

# 柴胡纳米乳凝胶膏的制备工艺及质量评价

沈丽<sup>1</sup>, 宋信莉<sup>1,2,3\*</sup>, 马嘉慧<sup>1</sup>, 万开龙<sup>1</sup>, 杨小双<sup>1</sup>, 石佳楠<sup>1</sup>, 陈丽<sup>1</sup>, 钱舒琪<sup>1</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州中医药大学药用高分子材料研究中心, 贵州 贵阳

<sup>3</sup>贵州中药炮制与制剂工程技术研究中心, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年10月24日; 录用日期: 2023年12月20日; 发布日期: 2023年12月29日

## 摘要

目的: 在前期研究出柴胡纳米乳的基础上, 进一步制备成凝胶膏, 并对其进行初步质量研究。方法: 以综合感官评分为指标, 对凝胶膏辅料进行筛选, 确定凝胶膏的基本处方以及制备工艺, 并通过单因素考察和正交实验确定最优处方。考察其性状、气味、赋形性和初黏力, 并通过紫外分光光度法测定柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷的含量, 高效液相色谱法测定柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷d的含量。结果: 所制成柴胡纳米乳的凝胶膏的最优处方为: NP-700 1.75 g, 羟丙基纤维素0.15 g, 甘油25 g, 柴胡纳米乳8 g, 酒石酸0.2 g, PVPK90 0.5 g; 柴胡纳米乳凝胶膏为淡黄色半透明凝胶膏, 具有独特的柴胡挥发油辛香, 无流淌现象, 初黏力为15.081 g; 紫外分光光度法测得柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷的含量为2.333 mg/g; 高效液相色谱法测得柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷d的含量为0.512 mg/g。结论: 本实验研究柴胡纳米乳凝胶膏的制备工艺稳定可行, 制备的柴胡纳米乳凝胶膏赋形性好, 黏度大, 安全性良好, 以期丰富柴胡退热制剂的种类, 为进一步开发中药凝胶膏提供实验依据。

## 关键词

柴胡纳米乳, 凝胶膏, 制备工艺, 质量评价

# Preparation Process and Quality Evaluation of Bupleurum Nanoemulsion Gel Paste

Li Shen<sup>1</sup>, Xinli Song<sup>1,2,3\*</sup>, Jiahui Ma<sup>1</sup>, Kailong Wan<sup>1</sup>, Xiaoshuang Yang<sup>1</sup>, Jianan Shi<sup>1</sup>, Li Chen<sup>1</sup>, Shuqi Qian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Guizhou University of Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Polymer Materials Research Center, Guiyang Guizhou

<sup>3</sup>Guizhou Traditional Chinese Medicine Processing and Preparation Engineering Technology Research Center, Guiyang Guizhou

\*通讯作者。

文章引用: 沈丽, 宋信莉, 马嘉慧, 万开龙, 杨小双, 石佳楠, 陈丽, 钱舒琪. 柴胡纳米乳凝胶膏的制备工艺及质量评价[J]. 中医学, 2023, 12(12): 3668-3686. DOI: 10.12677/tcm.2023.1212546

## Abstract

**Objective:** On the basis of the previous study of bupleurum nanoemulsion, further preparation of gel paste, and its preliminary quality study. **Methods:** Taking the comprehensive sensory score as the index, the excipients of the gel paste were screened to determine the basic prescription and preparation process of the gel paste, and the optimal prescription was determined by single factor investigation and orthogonal experiment. The properties, odor, formability and initial viscosity were investigated. The content of total saikosaponin in bupleurum nanoemulsion gel paste was determined by ultraviolet spectrophotometry, and the content of saikosaponin d in bupleurum nanoemulsion gel paste was determined by high performance liquid chromatography. **Results:** The optimal formulation of the gel paste was as follows: NP-700 1.75 g, aluminum glycinate 0.15 g, glycerol 25 g, bupleurum nanoemulsion 8 g, tartaric acid 0.2 g, PVPK90 0.5 g; bupleuri Radix nanoemulsion gel paste is a light yellow translucent gel paste, which has a unique spicy volatile oil of Bupleuri Radix, no flow phenomenon, and the initial viscosity is 15.081 g; the content of saikosaponin in bupleurum nanoemulsion gel was 2.333 mg/g by UV spectrophotometry. The content of saikosaponin d in bupleurum nanoemulsion gel was 0.512 mg/g by high performance liquid chromatography. **Conclusion:** In this experiment, the preparation process of bupleurum nanoemulsion gel ointment is stable and feasible. The prepared bupleurum nanoemulsion gel ointment has good shape, high viscosity and good safety, in order to enrich the types of bupleurum antipyretic preparations and provide experimental basis for further development of traditional Chinese medicine gel ointment.

## Keywords

Bupleurum Nanoemulsion, Gel Paste, Preparation Process, Quality Evaluation

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

发热是一种常见临床症状,在多种疾病中均可发生,而小儿发热病因主要为上呼吸道感染[1] [2]。由于儿童体温调节中枢发育不完善,受疾病影响免疫力低下,容易感染病原体而引发发热症状。据报道,该病在幼儿期发病最多,平均每年 6~7 次,另外,约有 10%~15%的幼儿每年发病超过 12 次。中医药在漫长的实践与摸索中,积累了大量经验,对小儿发热,尤其是病毒和非感染因素导致的发热的治疗具有独特的优势[3] [4]。

儿童发热需以有效方式退热,避免引发高热惊厥等并发症[5]。小儿是特殊群体,用药更应该谨慎[6] [7]。目前,针对小儿外感发热的治疗方案繁多,临床上常采用非甾体类抗炎药和解热镇痛药进行治疗,尽管其退热效果显著,但对于婴幼儿而言,如阿司匹林这种药可能引起多种不良反应,约 20%的人会出现皮疹,血管神经性水肿、哮喘或其他过敏反应,约 15%的人会出现胃肠道刺激症状、出血、皮疹或哮喘等不良反应,甚至导致瑞氏综合征的发生[8] [9] [10] [11]。而在中医学中,小儿肺脏柔弱,难耐六淫侵袭,可致肾阳损伤,汗闭热不能泻则会出现发热症状[12] [13]。研究表明,柴胡退热有效成分为柴胡皂苷、挥发油和皂苷元[14] [15] [16]。而柴胡主要有解肌退热、和解少阳、疏肝解郁、升阳举陷等功效,用

