

- 行感冒邪在肺卫证74例疗效观察[J]. 中医杂志, 2020, 61(12): 1065-1068.
- [6] Chen S M, Wang J, Wang J Y, et al. Wnt/ β -catenin signaling pathway promotes abnormal activation of fibroblast-like synoviocytes and angiogenesis in rheumatoid arthritis and the intervention of Er Miao San[J]. *Phytomedicine*, 2023, 120: 155064.
- [7] Liu H D, Kong L, Cao D D, et al. Efficacy and mechanism of the Ermiao San series of formulas for rheumatoid arthritis based on Chinmedomics strategy[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155903.
- [8] 刘静淑, 岳进茹, 李玉彤, 等. 二妙散通过 $\alpha 7nAChR$ -JAK2/STAT3途径改善胶原诱导性关节炎大鼠炎症的免疫学机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3591-3599.
- [9] 谢翡翡, 卢晓莹, 何广铭, 等. 中药煮散的历史渊源、应用特点及现代化研究进展[J]. 中南药学, 2024, 22(1): 180-185.
- [10] 路立峰, 闫方杰, 胡高升. 中药煮散应用优势、质量控制、质量评价的研究进展[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1830-1833.
- [11] 刘月, 罗娟, 顾永哲, 等. 基于多主要成分含量测定的银翘散煮散与饮片煎煮过程比较研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(14): 3788-3797.
- [12] 蒋近近, 吴磊, 朱育凤, 等. 不同煎煮时间桑白皮汤煮散与汤剂的特征图谱及多指标成分含量比较[J]. 中国药房, 2023, 34(5): 565-568; 574.
- [13] 刘月, 顾永哲, 罗云, 等. 银翘散不同煎煮时间指纹图谱及对金黄色葡萄球菌抑菌活性的影响[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(24): 1981-1990.
- [14] 赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 等. 中药煎煮的化学反应机制研究现状[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 890-899.
- [15] 刘月, 顾永哲, 罗云, 等. 银翘散煮散与饮片煎煮过程挥发性成分蒸发规律比较研究[J]. 中草药, 2022, 53(10): 2991-2999.
- [16] 徐城, 孟令邦, 卢美琪, 等. 基于HS-GC-MS技术探讨不同炮制方法对苍术挥发性成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(16): 4427-4436.
- [17] 彭乐. 基于挥发性成分谱的苍术药材的质量比较[D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.
- [18] Fu X L, Zhou J, Tang W W, et al. Study on the compatibility effect and active constituents of *Atractylodis Rhizoma* in Ermiao Wan against acute gouty arthritis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114353.
- [19] Li J C, Rui X L, Xu L, et al. Enhanced therapeutic effect on colitis with powder formulations of Painong San associated with the promotion of intestinal adhesion and absorption[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 289: 115030.
- [20] 杨正腾, 王力宁, 张明, 等. 麻黄汤其饮片汤剂与煮散剂止咳和抗炎药效比较研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(4): 50-52.

冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶制备

文静, 牛俊淞, 吴玉珍, 邓婕, 李楠*

(成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川成都611137)

摘要: 目的 制备冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶。方法 测定川芎嗪在不同油相、乳化剂、助乳化剂中的平衡溶解度, 进行配伍实验, 绘制伪三元相图。以 K_m 值、油相占比、水相用量为影响因素, 粒径、PDI、饱和载药量为评价指标, 星点设计-响应面法优化处方。将载药纳米乳分散于卡波姆940凝胶基质中制备纳米乳凝胶, 考察其理化性质、体外释药和透皮吸收性能。结果 最佳处方为低共熔物、EL-40、1, 2-丙二醇、水比例3.31:6.16:1.56:88.97, 粒径、PDI、饱和载药量分别为37.85 nm、23.04、5.82 mg/g。所得纳米乳凝胶呈白色半固体, 平均pH值为 6.68 ± 0.07 , 黏度为 (289.69 ± 1.06) mPa·s, 体外释药符合Higuchi方程, 24 h内单位面积累积渗透量为 (2048.23 ± 55.6) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 分别是水凝胶、水溶液的3.72、1.21倍。结论 冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶满足制剂要求, 可实现原料药有效经皮递送。

关键词: 川芎嗪; 纳米乳凝胶; 低共熔物; 冰片; 薄荷脑; 制备

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)08-2522-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.006

收稿日期: 2024-10-24

基金项目: 四川省中医药管理局-中医药基础研究课题(2023MS467); “杏林学者”学科人才科研提升计划-乡村振兴专项(XCZX2022007)

作者简介: 文静(1998—), 女, 硕士生, 研究方向为中药制剂新技术及其新药开发。E-mail: 981804860@qq.com

*通信作者: 李楠(1981—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药制剂新技术及其新药开发。E-mail: 55743198@qq.com

Preparation of borneol-menthol eutectic mixture-loaded nanoemulsion gel of tetramethylpyrazine

