

• 药剂与工艺 •

D-最优混料设计优化寒痹舒凝胶膏剂的基质组成及其体外评价

吴东盼^{1,2}, 田雪峰¹, 蔡学军¹, 陈照林¹, 张超¹, 王海洋¹, 马秉智¹, 陆进^{1*}, 吴清^{2*}

1. 中日友好医院 药学部, 北京 100029

2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102

摘要: 目的 优化寒痹舒凝胶膏剂的基质配方并研究其体外释放和透皮吸收行为。方法 采用 D-最优混料设计, 以含药凝胶膏剂的初黏力、持黏力和胶强度 3 个指标对基质组成进行优化, 确定最优基质配方并进行验证试验; 采用改良 Franz 扩散池法, 以蛇床子素为指标进行体外释放和经皮渗透性能的研究。结果 寒痹舒凝胶膏剂的基质配方为 NP700 6.97 g、甘羟铝 0.30 g、酒石酸 0.25 g、甘油 35.00 g、PVP K90 3.87 g、蒸馏水 43.61 g; 寒痹舒流浸膏 10 g。凝胶膏中蛇床子素 24 h 体外释放达到 (63.30±0.05)%, 经皮渗透速率为 0.16 μg/(cm²·h), 24 h 累积渗透量为 (3.61±0.32) μg/cm²。结论 D-最优混料设计优化出的寒痹舒凝胶膏剂具有良好的黏附性和成型性。蛇床子素体外释放符合一级方程模型, 体外透皮符合零级方程模型。

关键词: D-最优混料设计; 寒痹舒凝胶膏剂; 蛇床子素; 体外释放; 透皮吸收

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)10-1445-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.10.008

Matrix formulation of Hanbishu Cataplasma optimized by D-optimal mixture design and research on its *in vitro* evaluation

WU Dong-pan^{1, 2}, TIAN Xue-feng¹, CAI Xue-jun¹, CHEN Zhao-lin¹, ZHANG Chao¹, WANG Hai-yang¹, MA Bing-zhi¹, LU Jin¹, WU Qing²

1. Department of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

2. College of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To optimize the matrix formulation of Hanbishu Cataplasma (HC) and to investigate its release and transdermal absorption properties *in vitro*. **Methods** To optimize the cataplasma with liquid extract by D-optimal mixture design, using initial bonding strength, endurance bonding strength, and gel strength as evaluating indicators, and to validate the optimal formulation. Modified Franz diffusion cells were used to study the *in vitro* release and transdermal absorption of osthole in the HC. **Results** The matrix formulation of HC was as follows: NP700 6.97 g, aluminum glycinate 0.30 g, tartaric acid 0.25 g, glycerin 35.00 g, PVP K90 3.87 g, water 43.61 g, and Hanbishu liquid extract 10 g. Cumulative release rate of osthole in HC was (63.30 ± 0.05)% in 24 h. The percutaneous penetration rate of osthole was 0.16 μg/(cm²·h) and the 24 h permeated amount was (3.61 ± 0.32) μg/cm². **Conclusion** The optimal prescription of HC optimized by D-optimal mixture design has good adhesion and formability. *In vitro* release characteristics of osthole in HC conform to the first dynamical equation, and the transdermal absorption behavior is a zero-order kinetics.

Key words: D-optimal mixture design; Hanbishu Cataplasma; osthole; *in vitro* release; transdermal absorption

寒痹舒凝胶膏剂处方为临床经验方, 由独活、舒筋养血、祛风除湿、通络止痛的功效; 临床采用水煎液熏蒸的方式, 治疗强直性脊柱炎肾虚寒证, 续断、牛膝、威灵仙等中药组成, 具有补益肝肾、

收稿日期: 2015-01-06

作者简介: 吴东盼 (1989—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药新剂型与新技术。E-mail: wudongpan@163.com

*通信作者 陆进, 主任药师, 学士, 研究方向为医院药学。Tel: (010)84205559 E-mail: lujin07091@sina.com

吴清, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: qwu@vip.sina.com

可以有效地缓解患者的晨间僵痛及腰背疼痛^[1]。

中药凝胶膏剂是以亲水性聚合物或亲水性物质为基质，与中药或中药提取物混合后，涂布于布、无纺布上制成的外用制剂^[2]。由于凝胶膏剂基质和结构的特点，使其与传统的经皮给药制剂相比，具有独特的优势^[3]。首先，其基质载药量大，非常适合中药成分复杂、复方给药的用药特点；其次，还具有对皮肤无刺激性、贴敷舒适、可反复揭贴、不污染衣物等优点。

D-最优混料设计法^[4-7]是一种将 *D*-优化设计应用于混料实验中的设计方法，其通过合理地选择少量的试验点，得到试验指标与混料中各成分所占百分比的回归方程，利用回归方程和其图形——响应面给出统计结论；并可通过剔除方程中的非显著项，来提高回归模型的准确度。因此具有实验次数少、信息量充分、预测能力高、多目标同步优化的特点。本实验采用 *D*-最优混料设计法对寒痹舒凝胶膏剂的处方进行优化，以确定最优基质配方，并对其进行体外评价。

