

正交试验优化尼美舒利乳膏的处方研究

李雅静

天津医科大学肿瘤医院 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市“肿瘤防治”重点实验室, 天津 300060

摘要: 目的 优化尼美舒利乳膏剂的处方。方法 选用 $L_9(3^4)$ 正交设计对尼美舒利乳膏的处方进行优化筛选, 选氮酮、丙二醇和平平加O20为3个影响因素, 每个因素各取3个水平, 用药物透皮扩散试验仪, 以离体小鼠腹部皮肤为屏障, pH 7.4磷酸盐缓冲液为接受介质, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温水浴, 转速 500 r/min, 测定不同处方的渗透速率。结果 氮酮是影响透皮吸收速率的主要因素, 其次是平平加O20。最佳工艺条件是氮酮 3%、丙二醇 15%、平平加O20 1%。从累积渗透量-时间曲线方程可以看出, 透皮吸收符合零级方程。结论 尼美舒利乳膏剂的处方合理, 制备工艺可行。

关键词: 尼美舒利乳膏; 处方优化; 透皮吸收; 正交试验

中图分类号: R944.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)05-0481-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.007

Optimization of prescription of Nimesulide Cream by orthogonal test

LI Ya-jing

Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

Abstracts: **Objective** To optimize the prescription of Nimesulide Cream. **Methods** $L_9(3^4)$ orthogonal design was used to optimize the prescription of Nimesulide Cream. Azone, propylene glycol, and peregol O20 were selected as three factors, and each factor formed three levels. Permeation rates were determined with Franz diffusion device in isolated mouse abdominal skin as a barrier. Phosphate buffer (pH 7.4) was used as acceptable medium in $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ water bath with speed of 500 r/min. **Results** Azone was the main factor affecting the rate of percutaneous absorption, and the following was peregol O20. The optimal conditions were determined by the experimental data, such as 3% azone, 15% propylene glycol, and 1% peregol O20. It could be conclude from the cumulative permeation quantity - time curve that transdermal absorption accorded with Zero order equation. **Conclusion** The prescription of Nimesulide Cream is reasonable, and the preparation technology is feasible.

Key words: Nimesulide Cream; prescription optimization; transdermal absorption; orthogonal test

尼美舒利是一种具有抗炎、退热和镇痛作用的非甾体抗炎药, 能高度选择性抑制环氧化酶-2 (COX-2) 活性, 对类风湿关节炎、骨关节炎等节性性疾病疗效明显。国内已有普通片、分散片、咀嚼片、颗粒剂、缓释片、缓释胶囊、肠溶胶囊等剂型。近年来关于尼美舒利具有肝脏毒性的报道越来越多, 查阅相关文献尼美舒利出现了外用制剂如凝胶剂、透明质酸凝胶等^[1-3], 目的就是通过改变剂型及局部给药以发挥尼美舒利局部抗炎作用, 而避免其副作用。本实验对尼美舒利乳膏的处方设计进行了研究。

1 仪器与试药

日本岛津 LC—10A 高效液相色谱仪, 配有 LC—10Atvp 高压输液泵、SPD—10Avp 紫外检测器、Anastar 色谱工作站); RYJ—6A 型药物透皮扩散试验仪 (上海黄海药检仪器厂)。

尼美舒利原料 (天津药物研究院提供, 质量分数为 99.0%, 批号 0408082), 尼美舒利对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 100555-200501)。基质辅料均为药用规格, 由天津医科大学药学院提供。乙醇、甲醇均为色谱纯, 纯化水 (自制)。

健康雄性小鼠由北京维通利华实验动物技术有

收稿日期: 2013-11-28

作者简介: 李雅静 (1981—), 女, 天津人, 主管药师, 硕士, 研究方向为医院药学。Tel: (022)23340123 E-mail: liyajing919@163.com

限公司提供,动物合格证号 SCXK(京)2007-0002。

2 方法与结果

2.1 制备方法

取尼美舒利原料药 25 g,置 20 mL 乙醇中溶解。取单硬脂酸甘油酯 20 g,十八醇 30 g,液体石蜡 40 g,氮酮 5 g 加热至 80 ℃至熔融作为油相,取丙二醇 25 g,平平加 O20 10 g,尼泊金乙酯 1 g,纯化水 300 mL 加热至 80 ℃后加入尼美舒利乙醇液作为水相,在不断搅拌下将油相倒入水相,搅拌至室温,即得成膏。

