

单纯形网格法优化外用中药不同油水分配系数多成分微乳制剂处方

徐铃燕, 谢远平, 康倩, 刘葭, 孙铭忆, 吴清*

北京中医药大学中药学院, 北京 100102

摘要: **目的** 采用单纯形网格法优化中药不同油水分配系数 ($\log P$ 值) 多成分微乳给药系统, 并对其质量进行评价。 **方法** 通过饱和溶解度法筛选了表面活性剂、助表面活性剂及油相, 并以蛇床子素、川芎嗪、阿魏酸、葛根素及京尼平苷为模型药代表中药复杂成分, 在伪三元相图的基础上, 应用单纯形网格法优化中药不同油水分配系数多成分微乳, 以外观、粒径及多分散指数 (PDI) 为评价指标, 通过 Design Expert 8.06 软件进行试验设计和模型构建, 响应面数据分析优化和验证最佳处方组成。通过对微乳外观、稳定性及其粒径、Zeta 电位等的测定对其进行质量评价。 **结果** 优化得到的最佳处方为油酸-Labrasol-丙二醇-水 (5.303 : 29.336 : 7.334 : 58.027), 所形成的微乳外观澄清透明, 流动性好, 呈淡黄色, 平均粒径为 (118.77 ± 3.37) nm, PDI 为 0.282 ± 0.020 , Zeta 电位为 (0.346 ± 0.050) mV, 稳定性良好。 **结论** 优化之后的中药不同油水分配系数多成分微乳性质稳定, 载药量高; 制备并优化了适宜于不同 $\log P$ 值 ($-1.01 \sim 3.85$) 成分的微乳载体, 为此范围内的多成分中药提供可行的微乳载体, 简化其前期微乳处方筛选工作。

关键词: 单纯形网格法; 油水分配系数; 多成分微乳; 处方优化; 质量评价; 蛇床子素; 川芎嗪; 阿魏酸; 葛根素; 京尼平苷; 饱和溶解度法; 伪三元相图

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)19-3961-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.19.010

Optimization of multicomponent microemulsion of Chinese materia medica with different oil-water partition coefficients by simplex lattice method

XU Ling-yan, XIE Yuan-ping, KANG Qian, LIU Jia, SUN Ming-yi, WU Qing

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To prepare multicomponent microemulsion of Chinese materia medica (CMM) with different oil-water partition coefficients ($\log P$ values) by simplex lattice method and evaluate its quality. **Methods** The surfactants, cosurfactants and oil phases were screened by saturated solubility method. Ochratins, ligustrazine, ferulic acid, puerarin and geniposide were model drugs to represent the complex components of CMM. Based on the pseudo-ternary diagram, simplex lattice method was adopted to optimize the multicomponent microemulsion of CMM with different $\log P$ values by appearance, particle size and polydispersity index as evaluation indexes. The experimental design and model building were constructed by Design Expert 8.06 software to optimize the response surface data analysis and validate the optimal prescription composition. The quality of microemulsion was evaluated by observing appearance and stability as well as measuring particle size and potential. **Results** The optimum formulation was oleic acid-Labrasol-propylene glycol-water (5.303 : 29.336 : 7.334 : 58.027). The prepared microemulsion was clear in appearance with good yellowish color and stable property. The average particle size was (118.77 ± 0.37) nm, PDI was 0.282 ± 0.02 and Zeta potential was (0.346 ± 0.05) mV. **Conclusion** The results indicated that the multicomponent microemulsion of CMM with different $\log P$ values is optimized and the drug loading was high. The multicomponents microemulsion of CMM with different $\log P$ values ($-1.01 \sim 3.85$) is established and optimized, providing a feasible microemulsion carrier for the multicomponent CMM to simplify its prescription screening work.

Key words: simplex lattice method; oil-water partition coefficients; multicomponent microemulsion; prescription optimization; quality evaluation; osthole; tetramethylpyrazine; ferulic acid; puerarin; geniposide; saturated solubility method; pseudo-ternary diagram

收稿日期: 2017-05-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473365); 北京中医药大学在读研究生自主选题项目 (2017-JYB-XS-078)

作者简介: 徐铃燕 (1993—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: 13552862375 E-mail: xulingyan77@163.com

*通信作者 吴清, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: 13301007297 E-mail: qwu@vip.sina.com

经皮给药系统因其可避免药物的肝脏首关效应和胃肠道破坏,具有恒速释药、安全性高等优点,已经成为药品市场重要的一种剂型^[1-4],也是药剂学研究的重点。中药外用制剂历史悠久,疗效显著,是实现中医“内病外治”理论的重要手段。与西药经皮给药制剂不同,中药经皮给药所用处方多为复方,药味较多,成分复杂,含有大量的不同极性的成分。

一般而言,药物的生物活性由其理化性质或结构特征直接决定。基于大量定量结构-渗透性关系(quantitative structure-permeation relationship, QSPRs)的研究,化合物的正丁醇-水分配系数和相对分子质量预测皮肤通透性的方法被提出,随后更有大量 QSPRs 研究提示化合物分子大小及亲脂性(即油水分配系数, $\log P$ 值)是影响透皮的主要因素^[5-6]。在一定相对分子质量范围内(200~500),分子大小与皮肤通透性关联性小,在皮肤通透性预测中并不重要,因此,这些 QSPRs 研究大多选择相对分子质量较小的药物进行研究。本课题组前期选择了一系列较大范围内不同 $\log P$ 值中药有效成分简化并表征中药外用制剂中复杂有效成分体系,并对其表观油水分配系数进行测定。最终决定选择蛇床子素(osthole, OT)、川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)、阿魏酸(ferulic acid, FA)、葛根素(puerarin, PR)、京尼平苷(geniposide, GP),实测 $\log P$ 值分别为 3.85、2.34、1.26、-0.35、-1.01,包括强亲水性和强亲脂性的有效成分^[7],对中药有效成分进行简化及表征,这 5 种成分亦为中药外用制剂中常用药的有效成分。

