

引用:陈雪婷,徐文杰,李洁环,冯健英,李智勇. 补肾健骨凝胶的制备工艺研究[J]. 湖南中医杂志,2022,38(1):170-173.

补肾健骨凝胶的制备工艺研究

陈雪婷,徐文杰,李洁环,冯健英,李智勇

[广东省第二中医院(广东省中医药工程技术研究院),广东 广州,510095]

[摘要] 目的:优选补肾健骨凝胶的制备工艺。方法:采用正交试验法,以干膏得量、补骨脂素、异补骨脂素含量为评价指标,优选最佳提取工艺;以外观形态、凝胶初黏度、pH 值、指标成分累积渗透量为指标,分别将空白基质、中和剂及促渗剂进行筛选。结果:最佳提取工艺为按处方比例,称取除龙血竭外的补骨脂等 5 味药材,提取 3 次,第 1 次加 8 倍量 80% 乙醇,第 2、3 次分别加 8 倍量水,每次提取 1 h。卡波姆、三乙醇胺、月桂氮卓酮的用量分别为制成量的 1%、2%、2%。结论:制得的凝胶质地光滑细腻、药物分散良好。

[关键词] 补肾健骨凝胶;制备工艺;空白凝胶基质;中和剂;促渗剂

[中图分类号] R283.65 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2022.01.042

Preparation process of Bushen Jiangu gel

CHEN Xueting, XU Wenjie, LI Jiehuan, FENG Jianying, LI Zhiyong

(Guangdong Second Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital & Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangzhou 510095, Guangdong, China)

[Abstract] Objective: To optimize the preparation process of Bushen Jiangu gel. Methods: With dry extract yield and the content of psoralen and isopsoralen as evaluation indices, the orthogonal test was used to determine the optimal extraction process, and blank matrix, neutralizers, and penetration enhancers were screened out based on the indices of appearance, initial viscosity of gel, pH value, and cumulative penetration of marker components. Results: The optimal extraction process was to weigh out the 5 medicinal materials (including Fructus Psoraleae) except dragon's blood according to the prescription and extract 3 times, with 8-fold 80% ethanol for the first time and 8-fold water for the second and third times, for 1 hour each time. The amount of carbomer, triethanolamine, and laurocapram used accounted for 1%, 2%, and 2%, respectively, of the finished amount. Conclusion: The gel prepared has smooth texture with good dispersion.

[Keywords] Bushen Jiangu gel; preparation process; blank gel matrix; neutralizer; penetration enhancer

膝骨关节炎是中老年人群常见的膝关节退行性疾病,主要表现为膝关节疼痛、关节畸形,导致患者活动障碍,生活质量严重下降。补肾健骨方是我院临床经验方,具有补益肝肾、强筋健骨、祛风散寒除湿、活血通络止痛等功效,临床常煎煮取汁配合按摩局部用药,治疗肝肾不足、筋脉瘀阻型膝骨关节炎患者,疗效较佳^[1]。本实验拟将其制成水性凝胶剂,该剂型既保持原方相容性好、吸收起效快、生物利用度高的特点,同时又具有稳定性好、方便使

用的优点。

1 实验材料

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Mettler-Toledo XS205DU 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);DHG-9070A 型立式鼓风干燥箱(上海捷呈实验仪器有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(常州亿通分析仪器制造有限公司);RYJ-12B 药物透皮扩散实验仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

基金项目:广东省科技计划项目(2013B040200040)

第一作者:陈雪婷,女,主管中药师,研究方向:中药制剂研究与开发

1.2 试剂与试药 补骨脂素(批号:110739-201617)、异补骨脂素(批号:110738-201313)对照品,均购于中国药品生物制品检定所;杜仲、龙血竭、补骨脂等饮片均购自广东省岭南药业有限公司,经广东省中医药工程技术研究院王洛临主任中医师鉴定,均符合《中国药典》2020年版一部药材项下有关规定;甲醇为色谱纯试剂,水为蒸馏水,其他所用试剂均为分析纯。

