

## D-最优混料设计制备川芎油微囊止痛凝胶膏剂及其药效学初步考察

周欣<sup>1</sup>, 康希<sup>2</sup>, 唐丽婧<sup>1</sup>, 曲彤<sup>3</sup>, 郝慧汇<sup>2</sup>, 穆成林<sup>1</sup>, 卢焘韬<sup>1</sup>, 王雪莲<sup>1</sup>, 杨荣平<sup>1\*</sup>

1. 西南大学药学院, 重庆 400715

2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075

3. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712083

**摘要:** **目的** 通过将川芎挥发油制成微囊中间体应用到凝胶膏剂, 以解决川芎油不稳定特性, 并优化处方及评价体外透皮速率, 对药效学进行初步研究。**方法** 采用 D-最优混料设计, 以初黏力、持黏力、剥离强度作为评价指标, 优选出最佳制备工艺。通过 Franz 体外透皮试验仪, 以藁本内酯为指标, 研究凝胶膏剂的体外透皮行为。通过醋酸扭体实验初步评价药效。**结果** 川芎油微囊止痛凝胶膏剂的最优处方为 NP700、甘油、甘羟铝、高岭土、氮酮、酒石酸、PVPK30、0.5%卡波姆 940 分别为 1.250、5.000、0.025、0.250、0.600、0.025、1.000、2.700 g。凝胶膏剂中藁本内酯透皮速率为 5.129 7  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ , 高温、高湿、强光照射实验于第 5、10 天保留率分别为 93.17%、91.21%、98.94%、92.36%、68.03%、60.78%; 镇痛率为 63.14%。**结论** 最优处方凝胶膏剂具有良好的黏性, 解决了川芎油不稳定的特性, 为挥发油类应用到凝胶膏剂等新剂型提供参考。

**关键词:** 川芎油; 微囊; 止痛; 凝胶膏剂; D-最优混料设计; 体外透皮; 稳定性; 醋酸扭体实验; 药效学; 初黏力; 持黏力; 剥离强度; 藁本内酯; 透皮速率; 保留率; 黏性

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)22-5455-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.22.011

## Pharmaceutical research of *Ligusticum chuanxiong* oil microcapsule analgesic gel patch by D-optimal mixture design

ZHOU Xin<sup>1</sup>, KANG Xi<sup>2</sup>, TANG Li-jing<sup>1</sup>, QU Tong<sup>3</sup>, HAO Hui-hui<sup>2</sup>, MU Cheng-lin<sup>1</sup>, LU Tao-tao<sup>1</sup>, WANG Xue-lian<sup>1</sup>, YANG Rong-ping<sup>1</sup>

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

2. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

3. College of Pharmacy, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

**Abstract: Objective** The volatile oil of *Ligusticum chuanxiong* was made into microcapsule as intermediate and applied to gel paste to solve the instability characteristics of *L. chuanxiong* oil (LCO). The formulation and *in vitro* transdermal rate were optimized and the pharmacodynamics was preliminary studied. **Methods** D-optimal mixture design was adopted, and initial adhesion, adhesion holding and peeling strength were used as evaluation indexes to optimize the preparation process. The *in vitro* transdermal behavior of ligustilide was studied by Franz *in vitro* transdermal test instrument. The efficacy was evaluated by acetic acid writhing experiment. **Results** The optimal prescription of LCO microcapsule analgesic gel patch was as follow: NP700, glycerin, hydroxyaluminum, kaolin, azone, tartaric acid, microcapsule PVPK30, 0.5% capom 940 was 1.250, 5.000, 0.025, 0.250, 0.600, 0.025, 1.000, and 2.700 g, respectively. Ligustilide transdermal rate in the gel patch was 5.129 7  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ . The retention rate of high temperature, high humidity and strong light irradiation on the 5th and 10th day was 93.17%, 91.21%, 98.94%, 92.36%, 68.03%, and 60.78%, respectively, and the analgesic rate was 63.14%. **Conclusion** The optimal prescription of the gel patch had good viscosity, which solved the problem that ligustilide was difficult to be applied to the gel patches due to the instability of LCO and provided a reference for the application of volatile oil to new dosage forms such as gel patch.

