

• 药剂与工艺 •

三七总皂苷离子敏感型鼻用原位凝胶的制备

罗洁琦^{1,2}, 沙先谊¹, 方晓玲^{1*}

1. 复旦大学药学院 药剂教研室, 上海 201203

2. 复旦大学附属华山医院 药剂科, 上海 200040

摘要: **目的** 制备离子敏感型三七总皂苷(PNS)鼻用原位凝胶。**方法** 以去乙酰结冷胶为材料, 采用旋转黏度计测定溶液-凝胶相转变特性筛选处方; 采用 HPLC 法测定 PNS 中人参皂苷 Rg₁, 并以不同动物模型对制剂进行安全性评价。**结果** 离子敏感型原位凝胶的黏度随着去乙酰结冷胶质量分数的增加而上升, 加入模拟鼻液后形成具有一定强度的凝胶。该制剂的 pH 值为 6.0~6.5, 人参皂苷 Rg₁ 在 0.2~50 μg/mL 线性关系良好 ($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 101.72%, RSD 为 1.74%。本制剂能延长药物与鼻黏膜的接触时间。**结论** 该制剂制备工艺简便, 性质稳定, 安全无明显刺激性, 在 PNS 鼻腔给药方面表现出良好的发展潜力。

关键词: 三七总皂苷; 去乙酰结冷胶; 离子敏感型原位凝胶; 鼻腔给药; 人参皂苷 Rg₁; HPLC

中图分类号: R283.6; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)07-1299-06

Preparation of *Panax notoginseng* saponins ion-sensitive *in situ* nasal gelLAW Kit-ki^{1,2}, SHA Xian-yi¹, FANG Xiao-ling¹

1. Department of Pharmaceutical Science, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China

2. Department of Pharmacy, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Abstract: **Objective** To prepare an ion-sensitive *in situ* nasal gel of *Panax notoginseng* saponins (PNS). **Methods** With deacetylated gellan gum as gel base, the solution-gelation conversion characteristics were investigated by rotational viscometer, and the content of ginsenoside Rg₁ in PNS was determined by HPLC. Various animal models were used for the safety assessment of the preparations. **Results** The viscosity of ion-sensitive *in situ* gel increased with the increasing concentration of deacetylated gellan gum. Upon addition of simulated nasal fluid, gels with certain strengths were formed. The pH value of the preparation was 6.0—6.5, and the linear range of ginsenoside Rg₁ was 0.2—50 μg/mL ($r = 0.999\ 5$), with a mean recovery of 101.72% and RSD of 1.74%. The preparation could extend the drug contact time with the nasal mucosa. **Conclusion** PNS ion-sensitive *in situ* nasal gel is easy-to-prepare, stable and safe, and with limited irritation. It shows great potential in nasal delivery of PNS.

Key words: *Panax notoginseng* saponins (PNS); deacetylated gellan gum; ion-sensitive *in situ* gel; nasal delivery; ginsenoside Rg₁; HPLC

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 具有“散瘀止血、消肿定痛”的功效^[1]。三七总皂苷 (*Panax notoginseng* saponins, PNS) 是三七的主要有效成分, 对心、脑血管系统疾病具有较好的疗效^[2-6]。PNS 在临床上的主要剂型为注射剂和口服制剂。然而,

注射剂容易导致过敏等不良反应; 胃液的酸性环境、大肠菌丛产生的水解酶类及肝脏的首关效应均对其口服吸收有影响^[7-8], 导致疗效缓慢而不确切。因此, 研究 PNS 新型给药途径具有重要的理论与应用价值。

本课题组一直从事 PNS 新给药途径的研究, 吴

收稿日期: 2010-11-17

基金项目: 国家重大科技专项经费资助项目 (2009ZX09310-006); 上海市科学技术委员会科研计划项目 (10DZ1972400, 10495801200)