1 仪器与材料

1260 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 公司；BSA423S-CW 型电子天平，德国赛多利斯仪器系统有限公司；力新宝 FGP-0.5 数字式测力计、力新宝 FGS-50VB-H 数字式测力仪试验支架，日本电产新宝株式会社；TK-20B 型药物透皮扩散试验仪，上海楷凯科技贸易有限公司；CP-7800 型科德士宠物用电推剪，深圳科德士电器有限公司；万能混合搅拌机，三英制作所；涂布机（自制）。

聚丙烯酸钠 NP700、甘羟铝，美国 ISP 公司；酒石酸、聚乙烯吡咯烷酮 K90（PVP K90），德国 BASF 公司；甘油，浙江遂昌惠康药业有限公司，批号为 20130606；蛇床子素对照品，中国食品药品检定研究院，批号为 110822-200407，质量分数以 100%计；甲醇、乙腈，色谱纯，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；0.01 mol/L 磷酸盐（PBS）缓冲液，北京中枋金桥生物科技有限公司；芊泽-98，Sigma 公司，批号为 WXBB1075V；圆形透析膜片，生工生物工程上海股份有限公司，截留相对分子质量为 3 500，批号为 SP132488；寒痹舒流浸膏（自制）。

雄性 SD 大鼠，约 5 周龄，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，动物许可证号 SCXK（京）2011-0004。

2 方法与结果

2.1 凝胶膏剂的制备

通过预试验，确定凝胶膏剂的制备工艺：取处方量的 NP700、甘羟铝混合均匀，分散于处方量的甘油中，作为 A 相；将 PVP K90、酒石酸共同溶于蒸馏水，作为 B 相^[8]；将 B 相一次性加入 A 相中，快速搅拌，再加入一定量的寒痹舒流浸膏，搅拌均匀后将其涂于无纺布上，放置成型，即得。

2.2 凝胶膏剂的评价指标

2.2.1 初黏力 根据初黏力测试方法中的探子初黏力试验^[9]，取凝胶膏以背衬层固定于洁净的不锈钢板上，测力仪探针以 300 mm/min 的速度下降，与凝胶膏表面接触 3 s 后离开，记录探针离开凝胶膏表面时的最大力，连续测定 3 次，取平均值。

2.2.2 持黏力 参照医用胶带剥离强度的测定标准^[10]，取凝胶膏贴于洁净的不锈钢板上，用 2 kg 的压辊以 600 mm/min 的速度滚压 4 个往返，放置 10 min 后，测力计以 300 mm/min 的速度将其从不锈钢板上拉离并做 180°的折返，记录测力仪显示的读数。连续测定 3 次，取平均值。

2.2.3 胶强度 参考文献的方法^[11]，将刚制备好的凝胶膏装于 50 mL 塑料瓶中，加盖静置 1 周，待其交联完成后，置于测力仪正下方，测力仪探头以 300 mm/min 的速度下降，并深入胶体 15 mm，记录此时测力仪显示的读数，为胶体反抗探头做功的力，即胶强度，反复测定 3 次，取平均值。

2.2.4 综合感官评分 综合感官评分标准^[12-14]：

① 外观性状：膏体颜色均匀、表面平整、无胶团颗粒，满分 10 分。② 反复揭贴性及残留性：取成型凝胶膏剂 3 片，每次取 1 片反复揭开、粘贴于手腕背部，反复 3 次，最后 1 次揭贴后用力甩 10 下不脱落且无膏体残留为满分 10 分。③ 皮肤追随性：手指触摸黏性适中，贴于手腕上，用力甩 10 下不脱落，满分 10 分。④ 涂展性：抛锚性好，易于涂布，且涂布时膏体不断条，满分 10 分。⑤ 渗布程度：肉眼观察凝胶膏涂布一定时间后，有无透布现象，不渗布为满分 10 分。

2.3 单因素试验

采用单因素试验设计，按“2.1”项下方法制备凝胶膏剂，以综合感官评分为考察指标，优选每个因素的最佳用量范围。综合感官评分越高，表明凝胶膏的成型性越好。结果确定各成分的最佳用量范围分别是 NP700 5.0~8.0 g、甘羟铝 0.3~0.4 g、酒

石酸 0.20~0.25 g、PVP K90 3~4 g、甘油 30~35 g。由单因素实验可知，膏体的渗布情况与载药量密切相关，当流浸膏量超过 10 g 时，膏体出现严重渗布，故确定载药量为 10 g。单因素试验设计与结果见表 1。