于外感发热, 疗效显著, 尤其适用于婴幼儿、儿童、老人等人群[17][18]。

课题组前期研究制备的柴胡纳米乳, 具有黏度低、热力学稳定、无毒、无刺激性等特点, 在治疗小儿发热方面效果显著。但纳米乳容易聚集, 不够稳定, 易受到外界因素的影响, 容易受到污染, 同时液体制剂储存易受环境而变质, 影响其疗效。近年来, 随着医药高分子材料的不断发展, 凝胶膏采用了一种新型高分子材料, 其独特的三维网状结构能够稳定贮存大量药物, 同时确保药物释放过程的长效稳定, 具有更好的药物包容性、无毒、不刺激、无过敏源, 整个制备过程低温环保、无污染, 能够高效地保护药物成分[19][20]。基于此, 本实验将柴胡纳米乳与凝胶膏相结合, 既利用了纳米乳经皮给药的提高药物透皮速率、延缓药物释放和提高生物利用度的特点, 又利用了凝胶膏保障药物的释放过程长效稳定的特点, 用于治疗小儿发热。以期丰富柴胡中药制剂的种类, 解决纳米乳遗留的问题, 为其进一步开发提供思路及实验依据。

## 2. 仪器与试药

### 2.1. 仪器

万分之一电子天平(ME204E, 瑞士梅特公司); 超声波清洗仪(JOYN-10A, 上海乔跃电子有限公司); 磁力加热搅拌器(D1-1A, 常州澳华仪器有限公司); 粒径分析仪(DelsaMax PRO, 苏州冠卓自动化科技有限公司); 离心机(H1650, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); pH 计(PHS-3C, 上海仪电科学仪器股份有限公司); 粒径分析仪(DelsaMax PRO, 苏州冠卓自动化科技有限公司); 紫外分光光度计(V-9000S, 上海元析仪器有限公司); 数显恒温水浴锅(HH-4, 金坛市三和仪器有限公司)。

### 2.2. 药物与试剂

NP-700 (S28GS162566, 源叶生物有限公司); 甘羟铝(C14659894, 上海麦克林生化科技有限公司); 氢氧化铝(20220201710, 天津市致远化学试膏有限公司); 石酸(2019110199, 天津市致远化学试膏有限公司); 柠檬酸(20161029, 重庆江川化工有限公司); 乳酸(C14547684, 上海麦克林生化科技有限公司); 甘油(20210815, 津市鑫铂特化工有限公司); 丙二醇(20211201, 重庆江川化工有限公司); 聚乙二醇-400 (802A011, 北京索莱宝科技有限公司); 明胶(20110420, 天津市科密欧化学试膏有限公司); 羧甲基纤维素钠(A1922037, 上海阿拉丁生化科技有限公司); PVPK90 (P21205125, 山东优索化工科技有限公司); 卡波姆(Y1707C22897, 源叶生物有限公司); 柴胡提取物(20220320, 河南龙腾生物工程有限公司); 吐温-80 (214H011, 北京索莱宝科技有限公司); 正丁醇(20211101, 重庆江川化工有限公司); 柴胡精油(20170701, 江西恒诚香料源头厂); 柴胡皂苷 a (PS000191, 成都普思生物科技股份有限公司); 磷酸(20181210, 萍乡市白狮化学试膏有限责任公司); 甲醇(20220819, 天津市科密欧化学试膏有限公司); 对二甲氨基苯甲醛(C14209148, 上海麦克林生化科技有限公司)。

## 3. 实验方法与步骤

### 3.1. 凝胶膏评价方法: 综合感官评分

Table 1. Comprehensive sensory scoring criteria

表 1. 综合感官评分标准

综合感官指标	具体内容	指标满分
涂展性	抛锚性好, 易于涂布, 涂布时膏体不断条	10
外观性状	膏体颜色均匀, 柔软适中, 无颗粒, 气泡少	10

## Continued

渗布程度	凝胶膏涂布一定时间后, 肉眼观察不渗布	10
膜残留	揭开压花膜, 无膏体残留	10
皮肤追随性	将膏体于手腕上, 用力甩 3 下不脱落	10

对于综合感官评价而言, 凝胶膏的涂展性、外观性状、渗布程度、膜残留以及皮肤追随性等方面都是至关重要的指标。其中, 凝胶膏剂黏附性是影响其应用的最主要因素。随着综合分数的提高, 凝胶膏的性能也随之得到了显著的提升。具体标准见表 1。

### 3.2. 凝胶膏基质主要辅料的筛选

#### 3.2.1. 骨架材料的选择

骨架材料主要是指使凝胶产生黏性并构成凝胶骨架形体的基本物质, 是形成基质三维网络结构的基础。查阅相关文献, 在凝胶剂的制备过程中, 在选用骨架材料时, 高分子材料的相对分子质量以及多分散性是需要重点考量的两个方面, 绝大多数采用丙烯酸聚合物, 如聚丙烯酸钠。由于 NP700 分子链上的丙烯酸单体, 会因邻近羧基离子的斥力发生卷曲, 使聚合物粘性上升, 所以 NP700 制备得到的水凝胶基质, 粘附性和内聚力都比较好[21]。故确定骨架材料为 NP-700。

#### 3.2.2. 交联剂的选择

加入交联剂, 金属离子与羧基发生离子化反应, 实现微凝胶固化。其主要是二价或三价的金属离子, 其中最常用的为铝离子。本实验分别制备以甘羟铝和氢氧化铝为交联剂的空白水凝胶膏基质, 根据感官评分, 对交联剂进行筛选。

Table 2. Crosslinking agent comprehensive sensory score results

表 2. 交联剂综合感官评分结果

	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
甘羟铝	8	9	10	9	9	45
氢氧化铝	9	7	7	8	8	39

结果分析如表 2 所示: 氢氧化铝虽然涂展性较好, 但渗布严重, 导致外观形状较差。其膜残留和皮肤追随性较甘羟铝差, 故选用甘羟铝作为交联剂。

#### 3.2.3. 交联调节剂的选择

交联调节剂主要是指催化或调节基质交联速度和程度的物质, 调节交联反应的速度, 包括调节体系的 pH 值, 溶解铅盐、释放铝离子, 常用的交联调节剂有酒石酸、柠檬酸、乳酸、苹果酸等[22]。本实验分别制备以柠檬酸、酒石酸和乳酸为交联调节剂的空白凝胶膏, 根据综合感官评分, 对交联调节剂进行筛选。

