雷公藤内酯醇纳米脂质体涂膜剂制备研究

阙慧卿[1]，陈　洪[2*]，彭华毅[1, 3]，钱丽萍[1]，郭舜民[1]，林　绥[1*]

1. 福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室，福建 福州　350001
2. 福建省立医院 耳鼻咽喉科，福建 福州　350001
3. 福建出入境检验检疫局技术中心，福建 福州　350003

摘要：目的　探讨制备雷公藤内酯醇纳米脂质体（TP-NLS）涂膜剂的最佳处方及工艺。**方法**　以聚乙烯醇 124（PVA124）、单硬脂酸甘油酯、甘油等基质材料的用量及搅拌时间为考察因素，以均匀性、成膜性、剥离程度为考察指标，采用 $U_7(7^4)$ 均匀设计法优选 TP-NLS 涂膜剂的制备处方及工艺。以最佳工艺制备的涂膜剂进行体外模拟透皮实验，考察 TP-NLS 涂膜剂的经皮渗透过程。**结果**　制备 30 g TP-NLS 涂膜剂的最佳处方及工艺为单硬脂酸甘油酯 1.6 g、甘油 0.25 g、PVA124 3.9 g、卡波姆 0.6 g、CMC-Na 0.9 g，搅拌 150 min。按该工艺制备的 TP-NLS 涂膜剂体外经皮渗透速率（J_s）为 0.350 μg/(cm^2·h)，24 h 累积渗透量（$Q_{24\,h}$）为 11.534 μg/cm^2。**结论**　按最佳制备工艺制备的 TP-NLS 涂膜剂均匀，易涂布，成膜时间短，膜剂成型后与皮肤的黏附性好，柔韧性强。药物经皮渗透速率快，24 h 累积渗透量增大。

关键词：雷公藤内酯醇；纳米脂质体；涂膜剂；均匀设计；HPLC；经皮渗透

中图分类号：R283.6　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2016)20 - 3626 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.20.012

Preparation of triptolide nanometer coating agent

QUE Hui-qing[1], CHEN Hong[2], PENG Hua-yi[1, 3], QIAN Li-ping[1], GUO Shun-min[1], LIN Sui[1]

1. Fujian Provincial Key Laboratory of Medical Testing, Institute of Medical Sciences of Fujian Province, Fuzhou 350001, China
2. Department of Otolargngology, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China
3. Inspection and Quarantine Technique Centre of Fujian Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Fuzhou 350003, China

Abstract:Objective　To explore the optimum preparation process of triptolide nanometer coating agent. **Methods** Optimum preparation process was investigated by uniform design with the amount of film forming material such as polyethylene glycol 124 (PVA124), carbomer, CMC-Na, and the mixing time as investigating factors, and with uniformity, film-forming ability, and peeling strength as indexes. We conducted sc simulation experiment *in vitro* to investigate the percutaneous penetration process of triptolide nanometer coating agent. **Results**　The best way to prepare triptolide nanometer coating agent is that we use glycerol monostearate 1.6 g, glycerin 0.25 g, PVA124 3.9 g, Carbomer 0.6 g, CMC-Na 0.9 g, and mix them in 150 min. With above preparation process, we can achieve better coating agent. J_S was 0.350 μg/(cm^2·h) and the cumulative permeation quantity in 24 h was 11.534 μg/cm^2. **Conclusion** Using the optimum preparation process, we can get better triptolide nanometer coating agent, which is uniform, easy coating，good adhesion with skin, strong flexibility, and drying soon.

Key words: triptolide; nano-liposomes; coating agent; uniform design; HPLC; percutaneous permeation

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 为卫矛科（Celastraceae）雷公藤属 *Tripterygium* Hook. f. 植物，化学成分主要有二萜、三萜、倍半萜、生物碱和苷类等[1]，毒性大小依次为二萜类、生物碱、三萜类及苷类。雷公藤内酯醇（雷公藤甲素，triptolide，TP）是含有 3 个环氧基的二萜内酯化合物，具有抗生育、抗肿瘤作用、免疫抑制作用、减轻移植排斥反应等多种生物活性[2]。但 TP 安全系数小，易对

