

## [制剂]

# 辛鹅鼻用温敏原位凝胶的制备

袁佳敏<sup>1</sup>, 黄星雨<sup>1</sup>, 周宇婷<sup>1</sup>, 杨琼梁<sup>2\*</sup>, 颜红<sup>1\*</sup>

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 浏阳市中医医院药剂科, 湖南浏阳 410300)

**摘要:** 目的 制备辛鹅鼻用温敏原位凝胶。方法 提取辛夷、鹅不食草挥发油后, 制备复方提取物。以基质种类与用量、溶剂(1, 2-丙二醇)与增溶剂(吐温-80)用量为影响因素, 胶凝温度为评价指标, 单因素试验优化制备工艺。然后, 考察凝胶pH值、黏度、体外释药行为。结果 最佳条件为2%复方提取物, 0.4%混合挥发油, 基质15%泊洛沙姆407(P407)和1%泊洛沙姆188(P188), 15%1, 2-丙二醇, 1%吐温-80, 促渗透剂1, 2-丙二醇, 防腐剂0.04%苯扎溴铵, 胶凝温度( $33.5 \pm 0.06$ )℃, pH值 $6.1 \pm 0.4$ , 黏度平均增加速率( $32 \sim 34$ )℃ $2484 \text{ mPa} \cdot \text{s}/\text{℃}$ 。凝胶体外释药行为符合Higuchi方程, 药物释放率与凝胶溶蚀率之间的相关性较高。结论 辛鹅鼻用温敏原位凝胶制备工艺简单, pH值、胶凝温度、黏度适宜, 具有一定缓释作用, 可满足鼻腔局部用药需求。

**关键词:** 辛夷; 鹅不食草; 鼻用温敏原位凝胶; 制备; 单因素试验

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2018)12-2656-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.12.009

## Preparation of *Magnoliae Flos-Centipeda Herba* thermosensitive nasal *in situ* gels

YUAN Jia-min<sup>1</sup>, HUANG Xing-yu<sup>1</sup>, ZHOU Yu-ting<sup>1</sup>, YANG Qiong-liang<sup>2\*</sup>, YAN Hong<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Department of Pharmacy, Liuyang Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Liuyang 410300, China)

**ABSTRACT: AIM** To prepare *Magnoliae Flos-Centipeda Herba* thermosensitive nasal *in situ* gels. **METHODS**

The compound extract containing volatile oils was made from *Magnoliae Flos* and *Centipeda Herba*. With type and consumption of matrix, consumption of solvent (1, 2-propanediol) and solubilizer (Tween-80) as influencing factors, gelation temperature as an evaluation index, single factor test was applied to optimizing the preparation process. Subsequently the gels had their pH value, viscosity and *in vitro* drug release behaviors investigated.

**RESULTS** The optimial conditions were determined to be 2% compound extract, 0.4% mixed volatile oils, 15% Poloxamer407 (P407) and 1% Poloxamer188 (P188) as matrices, 15% 1, 2-propanediol, 1% Tween-80, 1, 2-propanediol as a penetration enhancer, 0.04% benzalkonium bromide, the gelation temperature was ( $33.5 \pm 0.06$ )℃ with the pH value of  $6.1 \pm 0.4$  and average viscosity increase rate of  $2484 \text{ mPa} \cdot \text{s}/\text{℃}$ . The *in vitro* drug release behaviors of the gels accorded with Higuchi equation, and there existed a high correlation between rates of drug release and gels erosion. **CONCLUSION** The simple preparation process for *Magnoliae Flos-Centipeda Herba* thermosensitive nasal *in situ* gels produces an ideal topical nasal cavity medication in terms of appropriate pH value, gelation temperature, viscosity, and a certain sustained release.

**KEY WORDS:** *Magnoliae Flos*; *Centipeda Herba*; thermosensitive nasal *in situ* gels; preparation; single factor test

收稿日期: 2018-05-13

基金项目: 湖南省教育厅科学研究项目(17K068); 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室(湖南省科技厅平台建设项目)(2016TP1017)

作者简介: 袁佳敏(1994—), 女, 硕士生, 从事天然产物及药物新剂型研究。E-mail: 390681384@qq.com

\*通信作者: 杨琼梁(1992—), 女, 初级中药师, 从事中药新剂型及新制剂研究。E-mail: 598789133@qq.com

颜红(1978—), 女, 副教授, 硕士生导师, 从事活性物质及药物新剂型研究。E-mail: yh8632@126.com

辛鹅鼻用温敏原位凝胶来源于临床经验方<sup>[1]</sup>，由辛夷与鹅不食草2味药材组成，两者均有发散风寒、通鼻窍之功效，临床主要用于治疗风寒头痛、鼻塞流涕、鼻鼽、鼻渊，效果显著。目前，临床给药方式大多为滴鼻液滴鼻，但由于鼻纤毛对外来异物的快速清除作用，使得药物在鼻黏膜滞留时间短，生物利用度较低。

