

**柴胡滴鼻液的药学研究**

**钟 宣 艳**

**生命科学与工程学院**

**化学工程**

**马家骅 副教授**

**孟保华 工程师**

2016 05 31

**Pharmaceutical Research on Bupleurum Nasal Drops**

Classified Index:

II

Southwest University of Science and Technology

Master Degree Thesis

Pharmaceutical Research on Bupleurum Nasal Drops

Grade: 2013 Candidate: Xuanyan Zhong

Academic Degree Applied for: Master

Speciality: Chemical Engineering Supervisor: Jiahua Ma

Baohua Meng

May 31,2016

独 创 性 声 明

本 人 声 明 所 呈 交 的 论 文 是 我 个 人 在 导 师 指 导 下 进 行 的 研 究 工 作及 取 得 的 研 究 成 果 。 尽 我 所 知 ， 除 了 文 中 特 别 加 以 标 注 和 致 谢 的 地方 外 ， 论 文 中 不 包 含 其 他 人 已 经 发 表 或 撰 写 过 的 研 究 成 果 ， 也 不 包含 为 获 得 西 南 科 技 大 学 或 其 它 教 育 机 构 的 学 位 或 证 书 而 使 用 过 的 材料 。 与 我 一 同 工 作 的 同 志 对 本 研 究 所 做 的 任 何 贡 献 均 已 在 论 文 中 作了 明确 的 说明 并 表示 了 谢 意。

签 名 ：  日 期 ： 

关于论文使用和授权的说明

本 人 完 全 了 解 西 南 科 技 大 学 有 关 保 留 、 使 用 学 位 论 文 的 规 定 ， 即 ： 学 校 有 权 保 留 学 位 论 文 的 复 印 件 ， 允 许 该 论 文 被 查 阅 和 借 阅 ； 学 校 可 以 公 布 该 论 文 的 全 部 或 部 分 内 容 ， 可 以 采 用 影 印 、 缩 印 或 其他 复制 手 段保 存 论文 。

( 保 密的 学 位论 文 在解 密 后 应遵 守 此规 定 )

签 名 ： 导 师签 名  日 期 ：

摘 要

柴胡为伞形科植物柴胡*Bup le ur um chi nen s e* DC. 或狭叶柴胡*Bu ple ur um sc or z one r ifo lium* Will d．的干燥根，具有解热、镇痛、消炎、保肝等功效。柴胡注射液为著名的解热制剂，临床应用广泛，但存在给药不便，患者顺应性不好的不足。为此，本文在柴胡注射液的基础上，通过添加适宜辅料，制备柴胡滴鼻液，并对其进行药学研究 。

**目的：**本研究将传统的中药特色与现代化科技相结合，从制备工艺、药理药效、质量标准和稳定性四个方面进行了初步研究，以期为将来的新药申报提供相应的参考 。

**方法**：采用单因素实验法设计实验，气相色谱分析各样品，对其药材处理方式、提取时间及方式进行研究，筛选最优提取工艺；用卧式扩散池，以接受池内挥发油成分峰面积考察渗透促进剂的渗透效果，用自制的体外黏附装置测试处方的体外黏附力，筛选黏附剂优化制剂处方。通过牛蛙纤毛毒性实验、大鼠鼻黏膜刺激性实验和初步药效、急性毒性实验，对柴胡滴鼻液进行了药理毒理研究。在柴胡注射液质量标准的基础上，用气相色谱法分析柴胡挥发油、芳香水和滴鼻液的指纹图谱，建立了初步质量控制方法，并通过方法学实验验证该方法的可靠性。稳定性研究主要进行了6个月加速 和

6个月常温留样试验。

**结果与结论**：最优提取工艺为：药材50℃烘干，粉碎为最粗粉，一次水蒸馏6 h；制剂研究确定了黏附剂为0. 5 %黄原胶，渗透促进剂为0.8 %羟丙基倍他环糊精。结果显示，研究得到的柴胡滴鼻液工艺合理，有效成分含量稳定。药理毒理实验显示柴胡滴鼻液对牛蛙纤毛无毒性，对大鼠鼻腔黏膜无明显刺激性，且解热效果明确，且急性毒性实验显示制剂无毒。在质量标准研究中，建立了柴胡滴鼻液药材、中间体和制剂三位一体的指纹图谱质量控制方法，得到了柴胡滴鼻液质量标准草案，方法学实验表明该方法稳定可行。通过6个月的稳定性实验，发现柴胡滴鼻液的质量稳定可控 。

关键词：柴胡滴鼻液制备工艺药理药效质量标； 准

Abstract

*Bu ple ur um chine ns e* DC. is a wel l- kn own trad itio na l Ch ine se med ici ne (T C M) that has bee n us ed fo r more tha n tw o thou sa nd yea rs. T he re s ult s sh owe d tha t som e com pon en ts inc lud ing sa iko sa po nin, fl av ono id, es s en tia l oil and fa tty acid pos s es s ed se ve ral prove n pha rmac ol ogi ca l ac tivi tie s, inc lud ing ant ipy reti c, ana lge s ic , hep ato - pro tec tiv e, mild se dat ive and im muno mod ula tory effe ct. Bu ple urum inje ct ion is a fa mo us ant ipy reti c prep ara tio n with a wide ra ng e of cli nic al app ly, howe ve r, the re are so me draw ba ck s, in cl udin g inc onv en ien t admi nis tra tio n and poor pat ien t comp lia nc e. Th e st udy us ed so me man ufac tu ring met hod s and adde d app ropri ate exc ipi en ts to prep are Bu ple urum nas a l drops and did its pha rmac e utic al re se arc h on the bas is of Bup leu rum inje ct ion ,

**Objec tiv e:** Co mbin ed the trad itio na l herb s with adv an ce d tec hno log y, the prep ara tio n tec hno log y, ph arm ac olo gy and drug effic ac y, qua lity st and ard and sta bi lity were st udie d, with a vi ew to prov ide the app ropria te re fe renc e to new drug app lic ati on.

**Me thods :** To sc ree n the op tima l ext rac tion , se vera l para me ters inc lud ing he rba l proc es s met hod , ext rac tion time and mann er were st udie d with sin gle fa c tor exp erim en t. Eac h sa mple was ana lyz ed by ga s chro mat ogra ph y. Th e pea k are a of vola til e oil com pon ent s in acc ep t poo l were us ed to stu dy perme a tion enh an ce r pen etra tio n effec t by horiz on tal diffu si on cel l and th e vitro adh es io n te s t was tak en to sc ree n adh es io n promo te r in pha rmac e utic al fo rmul ati ons with ho me mad e vitro adh es io n appa rat us. Pha rmac olo gy and toxi co logy were ca rried out by doin g so me exp erim ent s incl udi ng bu llfro g cil ia to xic ity, ra ts nas a l muc os a, prel imin ary effic ac y and acu te to xic ity tes t of Bupl eu rum nas a l drop s. Ba s ed on Bup leu rum inje cti on qua lity st and ard s, the ana lys e s of Bup le urum vola til e oil, arom ati c wat er and nas a l drop s fi nge rpri nts were st udie d to es ta blis h a pre lim ina ry qua lity con trol met hod by gas chro mat ogra ph y. St ab ility te s ts were stu die d by inve s tig ati ng sa mpl es in 6 mo nth s unde r acc e lera te d con dit ion and

Ro om te mpe rat ure .

**Res ul ts and con clus io n:** The opti mum ext rac tion proc es s was : dryin g in 50℃, t he mos t coa rs e pow de r, the fi rs t wat er dis til lat ion for 6

H. Th e fo rmula tio n inc lud ed ide ntifi ed 0. 5% xant ha n gum as an adh es iv e age nt and 0. 8% HP-β-C D as a pen etra tio n enh an ce r. Th e ext rac tion and prep ara tio n proc es s were re a so na ble and th e ac tive ingre di ent s were st abl e. Ph arma co log y and toxi col ogy expe rime nt s sh owe d Bup le urum nas a l drop s was non - toxi c to bullfro g cili a and ra ts nas a l muco s a and its ant ipyre tic effe ct was cle ar. Th e stu dy est abl is he d fi nge rpri nts of medi cin al mat eria l, inte rme dia te and prepa rat ion to con trol its qua lity and got qua lity st and ard s draft of Bu ple urum nas a l drop s. Stab ilit y expe rime nts sh owe d that Bu ple urum na s al drops was st abl e and ea si ly con trol led .

**Ke y wor ds :** Bup le urum; Nas a l drops; Prep ara tio n; Pharm ac olo gy; Qua lity st and ard

目 录

[摘 要](#_Toc686334497) 2

[Abstract](#_Toc686334498) 2

[1 绪论](#_Toc686334499) 4

[1.1 柴胡研究进展](#_Toc686334500) 4

[1.1.1 柴胡概述](#_Toc686334501) 4

[1.1.2 2柴胡化学成分及其药理作用研究近况](#_Toc686334502) 4

[1.2 柴胡挥发油研究进展](#_Toc686334503) 5

[1.2.1 柴胡挥发油提取方法研究](#_Toc686334504) 5

[1.2.2 柴胡挥发油药效研究](#_Toc686334505) 5

[1.3 鼻腔给药研究概况](#_Toc686334506) 5

[1.3.1 鼻腔解剖Th理结构特点](#_Toc686334507) 5

[1.3.2 鼻腔给药特点](#_Toc686334508) 5

[度 ， 结 果 显 示 ， 在 不 加 吸 收 促 进 剂 的 情 况 下 ， 其 绝 对 生 物 利 用 度 在](#_Toc686334509) 5

[1.3.3 鼻腔给药剂型](#_Toc686334510) 6

[1.3.4 中药鼻腔给药研究概述](#_Toc686334511) 6

[1.4 4柴胡滴鼻液研究现状](#_Toc686334512) 6

[1.5 5 研究意义](#_Toc686334513) 6

[1.6 6 研究内容](#_Toc686334514) 6

[2 柴胡滴鼻液的制备工艺研究](#_Toc686334515) 7

[2.1 仪器与试药](#_Toc686334516) 7

[2.1.1 仪器](#_Toc686334517) 7

[2.1.2 试药](#_Toc686334518) 7

[2.2 方法与结果](#_Toc686334519) 7

[2.2.1 评价方法](#_Toc686334520) 7

[2.2.2 药材前处理工艺筛选](#_Toc686334521) 7

[中挥发油成分含量最高 。](#_Toc686334522) 9

[2.2.3 滴鼻液提取工艺优化](#_Toc686334523) 10

[2.2.4 制剂工艺研究](#_Toc686334524) 12

[2.3 小结](#_Toc686334525) 15

[3 柴胡滴鼻液的药理毒理初步研究](#_Toc686334526) 15

[3.1 仪器和试药](#_Toc686334527) 15

[3.1.1 仪器](#_Toc686334528) 15

[3.1.2 试药](#_Toc686334529) 15

[3.1.3 动物](#_Toc686334530) 15

[3.2 方法和结果](#_Toc686334531) 15

[3.2.1 牛蛙上颚纤毛毒性研究](#_Toc686334532) 15

[3.2.2 大鼠鼻黏膜刺激性实验](#_Toc686334533) 16

[3.2.3 柴胡滴鼻液药效初步研究](#_Toc686334534) 17

[4 柴胡滴鼻液的质量标准研究](#_Toc686334535) 20

[4.1 仪器和试药](#_Toc686334536) 20

[4.1.1 实验仪器](#_Toc686334537) 20

[4.1.2 试剂与药品](#_Toc686334538) 20

[4.2 实验方法与结果](#_Toc686334539) 20

[4.2.1 1 性状的确定](#_Toc686334540) 20

[4.2.2 .2 黏度的确定](#_Toc686334541) 20

[4.2.3 三位一体指纹图谱方法的建立](#_Toc686334542) 22

[4.2.4 4 方法学实验](#_Toc686334543) 33

[4.2.5 柴胡挥发油成分探索](#_Toc686334544) 38

[4.3 结论与讨论](#_Toc686334545) 38

[4.3.1 质量标准（草案）](#_Toc686334546) 38

[4.3.2 讨论](#_Toc686334547) 40

[5 柴胡滴鼻液的稳定性研究](#_Toc686334548) 40

[5.1 仪器和试药](#_Toc686334549) 40

[5.1.1 实验仪器](#_Toc686334550) 40

[5.1.2 试剂与药品](#_Toc686334551) 40

[5.2 方法与结果](#_Toc686334552) 40

[5.2.1 考察项目](#_Toc686334553) 40

[5.2.2 长期留样试验](#_Toc686334554) 40

[5.2.3 加速稳定性实验](#_Toc686334555) 46

[5.3 小结](#_Toc686334556) 54

[结 论](#_Toc686334557) 54

[参考文献](#_Toc686334558) 54

# 1 绪论

## 1.1 柴胡研究进展

### 1.1.1 柴胡概述

柴胡，为伞形科植物柴胡*Bu ple ur um chi nen s e* DC. 或狭叶柴胡*Bu ple ur um sc or z one r ifo lium* Will d．的干燥根。我国拥有丰富的柴胡资源，按性状不同，柴胡主要分成“北柴胡”和“南柴胡”，北柴胡主要分布于辽宁省、甘肃省、ft东省、河北省等地，南柴胡主产于安徽省、江苏省、湖北省以及四川省[ 1 ]。同属的植物也有多种可入药，如银州柴胡B．*yinc ho we ns e Shan et* Y. Li；竹叶柴胡B．*margin atu m* Wall．Ex DC；兴安柴胡B．*sib ir ic um* Ves t．等。其有春、秋两季可以采挖，之后可除去杂质和残茎，然后切厚片、干燥，切好的干片可以生用、酒炙也可醋炒后用[ 2 ] 。

柴 胡 最 初记 载 于 《 神农 本 草 经 》， 列 为上 品 ， 称 其味 辛 、 苦 、性微 寒 ， 能 够 退 热 解 毒 、 缓 解 肝 气 郁 结 、 升 阳 举 陷 。 现 代 中 药 学 研 究认 为 柴 胡 药 效 有 三 ： 一 是 疏 肝 解 郁 ， 胸 肋 疼 痛 ， 月 经 不 调 ； 二 是 感冒 发热 ， 疏散 退 热； 三 是 升阳 举 陷， 用 于久 泻 脱肛 ， 气虚 下 陷 等[ 3 ] 。

### 1.1.2 2柴胡化学成分及其药理作用研究近况

柴 胡 主 要 含 皂 苷 、 挥 发 油 ， 除 此 之 外 ， 还 含 有 黄 酮 、 脂 肪 酸 、多 元 醇 、 植 物 甾 醇 、 香 豆 素 等 成 分 ， 近 年 来 对 其 所 含 多 糖 、 微 量 元素 也进 行 了研 究 [4 ] 。

#### 1.1.2.1. 1 柴 胡化 学 成分 研 究

##### （1）柴胡 皂 苷

柴 胡 属 植 物 中 成 分 含 量 最 高 的 是 三 萜 皂 苷 类 化 合 物 ， 而 柴 胡 皂苷 a ，c ，d 是 其 中含 量 相 对 较 高的 三 种 。这 类 成分 生 理 活 性 很强 ，药理 试 验 研 究 证 明 ， 皂苷 a ， d 具 有 明 显 的 药 理 活 性， 目 前 检 测 药 用 柴胡 质量 的 标准 就 是参 照 柴 胡皂 苷 a ， d 的 含量 来 确定 的 。

##### （2）挥发 油

柴胡挥发油是继柴胡皂苷后柴胡内第二大含量较高的成分。柴胡的发汗作用的物质基础即为挥发油，其具有良好的解表退热的效用。据文献报道，柴胡根中挥发油的化学成分多为分子量较小的的醛、酮、醇、酯、脂肪酸及苯的衍生物等物质，经过研究人员测量，其中含量较高的有正己醛( 17. 00 %) 、2-戊基呋喃( 8. 10%) 、棕 榈

酸( 6.7 1%)、5-异丙基-2 -甲苯酚( 6. 65%)、百里香酚( 5. 2 3%)、正庚醛( 4.6 4%) 等[5 ] 。

##### （3）其他

研究表明，柴胡中还含有黄酮类成分：异鼠李素、水仙苷、槲皮素等，以及柴胡多糖、生物碱、植物甾醇、脂肪酸、木脂素类、香豆素类、核糖醇、当归酸、胡萝卜素、抗坏血酸等 。

#### 1.1.2.2. 2 柴胡药理作用研 究

##### （1）解热作 用

现代药理学研究中，对人工造模发热的家兔给以大剂量的柴胡煎剂，发现能有较好的解热作用，起效成分为柴胡挥发油，从挥发油中分离出来的小分子的醛、酮、内酯及酚性成分为解热有效部位。实验中柴胡皂苷对伤寒杆菌、副伤寒疫苗、大肠埃希菌或酵母液等引起的动物发热均有显著解热效果，而且还会降低正常动物的体 温

[ 6 ] 。

##### （2）抗炎 作 用

柴 胡 皂 苷 和 挥 发 油 均 有 抗 炎 作 用 ， 其 中 皂 苷 类 的 作 用 最 强 。 研究 人 员发 现 其 作 用 机制 可 能 如 下 ：①柴 胡 皂苷 作 用 兴 奋 下丘 脑 ，接 着下 丘 脑 作 用 于 垂 体 ， 然 后 再 到 肾 上 腺 皮 质 ， 使 其 释 放 促 肾 上 腺 皮 质激 素，以 此 增强 糖 皮 质 激 素的 抗 炎 作 用；② 柴 胡 皂苷 直 接 抑 制 致炎 物质 释放 [ 7 - 9 ] 。

##### （3）保肝 作 用

柴 胡 具 有 疏 肝 解 郁 的 作 用 是 众 所 周 知 的 。 研 究 发 现 ， 柴 胡 皂 苷能 抑 制 胆 碱 酯 酶 释 放 ， 发 挥 拟 胆 碱 样 的 作 用 ， 从 而 起 到 调 节 神 经 系统 和 消 化 系 统 的 作 用 ， 因 此 有 助 于 治 疗 肝 郁 症 ， 起 到 疏 肝 解 郁 的 作用 。Ju st 等 人 的 研究 表 明 柴 胡 皂苷 可 保 护 护 肝脏 细 胞 和 具 有 抗肝 纤 维化 的作 用 [1 0 ] 。

##### （4）其 他作 用

此 外， 柴 胡还 具 有抗 肿 瘤 、抗 惊 厥、 调 节免 疫 系统 的 作用 [1 1 。

## 1.2 柴胡挥发油研究进展

### 1.2.1 柴胡挥发油提取方法研究

中 药 挥 发 油 的 主 要 提 取 方 法 有 水 蒸 气 蒸 馏 法 、 超 临 界 流 体 萃 取法 、微 波 法、 溶 剂回 流 法 等， 下 面一 一 阐述 [ 1 2 - 1 4 ] 。

#### 1.2.1.1. 1 水 蒸气 蒸 馏法

水蒸气蒸馏法是行业内最常用的挥发油提取方法。其方法是将药材粗粉先用水浸泡，然后直接加热蒸馏或通入水蒸气蒸馏，使挥发油与水一同蒸馏出来，收集蒸馏液，冷却后分取油层。该法的优点是操作简单，收率较高，缺点是受热时间长，易对湿热不稳定和易氧化的挥发油的成分发生变化 。

#### 1.2.1.2. 2 超临界流体萃取 法

超临界流体萃取（SFE）是一种较新的高效的提取分离技术，超临界流体是处于临界温度和临界压力以上的一种流体，如CO 2、乙烯、氨、水、丙烷等，目前研究最多的是CO 2. SFE的优点是相比于水蒸气蒸馏法具有萃取温度低、系统密闭性好，更适合那些易氧化的挥发油成分。研究表明超临界CO 2流体从柴胡中萃取挥发油，可显著缩短提取时间，提高收率[ 1 5 ] [ 1 6 ] 。

