

[J]. *Inflammation*, 2012, 35(1): 240-248.

[2] Xiao M, Zhu T, Zhang W, *et al.* Emodin ameliorates LPS-induced acute lung injury, involving the inactivation of NF- κ B in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11): 19355-10368.

[3] Mitani T, Harada N, Tanimori S, *et al.* Resveratrol inhibits hypoxia-inducible factor-1 α -mediated androgen receptor signaling and represses tumor progression in castration-resistant prostate cancer [J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2014, 60(4): 276-282.

[4] Pooja T, Karunagaran D. Emodin suppresses Wnt signaling in human colorectal cancer cells SW480 and SW620 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 742C: 55-64.

[5] Nabavi SF, Huige L, Daglia M, *et al.* Resveratrol and stroke: from chemistry to medicine [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2014, 11(4): 390-370.

[6] 王 君, 方 芳. 虎杖苷在心脑血管系统的药理研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(13): 2105-2107.

[7] Zhang Q, Tan Y, Zhang N, *et al.* Polydatin supplementation ameliorates diet-induced development of insulin resistance and hepatic steatosis in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 2708.

[8] 吕春艳, 张兰桐, 袁志芳, 等. 虎杖苷在大鼠体内的药动学特点和组织分布研究[J]. *中草药*, 2007(2): 235-238.

[9] 姚树坤, 蒋 晔, 郝晓花, 等. 虎杖及其复方中大黄素在大鼠体内的药代学研究[J]. *中国中药杂志*, 2005(6): 463-465.

[10] 叶肖栗, 宋 莉, 任国飞, 等. HPLC-MS 法测定虎杖活性成分在大鼠体内的药代动力学[J]. *药物分析杂志*, 2013, 05(31): 749-754.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 111.

[12] 张 煜, 于树宏, 李 倩, 等. RP-HPLC 法同时测定虎杖中虎杖苷、白藜芦醇、大黄素和大黄素甲醚的含量[J]. *河北医科大学学报*, 2009, 30(10): 1049-1051.

[13] 孙 进. 现代药物制剂技术丛书: 口服药物吸收与转运[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.

[14] Wenzel E, Somoza V. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2005, 49(5): 472-481.

[15] 彭 娟. 虎杖药材质量及其大鼠药代动力学与肝脏分布的研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2007.

复方薄荷脑微乳原位凝胶剂的评价

刘 晨^{1,2}, 任宗芬¹, 李建理¹, 胡 进², 王文萍^{2,3,4*}

(1. 宁夏医科大学总医院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750004; 3. 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004; 4. 回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 宁夏 银川 750004)

摘要: **目的** 对载复方薄荷脑微乳的原位凝胶滴鼻液(薄荷脑、樟脑、液状石蜡)进行评价。**方法** 薄荷脑和樟脑的低共熔特性制备微乳再将其载入原位凝胶中制得载药微乳凝胶液,从制剂的外观、pH、流变学性质、体外释放度、离体黏膜透过性及对大鼠鼻黏膜形态进行考察。**结果** 体外释放行为符合 Higuchi 方程, 10 h 累积释放 33.6%, 显著优于原制剂的 7.6%; 10 h 离体黏膜累积透过性率 11.8%, 约为原制剂的 5 倍; 对大鼠鼻黏膜的刺激性较小且可逆。**结论** 复方薄荷脑微乳的原位凝胶滴鼻液具有良好的缓释性能且适合临床使用。

关键词: 复方薄荷脑; 微乳; 原位凝胶; 滴鼻液; 体外释放度

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2015)12-2632-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.013

Evaluation of compound microemulsion based *in situ* gel containing menthol

LIU Chen^{1,2}, REN Zong-fen¹, LI Jian-li¹, HU Jin², WANG Wen-ping^{2,3,4*}

(1. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Ningxia Engineering & Technology Research Center for Modernization of Islamic Medicine, Yinchuan 750004, China; 4. Key Lab for Islamic

收稿日期: 2015-05-22
基金项目: 2012 年宁夏回族自治区自然科学基金项目 (NZ1226)
作者简介: 刘 晨 (1975—), 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为药物制剂与医院药学。Tel: (0951) 6743516, E-mail: lch6767@163.com
* 通信作者: 王文萍 (1977—), 女, 博士, 教授, 研究方向为新型递药系统及载药材料。Tel: (0951) 6880581, E-mail: wangwenpingg@sina.com
2632