收稿日期: 2019-06-24

基金项目: 重庆市科技局技术创新与应用示范 (cstc2018jcsx-msybX0179)

作者简介: 周欣 (1994—), 女, 硕士, 从事中药新制剂、新剂型及新技术的研究与应用。Tel: 13340289746 E-mail: 1152218064@qq.com

\*通信作者 杨荣平, 女, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事中药新制剂、新剂型及新技术的研究与应用。

Tel: (023)89029068 E-mail: yangrp@cqxndx.com

**Key words:** *Ligusticum chuanxiong* oil; microcapsules; analgesia; gel patches; D-optimal mix design; *in vitro* transdermal; stability; acetic acid twisting; pharmacodynamics; initial adhesion force; adhesion force; peel strength; ligustilide; transdermal rate; retention rate; viscosity

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 具有活血行气、祛风止痛的功效。其中川芎挥发油的化学成分及药理作用研究较多。现代药理学研究表明, 川芎挥发油具有镇痛、镇静、改善血流变学、降低血压、保护神经细胞、解热等作用<sup>[1-3]</sup>。课题组前期对川芎挥发油提取工艺进行了优化, 挥发油得率可达 0.62%, 通过 GC-MS 分析, 得到其主要成分藁本内酯质量分数为 27.09%<sup>[4]</sup>, 川芎挥发油作为川芎药材重要的活性部位, 易于提取且含量高, 具有多种药理活性, 但由于其对光、热比较敏感及易氧化降解的特点, 限制了相关新制剂的开发<sup>[5]</sup>。

凝胶膏剂作为一种新型经皮给药制剂, 其基质具有独特的优势<sup>[6]</sup>, 在抗炎镇痛<sup>[7]</sup>、跌打损伤<sup>[8]</sup>, 治疗慢性疾病如风湿<sup>[9]</sup>、痛风<sup>[10]</sup>、痛经<sup>[11]</sup>等方面应用较多。但挥发油直接应用到凝胶膏剂中易产生泛油、不稳定等问题, 已有文献报道将挥发油制成微乳<sup>[12-14]</sup>、包合物<sup>[15-17]</sup>加入到凝胶膏剂, 对其稳定性有一定的改善作用, 但有效成分含量有所降低, 各种加入方式对基质性质及体外释放也有所影响。微囊系指将固体或液体药物被辅料包封的微小胶囊, 可提高药物的稳定性如挥发油类<sup>[18]</sup>, 可掩盖药物的不良气味<sup>[19]</sup>。本研究首次将川芎挥发油制成微囊作为中间体应用到凝胶膏剂中, 采用 D-最优混料设计对其处方进行优化, 并对其稳定性、体外释放及初步药效学进行了考察, 以期挥发油微囊在凝胶膏剂中的高效利用提供科学依据。

## 1 仪器、材料与动物

Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 高效液相色谱仪, 美国 Thermo-Fisher 公司; BP121S 电子天平, 北京赛多利斯科学仪器有限公司; 85-2 数显恒温磁力搅拌器, 上海江星仪器有限公司; IKA T18 乳化机, 德国 IKA 公司; SCQ-数显加热超声波清洗机, 上海声彦超声波仪器有限公司; 低温真空冻干机, 基因有限公司; GNS11888 初黏性试验机、HG-820 持黏性测试仪、180 度剥离力试验机, 东莞市华国精密仪器有限公司; RYJ-6B 药物透皮扩散实验仪, 上海黄药检仪器有限公司。

川芎油, 批号 190611, 藁本内酯质量分数  $\geq 50\%$ , 江西雪松天然药用油有限公司; 川芎油微囊,

实验室自制; 明胶(类型 B)、阿拉伯胶, 北京 Solarbio 科技有限公司; 无水柠檬酸、甘油, 山东优索化工科技有限公司; 藁本内酯, 质量分数  $\geq 98\%$ , 批号 180302, 重庆高仁生物科技有限公司; 聚丙烯酸钠 NP 700 (NP 700), 昭和电工株式会社; 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) K30, 广东粤美化工有限公司; 聚乙二醇 400 (PEG400)、酒石酸、卡波姆 940, 成都市科隆化学品有限公司; 甘羟铝, 上海森磊化工有限公司; 煅烧高岭土, 山西晋坤矿产; 氮酮, 上海麦克林生物化学有限公司; 薇婷丝滑沁香脱毛膏, 利洁时家化有限公司。

川芎挥发油微囊止痛凝胶膏剂, 自制, 每片 5.0 cm $\times$ 7.0 cm; 复方紫荆消伤巴布膏, 每片 5.0 cm $\times$ 7.0 cm, 批号 180602, 上海雷允上药业有限公司; 空白基质凝胶膏剂, 自制, 每片 5.0 cm $\times$ 7.0 cm; 吡啶美辛巴布膏, 批号 1804051, 每片 5.0 cm $\times$ 7.0 cm, 武汉兵兵药业有限公司; 醋酸, 重庆川东化工有限公司; 纯水, 实验室超纯水机制备。昆明种小鼠, 雄性, 体质量 18~22 g, 湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号 SCXK(湘)2016-0002。