WEN Jing, NIU Jun-song, WU Yu-zhen, DENG Jie, LI Nan*

(State Key Laboratory for Southwestern Characteristic Chinese Medicine Resources; School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare the borneol-menthol eutectic mixture-loaded nanoemulsion gel of tetramethylpyrazine. **METHODS** The equilibrium solubilities of tetramethylpyrazine in different oil phases, emulsifiers and co-emulsifiers were determined, after which compatibility experiment was performed, and pseudo-ternary phase diagram was drawn. With K_m value, oil phase proportion and water phase consumption as influencing factors, particle size, PDI and saturated drug loading as evaluation indices, the formulation was optimized by central composite design-response surface method. The drug-loaded nanoemulsion was dispersed into carbomer 940 gel matrix to prepare nanoemulsion gel, then the physicochemical properties, *in vitro* drug release and transdermal absorption properties were investigated. **RESULTS** The optimal formulation was determined to be 3.31 : 6.16 : 1.56 : 88.97 for eutectic mixture-EL-40-1, 2-propylene glycol-water ratio, the particle size, PDI and saturated drug loading were 37.85 nm, 23.04 and 5.82 mg/g, respectively. The obtained white, semi-solid nanoemulsion gel demonstrated the average pH value and viscosity of 6.68 ± 0.07 and (289.69 ± 1.06) mPa · s, respectively, whose *in vitro* drug release accorded with Higuchi equation, and the accumulative permeability per unit area was $(2\ 048.23 \pm 55.6)$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ within 24 h, which were 3.72 and 1.21 times higher than those of hydrogel and aqueous solution, respectively. **CONCLUSION** The borneol-menthol eutectic mixture-loaded nanoemulsion gel of tetramethylpyrazine meets preparation requirements, thus can achieve the effective transdermal delivery of raw medicine.

KEY WORDS: tetramethylpyrazine; nanoemulsion gel; eutectic mixture; borneol; menthol; preparation

川芎嗪是川芎中的特征性生物碱,具有抗炎、抗氧化、改善血液循环等药理作用^[1],用于治疗心脑血管疾病、肾损伤、肿瘤等慢性疾病^[2],但该成分物理性质不稳定,在水中的溶解度较差,临床上主要应用其盐酸盐和磷酸盐的口服、注射制剂^[3],并且静脉给药不方便,患者依从性差,而口服给药体内代谢快,半衰期短^[4]。经皮给药系统可避免首过效应和血药浓度波动,具有灵活给药、安全性高等优点^[5],故基于川芎嗪自身特点开发出上述剂型具有重要研究意义和临床前景。

纳米乳是由油相、水相、乳化剂和助乳化剂组成的给药体系,可提高药物溶解度、稳定性和生物利用度^[6]。水凝胶是由水、高分子聚合物、增稠剂等交联形成的三维网络^[7],其中纳米乳凝胶既克服纳米乳粘附性、延展性差等问题,又具有高度的可控性和生物相容性^[8-9]。低共熔物是指2种或多种成分在低于任一组分熔融温度下产生的混合体系^[10],可作为增溶剂、促渗剂和药物载体^[11]。本

实验将低共熔物作为油相引入纳米乳体系,通过高分子水性凝胶基质的物理交联制备冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶,以期为该制剂后续开发利用提供基础。

1 材料

1.1 仪器 UV-6100 紫外可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);MS-H340-S4 LCD 磁力搅拌器(美国 Scilogex 公司);KQ-300VDB 涡旋混合器(上海驰唐实业有限公司);KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BSM-220.4 电子分析天平(上海卓竟电子科技有限公司);SHA-C 水浴恒温振荡器(常州金坛良友仪器有限公司);TP-6 智能透皮试验仪(天津精拓仪器科技有限公司);2-16R 高速冷冻离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);BH200 显微镜(舜宇光学科技有限公司);ZEN3690 激光粒度仪(英国 Malvern 公司);JEM-1400FLASH 透射电子显微镜(日本电子株式会社)。

1.2 试剂 川芎嗪原料药(纯度 $\geq 95\%$, 成都普思生物科技股份有限公司, 批号 PS210322-03)。冰片(四川省青神康华制药有限公司, 批号 210519); 薄荷脑(上海瑞永生物技术有限公司, 批号 20221205); 卡波姆 940(批号 20231010)、1, 2-丙二醇(批号 20230827)、辛酸甘油酯(GTCC)、肉豆蔻酸异丙酯(IPM)、氢化蓖麻油(CO-40)、甘油(山东优索化工科技有限公司); 油酸、橄榄油、油酸乙酯、聚山梨酯-80(Tween-80)、甲醇(成都市科隆化学品有限公司); 蓖麻油聚氧乙烯醚(EL-40, 江苏省海安石油化工厂, 批号 23130238); 聚氧乙烯氢化蓖麻油(RH-40, 德国 BASF 公司); 辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol)、单辛酸丙二醇酯(Capryol[®] 90)、二乙二醇单乙醚(Transcutol[®] PHP) [嘉法狮(上海)贸易有限公司]。

1.3 动物 体质量(200 \pm 20 g)的 SPF 级 SD 雄性大鼠(北京斯贝福生物技术有限公司), 动物生产许可证号 SCXK(京) 2019-0010。动物实验经斯贝福(北京)生物技术有限公司实验动物伦理委员会批准(批准号 AWE2024011001)。

2 方法与结果

2.1 低共熔物制备 冰片和薄荷脑均具有促进透皮吸收的作用, 其低共熔物能增加川芎嗪的溶解度^[12], 故本实验将两者分别以 4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4 比例置于研钵中, 在 40~50 $^{\circ}$ C 下充分研磨, 在显微镜下观察其是否互溶。结果, 两者比例为 1:2、1:3、1:4 时低共熔溶液澄清, 未发现颗粒或结晶, 室温放置 72 h 后无沉淀产生^[13], 故选择其作为油相。