收稿日期：2016-06-24

基金项目：国家卫生与计划生育委员会科研基金课题（WKJ-FJ-15）；福建省省属公益类科研院所基本科研专项（2015R1031-4；2016R1029-3）；福建省科技计划社会发展引导性（重点）项目（2014Y0051）；福建省卫生厅中医药科研项目（wzze201306）

***通信作者**　陈　洪，副主任医师。Tel: 18060618866　E-mail: chenhong_ls@sina.com

林　绥，研究员。Tel: 13605948318　E-mail: linsui_syy@sina.com

肝脏、肾脏、免疫系统、骨髓及血液系统、胃肠道、心脏、神经、遗传、生殖系统等多种器官产生毒性作用[3-4]。TP 1.11、2.22、4.44 mmol/L 对兔完整皮肤及破损皮肤均引起明显的红斑及水肿反应，病理组织学检查表明，表皮真皮呈明显的炎症[5]。

纳米脂质体（NLS）是一种在常规脂质体的基础上结合纳米技术发展起来的新型载药系统。孙聚魁等[6]认为 NLS 是指粒径小于 100 nm 的脂质体结构，在稳定性、吸收和体内分布等方面具有纳米粒子的特殊效应，可以携载亲水性、疏水性及两亲性药物，直接输送至靶组织发挥药效作用。将 TP 制备成 NLS，改变 TP 的溶解性，增大 TP 的吸收，后续研发成外用涂膜剂，使 TP 易于经皮渗透，并绕过肝脏的首关效应直达病灶，收获减毒增效的功效。

涂膜剂是成膜材料和药物均溶解于有机溶剂而制成的外用胶体溶液剂，使用时涂于患处，待有机溶剂挥发后形成一层薄膜。此剂型中成膜材料起到了滞留和保护药物缓慢发挥疗效的作用[7]。另外，此剂型使用后迅速形成薄膜保护创面或者是伤口，有效地减少传统敷料或绷带使用及拆除过程带来的痛苦[7]。本实验应用薄膜分散-高压均质法制备 TP-NLS，均匀设计优选聚乙烯醇 124（PVA124）、单硬脂酸甘油酯、甘油等基质材料，制备外用型 TP-NLS 涂膜剂。

1 仪器与材料

GJJ 型超高压均质泵，上海诺尼轻工机械有限公司；LC-20A 型岛津半制备高效液相色谱仪，日本岛津公司；H01-3 型恒温磁力搅拌仪，上海梅颖浦仪表制造有限公司；SK3310HP 型超声波清洗器，上海科导超声仪器有限公司；HH-2 型数显恒温水浴锅，金坛市江南仪器厂；AL204 型电子分析天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；ABZ1-0501-P 型艾科浦超纯水系统，颐洋企业发展有限公司。

TP 对照品，批号 111597-200502，质量分数按 100%计，购自中国食品药品检定研究院；TP，质量分数≥99.7%，批号 20150325，由福建省医学科学研究院药物所提供；PVA124，上海天莲精细化工有限公司，批号 1109111；甘油，国药集团化学试剂有限公司，批号 F20091117b；单硬脂酸甘油酯，分析纯，国药集团化学试剂有限公司，批号 F20111207；卡波姆，批号 120830，上海青析化工科技有限公司；CMC-Na，批号 080701，上海青析化工科技有限公司；无水乙醇，分析纯，西陇化工股份有限公司，批号 1402802；甲醇，分析纯，西陇化工股份有限公司，批号 1109111；乙腈，色谱纯，Merck KGaA，批号 201307；甲醇，色谱纯，Merck KGaA，批号 200909；超纯水（新配）。

2 方法与结果

2.1 TP-NLS 涂膜剂的制备

参考文献方法[8]制备 600 mL 的 TP-NLS 溶液，粒径为 117 nm，Zeta 电位 32 mV，包封率 84%，TP 质量浓度 100 μg/mL，4 ℃避光保存，备用。

称取处方量的 PVA124，加入适量 50%乙醇溶液，摇匀，静置过夜，热水浴上加热溶胀成凝胶状溶液[7]，备用；另称取处方量的卡波姆与 CMC-Na 混合均匀，精密加入 15 mL TP-NLS 溶液（TP 质量浓度为 100 μg/mL）浸泡，搅拌，充分溶胀后，缓慢加入 PVA124 溶液中，搅拌均匀，制得 A 相。