Medicine Modernization, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China)

ABSTRACT: **AIM** To evaluate the efficacy of nasal microemulsion based *in situ* gel (MBG) made up of menthol, camphor and liquid paraffin. **METHODS** The preparation made from a mixture of menthol and camphor as eutectic microemulsion for *in situ* gel, had its appearance, pH, rheological property, dissolution, *in vitro* mucosa permeability and morphology examined. **RESULTS** The *in vitro* release profile conformed to Higuchi model, 33.58% cumulative release at 10h was superior to the previous 7.60% value of nasal drops without microemulsion. The *in vitro* permeation percentage 11.49% was almost 5 folds of the 2.48% nasal drops without microemulsion. The irritability induced by MBG was rare and slight and reversible. **CONCLUSION** MBG of compound menthol excels in *in vitro* release and permeation, and should be appropriate for clinical use.

KEY WORDS: compound menthol; microemulsion; *in situ* gel; nasal drops; *in vitro* release

复方薄荷脑滴鼻液收载于《中国医院制剂规范》第 2 版,是医院常用的耳鼻喉科制剂。该制剂由薄荷脑、樟脑及液状石蜡组成,液状石蜡因生产厂家及批号的不同而导致质量不一,对薄荷脑和樟脑定量测定产生影响,进而使制剂质量可控性差^[1-2];同时传统滴鼻液在鼻腔的停留时间短、易流失,导致生物利用度低且个体差异较大^[3]。基于上述原因,课题组前期利用薄荷脑和樟脑的低共熔特性制备微乳,并将其载入原位凝胶中制得新型滴鼻液,不仅避免了液状石蜡带来的弊端,而且延长了药物在给药部位的滞留时间。本研究进一步对所得微乳原位凝胶滴鼻液进行体内外评价,明确其在给药局部的胶凝性、渗透性和安全性,为后期新制剂的研发奠定基础。

1 仪器与试剂

移液枪(规格 10~100 μL ,德国艾本德公司);PHS-3E 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);H-7650 透射电子显微镜[日立高新技术(上海)国际贸易有限公司];WH-861 涡旋混合器(江苏省太仓市科教器材厂);Phenix YS100 光学显微镜(江西省上饶市羽天科教仪器有限公司);DV-III 流变仪(美国博勒飞公司);透析袋 MD34(截留分子量 3500,北京索莱宝科技有限公司);RYJ-6A 药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司);Leica DFC 295 数码显微镜彩色摄像机(德国徕卡仪器有限公司);Leica EG150H 组织包埋机(德国徕卡仪器有限公司);Leica RM2235 组织切片机(德国徕卡仪器有限公司)。

氯化钙(烟台市双双化工有限公司,批号 20130402)、氯化钾(天津市大茂化学试剂厂,批号 20120925)、氯化钠(天津市大茂化学试剂厂,批号 20111029)、碳酸氢钠(天津市瑞金特化学品有限公司,批号 20100604)、水合氯醛(天津市光

复精细化工研究所,批号 20131202)、固定液(宁夏医科大学总医院病理科提供)、PBS 缓冲液(宁夏医科大学总医院病理科提供),复方薄荷脑滴鼻剂(宁夏医科大学总医院制剂中心,批号 20140121)以上所用试剂均为分析纯。所用水均为去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 根据文献方法^[4]做了相应调整。采用 Hitachi L2000 型高效液相色谱仪,ODS C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(75:25),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 289 nm;进样量 10 μL 。柱温为室温。

2.2 人工鼻液的配制 根据文献配制^[5],氯化钠 7.91 g、碳酸氢钠 2.56 g、氯化钾 3.68 g 和氯化钙 0.51 g,混匀溶解于去离子水 1 L 中即得。

