

## · 药剂与工艺 ·

## 黄芩苷鼻用凝胶的制备及其经鼻扩散研究

国大亮, 何新, 刘玉璇, 张艳军  
天津中医药大学中药学院, 天津 300193

**摘要:** 目的 制备黄芩苷鼻用凝胶剂, 并对其进行体外扩散评价。方法 以卡波姆-936 为凝胶基质, 以丙三醇为助溶剂, 用三乙醇胺调节 pH 值和黏度, 采用正交设计对方进行优化, 并以离体猪鼻黏膜透皮扩散法测定黄芩苷在鼻用凝胶中的释放速率。结果 黄芩苷鼻用凝胶最佳处方为卡波姆-936 用量 0.5%, 丙三醇用量 30%, 载药量 2%; pH 值为 6.85~7.00, 平均黏度 1 850~2 350 Pa·s; 黄芩苷经猪鼻黏膜扩散符合一级动力学过程, 回归方程为  $Y=0.2806X+0.5643$ ,  $r=0.997$ , 扩散速率约为  $0.2806 \mu\text{g}/(\text{mm}^2\cdot\text{h})$ 。结论 黄芩苷鼻用凝胶制备工艺简便, 黄芩苷主要以简单扩散方式透过鼻黏膜。

**关键词:** 黄芩苷; 鼻用凝胶; 体外扩散; 正交设计; 透皮扩散法

**中图分类号:** R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)10-1253-04

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.10.008

## Preparation of baicalin nasal gel and its permeation through nasal mucosa

GUO Da-liang, HE Xin, LIU Yu-xuan, ZHANG Yan-jun  
Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To prepare the nasal gel of baicalin and to evaluate its permeation *in vitro*. **Methods** The orthogonal design was carried out using Cabopol-936 as gel matrix, glycerine as solubilizer, and triethanolamine as pH value and viscosity adjuster. The permeating rate of baicalin from nasal gel was determined through pig nasal mucosa *in vitro* by transdermal diffusion method. **Results** The optimum nasal gel was made by 0.5% Carbomer-936, 30% glycerine, and 2% baicalin, with pH value 6.85—7.00, and the average viscosity was 1 850—2 350 Pa·s. The permeation of baicalin through nasal mucosa was fitted with first-order kinetics, the regression equation was  $Y=0.2806X+0.5643$ ,  $r=0.997$ , and the permeating rate was  $0.2806 \mu\text{g}/(\text{mm}^2\cdot\text{h})$ . **Conclusion** The preparation of baicalin nasal gel is simple. Baicalin is almost permeated through nasal mucosa by simple diffusion.

**Key words:** baicalin; nasal gel; permeation *in vitro*; orthogonal design; transdermal diffusion method

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 收载于历版《中国药典》, 具有清热燥湿、凉血安胎、解毒的功效, 主治温热病。黄芩的主要成分是黄芩苷, 体外研究表明黄芩苷具有神经细胞保护作用<sup>[1-2]</sup>。经鼻给药是药物透过血脑屏障的捷径, 药物主要通过扩散经嗅神经进入脑<sup>[3-7]</sup>。本实验基于黄芩的神经保护作用及鼻脑给药系统原理, 利用具有生物膜黏附性的卡波姆-936 为基质, 制备黄芩苷鼻用凝胶, 并考察其鼻黏膜透过性, 以期获得用药方便、生物利用度高的脑神经保护剂。

## 1 仪器与材料

Waters 515 液相色谱仪、Empower 色谱数据工作站 (美国 Waters 公司), pH5—3C 酸度计 (萧山市分析仪器厂), NDJ—79 旋转式黏度计 (上海平轩科学仪器厂), FA1004N 精密电子天平 (上海精密科学仪器有限公司), YB—P6 智能透皮扩散仪 (天津市鑫洲科技有限公司)。

黄芩苷 (天津市麦迪克医用器材有限公司, 质量分数 99%), 黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110715-201016), 卡波姆-936 (北京

