

• 药剂与工艺 •

三七跌打软膏的制备及体外透皮特性研究

江敏瑜³, 闫丹³, 陈娇³, 王云红², 张琳³, 杨荣平^{1*}, 张传辉^{2*}

1. 西南大学药学院, 重庆 400715

2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065

3. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

摘要: 目的 优化三七跌打软膏剂基质处方并对其体外透皮特性进行研究。方法 在预试验的基础上, 采用 Box-Behnken 法, 以外观性状、高温实验、低温实验、离心实验评分为指标优化三七跌打软膏基质最优处方, 采用改良 Franz 扩散池法, 以血竭素、人参皂苷 Rg₁、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb₁ 为评价指标, 考察不同薄荷醇促渗剂对软膏体外透皮渗透量的影响。结果 三七跌打软膏最优处方为十二烷基硫酸钠-硬脂醇-凡士林 (1.61 : 26.72 : 27.10); 不同浓度的促渗剂对血竭素、人参皂苷 Rg₁、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb₁ 促渗效果均较好, 3% 的促渗剂对指标成分促渗效果及制剂稳定性较好, 体外透皮速率依次为 3.971、6.368、0.415、2.780 μg/(cm²·h)。结论 优化的三七跌打软膏剂膏体均匀, 稠度适宜, 易涂布, 具有较好的释药性和透皮性, 透皮行为符合零级动力学过程。

关键词: 软膏; Box-Behnken; 薄荷醇; HPLC; 透皮吸收

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)22-4639-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.22.008

Optimization for prescription of Sanqi Traumatic Ointment by Box-Behnken test design and research on its transdermal permeability *in vitro*JIANG Min-yu³, YAN Dan³, CHEN Jiao³, WANG Yun-hong², ZHANG Lin³, YANG Rong-ping¹, ZHANG Chuan-hui²

1. College of Pharmacy, Southwest University, Chongqing 400715, China

2. Chongqing Academy of Chinese Traditional Materia Medica, Chongqing 400065, China

3. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To prepare Sanqi Traumatic Ointment (STO) and study its transdermal permeation properties *in vitro*. **Methods** In this paper, the appearance description, high-temperature test, low-temperature test and centrifugal test were taken as indexes. Based on the result of a single factor experiment, the formula for the STO was optimized by Box-Behnken test. Franz diffusing cells method was chosen to investigate the transdermal infiltration capacity of ointment with different mentha camphor penetration enhancers' *in vitro*, taking dracorhodin, ginsenoside Rg₁, asperosaponin VI, and ginsenoside Rb₁ as index components. **Results** The optimal ratio of the prescription was as follows: lauryl sodium sulfate-stearyl alcohol-vaseline (1.61 : 26.72 : 27.10). The promoting effect of different concentration of penetration enhancers on dracorhodin, ginsenoside Rg₁, ginsenoside VI, and asperosaponin Rb₁ penetration were better; The promoting effect of 3% concentration for index component was better, and this preparation had good stability; The transdermal rates of dracorhodin, ginsenoside Rg₁, asperosaponin VI, and ginsenoside Rb₁ were 3.971, 6.368, 0.415, and 2.780 μg/(cm²·h).

收稿日期: 2017-04-10

基金项目: 重庆市科委应用开发重大项目 (cstc2014yykfC10006)

作者简介: 江敏瑜 (1993—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药制剂新剂型、新技术。Tel: 17623088127 E-mail: katty1993@163.com

*通信作者 杨荣平, 女, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药制剂新剂型、新技术及中药制剂分析研究。

Tel: (023)89029056 E-mail: yangrp@cqcmm.com

张传辉, 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事中药制剂新剂型、新技术及中药制剂分析研究。

Tel: (023)89029056 E-mail: sdutcm20084@cqcmm.com

Conclusion STO had a good release and transdermal properties, and transdermal actions were consistent with zero-order kinetics.

Key words: ointment; Box-Behnken; mentha camphor; HPLC; transdermal absorption

急性软组织损伤为中医骨伤科常见病症之一,基本病机为气滞血瘀、络脉不和,中医治疗急性软组织损伤常外用活血祛瘀、消肿定痛药物,内服活血、行气止痛、滋补药物^[1-4],以达到标本兼治的效果,具有独特的优势和特色。三七跌打软膏(Sanqi Traumatic Ointment, STO)由三七、续断等11味药组成,具有活血化瘀、消肿止痛之功效,主要用于跌打损伤、筋断骨折、淤血肿痛的治疗,临床疗效确切。然而处方药味多以细粉入药,存在药物释放不完全,质量可控性差,使用不便等问题。本研究应用现代制药技术,在自制处方提取物的基础上以外观性状、高温实验、低温实验、离心实验评分为指标,采用Box-Behnken法优化设计软膏剂基质处方^[5],并对含不同浓度促渗剂的软膏体外透皮吸收行为进行研究^[6-10],以期三七跌打软膏剂的进一步研究提供参考。

