

根据方差分析结果, A、B 因素即油(mL): β -环糊精(g)和包合时间具有显著性影响, C 即包合时间因素影响较小从节约能源考虑选择 C₁, 根据极差分析选择较优包合工艺为 A₂B₂C₁, 即挥发油与 β -环糊精比例为 1:6, 加入溶剂量为 1.5 倍量, 胶体磨碾磨时间为 25 min。

2.2.4 肉桂挥发油 β -环糊精包合验证实验 采用选定的条件进行了包合试验, 包合物得率分别为 89%, 92%, 88%, 平均值为(89.67 \pm 2.08)%, 验证试验结果表明, 采用选定的包合条件可以达到较优的包合效果。

3 讨论

本实验采用水蒸气蒸馏法提取肉桂中挥发油, 并通过正交试验设计优化出最佳挥发油提取工艺和 β -环糊精包合工艺, 且方法简单, 易于操作, 适合工业化生产。

挥发性成分采用 β -环糊精包合, 有效避免挥发油有效成分损失及贮藏中不稳定, 减少了异味和刺激味; 又因 β -环糊精立体结构外部含有很多亲水性基团, 增大挥发油在水中溶解度, 从而提高了药物的稳定性和生物利用度; 并可使其由液体变为固体粉末而便于制成固体制剂。

本实验采用研磨方法进行包合, 方法科学, 工艺简单, 适合于规模化生产。在中药挥发油的制剂中, 一般是采用将挥发油直接喷到颗粒上的方法, 但在长期放置过程中, 表面的挥发油大量挥发, 使含量降低, 从而影响药物的疗效。而

采用包合技术, 使挥发油包在 β -环糊精的空腔结构中, 增强了稳定性, 减少了挥发性, 便于制剂生产与贮存, 保证疗效。

本实验在进行包合时, 包合物抽滤完毕时用少量的乙醚洗涤的作用, 是将未被包合的挥发油溶解, 包合物的干燥必须在 40 °C 恒温干燥, 以免温度过高, 使挥发油损失。

REFERENCES

- [1] QIU Q, CUI Z J, WEI D L, et al. On the chemical components of volatile oil of Cortex Cinnamomi [J]. Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai(上海中医药大学学报), 2003, 17(3): 49-51.
- [2] HE X Y, XU D Y, LIAO Z F, et al. Research progress of extraction methods for natural cinnamon essential oil [J]. China Condiment(中国调味品), 2014, 40(3): 121-124.
- [3] WU W J, LANG Y Y, GUAN Y Q. Study on complexation of β -cyclodextrin polymer with several drugs [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2002, 17(2): 71.
- [4] WU D C, WANG H B, MA L, et al. Preparation process of β -cyclodextrin inclusion complex of volatile oil from Shenzhu Huoxue granules [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2015, 19(3): 435-438.
- [5] WANG W, ZHOU Y, FAN Y B, et al. Optimization of β -cyclodextrin inclusion process for volatile oil in Yingxinling capsules by orthogonal test [J]. China Pharm(中国药房), 2014, 17(10): 1680-1681.
- [6] 库德热提·阿吉, 杨继彪, 杨明霞, 等. 消渴健脾胶囊挥发油提取及其 β -环糊精包合工艺研究[J]. 新疆中医药, 2014, 32(4): 68-70.
- [7] 刘则宗, 李玉霞. 咽喉清颗粒剂中的挥发油 β -环糊精包合工艺研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10(18): 153-154.

收稿日期: 2016-03-24

鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶释药系统鼻黏膜刺激性及主要脏器影响研究

郭瑾, 陈丹*, 林伊莉, 曾华平, 陈达鑫, 廖淑彬(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 考察鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶剂对大鼠鼻腔黏膜的刺激作用及主要脏器的形态学变化。方法 大鼠随机分成空白对照组、空白微乳温敏凝胶组及鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶组, 考察大鼠鼻腔给药后鼻黏膜及主要脏器形态学结构变化, 评价鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶的初步安全性。结果 大鼠鼻黏膜组织切片显示各组的鼻中隔软骨上均有完整纤毛和正常的黏膜细胞存在, 未见明显的血管充血现象, 也均未见明显的黏膜、组织细胞坏死、脱落及出血现象; 主要脏器组织切片图结构显示大鼠鼻腔给药后与空白对照组及空白微乳温敏凝胶组一样均未见组织细胞结构病变、

基金项目: 福建省科技计划项目(2010Y2004)

作者简介: 郭瑾, 女, 硕士 Tel: 13799311247 E-mail: 645991802@qq.com *通信作者: 陈丹, 女, 博士, 教授 Tel: 13515026709 E-mail: gscd2@163.com