1.3 动物 NIH小鼠[由美国国立卫生研究院(NIH)培育而成],雌雄各半,约5周龄,购于广东省医学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2013-0002。

2. 实验方法及结果

2.1 提取工艺研究 拟定提取3次,采用正交试验法,以补骨脂中补骨脂素、异补骨脂素含量和干膏得量为考察指标,对影响提取效果的提取溶媒种类(A)、提取时间(B)、溶媒倍量(C)进行优选,筛选最佳提取工艺,因素水平设计见表1。

表1 因素水平设计表

水平	溶媒种类	提取时间(h)	溶媒倍量(倍)
1	第1,2,3次为水	1	8
2	第1次为50%乙醇,第2,3次为水	2	10
3	第1次为80%乙醇,第2,3次为水	3	12

2.1.1 样品制备 按处方比例,称取除龙血竭外的药材饮片9份,每份214g,按 $L_9(3^4)$ 正交试验表安排进行提取,滤过,滤液浓缩并定容至500ml,测定浓缩液中干膏得量和补骨脂素、异补骨脂素含量。

2.1.2 结果 由正交试验结果可以看出,影响提取效果的因素顺序为:溶媒种类>溶媒倍量>提取时间,由此得出的最佳工艺组合为 $A_3B_3C_2$ 。由方差分析可知,因素A对试验结果有显著性影响($P < 0.05$),因素B、C对试验结果无显著影响。因此,提取工艺条件定为:按处方比例,称取除龙血竭外的杜仲等5味药材,提取3次,第1次加8倍量80%乙醇,第2、3次分别加8倍量水,每次提取1h,即 $A_3B_1C_1$ 。(见表2,3)

2.1.3 最佳提取工艺条件验证 按处方比例,称取药材3份,按照优化工艺提取,测定补骨脂素、异补骨脂素含量和固形物质量,结果表明:验证试验结果与正交试验优选结果基本吻合,说明正交试验优选出的工艺稳定、重现性良好。(见表4)

表2 正交试验安排及结果

实验号	A	B	C	D	补骨脂素、异补骨脂素含量($\mu\text{g/ml}$)	干膏得量(g)	综合评分
1	1	1	1	1	72.353	65.96	73.66
2	1	2	2	2	79.687	65.96	76.49
3	1	3	3	3	63.400	72.12	74.47
4	2	1	2	3	108.417	69.23	89.84
5	2	2	3	1	102.390	62.38	82.77
6	2	3	1	2	110.689	70.98	91.93
7	3	1	3	2	120.302	68.31	93.79
8	3	2	1	3	129.542	63.39	93.95
9	3	3	2	1	126.642	71.89	98.72
K1	224.61	257.29	259.54	255.14			
K2	264.54	253.20	265.05	262.21			
K3	286.46	265.12	251.03	258.26			
R	61.85	11.92	14.02	7.07			

综合评分 = (指标成分含量/最大指标成分含量) × 50 + (干膏得量/最大干膏得量) × 50。

表3 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方(MS)	F值	P值
A	653.61	2	326.80	74.93	<0.05
B	26.40	2	13.20	3.03	>0.10
C	29.22	2	14.61	3.35	>0.10
误差	8.72	2	4.36		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.10}(2,2) = 9.00$ 。

表4 工艺验证实验结果

实验号	1	2	3	平均值
补骨脂素、异补骨脂素含量($\mu\text{g/ml}$)	121.927	122.602	122.536	122.355
固形物含量(g)	69.107	69.895	69.495	69.499
干物质得率(%)	32.29	32.66	32.47	32.47
综合评分值	94.97	95.93	95.67	95.52