1 仪器与材料

XP26 微量电子天平,瑞士Mettler Toledo电子天平公司;CP225D型电子分析天平,德国赛多利斯公司;LC-20AT高效液相色谱仪,日本岛津公司;HH系列恒温水浴锅,江苏金坛中大仪器厂;SB500粉碎机,上海广沙工贸有限公司;79HW-1型恒温磁力搅拌器,江苏金坛市金城国胜实验仪器厂;TP-3A智能药物透皮扩散试验仪,河南佳创仪器设备有限公司;KQ-50B型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DY89-1型电动玻璃匀浆机,宁波新芝生物科技股份有限公司。

三七 *Notoginseng Radix et Rhizoma* (批号渝20100061)、红花 *Carthami Flos* (批号渝20100061)、续断 *Dipsaci Radix* (批号渝20100061)、狗脊 *Cibotii Rhizoma* (批号渝20100061)、五加皮 *Acanthopanax Cortex* (批号渝20100061)、乳香 *Olibanum* (批号渝20100061)、没药 *Myrrha* (批号渝20100061)和血竭 *Draconis Sanguis* (批号JY20120042)分别由四川青神康华制药有限公司、新加坡华诚行提供,经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定,所用药材均符合《中国药典》2015年版要求。

单硬脂酸甘油酯(批号20150510),河南思远生物科技有限公司;石蜡(批号20141216),扬州市长浦化学试剂有限公司;双硬脂酸铝(批号

049400006080),鲁川化工有限公司;蜂蜡(批号F20100623),国药集团化学试剂有限公司;氢氧化钙(批号20150514),天津恒兴化学试剂制造有限公司;司盘-60(批号160115),上海展云化工有限公司;三乙醇胺(批号20150401)、液体石蜡(批号20150401),重庆川东化工集团有限公司;PEG200(批号20110613)、PEG6000(批号2014081201)、聚山梨酯-80(批号2016042001)、硬脂醇(批号2014082101),成都科龙化工试剂厂;丙二醇(批号P1147103)、十二烷基硫酸钠(批号P1147098)、凡士林(批号P1150243)、羊毛脂(批号P1147101)、十八醇(批号P1150241)、薄荷醇(批号P1147099),阿达玛斯试剂有限公司;甘油,湖南尔康制药有限公司,批号000120120519;对照品川续断皂苷VI(批号111685-201506,质量分数90.2%)、人参皂苷Rg₁(批号110703-201530,质量分数91.7%)、人参皂苷Rb₁(批号110704-201424,质量分数93.7%)、血竭素(批号110745-201506,质量分数98.6%),中国食品药品检定研究院;自制超纯水;自制中药提取物,三七、红花、续断、狗脊、五加皮、乳香、没药制备流浸膏,川续断皂苷VI、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁质量分数经HPLC检测质量分数分别不低于0.28%、1.13%、1.38%。

昆明种小鼠,雄性,体质量18~22 g,由重庆市中药研究院实验动物中心提供,合格证号为SCXK(渝)2016-0009。

2 方法与结果

2.1 软膏的制备

硬脂醇、凡士林、羊毛脂80℃加热至融化,作为油相;丙二醇、十二烷基硫酸钠、水加热至80℃,作为水相;将水相加至同温度油相中搅拌均匀,备用;再将PEG 6000 80℃融化后加入极细粉的血竭、自然铜粉末混匀,加入同温度的浓缩药液,搅拌均匀;将上述药膏加至基质中,搅拌均匀,温度下降至50℃时,加入冰片的乙醇溶液,搅拌至冷凝,即得。平行制备3份样品。

2.2 软膏评价方法的建立

2.2.1 指标的测定^[11] 外观性状评分(Y₁)标准:膏体均匀、细腻易涂布3分;膏体颗粒感,易涂布2分;膏体质硬、不易涂布或膏体偏稀1分;油水分

0.000 1, $R^2=0.975\ 0$, 拟合的响应面回归模型具有极显著差异, 模型的预测值与实验值的相关性高, 可以很好地描述实验结果, 拟合 2 次项方程: $Y=1.01+3.06\ X_1+2.51\ X_2-0.019\ X_3-0.42\ X_1X_2-0.56\ X_1X_3+0.70\ X_2X_3-2.05\ X_1^2-1.35\ X_2^2-0.37\ X_3^2$ 。

2.4.2 方差分析 由表 3 可知, 此模型 $P<0.001$, $R^2=0.975\ 0$, 说明该模型非常显著可以很好地描述试验结果。同时模型的失拟项 $P=0.402\ 8>0.05$, 表明失拟项没有显著性差异, 模型的实际值与预测值不拟合发生的概率低, 该模型显著且拟合方程对试验结果预测性好。上述拟合方程中各项系数绝对值的大小直接反映了各因素对指标值的影响程度, 系数的正负反映了其影响的方向。各因素对模型影响顺序依次为 $X_1>X_2>X_3$, 即十二烷基硫酸钠>硬脂醇>凡士林, 其中 X_1 、 X_2 的 P 值均小于 0.000 1 对模型具有极显著性影响, 十二烷基硫酸钠、硬脂

