

基于响应面法优选美洲大蠊口腔原位温敏凝胶的制备研究

甘 帅¹, 章津铭¹, 江茂源¹, 吴亿晗¹, 罗尧尧¹, 耿福能², 傅超美^{1*}, 廖 婉^{1*}

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137
2. 四川好医生药业集团, 四川 成都 610000

摘要: 目的 制备美洲大蠊 *Periplaneta americana* 口腔原位温敏凝胶。方法 采用自由基聚合法首次以 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NNIPAM) 和甲基丙烯酸羟丙酯 (HPMA) 合成聚(*N*-异丙基丙烯酰胺-甲基丙烯酸羟丙酯) [P(NNIPAM-HPMA)] 作为温敏材料; 通过冷溶法制备美洲大蠊口腔原位温敏凝胶, 采用 Box-Behnken 设计响应面法, 以溶蚀时间、胶凝时间为评价指标, 在固定美洲大蠊提取物用量基础上, 对羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP K30)、P(NNIPAM-HPMA) 的用量进行优选。结果 通过原位聚合法合成了 P(NNIPAM-HPMA) 温敏材料; 并用响应面法优选了可用于口腔的美洲大蠊原位温敏凝胶的处方, 优选的处方为美洲大蠊提取物 10%、HPMC 3.0%、PVP K30 9.5%、P(NNIPAM-HPMA) 10.0%, 其溶蚀时间为 2 h, 胶凝时间 8~9 s。结论 优选得到美洲大蠊口腔原位温敏凝胶, 为美洲大蠊提取物的口腔原位局部的临床应用奠定了科学依据。

关键词: 美洲大蠊; 响应面法; *N*-异丙基丙烯酰胺; 甲基丙烯酸羟丙酯; 口腔原位温敏凝胶; 处方优选; 自由基聚合法; 冷溶法; 溶蚀时间; 胶凝时间

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)08-2134-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.08.021

Formation optimization of *Periplaneta americana*-loaded thermosensitive *in situ* gel for mouth based on Box-Behnken response surface methodology

GAN Shuai¹, ZHANG Jin-ming¹, JIANG Mao-yuan¹, WU Yi-han¹, LUO Yao-yao¹, GENG Fu-neng², FU Chao-mei¹, LIAO Wan¹

1. Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Good Doctor Pharmaceutical Group of Sichuan, Chengdu 610000, China

Abstract: Objective To prepare oral *Periplaneta americana*-loaded thermosensitive *in situ* gel for mouth. **Methods** The temperature sensitive material P (NNIPAM-HPMA) was synthesized by radical polymerization with NNIPAM and HPMA as raw materials for the first time. The thermosensitive gel was prepared by cool method, and then the amount of HPMC, PVP K30, and P (NNIPAM-HPMA) was optimized by Box-Behnken design response surface method on the basis of fixing the amount of *P. americana* extract, taking the dissolution time and gelling time as evaluation indexes. **Results** The thermosensitive P(NNIPAM-HPMA) was synthesized. The optimized formation of *P. Americana*-loaded thermosensitive *in situ* gel for mouth was *P. Americana* 10%, HPMC 3.0%, PVP K30 9.5%, and P(NNIPAM-HPMA) 10.0%, with 2 h dissolution time and 8—9 s gelation time. **Conclusion** The formulation of the *P. americana*-loaded thermosensitive *in situ* gel for mouth was optimized by Box-Behnken response surface methodology, which provided a scientific basis for the oral local clinical application of extract from *P. americana*.

收稿日期: 2019-11-28

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-C-SC-53); 四川省科技支撑计划项目 (苗子工程) (2017RZ0042); 2017 年四川省“千人计划”青年人才项目; 成都中医药大学科技转化项目 (030036005)

作者简介: 甘 帅, 在读硕士, 从事中药新制剂与新剂型研究。E-mail: ganshuai963@163.com

*通信作者 傅超美, 博士, 教授, 从事药新制剂与新剂型研究。Tel: (028)61800231 E-mail: chaomeifu@126.com
廖 婉, 博士, 副教授, 从事药新制剂与新剂型研究。E-mail: 22357393@qq.com

Key words: *Periplaneta americana* (L.); Box-Behnken response surface methodology; *N*-isopropyl acrylamide; hydroxypropyl methacrylate; thermosensitive *in situ* gel for mouth; formulation optimization; radical polymerization; cold method; dissolution time; gelation time