Table 3. Comprehensive sensory score results of cross-linking regulator

表 3. 交联调节剂综合感官评分结果

	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
柠檬酸	8	8	9	9	9	43
酒石酸	9	9	10	9	9	46
乳酸	7	8	8	9	8	40

结果分析如表 3 所示：酒石酸与柠檬酸和乳酸相比，膜残留和皮肤追随性相差不大，但涂展性和外观形状比较好，且不渗布，评分最高。故选用酒石酸作为交联调节剂。

### 3.2.4. 保湿剂的选择

保湿剂主要是指能保持膏含水量及其性能与质量的物质，常用的有甘油、山梨醇等。本实验分别以甘油，丙二醇，聚乙二醇-400 为保湿剂制备的空白凝胶进行考察，测出它们保湿率。方法如下，制备空白的凝胶膏，称膏净重，记为 M1，将膏放进 37℃ 恒温烘箱中，每隔 2 h 取出，称重，记为 M2，记录并按下式计算：累积失水率 =  $[(M1 - M2)/M1] \times 100$ 。

**Table 4.** Cumulative water loss rate results of different moisturizers

**表 4.** 不同保湿剂的累积失水率结果

时间(h)	累积失水率(%)		
	甘油	丙二醇	聚乙二醇-400
2	9.06	11.1	10.90
4	10.12	14.09	15.38
6	11.62	16.23	19.70

结果分析如表 4 所示：甘油的累积失水率最低，保湿效果最好。因此甘油作为保湿剂。

### 3.2.5. 增稠剂的选择

增稠剂主要是指改善和增加基质黏稠度，兼有乳化、稳定作用的物质，常用的有卡波姆、聚维酮等。本实验分别对羧甲基纤维素钠、明胶、PVPK90 以及卡波姆为增稠剂制备的水凝胶膏基质进行考察，根据综合感官评分，对增稠剂进行筛选。

**Table 5.** Comprehensive sensory score results of thickeners

**表 5.** 增稠剂综合感官评分结果

	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
羧甲基纤维素钠	8	8	10	8	8	42
明胶	7	7	10	7	8	39
卡波姆	9	8	10	8	8	43
PVP K90	9	9	10	10	9	47

结果分析如表 5 所示：PVP K90 黏度适宜，涂展性和外观形状较其他三种比较好，且不渗布，膜无残留，皮肤追随性也比较好。故选用 PVP K90 为增稠剂。

## 3.3. 柴胡纳米乳凝胶膏的制备方法

### 3.3.1. 柴胡纳米乳的制备

称取吐温-80 6 g，正丁醇 3 g，柴胡油 2 g，置于烧杯中，在磁力搅拌器上以 500 r/min 的转速搅拌 8 min，另称取 0.5 g 柴胡提取物，溶于 20 ml 超纯水中，超声 15 min，缓慢加入正在搅拌的烧杯中，使油水两相混合均匀，即得柴胡纳米乳。

### 3.3.2. 凝胶膏的制备方法

根据表 6 凝胶膏基本处方，精密称取聚丙烯酸钠 NP-700 2 g、甘羟铝 0.15 g 加到烧杯中，再加入甘

油 30 g, 并加入转子, 放到磁力搅拌器上搅拌 10 min, 混合均匀后作为 a 相;

精密称取酒石酸 0.2 g 加入烧杯中, 加入纯水 5 ml, 搅拌使酒石酸溶解在水中, 后加入 PVP K90, 搅拌至无白色颗粒, 放置三小时, 使 PVP K90 充分溶胀, 作为 b 相;

柴胡纳米乳 5g 单独作为 c 相;

将 c 相加入到 b 相中搅拌至混合均匀, 后加入到 a 相中, 先用玻璃棒搅拌使溶液混合均匀, 再放到磁力搅拌器上搅拌 20 min, 之后把凝胶涂布在背衬材料上, 固化成型, 得到柴胡纳米乳凝胶膏。

**Table 6.** Basic prescription of gel paste

**表 6.** 凝胶膏基本处方

	NP-700	甘羟铝	甘油	酒石酸	PVP K90	柴胡纳米乳
用量(g)	2	0.15	20	0.2	0.5	5

### 3.4. 单因素试验

#### 3.4.1. 聚丙烯酸钠 NP-700 用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤, 使用固定基本处方中其他物料用量, 改变聚丙烯酸钠-700 的用量, 分别加入用量为 1.25 g、1.5 g、1.75 g、2.0 g、2.25 g 的聚丙烯酸钠-700, 制备出凝胶膏, 评分见表 7。

**Table 7.** Comprehensive sensory score of different amounts of sodium polyacrylate-700

**表 7.** 聚丙烯酸钠-700 不同用量综合感官评分

NP-700 用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
1.25	9	8	10	8	9	45
1.5	7	7	10	10	10	44
1.75	8	8	10	10	10	46
2	6	7	10	10	10	43
2.25	5	6	10	10	10	41

结果分析: 当 NP-700 用量是 1.75 g 时, 不渗布, 膜无残留, 皮肤追随性好, 且涂展性与外观形状良好。

#### 3.4.2. 甘羟铝用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤, 使用固定基本处方中其他物料用量, 改变甘羟铝的用量, 分别加入用量分别为 0.1 g、0.125 g、0.15 g、0.175 g、0.2 g 的甘羟铝, 制备出凝胶膏, 综合感官评分结果见表 8。

**Table 8.** Comprehensive sensory scores of different aluminum glycinate additions

**表 8.** 甘羟铝不同用量综合感官评分

甘羟铝用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
0.1	7	8	10	10	10	45
0.125	8	8	10	9	10	45
0.15	9	9	10	10	10	48
0.175	6	6	10	10	10	42
0.2	8	7	10	8	10	43

结果分析：甘羟铝的用量不太影响渗布程度和皮肤追随性。当它的用量为 0.15 g 时，涂展性和外观形状都比较好，且无残留。

### 3.4.3. 甘油用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤，使用固定基本处方中其他物料用量，改变甘油的用量，加入用量分别为 20 g、25 g、30 g、35 g、40 g 的甘油，制备出凝胶膏，综合感官评分结果见表 9。

**Table 9.** Comprehensive sensory score of different dosage of glycerol

**表 9.** 甘油不同用量综合感官评分

甘油用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
20	7	7	10	10	10	44
25	8	7	10	10	10	45
30	9	9	10	10	9	47
35	9	8	10	9	8	44
40	10	7	8	9	8	41