将处方量的单硬脂酸甘油酯置于 80～100 ℃水浴中熔融，缓慢加入处方量甘油搅拌均匀，制得 B 相；缓慢将 A 相加入 B 相中，在常温下，用磁力搅拌器（转速 1 000 r/min）搅拌适当时间，无水乙醇定量为 30 g，制得 TP-NLS 涂膜剂，涂膜剂的载药量为 50 μg/g。

2.2 单因素考察影响 TP-NLS 涂膜剂制备的因素

涂膜剂中成膜材料主要分为高分子聚合物和合成高分子聚合物 2 大类[7]，其中合成的高分子成膜材料，具有成膜性良好，成膜后的强度和韧性能满足膜剂成型与应用要求，且吸湿性和水溶性都较好。目前国内常用的品种有：聚乙烯醇（PVA）、聚乙烯吡咯烷酮（PVP）、羧甲基纤维素钠（CMC-Na）等。结合 TP-NLS 溶液在中性环境中性质稳定及前期的预试验基础，选择成膜材料 PVA124、非离子表面活性剂单硬脂酸甘油酯、保湿剂甘油为 TP-NLS 涂膜剂的基质材料，进行单因素考察。其余基质参照文献报道固定卡波姆的用量为 0.2%[9]，CMC-Na 的用量为 3%[10]。

2.2.1 PVA124 用量的影响　参考文献报道[7]实例，分别称取 3.0、3.5、4.0 g PVA124 于烧杯中，加入适量超纯水，制备 PVA124 溶液 10 mL，固定其余基质的用量，按“2.1”项操作制备 3 份 30 g 的 TP-NLS 涂膜剂，比较发现 PVA124 的用量对制剂的成膜性产生影响，用量为 3.0 g 时，制备的涂膜剂涂抹后成膜性较差；用量为 3.5 g，成膜性好，但外观均匀度不够；用量为 4.0 g 时，涂膜剂成膜后较难剥离，外观均匀度好。综上，设定 PVA124 的用量

在 3.5 g 左右选择均匀实验水平。

2.2.2 单硬脂酸甘油酯用量的影响　选择单硬脂酸甘油酯为稳定剂、抗黏剂，以其用量为考察因素，固定其余基质的用量，设定单硬脂酸甘油酯为 1.0、1.5、2.0 g 进行单因素实验，按“2.1”项操作，配制 3 份 30 g TP-NLS 涂膜剂。根据文献方法[11]观察所得制剂的成膜性，成膜时间和均匀性，发现单硬脂酸甘油酯的用量为 1.0、1.5 g 制备的 2 份涂膜剂成膜性好，成膜时间短，用量为 2.0 g 时，制成的涂膜剂成膜后较脆，易碎。因此，单硬脂酸甘油酯的用量设定在 1.5 g 附近选择 7 个水平进行考察。

2.2.3 甘油用量的影响　在 TP-NLS 涂膜剂中加入甘油，起增塑、保湿的作用。预试验固定其余基质的用量，变化甘油的用量为 0、1.0、2.0 g，按“2.1”项操作，制备 3 份 30 g 的 TP-NLS 涂膜剂，发现甘油用量为 0 时，制剂成膜后，不易成片剥离；用量为 2.0 g 时，制剂涂抹后，成膜时间过长。因此，实验将甘油的用量设定在 2.0 g 以下。

2.2.4 搅拌时间的考察　涂膜剂由多种基质充分溶解或溶胀后按适当的比例配制，通过磁力搅拌器搅拌，在搅拌频率固定的情况下，搅拌时间越长，涂膜剂越均匀，但溶剂挥发增多，影响涂膜剂的涂抹。因此，固定各基质用量不变，配制 3 份 30 g TP-NLS 涂膜剂，分别搅拌 60、120、180 min，考察制剂的外观，发现搅拌 60 min 时，制备的涂膜剂颗粒较大，成膜不均匀；搅拌 120 min 时，涂膜剂外观较好；搅拌 180 min，涂膜剂变稠，涂抹困难。因此，搅拌时间设计为 120 min 左右，并细化 7 个水平。