美洲大蠊 *Periplaneta americana* (L.) 为蜚蠊科大蠊属昆虫,其药用价值始载于《神农本草经》:“味咸、寒,治血瘀,症坚,寒热,破积聚,喉咽痹,内寒无子”,具活血散瘀、解毒消痞、利水消肿等功效^[1-3]。据近年文献报道^[4-5],美洲大蠊提取物能促进组织修复、增强机体免疫力、抗菌、抗病毒、抗氧化等药理作用,尤其对于口腔溃疡、胃溃疡、溃疡性结肠炎等腔道黏膜溃疡疾病具有良好修复作用^[6-8]。口腔溃疡又名“口疮”,常发生于颊、唇以及舌缘等口腔黏膜部位,其在人群中发病率高达 20%^[9-11]。目前临床上常用化学药,如地塞米松粘贴片等类固醇激素类药物,通过抗炎作用以缓解患者不适,却没有修复作用,治标不治本^[12];也有中药美洲大蠊单味制剂康复新液,以含漱加吞服的给药方式治疗口腔溃疡,有一定效果,且未见副作用。但康复新液为溶液剂形式,在口腔创面滞留时间短,须频繁多次给药,给患者生活带来不便^[13]。因此,为进一步扩大美洲大蠊在创面修复作用应用,增强美洲大蠊提取物制剂治疗口腔溃疡疗效并减少给药次数,亟待研制出一种可直接用于口腔黏膜创面的局部给药新制剂。

温敏型原位凝胶(thermosensitive *in situ* gel)常温下为液态,若给药部位温度高于低临界溶解温度(LCST),可立即转为非化学交联的半固体凝胶,在给药部位形成凝胶^[14-15]。目前市场上已有用于体内腔道的温敏水凝胶产品,对女性阴道有抑菌作用,但未见可用于口腔溃疡的温敏凝胶产品。目前,常用的温敏材料主要有纤维素衍生物类、丙烯酰胺聚合物类(PNIPAM)和可降解聚酯类等,其中 PNIPAM 具有易于修饰的特点,而被广泛应用^[16]。*N*-异丙基丙烯酰胺聚合物(NNIPAM)作为温敏材料用于皮肤及黏膜给药已有广泛研究^[17-19],吴蕾^[20]以 NNIPAM 和甲基丙烯酸酯类为原料,制备的纳米凝胶复合物水分散体具有良好的生物相容性,在 0.01~50 mg/mL 剂量内,对细胞无毒性,是一种安全理想的温敏材料;同时 PNNIPAM 具有良好的温敏性和水溶性,可通过简单修饰使其 LCST 维持在 30~35 °C^[21]。传统方法通常以 NNIPAM 为反应单体,用过硫酸盐作为引发剂,以 *N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺作为交联剂制备 PNNIPAM 水凝胶,但传统化

学交联的 PNNIPAM 水凝胶具有机械强度低、响应速度慢和不易拉伸等缺点^[22],通过引入支链便可改善以上缺陷^[23];同时, PNNIPAM 聚合物支链上亲水和疏水基团的引入对于其 LCST 亦具有调节作用^[24]。以 PNNIPAM 和甲基丙烯酸酯类聚合物作为负温敏性水凝胶^[25],有利于美洲大蠊有效成分氨基酸、肽类、含氮小分子等持续释放^[26]。本实验拟采用偶氮二异丁腈(AIBN)作为催化剂, NNIPAM 和 HPMA 为原料聚合制备的聚(*N*-异丙基丙烯酰胺-甲基丙烯酸羟丙酯) [P(NNIPAM-HPMA)] 具有人体口腔适宜的 LCST,有利于药物持续释放。

鉴于口腔复杂环境^[27],单以一种温敏材料做凝胶时,凝胶易受唾液的溶蚀。利用 NNIPAM-HPMA 良好的水溶性和温敏性, HPMC 的黏附性,和 PVP K30 的成膜性,可能使美洲大蠊提取物有效成分水溶性增强,口腔滞留时间延长,药效作用增强。因此,本实验通过 NNIPAM 和 HPMA 首次共聚成具有较低 LCST 的聚合物,辅以黏附材料 HPMC 及成膜材料 PVP K30,并通过 Box-Behnken 优选并制备满足口腔黏膜给药 P(NNIPAM-HPMA) 型美洲大蠊口腔原位温敏凝胶,为研制出一种可直接用于口腔溃疡创面的临床新制剂提供实验基础。

1 仪器与试药

核磁共振仪, Bruker Biospin AG, 8117 Fallanden, 瑞士布鲁克公司; UV756CRT 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; SPH-100B 超凡型小容量恒温培养摇床, 上海世平实验设备有限公司; HH-S8 电热恒温水浴锅, 北京科伟永兴仪器有限公司; UPK-I-10T 型纯水机, 四川优普超纯科技有限公司; FE20 型实验室 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Adventurer™ 系列电子天平, 奥豪斯仪器(常州)有限公司; BlueSpin LED 型数显加热型磁力搅拌器, 大龙兴创实验仪器(北京)有限公司。