结果分析：甘油的用量增加会使凝胶的流动性增强，故涂展性随用量增加而变好。但随甘油用量增加会有渗布情况，膜也有残留，皮肤追随性变差，说明甘油的用量增加太多也不行。故选出甘油的用量为 30 g。

### 3.4.4. 酒石酸用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤，使用固定基本处方中其他物料用量，改变酒石酸的用量，分别加入用量分别为 0.1 g、0.2 g、0.3 g、0.4 g、0.5 g 的酒石酸，制备出凝胶膏，综合感官评分结果见表 10。

**Table 10.** Comprehensive sensory score of different dosage of tartaric acid

**表 10.** 酒石酸不同用量综合感官评分

酒石酸用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
0.1	10	10	10	10	8	48
0.2	10	9	10	10	10	49
0.3	10	8	9	10	10	47
0.4	7	5	4	8	5	29
0.5	7	5	3	7	4	26

结果分析：酒石酸用量少，影响黏度，导致皮肤追随性较差一点，用量多不仅影响涂展性和外观性状，且非常容易渗布，皮肤追随性很差，膜也有残留。故选出酒石酸的用量为 0.2 g。

### 3.4.5. PVP K90 用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤，使用固定基本处方中其他物料用量，改变 PVP K90 的用量，分别加入用量分别为 0.5 g、0.6 g、0.7 g、0.8 g、0.9 g 的 PVP K90，制备出凝胶膏，综合感官评分结果见表 11。

**Table 11.** Comprehensive sensory scores of different amounts of PVP K90

**表 11.** PVP K90 不同用量综合感官评分

PVPK90 用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
0.5	9	10	10	10	9	48

Continued

0.6	8	9	10	10	10	48
0.7	8	9	10	10	10	47
0.8	7	8	10	9	10	44
0.9	6	7	10	9	10	42

结果分析：PVP K90 用量多黏度大，导致涂展性和外观性状都比较差，膜也会有残留，用量少涂展性和外观性状比较好，但皮肤追随性差一点。综合来说凝胶膏涂展性和外观性状达到最好，黏度适宜即可，故选出 PVP K90 用量为 0.5 g。

### 3.4.6. 柴胡纳米乳用量的考察

按照“3.3.2”规定的步骤，使用固定基本处方中其他物料用量，改变柴胡纳米乳用量的用量，分别加入用量分别为 2 g、4 g、6 g、8 g、10 g 的柴胡纳米乳用量，制备出凝胶膏，综合感官评分结果见表 12。

Table 12. Comprehensive sensory score of different dosage of bupleurum nanoemulsion

表 12. 柴胡纳米乳不同用量综合感官评分

柴胡纳米乳用量(g)	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
2	8	8	10	10	10	46
4	9	9	10	10	9	47
6	10	10	10	10	9	49
8	10	9	9	10	8	45
10	10	7	7	10	7	41

结果分析：柴胡纳米乳是一种溶液，用量多导致黏度变小，就导致涂展性和外观性状变好，但会有渗布，皮肤追随性就变差了；用量少黏度就大，涂展性和外观性状就没有那么好。故选出柴胡纳米乳的用量为 6 g。

### 3.5. 正交实验设计优化基质处方

由于聚丙烯酸钠-700、甘羟铝、甘油及 PVP K90 是影响凝胶膏交联作用及成形性最大的四因素，故选此四种辅料的用量做正交优化实验设计。依据单因素实验结果，将以上 4 个因素分别取 3 个水平，按照 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计的实验表进行布置实验，以及皮肤追随性作为评价指标对以上 4 种辅料用量进行优选。表中各种辅料的用量按基质总量 50 g (加水至 50 g)计，正交试验因素水平见表 13。正交法优化柴胡纳米乳凝胶膏制备工艺的结果见表 14。方差分析见表 15。

Table 13. Factor levels

表 13. 因素水平

水平	因素			
	A	B	C	D
	NP-700 (g)	甘羟铝(g)	甘油(g)	纳米乳(g)
1	1.5	0.15	20	4
2	1.75	0.2	25	6
3	2	0.25	30	8



**Table 14.** Orthogonal design results of bupleurum nanoemulsion gel paste  
**表 14.** 柴胡纳米乳凝胶膏正交设计结果

试验号	A	B	C	D	综合感官评分
1	1	1	1	1	43
2	1	2	2	2	45
3	1	3	3	3	46
4	2	1	2	3	49
5	2	2	3	1	47
6	2	3	1	2	43
7	3	1	3	2	44
8	3	2	1	3	40
9	3	3	2	1	43
K1	134	136	126	133	
K2	139	132	137	132	
K3	127	132	137	135	
k1	44.67	45.33	42.00	44.33	
k2	46.33	44.00	45.67	44.00	
k3	42.33	44.00	45.67	45.00	
R	4.00	1.33	3.67	1.00	
最佳配比	A2B1C2D3				

**Table 15.** Variance analysis  
**表 15.** 方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	显著性
A	24.2222	2	15.5714	P > 0.05
B	3.5556	2	2.2857	P > 0.05
C	36.8889	2	17.2857	P > 0.05
D(误差)	1.5556	2		

结果分析：影响柴胡纳米乳凝胶膏的主要因素  $A > C > B$ ，其处方配比优化条件为 A2B1C2，其中 D 基本没影响，在方差分析中作误差处理。考虑到柴胡纳米乳凝胶膏发挥最大药效，D 因素取最大水平 D3，最终选择处方最佳配比为 A2B1C2D3，即 NP-700 1.75 g，甘羟铝 0.15 g，甘油 25 g，柴胡纳米乳 8 g。

### 3.6. 验证实验

为了验证柴胡纳米乳凝胶膏的最佳处方，按最佳配比制备凝胶膏，重复 3 次，进行验证性试验。结果见表 16。

Table 16. Verification results

表 16. 验证结果

批次	涂展性	外观性状	渗布程度	膜残留	皮肤追随性	总分
1	9	10	9	10	10	48
2	9	10	9	10	10	48
3	9	10	10	10	10	49