#### 1.2.1.3. 3 微波法

微波法是利用一种波长极短、频率较高的辐射能来加热物料，由于微波辐射产生的热仅限于天然物料的维管组织内部，所以这类物质升温较快，进而使细胞内压力增大，使细胞破裂将内部的香料物质释放出、传递、转移至周围萃取介质，溶解其中，过滤分离残渣后即得萃取物。这种方法提取产物的质量优于传统的水蒸气蒸馏法[1 7 ] 。

#### 1.2.1.4. 4 溶 剂回 流 法

溶 剂 回流 法 ， 是 指 利用 低 沸 点 的 有机 溶 剂 ， 如 乙 醚、 石 油 醚等 ， 与 中 药 在 提 取 容 器 中 加 热 提 取 ， 再 将 溶 剂 从 提 取 液 中 低 温 蒸 去 即 得挥 发 油 的 方 法 。 这 种 方 法 提 取 效 率 高 、 操 作 简 单 ， 但 获 得 的 挥 发 油黏 度 大 ， 原 料 中 脂 溶 性 成 分 也 易 被 同 时 提 取 出 ， 可 能 引 入 新 的 杂 质 [ 1 8 ] ， 所以 该 方法 不 常用 。

### 1.2.2 柴胡挥发油药效研究

#### 1.2.2.1. 1 解 热、 抗 炎活 性

有 研 究 表 明 ， 柴 胡 挥 发 油 对 15% 啤 酒 酵 母 致 热 的 大 鼠 有 显 著 的解 热 炸 用， 其 解 热 作用 比 同 剂 量 的氨 基 匹 林 平 稳，同 时 还 具有 明 显 的抗 炎 作用 。 文 献 检索 发 现 ， 挥 发 油成 分 中 具 有 解热 作 用 的 有 丁香 酚 、己 酸、γ - 十 一 酸 内酯 和 对 甲 氧 基苯 乙 酮 ；具 有 抗 炎作 用 的 有 戊 酸 、对甲 氧基 苯 乙酮 及 壬烯 -2 - 酸 [ 1 9 ] 。

#### 1.2.2.2. 2 抑 菌活 性

刘泽坤等从烟台柴胡地上部分提取得到挥发油，对其抑菌作用进行了研究，发现其具有广谱抗菌性，对细菌和真菌都有抑菌效果。实验中，对供试菌的抗菌强度由大到小依次是金黄葡萄球菌＞桔青霉＞大肠埃希菌＞白色葡萄球菌＞枯草芽孢杆菌＞黑曲霉＞黄曲 霉

[ 2 0 ] 。

## 1.3 鼻腔给药研究概况

鼻腔给药是一种重要的给药途径，经鼻黏膜吸收而发挥药物治疗作用的制剂，称为鼻腔给药系统（Nas al Drug Deli very Sy s tem ,

NDD S)。

### 1.3.1 鼻腔解剖Th理结构特点

人鼻腔黏膜表面积为150c m 2，鼻腔黏膜表面上皮细胞遍布纤毛，与小肠绒毛相似，可增加药物吸收的有效面积，而且鼻黏膜上皮下层有丰富的毛细血管及淋巴毛细管，能使药物迅速吸收进入循环。鼻黏膜被认为是防止抗原侵袭的第一道防线，因此鼻腔给药对通过呼吸道感染的疾病发挥着优势。另外，鼻腔给药的药物不经胃肠道而直达作用部位，很少量的药物即达较高的血药浓度。一般仅需口服药物剂量的1/10或1/15左右，因而使药物的毒副作用下降。如当支气管痉挛时吸入沙丁胺醇能直接迅速解除呼吸困难，口服一般 为

2~4mg而吸入仅需100μg[ 2 1 ] 。

鼻黏膜纤毛以100 0次·min - 1左右的速度向后摆动，对鼻黏膜表面物质的清除速率约为3~25mm·min - 1 [ 2 2 ]，外来物从鼻腔清除的半衰期大约为15 min [ 2 3 ]，这对清除鼻腔内异物、保持鼻腔清洁具有重要意义，同时也对鼻腔给药时药物在鼻腔内的保留有很大影响。鼻腔黏膜杯状细胞产生pH为7. 4的分泌物，使成人正常鼻分泌物pH维持在5. 5 ~6. 5 [ 2 4 ] 。

### 1.3.2 鼻腔给药特点

鼻 腔 给 药 可 避 免 肝 、 胃 肠 道 的 首 过 作 用 。 鼻 黏 膜 对 药 物 的 代 谢是 非 常 微 弱 的 ， 并 且 可 提 高 生 物 利 用 度 ， 尤 其 对 一 些 不 能 口 服 的 药物 经鼻 给 药更 为 重要 。

##### （1）生物 利 用度 高

与 口 服 给 药 相 比 ， 鼻 腔 给 药 可 避 免 药 物 在 胃 肠 液 中 降 解 和 肝 脏首 过 效 应，生 物 利 用度 高 ，小 分 子 药物 生 物 利 用 度接 近 静 注 。Kaga ta n i 等 [ 2 5 ] 以 大 鼠 为 模 型 动 物 研 究 了 氮 替 瑞 林 溶 液 剂 鼻 腔 给 药 的 生 物 利 用

### 度 ， 结 果 显 示 ， 在 不 加 吸 收 促 进 剂 的 情 况 下 ， 其 绝 对 生 物 利 用 度 在

pH =4 时 为 17. 1% ， 是 口 服 给 药 的 21 倍 ， 加 入 吸 收 促 进 剂 后 可 达 到

96. 9%. Be chg aa rd 等 [ 2 6 ] 研 究 了 褪 黑 素 兔 鼻 腔 吸 收 的 生 物 利 用 度 ， 发现 在 以 甘 胆 酸 钠 为 吸 收 促 进 剂 时 其 生 物 利 用 度 接 近 静 注 ， 不 加 吸 收促 进剂 时 约为 静 注的 一 半 。

##### （2）使用 方 便 ， 患 者顺 应 性好

与注射给药相比，鼻腔给药使用方便，可自行用药，患者顺应性好，无纤毛毒性及刺激性的药物制剂可用于长期给药。Con e [2 7 ]在研究可卡因和二醋吗啡的吸毒者鼻腔给药时指出该途径可避免静注引起的感染，减少疾病的传播。以鼻腔作为非损伤性免疫途径日益得到重视，Ey les等[2 8 ]研究了破伤风类毒素的溶液和微球鼻腔给药的给药量与免疫反应的关系，指出鼻腔可作为非损伤性免疫途径 。

##### （3）速效

鼻腔给药吸收迅速、起效快，与其使用方便的特点相结合，适于急救、自救。Li等[ 2 9 ]通过动物实验证明，地西泮、氯硝西泮等抗惊厥药物鼻腔给药可用于癫痫持续状态的急救。Cone [2 7 ]研究发现吸毒者鼻腔给予二醋吗啡，5min血药浓度达最大值，接近静脉注射给药（2min）。Nie ls en等[ 3 0 ]研究了布美他尼溶液兔鼻腔喷雾给药，其最佳处方的血药达峰时间为2- 5min 。

### 1.3.3 鼻腔给药剂型

鼻腔给药的剂型很多，包括滴鼻剂、喷雾剂、凝胶剂、粉剂、乳剂、微球、脂质体等[3 1 - 3 3 ]。下面介绍其中较常用的几种 ：

##### （1）滴鼻 剂

滴鼻剂是一种常用的鼻腔给药剂型，是把药液（或者混悬液）直接滴入鼻腔给药的剂型。其药物易吸收，制备简单，无需阀门等装置。陈圭宏、邵念方、张英、刘玉玲[ 3 4 - 3 7 ]别应用不同的滴鼻剂进行了临床研究，取得了较好的效果。但滴鼻剂也存在不少缺点，主要是定量不精确、药液在鼻腔分布不均匀、易从鼻腔流失等 。

##### （2）喷雾 剂

喷 雾 剂 具有 比 滴 鼻 剂 吸收 快 、生 物 利 用度 高 等 优 点。 在 制 备 上， 喷 雾 剂 较 滴 鼻 剂 需 要 多 加 一 个 阀 门 ， 其 优 点 是 喷 出 的 雾 滴 较 细 ， 在鼻 腔 内 分 布 均 匀 、 不 易 流 失 、 吸 收 快 、 生 物 利 用 度 高 。 Li 等 [2 9 ] 以 家兔 为 模 型 动 物 ， 考 察 了 双 氢 麦 角 碱 不 同 液 体 剂 型 鼻 腔 给 药 的 生 物 利

用度，发现喷雾剂的生物利用度明显高于滴鼻剂 。

##### （3）凝胶 剂

凝胶剂是在药物的溶液中加入水溶性高分子聚合物增加溶液黏度，达到增加药物在鼻腔的保留时间、提高生物利用度的目的。通过对鼻黏膜组织学检查，发现凝胶不损害黏膜表面，可能是药物随水的流动经细胞旁途径通过[ 3 8 ]。Il lum等[3 9 ]则考察了甲壳胺溶液对胰岛素在大鼠和绵羊鼻腔吸收的影响，结果显示，该溶液对胰岛素的鼻腔吸收有促进作用，且促进作用有浓度依赖性。

### 1.3.4 中药鼻腔给药研究概述

中医经鼻腔给药治病历史悠久，古代就有用蒸气剂、烟熏剂和吸入散剂等经鼻腔给药的熏吸疗法。《伤寒杂病论》中张仲景以“韭捣汁，灌鼻中”开窍回苏治“卒死”开创了鼻腔治疗急症的先河[4 0 ]；唐代孙思邈《千金要方》中提到“治一切肺疡咳嗽脓血及唾血不止者，用三炼酥，如鸡子黄，适寒温灌鼻中，日再夜一”，后有李时 珍

《本草纲目》用巴豆油纸拈，燃烟熏鼻，治疗中风痰厥、气厥和中毒等病症 。

《中国药典》（2010年版第二部附录IR）中，鼻用制剂系指“直接用于鼻腔发挥局部或全身治疗作用的制剂”。包括鼻用固体制剂、鼻用液体制剂和鼻用半固体制剂3类，目前药典品种包括利巴韦林、盐酸赛洛唑啉滴鼻液、盐酸萘甲唑啉滴鼻液、盐酸麻黄碱滴鼻液、富马酸酮替芬滴鼻液5种化药，暂无中药滴鼻液收载。SFDA批准的鼻用剂型中，约一半为中药制剂，多用于局部治疗，如局部消毒、收缩血管、麻醉等。鼻腔喷雾剂大部分品种为化药，多用于鼻腔局部疾病治疗；用于全身疾病治疗的品种较少（如 缩宫素鼻腔喷雾剂）。中药类还有部分为鼻炎膏、喷鼻散（如复方麻黄喷鼻散）等剂型，主要用于宣肺通窍改善鼻炎症状[ 4 1 ] 。

中药经鼻腔给药基础实验研究通常包括：给药途径的选择、剂型的选择、辅料的选择、体外释药评价、药代动力学研究、药效学研究、脑靶向性、安全评价等多方面。我国传统中药具有药效好、副作用小的特点，但传统的汤剂、丸剂等起效慢，用药不方便，研究中药新剂型，扩大应用范围，完善其质量标准及有效含量测定方法，任务艰巨而紧迫。将中药复方运用于鼻用制剂是我国鼻用制剂的一个特色发展方向，也出现了像鼻腔正血消炎膜、舒鼻宁滴鼻剂 、

复方薄荷油滴鼻剂等许多疗效较好的制剂，但由于中药复方制剂有效成分定性定量工作滞后，使得这些制剂还仅限于医院制剂[4 2 ] 。

## 1.4 4柴胡滴鼻液研究现状

目前，国内外对于柴胡滴鼻液的研究还较少，本研究尚属于一个较新的领域。临床上有少量的柴胡滴鼻液出现，均为医院自制制剂，由于受各医院研究和制剂条件的影响，其安全性和有效性存在较大的隐患，市场上迫切需要由国家监管部门审批，规范药品生产企业生产的质量稳定，药效可靠，安全性有保障的柴胡滴鼻液 。

在现有的柴胡滴鼻液的开发文献中，倪梅媛等[ 4 3 ]采用水蒸气蒸馏法，并加入氯化钠、吐温-8 0制成滴鼻液，进行动物实验后发现滴鼻给药与肌注给药的解热效果相同，在临床工作中对儿科发热患儿，柴胡滴鼻液是非常值得向临床推荐的一种给药方便、起效快的解热药物。刘学理等[ 4 4 ]采用水蒸气蒸馏、盐析、水提醇沉等方法制备柴胡滴鼻液，发现其起效迅速，退热效果明显，无明显毒副作用，用药方便，确实是一种安全、有效的退热制剂，可在儿科推广使用。这些文献中报道的方法均采用水蒸气蒸馏法，仿柴胡注射液的制备工艺，但存在的问题是药液中有效成分含量较低、作用时间不长，且不便于长期保存，药液易产生可见异物等。现有的制备工艺只是简单的将柴胡注射液改变给药方式，但滴鼻液与注射剂是两种不同的剂型，若要得到成型好、起效快、作用时间久的药液，需要改善提取工艺，优化制备方法，添加适当的辅料，进行严格地制剂研究和质量控制研究，确保其工艺稳定、质量可控，这些也将是本研究的主要工作。

## 1.5 5 研究意义

##### （1）增加柴胡的给药途径，提高患者的顺应性

目前柴胡解热制剂在临床上主要有汤剂、注射剂及片剂、颗粒剂等固体制剂，包括柴胡注射液、柴胡口服液、感冒清热颗粒等常见品种[ 4 5 ]。但均存在一些较明显的不足，如汤剂调配、煎煮、携带不便，汤液味苦量大；注射剂给药不方便且注射时有疼痛，且目前中药注射剂整体可接受度不高；口服制剂需要克服首关作用，生物利用度大打折扣 。

滴鼻液作为一种新给药剂型，其具有使用方便，疗效迅速的特点。鼻黏膜内毛细血管分布非常丰富，滴鼻给药后药物迅速随血 液

分布至全身，起效快，避免首过作用，提高了生物利用度，从而具有疗效迅速，强而持久的作用，克服了其他多种制剂的不足。其使用人群可以是成人，也可以是婴幼儿，同时其可以作为非处方药，大大增加了柴胡制剂的用药范围[ 4 6 ] 。

##### （2）柴胡滴鼻液市场前景广阔，产业化后可以产生巨大的经 济

效 益

在我国，感冒是常见病、多发病，一般都会出现必须治疗处 理

的发热症状。这就为柴胡滴鼻液提供了良好的、巨大的市场空间。由于化学退热药如安乃近、布洛芬、扑热息痛等都具有较严重的胃肠道、神经系统、血液系统、肝肾功能损害等副反应，而其它中药退热药如感冒清热颗粒、清热口服液等疗效不确切，起效慢，因此采用新工艺生产、提高了质量的柴胡滴鼻液必将因疗效确切、物美价廉、给药方便而成为医生和病人的首选，特别是广大基层医疗机构和基层民众的首选，从而最终占据国内外解热镇痛药物的主要市场 。

目 前 市 场 上 ， 柴 胡 注 射 液 占 据 一 定 的 市 场 空 间 ， 但 注 射 液 质 量不 够 稳 定 ， 且 给 药 不 便 ， 有 疼 痛 感 ， 患 者 顺 应 性 差 。 柴 胡 滴 鼻 液 在与 其 具 有 同 等 药 效 的 基 础 上 ， 克 服 了 其 给 药 不 便 、 患 者 顺 应 性 差 的缺 点 ， 可 作 为 非 处 方 药 品 上 市 ， 能 够 较 快 抢 占 市 场 ， 在 此 基 础 上 发展 ， 其 前 景非 常 广阔 。

## 1.6 6 研究内容

##### （1）柴胡 挥 发油 提 取工 艺 研 究

柴 胡 滴 鼻 液 的 有 效 成 分 为 柴 胡 挥 发 油 ， 挥 发 油 中 活 性 成 分 的 含量 决 定 了 柴 胡 滴 鼻 液 的 药 效 ， 将 对 以 下 方 面 进 行 考 察 ： 药 材 的 不 同加 工方 法 对挥 发 油提 取 的 影响 ， 不 同提 取 时间 及 方法 对 提 取的 影 响。

##### （2）柴胡 滴 鼻液 制 剂研 究

在 柴 胡 挥 发 油 蒸 馏 液 中 加 入 不 同 辅 料 ， 制 成 柴 胡 滴 鼻 液 ， 通 过一 系 列 体 外 及 动 物 活 体 实 验 ， 进 一 步 筛 选 处 方 ， 并 进 行 制 剂 研 究 ， 务 必使 制 成的 药 品安 全 、 稳定 、 高效 。

##### （3）柴胡 滴 鼻液 质 量标 准 研 究

除 按 照 一 般 要 求 进 行 外 观 性 状 、 鉴 别 、 pH 值 等 的 检 测 ， 针 对 中药 制 剂 及 滴 鼻 液 的 特 点 ， 新 增 柴 胡 挥 发 油 、 芳 香 水 、 滴 鼻 液 三 位 一体 指 纹 图 谱 控 制 方 法 、 黏 度 等 项 目 ， 最 终 获 得 柴 胡 滴 鼻 液 质 量 控 制

标准草案 。

##### （4）稳定 性 研究

以 外 观 性 状 、 鉴 别 、 pH 值 、 有 效 成 分 指 纹 图 谱 度 等 为 指 标 ， 进行 加 速 稳 定 性 试 验 和 长 期 稳 定 性 试 验 ， 每 隔 一 定 时 间 抽 检 样 品 ， 将考 察 结 果 与 初 始（0 个 月 ） 进 行 比 较 ， 以 评价 柴 胡 滴 鼻 液 的 稳 定 性 ， 确定 适宜 的 有效 期 [ 4 7 ][ 4 8 ] 。

##### （5）药理 毒 理研 究

对 实 验 动 物 进 行 药 理 毒 理 实 验 ， 包 括 主 要 药 效 学 研 究 、 一 般 药理 研 究 和 毒 性 研 究 ， 观 察 其 药 效 及 不 良 反 应 。 在 此 基 础 上 ， 着 重 考察 了其 对 给药 部 位的 鼻 黏 膜纤 毛 的毒 性 及黏 膜 刺激 性 。

# 2 柴胡滴鼻液的制备工艺研究

## 2.1 仪器与试药

### 2.1.1 仪器

安捷伦78 2 0 A型气相色谱仪（FI D检测器），配安捷伦76 9 4 E型顶空进样器，色谱柱为：（HP - 5）5%二苯基-9 5 %二甲基聚氧烷毛细管柱（柱长30m , 内径0. 32 mm , 膜厚度0. 25μm）；BSA 12 4S 电子天平（赛多利斯科学仪器（北京）有限公司）；LT10 02电子天平（常熟市天量仪器有限责任公司）；GZ X - G F 1 0 1 - I I型电热恒温鼓风干燥箱（上海市跃进医疗器械有限公司）；KQ 22 00 DE 型超声波清洗器（ 昆

ft超声仪器有限公司）；5mL卧式扩散池（天津市富兰斯电子科贸有限公司）；HJ - 4A多头数显磁力加热磁力搅拌器（江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂）；0. 5- 0. 6 常数毛细管黏度计（上海申谊玻璃制品有限公司）；乙酸纤维素膜（浙江省台州路桥四甲生化塑料厂出品）。

### 2.1.2 试药

北柴胡药材由四川德培源中药科技开发有限公司提供，经中国医学科学院药用植物研究所魏建和研究员鉴定为伞形科植物柴胡*Bu ple ur um Ch ine ns e* DC*.*，符合2010 年版中国药典一部柴胡项下有关的各项规定；正己醛（GR，东京化成工艺株式会社）；羟丙基倍他环糊精（西安德立生物工程有限公司），聚ft梨酯80（南京威尔化工有限公司），羧甲基纤维素钠（天津市福晨化学试剂厂），黄原胶（江苏神华药业有限公司），卡波姆940（广州康乔汉普药业），以上均为药用辅料；氢氧化钠，二甲基甲酰胺，均产自成都市科龙化工试剂厂，为分析纯 。

