

荜茇胡椒复方温敏凝胶的制备及质量评价

李春梅^{1*}, 赵炳涛¹, 史彤辉¹, 周长胜²

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 哈尔滨商业大学马克思主义学院, 黑龙江 哈尔滨 150028

摘要: 目的 制备荜茇胡椒复方温敏凝胶 (*Piperis Longi Fructus-Piperis Fructus* prescription thermosensitive gel, PLF-PFP TG) 并对其进行体外质量评价。方法 采用冷溶法, 以泊洛沙姆 407 (Poloxamer 407, P407) 和 P188 为温敏材料, 制备 PLF-PFP TG, 通过单因素实验和 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 设计试验优化出最优处方, 从凝胶的理化性质、有效成分胡椒碱含量和体外释药考察等方面对所制备的凝胶制剂进行质量评价。结果 所得 PLF-PFP TG 的最优处方配比为 P407 22.0%、P188 2.6%、PEG-6000 3.1%、甘油 0.4%。PLF-PFP TG 在室温下为黄棕色液体、pH 值为 6.49 ± 0.03 、胡椒碱平均质量浓度为 (1.67 ± 0.03) mg/mL、胶凝温度 (gelation temperature, T_c) 为 (35.57 ± 0.25) °C; PLF-PFP TG 中胡椒碱在 48 h 时的累积释放率为 (60.71 ± 0.67) %, 释药方程符合 Ritger-Peppas 模型, 且具有一定的缓释效果。温敏凝胶初步稳定性考察得知, 凝胶的储存应避免高温和高强光。结论 成功制得 PLF-PFP TG, 质量评价结果良好。

关键词: 荜茇胡椒复方; 温敏凝胶; 处方优化; 质量评价; Box-Behnken 设计-响应面法; 胡椒碱

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)24-8965-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.24.010

Preparation and quality evaluation of *Piperis Longi Fructus-Piperis Fructus* prescription thermosensitive gel

LI Chunmei¹, ZHAO Bingtao¹, SHI Tonghui¹, ZHOU Changsheng²

1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. School of Marxism, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China

Abstract: Objective The *Piperis Longi Fructus-Piperis Fructus* prescription thermosensitive gel (PLF-PFP TG) was prepared and its *in vitro* quality was evaluated. **Methods** The PLF-PFP TG was prepared using the cold solubilization method with P407 and P188 as thermosensitive matrix materials. The optimal formulation was determined through one-way experiments and Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM). The gel was evaluated based on its physicochemical properties, active ingredient content (piperine), and *in vitro* drug release profile. **Results** The optimal prescription ratio of the obtained PLF-PFP TG consisted of 22.0% P407, 2.6% P188, 3.1% PEG-6000, and 0.4% glycerol. At room temperature, the gel appeared as a yellow-brown liquid with a pH of 6.49 ± 0.03 and a piperine content of (1.67 ± 0.03) mg/mL, exhibiting a gelation temperature (T_c) of (35.57 ± 0.25) °C. The cumulative release rate of piperine reached (60.71 ± 0.67) % after 48 h, fitting the Ritger-Peppas model and demonstrating sustained-release characteristics. Preliminary stability tests indicated that the gel should be protected from high temperature and intense light exposure. **Conclusion** The PLF-PFP TG was successfully prepared and exhibited favorable quality attributes.

Key words: *Piperis Longi Fructus-Piperis Fructus* prescription; thermosensitive gel; prescription optimization; quality evaluation; Box-Behnken design-response surface methodology; piperine

荜茇胡椒复方 (*Piperis Longi Fructus-Piperis Fructus* prescription, PLF-PFP) 出自宋代《圣济总

录》的荜茇丸, 由荜茇和胡椒等药材组成, 捣烂蜡封后置于龋齿孔可以治疗牙痛。荜茇为胡椒科胡椒

收稿日期: 2025-08-11

基金项目: 2024 年度黑龙江省教育科学规划课题 (GJB1424247); 2023 年度黑龙江省中医药经典普及化专项课题 (ZYW2023-077); 2023 年度黑龙江省博士后科研启动金项目 (BS0051); 2023 黑龙江省哲学社会科学规划年度项目 (23KSD129)

*通信作者: 李春梅, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为天然药物新剂型的研究与开发。E-mail: lichunmei81@163.com

属植物荜茇 *Piper longum* L. 的干燥近成熟或成熟果穗, 在中国古代就认为有防龋齿的应用, 作为天然药物新来源具有巨大潜力, 这种植物传统用于牙科和口腔护理^[1-2]。胡椒 *Piper nigrum* L. 是常见的一种香料, 但也同时被应用于治疗胃寒疼痛、龋齿牙痛、关节炎等多种疾病^[3-4]。胡椒碱为荜茇和胡椒的主要活性成分, 是胡椒科植物特有的一种酰胺类生物碱, 具有良好的抗炎、抑菌、抗肿瘤等作用^[5-6], 其抗炎机制通过抑制炎症信号通路、抗氧化和调节免疫反应等多靶点机制实现。

由于荜茇和胡椒中的活性成分水溶性差, 且在弱酸至弱碱环境中易降解, 化学稳定性较低, 导致其口服生物利用度较差。另外, 口腔制剂由于唾液冲刷, 造成停留障碍, 很大程度上限制了其药效。固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticles, SLNs) 作为一种新兴的药物递送系统, 能够有效包载难溶性药物, 显著提高其水溶性和生物利用度。温敏凝胶在口腔给药领域具有独特优势, 其能够实现药物在局部区域的弥散, 深入渗透至口腔黏膜和牙龈间隙, 并紧密黏附于作用部位, 在进行局部治疗的同时, 发挥缓释作用^[7-8]。本实验采用冷溶法以泊洛沙姆 407 (Poloxamer 407, P407) 和 P188 作为温敏材料制备空白温敏基质, 加入处方量的 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 冻干粉, 制备载药的温敏凝胶, 即 PLF-PFP 温敏凝胶 (PLF-PFP thermosensitive gel, PLF-PFP TG), 在筛选出最佳处方后, 对所制得凝胶的各种体外参数进行了表征, 通过观察其外观、测定 pH 值和胶凝温度 (gelation temperature, T_c)、拍摄扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 和透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、进行体外释药实验、测定其黏度及流变性、口腔生物黏附性、物理学初步稳定性来进行温敏凝胶的质量评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UV-5200PC 型紫外可见分光光度计, 上海元析仪器有限公司; TGL-16G 型台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; Vaco2-80 型冷冻干燥机, 德国 Zirbus technology GmbH 公司; LE204E/02 型电子天平, 梅特勒-托利多科技 (中国) 有限公司; DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限责任公司; HAAKET MARSTM 型流变仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; HT7820 型透射电镜, 日

本日立集团; SHA-CA 型水浴恒温振荡器, 金坛市城东新瑞仪器厂; NDJ-1 型旋转式粘度计, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

1.2 材料

胡椒碱对照品, 批号 B20516, 质量分数 $\geq 98\%$, 上海源叶生物科技有限公司; 荜茇、胡椒, 黑龙江省国药药材有限公司, 经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定, 荜茇为胡椒科胡椒属植物荜茇 *Piper longum* L. 的干燥近成熟或成熟果穗, 胡椒为胡椒科胡椒属植物胡椒 *P. nigrum* L. 的干燥近成熟或成熟果实。无水乙醇 (分析纯)、甘露醇, 天津市天力化学试剂有限公司; 聚乙二醇-6000 (polyethylene glycol-6000, PEG-6000), 天津市致远化学试剂有限公司; 胆固醇 (分析纯)、蛋黄卵磷脂、P407、P188、甘油, 上海源叶生物科技有限公司; 蒸馏水, 哈尔滨市文景蒸馏水厂。

2 方法与结果

2.1 胡椒碱测定方法的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取胡椒碱对照品 10 mg 置于 50 mL 棕色量瓶中, 加入适量无水乙醇定容至刻度, 即得质量浓度为 0.2 mg/mL 的对照品储备溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取荜茇和胡椒 (1:1) 混合药材粉末 (过 40 目筛) 约 50 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加无水乙醇适量, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 用无水乙醇定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 移至 25 mL 棕色量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度, 即得供试品储备溶液。