2.2 成型工艺研究

2.2.1 浓缩液制备 按处方比例称取药材,照上述提取工艺,合并提取液,减压浓缩至适量,加纯化水调整为1g浓缩液相当于0.5g药材^[2-9]。

2.2.2 龙血竭药材处理 取龙血竭细粉2份,分别加入甘油、丙二醇适量,搅拌使充分溶散^[10],结果表明龙血竭在丙二醇中的溶解度明显高于甘油,与甘油类似,15%~30%浓度的丙二醇用于半固体制剂同时具有保湿和防腐的作用,因此,选择丙二醇作为龙血竭药材的分散溶剂。

取龙血竭细粉5份,分别加入2、3、4、5、6倍量丙二醇,搅拌10min,观察溶散情况,结果表明,当加入4倍及以上丙二醇后,溶散效果理想,因此,确定丙二醇用量为3%。

2.2.3 空白凝胶基质及用量的选择 凝胶剂常用的基质分为水溶性和油溶性,考虑到药材所含成分在水和乙醇中均可溶解,以及油溶性基质易污染衣物等因素,本品选择水溶性基质作为凝胶基质。方法:取浓缩液4份,加水至100 ml,分别加入1%的卡波姆、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、海藻酸钠、明胶,常温放置24 h,使基质充分溶胀,溶胀后的基质用15%氢氧化钠溶液调节pH值至6.5~7.5,搅拌使其呈均匀、稠厚的液体,继续放置24 h,取适量涂抹在BBV-T型初黏性测试仪上,面积2 cm×2 cm,将测试板倾斜55°放置5 min,观察凝胶流动情况,重复3次,取平均值。结果表明,卡波姆用量为制成量的1%时凝胶初黏度较高,且卡波姆在乙醇、水和丙二醇溶胀性良好,调节pH后能形成细腻光洁的均匀凝胶,因此确定卡波姆作为本品的基质,用量为1%。(见表5)

表5 不同基质初黏性测定结果

试验号	基质种类	外观形态	凝胶初黏度(cm)
1	卡波姆	药物分散均匀、黏度适中、细腻	3.20
2	HPMC	药物分散均匀、流动性太大	4.25
3	海藻酸钠	药物分散均匀、过于黏稠	6.40
4	明胶	药物分散均匀、黏度适中、细腻	5.55

2.2.4 中和剂及其用量的选择 卡波姆为白色松散、微酸性粉末(pH值2.5~3.0,1%水分散体),其水凝胶在pH值<3或>12时黏度即降低,pH值在6~11之间最为黏稠。常用的中和剂有氢氧化钠、三乙醇胺等。中和后的卡波姆水凝胶在强电解质存在的情况下会出现黏度降低的问题,而三乙醇胺不属于强电解质,并具有乳化和增溶作用,因此选择三乙醇胺作为本品的中和剂。

取充分溶胀的2%卡波姆溶液5份,每份500 g,加入处方量的浓缩液、龙血竭(溶散于丙二醇中),搅拌均匀,再分别加入三乙醇胺10、20、30、40、50 g,加纯化水至1000 g,混匀,放置0、24、48 h,用pH计测试凝胶pH值及初黏度。结果表明,当三乙醇胺用量为2%~4%时,pH基本控制在6.5~7.5之间,初黏度较合适,因此确定三乙醇胺用量为2%。(见表6)

2.2.5 促渗剂用量考察 外用制剂常用透皮促进剂为月桂氮卓酮,用量为0.5%~2.0%。

2.2.5.1 样品的制备 取充分溶胀的2%卡波姆溶液3份,每份500 g,加入处方量的浓缩液、龙血竭(溶散于丙二醇中)、三乙醇胺20 g,混匀,再分别加入0、10、20 g月桂氮卓酮,加水至1000 g,搅拌均匀即得。