## 2.2 方法与结果

### 2.2.1 评价方法

采用气相色谱法检测样品，图谱自动积分，计算面积百分比 。

#### 2. 2. 1. 1 色谱条 件

HP- 5毛细管色谱柱，程序升温，初始温度为35℃，保持2 min，以1℃·min - 1的速率升温至40℃，保持2 min，以3℃·min - 1的速率升温至60℃，保持3min，以7℃·mi n -1的速率升温至200℃，保持3 mi n，整个检测时长为41. 67 min；检测器温度为260℃；进样口温度为230℃，分流比为20 : 1的分流进样。载气为氮气，流速 为

1. 0 mL · min -1. 顶 空 进 样 ， 顶 空 瓶 平 衡 温 度 为 85 ℃ ， 时 间 15 min ， 进 样 阀 温 度 为 100 ℃ ， 传 输 线 温 度 为 115 ℃； 顶 空 瓶 充 压 时 间 为 0. 2

min ， 定 量 环 填 充 时 间 为 0. 2 mi n ， 定 量 环 平 衡 时 间 为 0. 5 min ， 进 样时 间为 1. 0 min [ 4 9 ] 。

#### 2.2.1.2. 2 参 照物 溶 液的 制 备

精 密 称 取正 己 醛 0. 05g ，加 入 到 2mL 二 甲 基 甲酰 胺 中，混 合 均 匀 ， 用 移 液 枪 取 0.2 mL 该 溶 液 加 入 到 含 0. 3% 的 聚 ft 梨 酯 80 、 0. 9% 氯 化钠 的 混 合溶 液 1000 mL 中 ，此 溶 液 中每 1 mL 含 5 μg 正 己 醛 。移 液 枪精 密量 取 参照 物 溶液 2 mL ， 置于 20 mL 顶 空瓶 中 ， 密 封 瓶口 。

#### 2.2.1.3. 3 供 试品 溶 液的 制 备

精 密量 取 过滤 后 的重 馏 液 2 mL ，置 20 mL 顶 空瓶 中 ，密 封瓶 口 。

#### 2.2.1.4. 4 评 价方 法 的确 定

参照柴胡注射液指纹图谱的特征峰确定方法：供试品指纹图谱中应存在6个特征峰，包含与正己醛参照物峰保留时间对应的色谱峰，该峰为S峰，计算其他特征峰与S峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的上下8%之内。规定值为：0. 301（1号峰）、0. 317（2号峰）、0. 331（3号峰）、0. 586（4号峰）、1. 000 0（S峰）、

1. 593（5号峰），色谱图见图2- 1。采用综合评分法，其中特征峰总面积和对照峰面积各占50%，评分公式为：总评分=特征峰总面积/最大特征峰总面积×50＋对照峰面积/最大对照峰面积×50 。



A B

图 2- 1 柴 胡 水 蒸 馏 液 气 相 色 谱 图 及 正 己 醛 对 照 谱 图

Fi g. 2 - 1 Th e gas ch r o m a to g ra m of Bu p l e u r u m an d ca p r o a l d e h y d e r ef e r en ce

Su b s ta n c e

### 2.2.2 药材前处理工艺筛选

#### 2.2.2.1. 1 柴 胡药 材 干燥 方 式及 温 度

柴 胡 解 热 滴 鼻 液 的 主 要 有 效 成 分 为 柴 胡 挥 发 油 ， 挥 发 油 性 质 不

稳定，其活性成分含量易受外界环境影响，药材的干燥方式可能对其后期的提取率产生影响。实验时，取等量北柴胡根，洗净，分别采用阴干、晒干、烘干（40℃、50℃、60℃）五种方式进行干燥，实验中发现阴干和晒干时间长且含水量仍然不符合标准[ 4 5 ]，难以满足工业化大生产，实验及工厂生产中均不可取。3种温度下烘干处理适当时间，均可烘干，含水量符合药典要求，结果见表2- 1，但需进一步考察其不同烘干温度对水蒸馏液中活性成分含量的影响 。

表2- 1 各干燥方式处理结 果

Tab l e 2- 1 Th e re su lt s of dr y in g met h o d s

干燥方式 处理时间 干燥后含水量 是否合 格

| 40 | ℃ 烘 干 | 72 | h | 6. 8 % | 合 格 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 50 | ℃ 烘 干 | 48 | h | 6. 0 % | 合 格 |
| 60 | ℃ 烘 干 | 24 | h | 5. 6 % | 合 格 |

在此基础上，对烘干的柴胡根，适当粉碎，取药材粉100 g，加水11 00 mL进行水蒸气蒸馏法提取，对重馏液气相分析，结果见表 2

-2. 结果显示采用烘干的方式，可大大缩短药材干燥时间，对其综合评分，并考虑到有效成分的热稳定性，最后选择50℃作为干燥温度。表2- 2 不同干燥温度评分 表

Tab l e 2-2 Th e re su lt s of diff e r e n t te mp e r a tu re

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 干 燥 温 度 | 特 征 峰 总 面 积 | 评 分 | 对 照 峰 面 | 评 分 | 总 评 分 |
| / ℃ |  |  | 积 |  |  |
| 60 | 59 8 0 9 3 | 34 . 6 0 | 27 6 9 | 4. 5 7 | 39 . 1 7 |
| 50 | 86 4 2 4 5 | 50 | 30 3 1 9 | 50 | 10 0 |
| 40 | 85 5 1 9 2 | 49 . 4 8 | 92 8 6 | 15 . 3 1 | 64 . 7 9 |

#### 2.2.2.2. 2 粒 度

取适量北柴胡根，洗净，润透，一部分切成2- 4 mm厚片，50℃烘干，要求为水分含量低于10 %，未切片的分别粉碎成最粗粉和粗粉（按201 0年版药典一部凡例要求）。取不同粒度的药材各3份，每份100 g，分别加水110 0 mL，进行水蒸馏提取，重馏液进行气相分析。综合评分结果见表2- 3，表明柴胡粒度为最粗粉时，其水蒸馏 液

### 中挥发油成分含量最高 。

表2- 3 不同粒度评分 表

|  | Tab l e 2- 3 | Th e re s u lt s | Of di ff e r en t | Gr a i n siz e |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 粒 度 | 特 征 峰 总  面 积 | 评 分 | 对 照 峰 面  积 | 评 分 | 总 分 |
| 粗 粉 | 74 2 3 7 1 | 43 . 4 5 | 12 5 5 4 | 39 . 6 9 | 83 . 1 4 |
| 最 粗 粉 | 85 4 2 6 3 | 50 | 15 8 1 6 | 50 | 10 0 |
| 饮 片 | 63 6 5 5 5 | 37 . 2 6 | 10 4 11 | 32 . 9 1 | 70 ． 17 |

### 2.2.3 滴鼻液提取工艺优化

#### 2.2.3.1. 1 提取时 间

取柴胡最粗粉10 0 g，加水1100 mL，采用单因素试验法，分别采取一次蒸馏时间为4 h，5 h，6 h，8 h提取柴胡水蒸馏液，从出现馏出液开始计时，收集初馏液60 0 mL，控制加热温度来控制蒸馏时间。对重馏液进行气相分析，按照色谱峰面积进行评分，由表2- 4可知：当第一次蒸馏时间为6 h时，柴胡水蒸馏液中挥发油活性成分含量最高，提取效果最好。

表2- 4 筛选蒸馏时间实验结果整体评 价

Tab l e 2- 4 Th e re s u lt s of di ff e re n t di st il la t io n tim e

| 一 次 蒸 馏 时  间 /h | 特 征 峰 总  面 积 | 评 分 | 对 照 峰  面 积 | 评 分 | 总 评 分 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 4 | 82 4 0 5 1 | 40 . 7 6 | 80 6 | 1. 9 4 | 42 . 7 |
| 5 | 10 1 0 9 1 6 | 50 | 19 3 5 | 4. 6 6 | 54 . 6 6 |
| 6 | 76 4 5 2 5 | 37 . 8 1 | 20 7 9 9 | 50 | 87 . 8 1 |
| 8 | 80 8 9 9 1 | 40 . 0 1 | 36 9 2 | 8. 8 8 | 48 . 8 9 |

#### 2.2.3.2. 2 提 取方 式

取 柴 胡 最 粗 粉 10 0 g， 加 水 11 0 0 m L ， 采 用 单 因 素 试 验 法 ， 控 制条 件 为 普通 提 取（ 70 ℃浸 泡 8 小 时）；浸 泡 时 间不 变 辅 以 超 声波 提 取

（ 70 ℃浸 泡 7 小 时 ， 超 声 波 处 理 1 小 时 ）； 缩 短 浸 泡 时 间 （ 70 ℃浸泡 4 小 时 ，超 声 波处 理 1 小 时）三 种 。对 重 馏液 进 行 气 相分 析 ，评 分见 表 2- 5 。结 果 显示 超 声 波 辅 助提 取 无 明 显 作用 ， 因 此， 采 用 常规 水蒸 气蒸 馏 法即 可 。

表2- 5 超声波辅助提取实验结果总体评 价

Tab l e 2- 5 Th e re su l ts of ult r as o n i c as sis te d ex t r a ct io n ex p er i me n t

| 提 取 方 法 |  | 特 征 峰 总 面  积 | 评 分 | 对 照 峰 面  积 | 评 分 | 总 评  分 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 普 通 提 取 |  | 23 7 8 8 4 3 | 50 | 82 8 4 | 27 . 2 9 | 77 . 2 9 |
| 浸 泡 7 h ，超 声 | 1 h | 42 0 5 3 4 | 8. 8 4 | 63 7 6 | 21 . 0 1 | 29 . 8 5 |
| 浸 泡 4 h ，超 声 | 1 h | 74 4 6 5 1 | 15 . 6 5 | 15 1 7 6 | 50 | 65 . 6 5 |

### 2.2.4 制剂工艺研究

#### 2.2.4.1. 1 吸收促进剂的筛 选

虽然鼻腔具有较大的吸收面积和丰富的血液供应这样的特质，但药物的鼻腔的吸收水平仍然参差不齐，研究人员通常在制剂中加入吸收促进剂，以此提高药物的生物利用度[ 5 0 ]。鼻腔用吸收促进剂的类型很多，环糊精及其衍生物、脂肪酸类、表面活性剂等属于较常选择的几类[ 5 1 ]。本项研究采用HP-β-C D（羟丙基倍他环糊精）包合技术，既能有增溶的作用，保护有效成分挥发油，又能够达到促进吸收的效果。实验时采用如下图（图2- 2）所示的卧式扩散池进行透过实验[ 5 2 ] 。



图2- 2 体外渗透实验装置示意 图

Fig. 2- 2 In vitro perm ea tion tes t app ara tus

1. 37 ℃ 恒 温水 浴 ； 2. 磁 力搅 拌 子； 3。 接 受池 ；

4. 固 定螺 钉 ； 5. 供 给池 ； 6. 乙 酸纤 维 素膜

实 验 前 首 先进 行 预 实 验 ， 每 隔 1h 从 接 受 池 内取 样 1 次 ， 对 样 品

进行气相分析，以峰面积为指标发现采用该装置进行渗透实验，透过率在实验时间为8h后趋于平稳。取柴胡水蒸馏液100 mL，等分 成

5份，每份20mL，称取0. 06g、0. 1g、0. 1 6g、0. 20g HP-β-C D分别加入其中，另一份中加入0. 06g聚ft梨酯80，控制在30℃条件下超声处理2h，最后分别加入0. 18g氯化钠调节渗透压以及适量1%氢氧化钠溶液调节pH值。5份待测液分别放入装置中进行8h渗透实验，收集接受池内溶液，对其进行气相分析，考虑到接受池内药物浓度较低，故采用峰面积较大的3. 0min处的特征峰面积比求得其透过率，见表2- 6. 结果表明，添加适当浓度的HP-β-C D后其透过率明显增加，最佳的HP-β-C D的浓度为0. 8% 。

表2- 6 不同浓度HP-β-C D对柴胡滴鼻液的透过率比 较

Tab l e 2- 6 Tr a n sm is sio n ra te of HP -β- CD in diff e r e n t co n ce n t r a ti o n s

|  | 辅 料 | 接 受 液 峰 面 积 | 待 测 液 峰 面 积 | 透 过 率 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 0. 3 % | HP - β -C D | 27 5 6 4 0 |  | 24 . 4 4 % |
| 0. 5 % | HP - β -C D | 34 9 2 6 4 |  | 30 . 9 7 % |
| 0. 8 % | HP - β -C D | 40 3 5 2 1 | 11 2 7 7 4 8 | 35 . 7 8 % |
| 1% HP - β -C D | | 211 3 7 6 | 18 . 7 4 | |
| 0. 3 % 聚 ft 梨 酯 80 | | 24 7 5 6 7 | 21 . 9 5 % | |

#### 2.2.4.2. 2 黏附剂的筛选

滴鼻剂常以水做溶剂，容易与鼻腔内分泌液混合，分布于鼻腔黏膜表面，但由于鼻腔纤毛的清除作用，药物在鼻腔黏膜的停留时间短，作用时间短，因此药效时间短[ 5 3 ]。研究人员通过动物实验证明，滴鼻剂黏度增大，在一定程度上，有利于药物停留和提高生物利用度，在此基础上，可通过加入黏附剂来增加滴鼻剂的黏度，从而提高滴鼻剂在鼻腔内的停留时间，提高药效[ 5 4 ][ 5 5 ] 。

常用于鼻腔给药系统的黏附材料有明胶、葡聚糖、淀粉、壳聚糖及其衍生物、聚左旋乳酸、卡波姆、羧甲基纤维素钠、黄原胶等[ 5 6 ]，从成本及用药安全上考虑，本试验选用羧甲基纤维素钠（CM C - Na）、卡波姆940和黄原胶这3个无毒、现阶段应用较广泛且价格便宜的黏附剂辅料。药物在鼻腔黏膜上的释放与吸收受制剂的黏附性的影响，目前，主要有体内和体外两种方法评价黏附性能，因体外评价方法简单、方便操作，故本研究通过黏度和体外黏附力两个指标评价 制

剂的黏附性能[ 5 7 ] [ 5 8 ]，体外黏附力为主，黏度作为参考。

取柴胡水蒸馏液12 0mL，将其等分成12份，每份10mL，在其中分别加入0. 01g、0. 03g和0.0 5g的羧甲基纤维素钠，0. 01g、0. 02g 、

0. 03g、0. 04g和0. 05g的黄原胶，0. 01g、0. 02g、0. 03g和0. 04g的卡波姆940，将其溶胀均匀。按照下图装置进行体外黏附力的测定实验，见图2- 3 .



图2- 3 体 外 黏 附 力 测 定 装 置 图

Fi g. 2 - 3 In sta l la t io n s mea su r in g th e ad h es io n in vi tr o

1 , 载 玻 片 ； 2， 4. 乙 酸 纤 维 素 膜 ； 3. 待 测 液 ；

4. 盖 玻 片 ； 6. 棉 线 ； 7. 输 液 管 ； 8. 塑 料 袋

测定前首先把乙酸纤维素膜剪成2cm \*2c m的小方块，用双面胶将两张膜分别固定在两块玻片上（盖玻片较轻薄，重量可忽略），把药液滴1滴在下面一张膜上，轻轻盖上载玻片，用手指轻压两块玻片约10 s，照图2- 3所示装置，固定住载玻片，向塑料袋中加水，直至两片膜因拉力过大而分离，当盖玻片脱落时停止加水，用天平称取塑料袋中水的质量，根据G= mg，计算重力，作为体外黏附力，实验结果详见表2- 7 。

表2- 7 不同浓度的辅料其体外黏附力的测定结 果

Tab l e 2- 7 Th e in vit r o ad h es io n of diff e r e n t co n ce n t r a ti o n s of th e diff e r e n t

Dr u g ca r r ie r s

| 辅 料 | 体 外 黏 附 力 /N |
| --- | --- |
| 不 添 加 辅 料 的 柴 胡 水 蒸 馏 液 | 0. 1 4 0 |
| 0. 1 % N a- C MC | 0. 1 4 3 |
| 0. 3 % N a- C MC | 0. 1 3 4 |
| 0. 5 % N a- C MC | 0. 1 4 5 |
| 0. 1 % 黄 原 胶 | 0. 1 5 9 |
| 0. 2 % 黄 原 胶 | 0. 1 6 8 |
| 0. 3 % 黄 原 胶 | 0. 2 0 6 |
| 0. 4 % 黄 原 胶 | 0. 2 0 0 |
| 0. 5 % 黄 原 胶 | 0. 2 1 8 |
| 0. 1 % 卡 波 姆 94 0 | 0. 2 0 4 |
| 0. 2 % 卡 波 姆 94 0 | 0. 1 6 9 |
| 0. 3 % 卡 波 姆 94 0 | 0. 1 8 5 |
| 0. 4 % 卡 波 姆 94 0 | 0. 1 8 9 |

黏 度 也 是 反 映 液 体 黏 附 性 能 的 一 个 指 标 ， 可 以 此 辅 助 筛 选 黏 附剂 。 由 于 黏 度 较 大 ， 在 测 定 黏 度 之 前 要 先 将 其 分 别 取 1mL ， 然 后 稀释 至 100 mL ， 搅 拌 混 匀 ， 采 用 乌 氏 黏 度 计 测 其 特 性 黏 数 （ 各 浓 度 分别 3 次 ）， 结果 见 表 2- 8 。

表2- 8 不 同 浓 度 的 辅 料 其 特 性 黏 数 的 测 定 结 果

Tab l e 2- 8 Vis co sit y nu mb e r of diff e r e n t co n c e n tr a t io n of di ff e r en t dr u g

ca r r ie r s

样 品 特 性 黏 数

纯水/

0. 1 % N a- C MC 1. 7 1 6

0. 3 % N a- C MC 1. 9 1 6

0. 5 % N a- C MC 17. 8 5 8

0. 1 % 黄 原 胶 2. 9 2 8

0. 2 % 黄 原 胶 6. 3 5 1

0. 3 % 黄 原 胶 9. 2 8 9

0. 4 % 黄 原 胶 11. 3 2 2

0. 5 % 黄 原 胶 14. 5 6 2

0. 1 % 卡 波 姆 94 0 0. 1 0 1

0. 2 % 卡 波 姆 94 0 0. 7 0 6

0. 3 % 卡 波 姆 94 0 0. 9 0 7

0. 4 % 卡 波 姆 94 0 1. 1 0 7

由以上两表分析可得，柴胡水蒸馏液中添加0. 5%黄原胶的体外黏附力值最高，且该处方其特性黏数也较高，综合考虑安全性及经济性，最终选择0. 5 %黄原胶作为黏附剂。

## 2.3 小结

根据以上各实验，柴胡滴鼻液的制备方法总结为：北柴胡最粗粉100 g，加11倍量纯水，70℃浸泡8小时后，经水蒸气蒸馏约6小时（控制加热程度，保持提取温度为100℃，避免暴沸），收集初馏液60 0mL，再二次蒸馏收集重馏液100m L，加入0. 8%的HP-β-C D，超声波包合处理2小时，再加入0. 5%的黄原胶、0. 9%的氯化钠，搅拌溶解后，调节pH值为7左右，滤过，即得。

# 3 柴胡滴鼻液的药理毒理初步研究

## 3.1 仪器和试药

### 3.1.1 仪器

Le ic a 光 学显 微 镜； Oly mpus BX4 3 光 学显 微 镜； MC - 34 7 电 子体温 计（ 欧 姆龙（ 大 连 ）有 限公 司 ）；BSA 124 S 电 子天 平（ 赛 多利 斯 科学 仪器 （ 北京 ） 有限 公 司）； 移 液枪 ； 1mL 注 射器 。