表 1 单因素试验结果
Table 1 Results of single factor experiments

辅料种类	辅料用量/g	感官指标各项评分					综合感官评分
		外观性状	反复揭贴性及残留性	皮肤追随性	涂展性	渗布程度	
NP700	5	8	10	8	10	10	46
	6	8	10	8	8	10	44
	7	6	10	10	8	10	44
	8	6	10	10	6	10	42
	9	4	8	4	4	10	30
甘羟铝	10	2	6	4	2	10	24
	0.2	8	4	10	10	0	32
	0.3	8	8	10	10	8	44
	0.4	8	8	10	10	10	46
	0.5	4	10	6	4	10	34
酒石酸	0.10	6	4	8	2	0	20
	0.15	8	4	8	6	2	28
	0.20	8	8	10	8	10	44
	0.25	8	10	10	8	10	46
	0.30	8	8	8	8	2	34
PVPK90	2	8	6	4	10	10	38
	3	8	8	8	10	10	44
	4	8	10	10	8	10	46
	5	4	10	10	4	10	38
	甘油	20	4	8	4	4	10
寒痹舒流浸膏	25	6	8	6	4	10	34
	30	8	10	8	8	10	44
	35	8	6	8	10	10	42
	40	8	2	8	10	6	34
	7	6	6	8	6	10	36
甘油	8	8	8	8	6	10	40
	9	8	8	8	8	10	42
	10	8	8	8	10	10	44
	11	8	4	8	10	2	32

2.4 D-最优混料设计^[15]

在应用 D-最优混料设计优化寒痹舒凝胶膏剂的配方前，已采用单因素设计，以综合感官评分为指标，优选出了每个因素的最佳用量范围，且确定了凝胶膏剂中流浸膏量为 10 g，辅料总量为 90 g，辅料用量范围：NP700 (A) 5.00~8.00 g、酒石酸 (B) 0.20~0.25 g、甘羟铝 (C) 0.30~0.40 g、PVP

K90 (D) 3.00~4.00 g、甘油 (E) 30.00~35.00 g、蒸馏水 (F) 42.35~51.50 g。

2.4.1 基质处方优化及模型拟合^[14] 根据实验设计软件 Design-Expert 8.0.6 优化的凝胶膏处方，以及单因素试验筛选出的各辅料范围，以膏体的初黏力、持黏力及胶强度为指标，建立指标与各辅料用量之间的定量数学模型，进行处方的优化。试验设

计及结果见表 2。根据测定结果，分别以膏体的初黏力、持黏力和胶强度为因变量，以辅料 A、B、C、D、E、F 用量为自变量，应用实验设计软件 Design-Expert 8.0.6 进行模型拟合，结果见表 3。

表 2 D-最优混料试验设计及结果

Table 2 Design and results of D-optimal mixture test

编号	A/g	B/g	C/g	D/g	E/g	F/g	初黏力/N	持黏力/N	胶强度/N
1	5.00	0.20	0.30	4.00	35.00	45.50	0.053	0.277	0.397
2	8.00	0.20	0.30	3.00	35.00	43.50	0.093	0.291	1.163
3	5.00	0.25	0.40	3.00	30.00	51.35	0.043	0.200	0.518
4	5.00	0.20	0.40	4.00	30.00	50.40	0.048	0.307	0.543
5	5.00	0.20	0.30	3.00	31.49	50.01	0.047	0.228	0.380
6	8.00	0.20	0.30	4.00	30.00	47.50	0.094	0.403	1.216
7	8.00	0.22	0.35	4.00	32.69	44.74	0.121	0.388	1.365
8	5.00	0.25	0.40	4.00	35.00	45.35	0.065	0.262	0.547
9	5.00	0.20	0.30	3.00	30.00	51.50	0.054	0.203	0.378
10	8.00	0.25	0.40	4.00	30.00	47.35	0.12	0.267	1.732
11	8.00	0.20	0.40	3.00	30.00	48.40	0.093	0.219	1.433
12	5.00	0.20	0.40	3.00	35.00	46.40	0.056	0.154	0.466
13	5.00	0.25	0.40	3.58	33.60	47.18	0.061	0.413	0.523
14	6.42	0.20	0.33	3.41	30.09	49.55	0.072	0.427	0.772
15	8.00	0.25	0.30	3.54	32.65	45.26	0.118	0.446	1.263
16	6.29	0.20	0.33	3.46	31.32	48.40	0.073	0.351	0.736
17	8.00	0.25	0.40	3.00	35.00	43.35	0.112	0.418	1.465
18	7.38	0.25	0.30	4.00	35.00	43.07	0.101	0.455	1.035
19	6.98	0.20	0.40	3.00	34.30	45.12	0.083	0.238	1.040
20	5.00	0.25	0.30	4.00	30.00	50.45	0.064	0.277	0.459
21	5.00	0.25	0.30	3.00	35.00	46.45	0.056	0.266	0.430
22	6.54	0.23	0.30	3.43	30.00	49.51	0.079	0.305	0.820
23	8.00	0.25	0.30	3.00	30.00	48.45	0.117	0.232	1.255
24	6.41	0.20	0.30	4.00	32.87	46.22	0.096	0.406	0.729
25	5.00	0.20	0.40	4.00	30.00	50.40	0.068	0.321	0.543
26	8.00	0.22	0.35	4.00	32.69	44.74	0.126	0.392	1.387
27	5.00	0.25	0.30	3.00	35.00	46.45	0.058	0.292	0.431
28	8.00	0.20	0.40	4.00	35.00	42.40	0.113	0.417	1.374
29	6.48	0.25	0.40	3.00	32.55	47.33	0.077	0.327	0.980
30	8.00	0.25	0.40	4.00	30.00	47.35	0.115	0.310	1.730
31	6.54	0.23	0.30	3.43	30.00	49.51	0.082	0.326	0.816