## 2 方法与结果

### 2.1 微囊型凝胶膏剂的制备

**2.1.1 川芎油微囊的制备方法** 分别精密称取明胶、阿拉伯胶 3 g, 移取 100 mL 纯水, 超声 30 min, 再 50 °C 水浴 30 min, 向明胶水溶液中加入 3.0 g 川芎挥发油, 15 000 r/min 高速剪切 5 min。加入阿拉伯胶溶液, 磁力搅拌 1 h。加入 2 倍体积 50 °C 纯水, 用 1 mol/L 柠檬酸调至 pH 4.0, 将溶液放置磁力搅拌器上搅拌至冷, 并于 10 °C 以下冰水浴, 于冰箱中静置 12 h, 倾去上清液, 将微囊于 -50 °C 冷冻干燥 72 h 得到微囊成品。

**2.1.2 凝胶膏剂的制备方法** 通过单因素实验, 确定凝胶膏剂的制备工艺: 称取 1.250 g NP700 分散于 5.000 g 甘油中, 加入 0.250 g 高岭土和 0.045 g 甘羟铝, 于磁力搅拌器上搅拌均匀后作为 I 相。称取 1.000 g PVP K30 于 5 mL 蒸馏水中, 放置使其完全溶解, 加入酒石酸 0.045 g, 微囊 0.500 g, 于 30 °C 磁力搅拌至完全溶解作为 II 相。称取 0.500 g 卡波姆 940 于 100 mL 蒸馏水中, 室温下放置 24 h 使其完全溶胀, 称取 1.000 g 卡波姆 940 作为 III 相。将

II 相加入 I 相, 搅拌均匀后, 加入 II 相, 混匀后将膏体涂于无纺布上, 放置过夜, 贴上防黏层, 即得。

## 2.2 凝胶膏剂的评价指标

**2.2.1 初黏力** 参照《中国药典》2015 年版第四部 0952 黏附力测定第一法(初黏力的测定)<sup>[20]</sup>, 采用滚球斜坡停止法测定凝胶膏剂的初黏力。实验前, 用蘸有无水乙醇的棉花将倾斜板和不锈钢球表面擦拭干净, 将倾斜板调整至角度为 30°, 取凝胶膏剂供试品 3 份, 揭去防黏层, 将膏体向上用胶布固定在倾斜板刻度线中间, 供试品应平整地贴合在倾斜板上, 将不锈钢球自斜面顶端固定位置自由滚下。将不同球号的钢球分别滚过置于倾斜板上的供试品黏性面, 根据能够黏住的最大钢球球号, 评价其初黏力大小。取 3 份供试品中, 有 2 份及以上黏住最大号钢球, 最多只有 1 份为仅小 1 号钢球, 则符合规定; 如 3 份供试品中只有 1 个为最大号钢球, 则应取小 1 号钢球进行实验。

**2.2.2 持黏力** 参照《中国药典》2015 年版第四部 0952 第二法剥离强度进行测定<sup>[20]</sup>。取供试品 3 片, 分别将供试品的黏性面纵向粘贴于紧挨着实验板和加载板的中部, 用压辊在供试品上来回滚压 3 次, 供试品粘贴在板上后, 在室温放置 20 min, 沿供试品的长度方向悬挂质量为 200 g 的砝码, 记录供试品滑落直至脱落的时间, 实验结果以 3 份供试品的脱落时间的算术平均值表示。

**2.2.3 剥离强度** 参照《中国药典》2015 年版第四部 0952 第三法剥离强度进行测定<sup>[20]</sup>, 即采用 180° 剥离强度实验法测定。将供试品黏性面贴于洁净的板上, 用 2 000 g 重压辊在供试品上来回滚压 3 次, 以确保粘接处无气泡存在。然后在室温下放置 30 min, 放入夹具测试区内垂直夹紧, 实验机以 (300±10) mm/min 的下降速度连续剥离, 测试完毕后记录推拉表显示值, 实验结果以 3 份供试品的剥离力的算术平均值表示。

## 2.3 凝胶膏剂的处方优化

**2.3.1 D-最优混料设计** 混料设计是合理地选择少量的实验点, 通过不同百分比成分的混料实验, 得到实验指标与混料中各种成分所占百分比的回归方程。混料设计包括单纯型格子设计、单纯型重心设计和 D-最优混料设计等。其中 D-最优混料实验设计中, 各个成分的百分比有上、下界, 近年来在药剂混料设计中最为常用, 适用于多因素多水平的混料实验, 具有实验次数少、预测参数准确度高、

多指标同步优化的特点<sup>[21-23]</sup>。

以感官评分和初黏力指标基础上, 通过单因素实验, 优选出了各辅料的最佳应用范围, 并确定高岭土、水、微囊用量分别为 0.250、5.000、0.500 g, 采用 Design-Expert 8.0.6 进行 D-最优混料实验设计, 确定各辅料总量为 10 g。以初黏力、持黏力、剥离强度为指标, 实验设计及结果分别见表 1、2。