2.2 溶解度考察 采用饱和载药量法^[14], 精密称取不同油相、乳化剂、助乳化剂(表 1)各 1 g, 置于 EP 管中, 加入过量川芎嗪原料药, 涡旋 5 min, 放到恒温水浴振荡器上, 37 $^{\circ}$ C、240 r/min 振荡 72 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 除去未溶解药物, 吸取上清液, 甲醇稀释, 在 280 nm 波长处测定吸光度, 计算溶解度, 结果见表 1。由此可知, 川芎嗪在低共熔物中的溶解度明显高于在传统油相中的, 冰片、薄荷脑比例为 1:2 时最大; RH-40、甘油对川芎嗪的溶解度最小, 其余均较大。

2.3 乳化剂、助乳化剂筛选 将低共熔物(冰片、薄荷脑比例 1:2)与溶解度较大的乳化剂分别按 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5 比例混合均匀, 取静置后未出现分层的混合物 0.1 g, 在 200

表 1 溶解度测定结果 ($n=3$)

Tab. 1 Results for solubility determination ($n=3$)

辅料类型	辅料名称	溶解度/(mg·g ⁻¹)	
油相	冰片-薄荷脑低共熔物(1:2)	95.047	
	冰片-薄荷脑低共熔物(1:3)	92.204	
	冰片-薄荷脑低共熔物(1:4)	89.492	
	GTCC	74.999	
	IPM	83.082	
	油酸	79.109	
	橄榄油	47.468	
	油酸乙酯	87.485	
	乳化剂	Tween-80	8.116
		CO-40	7.036
RH-40		6.448	
EL-40		7.131	
Labrasol		7.061	
助乳化剂	Capryol [®] 90	11.532	
	甘油	4.745	
	1,2-丙二醇	9.131	
	Transcutol [®] PHP	9.578	

r/min、32 $^{\circ}$ C 条件下加到 10 mL 纯水中, 观察乳化情况。结果, 与 Tween80、Labrasol、CO-40 比较, 以 EL-40 为乳化剂时乳液更澄清, 透明度更高, 颗粒物更少。

随着油相用量增加, 体系澄清度和透明度下降, 当油相与 EL-40 比例为 5:5 时出现白色油滴, 故需加入助乳化剂来提高纳米乳稳定性。将 EL-40 与溶解度较大的助乳化剂以 K_m 值 2:1 涡旋后得到混合乳化剂 (S_{mix}), 后者与油相按不同比例混合均匀, 取 0.1 g 静置后未出现分层的混合物, 在 200 r/min、32 $^{\circ}$ C 条件下加到 10 mL 纯水中, 观察乳化情况。结果, 以 1, 2-丙二醇为助乳化剂时乳化效果最佳, 并且乳液更澄清, 透明度更高。

然后, 考察 1, 2-丙二醇对乳化体系短期稳定性的影响。结果, 未加入 1, 2-丙二醇时, 在油相与乳化剂比例 4:6 和 5:5 的乳化体系表面均有白色油滴; 放置 1 d 后, 出现颗粒聚集的不稳定现象, 乳液表面有大量白色颗粒, 轻微振摇后体系浑浊, 而加入 1, 2-丙二醇后, 乳化体系更均匀, 在油相与 S_{mix} 比例 1:9~5:5 的乳化体系表面均无白色油滴; 放置 1 d 后, 无颗粒聚集, 表明该助乳化剂能提高稳定性。

2.4 伪三元相图绘制 将 EL-40 与 1, 2-丙二醇分别以 1:1、2:1、3:1、4:1 比例混合均匀, 形成 S_{mix} , 将油相与后者分别按 1:9~9:1 比例混合均匀, 在 32 $^{\circ}$ C、200 r/min 条件下滴加纯水, 当体系先逐渐浑浊, 再变为澄清透明或呈淡蓝色乳光状态时记录加水量。将临界点时油相、 S_{mix} 、水占比作

为3个顶点,采用 Origin 2021 Pro 软件绘制伪三元相图,确定纳米乳成乳区域,计算绝对面积 S ,即成乳区域面积在伪三元相图总面积中所占的比例,结果见图1,可知 K_m 值为2时成乳区域(蓝色区域)绝对面积最大,表明处方组成最稳定。

2.5 处方优化 采用星点设计-响应面法。分别选择 K_m 值、油相占比 [油相/(油相+ S_{mix})]、水相用量作为自变量 A 、 B 、 C ,粒径、PDI、饱和载药量作为因变量 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 ^[15],因素水平见表2,结果见表3。

表2 星点设计-响应面法因素水平

Tab.2 Factors and levels for central composite design-response surface method

因素	水平				
	-1.732	-1	0	1	1.732
A K_m 值	1.318	2	3	4	4.682
B 油相占比/%	16.591	20	25	30	33.409
C 水相用量/%	50.379	60.19	74.58	88.97	98.781

表3 星点设计-响应面法设计与结果 ($n=3$)

Tab.3 Design and results for central composite design-response surface method ($n=3$)