醇是影响软膏剂的最主要因素, 在各因素交互作用中 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 的 P 值均小于 0.05, 表明各个因素之间存在较为显著的交互作用。

2.4.3 效应面绘制及预测 效应面 3D 图以及二维等高线图可直观地反应最优条件下各因素的取值和因素间交互作用的强弱。二维图等高线呈椭圆形且越密集, 表明影响因素交互作用强, 响应值大, 响应面 3D 图越弯曲、陡峭表明交互作用明显。反之, 交互作用弱。本实验根据“2.4.2”项下结果, 绘制效应面的 3D 图及二维图, 见图 1。

由二维图可知各因素取值均在较佳范围内, 表明在单因素筛选的基础上进行优化设计具有一定的科学性。其中 X_1 、 X_2 、 X_3 之间存在较强的交互作用和方差分析的结果相一致。 X_1 、 X_2 、 X_3 为影响软膏的主要因素, Design-Expert 软件优选出软膏最佳基

表 3 响应面实验方差分析

Table 3 ANOVA of response surface experiment

误差来源	离均差平方和	自由度	F 值	P 值	误差来源	离均差平方和	自由度	F 值	P 值
模型	8.770	9	70.420	<0.000 1	X_1^2	3.510	1	253.330	<0.000 1
X_1	2.790	1	201.660	<0.000 1	X_2^2	1.520	1	109.530	<0.000 1
X_2	0.970	1	70.210	<0.000 1	X_3^2	0.110	1	8.030	0.025 2
X_3	0.005	1	0.004	0.951 9	残差	0.097	7		
X_1X_2	0.140	1	10.160	0.015 3	失拟	0.047	3	1.250	0.402 8
X_1X_3	0.250	1	18.060	0.003 8	纯误差	0.050	4		
X_2X_3	0.390	1	28.230	0.001 1	总值	8.870	16		

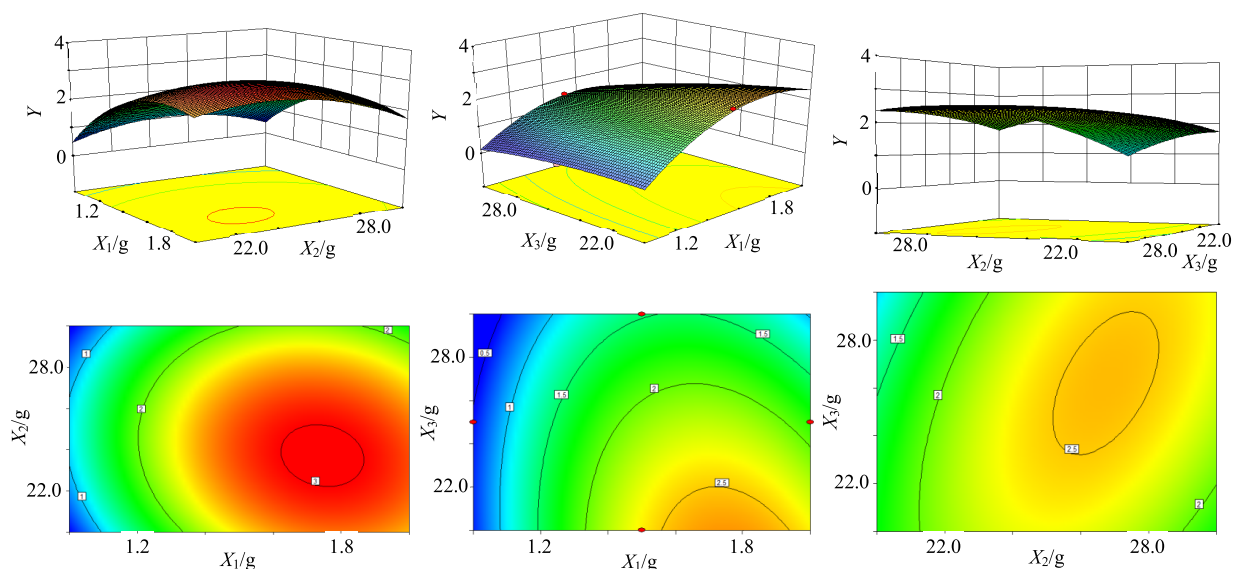


图 1 十二烷基硫酸钠 (X_1)、硬脂醇 (X_2)、凡士林 (X_3) 交互作用二维等高图和效应面 3D 图

Fig. 1 Response surface graph (3D) and contour plot illustrating effect of lauryl sodium sulfate (X_1), vaseline (X_2), and stearyl alcohol (X_3)