微乳处方的前期筛选工作较为繁琐,实验量大,且药剂学一般均采用亲水亲油平衡值(HLB 值)法制备微乳;且微乳制备一般采用伪三元相图^[8-13]的方法。本课题以 OT、TMP、FA、PR 及 GP 为模型药代表中药复杂成分,通过饱和溶解度法筛选了表面活性剂、助表面活性剂及油相,在伪三元相图的基础上采用单纯形网格法优化筛选微乳处方,为含有不同油水分配系数成分的药物提供一个均能使用、合理、可行的微乳载体,以期简化前期空白微乳处方的筛选工作。

1 材料

高效液相色谱,美国 Waters 公司; BT125D 1/10 万电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; 501A 型超级恒温水浴器,上海实验仪器有限

公司; RT10 Power IKA OR-WERKE 多点加热磁力搅拌器,上海大迈仪器有限公司; NANO-ZS 型动态光散射粒径仪,英国马尔文; JEM-1400plus 型透射电子显微镜,日本 JEOL 公司。

对照品 TMP(批号 14003DEV,质量分数 > 98.00%, Sigma-Aldrich 公司); 对照品 FA(批号 20120328,质量分数 > 98.00%), 国药集团化学试剂有限公司; 对照品 OT(批号 20131209)、PR(批号 20131209)、GP(批号 20131209), NCE Biomedical 公司,质量分数均 > 98.00%; Labrasol、Labrafil M 1944 cs, 嘉法狮上海贸易有限公司赠予; 油酸(OA)、肉豆蔻酸异丙酯(IPM)、聚山梨酯 20(Tween 20)、聚山梨酯 80(Tween 80, T80)、丙二醇、聚乙二醇 400(PEG400), 购自天津光复精细化学试剂有限公司; 乙腈, 色谱纯, Sigma 公司; 水, 娃哈哈集团; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 中药不同油水分配系数多成分微乳及其空白微乳的制备

取 Labrasol 3.2 g, 丙二醇 0.8 g, 油酸 0.5 g, 水 5.5 g, 精密称定,置于 50 mL 烧杯中,磁力搅拌混匀,即得空白微乳;精密称取空白微乳 1.0 g,加入 OT 15 mg、TMP 15 mg、FA 15 mg、PR 30 mg、GP 30 mg,磁力搅拌混匀使其完全溶解,得不同油水分配系数多成分微乳。

2.2 定量测定方法建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Merck Lichrospher RP-18e 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.085%磷酸水溶液,洗脱梯度: 0~30 min, 9%乙腈; 30~35 min, 9%~70%乙腈; 35~40 min, 70%~80%乙腈; 40~45 min, 80%~9%乙腈; 45~50 min, 9%乙腈; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 °C; 进样量为 10 μL; 检测波长为 320 nm(OT、FA)、282 nm(TMP)、240 nm(PR、GP)。在上述色谱条件下, OT 保留时间 42.126 min; FA 保留时间 36.254 min; TMP 保留时间 7.732 min; PR 保留时间 33.766 min; GP 保留时间 28.297 min; 且分离度均大于 1.5, 理论塔板数均大于 6 000。

2.2.2 对照品溶液的配制

(1) 对照品储备液的配制: 精密称取各对照品 OT 12.07 mg、TMP 13.52 mg、FA 12.21 mg、PR 13.25 mg、GP 12.23 mg, 分别置于 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得 OT 储备液(质

量浓度 482.8 $\mu\text{g/mL}$)、TMP 储备液(质量浓度 540.8 $\mu\text{g/mL}$)、FA 储备液(质量浓度 488.4 $\mu\text{g/mL}$)、PR 储备液(质量浓度 530.0 $\mu\text{g/mL}$)和 GP 储备液(质量浓度 489.2 $\mu\text{g/mL}$)。

(2) 混合对照品溶液的配制: 精密量取各对照品储备液适量, 置于 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得 OT、TMP、FA、PR 和 GP 混合对照品溶液, 其中 OT 质量浓度 86.904 $\mu\text{g/mL}$ 、TMP 质量浓度 97.344 $\mu\text{g/mL}$ 、FA 质量浓度 87.912 $\mu\text{g/mL}$ 、PR 质量浓度 95.400 $\mu\text{g/mL}$ 、GP 质量浓度 88.056 $\mu\text{g/mL}$ 。

