

前景。

马蔺子甲素原料及其对照品均由天津市医药科学研究所李德华研究员提供。

References:

[1] Li D H, Hao X G, Zhang S K, et al. Antitumor action and toxicity of 6-methoxy-2-delta 10'-cis-heptadecenyl-1,4-benzoquinone (irisquinone) [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1981, 2(2): 131-134.

[2] Zhang L, Mao Z D, Zhang E P, et al. Clinical study on the radiosensitive effect of irisquinones (IQ7611) [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 1999, 18(1): 52-55.

[3] Ma P L, Chen R Z. Spectrometric measurement of methyl-irisquinone emulsion [J]. *Chin Med Ind J* (中国医药工业杂志), 1994, 25(2): 72-74.

[4] Zhang X N, Yan X Y, Tang L H, et al. Optimize the preparation techniques of irisquinone-HP-β-CD inclusion complex with orthogonal design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(9): 695-698.

[5] Hou X B. *Physical Chemistry* (物理化学) [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

[6] Zhang X N, Miao A D, Zhou H, et al. Studies on the physico-chemical properties and inclusion effect [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2001, 36(11): 742-745.

均匀设计法优选痹痛宁贴剂的处方基质配比

刘继勇¹, 顾清², 胡晋红¹, 田景振^{3*}

(1. 第二军医大学长海医院 药理学部, 上海 200433; 2. 济南市槐荫人民医院, 山东 济南 250021; 3. 山东中医药大学, 山东 济南 250014)

摘要:目的 优选痹痛宁贴剂的处方基质配比, 对其体外透皮吸收行为进行考察。方法 采用 $U_6(6^6)$ 均匀设计安排试验, 利用改良 Franz 扩散池进行离体皮肤体外渗透实验。以东莨菪碱和乌头碱 24 h 累积渗透量为指标优选处方配比。结果 基质比例分别为 PVA 11.02%、PVP 29.93%、甘油 7.42%、氮酮 4.95%、丙二醇 11.06%, 贴剂具有最大的累积释药量, 释药曲线符合 Higuchi 方程。结论 采用均匀设计法优选的配方组成符合骨架控释型透皮给药系统的要求。

关键词:痹痛宁贴剂; 均匀设计; 东莨菪碱; 乌头碱; HPCE

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**B **文章编号:**0253-2670(2005)02-0202-04

Optimization for formulation matrix proportion of Bitongning Patch by uniform design

LIU Ji-yong¹, GU Qing², HU Jin-hong¹, TIAN Jing-zhen³

(1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Huai-yin People's Hospital of Jinan City, Jinan 250021, China; 3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

Abstract; Objective To optimize the prescription matrix proportion of Bitongning Patch and observe its percutaneous absorption *in vitro*. **Methods** $U_6(6^6)$ Uniform design was performed to investigate the influence of scopolamine and aconitine in the proportion for 24 h cumulative permeation *in vitro*. The drug permeation behavior through excised mouse skin was studied with improved Franz diffusion cell. **Results** With the matrix ratio for PVA: 11.02%, PVP: 29.93%, glycerol: 7.42%, azone: 4.95%, and propanediol: 11.06%, respectively, the Patch had the maximal cumulative permeation amount and cumulative permeation curve coincided with the Higuchi Equation. **Conclusion** The prescription composition optimized by uniform design meets the requirement of skeleton-controlled transdermal delivery system.