水肿、坏死等变化。**结论** 鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶释药系统对大鼠鼻黏膜无明显刺激性,对主要脏器未见明显损伤,提示其应用具有用药的安全性。

关键词: 鹅不食草油; 微乳; 温敏凝胶; 鼻黏膜; 刺激性

中图分类号: R285.4 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)09-1126-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.008

Study on the Nasal Irritation and Main Organic Effect of the Drug Delivery System of *Centipeda Minima* Oil Microemulsion-based Thermosensitive Hydrogel

GUO Ying, CHEN Dan*, LIN Yili, ZENG Huaping, CHEN Daxin, LIAO Shubin(Department of Pharmacy, Fujian University of TCM, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the irritation and organic morphological variation of *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel in rats. **METHODS** The rats were divided into 3 groups, including the normal control group, the blank microemulsion-based thermosensitive hydrogel group and the *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel group, investigating the morphological changes of main organs of rats after nasal administration, to evaluate the preliminary security of *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel. **RESULTS** Rat nasal mucosa tissue sections showed that there was completed cilia and normal mucous cells in the nasal septum cartilage after nasal administration of saline solution, blank gel and *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel, without obvious vascular congestion, necrosis, shedding, bleeding of mucosa and tissue. The histological sections of main organs of the rats after nasal administration of *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel revealed that there was no cell structural changes, such as the normal group and the blank gel group. **CONCLUSION** The *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel is approved to have no obvious irritation to the nasal mucosa and no obvious damage on main organs of rats, and it is suggested that the application of *Centipeda minima* oil microemulsion-based thermosensitive hydrogel is safe.

KEY WORDS: *Centipeda minima* oil; microemulsion-based; temperature-sensitive gel; nasal; irritation

鹅不食草系菊科石胡荽属植物鹅不食草 *Centipeda minima* L. A. Br. et Aschers. 的带花全草。前期研究表明,从鹅不食草提取的挥发油鹅不食草油是其治疗过敏性鼻炎、咳嗽变异性哮喘的有效部位,具有良好的开发应用前景^[1-2]。鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶是由中药鹅不食草油结合丙二醇单月桂酸甘油酯、聚氧乙烯蓖麻油、无水乙醇、泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 188 等药用辅料制成的一种新型鼻腔给药制剂,具有溶液-凝胶互转变性质,且生物利用度高、吸收迅速、起效快。由于鼻用微乳温敏凝胶在制剂过程添加特定功能的辅料才能以鼻制剂的形式使用,故需要考察所采用的辅料对鼻黏膜可能产生的刺激性甚至是毒性,避免安全隐患^[3]。本研究通过观察鼻腔给药后大鼠的局部刺激性反应及外观特征、行为活动等,并选择大鼠鼻黏膜及主要脏器组织的形态学为检测指标,考察大鼠鼻腔给药后鼻黏膜及主要脏器的形态学结构变化^[4-5],研究鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶的鼻黏膜刺激性及对主要脏器的影响,评价释药系统配方的安全性,为鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶的应用开发提供初步的安全性评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MDL 光学显微镜-Q500IW 图像处理系统、RM2265 全自动半薄切片-石蜡切片(德国徕卡仪器有限公司); TS-12U 生物组织自动脱水机、BM-V II 型包埋机(孝感市亚光医用电子技术有限公司)。

1.2 试剂

生理盐水(福州海王福药制药有限公司); 鹅不食草鼻用微乳温敏凝胶(自制,批号: 20150808, 鹅不食草油含量: $0.059 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$); 空白微乳温敏凝胶(自制,批号: 20150810); HE 染料、石蜡; 二甲苯、无水乙醇、水合氯醛、多聚甲醛等试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD 大鼠, 体质量(200 ± 10)g, ♂, SPF 级, 上海斯莱克实验动物有限责任公司, 许可证号码: SCXK(沪)2012-0002, 合格证号: 2015000504394。适应性喂养 1 周。SPF 级医学实验动物环境设施由福建中医药大学动物实验中心提供, 使用许可证号: SYXK(闽)2009-0001。实验动物处理方法符合

中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》。

2 方法与结果

2.1 动物分组

取实验大鼠 18 只, 随机分为 3 组, 每组 6 只。空白对照组鼻腔给予生理盐水; 空白微乳温敏凝胶组, 滴入空白温敏凝胶基质, 观察温敏凝胶基质是否对黏膜产生毒性; 鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶组, 鼻腔给予鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶。

2.2 统计学分析

采用 SPSS statistics 20.0 统计学软件进行分析处理, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.3 鼻黏膜刺激性与主要脏器影响试验

取微量进样器将生理盐水或凝胶 9 μL 滴入大鼠鼻孔右侧, 每日 1 次, 连续 7 d, 给药后常规饲养。记录大鼠体质量增长情况, 于给药期间及末次给药 24 h 内观察大鼠的一般状态、行为活动、外观体征以及是否出现流涕、甩头、挠鼻、哮喘、