2.1.3 最大吸收波长的确定 采用紫外-可见分光光度计, 将无水乙醇作为空白对照, 分别移取 0.4 mL 的对照品储备液, 用无水乙醇定容至 10 mL 棕色量瓶中, 在 200~400 nm 进行紫外光谱扫描, 确定胡椒碱的最大吸收波长为 343 nm。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取对照品储备溶液适量, 用无水乙醇稀释, 将其配制成 1、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。按照“2.1.3”项下所得最大吸收波长进行测定, 记录不同质量浓度胡椒碱对照品溶液的吸光度 (A) 值, 以 A 值为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 进行线性回归, 回归方程为 $Y=0.1012X-0.0488$, $R^2=0.9996$, 结果表明胡椒碱在 1.0~10.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.1.5 精密度考察 精密吸取供试品溶液, 配制 3

份质量浓度分别为 4.0、6.0、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液，在胡椒碱的紫外最大吸收波长下测定 A 值，1 d 内重复测定 3 次；连续测定 3 d。计算得到低、中、高不同质量浓度胡椒碱溶液的日内和日间精密度 A 值的 RSD 均小于 2%，表明该测试方法的精密度良好。

2.1.6 稳定性考察 精密称取一定量的荜茇和胡椒，按照“2.1.2”项下方法配制供试品溶液，使用无水乙醇将供试品溶液稀释至一定质量浓度，在胡椒碱的紫外最大吸收波长下，分别在制备后 0、2、4、6、8、10、12 h 测定 A 值，计算胡椒碱 A 值的 RSD 为 1.23%，结果表明该方法稳定性良好。

2.1.7 重复性考察 精密称取一定量的荜茇和胡椒，按照“2.1.2”项下方法平行配制 6 份供试品溶液，6 份供试品溶液均用无水乙醇稀释至一定质量浓度，在胡椒碱的紫外最大吸收波长下测定 A 值。计算胡椒碱 A 值的 RSD 为 1.16%，结果表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率考察 精密吸取已测知胡椒碱含量的样品分 3 组，每组 3 份，分别精准加入高、中、低质量浓度的对照品溶液，制备供试品溶液，在胡椒碱的紫外最大吸收波长下测定 A 值。计算得胡椒碱的平均加样回收率为 100.62%，其 RSD 值为 1.65%，表明该测试方法回收率良好。

2.2 PLF-PFP 提取物的制备

前期经正交试验确定 PLF-PFP 提取物的制备处方工艺，即称取荜茇、胡椒各 10 g，置于圆底烧瓶中，加入 25 倍量 70% 乙醇溶液，回流提取 2 次，每次 2 h，胡椒碱提取率为 39.95 mg/g，提取完成后进行提取液的浓缩干燥，备用，干浸膏得率为 14.35%。

2.3 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 的制备方法

采用改良的溶剂注入法制备载药的 SLN 溶液，精密称取 100 mg 蛋黄卵磷脂、12.5 mg 胆固醇和 6.7 mg PLF-PFP 乙醇提取物，置于 50 mL 烧杯中，加入 10 mL 无水乙醇，50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴超声（240 W、40 kHz）2 min 使其充分溶解，作为有机相；另外量取 12 mL 蒸馏水置于 50 mL 烧杯中，作为水相，待用；用 1 mL 注射器吸取有机相，缓慢注入水相中，使用磁力搅拌器（300 r/min、50 $^{\circ}\text{C}$ ）搅拌 2 h，至无醇味，再将制得溶液放入冰水浴中超声（240 W、40 kHz）1 min，即得 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液。

2.4 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 冻干粉的制备

考虑到 SLN 溶液稳定性的原因，进而将最优处

方制备的 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液加工为冻干粉末。首先加入 3% 甘露醇为冻干保护剂^[9]，摇晃使其充分溶解，然后在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的冰箱中预冻 24 h，第 2 天将样品迅速置于初始温度为 -35 $^{\circ}\text{C}$ 的冷冻干燥机中，最后抽真空后冷冻干燥 24 h，制备得 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 冻干粉，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，备用。

2.5 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 及其冻干粉的表征

2.5.1 外观观察 根据“2.3”“2.4”项下方法平行制备 3 批 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液及其冻干粉制剂，并在室温（25 $^{\circ}\text{C}$ ）和自然光线下，进行观察，并拍照记录，结果见图 1。PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液的外观澄清透明，伴有一点淡黄色乳光，3 批样品均较稳定。同样，PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 冻干粉制剂分散均匀，为细小粉末状态，粉末也带有淡黄色特征。

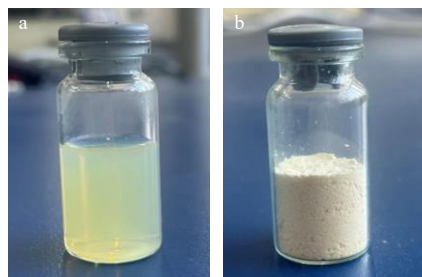


图 1 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液 (a) 及其冻干粉制剂 (b) 的外观观察图

Fig. 1 Exterior viewing diagrams of SLN solution (a) and its freeze-dried powder preparation (b) of PLF-PFP ethanol extract

2.5.2 粒径考察 分别取适量根据“2.3”“2.4”项下方法制备的 3 批次 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液及其冻干粉制剂（冻干粉先复溶），用超纯水稀释 10 倍，使用 Litesizer-TM500 纳米粒度电位仪测定其粒径，结果见表 1。可见 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液和 SLN 冻干粉溶液的粒径分布较为平均，剂型较稳定。冷冻干燥处理后的冻干粉复溶液粒径略有增加，可能是因为冻干过程中部分纳米粒子存在粘连，但是均在纳米级别，不影响给药。

2.5.3 包封率和载药量测定 采用低速离心法，精密量取 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液 2 mL，置于棕色离心管中，在 4 000 r/min 转速和 16 cm 离心半径条件下离心 15 min；精密量取 100 μL 上清液并用无水乙醇稀释定容至 10 mL 量瓶中，按照“2.1”项下紫外分析方法，测定 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN

表 1 3 批次 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液及其冻干粉剂粒径测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Particle size measurement results of three batches of SLN solution of PLF-PFP ethanol extract and its freeze-dried powder preparation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	批次	粒径/nm
PLF-PFP乙醇提取物 SLN溶液	1	145.64±2.11
	2	144.85±2.08
	3	145.76±1.09
PLF-PFP乙醇提取物 SLN冻干粉	1	174.33±2.02
	2	174.72±1.62
	3	175.22±2.08

中胡椒碱的含量 (W_0)；精密量取 SLN 溶液 100 μ L 并用乙醇破乳定容至 10 mL 量瓶中，按照“2.1”项下紫外分析方法测定 SLN 溶液中胡椒碱的总含量 (W_1)，按照下式计算纳米粒中胡椒碱的封装率和载药量。

$$\text{封装率} = W_0 / W_1$$

$$\text{载药量} = W_0 / W_s$$

W_1 为总药物质量， W_0 脂质体药物质量， W_s 为药物和载体材料的总质量

结果显示，3 批 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液的平均封装率为 (88.32 ± 0.94)%，其值大于 80%；经过计算 3 批 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液的平均载药量为 (4.92 ± 0.05)%，RSD 为 1.04%；SLN 剂型载药量较稳定。