### 3.1.2 试药

柴胡滴鼻液（自制）；柴胡注射液（福建三爱药业有限公司），氯化钠（成都市科龙化工试剂厂），聚ft梨酯80（南京威尔化工有限公司），2，4-二硝基苯酚（成都市科龙化工试剂厂），脱氧胆酸钠（北京奥博星生物技术有限责任公司）；羟丙基倍他环糊精（西安德立生物工程有限公司），羧甲基纤维素钠（天津市福晨化学试剂厂），黄原胶（江苏神华药业有限公司），以上均为药用辅料；组织标本固定液（无锡市江原实业技贸总公司）。

### 3.1.3 动物

牛 蛙 500 g ± 50 g， 购于 绵 阳综 合 市场 ；

SD 大 鼠 20 0 g ± 20 g， 购于 成 都达 硕 实验 动 物 有限 公 司。

## 3.2 方法和结果

### 3.2.1 牛蛙上颚纤毛毒性研究

#### 3.2.1.1. 1 分 组与 给 药

将 12 只 牛 蛙 随 机 分 为4 组 [ 5 9 - 6 1 ] ， 即 空 白 对 照 组 （ 生 理 盐 水 组 ） 、阳 性组 （ 1% 去 氧胆 酸 钠组 ） 、 柴胡 滴 鼻液 组 、 柴胡 芳 香水 组 。

#### 3.2.1.2. 2 方 法

用绳子将牛蛙仰卧固定在硬纸板上，于上颚黏膜处滴加0. 5 mL药液（约10滴），使药液完全浸没上颚，保持该状态30mi n后，用生理盐水轻轻冲洗牛蛙口腔及黏膜处杂物，小心剪出两眼之间的黏膜，大小为2 mm×2 mm，每只牛蛙可分离得到3份黏膜，用生理盐水轻轻冲洗干净，黏膜面朝上，平铺于载玻片上，滴加生理盐水0. 2 mL在黏膜表面，盖上盖玻片，通过10×40倍光学显微镜观察黏膜上纤毛的摆动情况，随后置于提前准备好的加有少量纯水的层析缸的密闭环境中，水蒸气呈近饱和状态。每隔半小时取出样本观察，若纤毛持续摆动则仍放回层析缸中，直至纤毛摆动停止，从给药开始 到

纤毛停止运动的时间，为纤毛摆动时间。不添加任何辅料的柴胡芳香水组同上操作，给药为0. 5 mL柴胡芳香水，同时滴加0. 5 mL生理盐水作空白对照，以具有纤毛毒性的1%去氧胆酸钠溶液给药作为阳性对照组[ 6 2 ] [6 3 ] 。

给药组牛蛙的纤毛持续运动时间与空白组牛蛙的纤毛持续运动时间的比值，为纤毛持续运动时间相对百分率。药物对纤毛毒性作用可逆性判定方法为：观察到纤毛摆动停止立即用生理盐水冲洗浸润黏膜，再次观察黏膜纤毛摆动是否恢复；若可以恢复，则判定药物对纤毛毒性作用是可逆的。

#### 3.2.1.3. 3 结 果

取下黏膜后立即在显微镜下观察，结果显示生理盐水组的黏膜表面和纤毛清晰完整，纤毛活动活跃，有节奏地在摆动；1%去氧胆酸钠组肉眼可见较明显的失活的组织，镜下观察纤毛很快停止摆动，黏膜受损严重，纤毛基本脱落，表面杂乱，周围可见很多脱落细胞；给药组、空白组以及芳香水组黏膜和纤毛较完整清晰，无脱落等异常现象，纤毛运动较活跃 。

由表3- 1，图3- 1可知，与生理盐水组比较，去氧胆酸钠组纤毛持续运动时间短于生理盐水组，有极显著性差异( P≤0. 01)，同时给药组以及芳香水组的纤毛持续运动时间也短于生理盐水组，但是无显著性差异，可认为给予的药物对纤毛运动无影响。滴鼻液组与芳香水组无显著差别，说明添加的辅料，对纤毛也无毒性。用生理盐水冲洗黏膜后，除去氧胆酸钠组的纤毛之外，其余药物组纤毛均恢复摆动。由此可知，柴胡滴鼻液对鼻腔纤毛没有影响 。

表3- 1柴胡滴鼻液对牛蛙上颚纤毛运动时间的影响( *n*9, *x**s*) Tab l e 3- 1 Eff e c t of Bu p l eu r u m nas al dr o p s on cil ia r y mo v e me n t ( n= 9 ,

*X**s* )

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 组 别 | 纤 毛 持 续 运 动 时 间 /mi n | 相 对 百 分 率 % |
| 空 白 组 | 66 3 ± 10 6 | 10 0 |
| 阳 性 组 | 34 4 ± 14 5 \* \* | 51 . 9 |
| 柴 胡 滴 鼻 液 组 | 62 7 ± 11 2 | 94 . 6 |
| 柴 胡 芳 香 水 组 | 65 8 ± 81 | 99 . 1 |

注：与生理盐水组比较，\* \* P≤0. 0 1，\*P≤0. 0 5 .



图3- 1 牛 蛙 上 颚 纤 毛 显 微 图 像

Fi g. 3- 1 Th e mic r o sc o p ic ima g e of bu ll f r o g ci li a

A： 生 理 盐 水 组 ； B: 阳 性 对 照 组 ； C: 柴 胡 滴 鼻 液 组 ； D: 柴 胡 芳 香 水 组

### 3.2.2 大鼠鼻黏膜刺激性实验

#### 3.2.2.1. 1 分 组和 给 药

将 45 只 大 鼠 随机 分 为 3 组 ，即 空 白 对照 组 （ 生 理 盐 水） 、柴 胡 滴鼻 液组 、 阳性 组 （ 1% 去 氧胆 酸 钠） 。 每次 给 药30 μL ， 每天 给 药2 次 。

#### 3.2.2.2. 2 方 法

用移液枪双侧鼻腔给药。分别于给药第1，3，5, 7天及停药后7天随机处死3只大鼠，立即取鼻中隔两侧黏膜，置于组织标本固定液中固定、脱钙、乙醇梯度脱水、石蜡包埋、切片、HE（苏木精-伊红）染色及封片后，在光学显微镜下观察各组鼻黏膜细胞排列和脱落情况，以及有无修复、出血、炎症现象。给药前后及期间，记录动物给药及给药恢复期间的一般状态、行为活动、外观体征（鼠鼻外观变化：湿润度、色泽、红斑、水肿、糜烂、溃疡等症状）以及是否出现哮喘、咳嗽、呕吐、窒息等局部刺激反应，注意给药后鼻腔部位的生理变化情况[ 5 9 - 6 2 ] 。

#### 3.2.2.3. 3 观 察指 标

根 据 “ 局 部 黏 膜刺 激 反 应 分 级标 准 [ 6 4 ] ” ，结 合 病 理切 片 检 查 情 况， 对 病 理 切 片 检 查 结 果 进 行 评 分 ： 大 鼠 鼻 黏 膜 上 皮 组 织 完 整 ， 无 炎 细胞 浸 润、 出 血 、水 肿 、 坏 死0 分 ； 大鼠 鼻 黏 膜 上皮 组 织 基 本完 整 ， 少量 炎 细 胞浸 润 、 出 血、 坏 死 ， 轻度 水 肿 1分 ； 大鼠 鼻 黏 膜 上 皮组 织 不

完整，较多炎细胞浸润，灶性出血，局部坏死，中度水肿、2分；大鼠鼻黏膜上皮组织不完整，大量炎细胞浸润，明显出血、水肿、坏死3分 。

#### 3.2.2.4. 4 实验结 果



图 3- 2 给药7天大鼠鼻黏膜切片显微图像（10×20 ）

Fig. 3- 2 Ra t nas a l mu c o sa af t er dis co n ti n u a ti o n fo r 7 day s ( 10×20 )

A: 生理盐水组；B: 1 %去氧胆酸钠组；C: 柴胡滴鼻液 组

表3- 2柴胡滴鼻液对大鼠鼻黏膜的刺激性影响(n = 3 ,

*X**s* )

Tab le 3- 2 Th e sti mu l a ti o n in d e x of Bu p l e u r u m na s al dr o p s on ra t nas a l mu c o sa

( n= 3 ,

*x*  *s* )

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 分 组 | 1d | 3d | 5d | 7d | 停 药 后 1 周 |
| 生 理 盐 水 | 1. 6 0 ± 0. 1 0 | 2. 1 3 ± 0. 1 2 | 2. 2 7 ± 0. 1 2 | 2. 5 7 ± 0. 0 6 | 2. 2 3 ± 0. 0 6 |
| 柴 胡 滴 鼻 液 | 1. 5 0 ± 0. 2 0 | 2. 0 0 ± 0. 1 0 | 2. 2 7 ± 0. 0 6 | 2. 5 7 ± 0. 0 6 | 2. 2 3 ± 0. 1 2 |

1%去氧胆酸钠

2. 8 3±0. 1 5 \* 2. 8 3±0. 1 5 \* 2. 9 0±0. 1 0 \* 3. 0 3±0. 1 2 \* 3. 1 0±0. 1 0 \*

注 ： 与 生 理 盐 水 组 比 较 ， \* \* P ≤ 0. 0 1 ， \*P ≤ 0. 0 5 .

由 图 3- 2 ， 表 3- 2 可 知 ： 与 生 理 盐 水 组 比较 ， 柴 胡 滴 鼻 液 无 显 著性 差异 ， 在整 个 实验 过 程 中， 对 鼻黏 膜 均没 有 刺激 性 。

### 3.2.3 柴胡滴鼻液药效初步研究

#### 3.2.3.1. 1 实 验模 型 的选 择

#### 3.2.3.2. 2 动 物

正 式实 验 前 ， 对 实验 动 物进 行 适应 性 喂 养 3 d， 消 除运 输 过程 对大 鼠的 影 响， 同 时每 日 早 晚各 1 次 对测 量 大鼠 肛 温， 实 验 前 12 h 禁食 不禁 水 ， 每 次 测温 前 先 引导 动 物排 出 粪便 ， 若测 量 时遇 到 大 鼠排便 ， 则 该 次数 据 不准 ， 应 重测 。 在电 子 体温 计 前端 2c m 处 用油 笔 划

线，每次测温前在电子体温计探头前端上涂上甘油，插入大鼠直肠

2cm处，待读数稳定以后记录体温值[ 6 5 - 6 7 ] 。

#### 3.2.3.3. 3 柴胡滴鼻液对发热大鼠模型的影 响

共有SD大鼠40只，雌雄各半，体重（200±20）g，实验当天在造模给药前每隔0. 5 h测体温1次，连续测3次，其平均值作为大鼠基础体温，筛选出实验大鼠32只，随机分为4组，每组8只，每组雌雄各半，按以下剂量和方式造模给药。空白组：皮下注射0. 9%氯化钠溶液0. 8mL +鼻腔滴入30μL 0. 9 %氯化钠溶液；模型组：皮下注射0. 5% 2，4-二硝基苯酚0. 8mL +鼻腔滴入30μL 0. 9%氯化钠溶液；柴胡滴鼻液组：皮下0.5 % 2，4-二硝基苯酚0. 8mL +鼻腔滴入30μL柴胡滴鼻液；柴胡注射液组：皮下0.5 % 2，4-二硝基苯酚0. 8mL +皮下注射0. 5 mL柴胡注射液。建模后0. 5 h给药，每0. 5 h分别测量记录各组大鼠的体温，算出各组大鼠在各监测点的升温值（升温值=实测体温-基础体温）；根据各组内大鼠体温差统计分析大鼠的体温变化趋势，总结给药对发热模型大鼠的影响[ 6 8 ] [ 6 9 ] 。

#### 3.2.3.4. 4 统 计方 法

采 用 SPSS Stat is tic s 17. 0 统 计软 件 分析 。统 计数 据 用平 均 数± 标准 差（ x ±s ） 表示 ， 多组 样 本间 差 异 采用 单 因素 方 差分 析 ( one - way ANO VA) ，用 LSD 法 进行 两 两比 较 。P≤ 0. 05 为 差异 具 有统 计 学意 义 。

#### 3.2.3.5. 5 结 果

表 3- 3 柴胡滴鼻液对2，4-二硝基酚发热模型大鼠的影 响

Tab l e 3- 3 Tem p e r at u r e Eff ec t of th e Bu p l eu r u m nas al dr o p s to 2, 4- din i tr o p h e n o l fe v e r ra t s

各时间点升温值/ ℃

组别

正常0. 5 h 1h 1. 5 h 2h 2. 5 h 3h 3. 5 h

体 温

空白对 照

-0. 2 5±0. 1

9

-0. 2 1±0. 5

0

-0. 3 3±0. 3

3

-0. 2 1±0. 3

4

-0. 1 3±0. 4 8 -0. 1 9±0. 3

8

-0. 3 5 ± 0. 3 2

模 型 组 1. 0 4 ± 0. 4 5 2. 1 0 ± 0. 4 5 2. 3 8 ± 0. 2 0 2. 1 8 ± 0. 1 7 1. 7 6 ± 0. 1 6 1. 4 6 ± 0. 2 9

1. 3 0 ± 0. 1 6 \*

37. 0 8 \* \* \* \* \* \*

柴胡滴鼻液0. 1 6±0. 3 6

▲

0. 9 4±1. 3 9

▲

0. 9 6±0. 9 7

▲

1. 2 6±0. 9 3

▲

0. 9 6±0. 6 7

▲

0. 6 6±0. 3 6

▲

0. 5 6 ± 0. 5 4 ▲

柴胡注射液0. 9 4±0. 2 8 1. 8 4±0. 5 9 1. 9 6±0. 5 6 1. 3 8±0. 4 9

▲

1. 2±0. 1 9▲ 0. 7 4±0. 2 9

0. 5 2±0. 3 2 ▲

各时间点升温值/ ℃

▲

组别

空白对 照

体 温

正 常 4h 4. 5 h 5h 5. 5 h 6h 6. 5 h 0. 0 1 ± 0. 4 9 0. 0 7 ± 0. 5 4 0. 1 1 ± 0. 3 7 0. 1 9 ± 0. 3 5 0. 3 7 ± 0. 5 5 0. 2 9 ± 0. 5 8

模 型 组 1. 2 0 ± 0. 3 1 \* 1. 2 0 ± 0. 4 1 \* 1. 0 0 ± 0. 4 3

1. 1 0 ± 0. 4 2 \* 1. 1 2 ± 0. 2 5 \* 1. 0 2 ± 0. 2 3 \*

37. 0 8 \*

柴 胡 滴 鼻 液 0. 3 2 ± 0. 8 1 ▲ 0. 5 4 ± 0. 7 5 0. 4 8 ± 0. 7 8 0. 3 ± 1. 1 1 0. 1 4 ± 0. 7 4 0. 7 2 ± 0. 8 3

柴 胡 注 射 液 0. 6 2 ± 0. 3 4 0. 8 2 ± 0. 3 8 0. 4 6 ± 0. 5 9 0. 1 8 ± 1. 0 1 -0. 1 4 ± 0. 1 7 ▲ -0. 3 8 ± 1. 0 7 ▲

注 ： 与 空 白 组 比 较 ， \*\* P ≤ 0. 0 1 ， \* P ≤ 0. 0 5 ； 与 模 型 组 比 较 ， ▲ ▲ P ≤ 0. 0 1 ， ▲ P ≤ 0. 0 5 .

结 果如 表 3- 3 所 示， 在 给药 0. 5h 后 ， 给 药 组大 鼠 体温 与 模 型组开 始出 现 显著 性 差异 ， 说 明柴 胡 滴鼻 液 具有 明 显的 解 热作 用 ， 且起效 快。

3.2.4 柴胡滴鼻液急性毒性实验

随机取24只大鼠，设置3组，每组8只，雌雄各半：空白对照组鼻腔滴入生理盐水，实验组鼻腔滴入滴鼻液60μL，以及柴胡注射液皮下注射0. 5mL，以上均为正常给药剂量。观察7天，主要观察指标包括：体重、体温、饮食、外观体征（鼻部、皮毛、四肢）、行为活动，是否有分泌物、排泄物、死亡情况及中毒反应，分泌物与排泄物是否正常，中毒反应的症状、严重程度、起始时间、持续时间、是否可逆，是否出现大鼠死亡，对于濒死或者死亡动物的解剖观察等[ 7 0 - 7 2 ] 。

大 鼠体 重 变化 情 况见 表 3- 4 ， 图 3- 3 ， 试药 及 注射 液 组与 空 白 对照 无明 显 差异 ， 第二 天 体 重均 有 大幅 下 降可 能 与给 药 时大 鼠 大 鼠受到 惊吓 以 及购 回 后其 休 整 时间 不 足有 关 。该 实 验条 件 下， 大 鼠 正常

生长，无中毒、萎靡、死亡等状况。试验结束后，活杀解剖，肉眼观察发现其心脏、肝脏、脾肺肾等脏器一切正常，给药部位鼻腔、咽喉、气管、支气管黏膜无红肿、溃烂等刺激反应，说明该剂量下柴胡滴鼻液毒性较低，接近无毒 。

表 3-4 大鼠体重变化情 况

Tab l e 3-4 Ch a n g e of bo d y we i g h t in ra t s

| 分 组 | 1 天 /g | 2 天 /g | 3 天 /g | 4 天 /g | 5 天 /g | 6 天 /g | 7 天 /g |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 空 白 组 | 19 3 . 6 4 | 18 4 . 2 8 | 18 5 . 4 5 | 18 7 . 0 0 | 18 9 . 9 3 | 18 9 . 6 9 | 19 4 . 1 9 |
| 试 药 组 | 19 9 . 5 5 | 19 0 . 9 4 | 19 2 . 5 6 | 19 4 . 4 6 | 19 7 . 0 2 | 19 6 . 3 6 | 19 4 . 2 1 |
| 注 射 液 组 | 19 0 . 9 3 | 18 3 . 6 2 | 18 5 . 9 7 | 18 7 . 2 5 | 19 0 . 5 5 | 19 0 . 2 3 | 19 0 . 1 1 |



3.3小结

图 3-3 大 鼠 体 重 变 化 情 况

Fi g. 3- 3 Ch a n g e of bo d y we i g h t in ra t s

本 章 利 用 牛 蛙 、 大 鼠 对 柴 胡 滴 鼻 液 的 纤 毛 毒 性 、 黏 膜 刺 激 性 、急 性毒 性 以及 药 效进 行 了 研究 。

（ 1） 牛 蛙 上 腭 纤 毛 毒 性 和 大 鼠 鼻 黏 膜 刺 激 性 实 验 表 明 与 生 理盐 水 组 比 较 本 品 对 纤 毛 无 毒 性 ， 对 黏 膜 无 明 显 刺 激 性 ， 可 用 于 人 体鼻 腔 给 药 ， 不 会 伤 害 鼻 腔 黏 膜 及 纤 毛 。 但 用 药 期 间 给 药 组 与 生 理 盐水 组 均 对 鼻 腔 有 轻 微 刺 激 作 用 ， 考 虑 为 外 物 刺 激 鼻 部 的 正 常 反 应 ， 在 停药 后 可以 恢 复。

（ 2） 药 效 初 步 研 究 显 示 柴 胡 滴 鼻 液 对 2 ， 4- 二 硝 基 酚 致 热 具 有较 好 的退 热 作 用 ，由 于 2，4- 二 硝 基酚 本 身 发 热 持续 时 间 不 长 ，在 4h 实 验 后 ， 给 药 组 与 模 型 组 两 者 无 显 著 性 差 异 。 且 从 给 药 0. 5h 后 给 药

组与模型组就具有显著性差异，说明柴胡滴鼻液起效快，疗效显著。实验中柴胡注射液退热效果不及滴鼻液，推测可能是因为两个原因：一是皮下注射柴胡滴鼻液因为大鼠的挣扎可能并未完全吸收；二是目前市场上柴胡注射液质量普遍较差 。

（3）急性毒性实验中对大鼠以正常量给药，以体重作为观察指标，表明本品毒性很低，接近无毒。建议后续的实验人员，加大剂量，再次考察其毒性，若有条件的话，可检测其最大耐受量 。

