

少腹逐瘀凝胶贴膏剂基质处方优化及体外透皮特性研究

张莹莹¹, 刘伟¹, 周文杰³, 韩丽¹, 杨荣平^{1,2*}

1. 成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137
2. 西南大学, 重庆 400715
3. 天圣制药集团股份有限公司, 重庆 400065

摘要: 目的 通过 Plackett-Burman 联用 Box-Behnken 响应面法优化少腹逐瘀凝胶贴膏剂基质处方并对其体外透皮特性进行研究。方法 在预实验基础上, 采用 Plackett-Burman 设计联用 Box-Behnken 响应面法, 以外观性状、初黏力、持黏力和剥离强度为综合指标优化最优处方, 采用改良 Franz 扩散池法, 以阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷为评价指标, 考察不同用量氮酮促渗剂对凝胶贴膏体外透皮渗透量的影响。结果 凝胶贴膏最优处方为 ViscomateTM NP-700-酒石酸-高岭土 (2.42 : 0.16 : 0.96), 3%氮酮对指标成分促渗效果良好, 阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷体外透皮速率依次为 6.889 4、1.917 4、0.842 0、0.893 7 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ 。结论 制备的少腹逐瘀凝胶贴膏膏体均匀, 敷贴无残留, 具有较好的释药性和透皮性, 透皮行为符合零级动力学方程。

关键词: 凝胶贴膏剂; Plackett-Burman; Box-Behnken; 氮酮; 透皮吸收; 阿魏酸; 芍药苷; 异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷; 香蒲新苷

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)18-4284-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.012

Optimization of matrix formulation for Shaofu Zhuyu Cataplast and research on its transdermal permeability *in vitro*

ZHANG Ying-ying¹, LIU Wei¹, ZHOU Wen-jie³, HAN Li¹, YANG Rong-ping^{1,2}

1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine of Ministry of Education; Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province-Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and MOST, Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Southwest University, Chongqing 400715, China
3. Tiansheng Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chongqing 400065, China

Abstract: Objective To optimize the matrix formulation for Shaofu Zhuyu Cataplast (SZC) by Plackett-Burman design combined with Box-Behnken response surface method and study its transdermal permeation properties *in vitro*. **Methods** In this paper, the appearance description, initial bonding strength, endurance bonding strength, and peel strength were taken as indexes. Based on the result of a single factor experiment, the formula for the SZC was optimized by Plackett-Burman combined with Box-Behnken method. Franz diffusing cells method was chosen to investigate the transdermal infiltration capacity of SZC with different dosage penetration enhancers of azone *in vitro*, taking ferulic acid, paeoniflorin, isorhamnetin-3-*O*-neohesperidin, and typhaneoside as index components. **Results** NP-700, tartaric acid and kaolin had significant effects on the properties of SZC. The optimal ratio of the prescription was as follows: NP-700-tartaric acid-kaolin (2.42 : 0.16 : 0.96). The promoting effect of 3% concentration for index component was better, and the transdermal rates of ferulic acid, paeoniflorin, isorhamnetin-3-*O*-neohesperidin, and typhaneoside were 6.889 4, 1.917 4, 0.852 0, and 0.893 7 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, respectively. **Conclusion** The SZC was uniform, without residual behavior in application. And it had a good

收稿日期: 2018-04-20

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

作者简介: 张莹莹 (1991—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药制剂新剂型与新技术。Tel: 15923512700 E-mail: 2569654247@qq.com

*通信作者 杨荣平, 博士, 研究员, 从事中药制剂新剂型、新技术及其分析研究。Tel: (023)89029056 E-mail: 55027739@qq.com

release and transdermal properties, and transdermal actions were consistent with zero-order kinetics.

Key words: Shaofu Zhuyu Cataplasm; Plackett-Burman; Box-Behnken; azone; transdermal absorption; ferulic acid; paeoniflorin; isorhamnetin-3-*O*-neohesperidin; typhaneoside

少腹逐瘀凝胶贴膏 (Shaofu Zhuyu Cataplasm, SZC) 由当归、川芎、赤芍、蒲黄等 10 味中药组方而成, 有温经散寒、活血化瘀、消肿止痛功效, 用于治疗血瘀少腹之积块、痛经、月经不调等^[1-2]。本品原以汤剂服用, 但汤剂治疗痛经靶向性差、起效慢、使用不方便, 造成患者服药依从性差。本实验将汤剂改成凝胶贴膏, 直接贴于腹部关元穴可方便患者用药, 处方中有效成分可直达病所, 既体现中医“内病外治”的原则, 又与穴位经络学相结合, 有利于药效的发挥^[3-6]。本实验采用 Plackett-Burman 设计 (PBD) 从中筛选对其性能影响显著的因素, 在此基础上应用 Box-Behnken 设计-响应面法 (BBD-RSM)^[7-9]对主要因素的用量进行优化, 确定基质处方, 并对含不同用量促渗剂的凝胶贴膏体外透皮吸收行为进行研究, 以期为该凝胶贴膏的开发应用提供实验基础。

1 仪器与材料

AB204-E 微量电子天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; HH-ZK4 恒温水浴锅, 重庆东悦仪器有限公司; CS101-2ABN 电热鼓风干燥箱, 重庆市永生实验仪器厂; LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; 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。

