 ± 0.16 ^{**#}	0.33 ± 0.12	0.27 ± 0.27

与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ；与阿司匹林组比较：[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ，下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs Aspirin group, same as below

致敏后 30 min 各组小鼠足跖肿胀度显著降低 ($P < 0.01$)，致敏后 60 min 阿司匹林组小鼠足跖肿胀度显著降低 ($P < 0.05$)，致敏后 90 min 各组小鼠足跖肿胀度均无显著差异 ($P > 0.05$)。与阿司匹林组比较，致敏 30 min 双黄连片药效与阿司匹林相当 ($P > 0.05$)。结合双黄连制剂的抗炎作用药效作用值，结果表明双黄连片在降低鸡蛋清致小鼠足跖肿胀度的作用方面优于双黄连口服液与双黄连颗粒。

2.3.2 解热实验 SD 大鼠 60 只，购进后饲养 2 d 使其适应环境，随机分为 6 组，每组 10 只，雌雄各半，分开饲养，即对照组、阿司匹林 (330 mg/kg) 组、双黄连胶囊 (480 mg/kg) 组、双黄连口服液 (6 mL/kg) 组、双黄连片剂 (1 440 mg/kg) 组、双黄连颗粒 (1 560 mg/kg) 组。各组均 ig 给药，给药体积 6 mL/kg，给药前用电子体温计测定大鼠肛温，连续测定 2 次 (前后时间差 30 min)，取 2 次测定的体温平均值作为基础体温，选取 2 次温差不超过

0.5 °C 的大鼠作为实验大鼠，即体温 36.5~38.5 °C 的大鼠^[26-29]；连续给药 5 d，末次给药 30 min 后大鼠 sc 20 mg/mL^[30-31]的 2,4-二硝基酚 0.2 mL，注射后分别测定 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 大鼠肛温，并记录体温变化值 (体温变化值 = 致热后体温 - 给药前体温)^[32-33]。

解热实验结果见表 7，与对照组比较，致热后 0.5 h 双黄连口服液能显著减低 2,4-二硝基酚致大鼠发热的影响 ($P < 0.01$)，在 1.5、3.0 h 双黄连片对 2,4-二硝基致大鼠发热有显著降低作用 ($P < 0.05$ 、0.01)。与阿司匹林组比较，双黄连片与阿司匹林药效相当 ($P > 0.05$)，双黄连口服液只有在 0.5 h 时表现出极好的药效，0.5 h 后药效不如阿司匹林好 ($P > 0.05$)。结合双黄连系列制剂解热药效作用值：双黄连片 > 双黄连颗粒 > 双黄连口服液。因此，研究结果表明，双黄连片对 2,4-二硝基酚致大鼠发热的解热的作用强于双黄连口服液与双黄连颗粒。

表 7 双黄连系列制剂对 2,4-二硝基酚致大鼠发热的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 7 Effect of Shuanghuanglian series preparations on rat fever caused by dinitrophenol ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	致热后体温变化值/°C					
		0.5 h	1.0 h	1.5 h	2.0 h	2.5 h	3.0 h
对照	—	0.91±0.68	0.68±0.59	0.79±0.55 [#]	0.66±0.59 [#]	0.68±0.50	0.78±0.46
阿司匹林	330	-0.13±1.49 [*]	0.67±0.61	1.02±0.67 [*]	0.81±0.49 [*]	0.77±0.51 [*]	0.34±0.59 [*]
双黄连胶囊	480	0.96±1.53 ^{**}	0.14±1.11	0.26±0.88 [#]	-0.01±0.69 ^{###}	0.97±0.51 [*]	0.78±0.51
双黄连口服液	6 mL·kg ⁻¹	0.61±0.23 ^{**#}	0.78±0.39 ^{*#}	0.90±0.43 ^{###}	0.88±0.30 [#]	0.78±0.38	0.88±0.29
双黄连片剂	1 440	0.31±0.22	0.44±0.39	0.57±0.61 [*]	0.60±0.57	0.61±0.44 ^{**}	0.60±0.68 [*]
双黄连颗粒	1 560	0.17±0.36	0.50±0.53	0.68±0.39	0.54±0.46	0.47±0.52	-0.01±0.80