Key words: Bitongning Patch; uniform design; scopolamine; aconitine; HPCE

痹痛宁贴剂是在中医验方的基础上, 采用现代制剂技术研制开发的骨架控释型透皮给药制剂。透

皮给药系统 (transdermal drug delivery systems, TDDS, 或 transdermal therapeutic systems, TTS)

收稿日期: 2004-04-27

作者简介: 刘继勇 (1976—), 男, 山东济南人, 博士研究生, 从事中药新药开发及皮肤药理学研究。

Tel: (021) 25070674 E-mail: jiyong_liu@citiz.net

* 通讯作者 Tel: (0531) 2613129 Fax: (0531) 2613428

可以避免肝脏的“首过效应”和胃肠道的破坏,提供可预定的和较长的作用时间,降低药物毒性和不良反应,维持稳定、持久的血药浓度,提高疗效,减少给药次数,并且给药方便^[1]。为将痹痛宁贴剂研制成多聚物骨架型透皮给药系统,在贴剂物理性状稳定的前提下,本实验采用均匀设计法对配方组成进行了优选,并考察了其体外透皮释药行为,为该制剂的进一步研究提供依据。

1 仪器与试剂

501 型超级恒温水浴(上海实验仪器总厂); 79—2 型磁力搅拌器(深圳市沙头角国华仪器厂); HP^{3D}CE 毛细管电泳仪; 二级管阵列检测器(美国惠普公司); BS—110S 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司); 万能粉碎机(黄骅市卸甲综合电器厂); 改良 Franz 扩散池(自制)。

洋金花、生川乌、人工麝香、樟脑均符合《中华人民共和国药典》2000 年版标准; 聚乙烯醇 1750±50 (PVA), 中国医药集团上海化学试剂公司, 批号: F20000330; 聚乙烯吡咯烷酮(PVP), 中国医药集团上海化学试剂公司, 批号: F990412; 氮酮(Azone), 浦和浦西化工厂; 丙二醇, 山东省化工研究院; 甘油, 山东省化工研究院; 聚丙烯酸树脂压敏胶(药用), 广州市化学工业研究所; 乌头碱、氢溴酸东莨菪碱对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号分别为 0720-9807、0049-9507, 其他试剂均为分析纯。

昆明种小鼠(医动字 02-25-1), 由第二军医大学实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 贴剂的处方组成与制备工艺: 处方由洋金花、生川乌、人工麝香、樟脑、PVA、PVP、氮酮、1,2-丙二醇、甘油、压敏胶组成。取 PVA 加入 85% 乙醇浸泡过夜, 滤过, 沥干, 重复 1 次, 倾出乙醇, 将 PVA 于 60℃ 烘干, 粉碎, 备用。精密称取处方量的 PVP、PVA 分别加水溶胀, 水浴溶解, 混合。另加入处方量的甘油、丙二醇、氮酮、压敏胶, 搅拌均匀。洋金花浸膏粉、川乌浸膏粉(70% 酸性乙醇 pH 3 渗漉提取, 提取液减压回收乙醇, 氨水碱化析碱, 氯仿萃取, 萃取液回收氯仿, 60℃ 减压干燥)、樟脑以 70% 乙醇溶解, 人工麝香以乙醚溶解后与上述基质混合均匀, 以流涎工艺在平板玻璃上铺膜, 自然晾干, 切割成 3 cm×3 cm 的贴剂。贴剂最下层用铝塑合膜作为背衬层, 第二层为药物骨架薄片, 第三层为胶粘层, 第四层为防粘纸作为保护层。

2.2 贴剂基质的处方优选方案^[2]: 根据贴剂的处方

组成, 参考预试验结果, 以 PVA、PVP、甘油、压敏胶、氮酮、丙二醇 6 种基质为因素, 对其基质配比进行优选。因素水平见表 1。选用 U₆(6⁶) 均匀设计安排实验, 实验方案见表 2。

表 1 均匀设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of uniform design

水平	因素					
	PVA (X1)	PVP (X2)	甘油 (X3)	压敏胶 (X4)	氮酮 (X5)	丙二醇 (X6)
1	2.5	5	2	0	0	0
2	5	10	4	2	1	3
3	7.5	15	6	4	2	6
4	10	20	8	6	3	9
5	12.5	25	10	8	4	12
6	15	30	12	10	5	15