2.5.4 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 的体外释放研究 采用平衡透析法。分别取一定量 (10.0 mL) 的 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液和 PLF-PFP 乙醇提取物混悬水溶液 (相当于胡椒碱 5.0 mg)，放入提前处理过的透析袋中，置于 100.0 mL 体积分数 1% 聚山梨酯-80 的生理盐水溶液中，在 37 $^{\circ}$ C、100 r/min 条件下振荡，平行制备 3 份。分别于 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、18.0、24.0、36.0、48.0 h 精密吸取透析液 1.0 mL，同时补充同温等体积的透析液，0.45 μ m 微孔滤膜滤过，无水乙醇稀释后，使用紫外-可见分光光度计测定每个时间点的 A 值，计算质量浓度后取平均值。计算复方剂型中胡椒碱的累积释药百分比，绘制释药曲线，并进行模型拟合，根据 R^2 来确定其符合的释放模型。结果见图 2，当以 1% 聚山梨酯-80 的生理盐水溶液作为释放介质的时候，复方提取物水混悬液中的胡椒碱，在刚开始时的释放较快，在 2 h 的时候胡椒碱的释放率达

(43.51 ± 0.76)%，属于突释，在 48 h 时胡椒碱的释放率达到 (54.67 ± 1.48)%，趋于稳定状态。表明提取物中的胡椒碱在水混悬液中释放度较低，并不能完全释放，原因在于复方提取物属于难溶于水的成分，在蒸馏水中呈混悬型，分散度不均匀，不利于体外的正常释放。相反，复方提取物 SLN 中的胡椒碱，在 1% 聚山梨酯-80 的生理盐水溶液释放介质中的释放分为 2 个阶段，首先第 1 阶段为突释阶段，在前 4 h 胡椒碱的释放率快速达到 (56.59 ± 0.82)%，原因在于 SLN 溶液存在少部分游离的药物分布于溶液中，它们会快速通过半透膜形成突释；随后的释放为缓慢释放，直到 36 h 胡椒碱的累积释放率可高达 (78.74 ± 0.76)%，基本结束释放。对比图 2 中 2 个释放曲线可以看出，SLN 溶液具有明显的缓释作用。

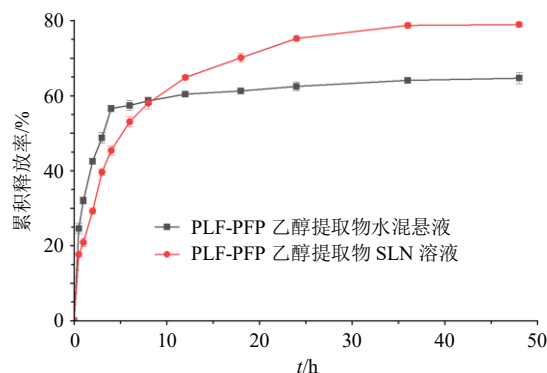


图 2 PLF-PFP 乙醇提取物水混悬液和 SLN 溶液的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 *In vitro* release profiles of aqueous suspension of PLF-PFP ethanol extract and SLN solutions of compound extracts ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.6 PLF-PFP TG 的制备

采用冷溶法，称取处方量 P407、P188 和 PEG-6000 置于烧杯中，加入处方量蒸馏水，于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中放置 24 h，充分溶胀，直至完全溶解得到澄清均一的溶液。再加入处方量甘油和 SLN 冻干粉，充分搅拌得到均匀分散的载药温敏凝胶溶液。

2.6.1 T_c 的测定 精密量取制备好的温敏凝胶溶液 2 mL，置于 10 mL 圆底离心管中，放入 20 $^{\circ}$ C 水浴锅中，使离心管中凝胶液面低于水浴锅液面约 1 cm，以 0.5 $^{\circ}$ C/min 的速度控制水浴锅缓慢升温，每升高 0.1 $^{\circ}$ C，倾斜西林瓶约 45 $^{\circ}$ ，观察瓶中温敏凝胶溶液是否流动，若离心管中凝胶溶液不在流动，则此时测得的温度即为温敏凝胶的 T_c 。

2.6.2 单因素考察 PLF-PFP TG 制备处方 选取

P407、P188、PEG-6000、甘油质量分数这4个因素进行单因素筛选,确定各因素对未载药空白温敏凝胶 T_c 的影响,当考察其中1项时,固定其他制备条件不变。

(1) P407 质量分数考察:固定 P188 质量分数 3%、PEG-6000 质量分数 3%、甘油质量分数 0.6%、水相体积 10 mL,利用“2.6.1”项下方法测试温敏凝胶的 T_c ,比较 P407 质量分数分别在 20%、21%、22%、23%、24%、25%时 T_c 的不同,结果见表 2。温敏凝胶的 T_c 随着 P407 质量分数的增加而降低。当 P407 质量分数为 20%时,温敏凝胶的 T_c 高达 38.3 °C;当 P407 质量分数为 23%及以上时,凝胶的 T_c 与人体口腔黏膜温度(36.3~37.2 °C)相差过大,P407 质量分数 21%与 22%相比,性状较差且透明度下降。综合分析,选择 P407 质量分数最优值为 22%。

表 2 P407 质量分数对温敏凝胶 T_c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of P407 mass fraction on T_c of thermosensitive gel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

P407/%	$T_c/^\circ\text{C}$	P407/%	$T_c/^\circ\text{C}$
20	38.30±0.47	23	32.10±0.61
21	35.70±0.71	24	30.40±0.65
22	34.40±0.39	25	25.70±1.29

(2) P188 质量分数考察:根据“2.6.2 (1)”项下的实验结果设定 P407 质量分数为 22%,固定 PEG-6000 质量分数 3%、甘油质量分数 0.6%、水相体积 10 mL,利用“2.6.1”项下方法测试温敏凝胶的 T_c ,比较 P188 质量分数分别在 1%、2%、3%、4%、5%、6%时 T_c 的不同,结果见表 3。温敏凝胶的 T_c 随着 P188 质量分数的增加而升高,与 P407 质量分数的影响趋势正好相反,考虑通过调节二者的比例来科学设定凝胶的 T_c 。当 P188 质量分数为 6%时,温敏凝胶的 T_c 高于人体口腔黏膜温度的平均温度 36.5 °C;当 P188 质量分数为 2%及以下时,温敏凝胶的 T_c 与人体口腔黏膜温度相差过大,出于节省实验成本和减少干扰的考虑。综合分析后,选择

表 3 P188 质量分数对温敏凝胶 T_c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of P188 mass fraction on T_c of thermosensitive gel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

P188/%	$T_c/^\circ\text{C}$	P188/%	$T_c/^\circ\text{C}$
1	29.80±0.55	4	34.90±0.47
2	32.10±0.67	5	35.70±0.71
3	34.60±0.36	6	36.60±0.46

P188 质量分数最优值为 3%。

(3) PEG-6000 质量分数考察:根据“2.6.2 (1)”项下的实验结果设定 P407 质量分数为 22%,根据“2.6.2 (2)”项下的实验结果设定 P188 质量分数为 3%,固定甘油质量分数 0.6%和水相体积 10 mL,利用“2.6.1”项下方法测试温敏凝胶的 T_c ,比较 PEG-6000 质量分数分别在 1%、2%、3%、4%、5%、6%时 T_c 的不同,结果见表 4。凝胶的 T_c 随着 PEG-6000 质量分数的增加而升高,影响程度不明显。当 PEG-6000 质量分数分别为 3%、4%、5%时,其 T_c 均符合人体口腔黏膜温度(36.3~37.2 °C),出于节省实验成本和减少干扰的考虑,综合分析,选择 PEG-6000 质量分数最优值为 3%。

表 4 PEG-6000 质量分数对温敏凝胶 T_c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of PEG-6000 mass fraction on T_c of thermosensitive gel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

PEG-6000/%	$T_c/^\circ\text{C}$	PEG-6000/%	$T_c/^\circ\text{C}$
1	30.50±0.72	4	35.40±0.56
2	32.30±0.51	5	36.10±0.34
3	34.60±0.70	6	36.70±0.58

(4) 甘油质量分数考察:根据“2.6.2 (1)”项下的实验结果设定 P407 质量分数为 22%,根据“2.6.2 (2)”项下的实验结果设定 P188 质量分数为 3%,根据“2.6.2 (3)”项下的实验结果设定 PEG-6000 质量分数为 3%,固定水相体积 10 mL,利用“2.6.1”项下方法测试温敏凝胶的 T_c ,比较甘油质量分数分别在 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%时 T_c 的不同,结果见表 5。凝胶的 T_c 随着甘油质量分数的增加而略微升高,甘油质量分数对凝胶的 T_c 几乎没有影响。综合分析,选择甘油质量分数最优值为 0.4%。