2.3.3 抗菌实验 用酒精灼烧后的接种环挑取适量活化后大肠杆菌及金黄色葡萄球菌于无菌蒸馏水中摇匀,与麦氏比浊管对比,配制浓度约 1.5×10^8 CFU/mL 的菌液^[34];取阿莫西林约 0.5 g (精密称定为 0.503 2 g),使其溶于适量无菌蒸馏水中并定容至 50 mL,混匀后移取 1 mL 稀释定容至 10 mL,得 1 mg/mL 的对照品溶液备用。

预先活化大肠杆菌,接种环挑取适量活化后的大肠杆菌于无菌蒸馏水中混匀与麦氏比浊管对比选出菌液浓度约在 1.5×10^8 CFU/mL,设阿莫西林(10.064 mg/mL)组、双黄连胶囊(1 500 mg/mL)组、双黄连口服液(1 500 mg/mL)组、双黄连片剂(1 500 mg/mL)组、双黄连颗粒(1 499 mg/mL)组,每组设 3 个平行组,于每个培养皿中加入 20 mL 营养琼脂培养基及上述菌液 0.2 mL,在水平面上迅速混匀,待培养基凝固后,采用牛津杯法^[35-36],将 6 个牛津杯垂直置于培养基表面,待其自然陷入培养基后,在对应的组别牛津杯中滴加相应药液至满而不溢出(约 240 μ L),完成后平放于 37 °C 温箱中培养 24 h 观察结果,用数显游标卡尺测量抑菌圈直径。抑菌圈直径取 3 个平行组结果的平均值。

用试管二倍稀释法,测定双黄连系列制剂对大

肠杆菌及金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(MIC)^[37]。测得结果双黄连口服液、双黄连颗粒及双黄连片的 MIC 均为原药液质量浓度,即生药质量浓度为 1.5 g/mL。

抑菌效果判定标准根据 2010 年 NCCLS 公布的标准,阿莫西林对大肠杆菌的抑菌圈直径大于或等于 18 mm 者判定为敏感,小于或等于 13 mm 为耐药,阿莫西林对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径大于或等于 29 mm 者判定为敏感,小于或等于 28 mm 为耐药,由于 NCCLS 缺少中药的判断标准,故参照抗生素标准。

双黄连系列制剂抗菌效果见表 8。双黄连系列制剂对大肠杆菌药效表现均较敏感,双黄连片抑制效果较其他制剂强,抗菌效果:双黄连片>双黄连口服液>双黄连颗粒。双黄连片抗菌效果与其抗菌药效作用值一致,但双黄连口服液与双黄连颗粒效果相反,可能是因为菌种不同导致结果有偏差。双黄连口服液对金黄色葡萄球菌抑菌效果较差,其余制剂均有抑制金黄色葡萄球菌的作用且都表现为较敏感,其中双黄连片抑菌圈最大,抑菌效果较其他制剂强。抑菌效果:双黄连片>双黄连颗粒>双黄连口服液。

表 8 双黄连系列制剂体外抑菌效果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Inhibitory effect of Shuanghuanglian series preparations on *Escherichia coli in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药物	ρ /(mg·mL ⁻¹)	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
		抑菌圈直径/mm	抑菌效果	抑菌圈直径/mm	抑菌效果
阿莫西林	10.064	18.87±0.19	敏感	29.19±0.17	敏感
双黄连胶囊	1 500	16.14±1.12	较敏感	12.56±3.09	较敏感
双黄连口服液	1 500	16.97±0.99	较敏感	8.94±2.67	耐药
双黄连片剂	1 500	17.12±0.63	较敏感	19.94±0.07	较敏感
双黄连颗粒	1 499	15.27±0.33	较敏感	18.26±0.73	较敏感