试验号	A K_m 值	B 油相占比/%	C 水相用量/%	Y_1 粒径/nm	Y_2 PDI/%	Y_3 饱和载药量/($mg \cdot g^{-1}$)
1	4	20	60.19	30.32	63.9	14.80
2	3	25	74.58	28.02	35.7	8.43
3	2	20	60.19	36.84	45.1	10.96
4	4.68	25	74.58	59.02	33.0	8.22
5	4	30	60.19	132.10	44.0	16.44
6	3	25	74.58	23.42	30.2	7.26
7	3	25	74.58	28.45	31.9	7.13
8	4	30	88.97	36.33	23.9	6.19
9	3	25	74.58	48.71	32.4	7.18
10	2	30	88.97	40.75	23.1	5.79
11	3	25	74.58	24.36	25.9	7.10
12	3	33.41	74.58	122.10	30.7	12.60
13	2	30	60.19	140.32	42.1	12.66
14	3	25	98.78	13.03	25.7	2.59
15	2	20	88.97	22.10	25.6	4.21
16	1.32	25	74.58	102.77	22.1	7.21
17	3	25	50.38	78.56	58.6	20.21
18	4	20	88.97	16.71	31.7	4.81
19	3	25	74.58	30.42	32.7	6.71
20	3	16.59	74.58	16.73	38.7	9.72

通过 Design Expert 13 软件对表3数据分别进行多元线性、两因素相互作用、二项式或多项式模型非线性拟合处理,得方程分别为 $Y_1 = 30.90 - 7.19A + 30.81B - 24.45C - 0.09AB - 0.62AC - 20.87BC + 15.57A^2 + 11.51B^2 + 3.16C^2$ 、 $Y_2 = 31.39 + 3.36A - 3.42B - 10.70C - 2.77AB - 1.72AC + 1.58BC - 0.87A^2 +$