表 3 回归分析结果

Table 3 Regression analysis

响应值	模型	P	失拟项	复相关系数	调整复相关系数	预测复相关系数
初黏力	线性模型	<0.000 1	0.427 3	0.930 2	0.916 3	0.889 6
持黏力	二次模型	<0.000 1	0.125 4	0.946 4	0.892 7	0.801 0
胶强度	二次模型	<0.000 1	0.254 6	0.999 9	0.999 6	0.998 1

初黏力 = $0.016\ 261\ A - 4.245\ 83 \times 10^{-3}\ C + 0.154\ 77\ B + 9.572\ 99 \times 10^{-3}\ D - 7.281\ 15 \times 10^{-4}\ E - 1.405\ 30 \times 10^{-3}\ F$; 持黏力 = $-0.289\ 52\ A + 0.365\ 13\ C + 5\ 523.625\ 29\ B - 30.220\ 61\ D - 0.254\ 76\ E - 0.027\ 603\ F - 61.850\ 37\ AB + 0.385\ 31\ AD + 0.011\ 627\ AE - 57.952\ 66\ BC - 63.249\ 11\ BD - 61.295\ 28\ BE - 61.800\ 03\ BF + 0.371\ 03\ DE + 0.372\ 30\ DF + 3.692\ 41 \times 10^{-3}\ EF$; 胶强度 = $0.975\ 99\ A + 644.091\ 18\ C - 2\ 045.438\ 18\ B + 2.928\ 24\ D + 0.141\ 64\ E - 0.030\ 411\ F - 6.634\ 58\ AC + 23.316\ 81\ AB - 0.039\ 451\ AD - 0.017\ 201\ AE - 0.011\ 241\ AF + 25.795\ 25\ BC - 6.679\ 97\ CD - 7.374\ 41\ CE - 7.232\ 80\ CF + 23.680\ 12\ BD + 22.654\ 14\ BE + 22.797\ 10\ BF - 0.051\ 438\ DE - 0.033\ 340\ DF$ 。

由表3可知3个指标所拟合的模型均具有高度显著性 ($P < 0.000\ 1$)。复相关系数越接近1,说明模型的预测值与实验值的相关性就越好。此处3个方程的复相关系数分别为0.930 2、0.946 4、0.999 9,表明3个指标的方程拟合度较好。模型失拟项表示

模型预测值与实际值不拟合的概率。表3中3个指标失拟项的 P 值均大于0.100 0,亦表明3个指标的方程对实验结果拟合良好。

2.4.2 优化处方及验证试验 利用软件的最优化功能,以最大初黏力、持黏力及最小胶强度为指标优选处方,得到了5组最优配比,辅料配比及指标预测值见表4。选择其中较优的(期望值最大)第1组,进行3批验证,结果见表5。结果表明处方的初黏力、持黏力和胶强度的实际值均接近预测值,表明 D -最优混料设计可以准确地预测寒痹舒凝胶膏剂的最优配比。因此确定基质的最优配方为寒痹舒流浸膏 10 g、NP700 6.97 g、酒石酸 0.25 g、甘羟铝 0.30 g、PVP K90 3.87 g、甘油 35.00 g、蒸馏水 43.61 g。

2.5 蛇床子素定量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Kromsail C_{18} 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈 (54 : 46); 体积流量 1.0 mL/min; 检测器为二极管阵列检测器; 检测波长 322 nm; 柱温 25 °C; 进样量为 20 μL。

表4 最优处方配比及指标预测值

Table 4 Proportion and index predictive value of optimal prescriptions

编号	NP700/g	甘羟铝/g	酒石酸/g	PVP K90/g	甘油/g	蒸馏水/g	初黏力/N	持黏力/N	胶强度/N	期望值
1	6.97	0.3	0.25	3.87	35	43.61	0.101	0.455	0.920	0.749
2	7.64	0.3	0.20	3.88	35	42.98	0.105	0.455	1.025	0.731
3	7.99	0.3	0.20	4.00	35	42.51	0.113	0.454	1.116	0.724
4	6.59	0.4	0.25	3.62	35	44.14	0.091	0.455	1.010	0.677
5	7.33	0.3	0.20	3.78	30	48.39	0.095	0.428	1.000	0.676

表5 最优处方验证结果

Table 5 Results of verification of optimal prescription

批号	初黏力/N	持黏力/N	胶强度/N
1	0.101	0.438	0.918
2	0.105	0.441	0.922
3	0.106	0.427	0.904
平均	0.104 ± 0.003	0.435 ± 0.007	0.915 ± 0.009

2.5.2 供试品溶液的制备 取凝胶膏 1.0 g,精密称定,精密加入甲醇 20 mL,称定质量,回流提取 30 min,冷却至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.5.3 线性关系考察 取蛇床子素对照品 6.7 mg,精密称定,置于 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品储备液。精密量取一定