3 讨论

目前,一些不同剂型的中成药,处方虽然相同,但生产工艺参数甚至工艺路线完全不同(如复方丹参片与复方丹参滴丸),但其标示的功能主治完全一致,其合理性有待再评价。中成药再评价研究目前有以化学成分、药效作用及临床安全性和有效性作为指标进行评价,但由于中成药成分复杂性,化学成分检测虽然简单,种类和量难以体现药物的临床安全性和有效性,药效作用及临床评价虽然能对药物的临床安全性和有效性进行评价,但其研究时间长,费用高,不易推行。本课题组认为,结合药物所含化学成分的“量”和该成分临床表现的“效”,可用“药效作用值”这一指标对中成药质量进行评价,从而作为间接表征中成药化学成分“量”与临床药“效”的一个工具。

中药中所含成分比较复杂,无法具体以其中一种或几种成分对其功效成分进行表征。本研究是基于“双黄连”系列制剂中的化学成分及其主要药效来进行研究,在双黄口服液、双黄连片及双黄连颗粒的现行质量标准中,3种制剂的定量测定成分均为黄芩苷、绿原酸及连翘苷,故选取了上述3种成分的含量作为表征双黄连系列制剂的功效特点的指标。在后续研究中,将对木犀草苷、连翘酯苷A等成分进行相应研究。

本研究采用同一批原料药材,据《中国药典》2015年版一部双黄连系列制剂项下制法制备3种剂型的样品,减少了因样品制备过程中非剂型因素对实验结果的影响。双黄连片、双黄连口服液及双黄连颗粒的生产工艺主要差别在于:双黄连口服液的制备过程会经过多次调节pH值,而pH值的大小及调节pH值的次数可能会影响黄芩苷的转移率^[38],从而影响其药效作用,导致双黄连口服液抗炎效果弱、体外抑菌作用差;双黄连口服液除了黄芩苷中间体制备时需要滤过以外,合并黄芩中间体与银翘醇液后到成品还需滤过2次,为保证口服液澄清晰度,采用了滤过的工艺,但为了保证成型的需要而除去的物质是否是非有效物质有待进一步研究。从生产工艺可知,双黄连片的生产工艺为银翘醇液浓缩为相对密度为1.34~1.40(60℃)稠膏,银翘稠膏的密度可能会影响其减压干燥时间,对其有效成分有一定影响,从而药效不同,双黄连片抗炎、解热及体外抗菌作用均最强,因此其药效作用值也与其他2个品种有一定的差别。

本课题体内药效实验所用样品均采用中剂量进行给药。主要因为本研究一种模型有3个制剂样品,如果每种样品设置3种剂量,则每个模型需要11组动物进行实验,操作困难实验误差较大,反而不能反应剂型的作用。

权重系数是指在一个领域中,对目标值起权衡作用的数值。在多指标综合评价中,合理解决指标权重系数是一个关键问题,确定各个评价因素的权重系数是科学、合理地作出评价的关键。权重系数的比例对实验结果有一定的影响,根据各成分的主要药效学,对双黄连系列制剂的抗菌、抗炎及解热作用采用不同的权重系数计算了药效作用值,结果表明,不同制剂在上述药效作用中具有不同的可利用量,本研究权重系数为本课题组根据双黄连系列制剂中各化学成分的文献报道药效作用确定的,而不同化学成分的主要药效作用确定将是确定权重系数数值的一个难点,其准确的客观依据有待积累数据,深入研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 郭洁, 宋殿荣. 双黄连的药理作用和临床应用及不良反应研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(21): 161-163.
- [3] 朱红梅, 刘涛, 李鹏程, 等. 双黄连系列制剂制备工艺再评价 [J]. 中成药, 2017, 39(5): 1087-1090.
- [4] 任美玲. 金银花有效成分提取技术研究 [D]. 新乡: 河南师范大学, 2017.
- [5] 仇劲. 金银花生长发育和加工过程中的成分变化研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [6] 陈伊铃. 黄芩及天麻有效成分提取工艺优化和抗菌活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [7] 唐梅. 黄芩有效部位结肠靶向制剂的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [8] 叶良红. 连翘有效成分的提取工艺和药代动力学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [9] 董珂. 连翘有效成分的提取分离和肠道菌群代谢研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [10] 张建春, 张华, 施瑛, 等. 黄芩苷的研究近况 [J]. 时珍国医国药, 2006, 16(3): 247-249.
- [11] 文敏, 李雪, 付守廷, 等. 黄芩苷药理作用研究新进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(2): 158-161.
- [12] 李倩楠, 葛晓群. 黄芩苷及黄芩复方制剂解热机制研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2008, 35(5): 342-345.
- [13] 周祉延, 牛凤菊. 双黄连制剂在口腔医学的应用及研究进展 [J]. 中医临床研究, 2014, 6(24): 130-132.