质比例为十二烷基硫酸钠-硬脂醇-凡士林 (1.61 : 26.72 : 27.10), 共制备软膏 1 000 g。

2.4.4 验证试验 按软件优化出的最优基质用量分别称取处方量的辅料, 按照“2.1”项下制备方法制备软膏, 进行综合评分, 结果见表 4。结果表明, Box-Behnken 法建立的模型具有良好的预测性。

2.4.5 软膏载药性能的考察 在确保软膏剂的外观及稳定性前提下, 按照“2.4.3”及“2.1”项下处方和方法分别制备不同载药量 (20%、30%、40%) 的软膏, 对软膏进行综合评分, 考察软膏的载药性能, 结果见表 5。结果表明, 软膏载药量在 20%~30% 时软膏外观均匀细腻, 易涂布, 理化性质稳定, Y

较高。软膏的性能较为稳定, 当载药量达到 40% 时, 软膏的性能变化明显, 载药量初步定为 30%。为了保证制剂的疗效, 应尽可能减少基质的用量而增加药物的用量, 最终确定载药量为 30%。

表 4 Box-Behnken 优化法的验证 ($n = 3$)

Table 4 Verification of Box-Behnken ($n = 3$)

名称	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y	预测值	偏差/%
1	3	2	3	3	2.75	3.00	2.78
2	3	3	3	3	3.00		
3	3	3	3	3	3.00		

偏差 = (预测值 - 实测值) / 预测值

deviation = (predicted values - measured values) / predicted values

表 5 载药性能的考察 ($n = 3$)

Table 5 Effect of ointment on different amount of drug loading ($n = 3$)

载药量/%	Y_1 (评分)	Y_2 (评分)	Y_3 (评分)	Y_4 (评分)	Y
20	无变化 (3)	无变化 (3)	无变化 (3)	均匀细腻 (3)	12
30	无变化 (3)	无变化 (3)	无变化 (3)	均匀细腻 (3)	12
40	无变化 (3)	软化 (2)	析出油滴 (1)	粗糙 (2)	8

2.5 定量测定方法的建立

2.5.1 供试品溶液的制备

(1) 供试品溶液 1 制备: 取软膏约 10 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加甲醇 30 mL 超声提取 2 次, 每次 30 min, 滤过, 合并滤液, 挥干。残渣加入氨水 20 mL 溶解, 加醋酸乙酯萃取 2 次, 每次 40 mL, 弃去醋酸乙酯层, 氨水溶液层加水饱和并正丁醇萃取 3 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 挥干, 残渣用甲醇溶解并定容至 50 mL, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

(2) 供试品溶液 2 制备: 取软膏约 1 g, 精密称定, 置于棕色具塞锥形瓶中, 加入 3% 磷酸甲醇溶液 30 mL, 密封, 用超声提取 30 min, 滤过, 取滤液, 置于棕色量瓶中, 洗涤滤渣, 合并滤液, 定容至 50 mL, 即得。

2.5.2 对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷 R_{g1} 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 R_{b1} 适量, 用甲醇溶解分别制成含人参皂苷 R_{g1} 0.75 mg/mL、川续断皂苷 VI 0.55 mg/mL、人参皂苷 R_{b1} 0.75 mg/mL 的混合对照品溶液, 即得; 另取血竭素高氯酸盐对照品适量, 精密称定, 置于棕色量瓶中, 加 0.3% 磷酸甲醇溶液制成含血竭素 10 μ g/mL 的对照品溶液, 即得。

2.5.3 色谱条件

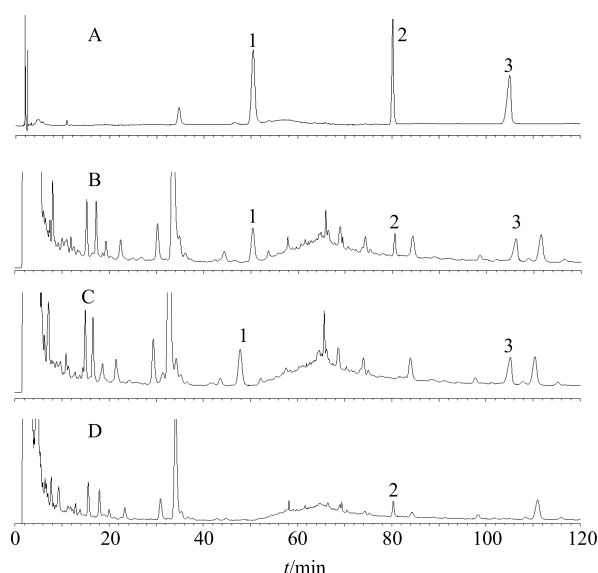
(1) 色谱条件 1: Speax Bio- C_{18} 色谱柱 (250

mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~20 min, 20%~22% 乙腈; 20~25 min, 22%~23% 乙腈; 25~40 min, 23%~30% 乙腈; 40~60 min, 30% 乙腈; 60~80 min, 30%~40% 乙腈; 80~90 min, 40% 乙腈; 体积流量 1 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 检测波长 203 nm。上述色谱条件下, 各组分离度良好, 色谱图见图 2。