温敏原位凝胶剂<sup>[2]</sup>是一种具有临界相转变温度的原位凝胶，它在临界相转变温度附近会由液体状态突变为半固体状态，可使凝胶黏附于鼻黏膜表面，延长药物在鼻腔内滞留时间，从而提高药效，并且具有工艺简单、生物相容性好、刺激性小等优点。

本实验以胶凝温度为指标，通过单因素试验对辛鹅鼻用温敏原位凝胶的制备工艺进行优化，并考察其pH值、黏度、体外释药行为等，以期为该制剂进一步药理、毒理研究奠定基础，同时也为其他传统处方新剂型的制备工艺研究提供参考。

## 1 材料

RE-52A 旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器厂）；AR11401C 电子天平（奥豪斯国际贸易有限公司）；ZNCL-G 磁力搅拌器（河南爱博特科技发展有限公司）；HH-600 三用恒温水浴锅（金坛市神科仪器厂）；精密温度计（冀州市耀华器械仪表厂）；Waters 高效液相色谱仪、Breeze 2 色谱工作站（美国 Waters 公司）；NDJ-5S 旋转黏度计（上海平轩科学仪器有限公司）；YP601N 电子天平（上海恒平科学仪器有限公司）；CHA-S 气浴恒温振荡器（常州国华电器有限公司）；D36 mm 透析袋（北京鼎国生物技术有限责任公司）；DZF-6020 真空干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）；20~200、200~1 000 μL 可调式移液器〔大龙兴创实验仪器（北京）有限公司〕。

辛夷（产地河南）、鹅不食草（产地湖南）购自北京同仁堂长沙韶山南路店，经湖南中医药大学药学院刘塔斯教授鉴定分别为木兰科植物望春花 *Magnolia biondii* Pamp. 的干燥花蕾、菊科植物鹅不食草 *Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers. 的干燥全草。泊洛沙姆 407、188（德国 BASF 公司）；1, 2-丙二醇（国药集团化学试剂有限公司）；吐温-80（成都市科龙化工试剂厂）；苯扎溴铵（上海金山经纬化工有限公司）；木兰脂素对照品（中国食品药品检定研究院，批号 110882-201607）。甲醇、乙腈为色谱纯（美国斯百全公

司）；氯化钠（湖南汇虹试剂有限公司）；氯化钾（天津市恒兴化学试剂有限公司）；氯化钙（国药集团化学试剂有限公司）；碳酸氢钠（天津市科密欧化学试剂有限公司）；生理盐水（湖南科伦制药有限公司）；重蒸水（自制）。

## 2 方法与结果

2.1 挥发油提取及复方提取物制备 按处方量称取辛夷、鹅不食草，粉碎至粗粉，加8倍量水浸泡3 h 后水蒸气蒸馏法提取4 h，即得挥发油，冷藏备用。水提液弃去，药渣晾干，加入10倍量95%乙醇，加热回流提取3次，每次1 h，合并滤液，减压回收乙醇，加入等体积乙酸乙酯萃取3次，合并回收乙酸乙酯，60 ℃下真空干燥，即得复方提取物。

### 2.2 制备工艺优化

2.2.1 胶凝温度测定 采用倾斜法<sup>[3]</sup>。取约5 mL 凝胶置于小西林瓶中，插入精密温度计（精确到0.1 ℃），再将其放入冰水浴中，开启水浴锅使水浴持续缓慢升温，每升高1 ℃恒温10 min，每15 s 倾斜一次西林瓶，倾斜角度约45 ℃，待凝胶不再流动时记录西林瓶中温度计的读数，即为胶凝温度。每个样品重复测量3次，取平均值。

2.2.2 基质种类与用量筛选 非离子表面活性剂泊洛沙姆 407 (P407) 为目前国内外温敏原位凝胶常用基质，有着无毒、无刺激性、无致敏性、不溶血、化学性质稳定的优点<sup>[4]</sup>。但相关研究表明，单用 P407 时往往不能达到理想合适的胶凝温度，常需加入一定比例泊洛沙姆 188 (P188)。