表 1 D-最优混料试验设计

Table 1 Design of D-optimal mixture experiment

因素	辅料	最低用量/g	最高用量/g
A	NP700	0.750	1.250
B	甘油	5.000	7.000
C	甘羟铝	0.025	0.045
D	酒石酸	0.025	0.045
E	PVPK30	1.000	2.000
F	0.5%卡波姆 940	1.000	3.000

根据实际运用情况, 凝胶膏剂存在的最大问题即贴敷皮肤黏性不够, 即初黏力的问题。故指定初黏力占 40 分, 持黏力和剥离强度分别占 30 分, 则初黏力得分=(测得值/最大值)×40, 持黏力(剥离强度)得分=(测得值/最大值)×30。综合评分(Y)=初黏力+持黏力+剥离强度。

**2.3.2 模型拟合** 采用 Design-Expert 8.0.6 对实验结果进行模拟拟合, 当因变量(Y)与各自变量以 2 次方程模型拟合时, 拟合方程为  $Y=536.759 24 A+51.221 70 B-949.991 11 C-523.070 88 D+1 524.233 35 E-90.812 18 F-6 373.450 50 AE-1 833.563 41 BE$ 。模型具有显著性 ( $P=0.011 1 < 0.05$ ), 失拟项不显著 ( $P=0.312 1 > 0.05$ ),  $r^2=0.928 7$ , 说明该模型可以准确反映实验结果, 方程拟合程度高。

**2.3.3 最优处方及验证实验** 按照上述综合评分为指标, 通过 Design-Expert 8.0.6 软件优选处方, 最优处方 NP700、甘油、甘羟铝、高岭土、酒石酸、PVP K30、0.5%卡波姆 940 分别为 1.250、5.000、0.025、0.250、0.025、1.000、2.700 g。进行验证实验, 结果见表 3, 偏差=(预测值-实测值)/预测值。

结果表明, 最优处方的综合评分的实际值与预测值接近, 表明该 D-最优混料设计的模型具有良好的预测性, 可用于优选凝胶膏剂的辅料配比。

## 2.4 含量测定方法的建立

**2.4.1 对照品溶液的制备** 精密称取藁本内酯对照品适量, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加入 1 mL 20%

表 2 D-最优混料实验设计及结果

Table 2 Design and results of D-optimal mixture experiment

实验号	NP700/g	甘油/g	甘羟铝/g	酒石酸/g	PVP K30/g	卡波姆 940/g	初黏力/N	持黏力/N	剥离强度/N	综合评分
1	0.750	5.000	0.025	0.045	2.000	2.180	29.09	0.09	29.68	58.86
2	0.750	5.200	0.025	0.025	1.000	3.000	29.09	4.63	4.01	37.73
3	0.750	7.000	0.025	0.045	1.180	1.000	32.73	0.34	4.14	37.21
4	1.250	5.000	0.045	0.025	1.000	2.680	29.09	7.49	10.16	46.74
5	0.916	6.619	0.026	0.025	1.000	1.415	32.73	0.14	30.00	62.86
6	1.250	5.000	0.025	0.045	1.000	2.680	29.09	0.18	8.06	37.34
7	0.750	5.645	0.025	0.025	1.000	2.555	32.73	0.48	4.18	37.39
8	1.250	5.680	0.045	0.025	2.000	1.000	18.18	0.02	8.36	26.56
9	0.920	5.465	0.025	0.025	1.350	2.215	29.09	0.23	4.27	33.59
10	0.782	6.128	0.045	0.045	2.000	1.000	29.09	0.18	2.58	31.85
11	1.250	6.112	0.025	0.025	1.395	1.193	14.55	0.14	6.24	20.93
12	0.750	6.232	0.033	0.025	1.000	1.960	29.09	0.94	3.38	33.41
13	0.750	5.000	0.045	0.038	2.000	2.167	29.09	25.42	29.74	84.25
14	0.750	6.200	0.025	0.025	2.000	1.000	10.91	0.34	29.74	40.99
15	1.250	5.000	0.045	0.045	1.663	1.997	21.82	3.46	6.79	32.07
16	1.030	6.920	0.025	0.025	1.000	1.000	29.09	0.41	3.86	33.36
17	1.250	5.680	0.025	0.045	2.000	1.000	18.18	2.95	5.71	26.85
18	1.250	6.667	0.038	0.045	1.000	1.000	21.82	0.02	3.92	25.76
19	0.750	5.160	0.045	0.045	1.000	3.000	32.73	0.16	4.61	37.49
20	1.030	6.150	0.045	0.036	1.000	1.739	25.45	0.05	3.42	28.92
21	0.987	5.000	0.036	0.033	1.257	2.688	25.45	10.03	29.69	65.18
22	1.250	5.000	0.025	0.045	1.000	2.680	29.09	30.00	4.93	64.02
23	0.882	5.000	0.045	0.025	1.763	2.285	32.73	10.15	4.16	47.03
24	0.928	5.786	0.032	0.045	1.805	1.403	25.45	0.39	2.98	28.82
25	0.750	5.160	0.045	0.045	1.000	3.000	40.00	2.52	4.05	46.57
26	0.984	5.755	0.045	0.025	1.441	1.749	32.73	3.11	5.52	41.36
27	0.750	7.000	0.025	0.045	1.180	1.000	36.36	0.76	5.06	42.18
28	0.750	7.000	0.045	0.025	1.180	1.000	32.73	0.82	3.10	36.65
29	1.250	5.000	0.025	0.025	2.000	1.700	25.45	0.60	5.88	31.93
30	0.750	6.200	0.025	0.025	2.000	1.000	40.00	0.34	2.55	42.90
31	1.250	5.000	0.045	0.045	1.663	1.997	29.09	0.30	3.83	33.22