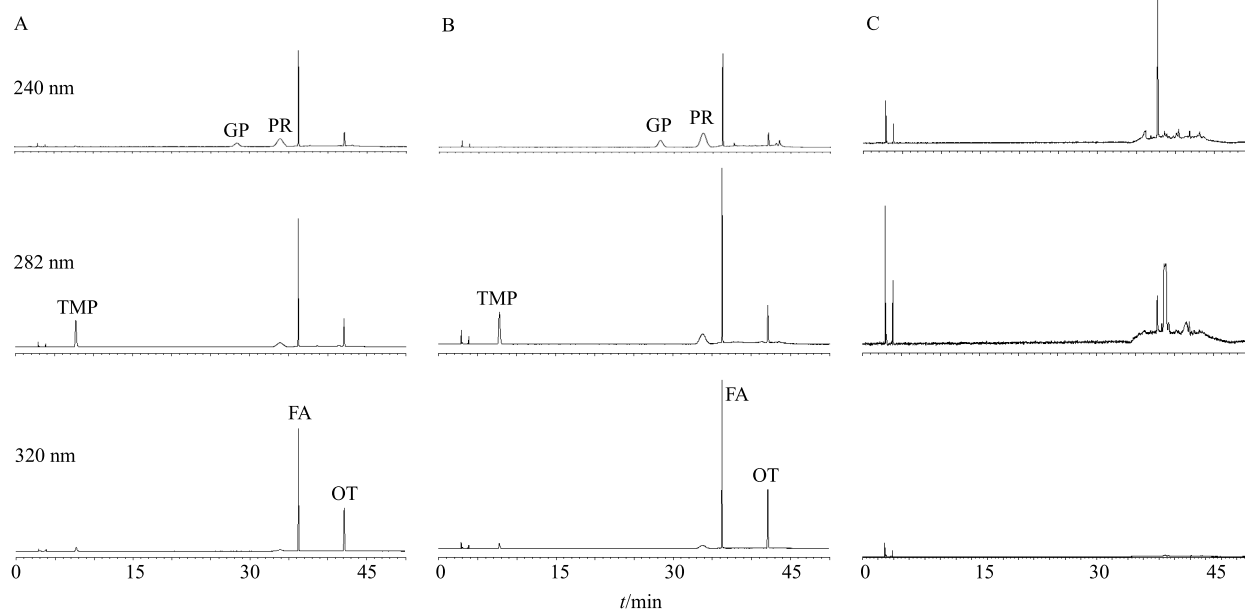


图1 对照品(A)、供试品溶液(B)、空白微乳(C)分别在检测波长为240、282、320 nm的HPLC图

Fig. 1 HPLC of reference substances (A), samples (B), and blank microemulsion (C) at detection wavelengths of 240, 282, and 320 nm

2.2.6 线性关系考察 精密量取混合对照品储备液 0.5、1、2、4、6、8、10 mL, 分别置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成不同质量浓度的混合对照品储备液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定。以化合物质量浓度为横坐标(X), 峰面积积分为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 计算回归方程和相关系数(R^2)。结果 5 种成分的回归方程分别为 OT: $Y=37\ 499 X-380.49$, $R^2=0.999\ 9$; TMP: $Y=19\ 757 X-1\ 881.2$, $R^2=0.999\ 9$; FA: $Y=53\ 990 X-9\ 817.3$, $R^2=0.999\ 9$; PR: $Y=38\ 873 X-32\ 754$, $R^2=0.999\ 9$; GP: $Y=14\ 797 X-21\ 711$, $R^2=0.999\ 6$; 结果表明, OT 在 4.345 2~86.904 0 $\mu\text{g/mL}$ 、TMP 在 4.867 2~97.344 0 $\mu\text{g/mL}$ 、FA 在 4.395 6~87.912 0 $\mu\text{g/mL}$ 、

2.2.3 供试品溶液的配制 取不同油水分配系数多成分微乳约 28 mg, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 空白微乳溶液的配制 取空白微乳约 28 mg, 精密称定, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.5 专属性试验 分别取上述空白微乳溶液、混合对照品溶液及供试品溶液, 按照“2.2.1”项色谱条件进行测定, 记录色谱图。结果表明, 在上述色谱条件下, 空白微乳对活性成分无干扰, 方法专属性良好, 结果见图 1。

PR 在 4.77~95.40 $\mu\text{g/mL}$ 、GP 在 4.402 8~88.056 0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.2.7 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液各 10 μL , 1 d 内按“2.2.1”项色谱条件连续进样测定 6 次, 测得 OT、TMP、FA、PR 和 GP 的峰面积的 RSD 分别为 0.50%、0.64%、0.47%、0.81%、1.01%, 结果表明仪器的日内精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取同一批不同油水分配系数多成分微乳 6 份, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 依“2.2.1”项色谱条件进行测定, 结果 OT、TMP、FA、PR 和 GP 的平均质量分数分别为 13.52、13.84、13.78、27.66、27.89 mg/g, RSD 分别为 0.70%、1.00%、0.96%、1.17%、2.53%, 结果表明方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取样品适量,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,4℃储藏,分别于0、2、4、6、8、10、12、24 h进样检测,结果显示OT、TMP、FA、PR和GP峰面积的RSD分别为0.17%、0.94%、0.30%、1.05%、1.39%,说明供试品溶液制备后24 h内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已知测定指标成分量的样品适量,精密称定,分别精密加入混合对照品溶液(质量浓度见“2.2.2”项下混合对照品溶液的配制)各4、5、6 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成低、中、高3种质量浓度的供试品溶液,每个质量浓度平行3次,得到低、中、高质量浓度的OT的平均回收率分别为101.01%,RSD为1.52%;TMP的平均回收率分别为100.04%,RSD为1.57%;FA的平均回收率分别为96.46%,RSD为1.27%;PR的平均回收率分别为102.67%,RSD为1.19%;GP的平均回收率分别为100.06%,RSD为2.35%;说明方法回收率良好。

2.3 饱和溶解度法筛选油相、表面活性剂及助表面活性剂^[14]

将过量模型药(OT、TMP、FA、PR和GP)分别加入盛有2 mL各种油相、表面活性剂及助表面活性剂的具塞离心管中,涡旋5 min,超声15 min后,放入32℃恒温振荡器中震荡48 h,(此过程均保持离心管中有固体药物存在),取出,10 000 r/min离心10 min,取上清液,用流动相稀释适宜的倍数