(2) 色谱条件 2: Ultimate XB- C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠水溶液 (40:60), 等度洗脱, 体积流量 1 mL/min; 检测波长 440 nm; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 上述色谱条件下, 各组分离度良好, 色谱图见图 3。

2.5.4 线性关系考察 取“2.5.2”项下混合对照品溶液适量, 用甲醇分别稀释成系列质量浓度混合对照品溶液, 其中人参皂苷 R_{g1} 分别为 0.024、0.047、0.094、0.190、0.380、0.750 mg/mL, 川续断皂苷 VI 分别为 0.017、0.034、0.069、0.137、0.270、0.550 mg/mL, 人参皂苷 R_{b1} 分别为 0.024、0.048、0.095、0.190、0.380、0.760 mg/mL, 血竭素为 4.3、8.6、17.0、34.0、69.0、130.0 μ g/mL。精密吸取上述混合对照品溶液 10 μ L, 进样, 按“2.5.3”项下对应色谱条件测定峰面积。

以各成分峰面积 (Y) 对进样量 (X) 进行线性回归, 得回归方程: 人参皂苷 R_{g1} $Y = 393\,751 X -$



1-人参皂苷 Rg_1 2-川续断皂苷 VI 3-人参皂苷 Rb_1
1-ginsenoside Rg_1 2-asperosaponin VI 3-ginsenoside Rb_1

图2 混合对照品溶液 (A)、STO 供试品溶液 1 (B)、缺续断阴性对照溶液 (C)、缺三七阴性对照溶液 (D) 的 HPLC 图
Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A), STO samples (B), *Dipsaci Radix* negative samples (C), and *Notoginseng Radix et Rhizoma* negative samples (D)

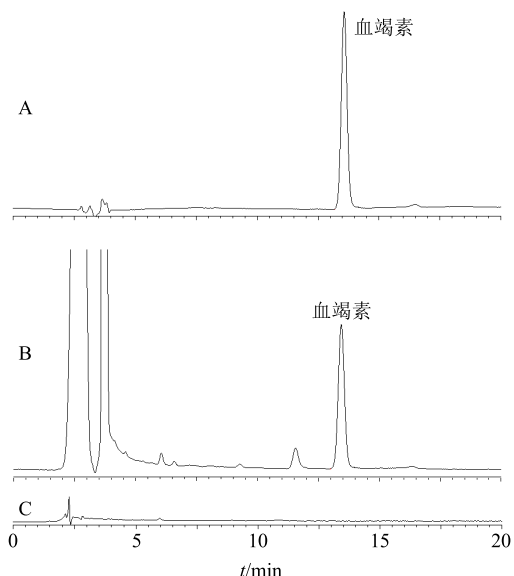


图3 血竭素对照品溶液 (A)、STO 供试品溶液 2 (B)、缺血竭阴性对照溶液 (C) 的 HPLC 图
Fig. 3 HPLC of dracorhodin perchlorate reference substance (A), STO sample (B), and *Draconis Sanguis* negative sample (C)

29 761, $r=0.9999$, 线性范围 0.24~7.55 μg ; 川续断皂苷 VI $Y=396\,639X-2\,128$, $r=1.0000$, 线性范围 0.17~5.49 μg ; 人参皂苷 Rb_1 $Y=267\,300X-$

13 472, $r=0.9999$, 线性范围 0.24~7.61 μg ; 血竭素 $Y=2\,233\,026X+12\,703$, $r=0.9999$, 线性范围 0.043~1.374 μg 。

2.5.5 精密度试验 按照“2.5.3”项下色谱条件, 分别精密吸取同一对照品溶液 (人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素质量浓度分别为 0.380、0.270、0.380、0.069 mg/mL) 10 μL , 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素峰面积的 RSD 分别为 1.31%、0.92%、1.87%、0.41%, 表明仪器精密度良好。

2.5.6 重复性试验 按照“2.5.1”项下方法分别制备供试品溶液, 各重复制备 6 份, 按照“2.5.3”项下相应的色谱条件于不同时间注入液相色谱仪, 进样测定, 计算质量分数。结果人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素质量分数的 RSD 分别为 0.64%、1.13%、1.55%、1.07%, 表明供试品溶液制备方法重复性良好。