表 3 最优处方验证

Table 3 Results of optimal prescription verification

实验号	初黏力/N	持黏力/N	剥离强度/N	综合评分	偏差/%
1	32.73	30	3.72	66.45	1.70
2	32.73	30	4.09	66.82	1.13
3	32.73	30	4.25	66.98	0.89

持黏力测定中, 砝码掉落在地上膏体并未与板脱离, 故以最大值计  
In the measurement of adhesion force, the weight fell on the ground  
did not detach from the plate, so it was taken as the maximum value.

PEG 400 生理盐水, 补足纯甲醇至刻度, 制成质量浓度为 0.267 mg/mL 的对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 于不同时间点吸取 1 mL 接收液, 置于 10 mL 量瓶中, 补足甲醇至刻度。

2.4.3 空白溶液的配制 吸取 1 mL 20% PEG 400 生理盐水, 置于 10 mL 量瓶中, 补足甲醇至刻度。

2.4.4 色谱条件<sup>[24]</sup> Synchronis C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为甲醇-水 (65 : 35); 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 326 nm; 进样量 10 μL; 见图 1。

2.4.5 线性关系考察 将“2.4.1”项下制备的对照品溶液作为储备液, 分别精密吸取 0.01、0.04、0.16、

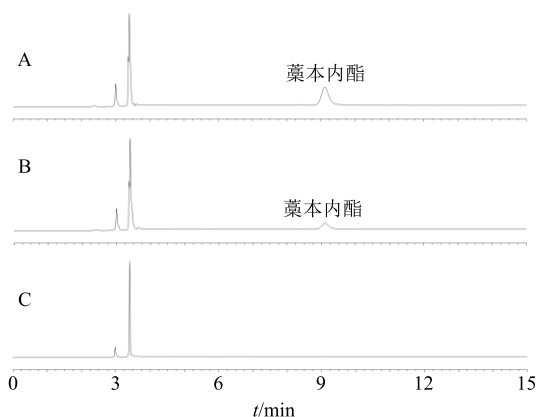


图 1 藁本内酯对照品 (A)、川芎油微囊凝胶膏剂供试品 (B) 和空白溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of ligustilide reference substance (A), sample of *L. chuanxiong* oil microcapsuled cataplasm (B), and blank solution (C)

0.64、2.56 mL 的储备液于 10 mL 量瓶中，加入纯甲醇稀释至刻度，摇匀，按照“2.4.4”项下色谱条件进行测定。以峰面积为纵坐标 (Y)，藁本内酯质量浓度为横坐标 (X)，绘制标准曲线，得回归方程为  $Y=0.4138X+0.125$ ， $r=0.9999$ ，结果表明藁本内酯在 0.267~68.352  $\mu\text{g/mL}$  与峰面积呈良好的线性关系。

**2.4.6 精密度试验** 分别精密吸取藁本内酯对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ，按“2.4.4”项下色谱条件下进行测定，连续测定 6 次，测得藁本内酯峰面积的 RSD 为 0.60%，结果表明仪器精密度良好。

**2.4.7 重复性试验** 按照“2.4.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照“2.4.4”项下色谱条件，进行测定，测得藁本内酯峰面积的 RSD 值为 1.6%，结果表明供试品溶液制备方法重复性良好。