后,进液相测定,结果见表1。可见5种模型成分在表面活性剂Labrasol中的溶解度均较大,故选择Labrasol作为表面活性剂。而在助表面活性剂中,丙二醇和PEG400均对5种成分有较大的溶解能力,故需要进一步筛选。在油相的溶解度测定中,发现PR和GP均未有检出,可能因其较大的极性,在油相中不溶或极少溶,故也需要进一步筛选。

2.4 油相的筛选

以Labrasol为表面活性剂,丙二醇和PEG400为助表面活性剂,固定表面活性剂与助表面活性剂的比值(K_m)值为2,混合表面活性剂与油相的比例为6:1,考察油相与混合表面活性剂能否形成微乳,进一步筛选微乳处方,结果见表2。可知,只有以IPM为油相、以Labrasol为表面活性剂、以PEG400为助表面活性剂的微乳处方及以油酸为油相、以Labrasol为表面活性剂、以丙二醇为助表面活性剂的微乳处方能形成均一、透明、稳定的微乳,故接下来需进一步对这2个微乳处方进行筛选。

2.5 伪三元相图的绘制

为进一步筛选微乳处方,在室温下用水滴定法构建伪三元相图。分别考察表面活性剂与助表面活性剂的质量比即 $K_m=1:1、2:1、3:1、4:1、1:2$ 时,混合表面活性剂(S_{mix})与油相按质量比9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9准确称取后,混合,总质量为5 g,置50 mL烧杯中,磁力搅拌混合,同时逐滴加入蒸馏水,当

表1 5种模型药在不同油相、表面活性剂和助表面活性剂中的溶解度

Table 1 Solubility of five model drugs in different oils, surfactants and co-surfactants

类别	溶剂	溶解度/(mg·mL ⁻¹)				
		OT	TMP	FA	PR	GP
油相	IPM	32.13	7.92	12.01	—	—
	Labrafil M 1944 cs	48.78	22.41	7.84	—	—
	油酸	39.93	32.19	5.45	—	—
表面活性剂	聚山梨酯-80	26.56	42.84	34.41	20.48	11.35
	EL-35	22.93	64.71	23.77	6.29	14.29
	Labrasol	114.52	102.42	90.30	56.57	37.76
	聚山梨酯-20	63.08	70.47	1.63	26.56	18.10
助表面活性剂	丙二醇	21.82	149.75	97.02	101.91	194.20
	PEG400	74.98	76.77	116.22	96.04	76.53
	无水乙醇	54.90	197.85	101.03	18.48	90.84
	丙三醇	12.66	3.58	14.70	30.41	29.06

“—”表示成分在该溶剂中的浓度未能达到最低检测限

“—” indicates that the concentration of component in solvent fails to reach the minimum detection line

表 2 不同微乳处方的成乳情况

Table 2 Formation of microemulsion of different prescriptions

油相	表面活性剂	助表面活性剂	是否形成微乳
IPM	Labrasol	PEG400	是
		丙二醇	否
Labrafil M 1944 cs		PEG400	否
		丙二醇	否
油酸		PEG400	否
		丙二醇	是

体系突然由浑浊变为澄清、透明时为微乳，记录恰好形成 O/W 型微乳时的临界水质量，并计算体系中各成分的质量百分比绘制伪三元相图。分别考察上述 2 个处方：IPM（油相）、Labrasol（表面活性剂）、PEG400（助表面活性剂）；油酸（油相）、Labrasol（表面活性剂）、丙二醇（助表面活性剂）；结果见图 2、3。处方 IPM-Labrasol-PEG400-水体系和油酸-Labrasol-丙二醇-水体系在 K_m 值 1 : 2 时，均未能形

成澄清、透明、稳定的微乳，故根据实验结果，最终确定选取处方油酸-Labrasol-丙二醇-水，且 $K_m = 4 : 1$ ；为进一步确定混合表面活性剂、油相和水相的比例，将采用单纯形网格法进行处方优化。

2.6 单纯形网格法优化中药不同油水分配系数多成分微乳处方

将混合表面活性剂、油相和水相的总量定为 100%，参照伪三元相图得到的微乳区域，同时考虑表面活性剂和油相的用量，确定 3 种组分的取值范围为混合表面活性剂 ($K_m=4$, A) 为 35%~40%，油相 (B) 为 5%~10%，水相 (C) 为 55%~60%。以混合表面活性剂、油相及水相的质量比例为考察因素，微乳的外观评分 (Y_1)、粒径 (Y_2) 及多分散指数 (polydispersity index, PDI, Y_3) 为评价指标，采用 Design Expert 8.06 软件中的单纯形网格设计对微乳的处方组成进行实验安排，并进行相关实验评价指标检测，实验设计和测定结果见表 3，外观评分是根据文献报道^[14-16]及实验现象来划分等级并进行评分，具体如下：澄清透明或微泛蓝光，流动性好呈水样，计 5 分；澄清透明无蓝光，黏稠，计 4