美洲大蠊提取物由好医生药业集团提供; *N*-异丙基丙烯酰胺(NNIPAM, 批号 P543641)、羟丙基甲基纤维素(HPMC, 批号 2017040501), 购自成都化夏化学试剂有限公司; 甲基丙烯酸羟丙酯(HPMA), 批号 H1822037, 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30,

批号 201609240)、氯化钾(批号 2017030101)、氯化钠(批号 2019071101)、氯化钙(批号 2017102001)、氯化镁(批号 2018090101)、磷酸二氢钾(批号 2014102301)、山梨酸(批号 2019080101)、苯甲酸钠(批号 2018060101)和甘露醇(批号 2018011701)购自成都克隆化学品有限公司。

2 方法与结果

2.1 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的合成与表征

2.1.1 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的合成 参照文献报道^[28],通过预实验单因素考察,以 NNIPAM 和 HPMA 为原料,筛选 NNIPAM 和 HPMA 的 4 种比例(99:1、97:3、95:5、93:7),比较 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的水溶性和 LCST,确定原料比例;随后又进行单因素考察,分别对比过硫酸钾、偶氮二异丁腈(AIBN)为催化剂所得 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的水溶性和 LCST,确定催化剂种类。通过预实验发现 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的合成的最佳条件为反应原料的 1.3% AIBN 为催化剂,NNIPAM-HPMA 95:5 时 LCST 低于 37 °C 且水溶性较好,反应时间为 4 h。具体操作如下:分别在烧杯中将 NNIPAM (95 mmol)、HPMA (5 mmol) 和 AIBN (1.3 mmol) 溶解于二甲基亚砜(DMSO, 100 mL),共置于 250 mL 三颈烧瓶中,用氮气排气 5 min

后封管,在磁力搅拌器中,60 °C 恒温油浴加热,搅拌反应 4 h。待反应完毕后,用蒸馏水透析至无味即得。合成路线图见图 1。

2.1.2 紫外(UV)法测定 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 LCST 将产物配成质量浓度为 0.05 g/mL 的溶液,装入试管中,放置于恒温水浴锅中,在不同温度下恒温 20 min 后测定其在 550 nm 处的透过率,制作曲线图,由曲线突变转折点作为聚合物的 LCST。P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 LCST 图见图 2。由图 2 可知,P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的透光率在 31.4 °C 时开始下降,故 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 LCST 为 31.4 °C。

2.1.3 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 ¹H-NMR 波谱分析 将 NNIPAM、HPMA 和 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶用氘代 DMSO 溶解,用核磁共振仪进行分析。结果见图 3。比较 NNIPAM、HPMA 和 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 ¹H-NMR 波谱图,发现 P(NIPAM-HPMA) δ : 0.80 (s, CH₃), 4.85 (1H, d, J = 133.7 Hz, OH), 7.02 (16H, d, J = 101.2 Hz, NH) 与 NNIPAM 的 δ 1.06 (6H, d, J = 6.6 Hz, 2-CH₃), 8.04~7.80 (1H, m, NH) 和 HPMA 合成成功,其制备方法为将 NNIPAM (95 mmol)、HPMA δ 4.84 (1H, d, J = 101.2 Hz, OH) 信号一致,说明聚(5 mmol)和 AIBN