**2.4.8 稳定性试验** 精密吸取“2.4.2”项下制备的供试品溶液，按“2.4.4”项下色谱条件，分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进行测定。测得藁本内酯峰面积的 RSD 为 1.23%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.4.9 加样回收率考察** 精密移取已测定质量浓度的供试品溶液 6 份，分别精密加入藁本内酯对照品溶液 26.70  $\mu\text{g}$ ，按照“2.4.2”项下制备供试品溶液，按照“2.4.4”项下色谱条件测定含量。藁本内酯平均加样回收率为 92.06%，RSD 为 0.64%，表明该方法准确度高。

## 2.5 体外透皮实验

**2.5.1 含不同透皮促渗剂凝胶膏剂的制备** 按照最

优处方制备凝胶膏剂，分别加入 0、0.200、0.400、0.600、0.800 g 氮酮于甘油相。通过透皮实验优选透皮促渗剂的用量。

**2.5.2 离体皮肤的制备** 用剃毛刀剃除小鼠腹部毛发，再用脱毛膏进一步除尽剩余的毛发，24 h 后将小鼠处死，剪下腹部皮肤，将皮肤平铺于干净的玻璃板上，角质层向下，用沾有生理盐水的棉球擦除皮下脂肪层和结缔组织。用生理盐水冲洗干净，剪成适当的大小，用铝箔包裹置 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存，1 周内进行实验<sup>[25]</sup>。

**2.5.3 透皮实验** 采用药物透皮扩散实验仪，扩散装置为垂直式的 Franz 扩散池，透皮扩散面积为 2.2  $\text{cm}^2$ ，接收池体积为 6.5 mL，鼠皮固定在扩散池与接收池之间，皮肤表面面向扩散池，角质层面向接收池，将凝胶膏剂剪成约面积为 2  $\text{cm}^2$  的原片，揭去凝胶膏剂防黏层，背衬层面向扩散池，膏体紧密贴于离体皮肤，接收池中注入 6 mL 20% PEG400 生理盐水作为接收介质，转速为 300 r/min，温度为  $(32.0 \pm 0.5) ^{\circ}\text{C}$ ，分别于 1、2、4、6、8、12、24 h 精密取样 1 mL，并补充等温度同体积的空白接收液<sup>[26]</sup>。取出的接收介质经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后按照“2.4”项下方法进行供试品溶液制备及藁本内酯含量测定，使用 GraphPad Prism5 以  $Q$  对  $t$  作图，拟合  $Q-t$  方程，结果见表 4 和图 2。

$$Q=(V_{\text{总}}C_n+\sum C_{n-1}V_{\text{取}})/A$$

$Q$  为单位面积累积释放量， $V_{\text{总}}$  为接收池的体积， $C_n$  为第  $n$  小时取样点测得的药物浓度， $C_{n-1}$  为第  $n-1$  小时取样点测得的药物浓度， $V_{\text{取}}$  为取样量， $A$  为扩散池的渗透面积

结果表明，藁本内酯的  $Q$  随着氮酮用量的增加而增加，当氮酮用量大于 0.4 g 时， $Q$  开始下降，但仍高于无促渗剂。其透皮释放速率大小为 0.400 g 氮酮 > 0.600 g 氮酮 > 0.200 g 氮酮 > 0.800 g 氮酮 > 无氮酮，故选择 0.400 g 氮酮作为促渗剂。

表 4 不同氮酮用量的体外  $Q-t$  模拟拟合方程

Table 4 Fitting equation of cumulative penetration models *in vitro* with different dosage of azone

氮酮 用量/g	拟合方程	透皮速率/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ )	$r$
0	$Q=3.0572t-2.9902$	3.0572	0.9978
0.200	$Q=4.2210t-4.0708$	4.2210	0.9928
0.400	$Q=5.1297t-3.1847$	5.1297	0.9900
0.600	$Q=4.7935t-3.8184$	4.7935	0.9962
0.800	$Q=3.2848t-3.1586$	3.2848	0.9976