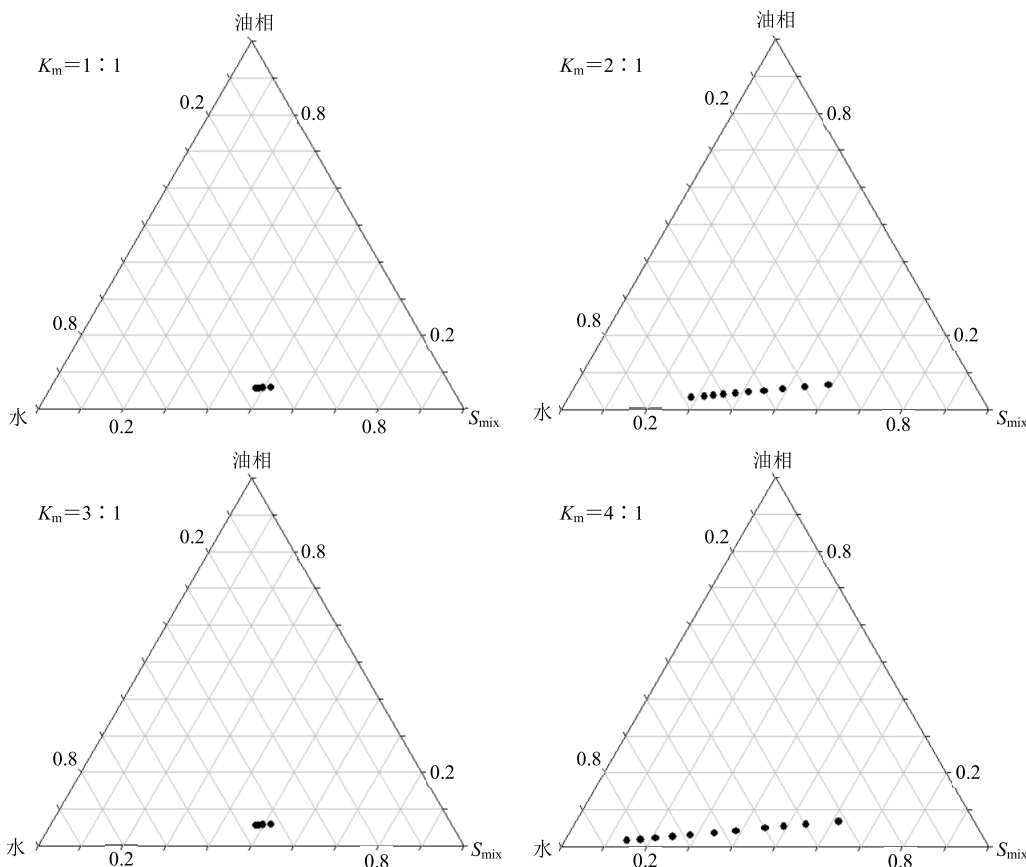


图 2 IPM-Labrasol-PEG400-水体系不同 K_m 值的伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams of IPM-Labrasol-PEG400-water

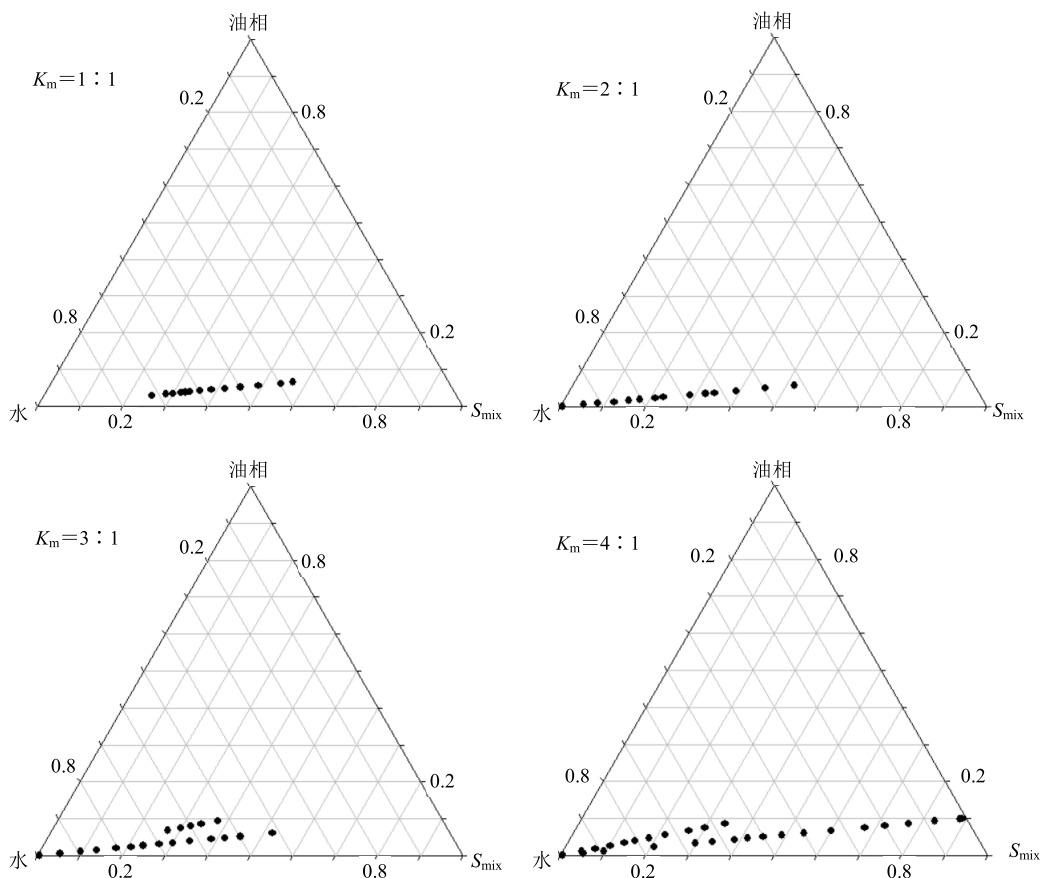


图 3 油酸-Labrasol-丙二醇-水体系不同 K_m 值的伪三元相图

Fig. 3 Pseudo-ternary phase diagrams of oleic acid-Labrasol-Propylene glycol-water