收稿日期: 2012-10-16

基金项目: 科技部科技人员服务企业行动资助项目 (2009GJA10033)

作者简介: 国大亮 (1979—), 男, 博士研究生, 讲师, 主要从事中药外用研究。

Tel: (022)59596221 13920632603 E-mail: silenthawk@126.com

网络出版时间: 2013-03-28 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130328.2014.017.html>

市海淀会友精细化工厂, 批号 CP2010), 林可霉素利多卡因凝胶 (广东湛江吉民药业有限公司, 批号 D09001), 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 黄芩苷鼻用凝胶的制备

将卡波姆-936 分散至 30 mL 蒸馏水中, 静置过夜。将 2.0 g 黄芩苷混悬于 50 mL 丙三醇与水的混合溶剂中, 加入到卡波姆-936 溶液中, 滴加 20% 三乙醇胺溶液, 搅拌至黄芩苷完全溶解, 加蒸馏水至 100 g。

### 2.2 黄芩苷的测定

#### 2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Rainbow C<sub>18</sub> 柱 (250

mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-水-甲酸 (20:20:60:0.2), 检测波长 281 nm, 进样量 20 μL, 体积流量 1 mL/min, 柱温 30 °C, 理论塔板数按黄芩苷峰计算不低于 2 000。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密称取黄芩苷鼻用凝胶 120 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为黄芩苷鼻用凝胶供试品。组装离体猪鼻黏膜透皮扩散装置, 称取 0.5 g 黄芩苷鼻用凝胶注入供给池, 经时从接收池中吸取透鼻黏膜扩散液, 作为黄芩苷鼻用凝胶扩散液供试品。同法制备空白凝胶供试品和空白凝胶扩散液供试品。按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定, 色谱图见图 1。

#### 2.2.3 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品

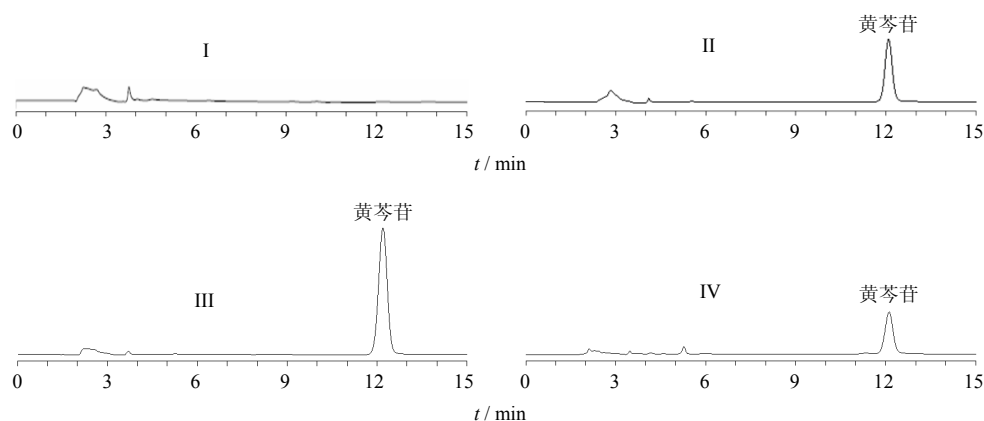


图1 空白扩散液 (I)、凝胶制剂供试品 (II)、黄芩苷对照品 (III) 和透鼻黏膜扩散液供试品 (IV) 的 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of blank permeation solution (I), sample of baicalin nasal gel (II), baicalin reference substance (III), and sample of permeation through nasal mucosa (IV)

10.48 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度为 104.8 μg/mL 黄芩苷对照品储备液, 分别精密吸取上述储备液 0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定, 以进样质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 峰面积积分值为纵坐标 ( $Y$ ) 进行线性回归, 得回归方程  $Y=53\ 802 X-189.35$ ,  $r^2=0.999\ 7$ , 结果表明黄芩苷在 2.62~52.40 μg/mL 呈良好线性关系。