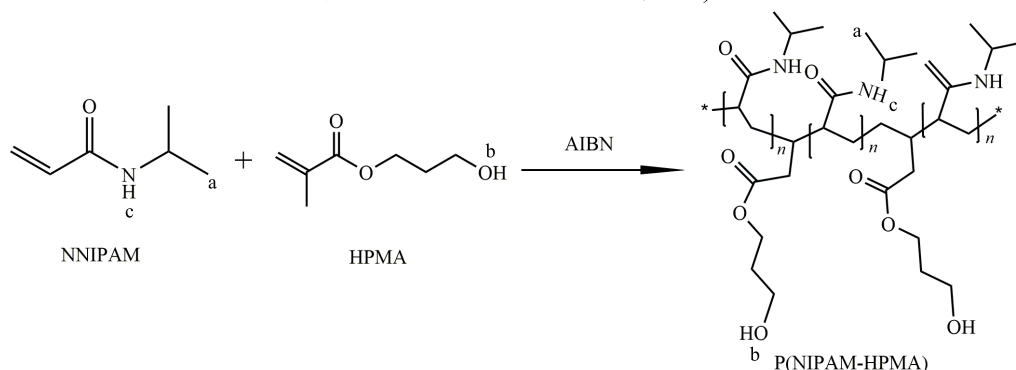


图 1 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的合成路线

Fig. 1 Synthesis scheme of P(NNIPAM-HPMA) hydrogel

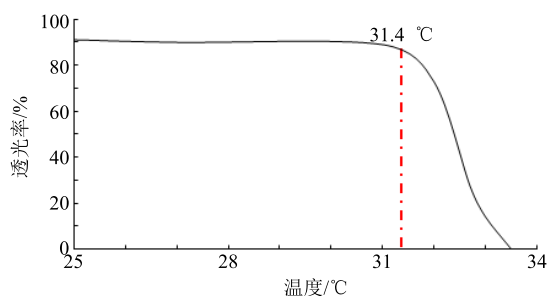


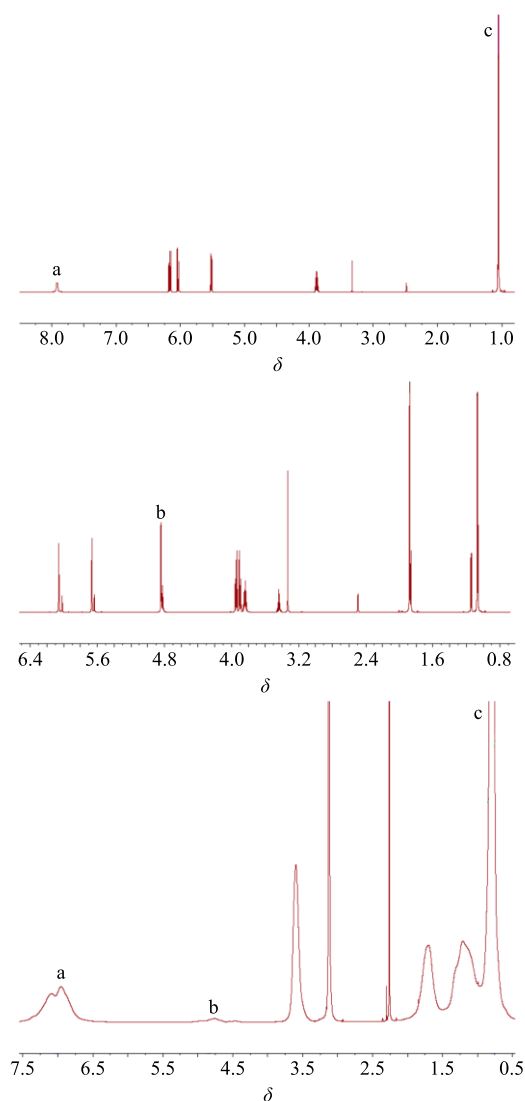
图 2 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶的 LCST

Fig. 2 LCST of P(NNIPAM-HPMA) hydrogel

(1.3 mmol) 溶于 DMSO (100 mL), 60 °C 反应 4 h, 用蒸馏水透析至无味, 即得。

2.2 美洲大蠊口腔原位温敏凝胶处方优选

2.2.1 美洲大蠊口腔原位温敏凝胶的制备 根据前期药理实验数据,10%美洲大蠊提取物可改善家兔口腔溃疡组织炎症反应浓度,促进组织修复,故将美洲大蠊提取物用量固定在 10%^[6]。采用冷法工艺制备美洲大蠊口腔温敏凝胶,取适量纯化水置于烧杯中,加入 10%美洲大蠊提取物,待溶解完全后,



a~c 分别与图 1 中 a~c 对应

The a~c in the figure correspond to the a~c in fig. 1, respectively

图 3 NNIPAM、HPMA 和 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶 ^1H -NMR 波谱图

Fig. 3 ^1H -NMR spectra of NNIPAM, HPMA and P(NNIPAM-HPMA)

在磁力搅拌下依次缓慢地加入适量 HPMC、PVP K30 和 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶,使其充分润湿,于 4 °C 条件下放置 24 h,待聚合物完全溶胀得到无团块澄清溶液,搅拌使之均匀,即得。

2.2.2 人工唾液的配制^[29] 取适量纯化水,加热至 80 °C,依次加入氯化钾 1.200 g、氯化钠 0.844 g、氯化钙 0.146 g、氯化镁 0.052 g、磷酸二氢钾 0.342 g、HPMC 2.500 g、山梨酸 0.750 g、苯甲酸钠 10.000 g 和本糖醇 30.000 g,搅拌使溶解后,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 5.3~5.7。用纯水定容至 1 000 mL,搅拌,加热保持煮沸 45 min 后搅拌至室温,

即可。

2.2.3 溶蚀时间的测定 取空白凝胶液 1 mL,置于 50 mL EP 管中,置于调整到 35 °C 的恒温气浴振荡器中使其完全胶凝,加入同样于 35 °C 保温的人工唾液 3 mL,振荡,设定频率为 100 Hz,开始计时,每隔 30 min 将人工唾液全部倒出,待凝胶从 EP 管壁脱落或完全溶解于人工唾液中则记为溶蚀完全,所需时间即为溶蚀时间。