量该储备液,配成质量浓度为 0.013 4、2.68、10.72、16.08、21.44、26.8 mg/L 的蛇床子素对照品溶液,各吸取 20 μL 进样,记录峰面积。以蛇床子素质量浓度为横坐标 (X),峰面积积分为纵坐标 (Y),进行线性回归,得回归方程 $Y = 36\ 392\ X - 1.999\ 4$, $r = 0.999\ 9$,结果表明蛇床子素在 0.013 4~26.8 mg/L 与峰面积积分值具有良好的线性关系。

2.5.4 专属性考察 取寒痹舒凝胶膏剂处方中除独活外的其余药材,按“2.1”项下方法制备成独活阴性凝胶膏剂,并按“2.5.2”项下方法制备独活阴性凝胶膏剂溶液,另取蛇床子素对照品溶液、供试品溶液各 20 μL,进样测定,结果见图 1。由结果可知,基质辅料及处方中的其余药材对测定无干扰,该检测方法的专属性符合要求。

2.5.5 精密度试验 吸取质量浓度为 16.08 mg/L 的

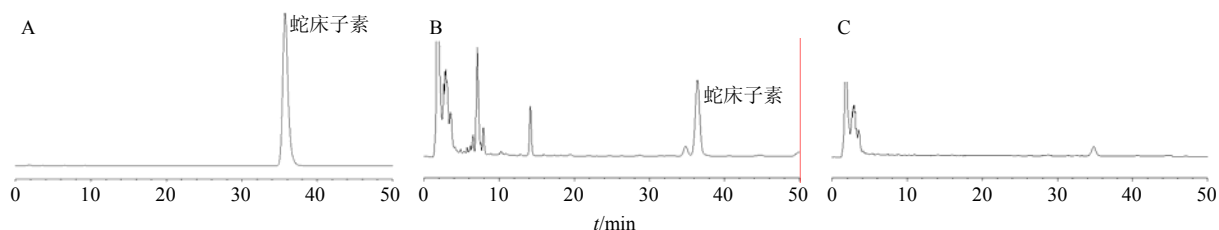


图 1 蛇床子素对照品 (A)、寒痹舒凝胶膏剂 (B) 和缺独活阴性凝胶膏剂 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of osthole reference substance (A), Hanbishu Cataplasma sample (B), and negative sample without *Angelicae Pubescentis Radix* (C)

蛇床子素对照品溶液 20 μL, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 结果蛇床子素峰面积的 RSD 为 0.89%, 表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 取寒痹舒凝胶膏样品、24 h 的透皮接受液样品和释放液样品, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样测定, 记录峰面积, 结果蛇床子素峰面积的 RSD 分别为 0.99%、0.96% 和 0.74%, 表明 24 h 内凝胶膏中及透皮接收液和释放液中的蛇床子素稳定。

2.5.7 重复性试验 按“2.5.2”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.5.1”项下色谱条件检测, 记录峰面积, 结果蛇床子素峰面积的 RSD 为 2.89%, 表明方法的重复性良好。

2.5.8 回收率试验 取凝胶膏 1.0 g, 精密称定, 并平行称取 6 份, 精密加入一定量蛇床子素对照品溶液, 按“2.5.2”项下方法制备供试品溶液, 测定质量浓度, 计算回收率, 结果蛇床子素平均加样回收率为 102.32%, RSD 为 1.38%。寒痹舒凝胶膏剂定量测定加样回收率合格。

2.5.9 样品测定结果 取寒痹舒凝胶膏 1.0 g, 精密称定, 并平行称取 3 份, 分别按照“2.5.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件检测, 测定峰面积。结果凝胶膏中蛇床子素平均质量分数为 110.10 μg/g, RSD 为 1.52% (n=3)。

2.6 体外释放试验

采用 Franz 扩散池法, 上室为扩散室, 下室为接受室, 有效扩散面积 3.14 cm²。将凝胶膏 (含膏量 350.8 mg) 贴于圆形透析膜片上, 再将透析膜片固定在两室之间。接收室注满接受介质为 3% 苜泽 98-pH 7.4 PBS 缓冲溶液^[16], 排出气泡, 使液面完全与透析膜片接触。磁搅拌转速设定为 300 r/min, 控制温度 (32.0±0.1) °C, 计时。于设定的时间点 1、2、4、6、8、10、12、24 h 移取接收液 1 mL, 同时补加同样体积的新鲜接收液, 滤过, 用 HPLC 测定

样液中蛇床子素的量, 计算蛇床子素的累积释放率 (Q)^[17]。

$$Q = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 1) / W$$

Q 为第 n 个时间点的累积释放率, V 为接收室中接收液的体积 (mL), C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度 (μg/mL), C_i 为第 n 个取样点之前所有取样点的药物质量浓度之和, 1 代表取样体积为 1 mL, W 为凝胶膏中所含药物质量 (μg)

以 Q 对释放时间 (t) 作图, 绘制体外释放曲线, 见图 2。由图 2 可知, 寒痹舒凝胶膏中蛇床子素 24 h 累积释放率为 (63.30±0.05)%。对上述释放数据进行模型拟合^[18], 结果见表 6。