表 3 单纯形网格法优化试验设计及结果

Table 3 Design and results of SLD optimal experiment

试验号	A/%	B/%	C/%	Y_1	Y_2/nm	Y_3
1	35.83	8.33	55.83	4	139.42	0.62
2	35.00	5.00	60.00	5	71.44	0.13
3	35.00	5.00	60.00	5	71.68	0.21
4	40.00	5.00	55.00	5	80.92	0.22
5	40.00	5.00	55.00	5	85.18	0.18
6	36.67	6.67	56.67	4	46.30	0.26
7	35.00	10.00	55.00	1	613.00	0.71
8	35.00	10.00	55.00	1	559.80	0.59
9	37.50	5.00	57.50	5	72.82	0.18
10	38.33	5.83	55.83	5	76.58	0.10
11	35.83	5.83	58.33	4	68.54	0.17
12	37.50	7.50	55.00	4	210.40	0.77
13	37.50	7.50	55.00	4	91.98	0.58
14	35.00	7.50	57.50	2	54.52	0.49

分；蓝白色溶液，流动性好，计 3 分；凝胶状，几乎不能流动，计 2 分；乳白色溶液，计 1 分。

2.7 数据模型拟合及响应面分析

运用 Design Expert 8.06 软件，以混合表面活性剂 (A)、油相 (B)、水相 (C) 为自变量，外观评分 (Y_1)、粒径 (Y_2)、PDI (Y_3) 为评价指标进行多元回归模型拟合及优化，即可得到如下相应评价指标的响应方程 $Y_1=0.172\ 51\ A-0.627\ 49\ B+0.030\ 807\ C$, $R^2=0.828\ 2$, $P<0.000\ 1$; $Y_2=-97.019\ 18\ A+3\ 461.769\ 12\ B+13.335\ 43\ C-29.959\ 07\ AB+1.910\ 05\ AC-44.674\ 87\ BC$, $R^2=0.963\ 8$, $P<0.000\ 1$; $Y_3=-9.333\ 07\ A-98.763\ 89\ B-4.052\ 55\ C+2.943\ 77\ AB+0.258\ 86\ AC+1.866\ 03\ BC-0.052\ 835\ ABC$, $R^2=0.922\ 2$, $P=0.001\ 4$ 。结果显示，响应模型的 P 值均远小于 0.05，表明响应回归模型达到了极显著水平；模型的回归方程系数 R^2 分别为 0.828 2、0.963 8、0.922 2，表明模型拟合度良好。

根据回归分析结果，绘制自变量与响应值关系的二维等高线和三维响应面图，见图 4。从图 4-a 可以看出，油相对微乳外观评分的影响最显著，随着油相用量的增加，外观评分逐渐降低，且变化幅