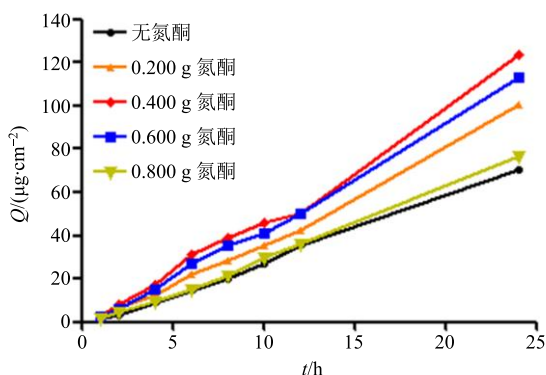


图 2 不同氮酮用量的  $Q-t$  曲线

Fig. 2 *In vitro* accumulative release-time curves of different dosage of azone

### 2.6 醋酸扭体实验

将 40 只雄性昆明种小鼠随机分为 4 组，每组 10 只，分别为空白基质对照组 (3 cm×3 cm)、吲哚美辛巴布膏阳性对照组 (3 cm×3 cm)、复方紫荆消伤巴布膏阳性对照组 (3 cm×3 cm)、川芎挥发油微囊凝胶膏剂组 (3 cm×3 cm)，各组小鼠于给药前 24 h 将背部脱毛，检查皮肤无破损后，次日将凝胶膏剂背衬层贴于 5 cm×5 cm 医用胶布后贴于小鼠脱毛处，并用医用胶带缠绕 2 圈加以固定，以不妨碍其自由活动为主，给药 24 h 后，按 0.2 mL/20 g ip 0.6%冰醋酸，记录 20 min 内小鼠扭体次数 (腹部收内凹、腹前壁紧贴笼底，臀部歪扭和后肢伸展)，按照下式计算各药镇痛率<sup>[27]</sup>。

镇痛率 = (空白组扭体次数 - 实验组扭体次数) / 空白组扭体次数

从表 5 可知，川芎油微囊止痛凝胶膏剂、复方紫荆消伤巴布膏、吲哚美辛巴布膏均与空白凝胶膏剂有显著差异，各组之间也有显著差异，且自制川芎挥发油微囊止痛凝胶膏剂镇痛效果优于其余 2 组阳性药。

表 5 川芎油微囊止痛凝胶膏剂对小鼠醋酸扭体的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 5 Effect of *L. chuanxiong* oil microcapsule analgesic cataplasm on acetic acid torsion in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	扭动次数	镇痛率/%
空白凝胶膏剂	68.10±4.48	0
川芎油微囊止痛凝胶膏剂	25.10±3.63**	63.14
复方紫荆消伤巴布膏	43.70±2.41**	35.83
吲哚美辛巴布膏	34.30±2.91**	49.63

与空白凝胶膏剂比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs blank cataplasm

## 3 讨论

### 3.1 处方评价及优化

凝胶膏剂与传统贴膏剂相比具有与皮肤生物相容性好，无致敏、无刺激性，提高皮肤角质层的水化作用，有利于药物的透皮吸收，载药量大，可反复揭贴，仍能保持原有黏性，无刺痛感；制备工艺简单，不使用有机溶剂，符合环保要求等优点。但是目前存在的主要问题是工艺不成熟，由于加入的药物以及加药量等不同，其基质会发生较大变化，且各评价指标相互影响，如加入增黏剂过多，其基质黏性增加，但又存在不易涂布，均匀性差等问题，加入保湿剂甘油过多，其基质流动性好、易涂布、均匀度好，但又存在背衬层渗出严重、皮肤残留等问题。故本课题在最初研究中，即加入微囊进行考察，避免不同药物对其基质最佳配比影响较大。前期工作中，以对凝胶膏剂成型性影响较大的外观性状、初黏力为评价指标，对大量凝胶膏剂基质辅料进行了单因素考察，在其基质成型性较好的基础上，以初黏力、持黏力、剥离强度综合评分为指标，全面地考察了各因素对凝胶膏剂性质的影响。

### 3.2 体外透皮研究

透皮释放速率也是凝胶膏剂存在的一大关键性问题，其释放速率直接影响到其药效，故选择合适的促渗剂是非常重要的。氮酮作为目前最常用的一种新型高效、无毒、无刺激性的促渗剂，对亲油、亲水性药物均具有较好的促渗作用，氮酮可破坏角质层脂质，使其扩散阻力下降，故而起到促渗作用。本实验选取川芎挥发油主要成分藁本内酯作为指标筛选促渗剂，由于其为脂溶性成分，有一定的透皮效果，在不添加促渗剂的情况下，其透皮速率为 3.057 2  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ，但氮酮可明显增强其透皮效果，当氮酮用量为 0.4 g 时，其透皮速率为 5.129 7  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ，具有良好的促渗效果，随着氮酮用量的增加，透皮速率反而下降，故说明促渗效果与其用量有关，但其作用机制还有待进一步研究。

### 3.3 稳定性研究

实验室自制川芎油微囊以藁本内酯为指标成分，测得包封率为 81.10%，载药量为 27.32%，对川芎油微囊止痛凝胶膏剂进行了加速稳定性考察，高温、高湿、强光照射试验于第 5、10 天保留率分别为 93.17%、91.21%，98.94%、92.36%，68.03%、60.78%，即对外界环境的敏感程度为光照 > 高温 > 高湿，故提示应避免光保存。微囊使水不溶性的挥发