作者简介: 罗洁琦 (1984—), 女, 香港人, 硕士研究生, 药师, 研究方向为药物新剂型与新制剂, 从事涉外医疗药学服务。

Tel: (021)51980071 15800394380 Fax: (021)51980072 E-mail: 082103456@fudan.edu.cn

*通讯作者 方晓玲 Tel: (021)51980071 E-mail: xlfang@shmu.edu.cn

云娟等^[9]制备了 PNS 鼻用粉雾剂,生物利用度达到 90%左右,对心肌梗死和卒中症状具保护作用。然而,鼻腔粉雾剂需要通过特殊装置给药,且存在粉末量大而导致不适等不足。许清芳等^[10]对 PNS 鼻腔用凝胶剂进行了初步探索。本实验在此基础上,采用去乙酰结冷胶为骨架材料,将 PNS 制备成鼻用原位凝胶制剂^[11],以液体形式给药,于鼻腔转变为具有适宜生物黏附性的凝胶黏附于鼻黏膜上,延长药物在鼻腔内的滞留时间,降低纤毛对药物的清除率。

1 仪器与材料

FC—104 型分析天平(上海恒平科学仪器有限公司);LC—10AT 液相色谱仪、SPD—10A 紫外可见波长监测器(Shimadzu,日本);HS2000 色谱数据工作站(杭州英谱公司);XW—80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);ZTY 智能透皮试验仪 TP3A(巩义市英峪予华仪器厂);DSHZ—300 恒温振荡仪(江苏太仓市实验仪器厂);NDJ—5S 型数字旋转黏度计(上海地学仪器厂);BX50 型光学显微镜(日本奥林巴斯公司);Bohlin Gemini 2—Peltier 平板旋转流变仪[马尔文仪器(中国)有限公司]。

人参皂苷 Rg₁ 对照品(批号 200726,中国药品生物制品检定所);PNS(批号 090807,人参皂苷 Rg₁ 质量分数为 35.77%,云南云科药业有限公司);去乙酰结冷胶(批号 090725,食品级,相对分子质量约 50 000,上海众伟化工有限公司);甲醇、乙腈为色谱纯,水为去离子水,其余试剂均为分析纯。

中华大蟾蜍(普通级,30~40 g)、新西兰种家兔[普通级,雌雄各半,(2.5±0.5) kg],均由复旦大学上海医学院实验动物中心提供,动物合格证号 SYXK(沪)2010-0099。

2 方法与结果

2.1 PNS 凝胶处方筛选及制备

2.1.1 模拟鼻液的配制 根据鼻液电解质组成配制模拟鼻液。称取 NaCl 8.77 g、KCl 2.98 g、CaCl₂·2H₂O 0.45 g,加去离子水溶解并定容至 1 L,即得。

2.1.2 原位凝胶的配制 根据文献报道^[12-13]的条件制备原位凝胶。称取一定量去乙酰结冷胶,置三角瓶中,加入适量的去离子水,在磁力搅拌下加热至 100 ℃使其分散均匀,冷却至 40 ℃以下得到澄清溶液,加水至需要量,制备成不同质量分数的凝胶溶液,置 4 ℃冰箱中完全冷却(24 h 以上)得到澄清溶液,溶液在 2 d 内使用。

2.1.3 黏度测定 参照《中国药典》2010 年版二部

附录 VI G 项下黏度测定第二法,考察样品在不同剪切速率下的流变学性质,于 25 ℃条件下测定,重复 3 次取平均值。

2.1.4 不同质量分数去乙酰结冷胶形成凝胶的能力 参考文献方法^[12],制备 0.2%、0.5%、0.75%、1%去乙酰结冷胶溶液,将各凝胶溶液与模拟鼻液以不同比例(10:0、10:1、10:2、10:3、10:4、10:5、10:6、10:7、10:8、10:9、10:10)混合,测定黏度,以接近 5 Pa·s 为增加药物鼻黏膜滞留时间的理想黏度^[14]。结果显示 0.5%、0.75%去乙酰结冷胶能在少量鼻液的环境下形成理想的凝胶。0.2%去乙酰结冷胶的凝胶黏度过低,而 1%去乙酰结冷胶的凝胶黏度过高。表 1 显示 0.5%去乙酰结冷胶溶液黏度低,能够通过鼻用喷雾泵喷射给药,与模拟鼻液混合后形成黏度理想的凝胶,因此选用 0.5%去乙酰结冷胶溶液进行下一步研究。

