

复方甘草锌与氨来咕诺口腔复合膜的处方筛选

王同顺¹, 房志仲^{2*}

(1. 天津医科大学药学院, 天津 300070; 2. 天津医科大学药学院 药剂学教研室, 天津 300070)

摘要:目的 采用均匀设计法及相关分析对复方甘草锌与氨来咕诺口腔复合膜的处方进行优选。方法 不同配比的聚乙烯醇(PVA)、羟丙甲基纤维素(HPMC)、丙二醇为成膜材料,以膜剂的柔软性、均匀性、光滑性、透明性作为考察指标,采用均匀设计法及相关分析筛选最优处方并进行透皮吸收试验。结果 最佳成膜材料处方为:PVA 6.5 g, HPMC 0.1 g, 丙二醇 6.0 g。透皮实验结果表明,甘草锌和氨来咕诺都滞留在皮内,可以更好地促进溃疡面愈合。结论 采用上述配比的处方可制备出优良的口腔溃疡复合膜,满足缓释、安全的要求。

关键词:口腔复合膜;甘草锌;氨来咕诺;均匀设计;相关分析;透皮实验

中图分类号:TQ460.4

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2010)03-0207-04

Formulation optimization of compound licorzinc and Amlexanox oral complex pellicle

WANG Tong-shun¹, FANG Zhi-zhong²

(1. College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract: **Objective** To optimize the prescription of compound licorzinc and Amlexanox oral complex pellicle and improve the quality control by using uniform design and correlation analysis. **Methods** Different ratio of PVA, HPMC and propylene glycol were used as the composite materials of the pellicle. Softness, uniformity, smoothness, and transparency of the pellicle were regarded as parameters. Uniform design and correlation analysis were adopted for the formulation optimization. Cutaneous absorption test was carried out. **Results** The optimal formulation of film-forming materials was PVA: 6.5 g, HPMC: 0.1 g, propylene glycol: 6.0 g. The experimental results showed that licorzinc and Amlexanox remained in skin and promoted ulcer healing. **Conclusion** Preparation of the above prescription can be excellent oral complex pellicle to meet the requirements of slow release and safety.

Key words: complex pellicle; licorzinc; Amlexanox; uniform design; correlation analysis; transdermal test

以反复发作和剧烈烧灼痛为特点的口腔溃疡,给患者带来巨大的痛苦^[1]。用于治疗口腔溃疡的普通制剂有多种,如散剂、涂剂、含片、含漱液、普通膜剂等^[2]。由于口腔的特殊生理环境,多数制剂在口腔内停留时间短,很难适合口腔的特点并在病变部位达到持续有效的药量,因而疗效较差,而复合膜剂可以弥补其他制剂类型的这一缺陷。口腔溃疡复合膜是在含药膜上加一层覆盖膜,使得膜剂能够更好地单向释药。甘草锌是从豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 干燥根中分离得到的有效成分

甘草酸与锌的结合物,具有甘草酸和锌的双重药理作用。甘草酸具有抗病毒、抗溃疡、解毒、抗炎及肾上腺皮质激素样等作用,而锌剂能增强创伤组织的再生能力。氨来咕诺(Amlexanox)是日本武田公司开发的抗组胺药,用于治疗口腔黏膜溃疡。在本实验中,采用均匀设计法对甘草锌与氨来咕诺复合膜剂的处方进行筛选,以乙基纤维素(EC)为覆盖膜材料,与含药膜形成双层复合膜,含药层为亲水层,向内贴于患处,外为疏水层,使膜在患处滞留时间延长,从而提高了治疗效果,筛选出最优处方。

作者简介 王同顺(1984—),男,天津市人,硕士在读,研究方向为药物制剂与质量控制。

* 通讯作者 房志仲, Tel: 13920478744, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

甘草锌,山西临汾宝珠制药有限公司产品,批号061203;氨来咕诺,山东中科泰斗化学有限公司产品,批号060624;聚乙烯醇(PVA),北京太和科技有限公司产品;羟丙甲基纤维素(HPMC),湖州展望天明药业有限公司产品;EC,昆山市年沙助剂厂;1,2-丙二醇,分析纯,天津市化学试剂五厂;95%乙醇,分析纯,天津市浮晨化学试剂厂产品;蒸馏水。

1.2 仪器

BP210S 电子分析天平, Sartorius 产品;电热恒温水浴锅,天津天宇机电有限公司实验仪器冻干设备分公司生产;RYJ-6A 型药物透皮扩散试验仪,上海黄海药检仪器厂产品;KQ-100B 型超声波清洗器,昆明市超声仪器有限公司产品。