油类成分转变为水溶性成分, 解决了挥发油应用于凝胶膏剂易泛油的问题, 且明显改善了川芎油不稳定的特性。

### 3.4 初步药效学研究

本实验选取了常用的中药凝胶膏剂复方紫荆消伤巴布膏、西药凝胶膏剂吲哚美辛巴布膏作为阳性药, 初步地比较川芎油微囊止痛凝胶膏剂对小鼠醋酸扭体的影响, 实验结果表明 3 组凝胶膏剂镇痛率分别为 63.14%、35.83%、49.63%, 显著优于其余 2 组阳性药, 说明川芎油微囊凝胶膏剂止痛效果明显。单因素实验中对其加药量进行了考察, 加入 0.5 g 微囊综合评分最优, 考虑到凝胶膏剂成型性的问题, 未进一步考察高中低 3 个剂量组的药效学研究, 后期应继续完善川芎油止痛凝胶膏剂的给药剂量以及给药间隔等问题。

### 参考文献

[1] 杜旌畅, 谢晓芳, 熊亮, 等. 川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4328-4333.

[2] 周雪, 李小清, 刘琪, 等. 川芎挥发油防治脂多糖致小鼠血管认知障碍的作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2390-2397.

[3] 刘露丝, 岳美颖, 李文兵, 等. 当归油与川芎油的化学成分及其对急性化学性脑损伤保护作用差异研究 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(6): 105-108.

[4] 张琳, 周欣, 卢焘韬, 等. 川芎挥发油提取工艺及地上部分 GC-MS 分析 [J]. 中药材, 2019, 42(3): 608-612.

[5] 朱林, 彭国平, 李存玉, 等. 川芎挥发油中内酯类成分的稳定性考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20): 14-17.

[6] 刘志辉, 李俊生, 郑啸, 等. 透皮促渗剂对黄芩总黄酮凝胶膏剂成分体外经皮渗透的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2703-2711.

[7] 郑德俊, 潘娅. 马钱子- $\beta$ -环糊精巴布剂的制备及其抗炎镇痛作用研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(4): 79-81.

[8] 张纪兴, 王建平, 朱峰, 等. 均匀设计法优化跌打镇痛巴布剂的基质处方 [J]. 中药材, 2011, 34(6): 971-974.

[9] 汪艳秋. 三威跌打风湿贴药理学及体外透皮吸收研究 [J]. 广州: 广州中医药大学, 2014.

[10] 张贵华, 王剑, 陈金素, 等. 痛风清巴布剂水提醇沉工艺优选 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(12): 2918-2921.

[11] 刘照时, 赵苏萍, 黄月娜, 等. 针灸配合巴布剂地龙膏穴位贴敷治疗气滞血瘀型原发性痛经的临床效果 [J].

中国妇幼保健, 2016(5): 1093-1095.

[12] 张莹莹, 刘伟, 周文杰, 等. 少腹逐瘀凝胶贴膏剂基质处方优化及体外透皮特性研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4282-4292.

[13] 李学敏, 王琼, 兰颐, 等. 微乳技术对止痛凝胶膏剂中成分释放和含量变化的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(16): 2614-2617.

[14] 李绍林, 段启, 赵珍东, 等. 石菖蒲挥发油微乳鼻喷剂的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1935-1941.

[15] 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.

[16] 王奕博, 杜梓萱, 黄特辉, 等. 中药凝胶贴膏基质选择及挥发油加入方式研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(11): 2715-2721.

[17] 富志军, 祝星, 陈笑, 等. 挥发油包合对温脐巴布剂质量的影响 [J]. 中成药, 2014, 36(10): 2083-2087.

[18] de Souza V B, Thomazini M, Echalar Barrientos M A, et al. Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides [J]. *Food Hydr*, 2018, 77: 297-306.

[19] Xu T, Gao C C, Yang Y L. Retention and release properties of cinnamon essential oil antimicrobial films based on chitosan and gum Arabic [J]. *Food Hydr*, 2018, 84: 84-92.

[20] 中国药典 [S]. 四部. 2015.

[21] 江敏瑜, 闫丹, 陈娇, 等. 蛇床子素发泡微乳剂制备研究 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1562-1568.

[22] 章烨雯, 于竞新, 王景雁, 等. D-最优混料设计结合多种力学指标优化柴梾凝胶贴膏的基质处方及其体外释放透皮研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(6): 1046-1053.

[23] 吴东盼, 田雪峰, 蔡学军, 等. 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 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1445-1453.

[24] 林燕芝, 唐星, 毕开顺, 等. RP-HPLC 测定川芎挥发油中藜本内酯的含量 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2): 154-157.

[25] 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.

[26] 刘月环, 陆洋, 杜守颖, 等. 宣痹凝胶贴膏剂有效成分的透皮行为研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1202-1205.

[27] 孙素兰, 李先霞, 叶青山, 等. 水凝胶冰辛贴止痛效果的实验研究 [J]. 中药材, 2006, 29(9): 966-968.