表 5 甘油质量分数对温敏凝胶 T_c 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effects of glycerol mass fraction on T_c of thermosensitive gel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

甘油/%	$T_c/^\circ\text{C}$	甘油/%	$T_c/^\circ\text{C}$
0.2	33.90±0.25	0.8	34.90±0.37
0.4	34.50±0.46	1.0	35.10±0.28
0.6	34.80±0.31	1.2	35.20±0.59

2.6.3 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化温敏凝胶制备处方 以 BBD-RSM 模型设计响应面优化,以温敏凝胶的 T_c 为响应指标。选择对 T_c 影响

较显著的 P407 质量分数(X_1)、P188 质量分数(X_2)、PEG-6000 质量分数(X_3)为 3 个因素,各设置 3 个水平,分别编码-1、0、+1,进行每组平行 3 次的 17 组响应面实验,借助实验设计软件 Design Expert 8.0.6 设计来确定最佳处方,具体实验设计与结果见表 6。根据表 7 回归分析结果可知,模型的 F 值为 39.59,模型 $P < 0.000 1$,模型失拟项 $P > 0.05$,综合意味着模型具有显著性。由表 7 中各 P 值可知,拟合方程项系数中 X_1X_3 的 $P < 0.05$,表明其有显著

交互作用,对 T_c 具有显著影响, X_1 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1^2 、 X_3^2 的 $P < 0.01$,表明这几个因素对 T_c 具有极其显著的影响。各因素对 T_c 的影响程度,从大到小依次为 X_1 (P407 质量分数) $> X_3$ (PEG-6000 质量分数) $> X_2$ (P188 质量分数)。

通过 2 次多项式逐步拟合得到拟合方程: $T_c = 34.46 - 2.93 X_1 + 0.35 X_2 + 2.45 X_3 - 1.13 X_1X_2 + 0.82 X_1X_3 + 0.42 X_2X_3 - 0.99 X_1^2 - 0.19 X_2^2 - 1.46 X_3^2$, $R^2 = 0.980 7$ 。自变量与响应值的三维图如图 3 所示。本

表 6 温敏凝胶制备的 BBD-RSM 实验设计及结果 ($n = 3$)

Table 6 BBD-RSM experimental design and results of temperature-sensitive gel preparation ($n = 3$)

实验号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$T_c/^\circ\text{C}$	实验号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$T_c/^\circ\text{C}$	实验号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$T_c/^\circ\text{C}$
1	20 (-1)	2 (-1)	3 (0)	35.4	7	20	3	4 (+1)	39.1	13	22	3	3	33.9
2	24 (+1)	2	3	31.3	8	24	3	4	35.4	14	22	3	3	34.3
3	20	4 (+1)	3	37.5	9	22 (0)	2	2	32.8	15	22	3	3	34.5
4	24	4	3	28.9	10	22	4	2	33.5	16	22	3	3	34.6
5	20	3 (0)	2 (-1)	36.1	11	22	2	4	37.1	17	22	3	3	35.0
6	24	3	2	29.1	12	22	4	4	39.5					

表 7 T_c 回归方程系统显著性验证

Table 7 Systematic significance verification of T_c regression equation

误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	138.56	9	15.40	39.59	$< 0.000 1$	X_1^2	4.15	1	4.15	10.67	0.013 8
X_1	68.44	1	68.44	176.02	$< 0.000 1$	X_2^2	0.16	1	0.16	0.40	0.546 6
X_2	0.98	1	0.98	2.52	0.156 4	X_3^2	8.94	1	8.94	23.00	0.002 0
X_3	48.02	1	48.02	123.49	$< 0.000 1$	残差	2.72	7	0.39		
X_1X_2	5.06	1	5.06	13.02	0.008 6	失拟项	2.07	3	0.69	4.23	0.098 6
X_1X_3	2.72	1	2.72	7.00	0.033 1	纯误差	0.65	4	0.16		
X_2X_3	0.72	1	0.72	1.86	0.215 1	总离差	141.28	16			

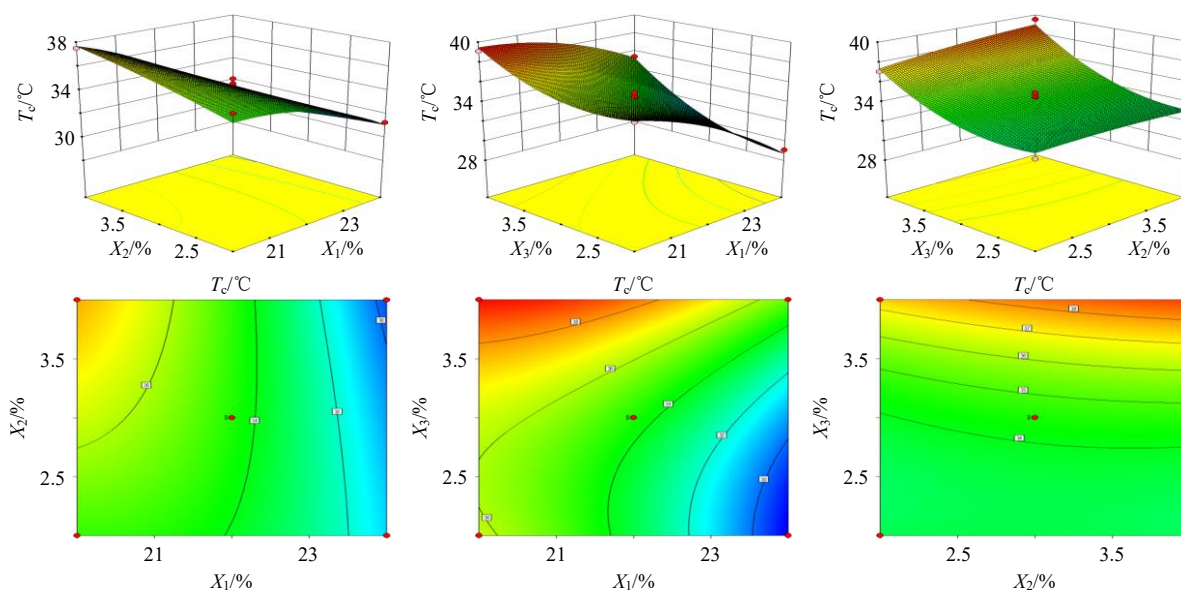


图 3 X_1 和 X_2 、 X_1 和 X_3 、 X_2 和 X_3 对 T_c 的三维效应面及等高线图

Fig. 3 Three-dimensional effect surface and contour plots of X_1 and X_2 , X_1 and X_3 , X_2 and X_3 on T_c

实验以 T_c 作为评价响应指标, 考察 X_1 、 X_2 、 X_3 之间交互作用对 T_c 指标的影响, 由于正常状态下人体口腔黏膜温度在 36.3~37.2 °C, 考虑到后期载药量的影响, 以设置 T_c 在 34.0~35.0 °C 为评价准则, 借助实验设计软件 Design Expert 8.0.6 进行分析, 确定温敏凝胶制备的最优处方为 P407 22.010%、P188 2.574%、PEG-6000 3.060%。根据实际操作进行微调, 得到温敏凝胶制备的最优处方: P407 22.0%、P188 2.6%、PEG-6000 3.1%、甘油 0.4%。按最优处方平行制备 3 批空白温敏凝胶处方, 测得 3 批次的 T_c 分别为 (34.5±0.28)、(33.9±0.26)、(34.2±0.34) °C, 与预测值 34.41 °C 接近 (RSD<2%), 表明该制备方法可行, 处方工艺稳定可靠。