2.3 微乳原位凝胶滴鼻液的制备 以薄荷脑-樟脑(1:1)研磨后所形成澄清透明的低共熔混合溶液作为油相,将油相 1.0 g、吐温-80 2.0 g 和甘油 1.0 g 加入试管中涡旋混匀,加 1 mL 去离子水充分混匀即得微乳;0.05 g 去乙酰结冷胶加入至 5 mL 去离子水中,90 $^{\circ}\text{C}$ 下溶解后,冷却,加 0.02 g 海藻酸钠,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中过夜,即得原位凝胶;将制备好的微乳液 1 mL 加入原位凝胶中,再加入去离子水至 10 mL,混匀,即得微乳原位凝胶(含薄荷脑和樟脑各 1%)。

2.4 微乳原位凝胶滴鼻液的评价

2.4.1 外观和 pH 所得复方薄荷脑微乳原位凝胶剂为液态,呈半透明状且有淡蓝色乳光,具良好的流动性;加入人工鼻液后发生凝胶化,倒置后不流下。取适量微乳原位凝胶剂样品,去离子水稀释 100 倍,用 PHS-3E 型 pH 计测定微乳原位凝胶 pH。结果该制剂平均 pH 为 6.17 ± 0.06 ($n=3$),与正常人鼻腔分泌液 pH (5.5~6.5) 相近^[6],说明该

制剂 pH 适合鼻腔给药。

2.4.2 流变学性质 采用 DV-Ⅲ流变仪，控制温度为 $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ （人体鼻腔温度 $32 \sim 34^\circ\text{C}$ ^[7]），选择小量样品适配器（SC4-31 号转子），分别考察微乳原位凝胶剂在加入人工鼻液前后剪切速率增大时黏度的变化情况。结果见图 1。

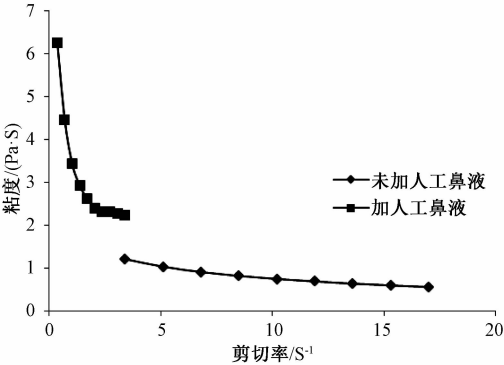


图 1 剪切速率对体系黏度的影响
Fig. 1 Effect of shear rate on viscosity of the system

未加入人工鼻液的制剂具有一定的黏度，随剪切速率的增大呈下降趋势；加入人工鼻液后制剂黏度明显增大，随剪切速率的增大黏度呈明显下降趋势，当体系黏度降低到一定值后，黏度随剪切率的变化趋于平稳，表现出假塑性流体的特征，这种特征对鼻液的分泌影响较小，对鼻腔的刺激也较小。加入人工鼻液后制剂黏度值 $> 5 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ ，在鼻腔中黏附性能较好^[8]，适合鼻腔给药。

2.4.3 体外释放 分别精密量取 4.0mL 的复方薄荷脑微乳凝胶液及复方薄荷脑滴鼻液（原制剂）于透析袋 MD34 中，透析袋置于带盖锥形瓶内，加入新鲜配制人工鼻液 50 mL 作为释放介质，转速 100 r/min ， $(33 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ，依次于 5、15、30、60、90、180、240、360、480、600 min 取样 1.0 mL，每次取样后补加等体积的释放介质。取出的样品经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过，HPLC 法测定其释药量，计算各时间点药物的累积释放百分率（ Q ），绘制体外释放曲线，见图 2。