结果分析：按此处方组成制备的柴胡纳米乳凝胶膏综合评价总分最高，膏面完整均匀，几乎无渗布，涂展性和外观性状比较好，皮肤追随性好，膜几乎无残留。

## 4. 柴胡纳米乳凝胶膏的初步质量研究

### 4.1. 含药量凝胶膏性状、气味

按照 2020 版《中国药典》，对自制柴胡纳米乳凝胶膏进行性状和气味考察，本药物为淡黄色半透明凝胶膏，具有独特的柴胡挥发油辛香。

### 4.2. 赋形性

取柴胡纳米乳凝胶膏供试品一片，放入 37℃ 恒温箱 30 分钟后取出，供试品用夹子固定于平整钢板上，钢板和水平面倾斜角 60° 处，24 小时后观察其现象。

结果分析：柴胡纳米乳凝胶膏没有流淌现象，说明赋形性较好。

### 4.3. 初黏力

《中国药典》(2020 版) 记载了凝胶膏《通则 0952》第一法进行测定，试验前凝胶膏要放置 2 小时，用含无水乙醇的纸巾擦洗倾斜板和不锈钢球表面，清洗 3 次以上，直至表面洁净。然后调整倾斜板为 30°，取 3 片供试品，用双面胶固定在倾斜板上。供试品端部应在水平线下位置，粘性面向上且沿斜面方向的实验长度不超过 5 cm。将规定钢球放在水平线上位置，自由落下进行测试。

结果分析：3 个供试品均能黏住最大钢球为 19 号钢球，重量为 15.081 g。因此，柴胡纳米乳凝胶膏的初黏力为 15.081 g。

### 4.4. 柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷的含量测定

本实验通过紫外可见分光光度法对柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷进行含量测定研究，选取柴胡皂苷 a 为对照品溶液，为柴胡纳米乳凝胶膏的质量控制提供参考。

#### 4.4.1. 1% 对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液的配置

精密称取对二甲氨基苯甲醛 0.5 g，置于 50 ml 95% 乙醇溶液中，使其完全溶解，即得 1% 对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液。

#### 4.4.2. 对照品溶液的制备

精密称取柴胡皂苷 a 10 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加甲醇定容。制成柴胡皂苷 a 1.0 mg/mL 的对照品溶液。

#### 4.4.3. 供试品溶液的制备

取凝胶膏 1.500 g，精密称定，置于 25 ml 容量瓶中，加入甲醇液定容，密塞，静置 24 h 后，放入超声波清洗仪中 30℃ 水温超声处理(功率 250 W，频率 60 kHz) 30 min。抽滤，即得供试品溶液。

#### 4.4.4. 紫外测定方法

参考文献[23], 精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 0.5 ml, 分别加入 1% 对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液 0.5 ml, 70℃ 水浴加热 10 min, 取出放冷, 加入磷酸 4.0 ml, 70℃ 水浴加热反应 30 min, 放冷, 在波长 545 nm 处分别测定供试品溶液与对照品溶液的吸光度值。

#### 4.4.5. 线性范围考察

精密吸取对照品溶液 400、500、600、700、800、900、1000  $\mu\text{L}$ , 分别置于容量瓶中, 加入甲醇定容。按“4.4.4”项下测定, 甲醇为作为空白对照, 以吸光度值为纵坐标, 以浓度(mg/ml)为横坐标, 绘制标准曲线。结果见表 17 和见图 1, 得回归方程  $A = 1.4519C + 0.076$  ( $R^2 = 0.9951$ ), 表明柴胡皂苷 a 在 0.1~0.2 mg/mL 范围内呈良好的线性关系。

Table 17. Linear relationship between saikosaponin a and absorbance

表 17. 柴胡皂苷 a 与吸光度线性关系

浓度(mg/ml)	吸光度
0.10	0.2278
0.12	0.2509
0.14	0.2756
0.16	0.3143
0.18	0.3396
0.20	0.3701

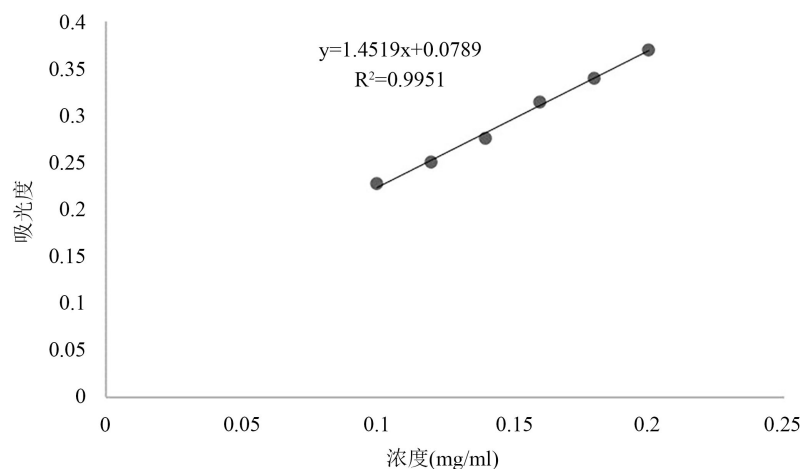


Figure 1. Standard curve of saikosaponin a

图 1. 柴胡皂苷 a 标准曲线

#### 4.4.6. 精密度试验

Table 18. Precision results

表 18. 精密度结果

序号	吸光度	RSD (%)
1	0.3707	0.014
2	0.3708	

Continued

3	0.3708	
4	0.3707	0.014
5	0.3708	
6	0.3708	

取对照品溶液，按“4.4.4”项下连续测定 6 次，记录吸光度，计算 RSD。结果见表 18，其 RSD 为 0.014%，说明仪器有着良好的精密度。

#### 4.4.7. 稳定性试验

取供试品溶液，分别于 0、1、2、3、4、5、6 h，按“4.4.4”项下测定，记录吸光度，计算 RSD。结果见表 19，其 RSD 为 0.53%，表明在 6 h 内供试品稳定。

Table 19. Stability results

表 19. 稳定性结果

序号	吸光度	RSD (%)
0	0.2866	
1	0.2864	
2	0.2852	
3	0.2841	0.53
4	0.2831	
5	0.2836	
6	0.2830	

#### 4.4.8. 重复性试验

取柴胡纳米乳凝胶膏样品溶液 6 份，按“4.4.4”项下测定，记录吸光度，计算 RSD。结果见表 20，其 RSD 为 0.76%，表明本方法有着良好的重复性。

Table 20. Repeatability results

表 20. 重复性结果

序号	吸光度	RSD (%)
1	0.2782	
2	0.2789	
3	0.2799	
4	0.2819	0.76
5	0.2837	
6	0.2821	

#### 4.4.9. 加样回收率试验

取 6 份 1.5 g 柴胡纳米乳凝胶膏，分别加入适量对照品溶液，按“4.4.3”项下制备成溶液，再按“4.4.4”项下测定，记录吸光度，计算回收率。结果见表 21，平均加样回收率为 98.56%，RSD 为 0.53%，结果符