表 1 0.5%去乙酰结冷胶凝胶与模拟鼻液以不同比例混合后黏度测定结果

Table 1 Viscosity of 0.5% deacetylated gellan gum *in situ* gel after mixing with simulated nasal fluid in different proportions

0.5%去乙酰结冷胶 与模拟鼻液的比例	黏度/ (Pa·s)	0.5%去乙酰结冷胶 与模拟鼻液的比例	黏度/ (Pa·s)
10:0	0.011	10:6	4.351
10:1	4.468	10:7	4.435
10:2	4.451	10:8	4.461
10:3	4.399	10:9	4.439
10:4	4.444	10:10	4.390
10:5	4.429		

2.1.5 PNS 质量浓度对凝胶黏度的影响 制备 PNS 质量浓度分别为 10、100、250、500 mg/mL 的 0.5% 去乙酰结冷胶溶液,测定黏度,结果显示溶液的黏度随着 PNS 质量浓度增加而上升,但加入模拟鼻液(1:1)后,各样品形成的凝胶黏度无明显差异,经测定黏度在 4.2 Pa·s 左右。因此,在带有离子的环境下,PNS 质量浓度对 0.5%去乙酰结冷胶形成的凝胶黏度无明显影响,均具有理想的生物黏膜黏附性。

2.1.6 不同质量分数去乙酰结冷胶对 250 mg/mL PNS 凝胶黏度的影响 考虑到 PNS 临床用药每日剂量为 200 mg,而鼻腔给药喷雾泵的每喷剂量约为 100 μL,故将制剂含药量定为 250 mg/mL。制备 PNS (250 mg/mL) 0.2%、0.3%、0.4%、0.5%去乙酰结

冷胶溶液,测定黏度。结果显示各样品黏度低,能够通过鼻用喷雾泵喷射给药,测定结果均低于 0.7 Pa·s,而加入模拟鼻液(1:1)后,0.4%、0.5%去乙酰结冷胶溶液形成黏度比较理想的凝胶。

2.1.7 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶流变学检测 采用 Bohlin Gemini 2-Peltier 平板旋转流变仪考察 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶在剪切速率为 0.1~100 s⁻¹ 时的黏度变化,选用 CP 4/40 mm 锥板进行测量,设置间隙 150 μm,温度 25 ℃。图 1 显示凝胶黏度随剪切速率增大呈明显下降趋势,表现出假塑性流体的特征,显示其为非牛顿流体。随着剪切力作用的增加,体系的黏度越来越小,但当体系黏度降低到一定值后,黏度的变化趋于平稳。说明凝胶具有剪切稀变的特性,剪切速率增大破坏了凝胶的规则空间结构,降低其黏度。

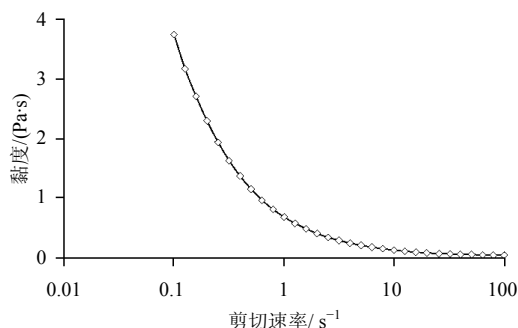


图 1 剪切速率对 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶黏度的影响
Fig. 1 Effect of shear rate on viscosity of PNS-deacetylated gellan gum *in situ* gel

2.1.8 防腐剂的选择 常用的鼻腔制剂防腐剂有季铵类阳离子表面活性剂、苯甲醇、尼泊金酯类等,然而阳离子表面活性剂与离子敏感的去乙酰结冷胶可能产生相互作用,影响制剂的稳定性;苯甲醇的最佳抑菌 pH 值小于 5,不符合鼻腔制剂的理想 pH 值范围;故选择最佳抑菌 pH 值为 4~8 的尼泊金酯类。预试验表明其无纤毛毒性,考虑凝胶处方中药与辅料的特性,选用尼泊金乙酯作为防腐剂,用量为 0.06%。