2.3 均匀试验设计优选 TP-NLS 涂膜剂的制备处方及工艺

2.3.1 均匀试验设计[12]　在单因素考察的基础上，以单硬脂酸甘油酯用量（A）、甘油的用量（B）、PVA124 的用量（C）、搅拌时间（D）为考察因素，每个因素在单因素试验的基础上调整，细化为 7 个水平，进行均匀设计，参考文献报道[11]以均匀性、成膜性、成膜时间为考察指标，采用 $U_7(7^4)$均匀试验优化制备工艺。试验设计的因素、水平及实验结果见表 1。

2.3.2 考察指标的评判　TP 副作用大，用量少，在制剂中的均匀度显得尤为重要。本实验以 HPLC 法测定 TP 量，计算 RSD 值，作为评价 TP-NLS 涂膜剂均匀性的考察指标。另取 1 g 涂膜剂均匀涂抹于（37.0±0.2）℃的玻璃板上，涂抹面积 3 cm×3 cm，考察成膜性与成膜时间，建立评价指标。均匀性、成膜性及成膜时间 3 个指标最低分设定为 60 分。

表 1　$U_7(7^4)$均匀试验设计及结果

Table 1　Design and results of $U_7(7^4)$ uniform test

试验号	A/g	B/g	C/g	D/min	均匀性/分	成膜性/分	成膜时间/分	综合得分/分
1	0.8 (1)	0.50 (2)	3.1 (3)	140 (6)	75	72	60	207
2	1.0 (2)	1.00 (4)	3.7 (6)	120 (5)	70	81	60	211
3	1.2 (3)	1.50 (6)	2.9 (2)	100 (4)	75	75	78	228
4	1.3 (4)	0.25 (1)	3.5 (5)	90 (3)	60	87	62	209
5	1.4 (5)	0.75 (3)	2.7 (1)	60 (2)	80	62	78	220
6	1.5 (6)	1.25 (5)	3.3 (4)	30 (1)	85	69	82	236
7	1.6 (7)	1.75 (7)	3.9 (7)	150 (7)	90	95	98	283

均匀性通过 RSD 值的大小进行评价，RSD 值小于 0.5%（包括 0.5%），表明涂膜剂中 TP 量分布均匀，膜材均匀性好，评为 90～100 分；RSD 值在 0.5%～1.0%（包括 1.0%），膜材均匀性较好，评为 70～89 分；RSD 值在 1.0%～1.5%（包括 1.5%），表示膜材均匀性一般，评为 70～79 分；RSD 值大于 1.5%，则均匀性很差，评为 60～69 分。均匀性评价结果见表 2。

表 2　均匀性考察结果

Table 2　Investigation of uniformity

试验号	质量浓度/(μg·mL^{-1})						RSD/%
	1 号	2 号	3 号	4 号	5 号	平均值	
1	2.87	2.88	2.90	2.89	2.86	2.88	0.55
2	2.66	2.68	2.68	2.67	2.66	2.67	0.65
3	2.32	2.33	2.31	2.33	2.31	2.32	0.57
4	3.00	3.01	3.07	2.98	3.04	3.02	1.17
5	2.05	2.06	2.06	2.04	2.09	2.06	0.60
6	3.21	3.22	3.23	3.21	3.18	3.21	0.38
7	3.52	3.52	3.53	3.54	3.54	3.53	0.28

取涂膜剂 1 g 均匀涂抹于（37.0±0.2）℃的玻璃板上，成膜后从玻璃板剥离，无细屑残留，确定为成膜性好，评 90～100 分；若成膜后剥离，有少量残留，成膜性一般，评 80～89 分；若涂膜剂在干燥后不容易剥离，剥离后残留较多，则成膜性较差，评 70～79 分；若涂膜剂在干燥后剥离困难，剥离物成细条状，则成膜性差，评为 60～69 分。