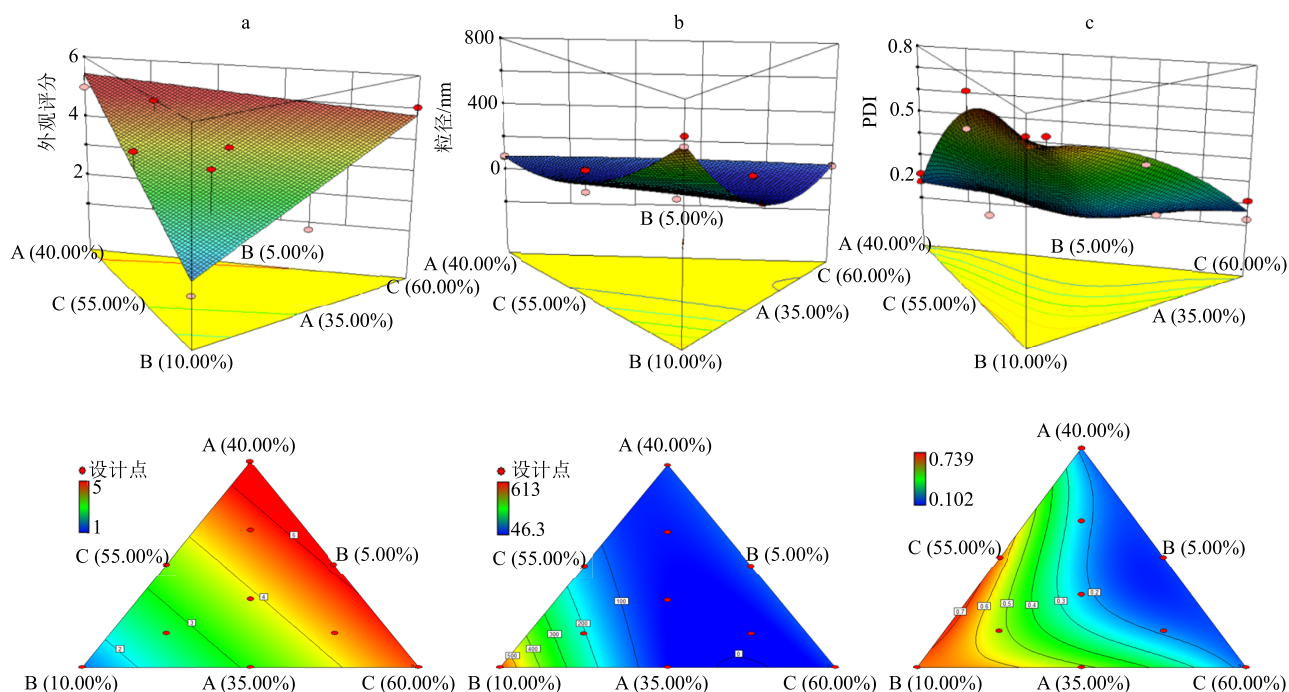


图 4 各因素对评价指标影响的响应面图和等高线图

Fig. 4 Response surface plots and contour maps for dependent responses

度较大；而随着混合表面活性剂用量的增加，外观评分逐渐增加；随着水相的增加，外观评分亦逐渐增加，但变化幅度均较小。从图 4-b 可以看出，仍是油相对粒径的影响最为显著，随着油相用量的增加，粒径逐渐增大，且变化幅度较大；而随着表面活性剂和水相的增加，粒径逐渐变小，但是变化幅度不明显。从图 4-c 可以看出，油相对 PDI 的影响最显著，随着油相用量的增加，PDI 逐渐增大，且变化幅度较大；而随着表面活性剂和水相用量的增加，PDI 逐渐变小，但是变化幅度较小。

2.8 最优处方组成的确定

为确定空白微乳处方中混合表面活性剂、油相和水相 3 个影响因素的最佳取值，根据单纯形算法，以外观评分越大，粒径和 PDI 越小的要求为优化指标，通过 Design Expert 8.06 软件数据处理优化预测最佳条件，得出模型的最优点。通过各个指标权重的设计，最终得到 2 个理论较优处方：处方 1 最优评分 0.967，处方 2 最优评分为 0.958，2 个处方的

比例及综合评分值见表 4。可知，处方 1 和处方 2 的综合评分相差不大，且外观评分及 PDI 的预测值均相差不大，但是处方 2 的粒径较处方 1 小，因此中药不同 logP 值多成分微乳粒径越小越好，故最终选择处方 2 进行处方验证。

2.9 优化处方的验证

根据单纯形网格法优化出的最优处方：油相 5.303%、混合表面活性剂 ($K_m=4:1$) 36.670% 和水相 58.027% 的处方组成，重新制备中药不同油水分配系数多成分微乳并观察其外观，进行粒径、PDI 的测定，平行 3 次试验，结果见表 5。方程的预测值与实测值的偏差均小于 10%，说明方程预测性良好。故最终得到空白微乳的处方：Labrasol 29.336%，丙二醇 7.334%，油酸 5.305%、水 58.025%。

2.10 中药不同油水分配系数多成分微乳的制备

按照空白处方称取处方量的油相、混合表面活性剂和水相，搅拌均匀。精密称取空白微乳 2.0 g，加入过量的 OT、TMP、FA、PR、GP，磁力搅拌

表 4 理论优化处方

Table 4 Optimal theory of prescriptions

处方	油相/%	混合表面活性剂/%	水相/%	外观评分	粒径/nm	PDI	综合评分
1	5.209	37.743	57.047	5.000	78.170	0.129	0.967
2	5.303	36.670	58.027	4.790	65.040	0.127	0.958

表 5 优化验证处方的实测值与预测值比较 ($n = 3$)
Table 5 Comparison on predicted and measured values of optimal verification prescription ($n = 3$)

评价指标	预测值	实测值	偏差/%
外观评分	4.79	5.00±0.00	4.50
粒径/nm	65.04	70.16±2.46	7.87
PDI	0.13	0.13±0.01	1.57

30 min, 使其混合均匀, 室温放置 12 h, 达到溶解平衡, 以 4 000 r/min 离心 20 min 后取上清液, 取上清液 0.1 g, 加甲醇超声 20 min, 于 100 mL 量瓶中定容, 摇匀, 按色谱条件进行测定。结果表明, 中药不同油水分配系数多成分微乳中 OT 最大载药量为 19.14 mg/g, TMP 最大载药量 24.51 mg/g, FA 最大载药量 22.54 mg/g, PR 最大载药量 33.24 mg/g, GP 最大载药量 33.97 mg/g。

2.11 中药不同油水分配系数多成分微乳质量评价

2.11.1 结构类型的鉴别 微乳的鉴别采用染色法, 利用红色油性染料苏丹红 I 和蓝色水溶性染料亚甲蓝在微乳中扩散快慢来判断, 取中药不同油水分配系数多成分微乳 2 份, 分别加入等量的苏丹红 I 和亚甲蓝染料, 结果亚甲蓝的扩散速度大于苏丹红 I, 为 O/W 型微乳。

2.11.2 粒径分布和 Zeta 电位 取中药不同油水分配系数多成分微乳适量, 采用马尔文动态光散射粒径仪检测中药不同油水分配系数多成分微乳的平均粒径和 Zeta 电位, 结果表明, 中药不同油水分配系数多成分微乳的粒径为 (118.77±3.37) nm, PDI 为 0.282±0.020, Zeta 电位为 (0.346±0.050) mV。

2.11.3 初步稳定性研究 稳定性实验采用 10 000 r/min 离心 30 min 检测; 加速稳定性实验将微乳放置于 4 °C 储存 24 h、32 °C 储存 24 h 进行 3 个循环。结果表明, 离心后微乳外观仍呈现出澄清、透明, 冷冻循环之后微乳亦没有发生相分离、乳化、凝聚、转相现象。