- [14] 邓良, 袁华, 喻宗沅. 绿原酸的研究进展 [J]. 化学与生物工程, 2005, 22(7): 4-6.
- [15] 刘颖, 郭明晔, 白根本. 绿原酸的研究进展 [J]. 中药材, 2012, 35(7): 1180-1185.
- [16] 高锦明, 张鞍灵, 赵晓明, 等. 绿原酸分布, 提取与生物活性研究综述 [J]. 西北林学院学报, 1999, 14(2): 73-82.
- [17] 李双, 王东强, 李志军. 连翘主要有效成分的提取与药理作用 [J]. 黑龙江中医药, 2011, 40(2): 46-48.
- [18] 王建明, 张楚文. 双黄连制剂中连翘的含量与退热作用相关性 [J]. 中国药师, 2010, 13(10): 1405-1407.
- [19] 朱社敏, 李君安, 施存元. 双黄连滴丸的主要药效学研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2001, 18(2): 120-122.
- [20] 徐凯建, 王跃红, 胡君茹, 等. 双黄连气雾剂与注射剂的药效学及临床应用研究 [J]. 中国中药杂志, 1994(11): 689-692.
- [21] 王娅杰, 杨庆, 李玉洁, 等. 小儿清瘟解热颗粒的解热抗炎镇痛作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(22): 116-121.
- [22] 雷玲, 李兴平, 白筱璐, 等. 金银花抗内毒素、解热、抗炎作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 115-117.
- [23] 刘涛, 彭晓凤, 刘翠, 等. 乳腺康注射液的药效学研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(9): 2822-2828.
- [24] 田原. 松果菊苷诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化及作用机制研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2015.
- [25] 康施瑶. 异嗪皮啶的镇静催眠作用研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [26] 宋艳芹, 杜源, 孙雪, 等. 安儿宁颗粒解热抗炎镇痛作用 [J]. 医药导报, 2013, 32(10): 1300-1302.
- [27] 黄良胜. 清开灵注射液解热抗炎作用的实验研究 [J]. 临床合理用药杂志, 2012, 5(3): 6-7.
- [28] 陈慧慧, 张敏, 虞慧娟, 等. 柴胡和黄芩配伍解热抗炎作用研究 [J]. 中成药, 2011, 33(9): 1596-1598.
- [29] 李兴平, 白筱璐, 雷玲, 等. 金银花的解热作用 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2): 37-40.
- [30] 宋建华. 金银花解热抗炎作用的实验研究 [J]. 重庆医学, 2011, 40(25): 2552-2553.
- [31] 张富庚, 胡人杰, 姜卉. 2,4-二硝基酚所致小鼠发热模型的建立及阳性解热药物的选择 [J]. 天津药学, 2002, 14(1): 29-31.
- [32] 刘亚欧, 白筱璐, 余悦, 等. 柴黄制剂的解热抗炎作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2008, 24(2): 22-24.
- [33] 陈慧慧, 张敏, 虞慧娟, 等. 柴胡和黄芩配伍解热抗炎作用研究 [J]. 中成药, 2011, 33(9): 1596-1598.
- [34] 田乐, 周伟, 狄留庆, 等. 双黄连口服液中主要活性成分体外抗菌效应相关性研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(1): 89-91.
- [35] 陈百泉, 孙慧玲, 许启泰. 双黄连含片的抗菌作用 [J]. 河南大学学报: 医学科学版, 2002, 21(3): 22-23, 28.
- [36] 汪业菊. 秦皮素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制研究 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2012.
- [37] 李国庆, 胡辛欣, 李聪然, 等. 注射用双黄连的体外抗菌活性研究 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 84-85.
- [38] 刘涛, 郭晓恒, 吴春梅, 等. 肺毒清颗粒中有效成分的含量测定及转移率考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 54-56.