2 方法

2.1 复合膜剂的制备

取各处方量的、已用 85%乙醇处理过的 PVA,加入 100 mL 蒸馏水浸泡 12 h,使其充分溶胀备用。再取各处方量的 HPMC,加入适量蒸馏水(1 g HPMC:20 mL 蒸馏水),使其均匀散布并溶胀,静置至完全澄清。将溶胀完全的 PVA 置于 85~95℃水浴中加热至澄清,将泡胀好的 HPMC 置于同温度水浴中加热至出现浑浊。将上述两种成膜材料混匀并继续加热约 0.5 h,直至全部溶解完全停止加热,冷却至 30~40℃待完全澄清。预先将甘草锌原料药过 200 目筛,于电子分析天平上精密称取处方量,另精密称取处方量的氨来咕诺^[3-5],将二药同时置于研钵中研细,再分别加入各个处方量的丙二醇,研匀,使药物潜溶在丙二醇中。最后,将制备好的含药

丙二醇液与冷却至室温的成膜材料混合,搅匀,脱气。而后采用流涎法,在已涂有一薄层液体石蜡的玻璃板上制模,自然晾干;待膜干后,刷上一层 2.5% EC 乙醇液,作为不溶性膜。最后,待 EC 层干后起膜,包装,冰箱冷藏^[6]。

2.2 膜剂处方的设计

采用均匀设计法,根据膜剂制备的相关文献报道,确定下列因素及考察范围:A,PVA 的用量 2.5~6.5 g;B,HPMC 的用量 0.1~0.9 g;C,丙二醇的用量 6.0~10.0 mL。将各因素等分 9 水平列于表 1 内;选择表 $U_9(9^3)$,按其应用表规定,选择 1,3,5 三列组成 $U_9(9^3)$ 表,见表 1。

表 1 均匀设计表 $U_9(9^3)$

试验号	因素		
	A/g	B/g	C/g
1	2.5	0.1	6.0
2	3.0	0.2	6.5
3	3.5	0.3	7.0
4	4.0	0.4	7.5
5	4.5	0.5	8.0
6	5.0	0.6	8.5
7	5.5	0.7	9.0
8	6.0	0.8	9.5
9	6.5	0.9	10.0

2.3 处方的考察

5 名健康志愿者以膜的柔软性(考察脱膜的难易,越容易分数越高)、均匀性(膜的整体薄厚是否一致)、光滑性(有无小疙瘩)、透明性为考察指标,以 100 分制对上述指标进行打分,每个因素最高分为 25.0 分,取 5 名健康志愿者对每项考察指标的平均值,以及每个试验号 4 个考察指标的总平均值。结果见表 2。

表 2 试验因素对照及考察项目评分情况

试验号	1(A)	3(B)	5(C)	柔软性	均匀性	光滑性	透明性	总平值/y
1	1(2.5)	4(0.4)	7(9.0)	23.0	19.4	21.4	20.6	84.4
2	2(3.0)	8(0.8)	5(8.0)	23.8	21.4	23.0	21.0	89.2
3	3(3.5)	3(0.3)	3(7.0)	21.0	20.0	23.0	21.6	85.6
4	4(4.0)	7(0.7)	1(6.0)	20.6	13.0	16.8	20.2	70.6
5	5(4.5)	2(0.2)	8(9.5)	22.6	18.2	20.4	20.2	81.4
6	6(5.0)	6(0.6)	6(8.5)	20.6	20.6	21.6	20.0	82.8
7	7(5.5)	1(0.1)	4(7.5)	23.0	20.0	23.0	23.6	89.6
8	8(6.0)	5(0.5)	2(6.5)	22.8	21.8	22.0	22.2	88.8
9	9(6.5)	9(0.9)	9(10.0)	21.0	15.4	19.4	18.4	74.2

2.4 透皮实验

选择昆明种小鼠[体质量(25±2.0)g,军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(军)

2002-001]的背部皮肤作为体外透皮试验材料。将小鼠处死并取下背皮肤,用电推把小鼠的背部毛清理干净,按照扩散池的大小将皮肤剪成圆形,并用镊

子除去皮下脂肪,再将其用生理盐水于4℃浸泡过夜后,用生理盐水冲洗至冲洗液澄清,即可用于试验。选用pH=6.8的磷酸盐缓冲溶液作为释放介质,以高效液相色谱(HPLC)法对皮中的药物浓度进行测定。色谱条件:色谱柱为Kromasil-C₁₈(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1);检测波长250 nm;体积流量为0.8 mL/min;进样量为20 μL;柱温为室温^[7]。