本实验通过冷法<sup>[5]</sup>配液制备空白温敏原位凝胶，按“2.2.1”项下方法测定胶凝温度，考察13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21% P407 对其影响，发现随着 P407 用量增加，胶凝温度随之降低，13%、14% P407 的胶凝温度均超过了40 ℃，但单用 P407 并不能达到鼻腔所需的温度〔(33 ± 1) ℃〕，这与文献报道相符<sup>[6-7]</sup>。因此，在此基础上选择 15%、16%、18% P407，并考察 1%、2%、3% P188 对胶凝温度的调节作用，使所得空白温敏原位凝胶在 25 ℃以下为流动的液体，而在接近鼻腔温度时为凝胶，发现相比 P407 空白温敏原位凝胶，加入 P188 后可使胶凝温度升高。综合以上结果及生产成本，选择 15% P407、1% P188 作为基质。

2.2.3 溶解方法筛选 本实验选择 1, 2-丙二醇作为溶剂溶解复方提取物，该溶剂广泛应用于药物制

剂中,能与水、醇及多种有机溶剂混溶,无刺激性,并且相对无毒,常温下稳定<sup>[8-9]</sup>。但前期预实验结果表明,仅用1,2-丙二醇不能完全溶解复方提取物,故本实验又添加了增溶剂。吐温-80作为广泛使用的非离子型增溶剂,其对热稳定,易溶于水、乙醇及多种有机溶剂,增溶作用不受溶液pH值影响,同时溶血作用小,故本实验选择其作为增

溶剂<sup>[9]</sup>。

取复方提取物适量,加入15%1,2-丙二醇、1%吐温-80,充分搅拌后加水至全量,观察溶液性状。将提取物溶解性从高到低,溶液色泽从深到浅,澄清度从澄清到混浊按等级1~4排列,采用等级一致性检验筛选复方提取物溶解方法,结果见表1。

表1 溶解方法筛选结果

Tab. 1 Results of dissolution method screening

方法	考察指标			统计学分析	
	溶解性	色泽	澄清度	等级和 $R_i$	$R_i^2$
复方提取物+水	1	1	1	3	9
复方提取物+1,2-丙二醇	3	3	3	9	81
复方提取物+吐温-80	2	2	2	6	36
复方提取物+15%1,2-丙二醇+吐温-80	4	4	4	12	144

将表1数据代入公式 $S = \sum R_i^2 - \frac{(\sum R_i)^2}{n}$ 及 $\chi^2 = \frac{12S}{mn(n+1)}$ 中,本实验中 $n=4$ , $m=5$ ,得到 $S=45$ , $\chi^2=9$ ,同时 $v=3$ ,查表发现 $\chi^2_{0.05(3)}=7.81$ ,可知 $\chi^2 > \chi^2_{0.05(3)}$ , $P < 0.05$ ,检验结果具有统计学意义,可认为其等级有一致性倾向,即不同复方提取物溶解方法对溶解性、色泽、澄清度均有显著差异,并且以1,2-丙二醇为溶剂加入增溶剂吐温-80时,提取物溶解效果最好,等级和 $R_i$ 最大。

**2.2.4 溶剂用量筛选** 固定2%复方提取物、0.4%混合挥发油、15%P407、1%P188、1%吐温-80,考察10%、15%、20%、25%1,2-丙二醇对胶凝温度的影响。结果,加入10%1,2-丙二醇时,胶凝温度为 $(37.5 \pm 0.30)^\circ\text{C}$ ;加入15%1,2-丙二醇时,胶凝温度为 $(33.4 \pm 0.51)^\circ\text{C}$ ,与鼻腔生理温度接近,而且制剂黏度适中,相变快,适合鼻腔用药;加入20%、25%1,2-丙二醇时,制剂在常温下黏度较大,不适合鼻腔给药,故选择15%1,2-丙二醇作为溶剂。

**2.2.5 增溶剂用量筛选** 固定2%复方提取物、15%P407、1%P188、15%1,2-丙二醇、0.4%混合挥发油,考察1%、2%、3%吐温-80对胶凝温度的影响。结果,加入1%、2%、3%吐温-80后胶凝温度分别为 $(33.1 \pm 0.36)^\circ\text{C}$ 、 $(28.4 \pm 0.31)^\circ\text{C}$ 、 $(22.5 \pm 0.46)^\circ\text{C}$ ,故选择1%吐温-80作为增溶剂。

**2.2.6 促渗透剂、防腐剂种类筛选** 由于本实验所用溶剂1,2-丙二醇对皮肤具有渗透促进作用<sup>[10]</sup>,为简化操作,避免加入新的促渗透剂,故

直接选择该溶剂作为促渗透剂。另外,所得凝胶为水性凝胶,需加入防腐剂,由于所用增溶剂吐温-80可与常用的羟苯酯类防腐剂形成络合物,从而影响其抑菌活性,故本实验参考相关文献,选择季胺类广谱杀菌剂苯扎溴铵(0.04%)作为防腐剂。