2.2.4 胶凝时间的测定 在 1.5 mL EP 管中装入温敏凝胶 0.5 mL,将 EP 管放置于恒温水浴锅中,温度 35 °C,并计时,待凝胶由透明变为乳白色,且倒置 EP 管,管内无液体流动即停止计时,所需时间即为胶凝时间。

2.2.5 Box-Behnken 响应面法优化美洲大蠊口腔温敏凝胶处方^[30] 以 HPMC (A)、PVP K30 (B) 和 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶 (C) 用量为影响因素,溶蚀时间 (Y_1)、胶凝时间 (Y_2) 为评价指标,按 -1.68、-1、0、1、1.68 水平进行编码。因素水平、实验设计与结果见表 1。

2.2.6 方差分析 采用 Design Expert 8.0.6 软件,结合方差分析,对表 1 中数据进行处理,结果见表 2。由表 2 可知,得到模型具有高度的显著性,且失拟项没有显著性,说明方程拟合度较高。

2.2.7 处方优选 软件拟合的二次项回归方程为 $Y_1 = 2.34 + 1.02 A + 0.28 B + 0.13 C + 0.001 AB + 0.001 AC + 0.13 BC - 0.25 A^2 - 0.070 B^2 - 0.70 C^2$ 、 $Y_2 = 12.62 + 0.24 A - 1.51 B - 3.41 C - 0.62 AB + 0.38 AC - 0.62 BC + 10.13 A^2 + 0.94 B^2 + 1.12 C^2$ 。溶蚀时间与胶凝时间响应面图见图 4、5。设定溶蚀时间为 2 h,通过 Design Expert 8.0.6 软件计算,发现当 HPMC 用量为 3.0%,PVP K30 用量为 9.5%,P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶用量为 10.0% 时,胶凝时间最小,为 8 s,可信度 96.1%,为最优处方。

2.2.8 验证实验 按“2.2.1”项下制法照最优处方制备美洲大蠊口腔原位温敏凝胶,分别对其胶凝时间及溶蚀时间进行测定,考虑到 HPMC 也会因温度变化改变自身黏度^[16],故对美洲大蠊口腔原位温敏凝胶的 LCST 进行测定。结果见表 4。结果表明,取美洲大蠊提取物 10%,加入 HPMC 3.0%、PVP K30 9.5%、P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶 10.0%,采用冷溶法制备的美洲大蠊口腔原位凝胶稳定性较好,溶蚀时间为 2 h,胶凝时间短,为 8~9 s,拟合模型可靠,得载药凝胶最优处方,温敏凝胶的 LCST

表 1 星点设计与结果

Table 1 Design layout of response surface

试验号	A/%	B/%	C/%	Y ₁ /h	Y ₂ /s	试验号	A/%	B/%	C/%	Y ₁ /h	Y ₂ /s
1	5.0 (+1.68)	7.5 (0)	7.5 (0)	3.5	40	11	4.2 (+1)	6.0 (-1)	9.0 (+1)	2.5	27
2	3.0 (0)	10.0 (+1.68)	7.5 (0)	2.5	14	12	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.5	12
3	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.5	11	13	1.0 (-1.68)	7.5 (0)	7.5 (0)	0	41
4	3.0 (0)	7.5 (0)	10.0 (+1.68)	2.5	8	14	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.0	14
5	1.8 (-1)	6.0 (-1)	9.0 (+1)	0.5	24	15	4.2 (+1)	9.0 (+1)	6.0 (-1)	3.0	26
6	1.8 (-1)	9.0 (+1)	9.0 (+1)	1.5	19	16	1.8 (-1)	6.0 (-1)	6.0 (-1)	0.5	29
7	4.2 (+1)	9.0 (+1)	9.0 (+1)	3.5	20	17	3.0 (0)	7.5 (0)	5.0 (-1.68)	2.0	22
8	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.0	13	18	3.0 (0)	5.0 (-1.68)	7.5 (0)	2.0	15
9	1.8 (-1)	9.0 (+1)	6.0 (-1)	1.0	27	19	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.5	12
10	4.2 (+1)	6.0 (-1)	6.0 (-1)	2.5	31	20	3.0 (0)	7.5 (0)	7.5 (0)	2.5	14

表 2 溶蚀时间回归模型方差分析

Table 2 ANOVA for regression model of dissolving time

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	16.508	9	1.834	29.134	<0.000 1	A ²	0.879	1	0.879	13.965	0.003 9
A	14.120	1	14.120	224.269	<0.000 1	B ²	0.071	1	0.071	1.129	0.313 0
B	1.080	1	1.080	17.158	0.002 0	C ²	0.071	1	0.071	1.129	0.313 0
C	0.248	1	0.248	3.941	0.075 2	残差	0.630	10	0.063		
AB	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0	失拟项	0.296	5	0.059	0.889	0.549 9
AC	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0	纯误差	0.333	5	0.067		
BC	0.125	1	0.125	1.985	0.189 1	总误差	17.138	19			