经HPLC法测定接收液,发现其中的甘草锌与氨来咕诺的量微乎其微。将经过0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 透皮试验的小鼠皮肤相对于扩散面积的部分剪下,称质量后再用磷酸盐缓冲液清洗于净,而后用适量的NaOH 0.05 mol/L 溶液将其溶解,于超声清洗器上超声0.5 h 左右,再用适量的流动相甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1)将其稀释,经过微孔滤膜滤过后,于HPLC上进样20 μL,记录峰面积值。计算出两种药物在小鼠皮内的累积滞留浓度,进而计算出药物在皮内的累积滞留量(μg/g),即每克皮肤的含药量。由于皮肤的厚度和质量会对药物在皮内的滞留量产生影响,所以要尽量保证不同批次皮肤的一致性。

3 结果

3.1 DPS 统计软件处理结果

经DPS软件处理数据,得出二次多项式的逐步回归结果: $Y = 4.705\ 602\ 97 + 1.973\ 157\ 431\ 9 X_1 - 3.692\ 256\ 476 X_2 - 3.983\ 588\ 419 X_2^2 - 1.506\ 355\ 733\ 8 X_1 X_2 - 0.155\ 668\ 445\ 41 X_1 X_3 + 1.707\ 734\ 649\ 2 X_2 X_3$ 。调整后的相关系数(R_a)=0.753 3; $F=2.749\ 5$; $P=0.290\ 6$;Durbin-Watson 统计量 $d=2.620\ 601\ 04$ 。

3.2 口腔复合膜处方的筛选结果

以膜的柔软性、均匀性、光滑性、透明性为考察指标,对9种处方的空白膜进行打分,对同样的试验结果采用了不同的函数模型进行回归处理,分别得到不同的回归函数。通过对照分析,只有逐步回归的二次多项式模型是最恰当的回归函数模型。对于上述的二次多项式逐步回归函数,DPS软件给出Y值最大时各个因素在各自水平范围区间内的最优值点以及对应的最大Y值,即 $Y=11.069\ 5$ 、 $X_1=6.5$ 、 $X_2=0.1$ 、 $X_3=6.0$ 。

综上所述,得到最佳成膜材料处方为:PVA 6.5 g,

HPMC 0.1 g,丙二醇 6.0 g。

3.3 透皮实验结果

分别用甘草锌和氨来咕诺的累计渗透量(Q)对时间进行线性回归,所得方程即为Higuchi方程,所得斜率分别为甘草锌和氨来咕诺的透皮速率常数(J)。经计算得出甘草锌在前2 h 的透入皮内速率为 $2.49\ \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,氨来咕诺透入皮内速率为 $0.10\ \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。甘草锌和氨来咕诺的累计滞留曲线分别见图3、4。

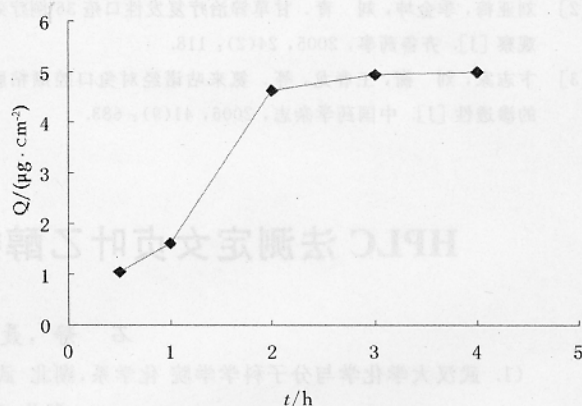


图3 甘草锌的皮内累积滞留曲线

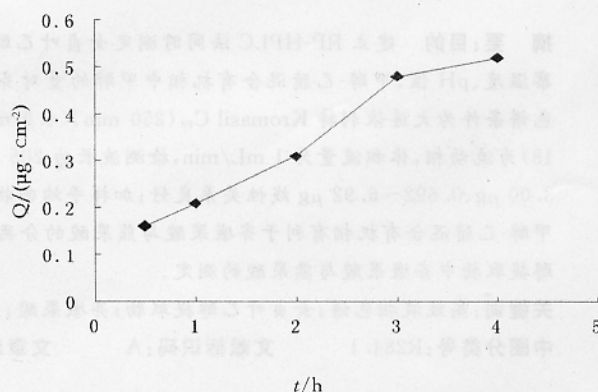


图4 氨来咕诺的皮内累积滞留曲线

4 讨论

采用均匀设计法进行实验,筛选出优化处方,与正交试验比较,可节省大量实验,简便、快速且有效。就成膜性而言,PVA是众所周知的最好的成膜材料,HPMC在本处方中起到了膜控释骨架结构的作用。随着PVA比例的增高,膜的柔韧性也增强,但是膜溶解的时间也随之延长;加入适量丙二醇,可使药物的释放加快,因此在本处方中,丙二醇不仅起到了潜溶剂、增塑剂的作用,还担当起甘草锌和氨来咕诺促透剂的重任。因此本实验最终得出的最优处方是:PVA 6.5 g、HPMC 0.1 g、丙二醇 6.0 g,符合缓释、安全的要求,可以成为复合膜剂的制备处方。