**2.2.7 验证试验** 按上述优化工艺称取处方量2%复方提取物、0.4%混合挥发油、1%吐温-80、15%1,2-丙二醇、0.04%苯扎溴铵溶于重蒸水中,加入处方量15%P407、1%P188作为基质,补加重蒸水至总处方量,置于4℃冰箱中冷藏过夜,即得凝胶,平行3份,测得胶凝温度为 $(33.5 \pm 0.06)^\circ\text{C}$ ,RSD( $n=3$ )为0.17%,表明该工艺稳定可行。

### 2.3 凝胶质量评价

#### 2.3.1 木兰脂素含有量测定

**2.3.1.1 色谱条件** Hypersil ODS2 C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5.0 μm);流动相乙腈-水(33:67);体积流量1.0 mL/min;柱温35℃;检测波长278 nm;进样量6 μL。

**2.3.1.2 溶液制备** 对照品溶液:精密称取木兰脂素对照品适量,加甲醇制成每1 mL含该成分1.04 mg/mL的溶液,即得。

供试品溶液:精密称取凝胶2.0 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入20 mL甲醇,称定质量,浸泡30 min,超声(250 W、33 kHz)30 min,放冷,甲醇补足减失的质量,混匀过滤,取5 mL续滤液,甲醇定容至25 mL,0.45 μm微孔滤膜过滤,即得。

阴性对照溶液:按凝胶制备方法制备不含辛夷的阴性对照,按供试品溶液制备方法处理,即得。

2.3.1.3 系统适应性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性对照溶液各6  $\mu$ L，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图1。由图可知，木兰脂素与其相邻色谱峰的分离度均大于1.5，拖尾因子1.00~1.10，理论塔板数以各色谱峰计均在9 000以上。

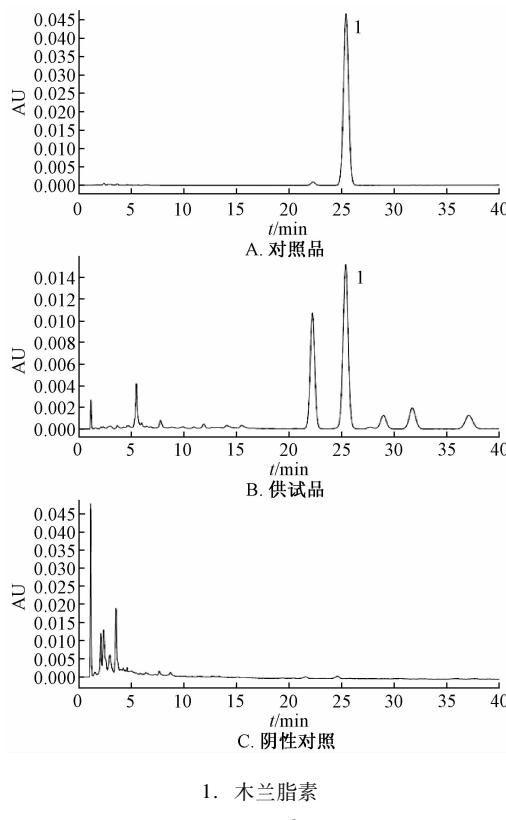


图1 木兰脂素 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of magnolin

2.3.1.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液适量，甲醇稀释成8.125、16.25、32.50、65.00、130.0、260.0  $\mu$ g/mL，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样6  $\mu$ L测定。以对照品质量浓度为横坐标(X)，峰面积积分值为纵坐标(Y)进行回归，得到回归方程为 $Y=3306.3X+2863.8(R^2=0.9992)$ ，在8.125~260  $\mu$ g/mL范围内线性关系良好。

2.3.1.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定6次，测得木兰脂素峰面积RSD为0.03%，表明仪器精密度良好。

2.3.1.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液，于0、2、4、6、8、12、24 h在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定，测得木兰脂素峰面积RSD为1.13%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.1.7 重复性试验 平行称取凝胶约2.0 g，共6份，按“2.3.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样6  $\mu$ L测定，测得木兰脂素含有量RSD为1.93%，表明该方法重复性良好。

2.3.1.8 加样回收率试验 精密称取样品(含4.38 mg/g 木兰脂素)6份，每份0.5 g，加入质量浓度已知的对照品溶液(1.04 mg/mL)2.0 mL，按“2.3.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，木兰脂素平均加样回收率为100.2%，RSD为1.6%。