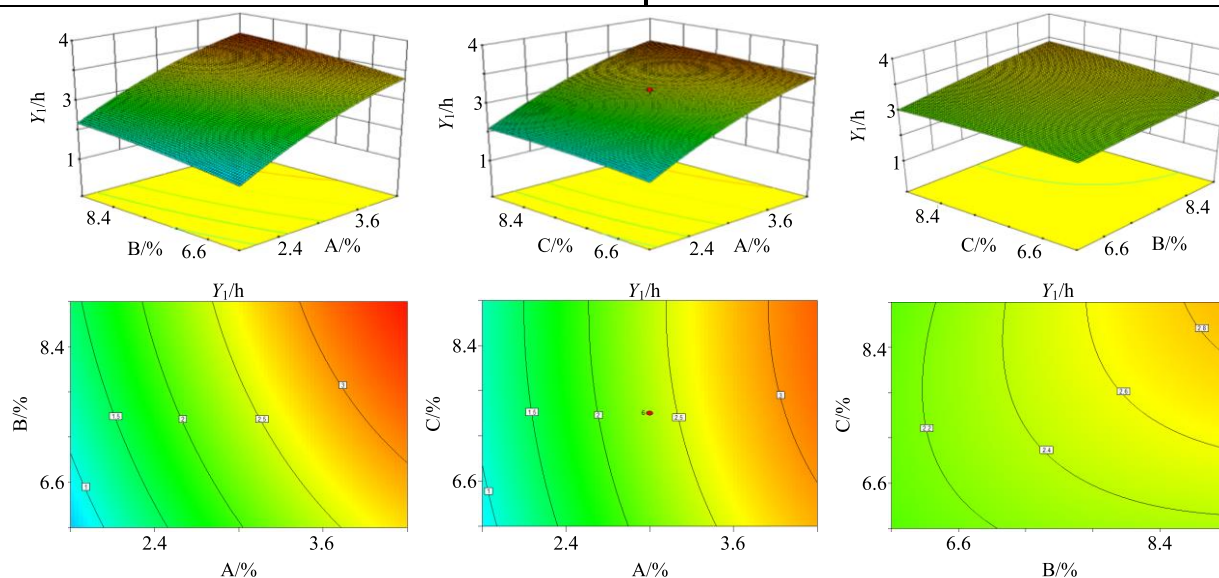


图 4 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶、PVP K30 和 HPMC 用量对溶蚀时间影响的响应面及等高线图

Fig. 4 Contour and 3D surface of P(NNIPAM-HPMA), PVP K30 (A) and P(NNIPAM-HPMA) use level for dissolution time

为 30.7~30.8 ℃。

3 讨论

美洲大蠊提取物直接用于口腔溃疡可加快黏膜修复^[31], 但提取物以液体或冻干粉形式给药后, 作

用时间短, 导致疗效不佳, 不利于其临床广泛应用。以 NNIPAM 为主要基质的原位温敏凝胶, 在使用前为可流动的液态, 当温度升高时发生相转变, 变成不可流动的半固体凝胶, 且相转变时间较快, 方便

表 3 胶凝时间回归模型方差分析

Table 3 ANOVA for regression model of gelation time

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1 678.666	1	186.518	51.405	<0.000 1	A ²	1 480.264	1	1 480.264	407.964	<0.000 1
A	0.806	1	0.806	0.222	0.647 5	B ²	12.801	1	12.801	3.528	0.089 8
B	31.320	1	31.320	8.632	0.014 8	C ²	18.054	1	18.054	4.976	0.049 8
C	158.634	1	158.634	43.720	<0.000 1	残差	36.284	10	3.628		
AB	3.125	1	3.125	0.861	0.375 2	失拟项	28.951	5	5.790	3.948	0.079 0
AC	1.125	1	1.125	0.310	0.589 9	纯误差	7.333	5	1.467		
BC	3.125	1	3.125	0.861	0.375 2	总误差	1 714.950	19			