取 1 g 涂膜剂均匀涂抹于（37.0±0.2）℃的玻璃板，以涂膜剂完全干燥为准，记录成膜时间，成膜时间小于 5 min（包括 5 min），成膜时间短，评 90～100 分；成膜时间在 5～10 min（包括 10 min），评为 80～89 分；干燥时间在 10～15 min（包括 15 min），成膜时间较长，评 70～79 分；干燥时间大于 15 min，成膜时间很长，评 60～69 分。

均匀性、成膜性、成膜时间 3 个考察指标对 TP-NLS 涂膜剂的性状均具有重要的意义，取相同的权重系数，综合评分，计算总分（表 1），按得分高低判定制备工艺优劣。

2.3.3 均匀性考察 运用 HPLC 法测定 TP-NLS 涂膜剂中 TP 的载药量，计算 RSD 值，用以评价 TP-NLS 涂膜剂的均匀性。

（1）色谱条件[13]：色谱柱为 Diamonsil C_{18} 分析柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水（30∶70）；体积流量 1.0 mL/min；测定波长 218 nm；柱温 20 ℃。色谱图如图 1 所示。

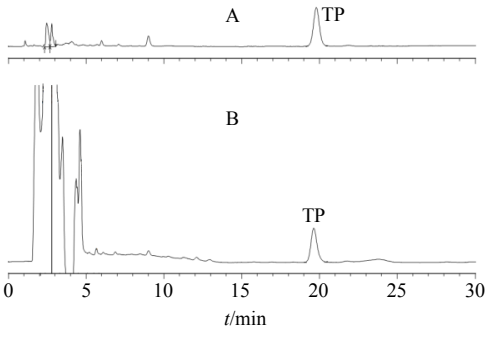

图 1 TP 对照品 (A) 和 TP-NLS 涂膜剂 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of TP reference substance (A) and TP-NLS coating agent (B)

（2）对照品溶液的配制及线性关系考察：精密称取 TP 对照品适量，加入流动相配成 50 μg/mL 的对照品溶液 10 mL，精密量取 TP 对照品溶液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL 于 10 mL 量瓶中，30%乙腈溶液定容，配制系列质量浓度为 0、2.5、5.0、7.5、10、15 μg/mL 的 TP 对照品溶液，微孔滤膜滤过，按上述 HPLC 色谱条件进样测定，以峰面积积分值为纵坐标（Y），TP 的质量浓度为横坐标（X），得线性回归方程为 Y＝47 995 X＋1 137，r＝0.999 5，表明 TP 在 0～15 μg/mL 线性关系良好。

（3）样品溶液的配制：精密称取制备的 TP-NLS 涂膜剂约 1 g，加入 2.8 mL 超纯水，混匀，加入 1.0 mL 甲醇，超声破乳 40 min，溶液用甲醇定容为 5 mL，0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。每一实验号制备的涂膜剂平行操作 5 份，备用。

（4）定量测定：按上述色谱条件，测定峰面积，计算每份样品中 TP 量的 RSD，以 RSD 值作为 TP-NLS 涂膜剂均匀性的评价指标，进行均匀性评分。结果见表 2。

2.3.4 均匀实验方案与结果 采用 $U_7(7^4)$均匀设计表，以单硬脂酸甘油酯用量（A）、甘油的用量（B）、PVA124 的用量（C）、搅拌时间（D）为考察因素，选择均匀设计表 $U_7(7^4)$安排实验，如表 1 所示。

应用 Excell 2003（完整版）对以上实验数据进行处理得到 4 元线性方程为 y＝352.45 x_1＋1 118.51 x_2－0.240 1 x_3－37.338 x_4＋1 288.00，y 为因变量（综合评分），x_1、x_2、x_3、x_4 为自变量（即 A、B、C、D 4 个因素）。

2.3.5 方差分析及因素主次确定 由表 3 可以看出 $F_1 > F_{0.01}(1, 2) > F_2 > F_4 > F_3$；$F > F_{0.01}(4, 2)$，则 Y 与 x_1、x_2、x_3、x_4 间有十分显著的的线性关系，所建立的线性回归方程与实验数据拟合得很好。第 1 个因素对实验结果有非常显著的影响（P＜0.01），另 3 个因素影响较小，4 个因素对实验结果的影响主次关系为 $x_1 > x_2 > x_4 > x_3$，即单硬脂酸甘油酯的用量＞PVA124 的用量＞搅拌时间＞甘油的用量。