2.3.1.9 样品含有量测定 取3批凝胶，按“2.3.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表2。

表2 木兰脂素含有量测定结果( $n=3$ )Tab. 2 Results of content determination of magnolin( $n=3$ )

批号	木兰脂素/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	平均值/( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/%
20170108	4.38	4.38	0.68
	4.35		
	4.41		
20170109	4.24	4.27	0.84
	4.31		
	4.26		
20170110	4.32	4.37	1.05
	4.41		
	4.38		

2.3.2 人工鼻液制备<sup>[11]</sup> 精密称取碳酸氢钠2.56 g、氯化钠7.91 g、氯化钙0.51 g、氯化钾3.68 g，适量重蒸馏水溶解后定容至1 000 mL，混匀，即得。

2.3.3 性状、pH值考察 3批凝胶为墨绿色较黏稠液体，pH值为 $6.1 \pm 0.4$ 。

2.3.4 黏度测定<sup>[12]</sup> 采用旋转式黏度计测定不同温度下凝胶黏度，平行3次，取平均值，绘制凝胶黏度-温度曲线<sup>[13]</sup>，见图2。由图可知，凝胶黏度在33~34 °C内增速明显加快，表明胶凝温度应在33 °C左右，这与之前结果一致；在32~34 °C内，黏度平均增加速率为2 484 (MPa · s)/°C，表明常温下凝胶溶液在给药后可迅速于鼻黏膜上形成凝胶。

2.3.5 体外释药行为考察

2.3.5.1 透析袋法<sup>[14]</sup> 取约1 g凝胶于已活化好的透析袋中，透析袋放入带盖锥形瓶内，加入新鲜配置的100 mL人工鼻液作为释放介质，锥形瓶置于恒温磁力搅拌器上，保持水浴温度(34 ±

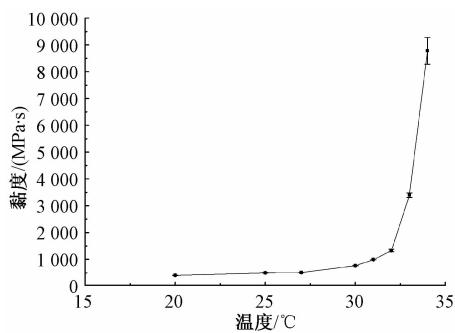


图2 凝胶黏度-温度曲线

Fig. 2 Viscosity-temperature curve for gels

0.5)℃, 转速300 r/min, 依次于1/3、2/3、1、4/3、5/3、2、3、4、6、8、12、24、28、32、36、48 h各取样5 mL, 同时补加同温度同体积人工鼻液, 0.45 μm微孔滤膜过滤, 在“2.3.1.1”项色谱条件下进样测定, 按下式计算累积释放率。以时间为横坐标( $t$ ), 累积释放率为纵坐标( $Q_n$ )绘制累积释放曲线, 并将其分别按零级、一级、Higuchi方程进行拟合, 结果见图3、表3。

$$Q_n = \frac{V_0 C_n + V \sum_{i=1}^{n-1} C_i}{Q_0} \times 100\%$$

$$(Q_1 = \frac{V_0 C_1}{Q_0} \times 100\%, i, n = 1, 2, 3, \dots)$$

其中,  $Q_0$ 为木兰脂素含有量,  $V_0$ 为释放介质体积(100 mL),  $V$ 为每次取样体积(5 mL),  $C_i$ 为药物质量浓度(μg/mL),  $i$ 、 $n$ 均为取样次数。

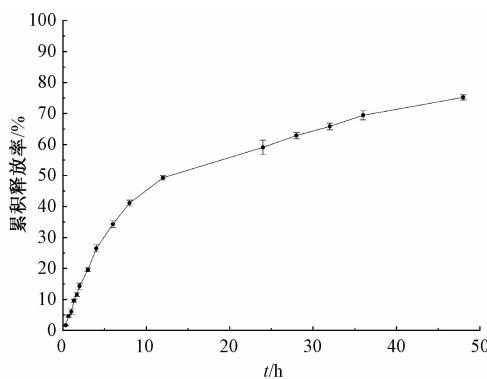


图3 凝胶体外释药曲线

Fig. 3 In vitro drug release curve for gels

表3 方程拟合结果

Tab. 3 Results of equation fitting

模型	释药方程	$R^2$
零级方程	$Q_n = 1.5715t + 14.00$	0.865 8
一级方程	$\ln(100 - Q_n) = -0.0293t + 4.4733$	0.952 5
Higuchi方程	$Q_n = 12.115t^{1/2} - 1.5401$	0.968 2