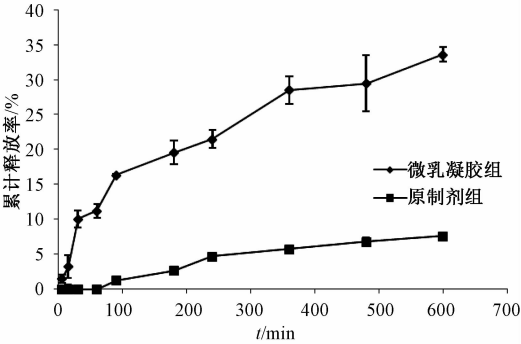


图 2 微乳凝胶剂与原制剂累积释放百分率
Fig. 2 *In vitro* release of MBGs and nasal drops

用零级方程、一级方程、Higuchi 方程对释放曲线进行拟合，按 r 值最大原则来判断各模型的拟合优劣，结果见表 1。

表 1 释药曲线拟合结果
Tab. 1 Fitting equations of drug release

释药模型	原制剂		微乳原位凝胶剂	
	方程	r	方程	r
零级方程	$Q = 0.014t - 0.059$	0.976	$Q = 3.049t + 7.313$	0.940
一级方程	$\ln(100 - Q) = 0.0001t + 4.606$	0.978	$\ln(100 - Q) = 0.0001t + 4.531$	0.957
Higuchi 方程	$Q = 0.386t^{1/2} - 1.879$	0.978	$Q = 1.402t^{1/2} + 0.228$	0.987

两组制剂释药均呈缓慢上升趋势，微乳原位凝胶剂的释药速率显著高于原制剂，其在前 6 h 释放较快，10 h 时释放达 33.58%，原制剂仅为 7.60%。微乳原位凝胶剂中药物释药遵循 Higuchi 方程，具显著的缓释作用，原制剂药物的释放在 3 种模型中拟合 r 值均较高，接近 0.98，推测其原因可能是原制剂中的溶剂为液状石蜡，含量达 98.0%，阻滞了药物的释放。对于微乳原位凝胶剂而言，药物先从微乳内油相扩散到外水相，再从胶凝网状结构中释放出来，因而有效延缓了药物从基质中的释放^[9]。

2.4.4 离体黏膜透过试验 采用药物透皮扩散试验仪，扩散面积为 2.89 cm^2 。处置干净的新鲜猪大肠剥离脂肪组织后，取大肠黏膜层用生理盐水清洗干净，黏膜层向上固定在供给池与接受池之间，接收池内加入人工鼻液（为达到药物漏槽条件，加入 5% Tween-80 和 5% 甘油），置温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 的水浴恒温振荡器中平衡 20 min；分别取 2.5 mL 微乳原位凝胶剂及原制剂均匀覆盖黏膜上，转速 300 r/min ，于 5、15、30、60、90、180、240、360、480、600 min 从接收池取样 1.0 mL，每次取样后补加同体积人工鼻液，取得的样品经

0.22 μm 微孔滤膜滤过, HPLC 法测定其释药量, 见图 3。

结果 10 h 时离体黏膜微乳凝胶组累积透过率为 11.79%, 原制剂组为 2.48%。表明微乳凝胶剂透黏膜释放速度较原制剂快, 其黏膜透过性更佳。

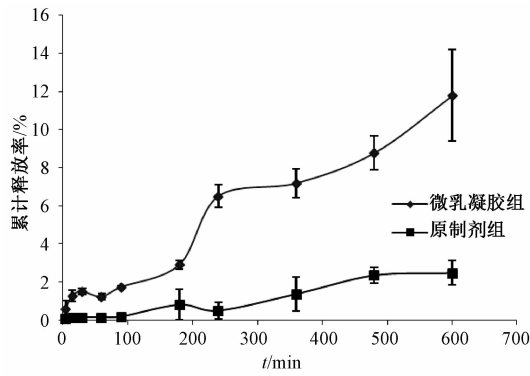


图 3 微乳凝胶剂及原制剂随时间离体黏膜透过率
Fig. 3 *In vitro* permeation behavior of MBGs and nasal drops

2.4.5 对大鼠鼻黏膜形态的影响 雄性 SD 大鼠, 随机分成生理盐水组、空白基质组、原制剂组、微乳凝胶组、微乳凝胶恢复组, 每组 8 只。各组每日给药 3 次, 以连接 PE 塑料软管的微量注射器定量注入 30 μL 相应液体进大鼠鼻孔, 连续给药 7 d, 微乳凝胶恢复组停药后继续观察 2 d。以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠后断头处死, 立刻开放鼻腔取鼻中隔黏膜, 以 0.01 mol/L、pH 7.4 PBS 缓冲液洗血液和黏液, 放置于 10% 中性缓冲甲醛溶液中固定, 4 ℃ 保存, 制备石蜡切片, HE 染色, 光学显微镜下观察。