2.2 PNS 鼻用原位凝胶的制备

根据处方筛选结果,制备 0.5%去乙酰结冷胶原位凝胶基质,另称取处方量的 PNS、尼泊金乙酯、等渗透调节剂甘露醇等溶于适量去离子水中,搅拌加入凝胶溶液,混匀并定容至需要量,4 ℃放置过夜,备用。得到淡黄澄明的 250 mg/mL PNS 鼻用原位凝胶溶液, pH 值为 6.0~6.5。

2.3 人参皂苷 Rg₁ 的测定^[15]

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-20 mmol/L NaH₂PO₄ 溶液(25:75),体积流量 1 mL/min,检测波长 203 nm,柱温 25 ℃,进样量 10 μL。

2.3.2 线性关系考察 取人参皂苷 Rg₁ 对照品 5 mg,精密称定,置 25 mL 棕色量瓶中,加 50%甲醇溶液至刻度,摇匀,配制成 200 μg/mL 储备液。分别精密量取人参皂苷 Rg₁ 储备液 0.01、0.10、1.00、2.00、2.50 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,加 50%甲醇溶液至刻度,分别配制成 0.2、2.0、20、40、50 μg/mL 系列对照品溶液,4 ℃条件下保存。依次取样 10 μL,连续进样 3 次,测定。以人参皂苷 Rg₁ 峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 2\,630.089X + 760.01$ ($r = 0.9995$),显示人参皂苷 Rg₁ 在 0.2~50 μg/mL 呈良好线性关系。

2.3.3 专属性试验 配制 200 μg/mL 人参皂苷 Rg₁ 储备液与 0.5%去乙酰结冷胶,按 1:1 的比例配成人参皂苷 Rg₁ 为 2.0、20、40 μg/mL 的溶液,取 10 μL 进样, HPLC 法测定人参皂苷 Rg₁ 的量。另以 0.5%去乙酰结冷胶为空白对照,取 100 μL,以 50%甲醇水定容至 1 mL,进样分析,结果见图 2。显示去乙酰结冷胶空白辅料对人参皂苷 Rg₁ 测定无干扰。

2.3.4 精密度试验 分别取 2.0、20、40 μg/mL 人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液,进样测定,每份对照品测定 5 次,计算日内精密度, RSD 分别为 0.371%、0.860%、0.968%。

分别取 2.0、20、40 μg/mL 人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液,进样测定,每天分别测定 3 份样品 1 次,

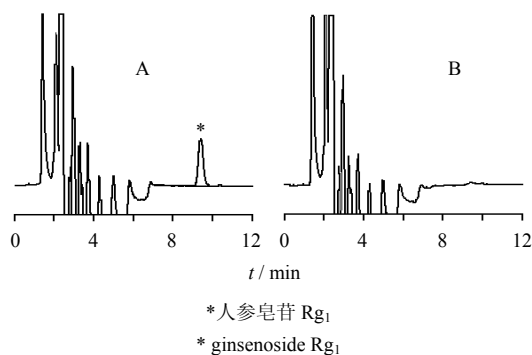


图 2 20 μg/mL 人参皂苷 Rg₁ 凝胶(A)和 0.5%去乙酰结冷胶空白对照(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of 0.5% deacetylated gellan gum containing ginsenoside Rg₁ (A) and blank 0.5% deacetylated gellan gum (B)

共 4 d, 计算日间精密度, RSD 分别为 0.799%、2.066%、0.844%。

2.3.5 稳定性试验 配制 200 $\mu\text{g/mL}$ 人参皂苷 Rg_1 储备液与 0.5% 去乙酰结冷胶, 按 1:1 的比例配制成人参皂苷 Rg_1 为 20 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 室温放置, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样测定, 记录色谱峰, 计算得人参皂苷 Rg_1 峰面积的 RSD 为 3.05%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.6 回收率试验 配制 200 $\mu\text{g/mL}$ 人参皂苷 Rg_1 储备液与 0.5% 去乙酰结冷胶, 按 1:1 的比例配制成人参皂苷 Rg_1 为 2.0、20、40 $\mu\text{g/mL}$ 供试品溶液, 取 10 μL 进样, HPLC 法测定人参皂苷 Rg_1 的量, 计算回收率。结果平均回收率分别为 96.27%、100.15%、101.15%, RSD 分别为 0.67%、1.29%、0.72%。