由表 6 可知, 寒痹舒凝胶膏中蛇床子素体外释放符合一级动力学方程。由 Ritger-Peppas 方程可知, 拟合系数 n 在 0.45~0.89, 说明凝胶膏中蛇床子素

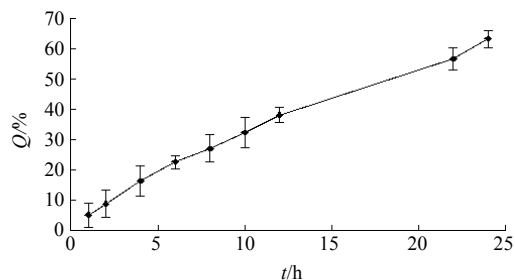


图 2 寒痹舒凝胶膏中蛇床子素体外释放曲线 (n=5)

Fig. 2 *In vitro* release curves of osthole in Hanbishu Cataplasma (n=5)

表 6 蛇床子素 24 h 体外释放模型拟合

Table 6 Fitting of cumulative release models *in vitro* of osthole for 24 h

模型	拟合方程	R
零级	$Q = 2.4148t + 6.1203$	0.9931
一级	$\ln(1-Q) = -0.0395t + 4.5958$	0.9976
Higuchi	$Q = 14.877t^{1/2} - 12.825$	0.9953
Hixcon-Crowell	$(1-Q)^{1/3} = -0.8049t + 31.293$	0.9931
Ritger-Peppas	$\lg Q = 0.7919 \lg t + 0.7149$	0.9990

的释放机制是非 Fick 扩散,即为药物的扩散和骨架溶蚀双重机制的共同作用。进一步由 Higuchi 方程的拟合结果优于 Hixson-Crowell 方程,可知扩散较溶蚀起主要作用。

2.7 体外透皮试验

2.7.1 离体皮肤的制备 将 SD 大鼠脱颈椎处死,并剥离腹部皮肤,用脱脂棉球沾 PBS 缓冲盐溶液擦去其皮下脂肪组织和结缔组织,再用 PBS 缓冲溶液冲洗干净。

2.7.2 体外透皮试验 采用 Franz 扩散池法,上室为扩散室,下室为接受室,有效扩散面积 3.14 cm^2 。将凝胶膏(含膏量 350.8 mg)贴于鼠皮上,再将鼠皮固定在两室之间。接收室注满接受介质为 3% 苜泽 98-pH 7.4 PBS 缓冲溶液^[16],排出气泡,使液面完全与皮肤内层接触。磁搅拌转速设定 300 r/min ,控制温度 $(32.0\pm 0.1)\text{ }^\circ\text{C}$,计时。于设定的时间点 1、2、4、6、8、10、12、24 h 移取接收液 1 mL,同时补加同样体积的新鲜接收液,滤过,用 HPLC 测定样液中蛇床子素的量,计算蛇床子素的单位面积累积渗透量 (Q_n)。

$$Q_n = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 1) / S$$

Q_n 为第 n 个时间点的单位面积累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), V 为接收室中接收液的体积 (mL), C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), 1 代表取样体积 1 mL, S 为扩散面积 (3.14 cm^2)

以 Q_n 对渗透时间 t 作图,绘制累积渗透曲线,见图 3。以 Q_n 对渗透时间 t 作线性回归,所得方程即渗透动力学方程,结果 $Q_n = 0.1579t - 0.2167$, $r = 0.9961$ 。由回归方程可知,寒痹舒凝胶膏剂中蛇床子素透皮速率常数 (J_s) 为 $0.16\text{ }\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, 24 h 单位面积累积透量为 $(3.61 \pm 0.32)\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ($n = 5$)。根据“2.5.9”项下所得膏中蛇床子素的平均质量分数,计算 24 h 内蛇床子素的累积透过率 (Q_{24}) 为 29.35%。对上述透皮数据进行模型拟合^[18],结果见

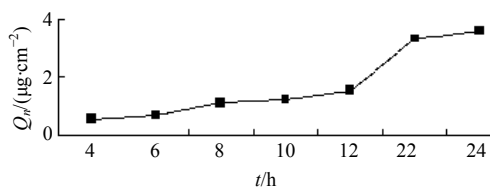


图 3 寒痹舒凝胶膏中蛇床子素体外透皮渗透曲线 ($n = 5$)
Fig. 3 *In vitro* transdermal permeation curves of osthole in Hanbishi Cataplasma ($n = 5$)

表 7。由表 7 可知,凝胶膏中蛇床子素体外透皮符合零级方程,说明凝胶膏中蛇床子素的经皮渗透与其浓度无关。Ritger-Peppas 方程拟合系数 n 大于 0.89,说明膏中蛇床子素的渗透主要是由骨架溶蚀作用造成的,而非 Fick 扩散机制作用。进一步由 Hixson-Crowell 方程的拟合结果优于 Higuchi 方程,也证实溶蚀起主要作用。