咳嗽、呕吐等局部刺激反应, 包括药物局部吸收后的全身反应。末次给药后 24 h 分别将大鼠处死, 取其鼻中隔黏膜及心、肝、脾、肺、肾, 观察鼻黏膜及脏器的形状、颜色等外观形状, 并于 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛中固定, 脱水, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, HE 染色及封片, 于光学显微镜下观察各组大鼠鼻腔给药后的鼻黏膜及主要脏器的形态结构变化。

实验结果表明, 各组在给药期间大鼠无一死亡, 外观体征正常, 觅食行为正常, 呼吸状况未见异常, 未见明显中毒现象, 鼻腔给药后 5 min 内各组均有前爪挠鼻现象, 挠鼻次数组间比较差异无统计学意义, 见表 1; 未见打喷嚏、流涕、哮喘、咳嗽、呕吐等局部刺激反应; 眼、鼻、耳等未见异常分泌物; 粪便状况无异常; 肉眼观察大鼠鼻腔未出现充血、红肿现象。大鼠处死后肉眼观察鼻黏膜及各脏器, 各组均无明显外观性状差异。

给药期间, 各组的大鼠体质量增加量差异均无统计学意义, 提示其应用具有一定安全性。结果见表 2。

表 1 挠鼻次数比较表($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison in count of sneezing in rats($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
空白对照组	2.17 \pm 1.33	2.00 \pm 1.03	2.33 \pm 1.03	2.00 \pm 1.41	2.67 \pm 2.34	2.17 \pm 1.47	2.50 \pm 1.64
空白微乳温敏凝胶组	2.50 \pm 1.38	3.00 \pm 0.89	2.67 \pm 1.37	2.50 \pm 1.64	3.33 \pm 1.97	2.67 \pm 1.21	2.67 \pm 1.37
鹅不食草油微乳温敏凝胶组	2.67 \pm 1.21	2.83 \pm 0.75	3.17 \pm 1.17	2.33 \pm 1.86	3.00 \pm 1.67	2.67 \pm 2.16	3.17 \pm 1.94

表 2 体质量情况变化表($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Table of changes in body weight of rats($n=6, \bar{x} \pm s$)

分 组	增加量/g	
	给药 3 d 后	给药 7 d 后
空白对照组	11.48 \pm 3.61	51.08 \pm 9.88
空白微乳温敏凝胶组	12.80 \pm 6.42	59.00 \pm 11.57
鹅不食草油微乳温敏凝胶组	12.15 \pm 9.71	56.32 \pm 6.51

空白对照组大鼠鼻中隔软骨上有完整纤毛和正常的黏膜细胞存在, 未见明显的血管充血现象。空白凝胶组及鹅不食草油微乳温敏凝胶组均无明显的黏膜细胞坏死、脱落及出血现象。提示给药后鼻黏膜均无细胞坏死、脱落及出血现象。结果见图 1。

各组大鼠心脏组织切片心肌纤维排列整齐, 未见纤维素渗出及炎细胞浸润, 无明显细胞病变、坏死现象。提示给药后对心脏组织未见明显影响。

结果见图 2。

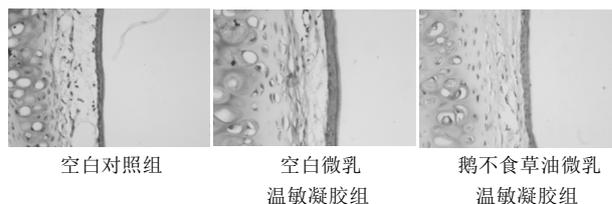


图 1 大鼠鼻黏膜组织切片图(100 \times)

Fig. 1 Pathological section of nasal mucosa in three groups(100 \times)

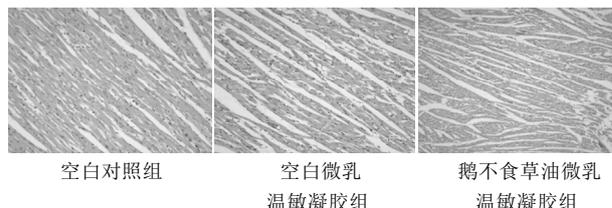


图 2 大鼠心脏组织切片图(50 \times)

Fig. 2 Pathological section of heart in three groups(50 \times)