ViscomateTM NP-700, 昭和电工株式会社; 甘油, 重庆川东化工有限公司; 甘羟铝, 上海森磊化工有限公司; 卡波姆 940, 廊坊聚通化工有限公司; 酒石酸, 重庆川东化工有限公司; 高岭土, 上海奉贤丰城试剂厂; 氮酮, 上海三浦化工有限公司。对照品芍药苷 (批号 110736-201640, 质量分数 95.2%)、阿魏酸 (批号 110773-201614, 质量分数 99.0%)、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 (批号 111571-201508, 质量分数 93.2%), 香蒲新苷 (批号 111573-201606, 质量分数 97.0%), 中国食品药品检定研究院; 中药提取物, 实验室自制; 纯化水。昆明种小鼠, 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) 2017-0002。

2 方法与结果

2.1 凝胶贴膏剂的制备

取处方量的卡波姆 940, 加入纯化水, 放置过

夜使其充分溶胀, 作为 A 相; 另取处方量的 NP-700、甘羟铝, 高岭土混匀, 再加入甘油和氮酮, 搅拌 10 min, 作为 B 相; 取酒石酸溶解于 1 g 水中, 作为 C 相。将 A 相缓慢地加入 B 相, 搅拌均匀, 加入 C 相、中药提取物, 搅拌至均匀, 然后立即涂布于无纺布上, 于 30 °C 烘箱中放置 24 h 即得。

2.2 凝胶贴膏剂评价方法的建立

以外观性状、初黏力、持黏力和剥离强度为综合指标, 进行 SZC 的处方筛选。其综合评分=外观性状分数×0.4+初黏力分数×0.2+持黏力分数×0.2+剥离强度×0.2^[10-15], 各指标的检测方法分别如下。

2.2.1 外观性状评分^[10-12] 外观性状评分指标包括膏体均匀性、涂展性、背衬层渗出度、膜残留性、皮肤追随性及表面光泽, 每项占 5 分, 总计 30 分。将 6 项指标得分相加, 指定测最大值为 100 分, 其余得分与之相比较 (测得值/最大值) 即外观性状得分。

2.2.2 初黏力评价方法的建立^[10-12] 取凝胶贴膏 (6 cm×4 cm), 揭去防黏层, 固定于初黏力测试仪上, 倾斜角调整为 30°。将一定质量规格 (10 号) 的钢球, 自斜面顶端自由滚下, 测定钢球被膏体黏住时所滚动的距离, 记录读数, 重复测量 3 次, 取平均值。以实际测得的最小距离为 100 分, 其余按最小值/测得值计算初黏力得分。

2.2.3 持黏力评价方法的建立^[13-15] 取凝胶贴膏 (6 cm×4 cm), 揭去防黏层, 粘贴于实验板表面, 垂直放置, 沿凝胶贴膏的下端悬挂一 200 g 的砝码, 记录 5 min 内下滑距离, 重复测量 3 次, 取平均值。以实际测得的最小距离为 100 分, 其余按最小值/测得值计算持黏力得分。

2.2.4 剥离强度评价方法的建立^[13-15] 取凝胶贴膏 (6 cm×4 cm), 揭去防黏层, 粘贴于实验板表面, 垂直放置, 沿凝胶贴膏的上端悬挂一 200 g 的砝码, 记录膏体脱落所需时间, 重复测量 3 次, 取平均值。以实际测得时间的最小值为 100 分, 其余按最小值/测得值计算得分。

2.3 PBD 实验方法

2.3.1 实验因素及水平 在单因素实验的基础上,

以综合评分为响应值,对 SZC 的基质:卡波姆(A)、NP-700(B)、甘羟铝(C)、甘油(D)、酒石酸(E)和高岭土(F)6个影响因素进行评价,筛选出影响显著因素,每个因素取最低(-1)和最高(1)2个水平,共12组实验,因素和水平见表1。

2.3.2 PBP 实验结果及分析 按照表1进行实验,按“2.2”项计算综合得分。用 Design-Expert 8.0 软

件进行数据处理,结果见表2。模型 P 值为 0.003 6,说明该模型有显著性, $r=0.976$ 1 表明回归拟合程度好, NP-700、酒石酸、高岭土具有显著性,影响凝胶贴膏性能的显著性排列为 NP-700>酒石酸>高岭土>卡波姆>甘羟铝>甘油,故选择 NP-700、酒石酸、高岭土这3个影响显著因素进一步做响应面分析。

表 1 PBD 实验设计与结果

Table 1 Experimental design and results of PBD

序号	A/g	B/g	C/g	D/g	E/g	F/g	综合评分
1	1.00 (-1)	3.50 (+1)	0.15 (-1)	16.00 (+1)	0.16 (+1)	0.50 (-1)	63
2	2.60 (+1)	1.60 (-1)	0.25 (+1)	16.00	0.16	0.50	88
3	1.00	3.50	0.25	12.00 (-1)	0.16	1.50 (+1)	25
4	2.60	1.60	0.15	12.00	0.12 (-1)	0.50	54
5	2.60	3.50	0.15	12.00	0.12	1.50	27
6	2.60	3.50	0.25	12.00	0.12	0.50	40
7	2.60	3.50	0.15	16.00	0.16	1.50	45
8	2.60	1.60	0.15	12.00	0.16	0.50	95
9	1.00	1.60	0.25	12.00	0.16	1.50	67
10	1.00	1.60	0.15	16.00	0.12	1.50	50
11	1.00	3.50	0.25	16.00	0.12	0.50	23
12	2.60	1.60	0.25	16.00	0.12	1.50	42