2.4 释放度考察

2.4.1 无膜溶出法 以无膜溶出法考察 PNS 鼻用凝胶的释放机制是否与溶蚀有关。取 PNS 鼻用凝胶 0.5 mL, 置 4 mL EP 管内, 加入 0.25 mL 模拟鼻液, 迅速混匀, 形成凝胶。精密称定质量后加入 1.0 mL 模拟鼻液, 在 $(37 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 恒温振荡仪中, 以 80 r/min 振荡, 每隔 20 min 吸取 1.0 mL, 同时补加等体积的同温模拟鼻液, 直至最后的取样时间点 (240 min)。将容器表面用滤纸吸干后精密称定, 前后 2 次质量之差即为溶蚀量, 计算各时间点的累积溶蚀率 (Q_e) ($n=3$), 结果见图 3-A。

$$Q_e = (W_i - W_0) / W_0$$

W_i 为第 i 个取样点测得的质量 (g), W_0 为初始质量 (g)

样品适当稀释后按照上述 HPLC 法测定人参皂苷 Rg_1 , 计算各时间点的累积释放率 (Q_m) ($n=3$), 结果见图 3-B。以 Q_m 对 Q_e 作图, 显示线性关系不明显 ($r=0.5626$), 证明药物主要以扩散方式从去乙酰结冷胶释放, 而非取决于溶蚀。

$$Q_m = \sum_{i=1}^n C_i / (250 \times 1000 \times 0.5)$$

C_i 为第 i 个取样点测得的人参皂苷 Rg_1 质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

2.4.2 扩散池法 以扩散池法考察 PNS 鼻用凝胶的释放特性。将孔径 0.22 μm 聚砜微孔滤膜固定于透皮试验仪的供给池与接收池之间, 有效扩散面积 1.33 cm^2 , 以生理盐水为接收液, 接收池容量 18 mL。透皮试验仪的磁力搅拌转速为 200 r/min, 水浴温度 $(37 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 。先于各个供给池内加入 0.25 mL 模拟鼻液, 加入 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶与质量浓度相同的 PNS 溶液 0.5 mL, 使其均匀覆盖于滤膜表

面。分别于 20、40、60、90、120、180、240 min 从接收池中取出 1.5 mL 液体, 同时补加 1.5 mL 等温生理盐水。HPLC 法测定人参皂苷 Rg_1 的量, 计算各时间点的累积释放量 (Q_d) ($n=3$), 结果见图 4。PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶 240 min Q_d 约为 40%, 低于 PNS 溶液, 药物释放时突释小, 呈现持

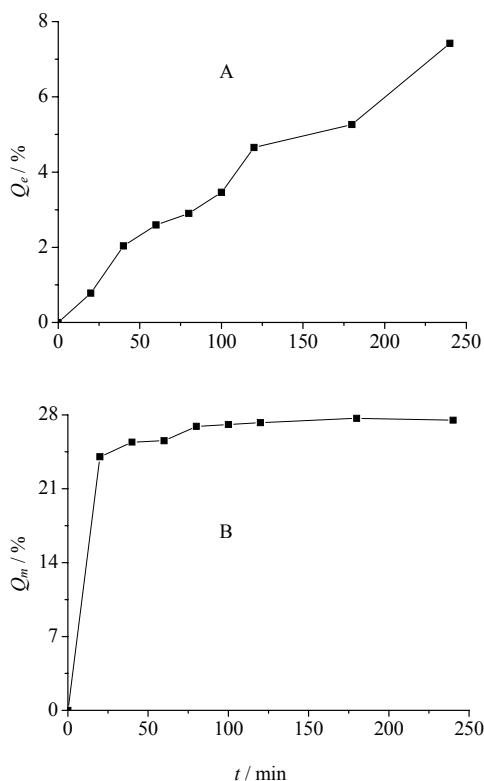


图3 无膜溶出法测定 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶的溶蚀曲线 (A) 和释放曲线 (B)