各组大鼠肝脏组织切片肝细胞结构完整，排列整齐，胞质丰富，核大而圆，核仁清晰，未见明显水肿、坏死现象。提示给药后对肝脏组织未见明显影响。结果见图3。

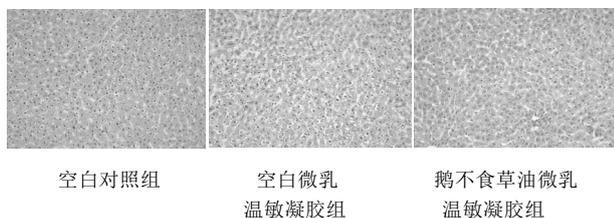


图3 大鼠肝脏组织切片图(50×)
Fig. 3 Pathological section of liver in three groups(50×)

各组大鼠脾组织切片脾髓结构完整，未见细胞坏死现象。提示给药后脾组织均无明显细胞坏死现象。结果见图4。

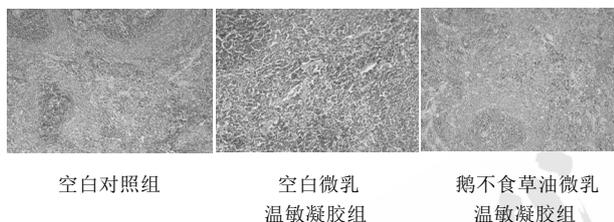


图4 大鼠脾脏组织切片图(50×)
Fig. 4 Pathological section of spleen in three groups(50×)

各组大鼠肺组织切片被膜完整，未见炎细胞浸润及明显细胞坏死现象。提示给药后肺组织均无明显细胞坏死现象。结果见图5。

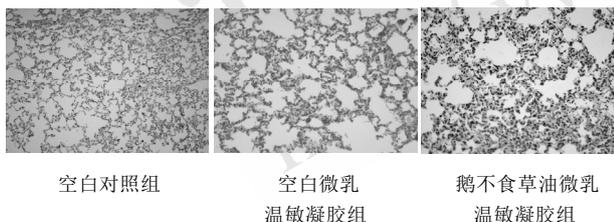


图5 大鼠肺组织切片图(50×)
Fig. 5 Pathological section of lung in three groups(50×)

各组大鼠肾脏组织切片有正常的肾小管边界，完整的肾小球，未见纤维素渗出及炎细胞浸润，未见明显水肿、病变及坏死现象。提示给药后肾脏组织均无明显水肿病变及坏死现象。结果见图6。

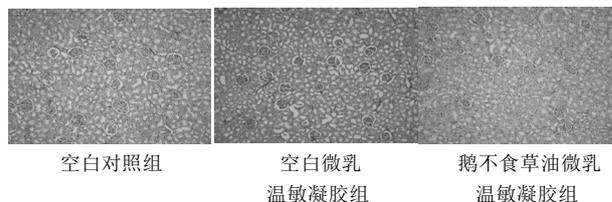


图6 大鼠肾脏组织切片图(50×)
Fig. 6 Pathological section of kidney in three groups(50×)

3 讨论

本实验以生理盐水为空白对照，对鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶及空白凝胶组正常剂量下连续给药7d的安全性进行了考察。结果显示，大鼠外观体征正常，呼吸状况、体质量增加量、挠鼻次数无差异，未见明显局部刺激反应；该制剂在正常剂量下的鼻黏膜刺激性与空白对照组相近，刺激性小；大鼠鼻腔给药鹅不食草油微乳温敏凝胶后，主要脏器的组织切片图结构显示与正常组及空白微乳温敏凝胶组一样均未见明显的组织细胞结构病变、水肿、坏死等变化。提示应用鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶释药系统具备安全性。

本实验的给药剂量是根据中国药典2015年版中鹅不食草的推荐用量、鹅不食草油含量及人-大鼠剂量换算表折算而成^[6]。本实验结果对指导制剂配方的合理性及安全性、为处方的优化提供一定依据，为鹅不食草油鼻用微乳温敏凝胶今后的进一步开发研究提供了安全性参考。

REFERENCES

- [1] CHEN Q, ZHOU C Q, ZHU B F, et al. Study on the antiasthmatic effects of essential oil from *Centipeda minima* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(6): 473-476.
- [2] LIU Z G, YU H M, WEN S L, et al. Histopathological study on allergic rhinitis treated with *Centipeda minima* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2005, 30(4): 292-294.
- [3] WU W K, ZHANG H Y, SONG W, et al. Study on pharmaceutical excipients of nasal preparation [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 23(17): 254-258.
- [4] LIU C, REN Z F, LI J L, et al. Evaluation of compound microemulsion based in situ gel containing menthol [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2015, 12(37): 2632-2636.
- [5] SHI C Y, DU G, FANG J G, et al. Study on the mucosal irritation and skin anaphylaxis of Yuxingcao nasal drops [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2009, 11(29): 876-878.
- [6] 中国药典. 一部 [S]. 2015: 347.

收稿日期: 2016-02-06