**2.2.4 精密度试验** 精密吸取黄芩苷对照品储备液 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按“2.2.1”项所述色谱条件连续进样测定 6 次, 黄芩苷峰面积的 RSD 为 1.07%。

**2.2.5 重复性试验** 取黄芩苷鼻用凝胶供试品, 按“2.2.1”项所述色谱条件连续进样测定 6 次, 黄芩苷质量分数的 RSD 为 1.83%。取黄芩苷鼻用凝胶扩散

液供试品, 按“2.2.1”项所述色谱条件连续进样测定 6 次, 黄芩苷质量浓度的 RSD 为 1.22%。

**2.2.6 稳定性试验** 取黄芩苷鼻用凝胶供试品, 分别于 0、1、2、3、4 h 按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定, 黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.66%。将黄芩苷鼻用凝胶扩散液转移至具塞试管中, 置 37 °C 水浴, 分别于 0、1、2、3、4 h 按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定, 黄芩苷峰面积的 RSD 为 1.37%。表明鼻用凝胶及其扩散液中黄芩苷的稳定性良好。

**2.2.7 回收率试验** 精密称取 9.8 g 空白凝胶, 加入 200 mg 黄芩苷对照品, 搅拌至溶解均匀, 按“2.2.2”项所述制备黄芩苷鼻用凝胶供试品 6 份, 按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定, 黄芩苷平均回收率为 96.4%, RSD 为 1.37%。精密吸取“2.2.2”项所述黄芩苷对照品储备液 1.00 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加空白接收液稀释至刻度, 摇匀, 同法制备 6

份,按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定,黄芩苷平均回收率为101.7%,RSD为2.30%。

### 2.3 正交试验优化黄芩苷鼻用凝胶处方<sup>[8-9]</sup>

以卡波姆-936用量(A)、丙三醇用量(B)和三乙醇胺用量(C)为考察因素,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交设计,以旋转黏度为评价指标,并用Excel 2003进行方差分析,试验设计与结果见表1,方差分析见表2。

表1 凝胶处方 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test of gel formulation

试验号	A/%	B/%	C/g	D(误差)	黏度/(Pa·s)
1	0.05(1)	10(1)	0.5(1)	(1)	16.0
2	0.05(1)	20(2)	1.0(2)	(2)	16.9
3	0.05(1)	30(3)	1.5(3)	(3)	16.5
4	0.10(2)	10(1)	1.0(2)	(3)	59.1
5	0.10(2)	20(2)	1.5(3)	(1)	61.1
6	0.10(2)	30(3)	0.5(1)	(2)	62.5
7	0.20(3)	10(1)	1.5(3)	(2)	1 100.0
8	0.20(3)	20(2)	0.5(1)	(3)	1 010.0
9	0.20(3)	30(3)	1.0(2)	(1)	1 180.0
$K_1$	49.4	1 175.1	1 088.5	1 257.1	
$K_2$	182.7	1 088.0	1 256.0	1 179.4	
$K_3$	3 290.0	1 259.0	1 177.6	1 085.6	
R	3 240.6	171.0	167.5	171.5	

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	离偏差平方和	自由度	F值	显著性
A	2 241 618.949	2	455.943	$P<0.01$
B	4 874.069	2	0.991	
C	4 682.402	2	0.952	
D(误差)	4 916.442	2		

$F_{0.05}(2, 2)=19.0$   $F_{0.01}(2, 2)=99.0$

正交试验结果表明,卡波姆-936用量是影响凝胶黏度的主要因素( $P<0.01$ )。随着卡波姆-936用量的增大,黏度随之增大,但是黏度过大不利于鼻腔内涂展。以林可霉素利多卡因凝胶为参比制剂,最终拟定黄芩苷鼻用凝胶处方为卡波姆-936用量0.05%,载药量2%,丙三醇用量30%,用三乙醇胺调pH值至6.85~7.00。