Fig. 3 Erosion (A) and drug release (B) curves of PNS-deacetylated gellan gum *in situ* gel by no membrane stripping voltammetry

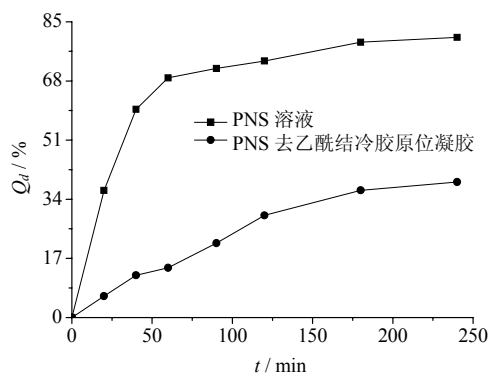


图4 扩散池法测定 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶的释放曲线

Fig. 4 Drug release curve of PNS-deacetylated gellan gum *in situ* gel by diffusion cell method

续上升的趋势,显示其在模拟鼻液中形成黏度较高的凝胶,阻碍亲水性药物 PNS 的扩散溶出,使药物释放速度明显减慢,体现了去乙酰结冷胶的缓释作用。

$$Q_d = (C_n \times 18 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 1.5) / (250 \times 1\,000 \times 0.5)$$

C_n 为第 n 个取样点测得的人参皂苷 R_{g1} 质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$),
 C_i 为第 i 个取样点测得的人参皂苷 R_{g1} 质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

利用 SPSS 17.0 统计软件,将释放曲线分别用零级、一级、Higuchi 方程、Ritger-Peppas 方程及 Weibull 方程拟合,其中以 Weibull 方程的拟合度最好,回归方程为 $\ln [1/(1-M_t/M_\infty)] = 0.853 \times \ln t - 5.2661$ ($r=0.9927$), M_t/M_∞ 为累积释放率, t 为时间。说明 PNS 原位凝胶溶胀后主要以扩散方式从凝胶骨架中释放,与无膜模型结果相符。

2.5 安全性评价

2.5.1 黏膜毒性试验 选取 30 只中华大蟾蜍,随机分成 10 组,每组 3 只,进行在体纤毛毒性试验,显微镜下观察纤毛的运动情况,考察原位凝胶基质与制剂的纤毛毒性。

将蟾蜍仰卧固定在蛙板上,止血钳牵拉,使口腔张开,将生理盐水(NS,阴性对照组)、1%去氧胆酸钠生理盐水溶液(阳性对照组)、药物溶液及各种空白凝胶等滴加于上腭,使其完全覆盖,接触 30 min (或特定时间)后用生理盐水洗净药物,再用弯头镊子牵拉、手术剪分离上腭黏膜,取大小合适的黏膜,生理盐水洗净血块和杂物,黏膜面向上平铺于载玻片上,于黏膜面滴加生理盐水,盖上盖玻片,于 400 倍光学显微镜下观察纤毛的运动情况,随后置于加有少量生理盐水的层析缸中,密闭,使水蒸气接近饱和,环境温度为 20~25 ℃。此后每隔适当时间取出标本,于显微镜下观察,如纤毛继续运动则放回层析缸,直至纤毛停止运动,记录纤毛运动的持续时间。结果见表 2。蟾蜍上腭黏膜在体纤毛毒性试验结果显示 PNS 溶液毒性随着质量浓度增加而增大。蟾蜍上腭黏膜在滴加空白或含药的 0.5%去乙酰结冷胶后未见明显充血,延长空白凝胶与上腭黏膜的接触时间至 1、2 h,甚至 4 h 后,平均纤毛运动时间在 13 h 以上,约为生理盐水的 84%,未见毒性明显增加,表明凝胶对纤毛运动的影响较小。250 mg/mL PNS-0.5%去乙酰结冷胶制剂的毒性与质量浓度相同的 PNS 溶液接近。