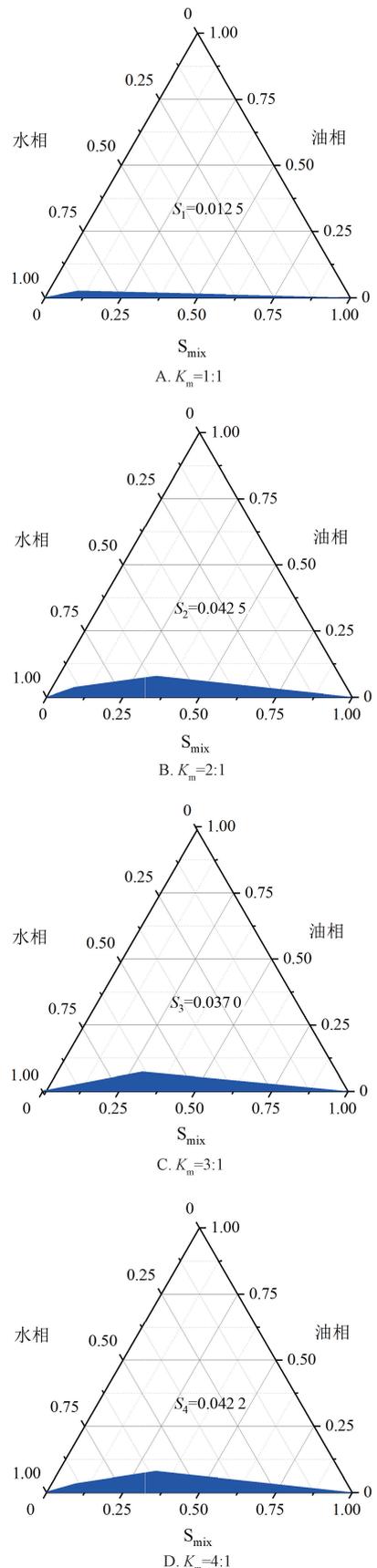


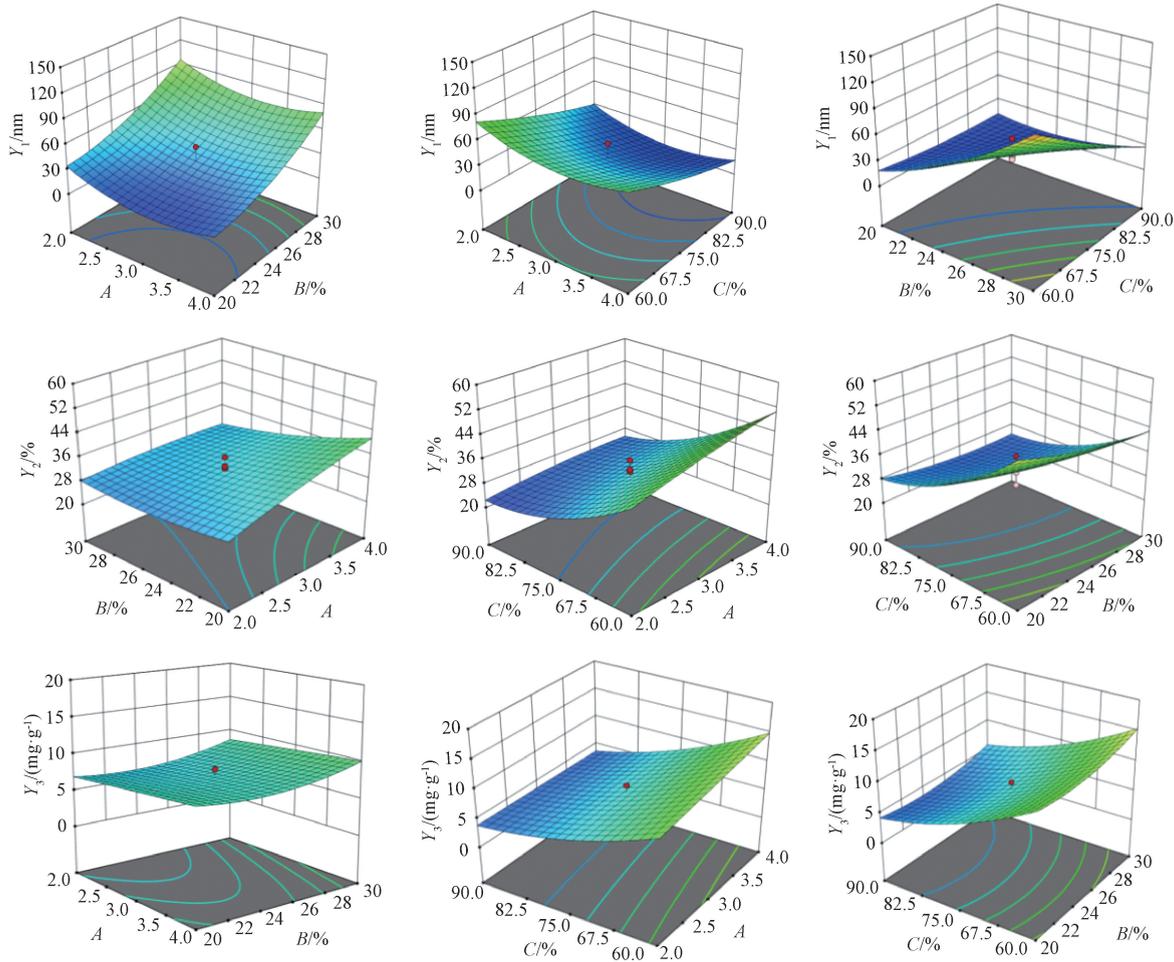
图1 不同 K_m 值下伪三元相图

Fig.1 Pseudo-ternary phase diagrams under different K_m values

$1.65B^2 + 4.29C^2$ 、 $Y_3 = 7.33 + 0.76A + 0.82B - 4.65C - 0.03AB - 0.83AC - 0.05BC - 0.02A^2 + 1.20B^2 + 1.28C^2$ 。方差分析结果显示，各因素对模型均有极显著影响 ($P < 0.01$)，并且失拟项不显著 ($P > 0.05$)， R^2 分别为 0.918 6、0.915 2、0.953 4，表明模型拟合度良好，可用于分析预测。

响应面分析见图 2，可知随着油相占比降低，粒径减小，PDI 先降后升，载药量升高；随着 K_m 值增加，粒径先减后增，PDI、饱和载药量升高；

随着水相用量增加，粒径减小，PDI、饱和载药量降低。以饱和载药量最大、平均粒径最小 (10~100 nm)、PDI 最小 (0.01~0.03) 为指标，得到最优处方为 K_m 值 3.908，油相占比 30%，水相用量 88.97%，即低共熔物、EL-40、1，2-丙二醇、水比例 3.31 : 6.16 : 1.56 : 88.97，粒径、PDI、饱和载药量分别为 37.85 nm、23.04%、5.82 mg/g。



注：A、B、C、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 分别为 K_m 值、油相占比、水相用量、粒径、PDI、饱和载药量。

图 2 各因素响应面图

Fig. 2 Response surface plots for various factors

按“2.5.3”项下优化处方制备 3 批空白纳米乳，测得平均粒径为 (36.41 ± 1.17) nm，PDI 为 0.22 ± 0.01 。精密称取 1 g，置于 EP 管中，加入过量原料药，涡旋 5 min，置于恒温水浴振荡器中，在 37 ℃、240 r/min 条件下振荡 72 h，5 000 r/min 离心 10 min，除去未溶解的药物，吸取上清液，甲醇稀释，在 280 nm 波长处测定吸光度，测得平均饱和载药量为 (5.66 ± 0.61) mg/g。另外，粒径、

PDI、饱和载药量实测值与预测值的偏差分别为 3.95%、4.10%、2.90%，表明该方法具有良好的预测性和重复性。

2.6 纳米乳凝胶制备

2.6.1 投药量筛选 为了减少使用剂量，应尽可能选择载药量大的纳米乳；为了防止药物过饱和和沉淀，选择饱和载药量的 90%，即 5.10 mg/g。分别设置投药量 1、2、3、4、5 mg/g，以纳米乳静置

1 d后形态、粒径、PDI 为指标, 结果见表 4, 可知随着投药量增加纳米乳颜色逐渐加深, 为 5 mg/g 时出现沉淀物; 为 4 mg/g 时形态良好, 仍保持澄清透明状, 静置后未出现相分离; 为 1~3 mg/g 时粒径、PDI 变化不明显, 故最终确定为 4 mg/g。

表 4 投药量对粒径、PDI 的影响 (n=3)

Tab. 4 Effects of dosage on particle size and PDI (n=3)

投药量/(mg·g ⁻¹)	粒径/nm	PDI
1	33.137	0.215
2	33.207	0.268
3	34.270	0.235
4	36.730	0.239
5	40.325	0.252

2.6.2 工艺流程 分别精密称取 0.331 g 低共熔物、0.615 g EL-40、0.157 g 1, 2-丙二醇、40 mg 原料药, 置于西林瓶中, 涡旋混合均匀, 在 800 r/min、32 °C 条件下逐滴加入 10 g 纯水, 持续搅拌 30 min, 即得纳米乳 (含药量为 4 mg/g)。精密称取 1.2 g 卡波姆 940, 加入 10 g 12% 甘油溶液, 溶胀过夜后搅拌混匀, 再加入 10 g 纳米乳, 搅拌混匀, 逐滴加入三乙醇胺, 调节 pH 值至 6~7^[16], 即得 (含药量为 2 mg/g)。