2.5.7 稳定性试验 分别精密吸取“2.5.1”项下方法制备的供试品溶液各 10 μL , 按照“2.5.3”项下相应的色谱条件于 0、4、6、8、10、12、24 h 注入液相色谱仪, 记录峰面积。结果人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素峰面积的 RSD 分别为 1.09%、0.96%、1.10%、1.16%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.8 加样回收率试验 分别取本品 6 份, 精密称定, 分别精密加入人参皂苷 Rg_1 (0.14 mg/mL)、川续断皂苷 VI (0.044 mg/mL)、人参皂苷 Rb_1 (0.12 mg/mL) 混合对照品溶液, 按照“2.5.1 (1)”项下方法 1 制备供试品, 进样测定, 计算得三七皂苷 R_1 、人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 平均回收率分别为 100.35% (RSD 为 1.35%)、99.1% (RSD 为 0.92%)、100.49% (RSD 为 1.29%)、99.47% (RSD 为 1.58%); 另取本品 6 份, 精密称定, 分别精密加入血竭素 (0.089 mg/mL) 对照品溶液, 按照“2.5.1 (2)”项下方法 2 制备供试品, 进样测定, 计算血竭素平均回收率 100.67% (RSD 为 0.92%); 结果表明该方法的回收率符合要求。

2.6 体外透皮实验

2.6.1 不同用量促渗剂的软膏制备 按照“2.1”及“2.4.3”项下工艺及处方, 分别制备含 1%、2%、3%、4%、5%促渗剂薄荷醇及不含薄荷醇的软膏剂, 备用。

2.6.2 离体皮肤的制备 用8% Na₂S溶液脱去小鼠腹部的毛发, 24 h后将小鼠处死, 剥离腹部皮肤, 用生理盐水洗净, 置生理盐水中, 于4 ℃保存。

2.6.3 透皮实验 将“2.6.1”项皮肤固定于扩散池供给室与接收室之间, 将含有不同用量促渗剂的软膏均匀涂布于皮肤表面, 接收池加入10%乙醇磷酸盐缓冲液, 排净气泡使真皮一侧与接收液完全接触。水浴温度为32 ℃, 磁力搅拌速度200 r/min。分别于6、12、18、24、36、48 h, 取出接收介质2 mL, 同时向接收池中补加等量的新鲜接收介质。取出的接收介质经0.45 μm微孔滤膜滤过后, 测定各成分量。以公式 $Q_n = (V_{\text{总}} C_n + \sum C_{n-1} V_{\text{取}}) / A$ ($V_{\text{总}}$ 为扩散池接收室体积, C_n 为第 n 个取样点测得的接收液中药物浓度, C_{n-1} 为第 $n-1$ 个取样点测得的接收液中药物浓度, $V_{\text{取}}$ 为取样体积, A 为渗透面积) 计算单位面积累积渗透量 (Q_n), 以 Q_n-t 作图, 结果见图4, 将 Q_n 对 t 进行回归, 得血竭素、人参皂苷 Rg₁、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb₁ 体外透皮曲线见表6。

考察不同用量促渗剂对软膏剂中4种化学成分

的体外经皮吸收药动学参数, 不含化学促渗剂时, 体外透皮速率 (J) 大小依次为人参皂苷 Rg₁ > 人参皂苷 Rb₁ > 血竭素 > 川续断皂苷 VI, 分别为3.245、1.832、0.907、0.283 μg/(cm²·h), 其时滞时间 (T_{LAG}) 依次为7.060、6.330、7.880、9.500 h。促渗剂的使用可显著增加其 J 。当含有1%~5%薄荷醇时人参皂苷 Rg₁、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb₁、血竭素的速率倍增系数 (ER) 分别为1.248、1.237、1.227、1.330; 1.462、1.314、1.514、2.143; 1.962、1.466、1.517、4.363; 2.021、1.608、1.599、3.121; 1.715、1.611、1.501、2.543; T_{LAG} 明显降低, 依次为3.900、7.880、5.040、5.580 h; 3.690、7.500、4.790、4.050 h; 2.430、6.810、4.200、1.058 h; 1.800、6.920、4.210、1.624 h; 2.410、5.590、4.960、2.033 h; 薄荷醇增渗作用具有一定的量效关系, 当达到一定质量分数时, 反而起到抑制作用。当质量分数为3%、4%血竭素和人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、川续断皂苷 VI 促渗速率存在抑制现象, 促渗剂用量不能显著增加川续断皂苷 VI 促渗速率, 质量分数大于2%时人参皂苷 Rb₁ 促渗速率影响不大。质量分数在