2.4 BBD-RSM 优化实验

2.4.1 BBD-RSM 实验设计 根据 BBD-RSM 实验结果确定影响该凝胶贴膏性能的主要因素为 NP-700、酒石酸、高岭土。选择 NP-700 用量(A)、酒石酸用量(B)、高岭土用量(C)为自变量,以凝胶贴膏的外观性状分数(Y_1)、初黏力分数(Y_2)、持黏力分数(Y_3)、剥离强度分数(Y_4)的综合评分(Y)为响应值进行 BBD。采用 Design-Expert 8.0 软件安排试验,考察因素与水平、实验设计及结果见表3。

表 2 PBD 方差分析

Table 2 Variance analysis of PBD

因素	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	5 701.83	6	16.78	0.003 6
A	252.08	1	4.45	0.088 6
B	2 494.08	1	44.05	0.001 2
C	200.08	1	3.53	0.118 9
D	0.75	1	0.01	0.912 8
E	1 800.75	1	31.81	0.002 4
F	954.08	1	16.85	0.009 3

表 3 Box-Behnken 实验设计方案与实验结果

Table 3 Experimental results of Box-Behnken

序号	A/g	B/g	C/g	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y
1	1.60 (-1)	0.12 (-1)	1.00 (0)	91	79	74	70	81
2	3.50 (+1)	0.12	1.00	77	64	67	60	69
3	1.60	0.16 (+1)	1.00	100	76	72	62	82
4	3.50	0.16	1.00	86	76	75	67	78
5	1.60	0.14 (0)	0.50 (-1)	85	100	68	62	80
6	3.50	0.14	0.50	73	65	66	58	67
7	1.60	0.14	1.50 (+1)	81	74	69	70	75
8	3.50	0.14	1.50	72	75	68	63	70
9	2.55 (0)	0.12	0.50	83	79	100	60	81
10	2.55	0.16	0.50	82	76	80	100	84
11	2.55	0.12	1.50	80	74	72	79	77
12	2.55	0.16	1.50	93	76	70	78	82
13	2.55	0.14	1.00	88	83	85	86	86
14	2.55	0.14	1.00	94	86	82	84	88
15	2.55	0.14	1.00	95	90	81	84	89
16	2.55	0.14	1.00	88	82	86	76	84
17	2.55	0.14	1.00	94	87	86	84	89

2.4.2 模型拟合及方差分析 采用 Design-Expert 8.0 软件对表 3 中的数据进行二次多元回归并进行方差分析,得到的二次多元回归模型方程为 $Y=13.36+26.59 A+389.078 B+23.063 C+105.263 AB+4.21 AC+50 BC-9.8 A^2-2 125 B^2-21.4 C^2$, $r=0.985 0$,说明该模型拟合度良好,可对凝胶贴膏的性能进行分析和预测。

由表 4 方差分析结果可知,模型 $P=0.000 2<0.05$,模型有显著性,很好地描述实验结果,并且模型的失拟项 $P=0.882 9>0.05$,表明失拟项没有显著性差异,实际值与预测值不拟合发生的概率低,即该模型显著且拟合方程对实验结果预测性好。各因素对凝胶贴膏性能的影响次序为 NP-700>酒石酸>高岭土,其中 NP-700 影响最显著。

2.4.3 响应面优化与预测 利用 Design-Expert 8.0 软件绘制 NP-700、酒石酸、高岭土对凝胶贴膏性质的响应面图和二维等高线图。

由图 1 可知, NP-700、酒石酸对综合评分的影

表 4 二次回归方差分析

Table 4 Variance analysis of quadratic regression

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	709.96	9	25.33	0.000 2
A	144.50	1	46.40	0.000 3
B	40.50	1	13.00	0.008 7
C	8.00	1	2.57	0.153 0
AB	16.00	1	5.14	0.035 7
AC	16.00	1	5.14	0.247 8
BC	1.00	1	0.32	0.047 6
A ²	329.78	1	105.89	<0.000 1
B ²	3.04	1	0.98	0.355 9
C ²	120.52	1	38.70	0.000 4
残差	21.80	7		
失拟项	3.00	3	0.21	0.882 9
净误差	18.80	4		
总离差	731.76	16		
r	0.985 0			