2.2 尼美舒利的 HPLC 法测定^[1]

2.2.1 色谱条件 DiamonsiL C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(70:30);体积流量:1 mL/min;检测波长:298 nm;进样量:20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取尼美舒利对照品 25 mg,置 50 mL 量瓶,用甲醇溶解并加 0.1 mol/L 盐酸 3 mL,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密量取储备液 2 mL,置 50 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取尼美舒利乳膏 0.4 g,加甲醇 30 mL、0.1 mol/L 盐酸 3 mL,水浴加热至乳膏全部融化,转移至 50 mL 量瓶,冰浴 15 min,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过。取续滤液 2 mL,置 50 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 空白溶液的制备 称取空白基质 0.4 g,按“供试品溶液的制备”项下方法操作,即得。

2.2.5 标准曲线的制备 精密量取尼美舒利对照品储备溶液 0.5、1、1.5、2、2.5、3 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸 3 mL,用甲醇稀释至刻度,摇匀。按以上色谱条件各进样 20 μL 测定,记录色谱图。以峰面积积分值为纵坐标,质量浓度为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $A=29\,887\,C-8\,402.9$, $r=0.999\,9$ 。结果表明尼美舒利在 5~35 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.2.6 样品测定 取 3 批样品分别制备供试品溶液,进样测定,外标法计算,结果 3 批尼美舒利乳膏中尼美舒利的质量分数分别为 99.6%、99.9%、99.7%,RSD 值分别为 1.2%、1.0%、1.1%。

2.3 处方优化

2.3.1 因素水平的确定 根据以往实验结果并考虑提高透皮吸收速率,试验选择氮酮、丙二醇和平平

加 O20 为 3 个影响因素,每个因素各取 3 个水平,见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素		
	氮酮/%	丙二醇/%	平平加 O20/%
1	1	5	0.5
2	3	10	1.0
3	3	15	1.5

2.3.2 透皮试验 取健康雄性 18~24 g 小鼠处死后,用刀片剃去腹毛,取完整腹部皮肤,去除皮下脂肪组织,蒸馏水洗净,置 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中浸泡 30 min 后,取出用 pH 7.4 磷酸盐缓冲液漂洗至洗液澄明,用滤纸吸干,备用。药物透皮扩散试验仪扩散池中暴露皮肤面积为 2.8 cm²,接收室容积为 6.5 mL。取处理好的鼠皮置于扩散池中,角质层向上。取尼美舒利乳膏药膏 0.4 g 均匀涂于皮肤表面,向接收室中加入 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 6.5 mL,置 (37±1)℃ 恒温水浴中,转速 500 r/min。分别于 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8 h 取出 3 mL 溶液,并注入等量新液,滤过,在 298 nm 下测定。计算不同时间的累积渗透量。以累积渗透量对时间作图,所得曲线的直线部分进行回归,求算药物的渗透速率,即单位时间内药物渗透单位面积的渗透量。采用 Excel 软件对数据进行处理,见表 2。从累积渗透量-时间曲线方程可以看出,透皮吸收符合零级方程。

$$Q_t = C_i V + \sum_{i=1}^{t-1} C_{i-1} V_i$$

Q_t 为累积渗透量, V 为扩散池体积, V_i 为每次取样体积, C_i 为第 i 次取样时接收液中的药物质量浓度

2.3.3 正交试验设计与结果 选用 L₉(3⁴) 正交设计表进行试验,结果见表 3。方差分析结果见表 4。

3 个因素的极差比较: A>C>B, 即因素 A 是影响透皮吸收速率的主要因素,其次是 C。由以上数据确定最佳工艺条件是 A₂C₂B₃, 即氮酮 3%、丙二醇 15%、平平加 O20 1%。

2.4 验证试验

用正交设计优化出的最佳处方制备 3 批尼美舒利乳膏,计算不同时间的累积渗透量。以时间为横坐标,累积渗透量为纵坐标作图,对曲线进行直线回归,计算渗透速率,结果见表 5。