按“2.1”项所述制备方法,以最终拟定处方制

备3批黄芩苷鼻用凝胶,黏度均值为1 920 Pa·s,载药量均值为2.09%,pH值为6.85~7.00。

### 2.4 黄芩苷鼻用凝胶的体外扩散<sup>[10]</sup>

取健康家猪,放血处死,切取猪头,沿唇裂方向切开鼻部皮肤,暴露鼻骨,以骨凿分离鼻骨,紧贴鼻骨内侧剥离鼻黏膜,生理盐水反复冲洗干净后,剪成适当大小,检查鼻黏膜完整性,将新鲜的离体猪鼻黏膜固定于扩散池中间,称取0.5 g黄芩苷鼻用凝胶注入供给池(直径15 mm),接收池加入17.0 mL超纯水,搅拌速度为400 r/min,扩散仪恒温水浴夹层内循环水温为 $(32\pm 0.5)$  °C,加样平衡15 min后开始计时,分别于0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 h取样,每次取样20  $\mu$ L,按“2.2.1”项所述色谱条件进样测定。以时间为横坐标(X),单位面积鼻黏膜累积透过量( $Q_n$ )为纵坐标(Y),对上升段(0.5~4.0 h)进行线性拟合,结果见图2。凝胶中的黄芩苷经猪鼻黏膜扩散符合一级动力学模式,回归方程为 $Y=0.280 6 X+0.564 3$ , $r=0.997$ ,扩散速率约为0.280 6  $\mu$ g/( $\text{mm}^2\cdot\text{h}$ )。

$$Q_n = CV / S$$

C为扩散液中黄芩苷的质量浓度,V为接收池体积,S为供给池内表面积

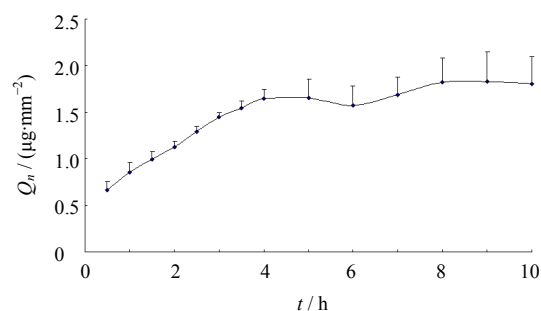


图2 黄芩苷经猪鼻黏膜的扩散曲线(n=6)

Fig. 2 Permeation of baicalin through pig nasal mucosa (n=6)

### 3 讨论

卡波姆-936为丙烯酸与聚烷基季戊四醇交联的高分子聚合物,对黏膜无刺激,皮肤偶合效果好,以此为基质制备凝胶剂方法简单,透皮性好<sup>[11]</sup>。预试验中设计了0.02%、0.2%、1%卡波姆-936用量,结果显示黏度差异十分明显。用量为0.02%时黏度小于10 Pa·s,与普通溶液剂相似;而1%时的黏度超过了参比制剂林可霉素利多卡因凝胶,成为触变型半固体。鼻用制剂一般应为略有黏度的流变型液

体,因此将正交试验中的卡波姆-936浓度考察范围定位于0.05%~0.2%。

预试验中考察了相同用量异丙醇、丙二醇、丙三醇、聚乙二醇400对黄芩苷的潜溶效果,结果丙三醇与聚乙二醇400对黄芩苷的潜溶度相近,都优于异丙醇和丙二醇,由于聚乙二醇400的黏度高于丙三醇,为了不再额外增加鼻用凝胶的黏度,最终选择了丙三醇。处方中的丙三醇用量较大,一方面丙三醇作为保湿剂能维持凝胶形态,另一方面丙三醇作为潜溶剂,提高了黄芩苷的溶解度。

鼻用凝胶剂的pH值受三乙醇胺调控,最终拟定处方的pH值在6.85~7.00,此pH值接近鼻黏膜表面pH值,黄芩苷能够充分溶解,且凝胶的黏度适中,刺激性小<sup>[12]</sup>。卡波姆-936对pH调节剂用量敏感,而三乙醇胺本身有一定黏性,不宜直接量取,笔者在实验过程中将三乙醇胺按1:5以蒸馏水稀释,通过精密加入一定体积的三乙醇胺水溶液来精确控制三乙醇胺的加入量。