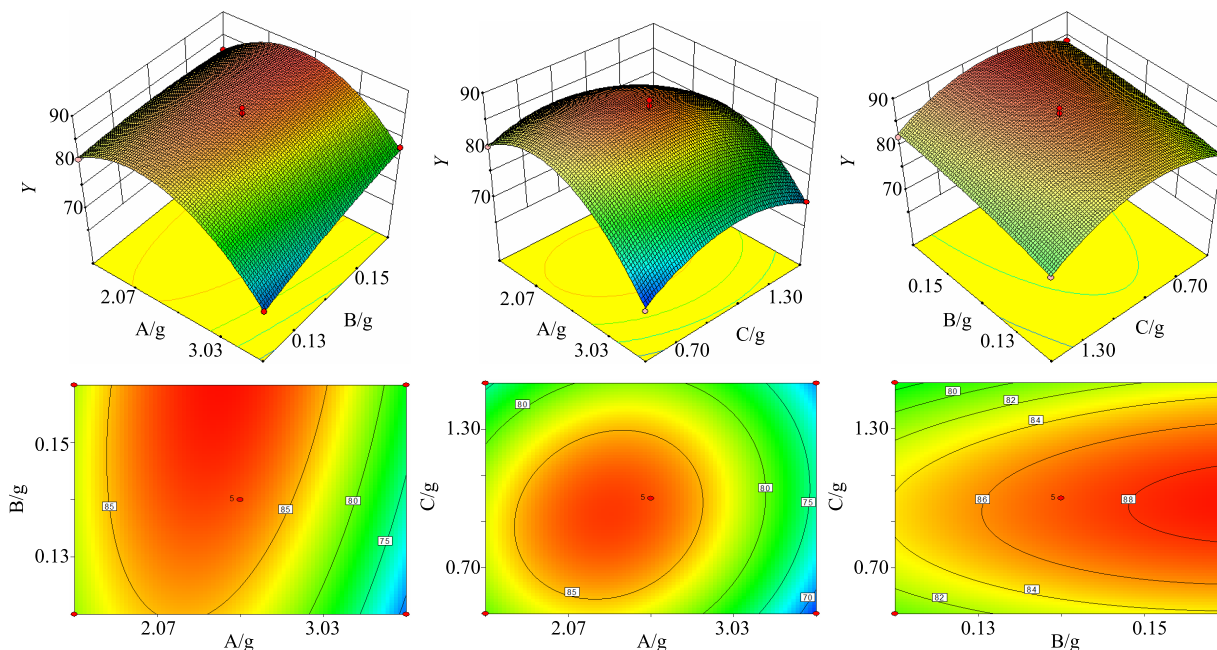


图 1 A、B 和 C 对凝胶贴膏性能影响的响应面图和等高线图

Fig. 1 Response surface map and contour plots of multiple effects of A, B, and C on SZC property

响最显著,曲线较陡,与方差分析的结果一致。等高线的形状反映了因素交互作用的强弱,图形越趋于椭圆,两因素交互作用越显著,由等高线图可以看出,AB、BC 间交互作用显著。以响应值最大为优化目标选择最佳基质处方,得到最佳处方条件为 $A=2.42$, $B=0.16$, $C=0.96$,即 NP-700 2.42 g、酒石酸 0.16 g、高岭土 0.96 g。

2.4.4 验证试验 按照最优处方制备 3 批凝胶贴膏,测定各项指标,并计算总分。结果表明,以最优处方制备的凝胶贴膏外观平整光滑、黏附性好,易于敷贴且无残留,验证结果见表 5。

2.4.5 处方载药量的考察 本研究在优选出的处方基础上,对 SZC 的最大载药量进行了考察,结果见表 6。结果表明,凝胶贴膏载药量在 10%~30%时

表 5 Box-Behnken 响应面法的验证

Table 5 Verification of Box-Behnken design-response surface method

序号	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y
1	94	90	88	86	90.4
2	95	92	86	88	91.2
3	96	88	89	86	91.0

表 6 载药性能的考察

Table 6 Investigation on drug loading of SZC

载药量/%	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y
10	95	90	88	86	90.8
15	94	89	86	82	89.0
30	89	87	85	81	86.2
40	82	88	79	74	81.0
50	75	76	75	70	74.2

性能较为稳定,当载药量超过 30%,性能开始明显下降,所以载药量初步定为 30%。

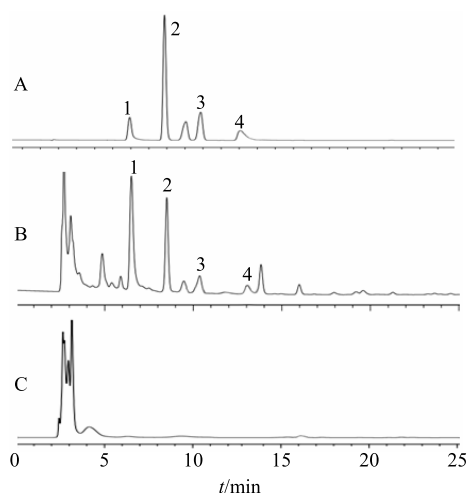
2.5 定量测定方法的建立

2.5.1 供试品溶液的制备 精密称取凝胶膏剂 2.0 g,置于具塞锥形瓶中,精密移取甲醇 20 mL,称定质量,超声 25 min,补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.5.2 对照品溶液的制备 分别精密称取阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷适量,用甲醇溶解分别制成含阿魏酸 197.8 μg/mL、芍药苷 108.34 μg/mL、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 157.9 μg/mL、香蒲新苷 168.4 μg/mL 的混合对照品溶液,即得。