2.5.2 黏膜刺激性试验 本法主要用于检测滴眼剂

表 2 PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶纤毛毒性试验结果
 $(\bar{x} \pm s, n=3)$

Table 2 Cilotoxicity on PNS-deacetylated gellan gum
in situ gel ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组 别	药物剂量或 作用时间	纤毛运动 时间/min
NS	—	927±123
1%去氧胆酸钠	—	0
PNS	50 mg·mL ⁻¹	860±80
	250 mg·mL ⁻¹	797±84
	400 mg·mL ⁻¹	718±162
0.5%去乙酰结冷胶	0.5 h	883±91
	1.0 h	854±95
	2.0 h	860±84
	4.0 h	878±192
PNS-0.5%去乙酰结冷胶	250 mg·mL ⁻¹	782±118

和其他黏膜用药的刺激性^[16]。取体质量 2~3 kg 家兔 6 只,随机分成 PNS 溶液与 PNS 去乙酰结冷胶制剂组,每组 3 只,放入固定箱中,待安定后观察正常状态时结膜色泽及血管分布,然后将下眼睑拉成环形,并用手指压住鼻泪管,以防药液流入鼻泪管而吸收。分别在左眼结膜囊内滴入 PNS 溶液或 PNS 去乙酰结冷胶制剂 0.1 mL,右眼滴入等量生理盐水作为对照,闭合眼睑 1 min。给药后 30 min 内,每隔 5 min 检查眼泪分泌 1 次;给药 3 h 内,每隔 1 h 轻轻翻开眼皮,观察结膜的刺激反应,以无明显充血、流泪、羞明、水肿等刺激症状者为及格。对有刺激性的制剂组观察到作用完全消失,结膜完全恢复正常为止。

实验结果显示,两组家兔眼结膜未见明显充血、流泪、羞明、水肿等刺激症状,积分为 0。结果表明 PNS 去乙酰结冷胶鼻制剂对兔眼结膜无明显刺激作用。

3 讨论

PNS 主要用于心脑血管疾病的预防与治疗,需要长期用药。其鼻腔原位凝胶制剂必需具有良好的可喷射性、于鼻黏膜呈现良好的胶凝能力及药物缓释作用,而且无明显鼻黏膜刺激性。去乙酰结冷胶为线性多糖,由大量单糖分子组成,具有平行的双螺旋结构,呈无序的线团状。当溶液中有一价或二价阳离子存在时,能与聚合物链上的羧基络合,形成稳定的双螺旋链间氢键,每两条双螺旋链逆向聚集,构成热不可逆的三维凝胶网络,形成半固体凝

胶态^[11]。曾有文献报道^[17]不同离子浓度对去乙酰结冷胶黏度的影响。PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶能够通过鼻用喷雾泵喷射给药,而鼻液中含 Na^+ 、 K^+ 和 Ca^{2+} 等阳离子,离子浓度相对固定^[18],使其能够在鼻腔形成黏度理想的凝胶,因此去乙酰结冷胶适宜作为包裹 PNS 的平台。实验中考察了不同给药量在鼻腔环境形成凝胶的能力,以筛选较优处方。

此外,鼻腔给药制剂^[19]还要具备良好的缓释效果。造成药物鼻腔滞留时间短的主要因素是鼻纤毛的清除作用,原位凝胶的鼻黏膜黏附性可延长药物的鼻腔滞留时间,达到延缓药物清除的目的。去乙酰结冷胶形成的凝胶不易被溶蚀,可延长其在鼻腔内的滞留时间。释放试验结果显示亲水性药物 PNS 在凝胶中主要以扩散的方式释放,没有明显的药物突释,释放速度理想。PNS 去乙酰结冷胶原位凝胶的给药间隔为 12 h。文献报道^[20]动物实验显示去乙酰结冷胶可以在鼻腔至少滞留 240 min,所以推论 240 min 之后 PNS 可以持续从凝胶释放,然而体外模型难以模拟体内环境,如鼻纤毛的清除情况,因此考察凝胶 240 min 的释放情况。