2.6.4 最优处方验证 采用最优处方进行 3 组平行实验, 结果 3 组最优处方温敏凝胶验证结果的 T_c 分别为 (34.10±0.25)、(34.50±0.46)、(34.20±0.31) °C。可以看出, 3 组实验的差异较小, RSD<2%, T_c 实测值与预测值相差较小, 响应面分析预测具有实际意义。

2.6.5 温敏凝胶载药量的考察 采取最优处方制备空白温敏凝胶, 考察 PLF-PFP TG 在不同载药量的外观、离心稳定性、pH 值和 T_c 的变化, 结果见表 8。随着载药量的增加, 载药温敏凝胶溶液的 pH 值逐渐增加, 原因可能是 PLF-PFP 醇提取物的主要成分为生物碱类成分呈弱碱性。随着载药温敏凝胶 pH 值的增加, 溶液内的氢离子减少, 从而影响了分子间氢键结合力, 相邻分子间的缠结作用增加, 致使 T_c 升高。载药温敏凝胶在载药量为 1%、2%、3%、4% 时离心后稳定, 而且凝胶溶液均一透明; 在载药

表 8 不同载药量温敏凝胶考察结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Examination of different drug loading capacity of thermosensitive gels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

载药量/%	外观	离心稳定性	pH值	$T_c/^\circ\text{C}$
1	淡黄色, 均一透明	稳定	6.27±0.55	34.50±0.20
2	黄色, 均一透明	稳定	6.43±0.26	34.80±0.47
3	黄色, 均一透明	稳定	6.48±0.65	35.40±0.22
4	黄棕色, 均一透明	稳定	6.51±0.57	35.60±0.43
5	黄棕色, 均一透明	离心后微量沉淀	6.62±0.32	35.80±0.51
6	黄棕色, 均一透明	离心后少量沉淀	6.87±0.63	36.30±0.19
7	黄棕色, 透明, 少量沉淀	离心后沉淀	7.06±0.25	36.70±0.35
8	黄棕色, 透明, 明显沉淀	离心后沉淀	7.11±0.38	36.50±0.45
9	黄棕色, 明显沉淀	离心后沉淀	7.27±0.87	37.10±0.37
10	黄棕色, 浑浊, 明显沉淀	离心后沉淀	7.34±0.44	37.40±0.71

量大于 4% 后, 凝胶溶液离心后开始出现沉淀, 甚至在大量药物存在会浑浊凝胶溶液, 导致体系不稳定。综合分析载药量变化对载药温敏凝胶的性状影响, 最终确定最佳载药量为 4%。

2.7 PLF-PFP TG 的质量评价

2.7.1 温敏凝胶形态考察

(1) 外观观察: 将所制备的空白温敏凝胶溶液和载药温敏凝胶溶液分别放置在室温 (25 °C) 和人体口腔黏膜平均温度 (36.5 °C) 的恒温水浴锅中 1 min, 结果见图 4。根据结果可知, 空白温敏凝胶溶液和载药温敏凝胶溶液在室温状态下均呈液体状态, 澄清透明, 载药温敏凝胶溶液呈黄色。在 36.5 °C 状态下, 空白温敏凝胶溶液和载药温敏凝胶溶液的西林瓶倒置后, 溶液不再流动, 发生凝胶, 呈半固体状态。

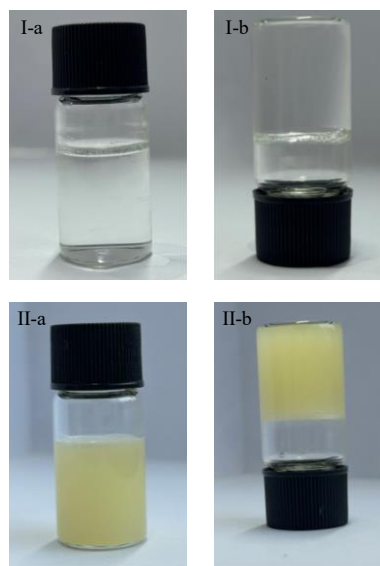


图 4 空白 (I) 和载药 (II) 温敏凝胶在 25 °C (a)、36.5 °C (b) 下的外观观察图

Fig. 4 Appearance view of blank (I) and drug-carrying (II) temperature sensitive gels at 25 °C (a), 36.5 °C (b)

(2) SEM 观察: 分别取适量按最优处方下制备的 3 批次空白温敏凝胶溶液及载药温敏凝胶溶液, 置于 37 °C 恒温水浴中 30 min 完全形成凝胶, 然后冻干 48 h。冻干后的样品喷金后, 通过 SEM 观察凝胶表面的微观结构和孔径。结果如图 5 所示, 可以看出, 空白温敏凝胶具有疏松的海绵结构, 海绵结构中含有大量孔洞, 而从载药的温敏凝胶可以看出, 含药的纳米微粒会分布于这些孔洞中, 显现凸起的圆球形。

(3) TEM 观察: 分别取适量最优处方下制备的

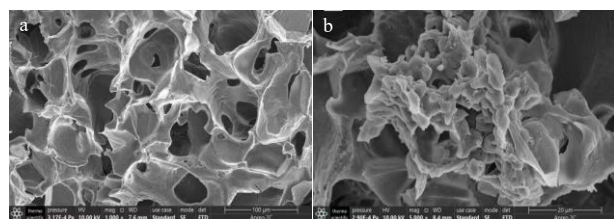


图 5 空白 (a) 和载药 (b) 温敏凝胶的 SEM 观察图
Fig. 5 SEM view of blank (a) and drug-carrying (b) temperature-sensitive gels

3 批次载药温敏凝胶溶液, 吸取适量 PLF-PFPTG 溶液, 加入去离子水适当稀释, 超声使其分散均匀, 滴至铜网上, 滴加 2% 磷钨酸溶液进行负染, 在 HT7820 透射电镜下观察其形貌特征。结果如图 6 所示, 含药 SLN 分布于温敏凝胶基质中, 大小均匀, 外观较圆整, 表明含药 SLN 冻干粉末加入温敏凝胶基质中, SLN 药物的结构并没有被破坏。

2.7.2 pH 值的测定 分别取适量最优处方下制备的 3 批次空白温敏凝胶溶液及载药温敏凝胶溶液, 平行用 pH 计测定其 pH 值, 结果见表 9。载药温敏凝胶溶液的 pH 值略大于空白温敏凝胶溶液, 是由于药物主要成分为生物碱类成分所导致的。

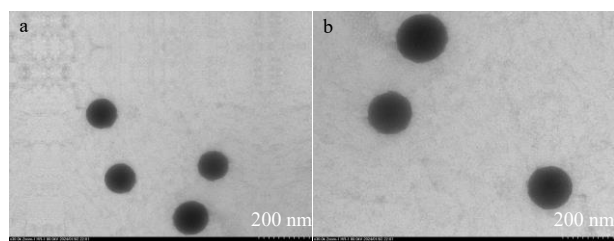


图 6 空白 (a) 和载药 (b) 温敏凝胶的 TEM 观察图
Fig. 6 TEM view of blank (a) and drug-carrying (b) temperature-sensitive gels

表 9 空白和载药温敏凝胶 pH 值测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 pH measurement results of blank and drug-carrying temperature-sensitive gels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	批次	pH值	样品	批次	pH值
空白温敏凝胶	1	6.22 ± 0.62	载药温敏凝胶	1	6.49 ± 0.36
	2	6.24 ± 0.24		2	6.53 ± 0.20
	3	6.27 ± 0.51		3	6.47 ± 0.23

2.7.3 胡椒碱的含量测定 按照“2.1”项下建立的胡椒碱含量测定方法, 计算载药温敏凝胶中胡椒碱的含量。结果显示, 6 批次荜茇胡椒温敏凝胶溶液中胡椒碱质量浓度分别为 (1.65 ± 0.17)、(1.68 ± 0.15)、(1.64 ± 0.21)、(1.71 ± 0.26)、(1.66 ± 0.17)、(1.64 ± 0.19) mg/mL。