# 4 柴胡滴鼻液的质量标准研究

## 4.1 仪器和试药

### 4.1.1 实验仪器

安捷伦782 0A型气相色谱仪，安捷伦769 4E型顶空进样器；瓦里安3900 -瓦里安Sa turn 200 0气质联用；pH S- 3C型pH计（上海精密科学仪器有限公司），0. 5- 0. 6 常数毛细管黏度计（上海申谊玻璃制品有限公司），DZ KW- 4型电子恒温水浴锅（北京中兴伟业仪器有限公司），BSA 124 S电子分析天平（赛多利斯科学仪器（北京）有限公司） 。

### 4.1.2 试剂与药品

柴 胡滴 鼻 液（ 自 制 ）； 糠醛 （ 天津 市 大茂 化 学试 剂 厂 ）； 正 己醛

（ GR ，东 京化 成 工艺 株 式会 社 ）；黄 原胶（ 江 苏神 华 药业 有 限公 司 ）；羟 丙基 倍 他环 糊 精（ 西 安德 立 生物 工 程有 限 公 司）；聚 ft 梨 酯 80（ 南京 威尔 化 工有 限 公司 ）；二 硝基 苯 肼，氯 化钠 ，二 甲基 甲 酰胺 ，盐 酸，氢 氧化 钾 ， 乙 醚， 正 己烷 ， 无水 硫 酸 铵， 以 上 试剂 均 购自 成 都市 科 龙 化工 试 剂厂 ， 为分 析 纯 。

## 4.2 实验方法与结果

### 4.2.1 1 性状的确定

共 制 得 样品 10 批 ， 成 品的 性 状 确 定 为： 微 乳 白 色的 澄 明 液 体 ； 气 芳香 。

### 4.2.2.2 黏度的确定

取 10 批 次 不同 柴 胡 滴 鼻 液 ，经 稀 释后 ，测 得 10 个 黏 度，计 算 其平 均 黏 度 ， 根 据 该 测 试 结 果 和 生 产 实 际 ， 黏 度 的 标 准 为 特 性 黏 数 范围 在 7. 0~1 0. 5 。 实验 结 果见 表 4- 1 。

表4- 1 样品黏度测定结 果

Tab l e 4- 1 Th e re s u lt s of vis co sit y

相对 偏

平均 黏

| 待 测 | 时 间 1 | 时 间 2 | 时 间 3 | 平 均 时 间 | 黏 度 差  度 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 液 | （ t1 /s ） | （ t 2 /s ） | （ t 3 /s ） | （ t /s ） | （ [ η ]） ( RSD  （ [ η ] ）  ) |
| 纯 水 | 9 7. 2 6 | 9 7. 4 7 | 9 7. 8 2 | 97 . 5 2 | / |
| 1 | 10 6. 6 6 | 10 7. 4 0 | 10 7. 1 7 | 10 7 . 0 8 | 9. 3 5 |
| 2 | 10 6. 5 1 | 10 7. 1 4 | 10 7. 2 3 | 10 6 . 9 6 | 9. 2 4 |
| 3 | 10 7. 9 7 | 10 7. 9 0 | 10 7. 5 0 | 10 7 . 7 9 | 10 . 0 1 |
| 4 | 10 7. 0 0 | 10 7. 1 0 | 10 7. 1 0 | 10 7 . 0 7 | 9. 3 4 |
| 5 | 10 6. 0 2 | 10 6. 8 7 | 10 7. 0 2 | 10 6 . 6 4 | 8. 9 4 8. 9 3 0. 0 5 |
| 6 | 10 6. 1 0 | 10 5. 8 7 | 10 6. 6 7 | 10 6 . 2 1 | 8. 5 4 |
| 7 | 10 5. 9 7 | 10 6. 6 0 | 10 6. 6 3 | 10 6 . 4 0 | 8. 7 1 |
| 8 | 10 5. 6 7 | 10 6. 5 3 | 10 5. 8 0 | 10 6 . 0 0 | 8. 3 4 |
| 9 | 10 5. 9 5 | 10 6. 7 5 | 10 6. 3 3 | 10 6 . 3 4 | 8. 6 6 |
| 10 | 10 5. 6 8 | 10 6. 0 1 | 10 5. 6 2 | 10 5 . 7 7 | 8. 1 2 |

### 4.2.3 三位一体指纹图谱方法的建立

（1）制备供试品溶液：

柴胡药材供试品溶液：精密称取柴胡药材100 g，按照《中国药典》201 0年版一部附录XD挥发油测定法甲法要求收集柴胡挥发油约0. 1mL，作为供试品溶液。

柴胡中间体供试品溶液：取柴胡二次蒸馏液1mL作为供试品 溶

液 。

柴胡滴鼻液供试品溶液：取柴胡滴鼻液1mL直接作为供试品 溶

液 。

（ 2） 建立 对 照指 纹 图谱 [ 7 3 - 7 7 ] ：

将 至 少 10 批 柴 胡 药材 、 中 间 体 、滴 鼻 液 供 试 品 溶液 采 用 顶 空 进

样 方 式 注 入 色 谱 仪 ， 利 用 指 纹 图 谱 相 似 度 评 价 软 件 生 成 柴 胡 药 材 、中 间 体、滴 鼻 液 对照 指 纹 图 谱 。对 照 图 谱见 图 4- 2， 4- 3， 4- 4 以 及 相

似度数据见表4- 2，4- 4，4- 6，再根据样品出现的保留时间的一致性，确认了5个共有峰，其中5号峰为S峰，对所有样品的相对保留时间进行计算[ 7 8 ]，结果见表4- 3，4- 5，4- 7，建立的质量标准见4. 3. 1质量标准（草案）。

表4- 2 柴胡挥发油相似度数 据

Tab l e 4- 2 Si mil a r it y of Bu p l e u r u m vo la t il e oi l

|  | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S1 0 | 对 照 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| S1 | 1 | 0. 1 | 0. 4 2 6 | 0. 4 8 4 | 0. 5 6 8 | 0. 6 6 7 | 0. 3 9 8 | 0. 4 9 | 0. 5 5 2 | 0. 5 8 7 | 0. 4 7 7 |
| S2 | 0. 1 | 1 | 0. 3 | 0. 2 4 2 | 0. 2 4 8 | 0. 2 2 1 | 0. 2 4 5 | 0. 2 4 7 | 0. 2 4 2 | 0. 2 3 4 | 0. 6 11 |
| S3 | 0. 4 2 6 | 0. 3 | 1 | 0. 9 7 4 | 0. 9 5 8 | 0. 8 9 2 | 0. 9 9 7 | 0. 9 8 4 | 0. 9 7 4 | 0. 9 2 5 | 0. 9 2 7 |
| S4 | 0. 4 8 4 | 0. 2 4 2 | 0. 9 7 4 | 1 | 0. 9 7 8 | 0. 9 4 3 | 0. 9 7 2 | 0. 9 9 | 0. 9 7 8 | 0. 9 5 8 | 0. 9 0 8 |
| S5 | 0. 5 6 8 | 0. 2 4 8 | 0. 9 5 8 | 0. 9 7 8 | 1 | 0. 9 7 9 | 0. 9 5 5 | 0. 9 7 | 0. 9 7 3 | 0. 9 3 1 | 0. 9 0 5 |
| S6 | 0. 6 6 7 | 0. 2 2 1 | 0. 8 9 2 | 0. 9 4 3 | 0. 9 7 9 | 1 | 0. 8 8 6 | 0. 9 3 | 0. 9 4 2 | 0. 9 2 | 0. 8 6 4 |
| S7 | 0. 3 9 8 | 0. 2 4 5 | 0. 9 9 7 | 0. 9 7 2 | 0. 9 5 5 | 0. 8 8 6 | 1 | 0. 9 8 2 | 0. 9 6 8 | 0. 9 1 4 | 0. 9 0 2 |
| S8 | 0. 4 9 | 0. 2 4 7 | 0. 9 8 4 | 0. 9 9 | 0. 9 7 | 0. 9 3 | 0. 9 8 2 | 1 | 0. 9 9 2 | 0. 9 7 1 | 0. 9 1 5 |
| S9 | 0. 5 5 2 | 0. 2 4 2 | 0. 9 7 4 | 0. 9 7 8 | 0. 9 7 3 | 0. 9 4 2 | 0. 9 6 8 | 0. 9 9 2 | 1 | 0. 9 7 8 | 0. 9 1 2 |
| S1 0 | 0. 5 8 7 | 0. 2 3 4 | 0. 9 2 5 | 0. 9 5 8 | 0. 9 3 1 | 0. 9 2 | 0. 9 1 4 | 0. 9 7 1 | 0. 9 7 8 | 1 | 0. 8 8 5 |
| 对 照 | 0. 4 7 7 | 0. 6 11 | 0. 9 2 7 | 0. 9 0 8 | 0. 9 0 5 | 0. 8 6 4 | 0. 9 0 2 | 0. 9 1 5 | 0. 9 1 2 | 0. 8 8 5 | 1 |

表4- 3 柴胡挥发油各特征峰相对保留时间核 算

R S D (

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | | | | | | | | | | %) |
| 1 | 0. 2 8 4 | 0 . 2 8 1 | 0 . 2 7 9 | 0 . 2 8 1 | 0 . 2 8 2 | 0. 2 8 3 | 0 . 2 7 9 | 0. 2 8 1 | 0 . 2 8 1 | 0 . 2 8 2 | 0. 2 8 1 | 0 . 5 |
| 2 | 0. 3 0 0 | 0 . 2 9 7 | 0 . 2 9 6 | 0 . 2 9 8 | 0 . 3 0 0 | 0. 2 9 9 | 0 . 2 9 6 | 0. 2 9 7 | 0 . 2 9 7 | 0 . 2 9 8 | 0. 2 9 8 | 0 . 5 |
| 3 | 0. 3 1 6 | 0 . 3 1 5 | 0 . 3 1 6 | 0 . 3 1 3 | 0 . 3 1 5 | 0. 3 1 4 | 0 . 3 1 1 | 0. 3 1 3 | 0 . 3 1 3 | 0 . 3 1 4 | 0. 3 1 4 | 0 . 5 |
| 4 | 0. 5 7 6 | 0 . 5 6 9 | 0 . 5 6 6 | 0 . 5 7 1 | 0 . 5 7 3 | 0. 5 7 4 | 0 . 5 6 6 | 0. 5 6 9 | 0 . 5 7 0 | 0 . 5 7 2 | 0. 5 7 1 | 0 . 6 |
| 5 | 0. 8 5 9 | 0 . 8 4 1 | 0 . 8 3 7 | 0 . 8 4 1 | 0 . 8 4 3 | 0. 8 4 4 | 0 . 8 3 8 | 0. 8 4 0 | 0 . 8 4 0 | 0 . 8 4 2 | 0. 8 4 2 | 0 . 7 |
| 6 | 1. 5 9 1 | 1 . 5 7 4 | 1 . 5 6 7 | 1 . 5 7 9 | 1 . 5 7 8 | 1. 5 8 2 | 1 . 5 6 7 | 1. 5 7 3 | 1 . 5 7 6 | 1 . 5 7 9 | 1. 5 7 7 | 0 . 4 |

峰 号 批 1 批 2 批 3 批 4 批 5 批 6 批 7 批 8 批 9 批 1 0 *x*

Tab l e 4- 3 Re la t iv e re t en ti o n tim e of Bu p l eu r u m vo la t il e oil

表4- 4 柴胡水蒸馏液相似度数 据

Tab l e 4- 4 Si mi la r it y of Bu p l e u r u m di st il le d wa t er

|  | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S1 0 | 对 照 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| S1 | 1 | 0. 6 9 | 0. 6 9 5 | 0. 6 5 2 | 0. 6 1 | 0. 6 4 1 | 0. 8 2 1 | 0. 7 3 3 | 0. 6 1 8 | 0. 8 0 6 | 0. 8 4 5 |
| S2 | 0. 6 9 | 1 | 0. 9 1 5 | 0. 9 1 4 | 0. 8 6 3 | 0. 9 3 4 | 0. 7 9 1 | 0. 8 8 8 | 0. 8 4 9 | 0. 8 1 9 | 0. 9 0 8 |
| S3 | 0. 6 9 5 | 0. 9 1 5 | 1 | 0. 9 4 5 | 0. 9 5 3 | 0. 9 4 8 | 0. 8 7 2 | 0. 9 5 8 | 0. 9 4 2 | 0. 8 8 5 | 0. 9 5 7 |
| S4 | 0. 6 5 2 | 0. 9 1 4 | 0. 9 4 5 | 1 | 0. 9 5 1 | 0. 9 2 | 0. 7 9 2 | 0. 9 0 4 | 0. 9 5 9 | 0. 8 5 7 | 0. 9 2 7 |
| S5 | 0. 6 1 | 0. 8 6 3 | 0. 9 5 3 | 0. 9 5 1 | 1 | 0. 9 4 | 0. 7 9 2 | 0. 9 1 6 | 0. 9 7 5 | 0. 8 6 3 | 0. 9 1 9 |
| S6 | 0. 6 4 1 | 0. 9 3 4 | 0. 9 4 8 | 0. 9 2 | 0. 9 4 | 1 | 0. 8 0 5 | 0. 9 3 4 | 0. 9 2 4 | 0. 8 5 3 | 0. 9 2 3 |
| S7 | 0. 8 2 1 | 0. 7 9 1 | 0. 8 7 2 | 0. 7 9 2 | 0. 7 9 2 | 0. 8 0 5 | 1 | 0. 8 9 4 | 0. 7 9 4 | 0. 9 2 1 | 0. 9 3 5 |
| S8 | 0. 7 3 3 | 0. 8 8 8 | 0. 9 5 8 | 0. 9 0 4 | 0. 9 1 6 | 0. 9 3 4 | 0. 8 9 4 | 1 | 0. 9 2 9 | 0. 9 0 2 | 0. 9 6 1 |
| S9 | 0. 6 1 8 | 0. 8 4 9 | 0. 9 4 2 | 0. 9 5 9 | 0. 9 7 5 | 0. 9 2 4 | 0. 7 9 4 | 0. 9 2 9 | 1 | 0. 8 7 2 | 0. 9 2 1 |
| S1 0 | 0. 8 0 6 | 0. 8 1 9 | 0. 8 8 5 | 0. 8 5 7 | 0. 8 6 3 | 0. 8 5 3 | 0. 9 2 1 | 0. 9 0 2 | 0. 8 7 2 | 1 | 0. 9 5 8 |
| 对 照 | 0. 8 4 5 | 0. 9 0 8 | 0. 9 5 7 | 0. 9 2 7 | 0. 9 1 9 | 0. 9 2 3 | 0. 9 3 5 | 0. 9 6 1 | 0. 9 2 1 | 0. 9 5 8 | 1 |

表4- 5 柴胡水蒸馏液各特征峰相对保留时间核 算

Tab l e 4- 5 Re la ti v e re te n t io n tim e of Bu p l e u r u m di st il le d wa t er

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 峰 号 | 批 1 | 批 2 | 批 3 | 批 4 | 批 5 | 批 6 | 批 7 | 批 8 | 批 9 | 批 10 | RS D (  *x* |
| 1 | 0 . 2 8 1 | 0. 2 7 5 | 0 . 2 7 9 | 0 . 2 8 0 | 0 . 2 8 1 | 0 . 2 7 5 | 0. 2 8 0 | 0 . 2 7 4 | 0. 2 7 9 | 0 . 2 8 2 | 0. 2 7 9 1 . 1 |
| 2 | 0 . 2 9 9 | 0. 2 9 2 | 0 . 2 8 9 | 0 . 2 9 8 | 0 . 2 9 8 | 0 . 2 9 2 | 0. 2 9 7 | 0 . 2 9 1 | 0. 2 9 5 | 0 . 3 0 0 | 0. 2 9 5 1 . 3 |
| 3 | 0 . 3 1 5 | 0. 3 1 5 | 0 . 3 1 3 | 0 . 3 1 5 | 0 . 3 1 5 | 0 . 3 1 4 | 0. 3 1 3 | 0 . 3 0 8 | 0. 3 1 2 | 0 . 3 1 6 | 0. 3 1 4 0 . 7 |
| 4 | 0 . 5 7 8 | 0. 5 7 7 | 0 . 5 7 7 | 0 . 5 7 9 | 0 . 5 7 8 | 0 . 5 7 7 | 0. 5 7 7 | 0 . 5 7 5 | 0. 5 7 8 | 0 . 5 7 7 | 0. 5 7 7 0 . 2 |

%)

表4- 6 柴胡滴鼻液相似度数 据

Tab l e 4- 6 Si mi la r it y of Bu p l eu r u m nas al dr o p s

|  | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S1 0 | 对 照 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| S1 | 1 | 0. 9 1 6 | 0. 9 4 9 | 0. 9 1 3 | 0. 9 4 6 | 0. 9 11 | 0. 9 2 3 | 0. 9 2 2 | 0. 7 7 4 | 0. 7 5 6 | 0. 9 5 9 |
| S2 | 0. 9 1 6 | 1 | 0. 9 3 7 | 0. 8 5 | 0. 8 8 2 | 0. 8 5 5 | 0. 8 5 6 | 0. 8 4 6 | 0. 6 4 4 | 0. 7 7 3 | 0. 9 1 4 |
| S3 | 0. 9 4 9 | 0. 9 3 7 | 1 | 0. 9 3 4 | 0. 9 4 | 0. 9 3 3 | 0. 9 3 5 | 0. 9 4 1 | 0. 8 0 6 | 0. 7 5 4 | 0. 9 6 9 |
| S4 | 0. 9 1 3 | 0. 8 5 0 | 0. 9 3 4 | 1 | 0. 9 5 4 | 0. 9 6 2 | 0. 9 7 9 | 0. 9 8 7 | 0. 9 0 9 | 0. 6 7 8 | 0. 9 6 5 |
| S5 | 0. 9 4 6 | 0. 8 8 2 | 0. 9 4 | 0. 9 5 4 | 1 | 0. 9 3 8 | 0. 9 6 1 | 0. 9 6 | 0. 8 5 5 | 0. 7 3 2 | 0. 9 7 2 |
| S6 | 0. 9 11 | 0. 8 5 5 | 0. 9 3 3 | 0. 9 6 2 | 0. 9 3 8 | 1 | 0. 9 5 9 | 0. 9 7 6 | 0. 8 7 1 | 0. 7 1 3 | 0. 9 6 2 |
| S7 | 0. 9 2 3 | 0. 8 5 6 | 0. 9 3 5 | 0. 9 7 9 | 0. 9 6 1 | 0. 9 5 9 | 1 | 0. 9 7 7 | 0. 9 0 2 | 0. 7 0 9 | 0. 9 7 2 |
| S8 | 0. 9 2 2 | 0. 8 4 6 | 0. 9 4 1 | 0. 9 8 7 | 0. 9 6 | 0. 9 7 6 | 0. 9 7 7 | 1 | 0. 9 1 8 | 0. 6 9 1 | 0. 9 7 1 |
| S9 | 0. 7 7 4 | 0. 6 4 4 | 0. 8 0 6 | 0. 9 0 9 | 0. 8 5 5 | 0. 8 7 1 | 0. 9 0 2 | 0. 9 1 8 | 1 | 0. 5 3 9 | 0. 8 6 |
| S1 0 | 0. 7 5 6 | 0. 7 7 3 | 0. 7 5 4 | 0. 6 7 8 | 0. 7 3 2 | 0. 7 1 3 | 0. 7 0 9 | 0. 6 9 1 | 0. 5 3 9 | 1 | 0. 8 2 3 |
| 对 照 | 0. 9 5 9 | 0. 9 1 4 | 0. 9 6 9 | 0. 9 6 5 | 0. 9 7 2 | 0. 9 6 2 | 0. 9 7 2 | 0. 9 7 1 | 0. 8 6 | 0. 8 2 3 | 1 |