由此可知, 采用透析袋法时, 凝胶在前12 h释放很快, 累积释放率基本能达到49%, 随后可持续稳定释药, 释放时间可达到48 h以上, 具有良好的缓释作用, 释放曲线与Higuchi方程的拟合度最好。

2.3.5.2 无膜溶出法<sup>[15]</sup> 取10 mL塑料离心管, 称重为 $W_0$ , 向离心管中缓慢加入2 mL凝胶, 于34 ℃烘箱中预热10 min, 使其完全形成凝胶, 称重为 $W_1$ , 缓慢加入已超声脱气处理的人工鼻液2 mL, 放入34 ℃气浴恒温振荡器中, 振荡频率为225 r/min, 每隔20 min倒出上层液体, 立即擦干离心管内壁水珠, 称离心管重为 $W_t$ , 缓慢补加同温度人工鼻液2 mL, 放入气浴恒温振荡器中继续上述操作, 直至离心管内溶液全部倒出, 相邻时间点间质量差异即为凝胶溶蚀量 $Q$ , 计算公式为 $Q = \frac{W_1 - W_t}{W_1 - W_0} \times 100\%$ 。然后, 每个时间点取出的人工鼻液样品经0.45 μm微孔滤膜过滤, 按“2.3.1”项下方法测定木兰脂素含有量, 按下式计算各时间点药物累积释放率( $Q_n$ )。

$$Q_n = \frac{V \sum_{i=1}^{n-1} C_i}{Q_0} \times 100\%$$

其中,  $Q_0$ 为木兰脂素含有量,  $V$ 为每次取样体积(2 mL),  $C_i$ 为药物质量浓度(μg/mL),  $i$ 、 $n$ 均为取样次数。

然后, 将累积溶蚀率、累积释放率分别对时间绘制曲线(图4), 并以累积溶蚀率为横坐标( $X$ ), 累积释放率为纵坐标( $Y$ ), 进一步考察凝胶溶蚀与药物释放的相关性, 得到其回归方程为 $Y = 0.7339X - 1.2537$  ( $R^2 = 0.9978$ )。以上结果表明, 药物释放与凝胶溶蚀是同时进行的, 药物释放速率主要受到凝胶溶蚀的控制。

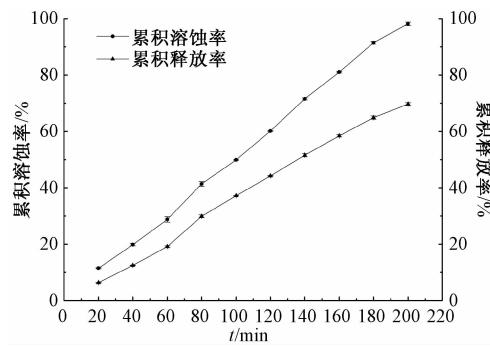


图4 凝胶体外溶蚀、释药曲线

Fig. 4 In vitro erosion and drug release curves for gels

## 3 讨论

目前,胶凝温度测定方法有搅拌子法<sup>[16-17]</sup>、黏度法<sup>[18]</sup>、倾斜法<sup>[19]</sup>等,前期预实验采用搅拌子法,发现不同搅拌子、搅拌速度测定同一样品时结果有所不同;比较同一样品在同样环境下分别采用搅拌子法和倾斜法测定,结果也有差异,以倾斜法更低,可能是由于半固体凝胶形成时黏度还不足以使搅拌子立即停止转动;黏度法测定结果较准确,但实际操作容易受旋转黏度计转子及转速的影响,操作较繁琐。因此,本实验选择倾斜法测定胶凝温度,该方法操作简便,结果直观,但操作过程中温度应缓慢升高,因为升温越快,胶凝温度越高。

本实验所用凝胶基质P407是假塑性流体,随着温度升高由低温状态下的液体状态转变为半固体凝胶,温度升高到胶凝温度左右时形成凝胶。图2显示,凝胶黏度随着温度升高而增大,到达33℃左右时急剧上升,此时为制剂开始由液态向固态转变的过程,直至34℃凝胶全部形成。目前研究者认为,P407凝胶的形成是随着温度升高在溶液中生成的球状胶束互相缠结和堆砌,从而发生胶凝<sup>[20]</sup>。本实验发现,1,2-丙二醇和吐温-80的加入可使P407胶凝温度下降,其中前者所含羟基可能与P407发生相互作用而促进P407分子缠结和脱水,从而导致胶凝温度降低<sup>[21]</sup>;后者降低P407的原理目前暂无相关报道,仍需进一步考察。