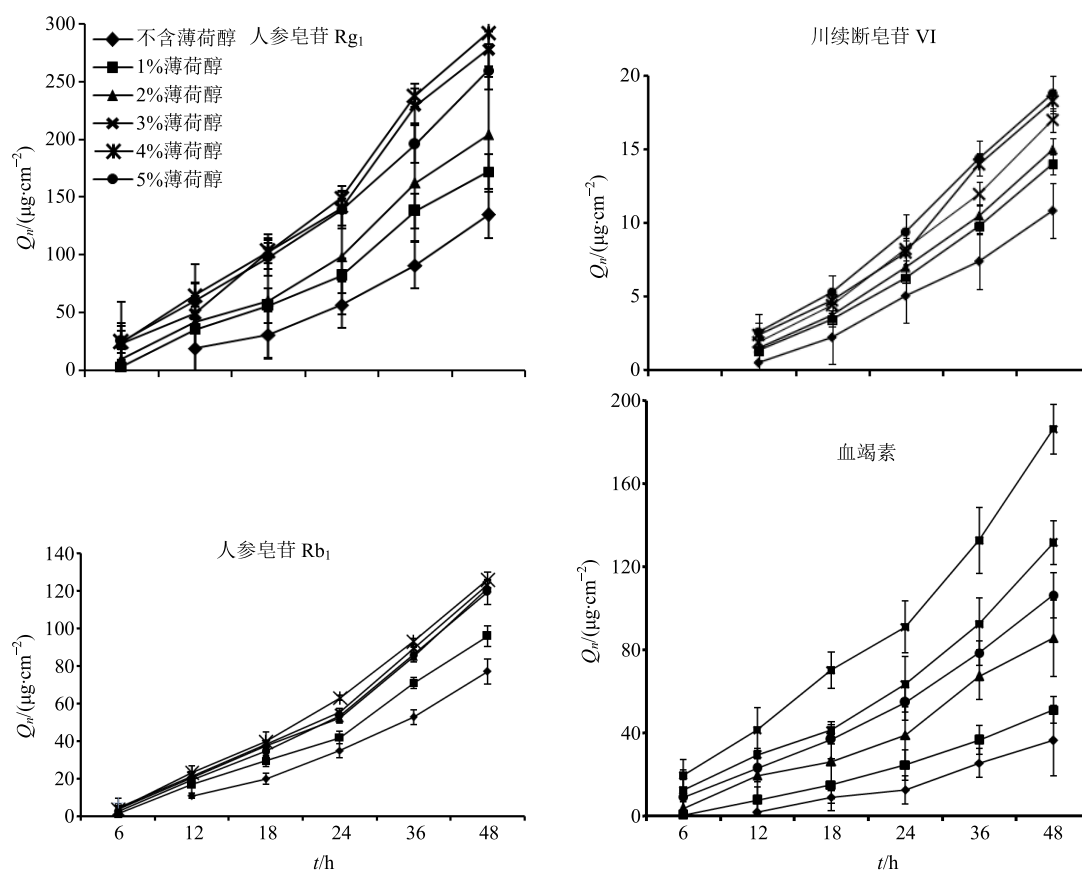


图4 4种指标成分在不同质量分数促渗剂下的 Q_n-t 曲线 ($n=3$)

Fig. 4 *In vitro* accumulative release-time curves of different transdermal enhancers to four kinds of monomer components ($n=3$)

表 6 含不同质量分数薄荷醇的软膏剂体外 Q_n-t 模型拟合方程Table 6 Model fitting equation of cumulative penetration rate time *in vitro* with different menthol

薄荷醇/%	指标成分	累积渗透方程	r	T_{LAG}/h	ER	$J/(g \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1})$
—	人参皂苷 Rg_1	$Q=3.245 t-22.900$	0.995	7.060	—	3.245
	川续断皂苷 VI	$Q=0.283 t-2.689$	0.986	9.500	—	0.283
	人参皂苷 Rb_1	$Q=1.832 t-11.600$	0.995	6.330	—	1.832
	血竭素	$Q=0.907 t-7.150$	0.998	7.880	—	0.907
1	人参皂苷 Rg_1	$Q=4.050 t-15.800$	0.993	3.900	1.248	4.050
	川续断皂苷 VI	$Q=0.350 t-2.757$	0.996	7.880	1.237	0.350
	人参皂苷 Rb_1	$Q=2.248 t-11.330$	0.999	5.040	1.227	2.248
	血竭素	$Q=1.205 t-6.726$	0.995	5.580	1.330	1.205
2	人参皂苷 Rg_1	$Q=4.743 t-17.500$	0.993	3.690	1.462	4.743
	川续断皂苷 VI	$Q=0.372 t-2.791$	0.991	7.500	1.314	0.372
	人参皂苷 Rb_1	$Q=2.773 t-13.280$	0.993	4.790	1.514	2.773
	血竭素	$Q=1.949 t-7.894$	0.992	4.050	2.143	1.949
3	人参皂苷 Rg_1	$Q=6.368 t-15.500$	0.989	2.430	1.962	6.368
	川续断皂苷 VI	$Q=0.415 t-2.825$	0.991	6.810	1.466	0.415
	人参皂苷 Rb_1	$Q=2.780 t-11.670$	0.997	4.200	1.517	2.780
	血竭素	$Q=3.971 t-4.203$	0.998	1.058	4.363	3.971
4	人参皂苷 Rg_1	$Q=6.557 t-11.800$	0.993	1.800	2.021	6.557
	川续断皂苷 VI	$Q=0.455 t-3.147$	0.995	6.920	1.608	0.455
	人参皂苷 Rb_1	$Q=2.929 t-12.320$	0.995	4.210	1.599	2.929
	血竭素	$Q=2.838 t-4.609$	0.997	1.624	3.121	2.838
5	人参皂苷 Rg_1	$Q=5.564 t-13.400$	0.996	2.410	1.715	5.564
	川续断皂苷 VI	$Q=0.456 t-2.551$	0.990	5.590	1.611	0.456
	人参皂苷 Rb_1	$Q=2.750 t-13.640$	0.993	4.960	1.501	2.750
	血竭素	$Q=2.314 t-4.706$	0.998	2.033	2.543	2.310