表4- 7 柴胡滴鼻液各特征峰相对保留时间核 算

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 峰 号 | 批 1 | 批 2 | 批 3 | 批 4 | 批 6 | 批 7 | 批 8 | 批 9 | 批 10 | RS D (  *x* |
| 1 | 0 . 2 7 7 | 0. 2 7 4 | 0 . 2 7 5 | 0. 2 7 7 | 0 . 2 7 4 | 0. 2 7 6 | 0 . 2 7 4 | 0. 2 7 6 | 0 . 2 7 9 | 0 . 2 7 6 0 . 7 |
| 2 | 0 . 2 9 4 | 0. 2 9 1 | 0 . 2 9 2 | 0. 2 9 4 | 0 . 2 9 1 | 0. 2 9 3 | 0 . 2 9 0 | 0. 2 9 2 | 0 . 2 9 6 | 0 . 2 9 3 0 . 7 |
| 3 | 0 . 3 3 0 | 0. 3 2 6 | 0 . 3 2 9 | 0. 3 3 1 | 0 . 3 2 7 | 0. 3 2 9 | 0 . 3 2 6 | 0. 3 2 8 | 0 . 3 3 1 | 0 . 3 2 9 0 . 6 |
| 4 | 0 . 5 7 7 | 0. 5 7 6 | 0 . 5 7 6 | 0. 5 7 7 | 0 . 5 7 6 | 0. 5 7 7 | 0 . 5 7 5 | 0. 5 7 6 | 0 . 5 7 6 | 0 . 5 7 6 0 . 2 |

Tab l e 4- 5 Re la t iv e re t en ti o n tim e of Bu p l eu r u m nas a l dro p s

%)

### 4.2.4 4 方法学实验

##### （1）精密 度 试验

取 同 一份 柴 胡 滴 鼻 液连 续 进 样 5 次 ，测 定 各色 谱 图 与 对 照图 谱 的相 似 度 ， 计 算 各 特 征 峰 的 相 对 保 留 时 间 ， 并 计 算 其 相 对 标 准 偏 差

（RSD）值，结果如下表4- 8，表明该方法所用仪器精密度良好。

表4- 8 精密度试验结 果

Tab l e 4- 8 Th e re su lt s of pr ec i si o n te st

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序 号 | 样 品 1 | 样 品 2 | 样 品 3 | 样 品 4 | 样 品 5 | X | RS D ( %) |
| 相 似 度 | 0. 9 9 2 | 0. 9 8 1 | 0. 9 8 5 | 0. 9 7 9 | 0. 9 8 5 | 0. 9 8 4 | 0. 5 |
| RRT 1 | 0. 2 7 7 | 0. 2 7 6 | 0. 2 7 6 | 0. 2 7 4 | 0. 2 7 5 | 0. 276 | 0.4 |
| RRT 2 | 0. 2 9 3 | 0. 2 9 2 | 0. 2 9 2 | 0. 2 9 1 | 0. 2 9 1 | 0. 292 | 0.4 |
| RRT 3 | 0. 3 3 0 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 8 | 0. 3 2 7 | 0. 329 | 0.4 |
| RRT 4 | 0. 5 7 6 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 4 | 0. 575 | 0.1 |

备 注 ： RRT 1 为 1 号 峰 的 相 对 保 留 时 间 ， 以 此 类 推 。

##### （2）稳定性试验

取同一份柴胡滴鼻液样品，分别在0h、2h、4h、6h、8h进行样品测定，测定各色谱图与对照图谱的相似度，计算各特征峰的相对保留时间，并计算其相对标准偏差（RSD）值，结果如下表4- 9，表明样品在8h内稳定性较好 。

表4- 9 稳定性试验结 果

Tab l e 4- 9 Th e re s u lt s of st a b il it y te st

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序 号 | 0h | 2h | 4h | 6h | 8h | X | RS D ( %) |
| 相 似 度 | 0. 9 2 2 | 0. 8 9 3 | 0. 8 7 5 | 0. 8 9 9 | 0. 9 1 3 | 0. 9 0 0 | 1. 8 |
| RRT 1 | 0. 2 7 8 | 0. 2 7 7 | 0. 2 7 7 | 0. 2 7 7 | 0. 2 7 6 | 0. 2 7 7 | 0. 3 |
| RRT 2 | 0. 2 9 4 | 0. 2 9 3 | 0. 2 9 3 | 0. 2 9 3 | 0. 2 9 2 | 0. 2 9 3 | 0. 2 |
| RRT 3 | 0. 3 3 1 | 0. 3 3 0 | 0. 3 3 0 | 0. 3 3 0 | 0. 3 2 9 | 0. 3 3 0 | 0. 4 |
| RRT 4 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 1 |

##### （3）重现性实 验

取柴胡滴鼻液同批样品5份，按照供试品的制备和检测方法制备供试品并进行气相检测，计算各特征峰的相对保留时间，测定各色谱图与对照图谱的相似度，并计算其相对标准偏（RSD）值，结果如下表4- 10，表明制备工艺和检测方法重现性好 。

表4- 1 0 重现性试验结 果

Tab l e 4- 1 0 Th e re s u lt s of re p r o d u ci b i li ty te st

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序 号 | 样 品 1 | 样 品 2 | 样 品 3 | 样 品 4 | 样 品 5 | X | RS D ( %) |
| 相 似 度 | 0. 9 8 7 | 0. 9 8 2 | 0. 9 9 4 | 0. 9 9 0 | 0. 9 8 6 | 0. 9 8 8 | 0. 4 |
| RRT 1 | 0. 2 7 6 | 0. 2 7 6 | 0. 2 7 5 | 0. 2 7 5 | 0. 2 7 5 | 0. 2 7 5 | 0. 1 |
| RRT 2 | 0. 2 9 1 | 0. 2 9 2 | 0. 2 9 1 | 0. 2 9 2 | 0. 2 9 1 | 0. 2 9 1 | 0. 1 |
| RRT 3 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 3 2 9 | 0. 1 |
| RRT 4 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 6 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 5 7 5 | 0. 1 |

### 4.2.5 柴胡挥发油成分探索

#### 4.2.5.1. 1样品制 备

称取3份北柴胡最粗粉，每份100g，分别加入110 0mL水，70℃浸泡8小时，使用挥发油提取器提取时间约6小时后，加入适量乙醚萃取收集所得挥发油，收集乙醚层，加入约1g无水硫酸钠干燥，置于室温下挥去乙醚，得到有特殊香味的黄色油状物，为柴胡挥发油，约为0. 1mL [5 ] [ 7 9 ] [ 8 0 ] 。

#### 4.2.5.2. 2 检 测方 法

样 品 处 理 在 挥 发 油中 加 入 2mL 正 己 烷 溶解 精 油 ，过 滤 ，得 到 待测 液。

GC - MS 条 件 进 样 口 温 度 280 ℃，离 子 阱 ，扫 描 质 量 范围 M/ Z 为

40 ~65 0 ， 进样 量 1μ L 。

#### 4.2.5.3. 3 检 测结 果

经 过 检 测 ， 得 到 柴 胡挥 发 油 的 总 离子 流 图 ， 见 图 4- 1 ， 对 图 中 含量 较 高 的峰 与 NIS T 谱 库 检 索对 比 ，可 发 现挥 发 油 内成 分 主 要 为 醛类 、酮 类 、 醚 类 以 及 酯 类 物 质 ， 可 能 含 有 正 己 醛 、 正 庚 醛 、 正 辛 醛 、 2- 异 丙 基 -5 - 甲 基 茴 香 醚 、 4- 乙 酰 基 -1 - 甲 基 - 环 己 烯 等 成 分 。 由 于 检 测 中 心 的 仪

器 灵 敏 度 不 够 ， 谱 库 的 建 立 设 备 与 现 有 设 备 差 异 较 大 等 因 素 ， 故 无 法 定 量 分析 。



图4- 1 柴胡挥发油GC -M S总离子流 图

Fi g. 4- 1 Th e to t al io n ch r o ma to g r am of Bu p l e u r u m vo la t il e oi l

## 4.3 结论与讨论

### 4.3.1 质量标准（草案）

#### 4. 3. 1. 1 挥 发油 质 量标 准

北 柴胡 ， 伞形 科 植物 柴 胡 *Bup le ur um Chi nen s e* DC. 的 干燥 根 ， 应 符合 中 国药 典 201 0 版 一部 第 263 页 柴胡 项 下有 关 规定 。

柴 胡挥 发 油 照 挥发 油 测定 法 （ 中 国 药 典 201 0 版 一部 附 录 X D） 提 取柴 胡 挥发 油 ，参 照中 国 药典 2010 年 版一 部 附录 VI E 气 相色 谱 法测 定。

色 谱条 件 同 2.2. 1. 1 项 下。

供 试 品的 制 备 量 取本 品 0. 1mL ， 置于 10 mL 顶 空瓶 中 ， 密封 瓶

口 。

测 得色 谱 图应 与 对照 色 谱 图相 似 度不 低 于 0. 8 ， 供 试品 特 征图 谱

中 应包 含 5 个 特征 峰， 其 中有 正 己醛 参 照物 对 应的 色 谱峰 ， 此 峰为

S 峰 ， 计 算其 他 特征 峰 与 S 峰 的相 对 保留 时 间， 其 相对 保 留时 间 应在 规定 值 的上 下 8% 之 内。规 定值 为：0. 2 81（ 峰 1 ）、0. 298 、（ 峰 2 ）、

0. 314（ 峰 3）、0. 5 71（ 峰 4）、0. 842 （ 峰 5）、1. 000 0（ 峰 S）、1. 577

（ 峰 6）， 其中 6 号 峰与 S 峰 的相 对 峰面 积 比为 0. 0 4~1.0 0 对 照图 谱

见图4- 2 .



图 4- 2 柴 胡 挥 发 油 对 照 图 谱

Fi g. 4 - 2 Th e Ch r o ma t o g r a p h i c Co n t r o l Fin g er p r in t of Bu p l e u r u m vo la t il e oil

#### 4. 3. 1. 2 中 间体 质 量标 准

中 间体 取 柴胡 水 蒸气 蒸 馏所 得 重 馏液 作 为制 剂 中间 体， 参 照中国 药典 20 10 年 版一 部 附录 VI E 气 相色 谱 法测 定 。

色 谱条 件 同 2.2. 1. 1 项 下。

供 试 品的 制 备 精 密量 取 本品 1m L ，置 于 10 mL 顶 空瓶 中 ，密 封瓶 口。

测得色谱图应与标准色谱图相似度不低于0. 8，供试品特征图谱中应包含5个特征峰，并含有正己醛参照物对应的色谱峰，该峰为S峰，计算其他特征峰与S峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的上下6%之内。规定值为：0. 279（1号峰）、0. 2 95、（2号峰）、0. 313（3号峰）、0. 577（4号峰）、1.0 00（S峰），其中4号峰与S峰峰峰面积比为0. 08~ 0. 8。对照图谱见图4- 3。



图 4- 3 柴胡滴鼻液中间体对照图 谱

Fig. 4 - 3 Th e Ch r o m a to g r a p h ic Co n t r o l Fi n g e r p r in t of in te r me d i a te of Bu p l e u r u m nas a l dro p s

#### 4. 3. 1. 3 成 品质 量 标准

本 品为 北 柴胡 经 水蒸 气 蒸 馏获 得 的蒸 馏 液加 入 适当 辅 料制 成 的灭 菌液 体 制剂 。

【 制法 】 取 北柴 胡 最 粗粉 100 g ，加 水 1100 mL ，70 ℃温 浸 8 小时 ，经 水蒸 气 蒸馏 约 6 小 时（ 控 制加 热 程度 ，保 持提 取 温度 为 100 ℃， 避 免暴 沸 ）， 收集 初 馏液 600 mL ， 经过 二 次蒸 馏 ， 收 集 重 馏液 约

100 mL 。加 入羟 丙基 倍 他环 糊 精 0. 8g ，超 声波 处 理 2 小 时，再 加入 黄原 胶 0. 5g ， 搅 拌使 其 溶胀 ， 加 入氯 化 钠 0.9 g ， 溶 解后 ， 滤 过 ， 用 1% 氢 氧化 钠 溶液 调 节 pH 值 至 7. 0 ，用 微孔 滤 膜（ 0. 45 μm）滤 过 ，灌 封， 即 得。

【 性状 】 本 品为 微 乳白 色 的澄 明 液 体； 气 芳香 。

【 鉴别 】 取 本品 2mL ，分 别置 于 甲、乙 两支 试 管中 ，乙 管置 水浴 中蒸 干 ，往 残渣 加 水 2mL ，用 手轻 摇 使之 溶 解 。两 管各 加 0. 05 ％ 二 硝基 苯 肼的 2mol · L - 1 盐 酸溶 液 2 滴 ， 轻 摇 混匀 ， 再 分别 加 入

10 ％ 的氢 氧 化钾 溶 液 4 ~5 滴 ， 甲 管 所显 葡 萄酒 红 色 应比 乙 管深 。

【 检查 】 **pH** 值 应 为 4.0 ~7. 0( 中 国药 典 2010 年 版一 部 附录 附录 Ⅶ G) 。

**黏 度** 照 黏度 测 定法 （ 中国 药 典 2010 年 版二 部 附录 VI G） 第三法 测定 ， 特性 黏 数 **应 为 7.0~10.5。

**糠 醛** 照 气相 色 谱法（ 中 国药 典 20 10 年 版一 部 附录 VI E ） 测 定。本 品每 1m L 含 糠醛 不 得过 50 μg 。

色 谱条 件 同 2.2. 1. 1 项 下。

对 照品 溶 液的 制 备 称 取适 量 糠醛 对 照品 ， 加 入到 含 有

0. 8% HP - β -C D 、 0.5 % 黄 原胶 、 0. 9% 氯 化钠 的 混合 溶 液溶 解 中 稀释 ， 配 制成 每 50 μg·mL -1 糠 醛的 溶 液，精 密量 取 1mL ， 置 于 10 mL 顶空 瓶中 ， 密封 瓶 口。

【 特征 图 谱 】照 气相 色 谱法（ 中 国药 典 201 0 年 版一 部 附录 VI E ） 测 定。

色谱条件采用HP - 5毛细管柱，程序升温，初始温度是35℃，保持2 min，以1 ℃·min - 1的速率升温至40 ℃，保持2 mi n，以3℃·min - 1的速率升温至60℃，保持3 min，以7℃·min - 1的速率升温至200℃，保持3 min，整个检测时长为41. 67 mi n；检测器温度为260℃；进样口温度为230℃，分流进样，分流比20: 1。载气为氮气，流速为1. 0 mL·min - 1. 顶空进样器自动进样，顶空瓶平衡温度为85℃，时间为15 min，进样阀温度为100℃，传输线温度为115℃；顶空瓶充压时间为0.2 min，定量环填充时间为0. 2 min，定量环平衡时间为0. 5 min，进样时间为1. 0 min 。

参照物溶液的制备精密称取正己醛0.0 5g，加入到2mL二甲基甲酰胺中，混合均匀，再用含0. 8% HP -β-C D超声处理2h，用移液枪取0. 2 mL该溶液加入到0. 5%黄原胶与0. 9%氯化钠的混合溶 液

100 0mL中，配制成5μg・mL -1的正己醛溶液。移液枪精密量取参照物溶液1 mL，置于10 mL顶空瓶中，密封瓶口 。

供试品溶液的制备精密量取本品1mL，置10 mL顶空瓶中，密封瓶口 。

供试品溶液图谱应与对照图谱相似度不低于0. 8，供试品图谱中应包含5 个特征峰，并含有正己醛参照物对应的色谱峰，此峰为S峰，计算其他特征峰与S峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的上下6%之内。规定值为：0. 276（1号峰）、0. 293（2号峰）、0. 329（3号峰）、0. 576（4号峰）、1.0 00（S峰），其中4号峰与S峰峰峰面积比为0. 08~ 0. 8。对照图谱见图4- 4。



图 4- 4 柴 胡 滴 鼻 液 对 照 图 谱

Fi g. 4 - 4 Th e Ch r o m a to g r a p h ic Co n t r o l Fi n g e r p r in t of Bu p l e u r u m na sa l dr o p s

【 功能 与 主治 】 清热 解 表 。用 于 治疗 感 冒、 流 行性 感 冒及 疟 疾等 的发 热 。

【 用法 与 用量 】 滴鼻 用 。 一次 2- 4 滴 ， 一 日 3- 4 次 。

【 规格 】 每支 装 10mL

【 贮藏 】 密封 ， 避光 ， 置 阴凉 处 。

### 4.3.2 讨论

质量标准要起到很好控制药物制剂的作用，因此科学性、可控性、实用性很有必要，本课题在原有柴胡注射液的质量标准的基础上，建立三位一体的指纹图谱，并经过方法学实验，确保建立的质量标准稳定、可控。但方法学实验中仅对图谱的相似度进行了考察，这还不够，考虑增加峰面积及相对保留时间的指标，进一步考察方法的稳定性。

# 5 柴胡滴鼻液的稳定性研究

## 5.1 仪器和试药

### 5.1.1 实验仪器

安捷伦782 0A气相色谱仪，安捷伦76 94E顶空进样器；pH S- 3 C型pH 计（上海市精密科学仪器有限公司），0. 5- 0. 6 常数毛细管黏度计（上海申谊玻璃制品有限公司），DZK W- 4型电子恒温水浴锅（北京中兴伟业仪器有限公司），BSA1 24S 电子分析天平（赛多利斯科学仪器有限公司），GZ X- GF 101 - II 型电热恒温鼓风干燥箱（上海市跃进医疗器械有限公司），KFR - 72LW型格力空调（珠海格力电器股份有限公司）。

### 5.1.2 试剂与药品

柴 胡滴 鼻 液（ 自 制 ）； 糠醛 （ 天津 市 大茂 化 学 试剂 厂 ）； 正己 醛

（ GR ，东 京化 成 工艺 株 式会 社 ）；黄 原胶（ 江 苏神 华 药业 有 限公 司 ）；羟 丙基 倍 他环 糊 精（ 西 安德 立 生物 工 程有 限 公 司）； 二 硝基 苯 肼， 氯化 钠， 二 甲基 甲 酰胺 ， 盐 酸， 氢 氧化 钾 ， 以 上 试剂 均 购自 成 都 市科 龙 化工 试 剂厂 ， 为分 析 纯 。

## 5.2 方法与结果

### 5.2.1 考察项目

试 验中 分 别以 性 状、 鉴 别 、 pH 值 、黏 度 、糠 醛 、指 纹 图 谱等 项目 作为 评 价指 标 。具 体操 作 方法 及 取值 范 围 见第 四 章的 质 量标 准（ 草案 ） 。

### 5.2.2 长期留样试验

参考中国药典201 0年版2部附录XI X C原料药与药物制剂稳定性试验指导原则，长期留样试验是在接近药物的实际贮存条件下进行，其目的是为制定药物的有效期提供依据[ 8 1 - 8 2 ]。供试品3批，市售包装，在常室温（0~30）℃，常湿30% ~90%的条件下放置6个月，分别于初始、1个月、2个月、3个月、6个月取样按提前设计好的考察项目进行检测，其结果见表5- 1，5- 2，5- 3 。

表5-1 长期留样稳定性考察（第一批）

Table 5-1 Long-term stability of samples (the first batch)

|  | | 样品名称：柴胡滴鼻液 批号：20150710 Th产日期：2015.07.10 |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 检验 |  |  |  |
| 项目 | 标准规定 | 0 月（20150713） 1 月（20150813） 2 月（20150913） 3 月（20151013） | 6 月（20160113） |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白色的澄明液 微乳白色的澄明液 微乳白色的澄明液 微乳白色的澄明液 | 微乳白色的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香 | 体；气芳香 体；气芳香 体；气芳香 体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 甲管所显葡萄酒红 甲管所显葡萄酒红 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 |
| 鉴别 |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 色比乙管深 色比乙管深 色与乙管一样深 | 色与乙管一样深 |
| 黏度 | [η]应为 7.0~10.5 | 9.53 8.79 8.52 8.85 | 8.55 |
| pH 值 | pH 范围为 4-8 | 6.96 6.72 6.98 7.26 | 7.08 |
| 糠醛 | 含量应小于 60μg/mL | 未检出 未检出 1.2 未检出 | 未检出 |
| 指纹图 | 相似度不低于 80%， | 相似度 0.898，具有 相似度 0.886，具有 相似度 0.886，具有 相似度 0.875，具有 | 相似度 0.855，具有 |
| 谱 | 且具有 5 个特征峰 | 5 个特征峰 5 个特征峰 5 个特征峰 5 个特征峰 | 5 个特征峰 |