3 讨论

因本实验制备的中药不同油水分配系数多成分微乳采用从强亲脂性到强亲水性的一系列模型药代表中药复杂体系, 故在微乳处方的选择及组分间适当比例的确定尤为关键。本实验选取了单纯形网格法对微乳的处方进行优化, 采用尽可能少的实验次数准确预测试验区域内其他点的性能; 该法设计方法特别适合各因素总量为恒定的实验^[17-18], 可

以保证相互影响的各因素之和恒定, 且在一定的范围内可以不用确定每个因素的具体数值, 只需要确定各因素在总制剂中所占的比例范围, 大大简化了实验操作^[19]。因本研究制备中药不同油水分配系数多成分微乳的目的是为了今后研究微乳对中药复杂成分的促透作用及其机制, 故微乳的载药量并非制备微乳所需要考虑的关键因素; 故本研究采用了外观、粒径及 PDI 3 个关键处方因素, 通过单纯形网格法进行实验设计和模型构建, 并采用响应面数据分析优化和验证最佳微乳处方, 实验次数少, 结果准确。

本研究前期通过饱和溶解度法筛选 4 种表面活性剂、4 种助表面活性剂和 4 种混合表面活性剂, 结果显出 Labrasol 作为微乳的表面活性剂, 对系列模型药有更大的饱和溶解度, 因此选择 Labrasol 为表面活性剂。

中药外用制剂历史悠久, 疗效显著, 其方多为复方, 药味较多, 成分复杂, 难以对其成分进行研究。现代药物经皮定量构效关系 QSPRs 研究分析得出, 在一定相对分子质量范围 (200~500) 内, 分子大小与皮肤通透性关联性小, 在皮肤通透性测试中并不重要。药物的油水分配系数是影响药物透皮吸收的主要因素。因此, 本研究选取了一系列较大范围内的不同油水分配系数中药有效成分, 简化并表征中药外用制剂中复杂成分的促透作用特征。采用单纯形网格法成功制备并优化了中药不同 log P 值 (-1.01~3.85) 多成分微乳, 为此范围内的不同 log P 值成分的中药提供了均能使用的、合理、可行的微乳载体, 简化前期大量的微乳处方筛选工作。

参考文献

- [1] 晏雨露, 徐 驿, 赵继会, 等. 微针辅助条件下葛根素微乳的经皮吸收研究 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 95-101.
- [2] 郑 银, 王亚静. 芒果苷脂质体的理化性质和体外经皮渗透性能的研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(2): 147-150.
- [3] 叶 菲, 许东航. 肉桂提取物醇质体透皮吸收研究 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(2): 119-122.
- [4] 朱亚楠, 王 满, 王璐璐, 等. 含聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯的秋水仙碱醇质体的制备及其体外透皮效果研究 [J]. 中草药, 2015, 46(24): 3655-3660.
- [5] Moss G P, Cronin M T. Quantitative structure-permeability relationships for percutaneous absorption: Re-analysis of steroid data [J]. *Int J Pharm*, 2002, 16(3): 299-317.

- [6] Walker J D, Rodford R, Patlewicz G. Quantitative structure-activity relationships for predicting percutaneous absorption rates [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2003, 22(8): 1870-1884.
- [7] 兰 颀. 挥发油对中药成分经皮促透规律及其作用机制的初步研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [8] 管咏梅. 雷公藤微乳凝胶经皮给药系统的设计与评价 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- [9] 杨蒙蒙, 张 琰, 刘新友, 等. 中药挥发油微乳与伪三元相图的研究 [J]. *中药材*, 2011, 34(8): 1288-1292.
- [10] 王 琼, 兰 颀, 陈岩岩, 等. 止痛微乳制剂制备与处方优化 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(2): 222-229.
- [11] Gu C, Hu C, Ma C, *et al.* Development and characterization of solid lipid microparticles containing vitamin C for topical and cosmetic use [J]. *Eur J Lipid Sci Tech*, 2016, 118(7): 1093-1103.
- [12] Zheng Y, Ouyang W Q, Wei Y P, *et al.* Effects of Carbopol® 934 proportion on nanoemulsion gel for topical and transdermal drug delivery: A skin permeation study [J]. *Int J Nanomed*, 2016, 11: 5971-5987.
- [13] Xu Z, Jin J, Zheng M, *et al.* Co-surfactant free microemulsions: Preparation, characterization and stability evaluation for food application [J]. *Food Chem*, 2016, 204: 194-200.
- [14] Hussain A, Samad A, Singh S K, *et al.* Nanoemulsion gel-based topical delivery of an antifungal drug: *In vitro* activity and *in vivo* evaluation [J]. *Drug Deliv*, 2014, 23(2): 1-16.
- [15] Duangjit S, Mehr L M, Kumpugdeevollrath M, *et al.* Role of simplex lattice statistical design in the formulation and optimization of microemulsions for transdermal delivery [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(12): 1948-1957.
- [16] Sallam M A, Motawaa A M, Mortada S M. A modern approach for controlled transdermal delivery of diflunisal: optimization and *in vivo* evaluation [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, 39(4): 600-610.
- [17] Zhu W, Yu A, Wang W, *et al.* Formulation design of microemulsion for dermal delivery of penciclovir [J]. *Int J Pharm*, 2008, 360(1/2): 184-190.
- [18] Gao Y, Wang Y, Ma Y, *et al.* Formulation optimization and *in situ* absorption in rat intestinal tract of quercetin-loaded microemulsion [J]. *Colloid Surface B*, 2009, 71(2): 306-314.
- [19] 李秋萍, 戴俊东, 翟文文, 等. 单纯形网格法优化设计姜黄素-胡椒碱复方自微乳制剂处方 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(20): 3936-3944.