2.7 质量评价

2.7.1 外观性状 如图 3A 所示, 纳米乳凝胶为白色半固体, 表面光滑, 均匀细腻, 有光泽, 易涂展, 常温下长时间存放未出现干裂和分层, 不干涸或液化。

2.7.2 pH、黏度 取 3 份纳米乳凝胶, 加水稀释 10 倍, 测得其平均 pH 值为 6.68±0.07, 在人体皮肤最适 pH (5.5~7.5) 范围内, 并且其室温下平均黏度为 (289.69±1.06) mPa·s。

2.7.3 微观形态 纳米乳加水稀释至适当倍数, 取 20 μL, 滴于样品板上, 将铜网正面扣于液滴表面, 静置挥干, 2% 磷钨酸染液染色 2 min, 晾干, 在透射电镜 (TEM) 下观察形态, 结果见图 3B。由此可知, 纳米乳呈圆整球形, 分布均匀。

2.7.4 离心稳定性 取纳米乳凝胶 50 g, 5 000 r/min 离心 30 min, 发现其质地均匀, 无沉淀、分层现象, 表明制剂离心稳定性良好。

2.7.5 贮存稳定性 取 3 份纳米乳凝胶, 分别置于 4、25、45 °C 下 30 d, 于第 0、3、5、7、15、20、25、30 天取样, 观察其外观性状, 再加入甲醇超声溶解, 测定其载药量。结果, 在不同温度下纳米乳凝胶外观保持原样, 未出现干裂和分层, 倒置后流动性不变, 而且川芎嗪含量无明显变化, 表

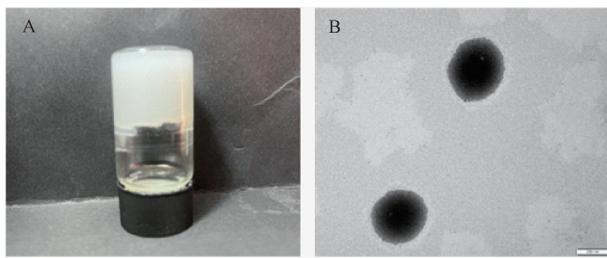


图 3 冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶外观性状及其纳米乳 TEM 图

Fig. 3 Appearance and characteristics of borneol-menthol eutectic mixture-loaded nanoemulsion gel and TEM image of its nanoemulsion

明制剂贮存稳定性良好。

2.8 体外释放度测定 采用直立式 Franz 扩散池装置, 将单层透析膜 (分子截留量 8~14 kD) 置于样品池和接收池之间, 在接收池中加入 10 mL pH 7.4 磷酸盐缓冲液, 使用前超声脱气, 透析膜与接收液完全接触 (避免产生气泡)。向供给池中分别加入 1 g 纳米乳、1 g 水溶液 (精密称取 4 mg 原料药至 2 mL EP 管中, 加入 1 g 纯水, 超声溶解, 即得, 含药量为 4 mg/g)、2 g 纳米乳凝胶、2 g 水凝胶 (纳米乳凝胶处方中的纳米乳换成水溶液, 其余操作一致, 含药量为 2 mg/g) (均含 4 mg 川芎嗪), 设定温度 32 °C, 搅拌速度 350 r/min, 于 1、2、4、8、12、24、36、48、72 h 各吸取 1 mL, 每次取样后补充同体积同温度 pH 7.4 磷酸盐缓冲液, 接收液用上述缓冲液稀释 10 倍, 超声混匀, 测定川芎嗪含量, 计算累积释药率 E_r , 公式

$$E_r = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_0}{m_0} \times 100\%$$

为 $E_r = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_0}{m_0} \times 100\%$, 其中 C_n 为各取样

点接收液中药物质量浓度, V 为扩散池体积 (10 mL), C_i 为第 i ($i=n-1$) 个取样点接收液中药物质量浓度, V_0 为每次取样体积, m_0 为药物总量, 重复 3 次, 绘制体外释放曲线, 结果见图 4, 可知纳米乳释放最快, 72 h 后 E_r 为 95.39%, 其次是水溶液和纳米乳凝胶, 水凝胶释放速率最小, 72 h 后仅为 60.41%。再将体外释放曲线进行拟合, 结果见表 5, 可知纳米乳、水溶液释药满足一级动力学方程, 即药物以恒定速率释放; 水凝胶、纳米乳凝胶释药更接近 Higuchi 方程, 即凝胶可控制药物释放速率和持续时间。

2.9 体外透皮吸收实验

2.9.1 离体皮肤制备 大鼠进行 CO₂ 安乐死后剔除腹部毛发, 小心剪取该部位皮肤, 采用钝性分离

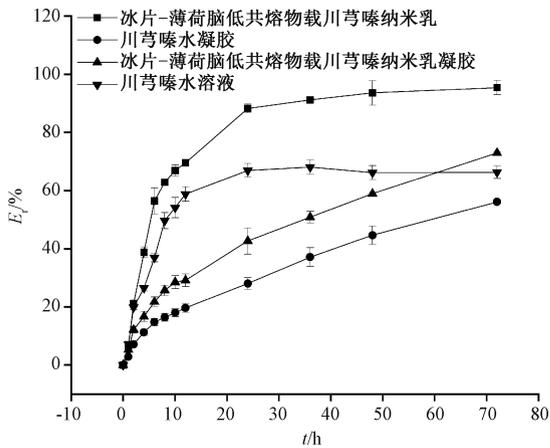


图4 各样品体外释放曲线 (n=3)