表 5-2 长期留样稳定性考察（第二批）

Table 5-2 Long-term stability of samples (the second batch)

样品名称：柴胡滴鼻液批号：20150715 Th产日期：2015.07.15

| 检验项目 | 标准规定 | 0 月（20150720） | 1 月（20150820） | 2 月（20150920） | 3 月（20151020） | 6 月（20160120） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒 | 甲管所显葡萄酒 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 |
| 鉴别 |  |  |  |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 | 红色比乙管深 | 红色比乙管深 | 色与乙管一样深 | 色与乙管一样深 |
| 黏度 | [η]应为 7.0~10.5 | 8.68 | 7.53 | 7.64 | 8.76 | [η]=8.56 |
| pH 值 | pH 范围为 4-8 | 6.61 | 6.58 | 6.40 | 6.36 | 6.43 |
|  | 含量应小于 |  |  |  |  |  |
| 糠醛 | 60μg/mL | 6.1 | 5.1 | 6.1 | 4.5 | 4.5 |
|  | 相似度不低于 |  |  |  |  |  |
| 指纹图谱 | 80%，且具有 5 个 | 相似度 0.963，具有  5 个特征峰 | 相似度 0.958，具  有 5 个特征峰 | 相似度 0.968，具  有 5 个特征峰 | 相似度 0.952，具有  5 个特征峰 | 相似度 0.946，具有  5 个特征峰 |
|  | 特征峰 |  |  |  |  |  |

表 5-3 长期留样稳定性考察（第三批）

Table 5-2 Long-term stability of samples (the third batch)

样品名称：柴胡滴鼻液批号：20150717 Th产日期：2015.07.17

| 检验项目 | 标准规定 | 0 月（20150721） | 1 月（20150821） | 2 月（20150921） | 3 月（20151021） | 6 月（20160121） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液体； | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香 | 体；气芳香 | 气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒 | 甲管所显葡萄酒 |
| 鉴别 |  |  |  |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 | 色比乙管深 | 色比乙管深 | 红色比乙管深 | 红色比乙管深 |
| 黏度 | [η]应为 7.14~10.72 | 8.37 | 7.91 | 8.19 | 8.34 | 8.23 |
| pH 值 | pH 范围为 4-8 | 6.73 | 6.61 | 6.32 | 6.46 | 6.53 |
|  | 含量应小于 |  |  |  |  |  |
| 糠醛 | 60μg/mL | 6.3 | 5.2 | 4.3 | 4.3 | 4.1 |
|  | 相似度不低于 80%， | 相似度 0.977，具有 | 相似度 0.972，具有 | 相似度 0.970，具有 | 相似度 0.965，具 | 相似度 0.955，具 |
| 指纹图谱 |  |  |  |  |  |  |
|  | 且具有 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 有 5 个特征峰 | 有 5 个特征峰 |

西南科技大学硕士研究Th学位论文第43 页

### 5.2.3 加速稳定性实验

参考中国药典201 0年版2部附录XIX C原料药与药物制剂稳定性试验指导原则，本试验在加速条件下进行，通过特定的高温高湿环境加速待测新药的的化学降解或物理性质变化，为处方优化、工艺改进、包装包材的选择、贮存和运输等各方面提供必要的资 料

[ 8 3 ] [ 8 4 ]. 供试品要求3批，在高温（40℃±2℃）、高湿（相对湿度为75%±5%）的条件下放置6个月。实验室采用烘箱控制实验温度，制剂放置于放有饱和氯化钠溶液的干燥器内，以此确保实验条件符合要求。试验期间第1个月、2个月、3个月、6个月末分别取样，按照计划设计的考察项目来检测，结果见表5- 4、5- 5、5- 6 。

表 5-4 加速稳定性考察（第一批）

Table 5-4 Accelerated stability study(the first batch)

|  | | 样品名称：柴胡滴鼻液 | 批号：20150710 Th产日期：2015.07.10 |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 检验项目 | 标准规定 | 0 月（20150713） | 1 月（20150813） 2 月（20150913） 3 月（20151013） | 6 月（20160113） |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 微乳白的澄明液 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 体；气芳香 体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 甲管所显葡萄酒红 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 |
| 鉴别 |  |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 | 色与乙管一样深 色与乙管一样深 色与乙管一样深 | 色与乙管一样深 |
| 黏度 | [η]应为 7.14~10.72 | 9.53 | 8.37 8.58 7.69 | 7.79 |
| pH 值 | pH 范围为 4~8 | 6.96 | 6.64 6.61 7.09 | 7.03 |
|  | 含量应小于 |  |  |  |
| 糠醛 |  | 未检出 | 未检出 未检出 未检出 | 未检出 |
|  | 60μg/mL |  |  |  |
|  | 相似度不低于 |  |  |  |
| 指纹图谱 | 80%，且具有 5 个特征峰 | 相似度 0.882，具有  5 个特征峰 | 相似度 0.866，具有 相似度 0.872，具有 相似度 0.864，具有  5 个特征峰 5 个特征峰 5 个特征峰 | 相似度 0.854，具有  5 个特征峰 |

表 5-5 加速稳定性考察（第二批）

Table 5-5 Accelerated stability study(the second batch)

样品名称：柴胡滴鼻液批号：20150715 Th产日期：2015.07.15

| 检验项目 | 标准规定 | 0 月（20150720） | 1 月（20150820） | 2 月（20150920） | 3 月（20151020） | 6 月（20160120） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液体； | 本微乳白的澄明 | 微乳白的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 | 气芳香 | 液体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红色 | 甲管所显葡萄酒 | 甲管所显葡萄酒 |
| 鉴别 |  |  |  |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 | 色比乙管深 | 比乙管深 | 红色比乙管深 | 红色比乙管深 |
| 黏度 | [η]应为 7.14~10.72 | 8.68 | 7.29 | 7.83 | 7.85 | 7..88 |
| pH 值 | pH 范围为 4~8 | 6.61 | 6.26 | 5.94 | 5.83 | 5.65 |
|  | 含量应小于 |  |  |  |  |  |
| 糠醛 | 60μg/mL | 6.1 | 5.1 | 4.7 | 5.6 | 5.5 |
|  | 相似度不低于 |  |  |  |  |  |
| 指纹图谱 | 80%，且具有 5 个 | 相似度 0.945，具有  5 个特征峰 | 相似度 0.943，具有  5 个特征峰 | 相似度 0.954，具有 5  个特征峰 | 相似度 0.928，具  有 5 个特征峰 | 相似度 0.943，具  有 5 个特征峰 |
|  | 特征峰 |  |  |  |  |  |

表 5-6 加速稳定性考察（第三批）

Table 5-6 Accelerated stability study(the third batch)

样品名称：柴胡滴鼻液批号：20150717 Th产日期：2015.07.17

| 检验 |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 项目 | 标准规定 | 0 月（20150721） | 1 月（20150821） | 2 月（20150921） | 3 月（20151021） | 6 月（20160121） |
|  | 本品为微乳白色的 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液体； | 微乳白的澄明液 | 微乳白的澄明液 |
| 性状 | 澄明液体；气芳香。 | 体；气芳香。 | 体；气芳香 | 气芳香 | 体；气芳香 | 体；气芳香 |
|  | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒红 | 甲管所显葡萄酒 | 甲管所显葡萄酒 |
| 鉴别 |  |  |  |  |  |  |
|  | 色应比乙管深 | 色比乙管深 | 色比乙管深 | 色比乙管深 | 红色比乙管深 | 红色比乙管深 |
| 黏度 | [η]应为 7.14~10.72 | 8.37 | 7.51 | 7.87 | 7.68 | 7.76 |
| pH 值 | pH 范围为 4~8 | 6.73 | 6.31 | 5.98 | 5.87 | 5.78 |
| 糠醛 | 含量应小于60μg/mL | 5.2 | 5.2 | 3.0 | 5.4 | 5.2 |
| 指纹图 | 相似度不低于 80%， | 相似度 0.948，具有 | 相似度 0.937，具有 | 相似度 0.942，具有 | 相似度 0.922，具 | 相似度 0.910，具 |
| 谱 | 且具有 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 5 个特征峰 | 有 5 个特征峰 | 有 5 个特征峰 |

## 5.3 小结

稳定性研究是新药的药学研究中必不可少的一部分，稳定性试验的目的是探讨原料药或药物制剂在温度、湿度、光线等因素的影响下随时间变化的规律，为药品的生产、包装、贮存、运输条件提供科学的依据，同时通过该试验建立药品的有效期。柴胡滴鼻液的主要活性成分为柴胡挥发油，尤其不稳定，高温等条件有可能会影响其成分含量的改变，本文对其进行了6个月的常温留样实验和加速稳定性实验，证明柴胡滴鼻液质量稳定，可控，但若需要进行新药申报，还需要进一步加长时间的研究。考虑到其有效成分柴胡挥发油不稳定，建议在阴凉处储藏 。

结 论

本文在柴胡注射液的基础上开发新药柴胡滴鼻液，并在《中药、天然药物注册分类及申报资料要求》指导下，对其进行药学研究。对柴胡滴鼻液的处方设计、制备工艺、药理药效、质量标准及稳定性进行了研究 。

1. 对柴胡滴鼻液的制备工艺进行研究，采用单因素试验考察了干燥方式、干燥温度、药材粒度、提取时间、提取方式等因素，获得最佳提取工艺，再对黏附剂和渗透促进剂两类辅料进行筛选，选择了0. 5%黄原胶和0. 8%羟丙基倍他环糊精，采用包合的方式制备柴胡滴鼻液。在整个研究过程中，还对各个时间段的馏出液的挥发油活性成分含量进行了监控，其主要规律为前期馏出的液体中挥发油活性成分含量较高一点，但实验数据规律性不强，故在本文未列出相关数据。本研究在方法选择上以不引入杂质和可操作性为原则，后续的研究人员若目标只为研究其提取工艺，则可引入绪论中的超临界流体萃取和微波法等，同时可以对挥发油的成分进行系统的研究，这一部分难度非常大，但也非常具有研究价值 。

2. 柴胡滴鼻液为鼻部给药，牛蛙纤毛毒性实验和大鼠鼻黏膜刺激性实验表明本制剂对鼻黏膜及纤毛无毒性及刺激性，安全性高；药效实验表明，本制剂对2，4-二硝基酚致大鼠发热有明显的解热作用，起效迅速。由于实验条件有限，本实验均为初步试验，若为新药申报资料的药理毒理实验，则需要更为严谨的选择实验动物，可控的饲养环境以及更为系统科学的统计分析方法。

3. 建立黏度指标，建立三位一体的指纹图谱，从药材、中间体和制剂三方面对制剂质量进行控制，方法学实验表明该质量标准具有稳定性与可操作性。本项研究的思路是一种创新，目前中药的成分复杂、监控难度较大，从药材、中间体和制剂3方面共同控制可以作为一种从简单控制到精确控制中间的一个过度，待科技水平进一步提升，相信我们也可以有更为精确的方法来处理中药制剂的质量控制。

4. 柴胡滴鼻液的主要活性成分为柴胡挥发油，尤其不稳定，高温等条件有可能会影响其成分含量的改变，本文对其进行了6个月常温留样实验和加速稳定性实验，证明柴胡滴鼻液质量稳定，可控，

但由于时间较短，数据不够支持建立有效期，考虑到其有效成分柴胡挥发油不稳定，建议在阴凉处储藏。若为新药申报资料中的稳定性研究，则应该观察时间更久，同时最好设立中间条件稳定性研究。本品对光照较为敏感，若具备实验条件，光照稳定性研究也要有数据支撑 。

致 谢

首先，衷心的感谢马家骅老师三年来在学习、科研、实践和生活等各方面给予我的帮助和关怀，感谢您多年的栽培，耐心的教导！在您指导下，我明晰了前进的方向，学到了宝贵的技能，为以后的工作打下了基础，为此，再一次对您表示衷心的感谢 ！

其次，感谢母校西南科技大学，母校的培养使我渐渐走向成熟，在这我不仅学到了宝贵的知识，而且明白了做人的道理！祝愿西南科技大学越来越好！

最后，在此为对课题提供资助的四川省科技创新苗子工程以及西南科技大学研究生创新基金表示感谢！同时，课题的完成离不开朝夕相处的同学们的帮助，感谢张慧、龙柯利、辛超、周毅、马小红、卿磊等对本文完成给予的支持！感谢你们的陪伴，真心地祝愿各位学业有成！工作顺利 ！

参考文献

[1 ] 史 群 云 ， 高 丽 丽. 柴 胡 的 研 究 现 状 [J ]. 中 国 医 药 导 报 ,2 0 0 9 , 6 ( 3) : 1 5 8 - 1 5 9 .

[2 ] 廖 建 秀. 柴 胡 小 议 [J ]. 新 疆 中 医 药 ,2 0 11 , 9 (2) : 3 9 -4 0 .

[3] ] 张 小 玉 ， 杨 海 俊 ， 李 涛 ， 杨 晓 梅. 浅 析 柴 胡 广 泛 应 用 之 理 [J ]. 内 蒙 古中医 ,2 0 11 , 7 : 5 3 - 5 4 .

[4] ] Li an g H, Z h a o YY, Z h a n g RY, e t al. A new ch r o mo n e gly c o s id e fr o m Bu p l e u r u m ch i n e se [ J]. J Ch in es e Ch e mi c al Let te r s, 1 9 9 8, 9 ( 1) : 6 9 - 7 0 .

[5] ] 孙 宗 喜 ， 吕 晓 慧 ， 徐 桂 花 ， 等. 甘 肃 产 柴 胡 挥 发 油 化 学 成 分 GC - MS 分 析 [J ]. 中

国 实 验 方 剂 学 杂 志,2 0 1 2 , 1 8 ( 9 ): 7 5 - 7 8 . [6 ] 王 胜 春 ， 赵 慧 平 . 柴 胡 的 清 热 与 抗 病 毒 作 用 [J ] . 时 珍 国 医 国药 ,1 9 9 8 , 9 ( 5 ) : 4 1 8 - 4 1 9 .

[7] ] 李 平 ， 李 培 恒 ， 张 子 义 ， 等 . 柴 苓 汤 及 其 有 效 成 分 对 大 鼠 实 验 性 肾 炎 的 影 响

[J ] . 中 国 中 西 医 结 合 杂 志,2 0 0 3, 2 3 ( 1 0 ) : 7 5 7 - 7 5 9 .

[8] ] 梁 云 ， 崔 若 兰 . 柴 胡 皂 苷 -d 治 疗 抗 肾 小 球 基 膜 型 肾 炎 的 实 验 研 究 [J ]. 第二军 医 大 学 学 报,1 9 9 9, 2 0 ( 7 ) : 4 1 6 - 4 1 9 .

[9] ] Ju st MJ, Re c io MC, Gi n e r RM, An ti - in f l am ma to r y Ac t iv i ty of Un u su a l Lu p a n e Sa p o n in s fr o m Bu p l e u r u m fr u t ic e sc e n s [J] . Pl an t a Me d, 1 9 9 8, 6 4 ( 5 ) : 4 0 4 - 4 0 7 .

[10] ] Tsu k a sa M, Ma s u mi H, Hi ro ak i K, et al . Ch a r ac t er i sa ti o n of th e en d o - p o l y g a la c tu r o n a se - r e sis ta n t re g i o n of th e pec t in fr o m Bu p l e u r u m fa l ca t u m L. —a po ly sa c ch ar i d e wi th an ac ti v e fu n c ti o n in cle a r an ce of immu n e co m p l ex es [ J] . Ca r b o h y d r at e Re se a r ch, 19 9 5, 2 7 0 ( 2 ) :2 2 1 - 2 2 9 .

[11] ] Na v a r r o P, Gi n e r RM, Ret ie MC, et al . In vi2 v o An t i–in f l am mn t o r y Ac t iv i ty of Sa p o n i n s fr o m Bu p l e u r u m ro t u n d i f o l iu m [ J] . Lif e Sc ie n c e s, 20 0 1, 6 8 (1 0 ) : 11 9 9–12 0 6 .

[1 2 ] 温 悦 . 挥 发 油 提 取 方 法 研 究 概 况 [J] . 中 国 药 业,2 0 1 0, ( 1 2 ) : 8 4 - 8 5 .

[13] ] 李 秀 琴 ， 孙 秀 艳 ， 何 仲 贵 ， 等 . 柴 胡 挥 发 油 提 取 方 法 的 研 究 [J ] . 中 国 药 学杂志,2 0 0 4, 3 9 ( 2 ): 1 0 3 -1 0 5 .

[14] ] 张 祥 俊 ， 张 永 敬 . 柴 胡 挥 发 油 提 取 工 艺 改 进 [J] . 中 国 药 业,2 0 0 9, 1 8 ( 1 5 ) : 3 3 .

[15] ] 葛 发 欢 ， 李 莹 ， 谢 健 鸣 ， 等 . 超 临 界 CO 2 从 柴 胡 中 萃 取 挥 发 油 及 其 皂 苷 的研究 [J ] . 中 国 中 药 杂 志,2 0 0 0, 2 5 ( 3 ) : 1 4 9 - 1 5 3 .

[16] ] 侯 彩 霞 ， 李 淑 芬 ， 刘 乃 汇 ， 等 . 超 临 界 CO 2 萃 取 柴 胡 挥 发 油 的 工 艺 及 模 型 [J ] .

天 津 大 学 学 报,2 0 0 9, 4 2 ( 2 ) : 1 7 7 - 1 8 2 .

[17] ] 谭 承 佳 ， 温 荣 伟 ， 马 家 骅 ， 等 . 微 波 提 取 柴 胡 挥 发 油 的 工 艺 研 究 [J ] . 中成药,2 0 1 4, 3 6 ( 6 ): 13 1 5 - 1 3 1 7 .

[18] ] 于 泓 鹏 ， 吴 克 刚 ， 吴 彤 锐 ， 等 . 丁 香 精 油 的 超 临 界 CO 2 和 溶 剂 回 流 萃 取 及其

GC - MS 分 析 [J ] .

食 品 与 发 酵 工 业 20 0 9, 3 5 ( 1 ) : 1 4 5 - 1 4 9 .

[19] ] [朱 式 欧](http://www.cnki.net/KCMS/detail/search.aspx?dbcode=CJFQ&amp;sfield=au&amp;skey=%D6%EC%CA%BD%C5%B7&amp;code=22832069%3B22984546%3B22766272%3B) ， [潘 经 媛](http://www.cnki.net/KCMS/detail/search.aspx?dbcode=CJFQ&amp;sfield=au&amp;skey=%C5%CB%BE%AD%E6%C2&amp;code=22832069%3B22984546%3B22766272%3B) ， [胡 绍 鳷](http://www.cnki.net/KCMS/detail/search.aspx?dbcode=CJFQ&amp;sfield=au&amp;skey=%BA%FA%C9%DC%F8T&amp;code=22832069%3B22984546%3B22766272%3B) . 北 柴 胡 挥 发 油 解 热 和 抗 炎 作 用 [J ] . 中 药 药 理 与临床,1 9 8 5 : 1 5 0 .

[20] ] 刘 泽 坤 ， 陈 海 霞 ， 李 兵 兵 ， 孙 佳 欣 ， 张 伶 俐 . 烟 台 柴 胡 挥 发 油 的 GC - M S 分 析及抑 菌 活 性 研 究 [J] . 中 国 实 验 方 剂 学 杂 志,2 0 11, 1 7 (2 1 ) : 1 2 3 - 1 2 6 .