2.5.3 色谱条件 Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~25 min, 15%~45%甲醇,体积流量 1 mL/min;检测波长 235 nm;柱温 40 °C;上述色谱条件下,各组分离度良好,色谱图见图 2。

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,其中阿魏酸分别为 6.18、12.36、24.93、49.05、98.90、197.80 μg/mL,芍药苷分别为 3.39、6.77、13.54、27.08、54.17、108.34 μg/mL,异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷为 4.94、9.87、19.74、39.48、78.97、157.94 μg/mL,香蒲新苷为 5.26、10.53、21.05、42.10、84.20、168.40 μg/mL。精密吸取上述混合对照品溶液 10 μL,进样,按“2.5.3”项下色谱条件测定峰



1-芍药苷 2-阿魏酸 3-异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 4-香蒲新苷
1-paeoniflorin 2-ferulic acid 3-isorhamnetin-3-*O*-neohesperidin
4-typhaneoside

图 2 混合对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B)、阴性样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A), samples (B), and negative samples (C)

面积。以各成分峰面积 (Y) 对进样质量浓度 (X) 进行线性回归,得回归方程:阿魏酸 $Y=36\,340X-17\,080$, $r=0.999\,6$,在 6.18~197.80 μg/mL 呈良好线性关系;芍药苷 $Y=16\,226X-19\,144$, $r=0.999\,9$,在 3.39~108.34 μg/mL 呈良好线性关系;异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷 $Y=15\,272X-11\,124$, $r=0.999\,8$,在 4.94~157.94 μg/mL 呈良好线性关系;香蒲新苷 $Y=10\,997X-2\,457.7$, $r=0.999\,9$,在 5.26~168.40 μg/mL 呈良好线性关系。

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(阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷质量浓度分别为 98.90、54.17、78.97、84.20 μg/mL) 10 μL,连续进样 6 次,记录峰面积,结果阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷峰面积的 RSD 分别为 0.31%、0.72%、0.41%、0.75%,表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 精密吸取“2.5.1”项下方法制备的供试品溶液,按照“2.5.3”项下相应的色谱条件于 0、4、6、8、10、12、24 h 进样测定,记录峰面积。结果阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷峰面积的 RSD 分别为 0.94%、0.91%、1.09%、0.98%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.7 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

下相应的色谱条件进样测定,记录峰面积并计算质量分数。结果阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷质量分数的 RSD 分别为 1.28%、1.03%、1.36%、1.05%,表明供试品溶液制备方法重复性良好。

2.5.8 加样回收率试验 分别取本品 6 份,精密称定,分别精密加入阿魏酸(0.038 mg/mL)、芍药苷(0.43 mg/mL)、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷(0.076 mg/mL)、香蒲新苷(0.11 mg/mL)混合对照品溶液,按照“2.5.1”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算得阿魏酸、芍药苷、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷平均回收率分别为 100.76%(RSD 1.17%)、99.3%(RSD 0.95%)、100.25%(RSD 1.26%)、101.28%(RSD 1.02%);结果表明该方法准确可靠。

2.6 体外透皮实验

2.6.1 不同用量促渗剂的凝胶贴膏制备 按照“2.1”及“2.4.3”项下工艺及处方,分别制备不含氮酮和含 1%、2%、3%、4%、5%氮酮的凝胶贴膏,备用。

2.6.2 离体大鼠皮肤的制备 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,去掉皮下脂肪及黏液组织,用生理盐水洗净,

置生理盐水中,于冰箱冷藏保存,实验前自然解冻。

2.6.3 透皮实验^[16-18] 将“2.6.2”项皮肤固定于扩散池供给池与接收池之间,角质层面向供给池,排净气泡,将含有不同用量促渗剂的凝胶贴膏紧贴于鼠皮上,接收介质为生理盐水,水浴温度为 32 ℃,磁力搅拌速度 200 r/min。分别于 2、4、6、8、12、24 h,取出接收介质 2 mL,同时向接收池中补加等温同体积的新鲜接收介质。取出的接收介质经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后测定各成分含量。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质量浓度, C_{n-1} 为第 $n-1$ 个取样点测得的接收液中药物质量浓度, V 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 做图,结果见图 3,将 Q_n 对 t 进行回归,得芍药苷、阿魏酸、香蒲新苷、异鼠李素-5-*O*-新橙皮苷体外透皮曲线见表 7。考察不同用量促渗剂对凝胶贴膏中 5 种化学成分体外经皮吸收的影响,不含促渗剂时,体外透皮速率 (J) 大小依次为芍药苷>阿魏酸>异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷>香蒲新苷,分别为 3.511 3、1.038 4、0.717 4、0.675 1 μg/(cm²·h)。与不加氮酮对照组的透皮吸收相比,促渗剂的使用可显著增加其 J ,且 4 种成分