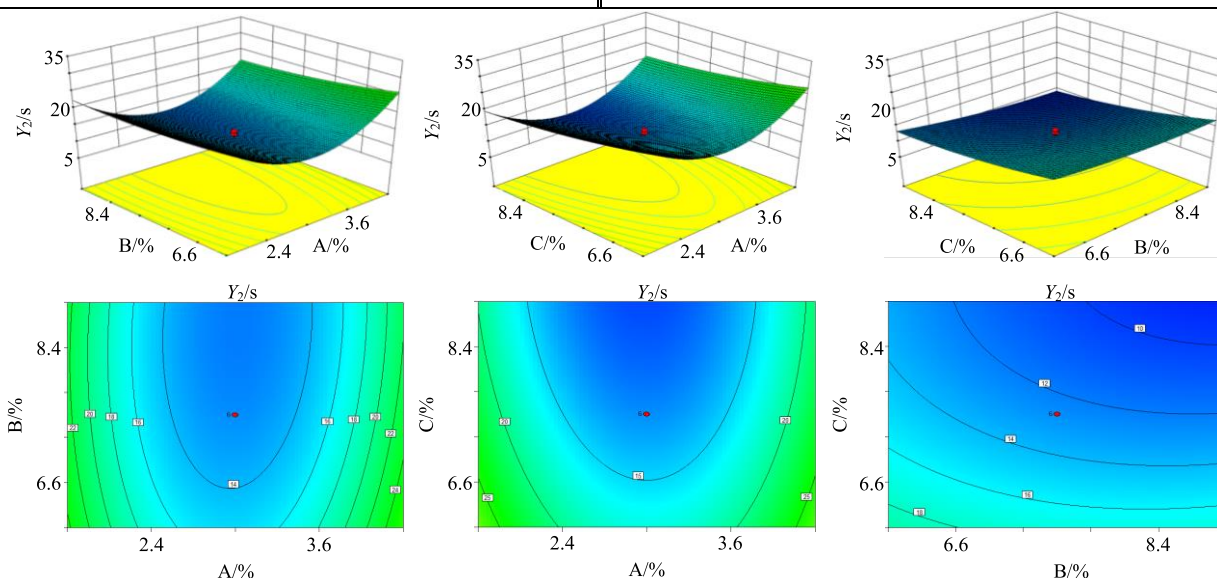


图 5 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶、PVP K30 和 HPMC 用量对胶凝时间的影响的等高线及响应面图

Fig. 5 Contour and 3D surface of P(NNIPAM-HPMA), PVP K30 (A) and P(NNIPAM-HPMA) use level for gelation time

表 4 验证试验

Table 4 Verification test

编号	HPMC/ %	PVP K30/%	P(NNIPAM- HPMA)/%	溶蚀 时间/h	胶凝 时间/s	LCST/ ℃
1	3.0	9.5	10.0	2	8	30.7
2	3.0	9.5	10.0	2	9	30.7
3	3.0	9.5	10.0	2	8	30.8

用于口腔部位给药^[19]。口腔原位温敏凝胶相比于其他液体制剂,可实现缓释的作用,给药方便,给药剂量和部位精确^[32];同时,凝胶保护膜具有保护作用,防止食物残渣和细菌等对于溃疡创面的污染,加速创面愈合。

本研究前期通过 NNIPAM 和 HPMA 的比例和反应催化剂等条件筛选,得到最优水溶性及 LCST 的 P(NNIPAM-HPMA) 的反应配比,合成步骤简单,易于操作,采用 UV 法测定 LCST 可避免目测时的主观因素影响。为增加凝胶的生物粘附性,延长给

药时间,论文前期对 HPMC、CMC-Na 和卡波姆等黏附材料进行考察^[29],最后选定 HPMC。PVP K30 是最常用的水溶性成膜材料,具有良好的生物相容性和可降解性,可明显缩短胶凝时间,方便给药,利于患者正常生活。

本实验通过原位聚合法合成了 P(NNIPAM-HPMA) 水凝胶,然后以响应面法-星点设计优选了美洲大蠊口腔原位温敏凝胶的处方,并以方程拟合的结果制备 3 批美洲大蠊口腔原位温敏凝胶进行了验证试验,结果表明方程拟合处方合理可行,成功制备了美洲大蠊口腔原位温敏凝胶,给药方便,可快速胶凝,并可延长给药时间,制作工艺稳定易行,为美洲大蠊的临床广泛应用提供了一种新制剂,也为治疗口腔溃疡提供了新思路。