表 3 回归方差分析表

Table 3 Analysis of regression variance

差异源	自由度	F 值	显著性
x_1	1	2.29	P＜0.01
x_2	1	0.96	
x_3	1	0.002 2	
x_4	1	0.26	
回归平方和	m＝4		
残差平方和	$n-m-1$＝2	1.01	P＜0.01
总平方和	$n-1$＝6		

$F_{0.05}(1, 2)$＝0.997 $F_{0.01}(1, 2)$＝1.000
$F_{0.05}(4, 2)$＝0.987 $F_{0.01}(4, 2)$＝0.990

2.4　最优工艺的确定与验证试验

根据均匀设计的实验结果可知，单硬脂酸甘油酯的用量对涂膜剂的影响最大，其次是 PVA124 的用量和搅拌时间，而甘油的影响最小，但是甘油为增塑剂、保湿剂，使膜剂柔韧性增强，并具有一定的抗拉强度，所以保留甘油的使用，最佳制备工艺为 $A_7B_1C_7D_7$，即制备 30 g TP-NLS 涂膜剂，单硬脂酸甘油酯的用量为 1.6 g、PVA124 用量为 3.9 g、甘油用量为 0.25 g，搅拌 150 min，对其进行验证如下。

称取最佳处方的各个基质用量，即称取 PVA124 3.9 g，加入 50%乙醇溶液 10 mL，摇匀，静置过夜，温水浴上加热溶胀成凝胶状，备用；另称取卡波姆 0.6 g 与 CMC-Na 0.9 g 混合均匀，加入 15 mL TP-NLS 溶液（TP 质量浓度为 100 μg/mL）浸泡，搅拌，充分溶胀后，缓慢加入 PVA124 凝胶中，搅拌均匀，制得 A 相，备用。

将 1.6 g 单硬脂酸甘油酯置于 80～100 ℃水浴中熔融，缓慢加入 0.25 g 甘油，搅拌均匀，制得 B 相；将 A 相缓慢加入 B 相中，磁力搅拌器（转速为 1 000 r/min）常温搅拌 150 min，用无水乙醇定量为 30 g，制得 TP-NLS 涂膜剂，涂膜剂中 TP 的载药量为 50 μg/g。平行操作 3 份，对其均匀性、成膜性、成膜时间进行考察，综合评分平均值分别为 278、283、289 分，所得涂膜剂的性状优于均匀试验方案制备的涂膜剂。故确定制备 30 g TP-NLS 涂膜剂，单硬脂酸甘油酯的用量为 1.6 g，甘油 0.25 g，PVA124 的用量为 3.9 g，卡波姆为 0.6 g，CMC-Na 0.9 g，搅拌 150 min 为制备 TP-NLS 涂膜剂的最佳工艺。

2.5　TP-NLS 涂膜剂和 TP 涂膜剂的制备

2.5.1　TP-NLS 涂膜剂的制备　按“2.4”项下验证试验操作，制备载药量 50 μg/g 的 TP-NLS 涂膜剂 30 g，避光冷藏，备用。

2.5.2　TP 涂膜剂的制备　精密称取 TP 单体 15.0 mg 于 10 mL 量瓶中，用无水乙醇超声溶解，定容，制备 1.5 mg/mL 的 TP 溶液。精密量取 1 mL 上述 TP 溶液于烧杯中，加入适量乙醇和超纯水，配制乙醇体积分数为 50%的 TP 溶液 10 mL，取 PVA124 3.9 g 加入，摇匀，静置过夜，温水浴加热溶胀成凝胶状，备用。另称取卡波姆 0.6 g 与 CMC-Na 0.9 g 混合均匀，加入 15 mL 超纯水浸泡，搅拌，充分溶胀后，缓慢加入已溶胀的 PVA124 凝胶中，搅拌均匀，制得 A 相，备用。