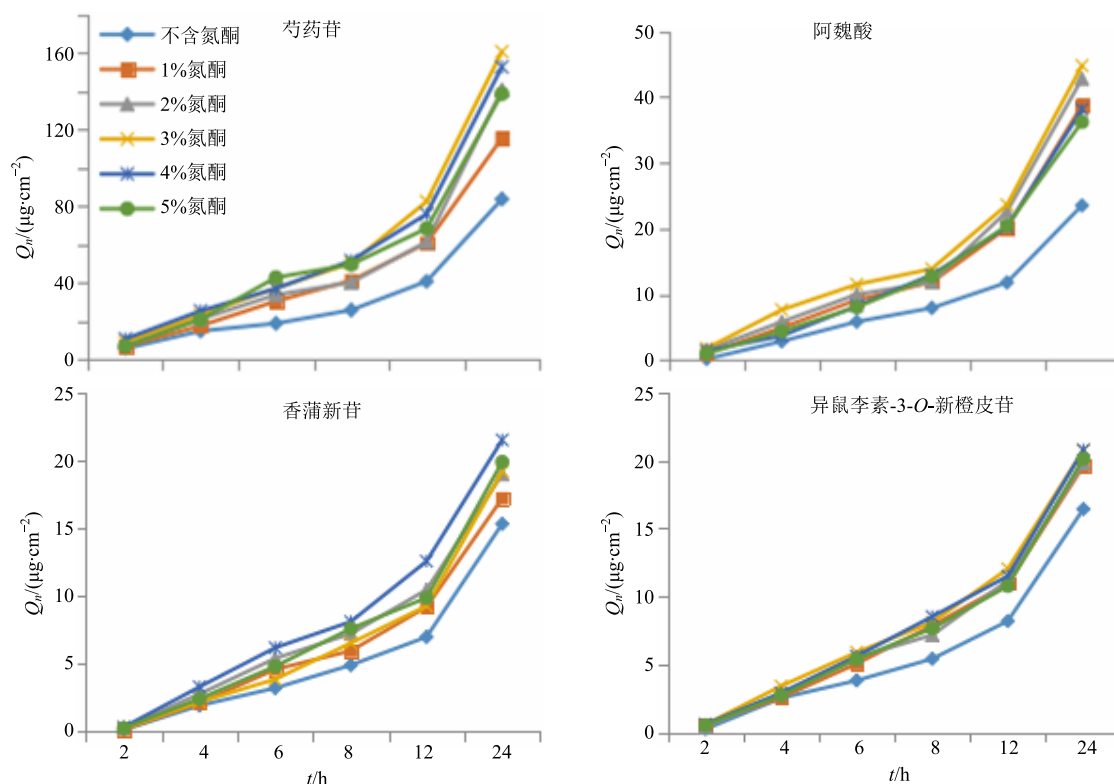


图 3 4 种指标成分在不同质量分数氮酮促渗剂下的 Q_n-t 曲线

Fig. 3 *In vitro* accumulative release-time curves of different transdermal enhancers to four kinds of monomer component

表 7 含不同质量分数氮酮的凝胶贴膏体外 Q_n - t 模型拟合方程Table 7 Model fitting equation of cumulative penetration rate time *in vitro* with different dosage of azone

氮酮/%	指标成分	累积渗透方程	r	ER	$J/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$
—	芍药苷	$Q_n=3.511\ 3\ t-1.007\ 3$	0.996		3.511 3
	阿魏酸	$Q_n=1.038\ 4\ t-1.013$	0.998		1.038 4
	香蒲新苷	$Q_n=0.675\ 1\ t-0.882$	0.998		0.675 1
	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.717\ 4\ t-0.603\ 1$	0.997		0.717 4
1	芍药苷	$Q_n=4.890\ 4\ t-0.131\ 1$	0.994	1.393	4.890 4
	阿魏酸	$Q_n=1.705\ 5\ t-1.627\ 1$	0.996	1.642	1.705 5
	香蒲新苷	$Q_n=0.757\ 8\ t-0.534$	0.990	1.123	0.757 8
	异鼠李素-5- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.855\ 1\ t-0.225\ 3$	0.992	1.192	0.855 1
2	芍药苷	$Q_n=5.909\ 1\ t-3.987\ 2$	0.995	1.683	5.909 1
	阿魏酸	$Q_n=1.877\ 8\ t-1.778\ 9$	0.996	1.808	1.878 8
	香蒲新苷	$Q_n=0.822\ 6\ t-0.157\ 1$	0.991	1.218	0.822 6
	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.863\ 6\ t-0.253\ 7$	0.990	1.204	0.863 6
3	芍药苷	$Q_n=6.889\ 4\ t-3.689\ 5$	0.995	1.962	6.889 4
	阿魏酸	$Q_n=1.917\ 4\ t-0.712\ 4$	0.997	1.846	1.917 4
	香蒲新苷	$Q_n=0.852\ 0\ t-1.072\ 9$	0.990	1.262	0.852 0
	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.893\ 7\ t+0.115\ 3$	0.994	1.246	0.893 7
4	芍药苷	$Q_n=6.396\ 6\ t-0.740\ 5$	0.997	1.822	6.396 6
	阿魏酸	$Q_n=1.694\ 2\ t-1.708\ 8$	0.998	1.632	1.694 2
	香蒲新苷	$Q_n=0.934\ 9\ t-0.062\ 3$	0.991	1.385	0.939 4
	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.899\ 9\ t-0.082$	0.990	1.290	0.899 9
5	芍药苷	$Q_n=5.801\ 8\ t+0.511\ 0$	0.994	1.652	5.801 8
	阿魏酸	$Q_n=1.609\ 0\ t-1.708\ 8$	0.996	1.549	1.609 0
	香蒲新苷	$Q_n=0.870\ 6\ t-0.649\ 8$	0.997	1.329	0.870 6
	异鼠李素-3- <i>O</i> -新橙皮苷	$Q_n=0.874\ 4\ t-0.308\ 6$	0.991	1.219	0.874 4