2.7.4 温敏凝胶的流变学性质考察

(1) 流变学温度扫描: 分别量取 1 mL 的空白温敏凝胶和载药温敏凝胶加至旋转流变仪 (剪切频率为 1.0 Hz, 升温速度为 1 °C/min) 测量模具上, 用二甲基硅油将转子和样品盘密封, 减少因升温造成的凝胶水分损失。测定样品从 25 °C 升温至 40 °C 时, 储能模量 (G')、损耗模量 (G'') 和复数黏度的变化。空白凝胶和含药凝胶的温度扫描结果如图 7 所示。根据图 7-A-a 所示, 空白温敏凝胶从 25 °C 开始的升温初始阶段, 随着温度的逐渐升高, $G' < G''$, 表明此时为液体状态; 到 32 °C 时, $G' = G''$, 表明溶液开始发生胶凝; 在 33.5 °C 时, $G' > G''$, 表明凝胶完成溶液至半固体的转变。根据图 7-B-a 所示, 载药温敏凝胶从 25 °C 开始的升温初始阶段, 随着温度的逐渐升高, $G' < G''$, 表明此时为液体状态; 到 33 °C 时, $G' = G''$, 表明溶液开始发生胶凝; 在 34.5 °C 时, $G' > G''$, 表明凝胶完成溶液至半固体的转变。实验发现在流变仪测试中, 温敏凝胶的 T_c 相对小于“2.6.1”项中的实测值, 原因在于不断升温导致温敏凝胶的水分损失造成。

由图 7-A-b、B-b 中复数黏度随时间的变化曲线可得, 空白温敏凝胶的温度 < 32 °C 时, 体系为液体状态, 复数黏度值增长较为平缓; 当温度 > 32 °C 时, 空白温敏凝胶的复数黏度增长速度较快, 体系逐渐转变为半固体状态。载药温敏凝胶的温度 < 33 °C 时, 体系为液体状态, 复数黏度值增长较为平缓, 当温度 > 33 °C 时, 载药温敏凝胶的复数黏度增长速度较快, 体系逐渐转变为半固体状态。

(2) 流变学频率扫描: 控制温度为 36.5 °C, 应变 1%, 频率 0.1~10.0 Hz, 振荡模式下对空白温敏凝胶和载药温敏凝胶进行频率扫描的结果见图 8。根据图可知在频率扫描范围内, G' 曲线始终高于 G'' 曲线, 表明在温敏凝胶呈稳定的三维网状结构。

(3) 黏度测定: 使用 NDJ-1 型旋转粘度计, 测定空白凝胶和含药凝胶分别在低温 (4 °C)、室温 (25 °C) 和人体口腔黏膜平均温度 (36.5 °C) 下的黏度。结果见表 10。可知, 温敏凝胶在 4 °C 低温和 25 °C 室温时为液体状态, 黏度较低; 在 36.5 °C 以上为半固体状态, 黏度较大, 并且可以看出, 36.5 °C 时载药温敏凝胶黏度大于空白温敏凝胶, 原因可能是由于生物碱是药物主要成分, 其中的羟基、羰基等极性基团与凝胶聚合物形成氢键, 致使分子间作用力增大, 黏度增大。

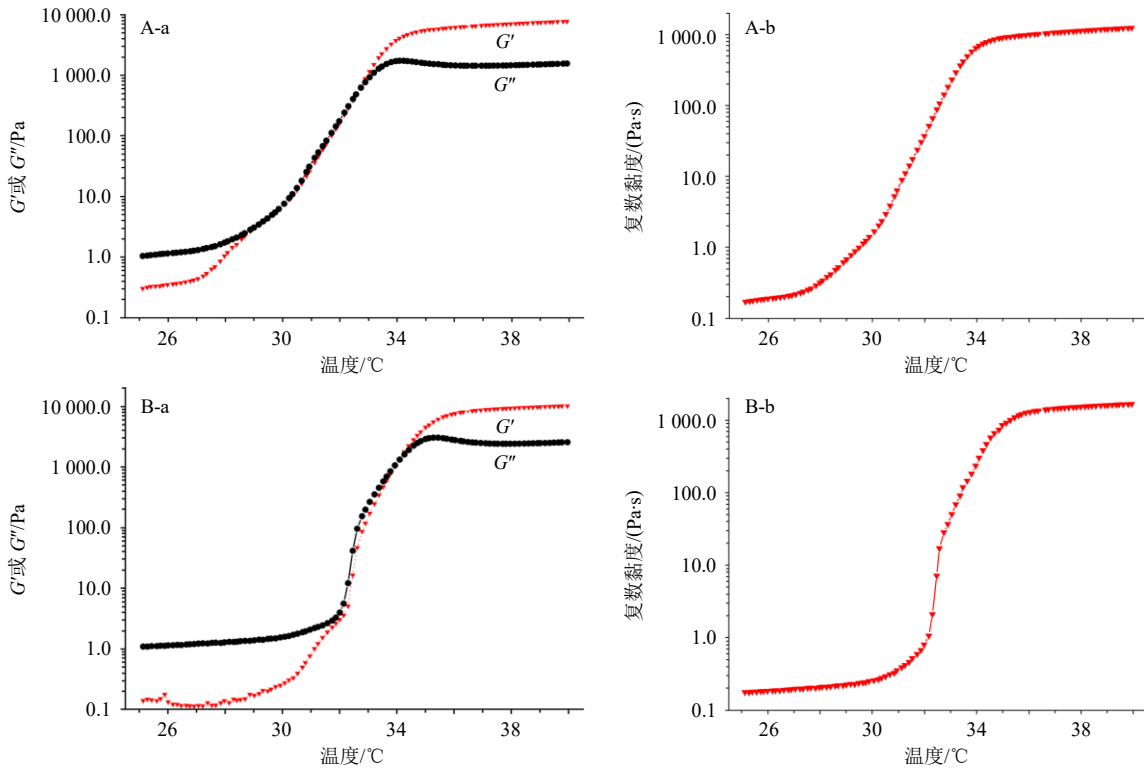


图 7 空白 (A) 和载药 (B) 温敏凝胶模量 (a) 及复数黏度 (b) 随温度扫描图

Fig. 7 Blank (A) and drug-carrying (B) temperature-sensitive gel modulus (a) and complex viscosity (b) scan images with respect to temperature

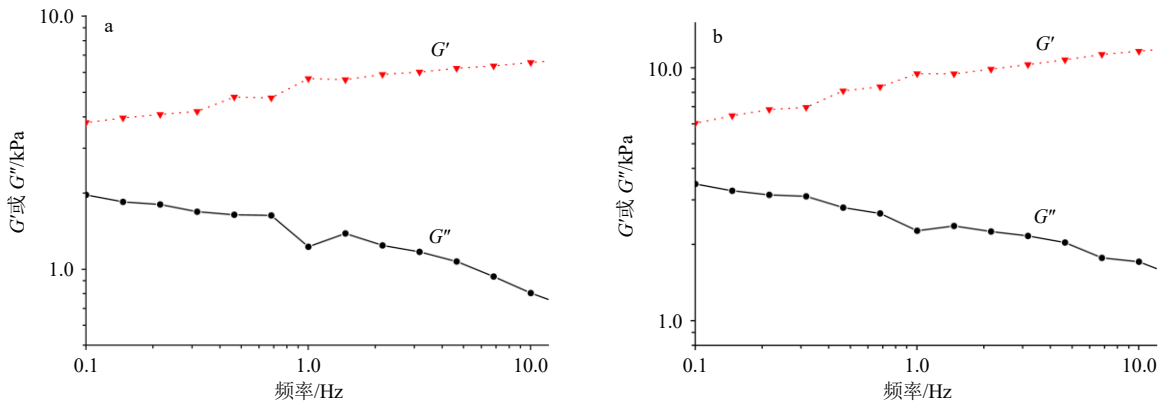


图 8 空白 (a) 和载药 (b) 温敏凝胶频率扫描图

Fig. 8 Frequency scans of blank (a) and drug-carrying (b) temperature-sensitive gels