将 1.6 g 单硬脂酸甘油酯置于 80～100 ℃水浴中熔融，缓慢加入 0.25 g 甘油，搅拌均匀，制得 B 相；将 A 相缓慢加入 B 相中，磁力搅拌器（转速为 1 000 r/min）常温搅拌 150 min，无水乙醇定量为 30 g，制得 TP 涂膜剂，涂膜剂中 TP 的载药量为 50 μg/g。避光冷藏，备用。

2.6　体外透皮实验

采用文献方法[14]制备 12 张完整小鼠腹部皮肤，固定在立式改良 Franz 扩散池上，真皮层面向接收池，角质层面向供给池，分别精密称取 1 g 的 TP-NLS 涂膜剂和 TP 涂膜剂（TP 载药量均为 50 μg/g）均匀涂抹于角质层面上，固定供给池和接收池，加入接收液，排除气泡，进行体外透皮实验。在 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、24.0 h 分别从接收池中吸取 2 mL 接收液，并及时补充 2 mL 新鲜接收液。取出的溶液蒸干，残渣用甲醇溶解，完全转移至 2 mL 量瓶中，定容，HPLC 测定峰面积，按下列公式计算单位面积 24 h 累积渗透量（Q，μg/cm^2）。

$$Q=(VC_n+V_0\sum_{i=1}^{n-1}C_i)/A$$

C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度，C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度；A 为有效接触面积（cm^2），V 为接收池体积（mL），V_0 为取样体积（mL）

以 Q 为纵坐标，时间 t 为横坐标，绘制曲线，如图 2。将渗透曲线头部直线部分的 Q-t 数据进行线性回归，TP-NLS 涂膜剂回归方程为 Y＝0.046 8 X＋0.545 9，求得 TP-NLS 涂膜剂的稳态渗透速率（J_s）为 46.8 ng/(cm^2·h)，24 h Q（$Q_{24\ h}$）为 11.53 μg/cm^2，累积透过率为 67.36%。TP 涂膜剂回归方程为 Y＝0.031 1 X＋0.253 1，J_s 为 31.1 ng/(cm^2·h)，$Q_{24\ h}$ 为 7.01 μg/cm^2，累积透过率为 40.95%。结果

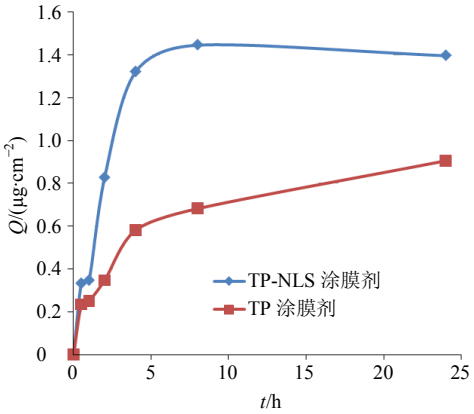

图 2　TP-NLS 涂膜剂和 TP 涂膜剂透皮吸收曲线

Fig. 2　Curve of percutaneous penetration of TP-NLS and TP coating agents

表明，2 种不同载体的涂膜剂体外经皮渗透吸收有较大的区别，TP-NLS 涂膜剂的 J_s 及 $Q_{24\,h}$ 明显高于 TP 涂膜剂。

3 讨论

均匀设计是由我国数学家方开泰和王元将数论跟多元统计相结合，在正交设计的基础上，重新创立出来的新的可以适用于多因素、多水平试验的一种设计方法[13]。该设计方法可以在实验次数较少的情况下，获得各因素和考察变量之间的定量关系，具有其他实验设计方法难以比拟的优点。TP-NLS 涂膜剂的制备工艺拟考察 4 个因素 7 个水平，试验涉及到基质的用量，制备的时间等，试验范围大而复杂，应用均匀设计，有效地减少了试验次数，科学解决问题。

TP 生物活性强，使用微量的药物就可收获相应的药效，但毒性剂量与有效剂量比较接近，因此在制剂中的均匀性显得尤为重要。本实验采用 HPLC 法测定 TP-NLS 涂膜剂中 TP 的量，计算 RSD 值作为均匀设计的考察指标之一，更加直观准确地反映 TP-NLS 涂膜剂的均匀性，按最佳工艺制备的 TP-NLS 涂膜剂严格控制 TP 在基质中的分布，提高了制剂的安全性。