Fig. 4 *In vitro* release curves for various samples (n=3)

除去皮下脂肪和其他组织，选取无破损样本，生理盐水冲洗干净并吸干表面水分，即得，密封后置于-20℃冰箱中保存，在7d内使用。

2.9.2 经皮渗透评价 将“2.9.1”项下离体皮肤用弹簧夹固定在 Franz 扩散池上，角质层面向供给池，真皮层面向接收池，接收池中加入 10 mL pH 7.4 磷酸盐缓冲液（避免产生气泡），启动透皮扩散仪，设定温度 32℃，搅拌速度 350 r/min，稳定 30 min 后向供给池中分别加入 1 g 纳米乳、1 g 水溶液、2 g 水凝胶、2 g 纳米乳凝胶（均含川芎嗪 4 mg），于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 从接收池中各取出 1.5 mL 接收液，每次取样后立即补充等量 32℃ 空白接收液，测定川芎嗪质量浓度，计算单位面积经皮累积渗透量 Q_n ，公式为 $Q_n =$

$(C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_0) / A$ ，其中 C_n 为各取样点接收液中药物质量浓度， V 为接收池体积（10 mL）， C_i 为第 i ($i=n-1$) 个取样点接收液中药物质量浓度， V_0 为取样体积， A 为有效透皮面积（0.78 cm²）。

以 Q_n 为纵坐标，取样时间 (t) 为横坐标拟合回归方程，其斜率即为药物稳态经皮渗透速率 J_s ，再计算经皮渗透系数 P_m ，公式为 $P_m = J_s / C_0$ ，其中 C_0 为药物初始质量浓度，结果见表 5~6、图 5。由此可知，纳米乳凝胶 24 h 内 Q_n 分别是水凝胶、水溶液的 3.72、1.21 倍，但其 P_m 低于纳米乳，表明纳米乳凝胶既充分发挥纳米乳的透皮促渗作用，又具有凝胶缓释效果，有利于药效持续发挥，减少用药次数。

表5 各样品体外释药回归方程 (n=3)

Tab. 5 Regression equations for *in vitro* drug release of various samples (n=3)

样品	模型	回归方程	R ²
川芎嗪水溶液	零级	$E_t = 29.36 + 0.77t$	0.443 1
	一级	$E_t = 67.80(1 - e^{-0.15t})$	0.990 7
	Higuchi	$E_t = 8.37t^{1/2} + 13.96$	0.719 6
冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳	零级	$E_t = 35.94 + 1.16t$	0.552 8
	一级	$E_t = 93.09(1 - e^{-0.13t})$	0.99 20
	Higuchi	$E_t = 12.12t^{1/2} + 14.48$	0.811 1
川芎嗪水凝胶	零级	$E_t = 8.17 + 0.80t$	0.942 1
	一级	$E_t = 62.16(1 - e^{-0.03t})$	0.967 9
	Higuchi	$E_t = 7.23t^{1/2} - 2.67$	0.993 4
冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶	零级	$E_t = 12.98 + 0.94t$	0.902 6
	一级	$E_t = 67.93(1 - e^{-0.05t})$	0.958 7
	Higuchi	$E_t = 6.70t^{1/2} - 2.46$	0.993 3

表6 各样品经皮渗透动力学参数比较 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

Tab. 6 Comparison of percutaneous permeation kinetic parameters for various samples ($\bar{x} \pm s$, n=3)

样品	回归方程	R ²	$Q_n / (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	$J_s / (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$	$P_m / (\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1})$
川芎嗪水溶液	$Q = 71.9t - 55.7$	0.997	1 691.81 ± 79.22	71.93 ± 2.90	17.98 ± 0.73
川芎嗪水凝胶	$Q = 23.1t - 17.8$	0.994	551.13 ± 41.56**	23.12 ± 2.10**	11.56 ± 1.05**
冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶	$Q = 84.9t - 34.2$	0.995	2 048.23 ± 55.60***	84.85 ± 1.10***	42.42 ± 0.55***
冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳	$Q = 228.2t - 144.2$	0.997	5 395.26 ± 51.46***	228.16 ± 3.60***	57.04 ± 0.90***

注：与川芎嗪水溶液比较，** $P < 0.01$ ；与川芎嗪水凝胶比较，*** $P < 0.01$ 。

3 讨论与结论

相较于传统经皮给药制剂，纳米载体处方和制备工艺更复杂^[17]。方中冰片和薄荷脑均为萜烯类透皮剂，可通过竞争性氢键效应破坏皮肤脂质结构^[18]；以冰片-薄荷脑的低共熔物为油相时，既满足溶解性高的要求，又可促进渗透；乳化剂 EL-40 为非离子型，生物相容性良好，不易受电解质影响^[19]；助乳化剂 1, 2-丙二醇用于稳定乳化体系，其结构中的羟基也有助于改变皮肤角质层的脂质双层结构，促进药物在角质层中扩散，进入皮肤深层

组织^[20]。此外，纳米乳高含水量（88.97%）使角质层水化作用增强，并且 EL-40 被后者吸收后也可增加水相占比，促进药物分子透过皮肤^[21]。

研究表明，纳米乳可增加药物溶解度和分散程度，并且后者包载于内相，可提高稳定性；纳米级尺寸有利于药物载体透过细胞间隙，进入皮肤深层组织^[22]；凝胶具有合适的黏度和延展性，克服了纳米乳流动性大的缺点，同时其三维网状结构具有贮存药物的缓释功能。预实验发现，将卡波姆直接撒入纳米乳中，过夜后搅拌均匀时，所得凝胶外观