表 2 不同处方的渗透速率

Table 2 Penetration rates of different prescriptions

处 方	回归方程	<i>R</i>	渗透速率
1	$Q=236.09 t-33.67$	0.999 9	236.09 ± 21.48
2	$Q=274.15 t-54.22$	0.998 1	274.15 ± 17.84
3	$Q=218.54 t-37.16$	0.999 6	218.54 ± 30.52
4	$Q=482.90 t-56.18$	0.999 1	482.90 ± 25.43
5	$Q=296.39 t-41.37$	0.999 0	296.39 ± 22.32
6	$Q=426.37 t-50.85$	0.999 5	426.37 ± 21.27
7	$Q=291.41 t-36.02$	0.999 5	291.41 ± 39.93
8	$Q=292.66 t-45.47$	0.999 9	292.66 ± 36.71
9	$Q=366.77 t-26.89$	0.998 0	366.77 ± 42.87

表 3 正交设计试验结果

Table 3 Results of orthogonal design

试验号	A	B	C	D (空白)	渗透速率
1	1	1	1	1	236.09
2	1	2	2	2	274.15
3	1	3	3	3	218.54
4	2	1	2	3	482.90
5	2	2	3	1	296.39
6	2	3	1	2	426.37
7	3	1	3	2	291.41
8	3	2	1	3	292.66
9	3	3	2	1	366.77
K_1	728.78	1 010.40	955.12	899.25	
K_2	1 205.66	863.20	1 123.82	991.93	
K_3	950.84	1 011.68	806.34	994.10	
k_1	242.93	336.80	318.37	299.75	
k_2	401.89	287.73	374.61	330.64	
k_3	316.95	337.23	268.78	331.37	
R	158.96	49.49	105.83	31.62	

表 4 方差分析

Table 4 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	方 差	<i>F</i> 值
A	37 962	2	18 981	19.42
B	4 857	2	2 429	2.49
C	16 821	2	8 410	8.61
D (误差)	1 954.5	2	977.3	

表5 验证试验结果

Table 5 Results of verified test

批号	回归方程	R^2	R	渗透速率
1	$Q=448.23 t+20.12$	0.975 1	0.987 5	448.23 ± 18.13
2	$Q=404.81 t-40.91$	0.981 3	0.990 6	404.81 ± 27.96
3	$Q=412.06 t-20.93$	0.983 3	0.991 6	412.06 ± 21.12

3 讨论

尼美舒利制成乳膏剂给药可减少胃肠道不良反应,产生局部抗炎作用。制剂中加入氮酮促进透皮吸收。

采用药物透皮扩散试验仪,离体鼠皮为透皮屏障,离体鼠皮的制备是关键,剃毛时应用力均匀,避免皮肤破损和损伤角质层,还应除去皮下脂肪层等,以消除鼠皮生理成分对测定的影响,剥离好的皮肤应用蒸馏水和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液冲洗干净,在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中平衡 1 h 后备用,并且要及时使用,防止皮肤变性,影响透皮效果。根据文献常用接受介质有生理盐水、pH 7.4 磷酸盐缓冲液等。在本实验中,选用生理盐水,溶液的稳定性差。因此选用 pH 7.4 磷酸盐缓冲液,溶液稳定性良好。

参考文献

- [1] 张惠,李雅静,项振铃. 尼美舒利乳膏的制备与质量研究 [J]. 天津药学, 2008, 20(1): 16-17.
- [2] 梁金英,朱茉莉,赵繁荣. 尼美舒利亲水凝胶骨架缓释片的制备及体外释放 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(17): 1476.
- [3] 梁金英,卢光洲,赵繁荣. 尼美舒利缓释片处方优化研究 [J]. 中国药房, 2011, 22(9): 823-825.
- [4] 朱如彩,周作的. 不同氮酮用量对复方苦参凝胶中苦参碱体外经皮渗透的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(11): 39-40.
- [5] 杨丽英,朱海虹,丁平田,等. 渗透促进剂对美洛昔康经皮渗透的促进作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(12): 745-748.
- [6] 潘林梅,沈静,郭立玮. 不同透皮促进剂对复方麻黄贴剂中麻黄碱透皮吸收的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(4): 286-287.