涂膜剂与其他相同药物配方的凝胶剂、乳剂、膜剂、栓剂等相比，具有制备工艺简单，使用方便，易涂布、耐磨性能比较好，不易脱落，容易洗脱，不污染衣物，患者依从性好等特点[15]。本实验将 TP 包封成 NLS 后，制备成涂膜剂，应用于浅表皮肤，TP 经过皮肤渗透作用于病灶，绕过肝脏首关效应。另外，涂膜剂膜的形成可使药物与皮肤紧密贴合，减少皮肤表面水分的蒸发，有效促进药物透过角质层缓慢释放，维持稳定持久的血药浓度，更好地发挥治疗作用。

药用辅料是药物制剂存在的物质基础，涂膜剂中成膜材料起到了滞留和保护药物缓慢发挥疗效的作用。单硬脂酸甘油酯存在于天然食品中，无毒，对皮肤和黏膜无刺激性，已应用于我国上市外用制剂，在各剂型中的用量变化较大，在肟康唑乳霜中用量为 3.5%，口服黄体酮制剂中用量为 90%[7]。实验选择其用量为考察因素，使所制备的 TP-NLS 涂膜剂增滑，结构细腻，并改善制剂的稳定性。

TP 为 3 个环氧二萜内酯类化合物，水溶性差，易沉积于皮肤，对皮肤产生刺激，如文献报道[5] 1.11 mmol/L 即引起兔完整皮肤及破损皮肤红斑及水肿反应。本实验用未经包封的 TP 直接制备成亲水性涂膜剂，其 $Q_{24\,h}$ 为 7.01 μg/cm^2，累积透过率 40.95%。制备成 TP-NLS 涂膜剂后，TP-NLS 的构造使 TP 的水溶性增大，在亲水性涂膜剂中更有利于经皮渗透，24 h 累积透过率为 67.36%。

参考文献

[1] 池 婕, 林 兵, 刘志宏, 等. 基于最小二乘回归分析法的雷公藤多苷片免疫抑制作用谱效关系研究 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2755-2758.

[2] 周毅骏, 钦丹萍, 杨新艳, 等. 雷公藤多苷片对溃疡性结肠炎大鼠 miR-146a、miR-146b 及 TLR4/MyD88 依赖信号通路的调控作用研究 [J]. 中草药, 2016, 47(10): 1723-1730.

[3] 骆永伟, 施 畅, 廖明阳. 雷公藤甲素抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(16): 2024-2026.

[4] 赵庆国, 王艳辉, 马致洁, 等. 基于肝细胞毒价检测的雷公藤质量评价方法研究 [J]. 中草药, 2015, 46(3): 378-383.

[5] 林建峰, 朱 惠, 郑幼兰. 雷公藤内酯醇的局部刺激作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2000, 5(2): 131-134.

[6] 孙聚魁, 邓英杰, 曹金娜. 纳米脂质体研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(12): 993-1002.

[7] 罗明生, 高天惠, 宋民宪. 中国药用辅料 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.

[8] 阙慧卿, 彭华毅, 钱丽萍, 等. 雷公藤内酯醇纳米脂质体的处方及制备工艺研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2277-2282.

[9] 庞 露, 林耀坚, 陈志科, 等. 复方苦参涂膜剂成膜材料及辅助剂的工艺研究 [J]. 中药材, 2014, 37(4): 694-697.

[10] 爱 民, 贾海波, 贾海鹰, 等. 嘎木朱尔涂膜剂的刺激性考察 [J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(2): 41.

[11] 谢 玲, 钟晓红, 刘东波, 等. 紫珠止血涂膜剂成膜材料及附加剂的优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 27-29.

[12] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表 [M]. 北京: 北京科学出版社, 1994.

[13] 钱丽萍, 阙慧卿, 林 绥, 等. 正交试验优选雷公藤涂膜剂的基质组成 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 442-444.

[14] 阙慧卿, 林 绥, 钱丽萍, 等. 雷公藤内酯醇生物贴的体外透皮吸收研究 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(3): 236-238.

[15] 姚 威. 涂膜剂的研究进展 [J]. 医药导报, 2008, 27(12): 1489-1491.