图 4 是进行 HE 染色后在 200 倍电子显微镜下观察到的大鼠鼻黏膜图, 可观察到生理盐水组 (A) 鼻黏膜细胞大部分排列紧密, 原制剂组 (C) 少部分上皮细胞有破损, 有轻度充血及炎性细胞浸润现象; 空白基质组 (B) 与微乳原位凝胶组 (D) 鼻黏膜细胞有少量的炎性细胞浸润现象, 微乳原位凝胶组充血现象明显, 提示微乳凝胶剂中的基质、辅料及药物均可能对黏膜产生刺激作用; 微乳原位凝胶恢复组 (E) 有轻微充血及炎性细胞浸润, 说明停药后能够较快恢复, 表明基质、辅料及药物所致的黏膜损伤是可逆的。

3 讨论

药物从基质中的释放是影响渗透和吸收的限速步骤。本研究中微乳原位凝胶剂是水溶性凝胶基质, 可与人工鼻液相混溶, 其表面活性剂、助表面

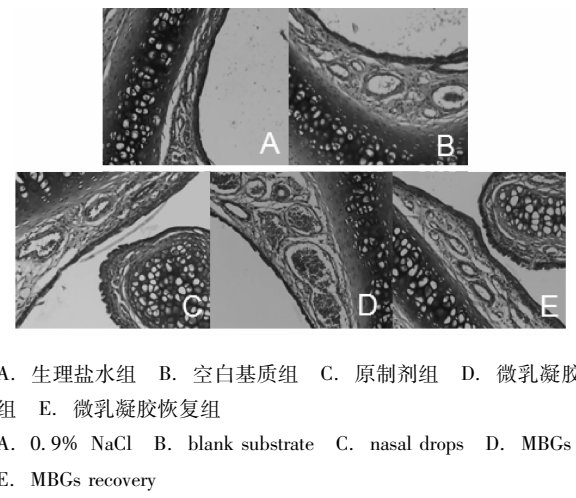


图 4 各实验组的组织切片
Fig. 4 Histological sections of the nasal mucosa in five experimental groups

活性剂可以增加药物的溶解度及上皮细胞黏膜通透性, 促进药物通过黏膜^[10], 其与薄荷脑、樟脑的亲合力小, 药物的释放易于亲和力大的基质; 原制剂中液状石蜡是一类疏水性强的蜡类阻滞基质, 与人工鼻液不相混溶, 与薄荷脑、樟脑的亲合力大, 对药物的释放阻滞效应远高于水溶性凝胶基质, 所以在体外释放度和离体黏膜透过性试验中, 微乳原位凝胶剂均显著优于原制剂。离体黏膜透过性试验中, 因受鼻黏膜取材面积、取材新鲜度、损伤程度等因素的影响, 无法达到动物鼻黏膜取材要求^[11], 而选择了新鲜的猪大肠黏膜进行试验, 虽然猪大肠黏膜无法代替鼻黏膜, 但在相同试验条件下, 试验结果在一定程度上也能反映制剂的黏膜透过性。

本研究对复方薄荷脑微乳原位凝胶滴鼻液的胶凝性、渗透性和安全性进行了系统考察, 结果显示该制剂在非生理条件下有良好的流动性, 在生理条件下具良好的凝胶性能及黏附性, 预期鼻腔给药后可延长药物局部滞留时间、利于发挥药效, 且制剂具有良好的缓释特性, 能显著改善体外释放度和离体黏膜透过性, 刺激性小。本研究为剂型改进奠定了基础, 为相关新产品开发提供参考。

参考文献:

[1] 谢 军, 彭贤东, 龙 凤, 等. 复方薄荷脑滴鼻液的质量控制[J]. 中国药业, 2012, 21(13): 27-28.
[2] 谢剑锋, 金蜀蓉. 复方薄荷脑滴鼻液中樟脑鉴别方法的改进[J]. 中国药房, 2012, 23(35): 3337-3339.
[3] 张翠霞, 张文涛, 王东凯, 等. 新型的药物传递系统—原

位凝胶的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26 (4): 459-461.

[4] 谢友亮. 高效液相色谱法测定樟脑的含量[J]. 中国药品标准, 2010(11): 231-233.