中, 氮酮对芍药苷和阿魏酸的促渗效果最明显。当氮酮用量为 1%~5% 时芍药苷、阿魏酸、异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷、香蒲新苷的速率倍增系数 (ER) 分别为 1.393、1.642、1.123、1.192; 1.683、1.808、1.218、1.204; 1.962、1.846、1.262、1.246; 1.822、1.632、1.385、1.290; 1.652、1.549、1.329、1.219。氮酮促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。当氮酮质量分数为大于 3% 时, 芍药苷和阿魏酸促渗速率则存在抑制现象, 促渗剂用量不能显著增加其促渗速率。当氮酮质量分数为 3%、4% 时, 异鼠李素-3-*O*-新橙皮苷和香蒲新苷的 J 均相差不大, 因此选择氮酮用量为 3% 比较合适。

3 讨论

3.1 处方评价及优化

凝胶贴膏剂的基质辅料较多, 而在处方优化中,

常需考察多个因素的多个水平, 因此寻找一种实验次数少而尽可能接近全面试验优化出结果的试验设计方法非常重要。PBD 设计能有效地避免实验资源浪费, 能用较少的实验达到分析各因素主效应的效果^[19], BBD-RSM 可以将因素和响应值之间的关系用图像直观反映出来, 具有实验精度高、预测性好的优点。本研究利用 PBD 实验设计, 快速地从 6 个影响因素中筛选出对凝胶贴膏性能影响显著的因素, 即 NP-700、酒石酸和高岭土。然后采用 BBD-RSM 优化基质处方, 得到最优处方为 NP-700 2.42 g、酒石酸 0.16 g, 高岭土 0.96 g。并对最佳处方进行了验证, 制备的凝胶贴膏性能良好, 表明采用此法优化处方是可行的。

凝胶贴膏剂的质量要求中对初黏力、持黏力、剥离强度、外观性状等均有要求, 选择单一指标不能全面反映其质量。本研究根据文献报道^[20]采用了

综合加权评分法, 研究中外观性状项下的膏体均匀性、涂展性、皮肤追随性等为感官指标, 可以直接反映性能的优劣, 为重要评价指标。初黏力、持黏力、剥离强度为反映凝胶贴膏性能客观指标, 据此分别赋予权重系数。感官评价和客观评价相结合能较全面地反映各因素对凝胶贴膏性能的影响。此外, 研究中还发现凝胶贴膏制备完成后, 需要恒温静置一段时间使高分子聚合物交联完全, 如果过早地测定黏性, 会使持黏力结果显著地低于预期, 造成对凝胶贴膏性能评价不够准确。

在本研究基质处方中, NP-700 是丙烯酸和丙烯酸钠的直链共聚物, 在凝胶贴膏剂的制备中应用广泛。它一方面是黏合剂, 另一方面通过和甘羟铝交联形成三维网状结构, 又作为凝胶贴膏的骨架材料, 随着其用量增大, 膏体黏性增强, 外观性状较好, 但其用量过多会因交联过度使得膏体变硬, 难以铺展, 性能降低。研究中发现酒石酸用量对凝胶贴膏性能的影响也很关键, 酒石酸作为交联调节剂, 能调节交联反应速度和程度, 一般在偏酸性环境下交联速度较快。酸性越强, 铝离子释放速度越快, 交联速度越快, 但交联过快会导致膏体不易搅拌和混合均匀, 也难以保证充足的时间涂布。酒石酸过少, 则交联速度慢, 膏体较稀, 成型时间长, 在本研究中, 当酒石酸用量为 0.16 g 时交联速度较为合适, 易涂布, 成型时间也适中。高岭土作为填充剂, 性质稳定, 对皮肤无刺激性, 价廉易得。其主要作用是提高膏体的赋形性和成型性, 提高内聚力。研究发现, 一定范围内, 高岭土用量越多, 膏体成型性越好。但过多的高岭土使用会使黏附性降低。表明高岭土对凝胶贴膏的作用是 2 个方面的, 既能增加其刚性又会降低黏附性。

基质处方研究是凝胶贴膏研究的基础和核心, 本研究虽然通过 PBD 联用 BBD-RSM 确定了 SZC 剂的最优处方, 但制备过程中搅拌速度和时间、炼和温度、烘干温度和时间, 对凝胶贴膏的性能也有一定的影响, 还需进一步的研究。