表 7 蛇床子素 24 h 体外 Q_{24-t} 模型拟合

Table 7 Fitting of cumulative permeation models *in vitro* of osthole for 24 h

模型	拟合方程	R
零级	$Q_{24} = 1.2825t - 1.7348$	0.9961
一级	$\ln(1 - Q_{24}) = -0.0156t + 4.6396$	0.9938
Higuchi	$Q_{24} = 9.0077t^{1/2} - 16.211$	0.9813
Hixcon-Crowell	$(1 - Q_{24})^{1/3} = -0.4275t + 33.912$	0.9961
Ritger-Peppas	$\lg Q_{24} = 1.0732 \lg t - 0.0331$	0.9919

3 讨论

3.1 优化设计方法的选择

D -最优混料设计具有试验次数少,预测能力高等优点,其不仅在农业、工业及食品领域^[19-21]已得到广泛应用,而且,近年来在药剂辅料配比中也有所应用^[7,15,22],它是解决指标与成分比例之间关系的一种实验设计方法。由于凝胶膏的黏附性能及成型性与辅料间的配比密切相关,因此,本实验以组成凝胶膏剂的 6 种辅料为考察因素,以膏体的初黏力、持黏力及胶强度为指标,优化基质处方。结果证明, D -最优混料设计可用于寒痹舒凝胶膏剂的处方优化,拟合的方程具有较高的预测性。

3.2 凝胶膏黏附力测定方法的选择

《中国药典》2010 年版对贴膏剂黏附力的测定方法做了修订,包括初黏力、持黏力和剥离强度。其中初黏力是采用斜坡滚球法测定,以所黏附的钢球的球号来表示初黏力的大小,此方法没有做到指标的量化,且钢球的球号并不能反映膏体跑膏、脱膏等情况^[23];持黏力的大小则是以凝胶膏脱落实验板时所用的时间或在一定时间内移动的距离来间接表示,此法同样没有对指标做到量化,且会受背衬性质、膏体黏附面尺寸等因素的影响。因此,本实验并未参考《中国药典》2010 年版方法,而是参考文献方法^[10-11,13],利用数显式测力仪测定上述 3 个指标。初黏力通过探针初黏力法模拟手轻触膏面时,贴膏剂与皮肤自然接触所具有的亲和力来表示,符

合初黏力的定义^[24]。持黏力以 180°剥离强度来指征,体现凝胶膏从皮肤剥离时的黏附性。并对膏体内部的力(内聚力、胶强度)进行检测,以保证凝胶膏具有良好的成型性。

3.3 透皮接收介质的选择

本实验以寒痹舒凝胶膏剂处方中君药独活的有效成分蛇床子素为指标,考察了寒痹舒凝胶膏剂的体外透皮特性。蛇床子素具有较高的脂溶性,其油水分配系数($\lg K$)为 3.46^[25],难溶于水。而常用的接收液——生理盐水^[26]及 PBS 缓冲液^[27]无法溶解蛇床子素,达不到漏槽条件。针对此类物质,文献报道可在接收液中加入甲醇^[28]、PEG 400^[29]、聚山梨酯-80^[30]等,来增加药物的溶解度,但是,这些添加剂的浓度不宜过高,否则会影响皮肤的正常生理结构而改变其特性^[31]。笔者查阅文献发现,3% 苜蓿 98-pH 7.4 PBS 缓冲液^[16]可作为强亲脂性药物的体外透皮试验接收液,它可以有效增加药物的溶解度且对皮肤的生理结构无影响。经预试验证实其可满足蛇床子素的漏槽条件。因此,本实验选择 3% 苜蓿 98-pH 7.4 PBS 缓冲溶液作为蛇床子素的接收介质。

3.4 体外释放与透皮研究

药物从亲水性凝胶基质中的释放受多种因素的影响^[32],如药物的溶解度、相对分子质量及粒径等。药物的溶解度越大,相对分子质量越小,粒径越大,从基质中释放的速度越快。释放模型拟合结果表明,蛇床子素从凝胶膏中的释放为扩散和基质溶蚀的双重机制,以扩散为主。由于蛇床子素为脂溶性药物,主要通过溶蚀作用通过水溶性凝胶基质,导致其释放速度较慢,24 h 累积释放率仅达到 63.30%。

凝胶膏中蛇床子素的经皮渗透机制为骨架的溶蚀作用。分析其可能的原因为由于皮肤角质层的屏障作用,药物的扩散行为减弱,同时凝胶膏基质吸收了透过皮肤的水分,引起了基质的骨架溶蚀作用。由 Ritger-Peppas 方程可知,凝胶膏中蛇床子素的体外释放行为与体外透皮行为不完全相关。对于经皮给药制剂,药物释放与透皮行为的相关性不是非常重要^[33]。药物的透皮行为与药物的疗效密切相关,可作为筛选处方的依据;而药物的释放度可作为制剂简便的体外评价指标。比较蛇床子素的体外释放与经皮渗透行为可知,凝胶膏中蛇床子素的体外释放速率大于其体外透皮速率,由此判断该制剂属于皮肤控释型。