3%~5%时对 T_{LAG} 也存在抑制作用,这可能与药物理化性质、促渗剂用量等有关。

3 讨论

3.1 处方评价及优化

本研究在基质筛选研究中,通过外观性状、高温实验、低温实验、离心实验优选出软膏剂基质为 O/W 型基质,再通过单因素考察确定各基质处方中成分的水平范围,再结合 Box-Behnken 通过方差分析及效应曲面、等高线图直观分析,对因素水平及其交互作用进行优化和评价,确定最佳基质处方:十二烷基硫酸钠 1.6 g、硬脂醇 27 g、凡士林 24.3 g、羊毛脂 2.7 g、丙二醇 10 g。同时考虑到搅拌时间和乳化温度对软膏剂成型有较大影响,确定搅拌时间为 20 min 和温度为 80 ℃。O/W 型软膏剂易被微生物污染,易发酵、长霉,需要添加 0.1% 的尼泊金乙酯作为防腐剂,以保证软膏剂的质量。

3.2 体外透皮研究

本研究选取了人参皂苷 Rg_1 、川续断皂苷 VI、人参皂苷 Rb_1 、血竭素作为指标初步进行了体外透皮实验,符合中药外用复方外用制剂多成分透皮吸收的特点,可较全面地反映促渗剂对不同有效成分透皮吸收的影响。结果 48 h 内 Q_n-t 曲线线性良好,药物释放符合零级动力学模型,属于皮控型给药系统。制备的软膏具有较好释药性,可以连续释放药物。促渗剂虽然可促进药物的透皮吸收,但是也会直接影响基质的外观性能及稳定性,使用时应根据渗透剂的特点及处方药物性质合理选用^[10,14-15]。软膏剂随着薄荷醇加入量的增加,会影响软膏剂的稳定性,本研究在促渗剂筛选的同时考察了软膏剂的外观性状及稳定性。结果促渗剂为 3% 的薄荷醇时促渗作用好,且不影响软膏剂的外观性状和稳定性。

参考文献

- [1] 袁建迪, 朱少兵, 沈彦, 等. 中医外治急性软组织损伤的临床研究进展 [J]. 中医外治杂志, 2008, 17(1): 41-43.
- [2] 邵先舫, 刘志军, 熊辉, 等. 中医药外治急性软组织损伤实验研究现状及进展 [J]. 中医药导报, 2011, 17(2): 98-100.
- [3] 蒋国鹏, 谢兴文, 顾玉彪, 等. 急性软组织损伤的中医药治疗进展 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(7): 1209-1211.
- [4] 张志强, 刘强. 中药治疗急性软组织损伤的研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2008, 24(1): 4-6.
- [5] 刘淑芝, 郭春燕, 金日显. 中药巴布剂研究思路与方法 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 24(5): 62-64.
- [6] 汪宏, 王维, 张建华, 等. 他克莫司软膏的体外透皮吸收研究 [J]. 华西药理学杂志, 2014, 29(2): 119-121.
- [7] 周开, 岑锐标, 陈伯从. 不同促渗剂对蛇床子软膏透皮吸收特性的影响 [J]. 中国药业, 2013, 22(14): 34-35.
- [8] 许伟, 许宏霞, 郝欣, 等. 不同组分透皮吸收促进剂增强黄腐酸钠软膏的透皮效应 [J]. 中成药, 2006, 28(3): 397-399.
- [9] 杨大凯, 刘志辉, 刘汉清. 消炎镇痛巴布膏剂的体外透皮吸收研究 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 881-885.
- [10] 刘志辉, 李俊生, 郑啸, 等. 透皮促渗剂对黄芩总黄酮胶膏剂成分体外经皮渗透的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2703-2711.
- [11] 张传辉, 贾成友, 李微, 等. 三七接骨凝胶膏剂的制备及体外透皮特性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 654-664.
- [12] 刘可春, 刘昌衡, 王希敏, 等. 辣椒碱软膏基质及其配方的优选试验研究 [J]. 山东科学, 2004, 17(2): 33-36.
- [13] 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.
- [14] 黄晓晨, 宿树兰, 钱大玮, 等. 不同促渗剂对少腹逐瘀方外用贴剂中效应成分群体外透皮吸收的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3074-3080.
- [15] 黄雨威, 王利胜, 兰小群, 等. 促渗剂对消喘巴布剂中白芥子体外透皮吸收特性的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(21): 1754-1757.