此外,甘草锌和氨来咕诺均集中在皮肤内部,透过皮肤的药量甚微,随着时间的延长,两药的量呈趋于稳定的状态。这一实验结果提示,甘草锌和氨来咕诺能够很好的透进皮肤,在溃疡表面发挥局部作用,并不需要进入到全身血液中,可以更快、更好地达到促进溃疡面愈合的治疗效果。

参考文献

- [1] 种清云. 中医药治疗口腔溃疡之我见 [J]. 陕西中医函授, 2001, 1(1): 18.
- [2] 刘亚梅, 季金坤, 刘青. 甘草锌治疗复发性口疮 36 例疗效观察 [J]. 齐鲁药事, 2005, 24(2): 118.
- [3] 卞志家, 刘衡, 王春龙, 等. 氨来咕诺经对兔口腔颊粘膜的渗透性 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(9): 683.
- [4] Khandwala A, Richard G. Van Inwegen, et al. 5% Amlexanox oral paste, a new treatment for recurrent minor aphthous ulcers I: Clinical demonstration of acceleration of healing and resolution of pain [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1997, 83(2): 222-230.
- [5] Atul Khandwala, Richard G. Van Inwegen, Martha R. Charney, et al. 5% Amlexanox oral paste, a new treatment for recurrent minor aphthous ulcers II: Pharmacokinetics and demonstration of clinical safety [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1997, 83(2): 231-238.
- [6] 周东新. 口腔缓释粘附膜剂与粘附片剂的比较 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 34-36.
- [7] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 59.

(收稿日期 2009-12-24)

HPLC 法测定女贞叶乙醇提取物中的齐墩果酸与熊果酸

石静¹, 聂晶^{2*}, 冯钰琦¹

(1. 武汉大学化学与分子科学学院 化学系, 湖北 武汉 430072; 2. 湖北省食品药品监督检验研究院 中药室, 湖北 武汉 430064)

摘要:目的 建立 RP-HPLC 法同时测定女贞叶乙醇提取物中齐墩果酸与熊果酸的方法。方法 通过系统地考察温度、pH 值、甲醇-乙腈混有机相中甲醇的量对齐墩果酸、熊果酸保留时间和分离度的影响, 最终确定 HPLC 色谱条件为大连依利特 Kromasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 甲醇-乙腈-10 mmol/L 乙酸铵 (55:27:18) 为流动相, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 205 nm, 柱温 20 ℃。结果 齐墩果酸与熊果酸分别在 0.300~3.00 μg、0.692~6.92 μg 线性关系良好; 加样平均回收率分别为 101.4%、100.2% (n=9)。结论 低温、中性 pH、甲醇-乙腈混有机相有利于齐墩果酸与熊果酸的分离。优化后的色谱方法分离度高, 重现性好, 可用于女贞叶乙醇提取物中齐墩果酸与熊果酸的测定。

关键词: 高效液相色谱; 女贞叶乙醇提取物; 齐墩果酸; 熊果酸

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)03-0210-05

HPLC Determination of oleanolic acid and ursolic acid in ethanol extract of *Ligustrum lucidum* leaves

SHI Jing¹, NIE Jing², FENG Yu-qi¹

(1. College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China;

2. Hubei Institute for Food and Drug Control, Wuhan 430064, China)

Abstract: **Objective** To establish a RP-HPLC method for simultaneous quantitative determination of oleanolic acid and ursolic acid in ethanol extract of *Ligustrum lucidum* Ait. leaves. **Methods** Temperature, pH value and proportion of methanol and acetonitrile in organic phase were systematically studied on the influence of retention and resolution between oleanolic acid and ursolic acid. The optimized chromatographic condition was Kromasil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm); methanol-acetonitrile-10 mmol/L

作者简介 石静 (1984—), 贵州省松桃县人, 硕士研究生, 主要从事中药有效成分提取分离及分析研究。

*** 通讯作者** 聂晶, Tel: 027-87272513, E-mail: niejingwh@sina.com