合要求。

**Table 21.** Results of recovery rate

**表 21.** 加样回收率结果

序号	取样量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
1	0.035	0.020	0.0539	98.00		
2	0.035	0.020	0.0540	98.18		
3	0.035	0.025	0.0590	98.33		
4	0.035	0.025	0.0595	99.17	98.56	0.53
5	0.035	0.030	0.0640	98.46		
6	0.035	0.030	0.0645	99.23		

#### 4.4.10. 样品的含量测定

精密称定柴胡纳米乳凝胶膏 3 份, 按“4.4.3”项下制备成溶液, 再按“4.4.4”项下测定, 记录吸光度, 计算样品中柴胡总皂苷的含量。结果见表 22。

**Table 22.** Determination results of total saikosaponin content in bupleurum nanoemulsion gel paste

**表 22.** 柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷含量测定结果

序号	质量(g)	吸光度	含量(mg/g)	均值(mg/g)	RSD (%)
1	1.500	0.2809	2.331		
2	1.500	0.2811	2.333	2.333	0.11
3	1.500	0.2814	2.336		

#### 4.5. 柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷 d 的含量测定

本试验通过高效液相色谱法对柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷 d 进行含量测定研究, 为柴胡纳米乳凝胶膏的质量控制提供参考。

##### 4.5.1. 高液相色谱条件

色谱柱: ThermoHypersil BDS-C18 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 采用水, 流动相 B 采用乙腈, 梯度洗脱(见表 23); 检测波长: 210 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 30℃; 进样室温度: 15℃。

**Table 23.** Gradient elution

**表 23.** 梯度洗脱

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	32	68
10	35	65
15	45	55
20	52	48
25	53	47
30	55	45

#### 4.5.2. 对照品溶液的制备

精密称定柴胡皂苷 d 0.84 mg，置 5 ml 容量瓶中，加甲醇定容，超声溶解，摇匀，得到对照品溶液浓度为 0.168 mg/ml。

#### 4.5.3. 供试品溶液的制备

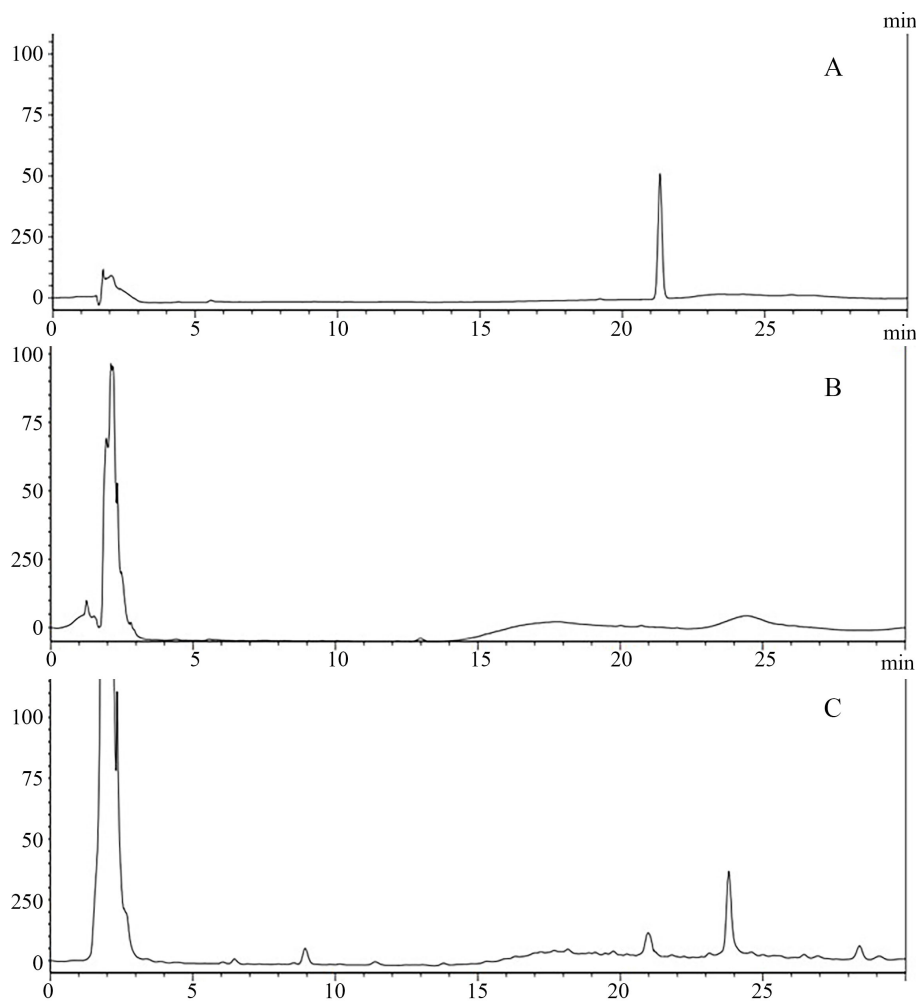
精密称取柴胡纳米乳凝胶膏 6.000 g，置于 25 ml 容量瓶中，加甲醇定容，静置 24 h 后超声 40 min，补重，过滤，取续滤液，过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜，即得。

#### 4.5.4. 阴性对照品溶液的制备

制备不含柴胡纳米乳的空白凝胶膏，作为阴性对照品，再按“4.5.3”项下制成阴性对照品溶液。

#### 4.5.5. 专属性实验

取阴性对照品溶液、对照品溶液、供试品溶液，分别注入液相色谱仪。结果见图 2，显示阴性对照品在对照品相应位置没有色谱峰，而供试品有，表明阴性对照品溶液对柴胡皂苷 d 的检测无干扰，方法专属性良好。



**Figure 2.** Specificity results of bupleurum nanoemulsion gel cream. A. saikosaponin d; B. Negative samples; C. Test products