[2 1 ] 庄 林 根 . 药 物 气 雾 剂 的 研 究 概 况 [J ] . 中 国 药 学 杂 志,1 9 9 2, 2 7 : 6 2 0 - 6 2 2 .

[22] ] My g in d N, D a h l R. An at o m y, p h y si o lo g y an d fu n c ti o n of th e nas a l ca c it ie s in hea l th an d di se a se [ J] . Ad v Dr u g De l iv Re v, 1 9 9 8, 2 9 ( 1 - 2 ) : 3 - 1 2 .

[23] ] So a n e RJ, Fr i e r M, P er k in s AC, e t al . Ev a l u a ti o n of th e cl e ar a n c e ch a r a c te r is ti cs of bio a d h es iv e sy st e m in hu ma n s [ J] . In t J Ph a r m, 1 9 9 9, 1 7 8 (1 ) : 5 5 -6 5 .

[24] ] 钱春梅. 药物传递系统(D D S ) I V 腔道给药传递系统[J] . 西北药学杂

志,1 9 9 5, 1 0 ( 6 ): 2 8 1 -2 8 3 .

[25] ] Bec h g aa r d E, L in d h a r d t K, Ma r ti n se n L. In tr a n a sa l ab s o r p t io n of me la to n in in in v i v o bio a v a i la b i li ty stu d y [ J] . In t J Ph a r m, 1 9 9 9, 1 8 2 ( 1 ) : 1 - 5 .

[26] ] Ka g a t an i S, I n ab a N, Fu k u i M, e t al . Na sa l ab s o r p t io n kin e t ic be h a v i o r of az e ti r el in an d its en h an ce m en t by ac y l c ar n i ti n e s in ra t s[ J] . Ph a r m Re s, 1 9 9 8, 1 5 ( 1 ) : 7 7 - 8 1 .

[27] ] Co n e EJ. Rec e n t dis co v e ri e s in ph a rm a co k in e t ic s of dr u g s of ab u se [ J] . To x ic o l Let t, 1 9 9 8, 1 0 2 - 1 0 3 ( 1 - 3 ) : 9 7 - 1 0 1 .

[28] ] Ey le s JE, D i am e WE, O y a AH . Imm u n o lo g i c al re sp o n se to nas a l del iv er y of fr e e an d en c a p su l a te d te ta n u s eo x o id : st u d i e s on th e eff e c t of veh ic le vo lu me [ J] . I n t J Ph a r m, 1 9 9 9, 1 8 9 (1 ) : 7 5 -7 9 .

[29] ] Li L, Su d h i r G, Yon g MC, e t al. Ra p id -o n se t in tr a n a sa l de l iv e r y of an t ic o n v u l sa n ts : ph ar m ac o k in e t ic an d ph a r ma c o k in et ic an d ph ar m ac o d y n a mi c ev a l u a ti o n in ra b b i ts [ J] . In t J Ph a r m, 2 0 0 0, 1 9 9 ( 1 ) : 6 5 - 7 6 .

[30] ] Ni el se n HW, Be c h g a a r d E, Tw il e B, e t al. In tr a n a sa l ad mi n i str a t io n of diff e r e n t liq u id fo r mu l at io n of bu me t an id e eo ra b b it s[ J] . I n t J

Ph a r m, 2 0 0 0, 2 0 4 (1 ) : 3 5 -4 1 .

[31] ] 王 东 兴 ， 高 永 良 . 鼻 腔 给 药 新 剂 型 研 究 进 展 [J ] . 中 国 新 药 杂志,2 0 0 2, 11 ( 8 ) : 5 8 9 - 5 9 2 .

[3 2 ] 徐 晖 ， 魏 培 莲 . 鼻 腔 给 药 系 统 研 究 进 展 [J ]. 中 国 药 业,2 0 0 4, 1 3 ( 3 ): 7 2 - 7 3 .

[33] ] 何 梅 ， 李 铮 铮 . 鼻 用 制 剂 的 研 究 进 展 [J] . ft 西 医 药 杂志,2 0 1 0, 3 9 ( 1 0 ) : 9 5 3 - 9 5 4 .

[34] ] 陈 圭 宏 ， 冯 存 伟 ， 吴 伟 ， 等 . 脑 醒 鼻 腔 给 药 对 脑 血 管 机 能 不 全 33 例 脑 电阻图 变 化 疗 效 观 察 [J ] 新 中 医,1 9 9 7, 2 9 ( 1 0 ) : 1 2 - 1 3 .

[35] ] 邵 念 方 ， 祝 维 峰 ， 冯 学 功 ， 等 . 脑 通 滴 鼻 液 治 疗 缺 血 性 脑 卒 中 的 临 床 研 究

[J ] . ft 东 中 医 杂 志,1 9 9 9, 1 8 ( 2 ): 5 8 - 6 1 .

[36] ] 张 英 ， 李 秋 风 ， 刘 杰 ， 等 . 速 效 冠 心 滴 鼻 剂 临 床 研 究 初 探 [J ] . 辽 宁 中 医杂志,1 9 9 9, 2 6 ( 3 ): 111 - 11 2 .

[37] ] 刘 玉 玲 ， 何 晓 玲 . 地 西 泮 滴 鼻 治 疗 小 儿 惊 厥 [J ] . 广 东 医学,2 0 0 0, 2 1 ( 2 ): 1 4 9 -1 5 0 .

[38] ] Mo r im o to K, A k a ts u ch i H, A i k a w a R, e t al . En h a n c e d re c ta l ab s o r p t io n of [A s u 1, 7 ] -e e l ca l ci to n in in ra ts us in g po ly a c r y l ic ac id aq u eo u s ge l bas e [ J] . J Ph a r m Sc i, 1 9 8 4, 7 3 : 1 3 6 6 - 1 3 6 8 .

[39] ] Il lu m L, F ar r a j NF, D a v i s SS . Ch it o sa n as a no v e l nas a l del iv er y sy e te m fo r pep ti d e dr u g [ J] . Ph a r m Re s, 1 9 9 4, 11 ( 8 ) : 11 8 6 - 11 8 9 .

[40] ] 张 志 芬 . 从 《 中 国 药 典 》 20 0 5 年 版 附 录 看 中 药 鼻 用 制 剂 的 研 究 进 展 [J ] .

中 草 药, 20 0 5, 36 ( 12 ) 19 1 3 .

[41] ] 邬 伟 魁 ， 张 海 燕 ， 宋 伟 ， 等 . 中 药 经 鼻 腔 给 药 研 究 [J ] . 中 国 实 验 方 剂 学杂志,2 0 11, 1 7 ( 2 0 ) : 2 8 8 - 2 9 2 .

[42] ] 边 虹 铮 ， 杜 春 霞 . 我 国 鼻 用 制 剂 研 究 应 用 现 状 [J ] . 今 日 科苑,2 0 0 7, ( 0 6 ) : 7 4 - 7 5 .

[ 43 ] 倪 梅 媛 ， 高 美 霞 . 柴 胡 滴 鼻 剂 的 研 制 及 临 床 疗 效 观 察 [J ] . ft 东 医 药 工业,2 0 0 2, 2 1 ( 4 ): 3 7 - 3 8 .

[ 44 ] 刘 学 理 ， 李 东 . 柴 胡 滴 鼻 剂 的 制 备 及 临 床 应 用 [J] . 医 药 导报,2 0 0 3, 2 2 ( 3 ): 1 8 3 -1 8 4 .

[ 45 ] 中 华 人 民 共 和 国 药 典 一 部（ 20 1 0 年 版 ）[S ] . 北 京 ：中 国 医 药 科 技 出 版 社 ，

20 1 0 .

[ 46 ] 钮 跃 贞 ， 赵 德 运 ， 郑 清 芬 ， 等 . 鼻 腔 给 药 的 研 究 概 况 [J ] . 中 国 新 药 与 临 床 杂志,2 0 0 1, 2 0 ( 5 ): 3 8 1 -3 8 3 .

[ 47 ] 李 计 萍 . 中 药 新 药 稳 定 性 的 现 状 及 思 考 [J ] . 世 界 科 学 技 术 - 中 医 现 代化,2 0 0 4, 6 ( 5 ) : 2 5 - 2 8 .

[ 48 ] Li a n g H, Z h ao YY, Z h a n g RY, e t al . A ne w ch r o mo n e gly c o s id e fr o m Bu p l e u r u m ch i n e se [ J] . J Ch in es e Ch e mi c al Let te r s, 1 9 9 8, 9 ( 1 ) : 6 9 - 7 0 .

[ 49 ] 国 家 药 典 委 员 会 . 中 药 注 射 剂 标 准 草 案 的 公 布 [E B ] . h t tp : / / w w w. c h p . o rg . cn

/e x p o r t / s it es / c h p / r e so u r c e / h is to r y 0 1 / 2 0 11 0 3 1 2 2 . p d f, 20 11 .

[ 50 ] 田 文 辉 ， 高 永 良 . 鼻 腔 给 药 吸 收 促 进 剂 的 研 究 进 展 [J ] . 解 放 军 药 学 学报,2 0 0 6, 2 2 ( 1 ): 5 5 - 5 7 .

[ 51 ] 邬 伟 魁 ， 张 海 燕 ， 宋 伟 ， 等 . 鼻 用 制 剂 药 用 辅 料 研 究 [J ] . 中 国 实 验 方 剂 学 杂志,2 0 11 . 1 7 ( 2 3 ): 2 5 4 - 2 5 8 .

[ 52 ]刘志贤，李范珠，陈建明，等. 1 2 5 I-眼镜蛇神经毒素透鼻猫膜吸收及冰片的促进作用研究[J] . 药学实践杂志,2 0 0 4, 2 2 ( 4 ): 2 0 0 - 2 0 2 . [ 53 ]李淼， 高永良. 药物鼻黏膜递送的影响因素[J ] . 中国新药杂志,2 0 0 7, 1 6 ( 5 ): 3 5 6 -3 6 0 .

[ 54 ] 王 劲 . 复 方 鼻 康 灵 滴 鼻 剂 的 研 制 [D ] . ft 东: ft 东 中 医 药 大 学,2 0 11 .

[ 55 ] 段 晓 颖 ， 高 卫 芳 ， 闫 艳 仓 . 中 药 生 物 黏 附 制 剂 研 究 进 展 [J] . 中 国 实 验 方 剂 学志,2 0 1 0, 1 6 ( 1 2 ): 2 0 9 - 2 1 4 .

[ 56 ] 李 捷 玮 ， 刘 吉 祥 . 常 用 药 物 辅 料 手 册 [M ]. 上 海: 第 二 军 医 大 学 出 版社,2 0 0 0, 3 1 9 - 3 2 3 .

[ 57 ] 马 家 骅 . 蜣 螂 抗 良 性 前 列 腺 增 生 症 有 效 部 位 及 其 新 型 给 药 系 统 的 研 究 [D ] .

四 川: 成 都 中 医 药 大 学,2 0 0 9 .

[ 58 ] 高 朝 霞 ， 蒋 学 华 ， 张 川 川 ， 等 . 体 外 黏 附 力 的 测 定 及 在 生 物 黏 附 制 剂 处 方 筛选 的 试 用 [J] . 中 国 医 药 工 业 杂 志,2 0 0 6, 3 7 ( 9 ): 6 0 6 - 6 0 8 .

[ 59 ] 蒋 新 国 ， 崔 景 斌 ， 方 晓 玲 ， 等 . 药 物 的 鼻 粘 膜 纤 毛 毒 性 及 评 价 方 法 [J ] . 药 学学 报,1 9 9 5, 3 0 ( 11 ): 8 4 8 - 8 5 3 .

[60] ] 杨 世 珍 ， 贺 修 培 ， 刘 颖 ， 等 . 润 燥 护 鼻 乳 膏 对 牛 蛙 黏 膜 纤 毛 功 能 的 影 响 [J ] .

云 南 中 医 学 院 学 报,2 0 0 8, 3 1 ( 2 ): 2 3 - 2 4 .

[61] ] 彭 红 英 ， 周 晓 源 . 双 甘 鼻 用 喷 雾 剂 的 研 制 及 其 鼻 纤 毛 毒 性 初 步 评 价 [J] .

农 垦 医 学,2 0 0 6, 2 8 ( 2 ): 9 7 - 9 9 .

[62] ] 吴 品 江 ， 许 润 春 ， 苏 拓 僮 ， 等 . 黄 芩 苷 脂 质 体 、 β- 环 糊 精 包 合 物 及 磷 脂 复合物 鼻 黏 膜 渗 透 性 及 毒 性 研 究 [J ] . 药 学 学 报,2 0 0 9, 4 4 ( 4 ): 4 1 7 -4 2 4 .

[ 63 ] 刘 剑 云 ， 史 亚 军 ， 施 俊 辉 ， 等 . 贝 加 灵 喷 雾 剂 的 纤 毛 毒 性 作 用 及 黏 膜 刺 激 性实 验 研 究 [J] . 时 珍 国 医 国 药,2 0 1 2, 2 3 ( 4 ): 8 8 1 - 8 8 2 .

[ 64 ] 王 北 婴 ， 李 仪 奎 . 中 药 新 药 研 制 开 发 技 术 与 方 法 [M] . 上 海: 上 海 科 学 技 术 出版 社,2 0 0 1: 8 1 5 .

[ 65 ] 左 泽 平 ， 王 志 斌 ， 郭 玉 东 ， 等 . 常 用 大 鼠 发 热 模 型 研 究 [J] . 中 国 比 较 医 学 杂志,2 0 1 2, 2 2 ( 2 ): 5 2 - 5 7 .

[ 66 ] 何 喻 ， 蔡 玲 斐 ， 赖 登 明 ， 等 . 不 同 基 础 体 温 小 鼠 对 2 ， 4- 二 硝 基 酚 致 热 作 用 的反 应 及 巨 噬 细 胞 吞 噬 功 能 差 异 检 测 的 研 究 [J ]. 健 康 研 究,2 0 1 2, 3 2 ( 5 ): 3 2 5 - 3 2 7 .

[ 67 ] 唐 晓 峰 ， 薛 漫 清 ， 王 晖 . 大 鼠 发 热 模 型 及 发 热 机 制 的 研 究 进 展 [J ] . 广 东 药 学院 学 报,2 0 0 9, 2 5 ( 3 ): 3 2 7 -3 3 1 .

[ 68 ] 高 阳 ， 王 志 斌 ， 左 泽 平 ， 等 . 柴 胡 注 射 液 对 LPS 发 热 模 型 大 鼠 解 热 药 效 的 研究 [J ] . 北 京 中 医 药 大 学 学 报,2 0 1 2, 3 5 ( 1 0 ): 6 9 6 -6 9 8 .

[ 69 ] 叶 得 河 ， 于 远 光 ， 李 剑 勇 ， 等 . 阿 司 匹 林 丁 香 酚 酯 的 高 效 解 热 作 用 及 作 用 机制 [J ] . 中 国 药 理 学 与 毒 理 学 杂 志,2 0 11, 2 5 ( 2 ): 1 5 1 - 1 5 5 .

[ 70 ] 董 彦 富 . 鼻 爽 清 洗 液 的 急 性 毒 性 、 过 敏 性 及 刺 激 性 实 验 [J ] . 临 床 医 学 工程,2 0 0 9, 1 6 ( 1 ): 11 - 1 2 .

[ 71 ] 莫 志 红 ， 刘 元 . 滴 通 鼻 炎 水 毒 性 试 验 报 告 [J ]. 药 物 与 临床,2 0 0 7, 2 9 ( 5 ): 7 3 6 -7 3 8 .

[ 72 ] 唐 晓 峰 ， 何 伟 ， 王 晖 ， 等 . 复 方 菊 冰 喷 雾 剂 的 毒 性 试 验 研 究 [J ] . 广 东 药 学 院学 报,2 0 1 0, 2 6 ( 4 ): 3 8 0 - 3 8 3 .

[ 73 ] 李 秀 琴 ， 孙 秀 燕 ， 陈 晓 辉 ， 等 . 柴 胡 挥 发 油 质 量 的 GC 指 纹 图 谱 分 析 方 法 [J ] .

中 草 药,2 0 0 6, 3 7 ( 8 ): 11 6 5 - 11 6 7 .

[74] 孙 玲, 杨 倩, 王 金 虎, 等 . 柴 胡 挥 发 油 毛 细 管 GC 指 纹 图 谱 研 究 [J ]. 中 国 药物 警 戒, 2 0 11, 8 (8 ): 4 6 2 - 4 6 4 .

[ 75 ] 王 斌 ， 张 腾 霄 ， 宋 相 周 ， 唐 志 国 ， 等 . 指 纹 图 谱 在 中 药 柴 胡 质 量 评 价 中 的 应 用

[J ] . 绥 化 学 院 学 报 ， 20 1 5 ， 3 5 ( 2 )： 14 9 - 1 5 2 .

[ 76 ] 吕 邵 娃 ， 董 书 羽 ， 郭 玉 岩 ， 孙 爽 ， 等 . 数 据 分 析 技 术 在 中 药 谱 效 关 系 中 的 应 用发 展 [J ]. 中 国 实 验 方 剂 学 杂 志 ，2 0 1 5 ， 2 1 ( 15 )： 22 6 - 2 3 0 .

[ 77 ] 王 贞 丽 . 中 药 指 纹 图 谱 构 建 的 研 究 发 展 [J ] . 实 用 医 药 杂志,2 0 1 4, 3 1 ( 11 ) 1 0 4 0 - 1 0 4 3 .

[ 78 ] 罗 莎 . 四 种 红 木 抽 提 物 的 FT I R 与 GC -M S 指 纹 图 谱 鉴 别 研 究 [D ] . 湖 南: 中南 林 业 科 技 大 学,2 0 1 3 .

[7 9 ] 孙 艳 ， 路 军 章 . GC - MS 法 鉴 定 银 柴 胡 挥 发 油 的 化 学 成 分 [J ] . 解 放 军 药 学学 报,2 0 0 3, 1 9 ( 6 ): 4 7 3 - 4 7 5 .

[8 0 ] 刘 群 ， 葛 发 欢 . 柴 胡 挥 发 油 化 学 成 分 分 析 [J ] . 中 药 材,2 0 0 3, 2 6 ( 9 ): 6 4 1 -6 4 2 .

[ 81 ] 高 文 全 . 香 芩 解 热 颗 粒 制 剂 稳 定 性 研 究 [D ] . 云 南: 云 南 中 医 学 院,2 0 1 3 .

[ 82 ] 张 建 勇 ， 江 用 文 ， 江 和 源 ， 等 . 茶 多 酚 片 主 要 功 效 成 分 加 速 稳 定 性 试 验 研 究

[J ] . 中 国 农 学 通 报,2 0 1 3, 2 9 ( 3 0 ): 2 0 6 - 2 0 9 .

[ 83 ] 刘 东 艳 . 芪 苓 制 剂 超 微 粉 的 稳 定 性 研 究 [D ] . 福 建: 福 建 农 林 大 学,2 0 1 0 .

[ 84 ] 马 宏 达 . 柴 胡 挥 发 油 亚 微 乳 注 射 液 和 柴 黄 微 丸 研 究 [J ] . 沈 阳: 沈 阳 药 科大 学,2 0 0 5 .

攻读硕士学位期间发表的相关学术论文及研究成果

1. 核 心期 刊 论文 1 篇

钟 宣 艳 ， 马 家 骅 ， 张 慧 ， 等 . 柴 胡 解 热 滴 鼻 液 的 制 备 工 艺 研 究 [J ]. 中药 材,2 014, 37( 9 ):168 5- 1 687 .

2. 主 持项 目 2 项

（ 1 ）柴 胡 解 热 滴 鼻 液 的药 学 研 究 ，201 4R Z0 051 ，四 川 省 科 技 创新 苗子 工 程重 点 项目 ；

（ 2 ） 柴 胡 解 热 滴 鼻 液 的 研 究 ， 14y cj0 70 ， 西 南 科 技 大 学 研 究 生创 新基 金 ， 已 结 题。