表6 三乙醇胺用量对凝胶pH值和凝胶初黏度的影响

试验号	三乙醇胺用量(%)	凝胶pH值			凝胶初黏度(cm)
		0 h	24 h	48 h	
1	1	4.50	4.90	5.00	6.65
2	2	6.50	6.70	6.70	6.10
3	3	7.05	7.07	7.18	4.70
4	4	7.32	7.65	7.65	3.72
5	5	7.93	8.08	8.10	3.39

2.2.5.2 离体小鼠皮肤的制备和处理 取健康的NIH小鼠,用电动剃毛刀小心剃除腹部体毛,以8%Na₂S溶液涂布腹部皮肤,1 min后以清水洗净,饲养12 h后,断颈处死,剥离腹部皮肤,平铺于干净的玻璃板上(角质层面向玻璃),小心剔除皮下组织和脂肪,再用0.9%氯化钠注射液反复冲洗干净,并置于0.9%氯化钠注射液中,密封,于低温冰箱中保存。每次实验前自然恢复至室温,检查鼠皮的完整性,不能有破损。

2.2.5.3 体外渗透实验方法 采用RYJ-12B型药物透皮扩散试验仪,释药面积为2.8 cm²,接收室体积为6.5 ml。取经预处理的动物皮肤6块,大小基本相同(稍大于接收池上盖的外直径),固定在接收池上盖与接收池之间,角质层朝上,使液面恰能与皮肤内层面接触,再取凝胶样品各约2 g,均匀涂抹在皮肤上,排除气泡,用注射器从取样管口加入接收液(0.9%氯化钠注射液)至与管口相平。保持恒速搅拌(200 r/min)和恒温[(37±1)℃],分别于1、2、3、4、7、10、12、24 h取样1 ml,同时补加恒温等量接收液,取各接收液,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,分别测定补骨脂素、异补骨脂素含量,并计算累积渗透量。结果表明,随着月桂氮卓酮用量的增加,补骨脂素、异补骨脂素累积渗透量逐渐增加;当月桂氮卓酮用量为2%时,补骨脂素、异补骨脂素的累积渗透量最大,故确定月桂氮卓酮的用量为2%。(见图1)

3 讨论

文献研究显示,本处方药味所含木脂素、黄酮或皂苷苷元、生物碱、低分子萜类等成分可溶于乙醇,所含黄酮苷、皂苷、多糖、蛋白质等成分可溶于水^[11-16],兼顾生产安全性等因素,所以设计了第1、2、3次为水;第1次为50%乙醇,第2、3次为水;第1次为80%乙醇,第2、3次为水,共3种提取溶媒。

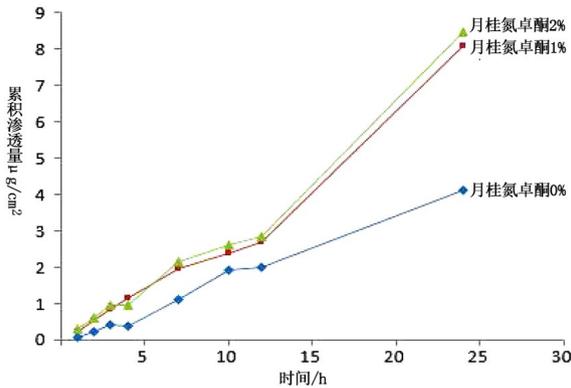


图1 月桂氮卓酮用量对补骨脂素、异补骨脂素累积渗透量的影响

凝胶膏剂具有使用方便、载药量大、靶向性强的优点,非常适用于膝骨关节炎局部给药的疾病。本实验系统开展了空白基质、中和剂、促渗剂的筛选,卡波姆是一种性能良好的流变调节剂,加入药物浓缩液后,使用三乙醇胺中和,制得的凝胶样品光滑细腻,光泽度好,药物分散均匀;龙血竭药材细粉先使用丙二醇分散,丙二醇具有保湿、防腐的双重功效,既可以提高凝胶涂抹时的皮肤体验,又可以防止微生物生长;促渗剂月桂氮卓酮的使用可以帮助脂溶性成分通过皮肤类脂双分子层,极大地提高了透皮率。后续将进行3批中试试验,并完成质量标准、稳定性的研究,为将该制剂开发为医院制剂及中药新药奠定基础。

参考文献

- [1] 陈能. 补肾活血方对膝骨关节炎疼痛及致痛因子表达的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [2] 张建军,李洁环,黄雪君,等. 参芩凝胶提取工艺的优化[J]. 中成药,2020,42(3):736-740.