参考文献

- [1] 孙星衍. 神农本草经 [M]. 北京: 商务印书馆, 1955.
- [2] 邓雨娇, 李 燕, 贺亚男, 等. 基于主客观嗅觉评价结

- 合挥发性成分分析优选美洲大蠊去腥矫臭炮制方法 [J]. 中草药, 2020, 50(2): 338-347.
- [3] 高洁, 沈咏梅, 岳碧松. 美洲大蠊药理作用及其临床疗效的研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(4): 203-208.
- [4] 林喆, 李全学, 徐静, 等. 美洲大蠊化学成分和生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3645-3649.
- [5] 甘平, 张旭强, 何旭, 等. 美洲大蠊醇提物对小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 123-128.
- [6] 李杰, 陈哲杰, 石金凤, 等. 美洲大蠊口腔贴膜剂的制备及其抗口腔溃疡作用考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 29-36.
- [7] 邹俊波, 桑文涛, 王芳, 等. 美洲大蠊提取物对乙醇致小鼠急性胃溃疡的预防作用 [J]. 中成药, 2016, 38(11): 2325-2331.
- [8] 张汉超, 耿福能, 沈咏梅, 等. 康复新液药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(3): 57-60.
- [9] 孟智坚, 张瑜, 李云华. 小建中汤加味对复发性口腔溃疡患者免疫功能及血清炎症因子表达的影响 [J]. 中医药导报, 2018, 24(2): 99-101.
- [10] 颜璐璐. 冰穿膜剂的制备及对大鼠口腔溃疡的治疗作用 [D]. 开封: 河南大学, 2019.
- [11] Lehman J S, Rogers R S. Acute oral ulcers [J]. *Clin Dermatol*, 2016, 34(4): 470-474.
- [12] 丁玲. 肿痛安胶囊联合醋酸地塞米松粘贴片治疗复发性口腔溃疡的临床疗效分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(58): 154-155.
- [13] 王晓君, 许建民. 康复新液在复发性口腔溃疡治疗中应用效果的探讨 [J]. 全科口腔医学电子杂志, 2019, 6(31): 134-136.
- [14] 别海燕, 王宏丽, 王英婷. 星点设计-响应面法优化盐酸氮卓斯汀温敏型原位凝胶滴眼液处方 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(8): 954-960.
- [15] 娄杰, 贾运涛, 田睿, 等. 眼用小檗碱白蛋白纳米粒温敏原位凝胶的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2013, 44(3): 277-281.
- [16] Klouda L. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications: A seven-year update [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 97(Pt B): 338-349.
- [17] 陈晨, 周名兵, 郭志君, 等. 皮肤敷料用温敏性氮异丙基丙烯酸酯接枝改性聚四氟乙烯膜 [J]. 功能材料, 2014, 45(18): 18125-18128.
- [18] 李澄, 李砚. 聚 *N*-异丙基丙烯酸酯/壳聚糖温敏性敷料——自剥离伤口敷料的制备及性能研究 [J]. 大连民族大学学报, 2016, 18(3): 237-241.
- [19] Cheaburu-ilmaz C N, Yilmaz O, Kose F A, *et al.* Chitosan-graft-poly (*N*-isopropylacrylamide)/PVA cryogels as carriers for mucosal delivery of voriconazole [J]. *Polymers (Basel)*, 2019, doi:10.3390/polym11091432.
- [20] 吴蕾. 肝癌介入治疗用的 BC 晶须/聚 (*N*-异丙基丙烯酸酯-co-甲基丙烯酸丁酯) 复合物的制备、表征及相关生物学评价 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [21] 刘阳, 尹玉利, 贺艳. 聚 *N*-异丙基丙烯酸酯温敏水凝胶的研究与应用进展 [J]. 高分子通报, 2019, 487(7): 13-19.
- [22] Wang J, Sun X, Zhang Z, *et al.* Silk fibroin/collagen/hyaluronic acid scaffold incorporating pilose antler polypeptides microspheres for cartilage tissue engineering [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 9(4): 35-44.
- [23] Matsukawa K, Masuda T, Kim Y S, *et al.* Thermoresponsive surface-grafted gels: Controlling the bulk volume change properties by surface-localized polymer grafting with various densities [J]. *Langmuir*, 2017, 33(48): 13828-13833.
- [24] Yin X, Hoffman A S, Stayton P S. Poly (*N*-isopropylacrylamide-co-propylacrylic acid) copolymers that respond sharply to temperature and pH [J]. *Biomacromolecules*, 2006, 7(5): 1381-1385.
- [25] 王朔. 基于聚 *N*-异丙基丙烯酸酯有机-无机复合水凝胶的制备与表征 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
- [26] 王婷, 王潇, 李佳鑫, 等. 美洲大蠊药渣中多糖制备工艺优化及促创面愈合的综合利用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2339-2346.
- [27] Sharma D, Sharma A, Garg R. Design, development and *in vitro/ex vivo* evaluation of mucoadhesive buccal film of benzydamine hydrochloride for the effective treatment of aphthous stomatitis [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2018, 12(4): 277-294.
- [28] 丁萍萍, 傅相锴, 陈祝君, 等. *N*-异丙基丙烯酸酯-甲基丙烯酸酯类共聚物温敏性能及应用的研究 [J]. 功能材料, 2009, 40(4): 663-666.
- [29] 卢锦华, 刘庆萃, 苏宏瑞. 人工唾液处方及工艺探究 [J]. 中国处方药, 2015, 13(3): 1-3.
- [30] 薛棱芬, 殷雅卓, 谢兴亮, 等. 苦参碱直肠原位温敏凝胶的制备及性能评价 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1311-1316.
- [31] 谭巧云, 满红霞, 那凯歌, 等. 美洲大蠊提取物对口腔溃疡大鼠模型的作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(11): 1014-1016.
- [32] 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]. 黔南民族医学学报, 2015, 28(1): 9-13.