3.2 体外透皮研究

提高药物的透皮速率也是开发凝胶贴膏剂的关键, 一般多采用添加促渗剂的方式达到透皮吸收效果。因此, 选择适宜的促渗剂及确定用量对药物促渗透作用是非常重要的。氮酮是目前常用的化学促渗剂之一, 对于亲水性和亲脂性的化合物都具有良好的促渗效果, 且使用安全, 对皮肤毒副作用小,

作用机制主要为破坏角质层脂质, 增加角质层间细胞的流动性, 降低药物的扩散阻力, 还能增加角质细胞的含水量, 促进水溶性药物的经皮吸收。

SZC 是以中药复方提取物制成的, 成分多样而复杂, 本实验选取了 4 种主要效应成分芍药苷、阿魏酸、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、香蒲新苷作为指标筛选透皮促渗剂, 能较全面地反映促渗剂对全方整体促渗效果的影响。实验结果表明芍药苷要大于阿魏酸的透皮性。理论上, 阿魏酸相对分子质量较小, 且脂溶性较强, 应有利于皮肤渗透, 但是由于凝胶贴膏中阿魏酸的含量要小于芍药苷, 故芍药苷初始浓度较大, 有利于在透皮过程中维持较大的透皮扩散推动力, 因此渗透速率较大, 这说明了药物的渗透速率不仅和自身性质相关, 还受到浓度的影响。氮酮促渗效果与用量有关, 当氮酮用量小于 3% 时, 4 种成分的透皮速率均随着氮酮用量的增加而增加, 但芍药苷和阿魏酸透皮速率增加程度较异鼠李素-3-O-新橙皮苷和香蒲新苷高。当氮酮用量大于 3% 时, 芍药苷和阿魏酸的透皮速率随着氮酮用量的增加而减小, 表明它的促透作用并不一直随浓度提高而增加, 考虑到其他 2 个成分在 3% 和 4% 促渗效果基本相当, 因此氮酮用量为 3% 时能发挥最大促渗作用。此外, 实验表明这 4 种成分在 24 h 内透皮曲线 Q_n-t 线性良好, 符合零级动力学模型, 能匀速、持续释放药物, 有利于维持药物在体内的血药浓度, 适宜于治疗痛经这种持续时间较长的疾病。实验中还注意到, 促渗剂虽然能促进药物的透皮, 但用量过大也会影响凝胶贴膏的外观性能及稳定性, 本实验选择的 3% 氮酮作为促渗剂不仅促渗作用好, 而且不影响其外观性能和稳定性。

参考文献

- [1] 陈锐. 少腹逐瘀颗粒联合屈螺酮炔雌醇治疗子宫内膜异位症的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(11): 2169-2172.
- [2] 周鹿安, 陆政日, 刘姝娆, 等. 少腹逐瘀汤治疗寒凝血瘀型原发性痛经的 Meta 分析 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(5): 858-864.
- [3] 韦悦, 贺吉香. 凝胶膏剂的研究进展 [J]. 中医药导报, 2017, 23(11): 57-59.
- [4] 郑立红, 李淑莉. 中药凝胶膏剂研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(4): 134-136.
- [5] 刘帝灵, 朱莉, 林吉, 等. 仁术微乳凝胶膏剂的制备 [J]. 中成药, 2016, 38(12): 2570-2574.
- [6] 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.
- [7] 宋立华, 杜茂波, 刘淑芝. Plackett-Burman 联用 Box-Behnken 响应面法优化凝胶膏剂基质研究 [J]. 中成药, 2015, 37(12): 2623-2627.
- [8] 李智, 于金英, 蒋瑶, 等. Box-Behnken 优化痹痛宁凝胶膏剂基质处方研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(2): 226-231.
- [9] 权亮, 赵永峰, 陈志敏, 等. 基于信息熵赋值法的正交联用 Box-Behnken 设计-响应面法优化黄丝郁金醋炙工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(8): 1823-1828.
- [10] 严倩茹. 痹痛宁凝胶膏剂的药学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [11] 朱力阳. 丁桂凝胶膏剂的制备工艺及主要药效学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [12] 杨秀梅. 祛斑凝胶膏剂的药学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [13] 吴俊洪. 痛经舒凝胶膏剂的研制 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [14] 胡晓. 复方积雪草苷凝胶膏剂的研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [15] 刘秀洁. 双氯芬酸钠巴布剂的研制及体内外透皮动力学研究 [D]. 上海: 华东理工大学, 2012.
- [16] 黄秋洁, 叶勇, 魏涌标, 等. 战骨提取物中柚皮素透皮吸收促进剂的筛选 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3366-3369.
- [17] 银杉杉, 汪艳秋, 周国良, 等. 不同促渗剂对三威跌打风湿贴中柚皮苷体外透皮吸收的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 15-18.
- [18] 温亚, 韩彬, 戴王强, 等. 薄荷醇对芍药苷透皮吸收作用的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(5): 128-130.
- [19] 史亚军, 吴品江, 魏萍. Plackett-Burman 设计与星点设计-效应面法优化山楂总黄酮磷脂复合物制备工艺 [J]. 中药材, 2010, 33(3): 437-441.
- [20] 涂颖秋, 朱孟夏, 刘会, 等. 优化药物制剂工艺的多种数据处理方法的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(16): 1333-1337.