2.7.5 温敏凝胶的口腔黏膜生物黏附性考察 通过结合文献报道^[10-12], 自制黏附测试装置, 进行离体大鼠口腔黏膜的黏附性测试。取大鼠新鲜的口腔颊黏膜组织至于置于冰冷的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中保存, 备用 (离体 24 h 内完成检测)。量取 100 mL 蒸馏水放置于 200 mL 烧杯中, 置于 37 °C 恒温磁力搅拌器中, 设定搅拌速度为 50 r/min 来模拟口腔环境中唾液的冲刷作用。将自制的 PLF-PFP TG 和市面上购买的复方氯己定地塞米松膜 (口腔溃疡膜) 分别作用在大鼠离体口腔颊黏膜上, 分别取用

夹子固定测试物, 置于烧杯中贴壁水浴, 并开始计时, 分别记录 PLF-PFP TG 和复方氯己定地塞米松膜的黏附时间和溶解现象, 结果见表 11。结果表明, 萘荜胡椒温敏凝胶具有一定的口腔给药生物黏附性, 可以在离体大鼠口腔颊黏膜上黏附固定, 黏附作用时间 43.3 min 左右, 在测试中缓慢脱落后才溶解, 突出了温敏凝胶的优势。

2.7.6 温敏凝胶的体外释药考察 采用平衡透析法, 分别取 10 mL 制备好的 PLF-PFP TG 放入预处理过的透析袋 (MD34, 截留相对分子质量 8 000~

表 10 空白温敏凝胶和载药温敏凝胶黏度测定结果
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 10 Viscosity measurement results of blank and drug-loaded temperature-sensitive gels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	批次	黏度/(Pa·s)		
		4 °C	25 °C	36.5 °C
空白温敏凝胶	1	0.071±0.150	0.157±0.110	27.451±1.560
	2	0.073±0.120	0.154±0.130	27.165±2.010
	3	0.074±0.090	0.153±0.080	27.337±2.320
载药温敏凝胶	1	0.092±0.220	0.194±0.330	35.412±1.520
	2	0.095±0.120	0.193±0.290	35.196±1.410
	3	0.093±0.110	0.198±0.450	35.287±1.890

表 11 载药温敏凝胶生物黏度性测试结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Results of the bioviscosity test examination of drug-carrying temperature-sensitive gels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	批次	黏附时间/min	膜剂溶解现象
PLF-PFP TG	1	43.30±3.54	缓慢脱落溶解
	2	39.20±3.07	
	3	48.60±3.68	
复方氯己定地塞米松膜	1	13.60±2.12	缓慢脱落溶解
	2	15.20±1.55	
	3	12.80±1.67	

14 000) 中, 置于 100 mL pH 6.8 体积分数 1% 聚山梨酯-80 的生理盐水溶液 (37 °C, 100 r/min 振荡), 同法制备 3 份, 分别于 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0、36.0 h 精密吸取透析液 1 mL, 同时补充同温等体积的透析液, 0.45 μm 滤膜滤过, 乙醇稀释后, 紫外分光光度计测定每个时间点的胡椒碱吸光度值, 计算质量浓度, 取平均值。计算温敏凝胶中胡椒碱的累积释药百分比, 绘制释药曲线, 进行模型拟合, 根据 R^2 来确定符合的释放模型。

PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液和 PLF-PFP TG 的体外释放曲线见图 9, 根据曲线看出, PLF-PFP TG 相对于 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液的释放, 释放时间显著延长。在相同考察时间 48 h 内, PLF-PFP TG 的释放达 (60.71±0.67)%, 而 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 溶液释放高达 (78.97±0.74)%。这可能是由于 PLF-PFP TG 将药物包裹于凝胶基质中, 药物想要释放先从凝胶基质中释放, 再进一步从 SLN 的包裹下缓慢释放。

借助 Origin pro 2021 软件对 PLF-PFP TG 的体外释放相关数据进行方程拟合, 记录相关系数, 结果见表 12。由拟合结果可知, PLF-PFP TG 的体外

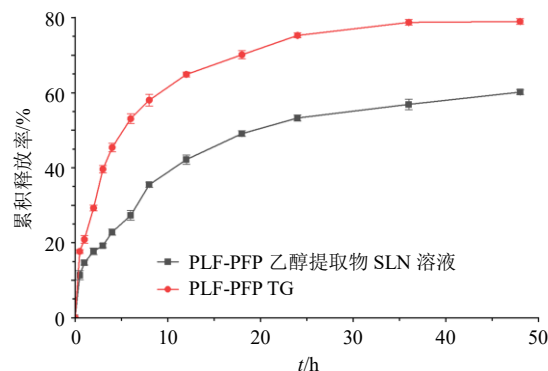


图 9 PLF-PFP 乙醇提取物 SLN 和 PLF-PFP TG 的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 *In vitro* release profiles of PLF-PFP ethanol extract SLN and PLF-PFP TG ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 12 PLF-PFP TG 不同释药模型拟合结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 12 Fitting results of different drug release models for PLF-PFP TG ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

释放模型	拟合方程	R^2
零级方程	$Q = 1.039 4 t + 19.535 2$	0.811 0
一级方程	$Q = 57.998 0 (1 - e^{-0.122 7 t})$	0.959 9
Higuchi 方程	$Q = 8.736 3 t^{1/2} + 6.304 7$	0.946 0
Ritger-Peppas 方程	$Q = 14.348 6 t^{0.390 7}$	0.962 5

释药, 在一级释药模型、Higuchi 释药模型、Ritger-Peppas 释药方程模型拟合度较高, 其中 Ritger-Peppas 方程释药模型拟合度最高, 表明复方提取物 SLN 溶液的释放, 符合缓释制剂相关要求, 释药速度主要受凝胶载药量浓度的影响。通过 Ritger-Peppas 释药方程拟合结果可知, 释放指数 $n = 0.390 7 < 0.45$, 药物的释放为 Fick's 扩散。

2.7.7 温敏凝胶的初步稳定性考察

(1) 高温实验考察: 分别取适量最优处方下制备的载药温敏凝胶溶液 30 mL, 移取至西林瓶中, 在 50 °C 恒温箱中放置 10 d, 分别在 0、5、10 d 取样, 观察其外观、pH 值、 T_c 和胡椒碱的含量变化。在 50 °C 高温条件下, 荜茇胡椒温敏凝胶的变化见表 13。载药温敏凝胶溶液在 50 °C 高温条件下转化为半固体凝胶, 在高温环境中的放置时间增加, 凝胶水逐渐蒸发, 导致 T_c 降低。胡椒碱等生物碱类化学成分可能会在持续高温环境中发生分解, 导致其含量的减少; 进一步影响溶液的 pH 值降低, 过低的 pH 值不利于人体口腔黏膜给药。综合分析, 荜茇胡椒温敏凝胶在低温或室温贮存, 温度不宜过高。

(2) 高强度实验考察: 分别取适量最优处方下制备的载药温敏凝胶溶液 30 mL, 移取至西林瓶中,

表 13 PLF-PFP TG 高温和高强光实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 13 Results of high-temperature and high intensity light experiments with PLF-PFP TG ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/d	高温				高强光			
	外观	pH值	$T_c/^\circ\text{C}$	胡椒碱/%	外观	pH值	$T_c/^\circ\text{C}$	胡椒碱/%
0	黄棕色溶液	6.48±0.44	35.40±1.95	100.00±0.00	黄棕色溶液	6.48±0.65	35.40±0.39	100.00±0.00
5	黄棕色凝胶、轻微连结	6.31±1.26	32.30±0.56	89.48±2.01	黄棕色溶液	6.26±0.21	35.50±2.10	88.71±2.12
10	黄棕色凝胶、明显连结	6.15±0.83	30.80±0.31	80.52±2.53	黄棕色溶液	6.13±1.27	35.30±1.03	76.68±2.56