表 2 U₆(6⁶) 均匀设计方案

Table 2 Scheme of U₆(6⁶) uniform design

处方号	X1/%	X2/%	X3/%	X4/%	X5/%	X6/%
1	2.5	15	4	10	3	12
2	5	30	8	8	0	6
3	7.5	10	12	6	4	0
4	10	25	2	4	1	15
5	12.5	5	6	2	5	9
6	15	20	10	0	2	3

固定每贴贴剂质量为 6 g, 按上表方案安排实验, 制成不同配比的贴剂, 进行透皮释药实验, 分别测定东莨菪碱(Y₁)与乌头碱(Y₂)的累积渗透量, 进行归一化处理, 做为测评值(Y)。

2.3 贴剂的体外透皮释药试验^[3,4]

2.3.1 离体鼠皮的制备: 选择 20 g 左右的小鼠, 以 8% Na₂S 溶液脱去背部毛, 温水洗净, 静养 24 h 后, 处死, 取下背部皮肤, 去除皮下脂肪及筋膜、血管, 生理盐水洗净, 置于冰箱中 4℃ 冷藏备用。

2.3.2 扩散装置与介质: 采用改良 Franz 扩散池。扩散池接收室中央部直径为 2 cm, 面积 3.14 cm², 接收室容积为 11.0 mL。扩散介质为含有 30% 无水乙醇的生理盐水。东莨菪碱、乌头碱在此介质中溶解性能较好。

2.3.3 贴剂的体外透皮实验: 取出备用鼠皮, 将皮肤固定于改良 Franz 扩散池上, 使角质层面向上, 将贴剂贴于鼠皮上, 接收室加满扩散介质, 夹层以 37℃ 水浴保温, 磁力搅拌子以 100 r/min 的速度搅拌, 分别于 1、2、4、6、8、12、16、24 h 取出接收室中全部接收液, 立即补加等量的新鲜扩散介质。接收液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 收集续滤液 1 mL, 进样测定。再按下列公式计算累积渗透量:

$$Q = C_n V / A, C_n = C_1 + C_2 + \dots + C_i$$

式中 Q 为累积渗透量, A 为接收池面积, V 为接收室体积,

$j=1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24$

2.4 东莨菪碱、乌头碱和 HPCE 测定^[5]

2.4.1 色谱条件:未涂层石英毛细管(50 $\mu\text{m} \times 32$ cm,有效长度 23.5 cm),运行缓冲液为 50 mmol/L pH 6.0 磷酸盐缓冲液(含 20%无水乙醇),操作温度 30 $^{\circ}\text{C}$,分离电压 8 kV,检测波长 200 nm,压力进样(2 kPa \times 5 s),每次进样前依次用 0.1 mol/L NaOH 冲洗柱 1 min,二次蒸馏水冲洗 1 min,缓冲液冲洗 2 min。在此分离条件下,东莨菪碱的出峰时间约为 4.8 min,乌头碱的出峰时间约为 5.5 min。

2.4.2 线性关系的考察:东莨菪碱在 9.12~114 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积呈线性关系,回归方程为 $Y = 0.6505 + 1.1964X$, $r = 0.9995$ 。乌头碱在 4.96~49.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积呈线性关系,回归方程为 $Y = 1.2478X - 0.02439$, $r = 0.9997$ 。

2.4.3 精密度试验:分别配制低、中、高 3 个浓度的东莨菪碱、乌头碱对照品溶液,分别在 1 d 内测定 5 次及每天测定 1 次,连续 5 d,计算日内精密度及日间精密度。东莨菪碱的 RSD 分别为 0.61%、1.32%,乌头碱的 RSD 分别为 1.05%、2.41%。

2.4.4 加样回收试验:分别向已知含量的样品液中加入一定量东莨菪碱对照品溶液和乌头碱对照品溶液,测定峰面积,利用标准曲线计算含量,计算回收率。东莨菪碱的回收率为 98.4%,乌头碱的回收率为 96.6%,RSD 值分别为 1.61%、1.17%。