实验发现,当加入辛鹅复方提取物和辅料时,如果直接将其与P407、P188混合后再加入水,会使溶解速度明显变慢,这是因为高分子物质的引入增大了溶液黏度。因此,先将复方提取物和辅料溶于水,再加入P407、P188,最后加蒸馏水至全量,4℃下冷藏24 h,这样可加快实验进度。

本实验共采用2种方法考察辛鹅鼻用温敏原位凝胶的体外释药行为,发现透析袋法释药过程中同时存在溶蚀和扩散,而无膜溶出法则能反映凝胶在鼻黏液中的溶蚀情况<sup>[22]</sup>。再将释放曲线分别按零级、一级、Higuchi方程进行拟合<sup>[23]</sup>,发现释放曲线与Higuchi方程的拟合度最好( $R^2=0.9682$ )。另外,无膜溶出法测得凝胶累积溶蚀率与药物累积释放率具有良好的相关性( $R^2=0.9978$ ),表明药物释放主要受凝胶的溶蚀控制。

综上所述,本实验对辛鹅鼻用温敏原位凝胶的制备工艺进行了较为系统研究,发现该制剂pH值、胶凝温度、黏度适宜,常温下呈液体,预期给药后可迅速在鼻黏膜上形成凝胶,并且体外释药具

有一定的缓释作用,可延长药物在鼻腔内滞留的时间,是一种应用前景良好的新型鼻用制剂。今后,将进行辛鹅鼻用温敏原位凝胶的离体鼻黏膜渗透实验,并开展对鼻纤毛毒副作用、初步药效学的考察,以期为其进一步药理、毒理研究提供实验依据。

## 参考文献:

- [1] 广东省科技成果展览会医疗卫生馆. 中草药处方选编 [M]. 广州: 广东省科技成果展览会医疗卫生馆, 1970: 52.
- [2] 谢伟杰, 张永萍, 徐剑, 等. 原位凝胶新型给药系统的现代研究进展 [J]. 黔南民族医专学报, 2015, 28(1): 9-13.
- [3] 王志钢, 王艳姣, 李慧, 等. 丹葛明目即型凝胶的制备研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(1): 46-51.
- [4] Li J F, Gao M Y, Wang H M, et al. Optimization and *in vitro* characterization of resveratrol-loaded poloxamer 403/407 mixed micelles [J]. *Acta Pharm Sin*, 2015, 50(8): 1045-1051.
- [5] Tirkaksiz F, Robinson J R. Rheological, mucoadhesive and release properties of pluronic F-127 gel and pluronic F-127/poly-carbophil mixed gel systems [J]. *Pharmazie*, 2005, 60(7): 518-523.
- [6] 赵宁, 王黎, 李伟泽, 等. 酸枣仁鼻用温敏凝胶的制备研究 [J]. 应用化工, 2016, 45(7): 1290-1292, 1295.
- [7] 王丽娟, 朱照静. 泊洛沙姆407温度敏感型原位凝胶的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(4): 245-248.
- [8] 郑占虎, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用 [M]. 北京: 学苑出版社, 1997.
- [9] 罗明生, 高天惠. 药剂辅料大全 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1993.
- [10] 邓小丽, 秦冬梅, 陈文. 星点设计优化丙酸氟替卡松鼻用温敏凝胶处方并对其体外释放及滞留性进行考察 [J]. 石河子大学学报 (自然科学版), 2017, 35(1): 119-123.
- [11] Carl fors J, Edsman K, Petersson R, et al. Rheological evaluation of gelrite *in situ* gels for ophthalmic use [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1998, 6(2): 113-119.
- [12] 宋涛. 利巴韦林鼻用温敏凝胶的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [13] 刘姗姗, 王志君, 刘继勇, 等. 复方黄柏温敏凝胶的制备和连翘苷含量测定 [J]. 药学服务与研究, 2015, 15(4): 269-272.
- [14] 刘晨, 任宗芬, 李建理, 等. 复方薄荷脑微乳原位凝胶剂的评价 [J]. 中成药, 2015, 37(12): 2632-2636.
- [15] 武荣华, 朱晴, 杨外庚, 等. 马来酸噻吗洛尔原位凝胶体外释放度与黏附力的研究 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(10): 1160-1164.
- [16] 郝吉福, 赵雪梅, 王建筑, 等. 温度敏感型盐酸小檗碱眼用原位凝胶的制备研究 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 550-555.
- [17] 刘铭佩, 朱恒, 王利. 复方双氯芬酸钠温敏型水凝胶的制备及质量控制 [J]. 中国药房, 2013, 24(9): 808-810.
- [18] 李奕诺, 赵宇, 王晓波, 等. 正交试验优化纳米雄黄温敏凝胶基质处方 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(8): 52-54.