**图 2.** 柴胡纳米乳凝胶膏专属性结果。A. 柴胡皂苷 d; B. 阴性供试品; C. 供试品

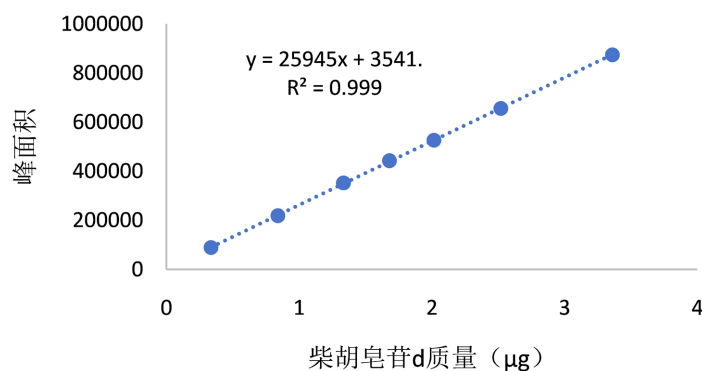
#### 4.5.6. 线性关系考察

取配制好的对照品溶液，吸取 2、5、8、10、12、15、20  $\mu\text{L}$ ，注入高效液相色谱仪，按“4.5.1”项下测定。以峰面积为纵坐标，以质量( $\mu\text{g}$ )为横坐标，绘制标准曲线。结果见表 24 和图 3，得出回归方程： $y = 259458x + 3541.9$ ， $R^2 = 0.9999$ ，表明柴胡皂苷 d 在 0.336~3.36  $\mu\text{g}$  范围内呈良好的线性关系。

**Table 24.** Linear relationship study of saikosaponin d

**表 24.** 线性关系考察柴胡皂苷 d

进样量/ $\mu\text{L}$	柴胡皂苷 d 质量( $\mu\text{g}$ )	峰面积
2	0.336	89,316
5	0.84	218,942
8	1.334	352,597
10	1.68	442,979
12	2.016	526,495
15	2.52	656,097
20	3.36	874,211



**Figure 3.** Standard curve of saikosaponin d

**图 3.** 柴胡皂苷 d 标准曲线

#### 4.5.7. 精密度试验

取配制好的对照品溶液进样分析，连续测定 6 次，记录峰面积，计算 RSD。结果见表 25，其 RSD 为 0.55%，说明仪器有着良好的精密度。

**Table 25.** Precision results

**表 25.** 精密度结果

序号	峰面积	RSD/%
1	446119	0.55
2	442979	
3	447350	
4	440393	
5	443855	
6	444925	

#### 4.5.8. 稳定性试验

取配制好的供试品溶液，室温条件下静置 1 天，分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 时进样分析，记录峰面积，计算 RSD。结果见表 26，其 RSD 为 1.03%，表明在 12 h 内供试品稳定。

**Table 26.** Stability results

**表 26.** 稳定性结果

进样时间/h	峰面积	RSD/%
0	162,212	
2	165,237	
4	164,228	
6	161,989	1.03
8	163,311	
10	166,288	
12	165,675	

#### 4.5.9. 重复性试验

取柴胡纳米乳凝胶膏样品溶液 6 份，按“4.5.3”项下进样分析，记录峰面积，计算 RSD。结果见表 27，其 RSD 为 0.51%，表明本方法有着良好的重复性。

**Table 27.** Repeatability results

**表 27.** 重复性结果

序号	峰面积	RSD/%
1	164,046	
2	163,639	
3	162,188	0.51
4	163,713	
5	162,604	
6	162,212	

#### 4.5.10. 加样回收试验

**Table 28.** Results of recovery rate

**表 28.** 加样回收率结果

序号	取样量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
1	122.3	67.20	188.65	99.30		
2	122.3	67.20	187.98	98.76		
3	122.3	84.00	204.60	98.61	99.19	0.51
4	122.3	84.00	205.96	99.72		
5	122.3	100.8	220.78	98.92		
6	122.3	100.8	222.85	99.80		



精密称取柴胡纳米乳凝胶膏 6 份, 分别加入适量对照品溶液, 按“4.5.3”项下制备成溶液, 再按“4.5.1”项下进样分析, 记录峰面积, 计算平均值、RSD。结果见表 28, 平均加样回收率为 99.19%, RSD 为 0.51%, 结果符合要求。

#### 4.5.11. 样品的含量测定

精密称取柴胡纳米乳凝胶膏 3 份, 按“4.5.3”项下制备成溶液, 再按“4.5.1”项下进样分析, 记录峰面积, 计算样品中柴胡皂苷 d 的含量, 结果见表 29。

Table 29. Content determination results

表 29. 含量测定结果

序号	称样量(g)	测得量(mg)	含量(mg/g)	平均含量(mg/g)
1	6.000	3.058	0.510	0.512
2	6.001	3.085	0.514	
3	6.000	3.065	0.511	

## 5. 结论

柴胡作为临床常用中药之一, 其性辛、苦, 微寒, 归肝、胆、肺经, 其可疏散退热、疏肝解郁、升举阳气[24]。其临床疗效在《神农本草经》《药性论》《本草纲目》《本草正义》等古籍中早有论述[25]。纳米乳作为一种新剂型, 经皮给药可以延缓药物释放、提高药物透皮速率, 提高生物利用度, 具有广阔的市场前景, 值得深入研究[26] [27]。课题组前期研究了柴胡纳米乳, 具有黏度低、无毒、无刺激性等特点, 对治小儿发热效果显著。但纳米乳不够稳定, 易受到外界因素的影响, 容易受到污染, 同时液体剂剂储存易受环境而变质, 影响其疗效。作为一种结构稳定、无毒副作用、载药量高、生物相容性佳的中药透皮给药制剂, 凝胶膏具有巨大的开发潜力。本实验将凝胶膏与中药制成的纳米乳相结合制成现代化剂, 可以有效控制其稳定性, 具有深远的临床意义和广阔的市场前景。

本实验经查阅文献, 确定凝胶膏的骨架材料为 NP-700。通过制得空白基质, 据综合感官评分, 筛选出交联剂为甘羟铝, 保湿剂为甘油, 交联调节剂为酒石酸, 增稠剂为 PVPK90。再通过查阅大量文献结合做实验确定柴胡纳米乳凝胶膏的基本处方和制备工艺。然后在柴胡纳米乳凝胶膏基本处方的基础上, 对 NP-700、甘羟铝、甘油、酒石酸、PVPK90、柴胡纳米乳的用量进行单因素试验。最后通过正交试验得出最优处方, 即 NP-700 1.75 g, 甘羟铝 0.15 g, 甘油 25 g, 柴胡纳米乳 8 g, 酒石酸 0.2 g, PVPK90 0.5 g。

通过查阅 2020 版中国药典, 对凝胶膏进行性状、气味、赋形性和初黏力进行测定。得出柴胡纳米乳凝胶膏为淡黄色半透明凝胶膏, 具有独特的柴胡挥发油辛香, 无流淌现象, 赋形性较好, 初黏力为 15.081 g。