2.4.5 样品测定:每隔一定时间取出全部接收液,按 2.3.3 项下方法处理,进行测定,计算结果。

2.5 实验结果的优化处理:分别以东莨菪碱(Y_1)与乌头碱(Y_2)的 24 h 累积渗透量 Q 为指标,根据多目标规划基本原理,采用各类数据均值共约的方法计算加权系数,对各指标值进行归一化处理,即 $Y = Y_1 + 6Y_2$ 做为测评值,结果见表 3。

表 3 均匀设计的指标测评及归一化处理

Table 3 Uniform design index and normalization result

处方号	东莨菪碱(Y_1) /($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$)	乌头碱(Y_2) /($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$)	$Y = Y_1 + 6Y_2$
1	2.586 9	0.439 6	5.224 5
2	1.742 2	0.208 8	2.995 0
3	2.116 5	0.400 9	4.521 9
4	1.882 0	0.445 2	4.553 2
5	1.969 0	0.367 6	4.174 6
6	2.885 9	0.482 9	5.783 3
X	2.197 1	0.390 8	

将实验方案及目标值数据输入计算机,采用沈阳药科大学编写的均匀设计软件对结果进行分析;采用二次多项式逐步回归(门限值、剔除值均为

0.1),得回归方程 $Y = 2.47474 + 0.003764076 X_1 X_3 + 0.06868065 X_2 X_5 - 0.04318262 X_4 X_5 + 0.007680478 X_4 X_6$, $r = 0.9999$ 。将回归方程输入计算机,采用 JYSYSJ 软件的数据优化模块处理,结果见表 4。

表 4 GLP 优选结果(计算次数 51 097 次)

Table 4 GLP optimization calculation (51 097 times)

因素	水平/%
X1	11.02
X2	29.93
X3	7.42
X4	0.02
X5	4.95
X6	11.06

综合函数优化结果,确定贴剂基质配比为 PVA 11.02%、PVP 29.93%、甘油 7.42%、氮酮 4.95%、丙二醇 11.06%。由回归方程可知,压敏胶对累积渗透量为负性因素,且函数优化结果显示,其最优比例仅为 0.02%,故将其作为胶粘剂层涂布在药物骨架薄片周围。

验证试验表明采用均匀设计法优选出的处方结果可靠,贴剂的 24 h 累积渗透量及渗透速率均优于实验设计中的各处方,重现性较好。其体外累积释放量与 $t_{1/2}$ 成正比,符合骨架型结构的 Higuchi 方程扩散模式,表明痹痛宁贴剂为骨架控释型透皮给药系统。

3 讨论

3.1 TDDS 系统的处方组成要求严格。PVA、PVP 均为高分子化合物,通过分子间的氢键形成交联网状结构,作为贴剂的骨架材料,起到控制药物释放的作用。甘油作为保湿剂和增塑剂。Azone 是一种非离子表面活性剂,无毒,无刺激性,高效,它能促进大多数疏水性和亲水性化合物的透皮吸收,因而更适合有效成分多而复杂的中药制剂。氮酮常用的质量浓度为 0.1%~5%,本实验筛选的最佳质量浓度为 4.95%,由均匀设计优化回归方程可知,氮酮为负性因素,说明氮酮对本制剂的促透作用与其质量浓度不完全为剂量依赖性。丙二醇单独应用促透作用不强,但与氮酮合用,一方面可以促进其在角质层的转运和分配,另一方面可以提高自身脂质双分子间水性区的增溶能力,使氮酮更易插到水性区,从而大大提高促透作用。本研究的结果与此吻合。

3.2 生物碱类药物的碱性强,极性大,采用 HPLC 分析时,往往被色谱柱吸附太强,造成峰形不好,易拖尾。虽然可通过改善流动相介质取得一定效果,但常用的离子对试剂对色谱柱污染极大,且分析周期

长,不适合大量样品的检测。本研究采用高效毛细管电泳法(HPCE)测定透皮吸收接收液中两种生物碱的含量,具有分离效果好,可不经富集直接检测,操作简便快速的优点。

References:

- [1] Wang C X, Liu Y L. New development of transdermal drug delivery system [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37 (12):999.
- [2] Gao P, An N F, Zhao M H, et al. Application of uniform-design method used to select best proportion of ingredients in Danxintong [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34

(2): 123.