[5] 卓玉娟, 刘 新, 喻录容, 等. 辛芷离子敏感型鼻用原位凝胶的研制及体外释药评价[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(1): 30-33.

[6] 刘永革, 宋秀勤, 张 莉. 鼻腔 pH 值的测定[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2001, 9(2): 84-85.

[7] 史亚军, 杨 明, 施俊辉, 等. 黄芩提取物磷脂复合物鼻用制剂剂型研究 [J]. 中 药 材, 2013, 36 (10): 1697-1701.

[8] Cao S L, Zhang Q Z, Jiang X G. Preparation of ion-activated in situ gel systems of scopolamine hydrobromide and evaluation of its antimotion sickness efficacy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(4): 584-590.

[9] Gulsen D, Chauhan A. Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel : a potential ophthalmic drug delivery vehicle [J]. *Int J Pharm*, 2005, 292: 95-117.

[10] 祝宏达, 张先洲. 微乳透皮给药系统的研究概况 [J]. 中国药师, 2006, 9(9): 849-851.

[11] 崔海珍, 刘福强, 王艳萍, 等. 银杏叶鼻用原位凝胶剂的制备及体外吸收研究[J]. 药学实践杂志, 2010, 34(2): 118-121.

羟丙基-β-环糊精包合对当归挥发油透皮吸收的影响

吴叶鸣^{1,2}, 陈 军^{1,2*}, 刘 培², 蒋秋冬^{1,2}, 张 越^{1,2}, 段金威^{2*}
(1. 南京中医药大学药学院药物制剂研究室, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023)

摘要：目的 考察羟丙基-β-环糊精包合对当归挥发油体外透皮吸收的影响。**方法** 采用水蒸气蒸馏法制备当归挥发油并采用 GC-MS 分析其成分及相对含有量。测定并比较了当归挥发油中藁本内酯与藁本内酯单体的油水分分配系数。采用羟丙基-β-环糊精通过饱和水溶液法将当归挥发油制成包合物，以藁本内酯为指标，比较了当归挥发油以溶液、包合物溶液、凝胶和包合物凝胶四种形式给药的体外透皮吸收效果。**结果** 当归挥发油得率为 0.27%，含有至少 52 种成分，并以藁本内酯为主。藁本内酯单体和当归挥发油中的藁本内酯的油水分分配系数对数值（lg*P*）分别为 1.88 ± 0.05 和 2.64 ± 0.06（*n* = 3）。当归挥发油在 12 h 内的体外透皮吸收动力学符合零级速度方程，溶液、包合物溶液、凝胶和包合物凝胶四种形式的累积透过率分别为 28.93%、6.67%、23.70% 和 11.93%。**结论** 在溶液或凝胶剂中，制成环糊精包合物不利于当归挥发油的透皮吸收。

关键词：当归挥发油；藁本内酯；羟丙基-β-环糊精；透皮吸收；凝胶；溶液

中图分类号：R944 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2015)12-2636-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.014

Effect of Hydroxypropyl-β-cyclodextrin complexation on percutaneous absorption of essential oil from *Angelica sinensis*

WU Ye-ming^{1,2}, CHEN Jun^{1,2*}, LIU Pei², JIANG Qiu-dong^{1,2}, ZHANG Yue^{1,2}, DUAN Jin-ao^{2*}
(1. Pharmaceutical Research Laboratory, School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Provincial Collaborative Innovation Center for Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: AIM To evaluate the effect of hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) complexation on percutaneous absorption of essential oil from *Angelica sinensis* (EOAS). **METHODS** The essential oil extracted from *Angelica sinensis* by steam distillation was analyzed by GC-MS. The apparent oil-water partition coefficient (*P*) was

收稿日期：2015-02-15
基金项目：江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目（ZDXMHT-1-15）；江苏省高校自然科学研究面上项目（14KJB360001）；江苏省青蓝工程资助项目（2014 年）；江苏省高校优势学科资助项目补基金项目（2014 年）
作者简介：吴叶鸣（1991—），女，硕士生，研究方向为中药外用制剂。Tel: 15996255831, E-mail: njzyydxwym@sina.com
*** 通信作者：**陈 军，副教授，硕士生导师。Tel: (025) 85818050, E-mail: chenjun75@163.com