林可霉素凝胶为皮肤科外用凝胶剂,因其基质组成与本实验处方相似,所以选用林可霉素凝胶为参比制剂。目前尚无卡波姆-936基质的鼻用凝胶上市,而林可霉素凝胶的黏度约为4800 Pa·s,不适于鼻腔给药,实验发现黏度约为2000 Pa·s时,鼻用凝胶的流动性、黏附性及大鼠鼻腔给药时的通透性较佳,由此拟定本研究的优化处方。

透皮扩散仪中的扩散屏障一般为动物皮肤,如大鼠或家兔的腹部皮肤,也有采用透析袋作为扩散屏障<sup>[13]</sup>,但本实验以鼻黏膜代替皮肤制成鼻用制剂体外实验模式,简单易用,更接近生理状态。为打破接收池中的扩散层,宜采用扩散面积较大的供给池。曾试用过兔和犬的鼻黏膜,但兔鼻黏膜面积较小,犬的鼻黏膜嗅神经分布与人差异较大,且质薄易破,故最终选择了猪鼻黏膜。猪鼻黏膜的生理结构与人类类似,易剥离,面积大,可用于普通透皮扩散仪。预试验中测得黄芩苷的 $pK_a$ 为7.2~7.8,推测黄芩苷在凝胶中应呈分子状态,经鼻黏膜吸收符合被动扩散模式。

实验中曾采用黄芩苷的饱和水溶液作为对比,

但实测黄芩苷的饱和溶解度只有0.111 mg/mL,扩散池中基本检测不到黄芩苷,而黄芩苷尚无鼻用制剂上市,没有相关的对比制剂,故本实验中只有一条扩散曲线。

#### 参考文献

- [1] Heo H J, Kim D O, Choi S J, *et al.* Potent inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid beta protein-induced neurotoxicity [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(13): 4128-4132.
- [2] 李振华, 承欧梅, 蒋青松, 等. 黄芩苷抑制 beta 淀粉样蛋白诱导的海马 COX-2 蛋白表达 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(5): 676-679.
- [3] 陈明霞, 张玉杰, 李维峰, 等. 重组水蛭素-2 鼻腔给药纳米粒制备工艺研究 [J]. 中草药, 2012, 43(8): 1503-1507.
- [4] Charlton S T, Davis S S, Illum L. Evaluation of bioadhesive polymers as delivery systems for nose to brain delivery: *in vitro* characterisation studies [J]. *J Controlld Release*, 2007, 118(2): 225-234.
- [5] 许润春, 林彦君, 吴品江. 中心复合设计-效应面法优化黄芩苷磷脂复合物鼻用原位凝胶的制备工艺 [J]. 中草药, 2012, 43(6): 1092-1096.
- [6] 陆洋, 翟永松, 姚宗玲, 等. 醒脑静中环烯醚萜苷类有效成分鼻腔吸收研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 471-475.
- [7] 王鹏, 肖学风. 经鼻脑靶向递药系统的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(1): 96-100.
- [8] 王颖, 刘志东, 曹晴, 等. 地榆四黄散的提取工艺优化及凝胶剂的制备 [J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 80-82.
- [9] Rathnam G, Narayanan N, Ilavarasan R. Carbopol-based gels for nasal delivery of progesterone [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2008, 9(4):1078-1082.
- [10] Paulsson M. *Controlled Release Gel Formulations for Mucosal Drug Delivery* [M]. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis, 2001.
- [11] 梁荣财, 范本杰, 孙考详, 等. 不同型号的卡波姆流变学性质比较 [J]. 中国药业, 2008, 17(19): 38-39.
- [12] 熊佳佳, 王柏. 卡波姆凝胶流变学特性及其影响因素研究 [J]. 海峡药学, 2006, 18(4): 34-35.
- [13] 俞佳, 陈丽华, 马珂. 不同基质酮替芬鼻用凝胶剂体外释放研究 [J]. 中国执业药师, 2007(5): 21-22.