参考文献

- [1] 王 昊, 阎小萍, 孔维萍, 等. 综合疗法治疗强直性脊柱炎患者 106 例临床观察 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(2): 289-290.
- [2] 郑俊民. 经皮给药新剂型 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [3] 陆 彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [4] 徐向宏, 何明珠. 试验设计与 Design-Expert、SPSS 应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [5] Barot B S, Parejiya P B, Patel H K, *et al.* Microemulsion-based gel of terbinafine for the treatment of onychomycosis: Optimization of formulation using D-optimal design [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2012, 13(1): 184-192.
- [6] Djuris J, Vasiljevic D, Jokic S, *et al.* Application of D-optimal experimental design method to optimize the formulation of O/W cosmetic emulsions [J]. *Int J Cosmet Sci*, 2014, 36(1): 79-87.
- [7] 高丽琼, 舒文娟, 高 缘, 等. D-最优混料设计优化阿莫罗芬自乳化基质乳膏及乳膏流变学研究 [J]. 中南药学, 2010, 8(7): 491-495.
- [8] 李伟泽, 张光伟, 赵 宁, 等. 中药水凝胶巴布剂产业化工艺技术攻关研究 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1923-1933.
- [9] 郑俊民, 徐 晖, 丁平田. 贴剂的黏贴原理和黏贴性试验 [J]. 中医外治杂志, 2005, 14(4): 3-5.
- [10] 医用胶带通用要求 [S]. YY/T 0148-2006. 2006.
- [11] 王丽梅. 散结止痛巴布剂药理学及初步药效学的研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [12] 张洪兵, 朱雪瑜, 张铁军, 等. 星点设计-效应面优化法优选复方止痛巴布剂基质处方 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 985-988.
- [13] 鹿 静, 魏希颖, 张 琼, 等. 灯盏花素巴布剂的处方优选 [J]. 中成药, 2013, 35(3): 504-507.
- [14] 林媛媛, 刘 静, 王冬梅, 等. Box-Behnken 试验设计法优化宝泻灵凝胶膏剂处方及其体外透皮特性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(9): 1238-1244.
- [15] 张 臻, 傅超美, 胡慧玲, 等. D-最优混料设计优化美洲大蠊乳膏的基质配方研究 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1574-1578.
- [16] Lan Y, Li H, Chen Y Y, *et al.* Essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. and its main components used as transdermal penetration enhancer: A comparative study [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2014, 15(11): 940-952.
- [17] 刘聪敏, 白 洁, 杜守颖, 等. 止痛凝胶膏剂的制备及体外释放考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15):

- 5-9.
- [18] 康振华, 陈远东, 徐成, 等. Box-Behnken 效应面法优化盐酸普拉克索缓释片处方及体外释放机制 [J]. 中国药科大学学报, 2015, 46(1): 66-72.
- [19] 纪同森, 齐 娅. 极端格点混料设计在济钢焦化配煤生产中的应用 [J]. 煤化工, 2008, 36(5): 54-57.
- [20] 李方敏, 樊小林, 王 浩. 混料设计法在控释肥配比中的应用研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(7): 125-129.
- [21] 吴 丹, 章程武, 张爱群, 等. 混料回归设计在蓝莓和芒果果味饮料配方优化中的运用 [J]. 实验技术与管理, 2014, 31(11): 48-51.
- [22] 晋兴华, 张韻慧, 赵振宇, 等. D-最优混料设计优化尼莫地平骨架片的处方 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(7): 516-520.
- [23] 孔焕宇. 中药巴布膏剂黏性的质量评价 [J]. 中医外治杂志, 2006, 15(3): 3-5.
- [24] 任重远, 钱忠直, 王 平. 贴膏剂 (贴剂) 的粘着力及其测定方法 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 159-162.
- [25] 嵯旭晶, 苑振亭, 赵中华, 等. HPLC 法测定蛇床子素的油/水分配系数 [J]. 中国医药指南, 2013, 11(9): 53-54.
- [26] 李学敏, 吴 清, 范 峥, 等. 骨伤凝胶膏剂中促渗剂的优选研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1): 64-67.
- [27] 李雅静. 正交试验优化尼美舒利乳膏的处方研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(5): 481-484.
- [28] 杨金艳, 吴诗惠, 罗明霞. 益肤凝胶透皮吸收促进剂的筛选研究 [J]. 中国药理与临床, 2011, 27(2): 115-118.
- [29] 姜建华, 周晓芳, 叶金翠. 透皮促进剂对萘普生的促透效果研究 [J]. 中国药业, 2011, 20(4): 24-26.
- [30] 王云山, 张 洪, 张晓春. 姜黄素醇质体体外透皮及其稳定性研究 [J]. 中国药师, 2014, 17(10): 1640-1642.
- [31] 兰 颐, 王 琼, 安 静, 等. 不同接受液对药物体外透皮试验的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 7-10.
- [32] 桂 彬, 林巧平, 许向阳, 等. 影响亲水凝胶骨架系统中药物释放的因素 [J]. 药学进展, 2012, 36(5): 216-223.
- [33] 邹玉繁, 汪小根. 广藿香酮巴布剂体外释放度与体外透皮相关性研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 48-50.