在 25 °C 室温 (4 500±500) lx 光照条件下放置 10 d, 分别在 0、5、10 d 取样, 观察其外观、pH 值、 T_c 和胡椒碱的含量变化, 结果见表 13。在室温下, 由于尚未达到 T_c , 样品为黄棕色溶液。在强光照 10 d 后, 温敏凝胶的性状基本没有变化, 但是胡椒碱具有见光易分解易被破坏, 导致其含量下降为 76.68%。综合分析, 芫荽胡椒温敏凝胶在储存过程中必须避光。

3 讨论

在传统治疗口腔黏膜炎症的过程中, 有口服药物^[13-15]、固体散剂^[16-17]、口腔贴片^[18-19]等多种方式。口服药物一般为抗炎止痛类药物, 作用见效缓慢、不能局部给药、具有一定的不良反应; 固体散剂在口腔中容易受到唾液的冲刷, 药物损失较大; 口腔贴片虽然可以局部黏附性给药, 但是针对一些口腔牙龈沟槽黏膜等不规则的位置无法全面分布。而温敏水凝胶具有独特的溶胶-凝胶过渡性质, 不仅可以将固体药物液体化, 而且能根据人体口腔黏膜温度进行相态的转变, 只需简单的温度刺激即可在应用部位快速凝胶化, 无需额外的有机溶剂、交联剂或外部设备^[20]。由于生物碱的水难溶性, 不利于其发挥药效和黏膜释药。选取固体脂质来包裹药物制备 SLN, 提高药物的水溶性, 增强药效。其中 SLN 的制备方法有很多, 常用的制备方法包括薄膜水合法、乳化-溶剂蒸发法、微乳液法、高压均质化法、溶剂注入法等^[21]。由于溶剂注入法操作简单, 有机溶剂使用较少, 其他方法很多会使用大量有机溶剂和有毒试剂, 甚至可能会有残留^[22]。出于保护环境和身体健康的角度, 也为简化繁琐的实验操作步骤, 本实验最终选取以乙醇作为溶剂的溶剂注入法来制备蛋黄卵磷脂和胆固醇同时包裹的载药 SLN。考虑到 SLN 溶液的不稳定性, 进一步将 SLN 制备成冻干粉进行下一步实验。

温敏凝胶支架是由亲水性聚合物制成的半固体材料, 可以成为口腔黏膜伤口愈合的新型给药系统^[23]。为了达到口腔部位局部给药, 选择了针对局

部给药具有缓释作用的温敏水凝胶作为载药剂型。而泊洛沙姆作为一类独特的合成三嵌段共聚物, 它具有温度依赖性、自组装、热可逆行为和良好生物相容性等优势, 使泊洛沙姆这类生物材料成为温敏剂型药物递送的优选者, 其中 P407 和 P188 为最常使用温敏材料, 因此, 本实验选择了 P407 和 P188 作为温敏材料。

PLF-PFP TG 进行体外释药过程中, 从释药曲线可以明显看出凝胶剂型中胡椒碱的释放相对 SLN 释放较缓慢, 在相同考察时间 48 h 内, PLF-PFP TG 中胡椒碱释放达 (60.71±0.67)%, SLN 而 PLF-PFP 溶液中胡椒碱释放高达 (78.97±0.74)%。这可能是由于 PLF-PFP TG 将药物包裹于温敏凝胶基质中, 胡椒碱必须先从凝胶基质中释放, 再进一步从 SLN 的包裹下缓慢释放。由于考察释放时间较短, PLF-PFP TG 在短时间内降低了胡椒碱的释放率, 可能延长释放时间后, PLF-PFP TG 的最终释放率会趋近与 SLN。综合 SLN 和 PLF-PFP TG 的释放结果可以看出, 二者的体外释放均不完全, 其原因可能是由于凝胶材料对药物有一定吸附作用, 吸附能力过强, 释放时间过短。

综上所述, 负载传统中药复方活性成分并针对口腔黏膜黏附制备的温敏凝胶剂, 可对特定的溃疡部位更有效、更持久地缓解疼痛, 可以降低药物给药频率和避免不良反应。此研究为 PLF-PFP 治疗口腔黏膜炎提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Volkow N D, Jones E B, Einstein E B, *et al.* Prevention and treatment of opioid misuse and addiction: A review [J]. *JAMA Psychiatry*, 2019, 76(2): 208-216.
- [2] Carsono N, Tumilaar S G, Kurnia D, *et al.* A review of bioactive compounds and antioxidant activity properties of *Piper* species [J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6774.
- [3] 陈建海, 李惠斌. 芫荽酰胺抗肿瘤机制的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2024, 32(3): 583-588.
- [4] Balakrishnan R, Azam S, Kim I S, *et al.* Neuroprotective

- effects of black pepper and its bioactive compounds in age-related neurological disorders [J]. *Aging Dis*, 2023, 14(3): 750-777.
- [5] 霍雨佳, 谷娟, 呼胜楠, 等. 冰片修饰的胡椒碱醇质体的制备、表征及透皮吸收研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2024, 44(6): 663-670.
- [6] Han J, Zhang S Y, He J, *et al.* Piperine: Chemistry and biology [J]. *Toxins*, 2023, 15(12): 696.
- [7] 孙海力, 叶纪拓, 李绍霄, 等. 负载紫杉醇的温敏水凝胶对鼻咽癌的抑制作用 [J]. *广州中医药大学学报*, 2023, 40(9): 2313-2320.
- [8] Dong Z Y, Zhang Q, Wang C H, *et al.* Combined thermosensitive gel co-loaded with dermaseptin-PP and PTX liposomes for effective local chemotherapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 413-424.
- [9] 杜卓, 潘仕荣, 余巧, 等. 紫杉醇纳米胶束冻干粉针剂的制备工艺研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2013, 24(5): 510-514.
- [10] Li T T, Bao Q Y, Shen J, *et al.* Mucoadhesive *in situ* forming gel for oral mucositis pain control [J]. *Int J Pharm*, 2020, 580: 119238.
- [11] 高雷. 黄蜀葵花口腔溃疡膜的药学研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2009.
- [12] 孙淑彦. 复方硫酸新霉素温敏凝胶的研制及其对口腔溃疡疗效的研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2020.
- [13] 叶永芝, 区远赵, 贺道机. 口服补液盐III在儿科口腔溃疡治疗中疗效观察 [J]. *海峡药学*, 2017, 29(3): 223-224.
- [14] 贾方. 双黄连口服液联合盐酸雷尼替丁胶囊治疗口腔溃疡的临床疗效研究 [J]. *中外医疗*, 2023, 42(28): 64-67.
- [15] 徐峰, 应灿, 何赢伟. 泻黄散火汤治疗复发性口腔溃疡的临床观察 [J]. *中国中医药科技*, 2023, 30(5): 915-917.
- [16] 李晓. 蒙脱石散治疗口腔溃疡的临床疗效观察 [J]. *中国处方药*, 2018, 16(2): 79-80.
- [17] 丰秋婧. 自配溃疡散应用于小儿口腔溃疡治疗的效果研究 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(A4): 142.
- [18] 刘璐璐, 刘可越, 凌云, 等. 一种治疗口腔溃疡炼蜜贴的研制 [J]. *蜜蜂杂志*, 2023, 43(3): 11-12.
- [19] 张金龙. 复发性口腔溃疡患者采用复方青黛贴片治疗对溃疡状况及T细胞亚群水平的干预效果 [J]. *中国实用医药*, 2021, 16(14): 134-136.
- [20] Chen Y B, Lee J H, Meng M Y, *et al.* An overview on thermosensitive oral gel based on poloxamer 407 [J]. *Materials*, 2021, 14(16): 4522.
- [21] 杨郑. SLN 的制备与应用 [J]. *科技展望*, 2016, 26(36): 116.
- [22] 刘金丽, 佟雷, 于春艳, 等. 应用溶剂注入法制备抗耐药结核菌药物利奈唑胺脂质体的实验研究 [J]. *中国现代医生*, 2020, 58(4): 33-36.
- [23] 胡戴, 符旭东. 温敏智能材料及其相关剂型的研究进展 [J]. *中国新药杂志*, 2012, 21(20): 2398-2403.

[责任编辑 郑礼胜]