纤毛毒性与黏膜刺激性试验显示 PNS 离子敏感型原位凝胶安全,无刺激性。采用 HPLC 法控制其质量,简便快捷,测量结果准确,重复性好。在以后工作中尚需进一步考察去乙酰结冷胶鼻用原位凝胶的药动力学与药效学研究,并制定其质量标准。

PNS 鼻用原位凝胶黏膜刺激性低,充分利用鼻腔给药的优点,并克服其缺点,提高药物黏膜滞留时间,对于需要多次给药的疾病的治疗具有重要意义,对于需要长期服用的心脑血管药物尤其如此。因此,将 PNS 开发成质量可控、适应中药现代化需要的鼻腔给药新制剂,具有广阔的市场前景,对皂苷类药物的研究具有重要的学术价值,对中药现代化的发展也具有重要的参考意义。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 郭洁文, 杨敏, 朱剑光, 等. 三七总皂苷对心血管作用的药理研究新进展 [J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17(2): 1-4.
- [3] 王薇. 三七总皂苷对脑出血患者血肿吸收及血浆基质金属蛋白酶-9 的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 963-965.
- [4] 周燕, 田磊, 徐林, 等. 三七总皂苷对大鼠海马 CA1 区突触传递的作用及机制 [J]. 中草药, 2007,

38(7): 1032-1036.

- [5] 张海港, 李晓辉, 唐渊, 等. 三七总皂苷抗大鼠心肌肥大作用 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1685-1688.
- [6] 贾乙, 刘雅, 李晓辉. NG701 通过减少 CD36 mRNA 表达抑制泡沫细胞形成 [J]. 药物评价研究, 2009, 32(2): 84-87.
- [7] 韩旻, 韩旻, 王青松, 等. 三七皂苷的口服吸收机制 [J]. 药学学报, 2006, 41(6): 498-505.
- [8] 沈央, 方晓玲. 三七总皂苷脂质体的药剂学性质及大鼠肺部给药药动力学研究 [J]. 中草药, 2004, 35(7): 745-749.
- [9] 吴云娟, 朱晓艺, 沙先谊, 等. 三七总皂苷鼻腔给药的药代动力学与药效学 [J]. 药学学报, 2005, 40(4): 336-381.
- [10] 许清芳, 方晓玲, 陈道峰, 等. 三七总皂苷鼻腔用制剂的研究 [J]. 药学学报, 2003, 38(11): 859-862.
- [11] 陈两绵, 王锦玉, 全燕, 等. 黏膜给药原位凝胶的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(8): 76-80.
- [12] Cao S L, Ren X W, Zhang Q Z, *et al.* *In situ* gel based on gellan gum as new carrier for nasal administration of mometasone furoate [J]. *Int J Pharm*, 2009, 365(1/2): 109-115.
- [13] 栾琳, 甘勇, 张馨欣, 等. 利巴韦林温度-离子敏感型鼻用原位凝胶喷雾剂的制备及体外性质考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(4): 249-253.
- [14] 陈恩, 陈钧, 曹师磊, 等. 柴胡鼻用 pH 敏感型原位凝胶的制备及退热效果评价 [J]. 中国医药工业杂志, 2008, 39(9): 666-670.
- [15] 胡静, 张铁军, 许浚. RP-HPLC 法测定三七总皂苷中 3 种皂苷 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 218-219.
- [16] 陈伟. 细辛脑亚微乳及其鼻腔喷雾系统的研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006.
- [17] Paulsson M, Hägerström H, Edsman K. Rheological studies of the gelation of deacetylated gellan gum (Gelrite) in physiological conditions [J]. *Eur J Pharm Sci*, 1999, 9(1): 99-105.
- [18] Lorin M I, Gaerlan P F, Mandel I D. Quantitative composition of nasal secretions in normal subjects [J]. *J Lab Clin Med*, 1972, 80(2): 275-281.
- [19] 石森林, 张韩清, 储利胜, 等. 灯盏花素不同途径给药对大鼠实验性脑缺血防治作用的比较研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 274-275.
- [20] Jansson B, Hägerström H, Fransén N, *et al.* The influence of gellan gum on the transfer of fluorescein dextran across rat nasal epithelium *in vivo* [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59(3): 557-564.