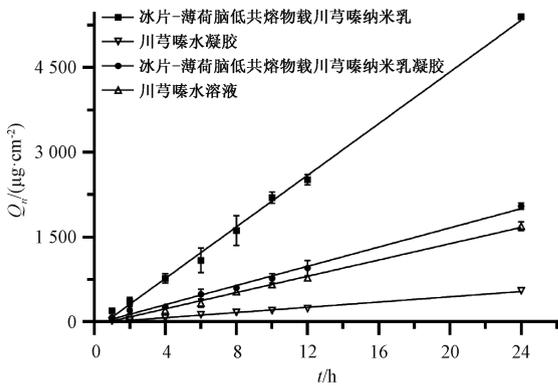


图5 各样品体外透皮吸收曲线 (n=3)

Fig. 5 *In vitro* transdermal absorption curves for various samples (n=3)

均匀, 但静置 1 d 后有结块产生, 推测可能有一部分卡波姆未充分溶胀。因此, 本实验采用稀释法, 将卡波姆先制成 1.2% 水基质, 充分溶胀后再加入纳米乳, 所得凝胶的成型性和稳定性更佳。

综上所述, 本实验制备冰片-薄荷脑低共熔物载川芎嗪纳米乳凝胶, 其性质稳定, 质量可控, 不仅能显著提高药物溶解度和皮肤渗透性, 还具有明显的缓释效果, 可为相关新制剂的开发奠定基础。

参考文献:

[1] Lin J G, Wang Q Q, Zhou S M, *et al.* Tetramethylpyrazine: a review on its mechanisms and functions[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 113005.

[2] 周 鑫, 孙晓莹, 贾礼伊, 等. 中药单体川芎嗪在疾病治疗中的应用与机制研究进展[J]. *陕西中医*, 2022, 43(4): 541-544.

[3] Zhao X H, Li Q, Wang C G, *et al.* Simultaneous taste-masking and oral bioavailability enhancement of ligustrazine by forming sweet salts[J]. *Int J Pharm*, 2020, 577: 119089.

[4] Hu X G, Cheng N, Zhao J H, *et al.* Percutaneous absorption and brain distribution facilitation of borneol on tetramethylpyrazine in a microemulsion-based transdermal therapeutic system[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2019, 14(3): 305-312.

[5] Jeong W Y, Kwon M, Choi H E, *et al.* Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review[J]. *Biomater Res*, 2021, 25(1): 24.

[6] 常 格, 牛 霞, 李桂玲. 肉桂醛纳米乳的制备及体内药动

学评价[J]. *中国医药生物技术*, 2024, 19(1): 30-36.

[7] 侯晶晶, 邱海莹, 王婉梅, 等. 来那度胺纳米水凝胶的制备及其体外透皮吸收研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(20): 2243-2247.

[8] 陆姗姗, 陈 军, 赵玉荣, 等. 小茴香油微乳凝胶的制备及其体外透皮促渗行为研究[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(8): 1067-1074.

[9] 刘 蓓. 负载葛根素纳米粒的外用水凝胶研制及性能评价[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2023.

[10] 朱溶月, 李博莉, 王文华, 等. “薄荷脑-樟脑”低共熔物载甘草次酸纳米乳的制备与初步评价[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(12): 2898-2900.

[11] 宣婧婧, 武喜营, 戚建平, 等. 天然低共熔溶剂在药剂学中的应用[J]. *药学学报*, 2021, 56(1): 146-157.

[12] 金 桂. 冰片-薄荷脑二元低共熔混合物对盐酸川芎嗪经皮渗透的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2008, 32(1): 93-95; 99.

[13] 阮婧华, 龚 涛, 张志荣, 等. 吡啶美辛纳米乳透皮制剂的制备及体外实验评价[J]. *华西药学期刊*, 2013, 28(1): 19-22.

[14] 彭 倩. 积雪草苷纳米乳及其凝胶透皮给药的体内外研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.

[15] 邱 菁, 徐纯艺, 周玮玲, 等. 基于“药辅合一”理念的当归精油纳米乳递药系统的构建、表征及评价[J]. *中草药*, 2023, 54(6): 1783-1792.

[16] 苏 婷, 赵 燕, 毕 野, 等. 乌拉草总黄酮脂质体凝胶剂的制备工艺研究[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(5): 990-996.

[17] 金媛媛, 周栩妍, 陈江丽, 等. 新型给药系统在经皮给药中的研究进展[J]. *吉林中医药*, 2022, 42(12): 1477-1480.

[18] Tuntiyasawasdikul S, Limpongsa E, Jaipakdee N, *et al.* Effects of vehicles and enhancers on the skin permeation of phytoestrogenic diarylheptanoids from *Curcuma comosa*[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2017, 18(3): 895-903.

[19] 潘 金. 非离子表面活性剂/长链脂肪酸酯构筑的绿色微乳液体体系的相行为和物化性能[D]. 济南: 山东师范大学, 2018.

[20] Carrer V, Alonso C, Pont M, *et al.* Effect of propylene glycol on the skin penetration of drugs[J]. *Arch Dermatol Res*, 2020, 312(5): 337-352.

[21] 刘 卫, 冯年平. 经皮给药纳米技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 51-53.

[22] Rai V K, Mishra N, Yadav K S, *et al.* Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: Formulation development, stability issues, basic considerations and applications[J]. *J Control Release*, 2018, 270: 203-225.