- [3] 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.
- [4] 潘洁,张洪. 复方人参凝胶剂的制备及质量控制[J]. 中医药导报,2015,21(10):53-56.
- [5] 刘丹. 复方血竭凝胶制备工艺及质量分析研究[D]. 武汉:湖北中医学院,2009.
- [6] 吴东盼. 寒痹舒凝胶膏剂的制备工艺与质量标准[D]. 北京:北京中医药大学,2015.
- [7] 吴雅莉. 阴炎净凝胶的制备工艺及质控标准研究[D]. 长沙:中南大学,2010.
- [8] 宣伟东,袁志仙,成熙. 正交试验法优选生姜抗晕凝胶膏剂的制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(7):53-55.
- [9] 章焯雯,王琼,于竞新,等. 止痛微乳凝胶膏的制备及体外评价[J]. 北京中医药大学学报,2015,38(4):253-259.
- [10] 谭周飞. 不同粉碎粒度对血竭中血竭素含量测定的影响[J]. 中国药事,2013,27(12):1298-1300.
- [11] 柴雨娟,樊娜,王虹,等. 补骨脂单体成分对体外培养成骨细胞和破骨细胞分化的影响[J]. 天津中医药,2015,32(5):299-303.
- [12] 欧阳冬生,冯晗,周宏灏. 杜仲的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2015,20(6):713-720.
- [13] 陈立强,赵文杰,王振,等. 杜仲叶醇提物对去卵巢大鼠所致骨质疏松的防治作用[J]. 中国老年学杂志,2015,35(8):2190-2191.
- [14] 林春燕,暴珑,黄家园,等. 熟地黄中水溶性多糖超声提取工艺的正交优化[J]. 齐鲁药事,2012,31(4):187-189.
- [15] 黄灿,王斌,贺建云,等. 熟地黄总黄酮的含量测定及其超声提取工艺优化[J]. 化学与生物工程,2009,26(4):70-73.
- [16] 史磊,张天锡,杜聪颖,等. 中药全蝎活性成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2015,17(4):89-91.

(收稿日期:2021-03-24)

科学按摩可收腹减肥(二)

按摩减肥的原理

脂肪的堆积是长年累月形成的,而它的消除则同样需要一段较长的时间,不要单纯为了追求快速减肥而伤害身体健康。

按摩减肥应以健运脾胃、化痰消脂为指导进行,其间要配合科学的膳食和规律的运动,标本同治。一方面行气活血,疏通肌腠皮下、筋膜间的经络之气;另一方面调理脾胃,运用腹部脏腑按摩,配合相关穴位按压,可健脾和胃,增强运化功能和全身代谢。

按摩在手法选用、力度掌握、辨证取穴、用穴方法等方面有着科学的操作规范和治疗程序,对不同年龄、不同体质的患者,以及同一患者的不同疗程都会有所变化。且需要由有经验的按摩医师来完成。

科学的态度和健康的理念永远是第一位的。正确的减肥程序应该是,在饮食调理的同时加强运动。这样坚持1个月左右的时间,会有2~5 cm左右的腹围减少。多数人在此时会遇到一个平台期,虽然仍保持着运动和平衡膳食,但体质量不再下降。这时,按摩再“出手相助”,帮助患者快速渡过这个平台期,可提高疗效又增强患者的信心和持久力。(王海龙, <https://www.cntcm.com.cn/news.html?aid=171826>)