- [19] 李 聰, 杨希之, 敖华飞, 等. 左氧氟沙星热敏型耳用凝胶的制备及其性能检测[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2012, 12(5): 285-288.
- [20] 宋 涛, 王东凯, 高 红, 等. 利巴韦林鼻用温敏凝胶热力学和流变学性质研究[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(8): 540-542.
- [21] 何 茹. 苍耳子散温敏凝胶鼻腔给药系统研究[D]. 成都: 四川大学, 2006.
- [22] 谢悦良, 范景辉, 丁劲松, 等. 川陈皮素温敏型鼻用原位凝胶体外释药行为研究[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(3): 189-192.
- [23] 张 冕, 万 芳. 盐酸川芎嗪眼用原位温敏凝胶的制备及体外释药特性研究[J]. 安徽医药, 2015, 19(7): 1237-1240.

## 地黄多糖超声提取工艺优化及其抗氧化活性

张骆琪<sup>1,2</sup>, 刘苏伟<sup>1</sup>, 王 飞<sup>2</sup>, 刘玉霞<sup>2</sup>, 鲁传涛<sup>2\*</sup>, 刘红彦<sup>2\*</sup>

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南农业科学院植物保护研究所, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 目的 优化地黄多糖超声提取工艺, 并评价其抗氧化活性。方法 在单因素试验基础上, 以料液比、提取时间、提取温度、醇沉浓度为影响因素, 多糖得率为评价指标, 正交试验优化超声提取工艺。然后, 考察分步醇沉(50%、70%、80%、90%乙醇, 相应部位分别命名为RGPS50、RGPS70、RGPS80、RGPS90)对6个品种中多糖含有量的影响, 以及多糖对DPPH自由基的清除作用。结果 最佳条件为料液比1:30, 提取时间100 min, 提取温度50℃, 醇沉浓度90%, 多糖得率7.75%。各品种中多糖含有量依次为85-5>星科>金九>沁怀>北京3号>怀丰。RGPS90中多糖含有量最高, 抗氧化活性最弱; RGPS80中多糖含有量相对较低, 抗氧化活性最强。结论 该方法稳定可靠, 可用于超声提取地黄多糖。不同品种、醇沉部位地黄中多糖含有量和抗氧化活性差异明显。

**关键词:** 地黄; 多糖; 超声提取; 抗氧化活性; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)12-2662-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.12.010

## Polysaccharides from *Rehmannia glutinosa*, their ultrasonic extraction process optimization and antioxidant activity

ZHANG Luo-qi<sup>1,2</sup>, LIU Su-wei<sup>1</sup>, WANG Fei<sup>2</sup>, LIU Yu-xia<sup>2</sup>, LU Chuan-tao<sup>2\*</sup>, LIU Hong-yan<sup>2\*</sup>

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Institute for Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**ABSTRACT: AIM** To optimize the ultrasonic extraction process for polysaccharides from *Rehmannia glutinosa* Libosch., and to evaluate the antioxidant activity. **METHODS** With solid-liquid ratio, extraction time, extraction temperature, ethanol precipitation concentration as influencing factors, polysaccharides yield as an evaluation index, orthogonal test was applied to optimizing the ultrasonic extraction process on the basis of single factor test. Subsequently the effects of stepwise ethanol precipitation (ethanol at concentrations of 50%, 70%, 80%, 90%, whose corresponding fractions were named as RGPS50, RGPS70, RGPS80, RGPS90, respectively) on the contents of six polysaccharides were investigated, then the scavenging effect of polysaccharides on DPPH free radical was detected. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 1:30 for solid-liquid ratio, 100 min for extraction time, 50℃ for extraction temperature, and 90% for ethanol precipitation concentration, the polysaccharides

收稿日期: 2018-09-03

基金项目: 国家中药材产业技术体系郑州综合实验站(CARS-21-12); 河南省科技攻关项目(172102310191)

作者简介: 张骆琪(1996—), 女, 硕士生, 从事中药材规范化种植研究。E-mail: 1811644062@qq.com

\*通信作者: 鲁传涛(1964—), 男, 硕士, 研究员, 从事中药材规范化种植与推广工作。E-mail: chuantaolu@qq.com

刘红彦(1964—), 男, 博士, 研究员, 从事中药材规范化种植研究。E-mail: liuh1219@qq.com