- [3] Xu Y A, Ge Y R, Wang Y J, et al. Determination of *in vitro* percutaneous rate and *in vitro* of release of compound patch of hyperosteoegeny [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(4): 237-240.
- [4] Zhou J P, Zhong M, Huang J H. Study on transdermal therapeutic system for Nimodipine [J]. *J China J Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2000, 31(5): 348-351.
- [5] Li S X, Wang S Q. Determination of alkaloids in *Radix Sophorae Flavescens* by high performance capillary electrophoresis [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(2): 100-102.

丹参酚酸 B 在水溶液中的稳定性研究

岳喜典^{1,2}, 曲桂武², 李桂生^{2,3}, 臧玉红⁴, 池振明¹

(1. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264005; 3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003; 4. 河北承德石油高等专科学校 化工系, 河北 承德 067000)

摘要:目的 考察不同因素对水溶液中丹参酚酸 B 稳定性的影响,为丹参酚酸 B 的生产应用提供实验依据。方法 通过正交试验设计,采用 HPLC 法检测溶液中丹参酚酸 B 的含量变化考察丹参酚酸 B 溶液的质量浓度、pH 值、温度和保温时间对丹参酚酸 B 稳定性的影响。结果 丹参酚酸 B 在溶液质量浓度为 1 mg/mL、pH=2、温度为 20 ℃ 和保存时间为 1 d 时最稳定。结论 为保持溶液中丹参酚酸 B 稳定性,应尽可能做到低溶液 pH 值、高丹参酚酸 B 质量浓度、低温,并且要尽量缩短溶液状态的存放时间。

关键词:丹参酚酸 B; 稳定性; 正交试验; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)02-0205-03

Stability of salvianolic acid B in water solution

YUE Xi-dian^{1,2}, QU Gui-wu², LI Gui-sheng^{2,3}, ZANG Yu-hong⁴, CHI Zhen-ming¹

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Yantai 264005, China; 3. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China; 4. Department of Chemical Engineering, Chengde Petroleum Professional College, Chengde 067000, China)

Abstract: Objective To study the effects of different factors on the salvianolic acid B stability in water solution and to provide the experimental data for production and application of salvianolic acid B.

Methods Effects of salvianolic acid B concentration, pH value, temperature, and holding period on salvianolic acid B stability in water solution were studied by the salvianolic acid B changes determined by HPLC in orthogonal design test. **Results** The most stable condition of salvianolic acid B is that the concentration is 1 mg/mL, pH value is 2, the temperature is 20 ℃, and the holding period is one day.

Conclusion Salvianolic acid B should be kept in the conditions of higher concentration, lower pH value, lower temperature, and shorter period in solution to ensure its stability.

Key words: salvianolic acid B; stability; orthogonal design; HPLC

丹参酚酸 B 是传统中药丹参中的主要酚酸类成分,具有显著的抗脂质过氧化、清除自由基和抗血栓作用^[1]。在心脑血管疾病的治疗中有良好的前景,目前国内有多个以丹参酚酸 B 为主要成分的药物

正处于临床前研究阶段,配合这些药物的工业化生产,对其稳定性的考察研究也进一步展开。

本实验通过对传统的丹参提取工艺进行改进,获得了纯度在 90% 以上的丹参酚酸 B 制品,并对水

收稿日期:2004-04-14

作者简介:岳喜典(1977—),男,山东临沂人,2001 年获烟台大学理学学士学位,现为烟台大学海洋生物专业在读硕士研究生。

Tel: (0535) 6717618-8665 E-mail: xidian@luye-pharm.com