通过对二甲氨基苯甲醛 - 磷酸显色法, 利用紫外分光光度法测定柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷的含量, 绘制柴胡皂苷 a 标准曲线, 得到线性回归方程。结果柴胡皂苷 a 在 0.10 mg/ml~0.20 mg/ml 呈现良好的线性, 精密度, 稳定性, 重复性, 加样回收率等符合相关要求, 最后测得柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡总皂苷的含量为 2.333 mg/g。

利用高效液相色谱法测定柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷 d 的含量, 绘制柴胡皂苷 d 标准曲线, 得到线性回归方程。结果柴胡皂苷 d 在 0.336~3.36  $\mu$ g 呈现良好的线性, 精密度, 稳定性, 重复性, 加样回收率等符合相关要求, 最后测得柴胡纳米乳凝胶膏中柴胡皂苷 d 的含量为 0.512 mg/g。

本实验以综合感官评分为指标, 对凝胶膏辅料进行筛选, 确定凝胶膏的基本处方以及制备工艺, 并通过单因素考察和正交实验确定最优处方并对其进行初步评价, 所制备的柴胡纳米乳凝胶膏赋形性好, 黏度大, 安全性良好。但由于条件各方面原因, 评价指标单一及质量评价存在不足, 后续可从这两方面

出发。此外,也可从体外透皮,体内药效等方面进行研究,验证该凝胶膏药效,更能贴近临床,有利于促进其开发。

## 基金项目

1. 国家自然科学基金,项目编号:82260770; 2. 贵州省特色功能食品与中药制剂开发攻关大平台黔教合,项目编号:KY字[2020]006; 3. 贵州中医药大学药用高分子材料研究中心,项目编号:贵中医党办发[2019]70; 4. 贵州中医药大学博士启动基金,项目编号:贵中医博士启动[2021]14; 5. 贵州省国内一流学科建设项目,项目编号:GNYL[2017]008; 6. 贵州省药物新剂型新工艺科技创新人才团队项目,项目编号:黔科合平台人才[2017]5655; 7. 贵州省高层次人才,项目编号:黔科合平台人才-GCC[2023]037; 8. 贵州省教育厅滚动支持省属高校科研平台,项目编号:黔教技[2022]022号。

## 参考文献

- [1] 罗桂平,郑妙玲. 中药熏洗辅助穴位按摩对风热型小儿发热的临床观察[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(9): 2186-2187.
- [2] 刘嘉君. 小青龙汤加炮附片治疗小儿发热病的探讨[J]. 内蒙古中医药, 2020, 39(2): 64-65.
- [3] 马艳荣. 西部部分地区外感发热(上呼吸道感染)中医证候分型的流行病学调查[D]: [硕士学位论文]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [4] 曾彩泽. 小儿发热证素分布规律的临床研究[D]: [硕士学位论文]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [5] 徐杰. 输尿管软镜下钬激光碎石术在复杂性上尿路结石患者治疗中的临床疗效观察[J]. 山西医药杂志, 2021, 50(7): 1084-1086.
- [6] 黄坚候,宋智艳,黄晓威,等. 182例小儿药物不良反应报告分析与防控策略[J]. 海峡药学, 2022, 34(7): 136-138.
- [7] 罗会萍. 小儿生理特点与安全用药[J]. 中医药管理杂志, 2015, 23(16): 90-91.
- [8] 宋祖益. 近年来阿司匹林被发现的新作用及副作用[J]. 中国实用医药, 2013, 8(30): 161-162.
- [9] 华子. 阿司匹林副作用大,是否可用氯吡格雷替代[J]. 江苏卫生保健, 2020(2): 28.
- [10] 肖志彬,刘小雷,成日青,等.  $\beta$ -谷甾醇对阿司匹林致胃黏膜损伤副作用及其药理作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 148-152.
- [11] 唐荣飞. 银翘白虎汤加减联合布洛芬治疗小儿外感发热疗效观察[J]. 福建中医药, 2019, 50(3): 71-72.
- [12] 王杰鹏,方芳,王浩,等. 中医外治法治疗小儿发热应用概况[J]. 河北中医, 2019, 41(1): 146-151.
- [13] 石玲婷,黄运福,李巧华. 小儿解表口服液对150例风热感冒患儿的临床疗效分析[J]. 北方药学, 2015, 12(11): 141-142.
- [14] 兰宝恒,吴泽青. 柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(2): 174-180.
- [15] 宁艳梅,任远,吴国泰,等. 基于代谢组学技术探讨鳖血柴胡“清肝退热”作用的“物质-效应”机制[J]. 中草药, 2022, 53(24): 7763-7773.
- [16] 王莉博. 小儿柴胡退热栓的研制及解热作用机制研究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 湖北医药学院, 2023. <https://doi.org/10.27913/d.cnki.ghyby.2022.000054>
- [17] 吴启洋,刘纪明,谢华,等. 柴胡皂苷 a 药理作用及其作用机制的研究进展[J]. 赣南医学院学报, 2022, 42(11): 1143-1150.
- [18] 冯娟. 小柴胡汤合银翘散对儿童流行性感冒退热效果及实验室指标的影响[J]. 光明中医, 2022, 37(8): 1352-1354.
- [19] 章焯雯. 小儿退热凝胶膏的制备工艺与评价研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [20] 侯萍,李铭,马军,等. 天然高分子材料水凝胶的制备及其应用进展[J]. 高分子通报, 2022(8): 29-36.
- [21] 肖宇硕. 复方吴茱萸水凝胶剂的制备工艺及质量标准研究[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
- [22] 孙婷. 复方骆驼蓬子水凝胶剂的研制[D]: [硕士学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2016.
- [23] 胡永慧. 小儿肺炎巴布膏剂的制备及质量研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2018.
- [24] 王鹏,王玉生. 不同采收期柴胡中挥发油及总皂苷的含量测定[J]. 中国药房, 2009, 20(27): 2124-2125.

- [25] 李力恒, 陈丽萍, 胡晓阳, 等. 柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(2): 109-112.
- [26] 刘雅梦, 唐凯文, 陈芳, 等. 纳米给药系统改善中药挥发油稳定性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(7): 1714-1716.
- [27] 徐金转, 张莉莉, 周正莉, 等. 艳山姜挥发油纳米乳的制备及其体内分布情况考察[J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1-8. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20231349>, 2023-12-29.