

川乌-花椒挥发油凝胶贴膏的成型工艺及配伍增效机制研究

许润春¹, 贺亚男¹, 裴瑾^{1,2}, 耿福能², 杨明³, 张定堃^{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 成都 611137

2. 四川好医生攀西药业有限责任公司, 四川 西昌 615000

3. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘要: **目的** 优化川乌-花椒挥发油凝胶贴膏成型工艺, 探究花椒挥发油配伍川乌凝胶贴膏增效机制。**方法** 以皮肤追随性、揭帖性、初黏力、剥离度为指标, 对9种市售贴膏基质性能进行评价, 并以量化的综合感官评价、初黏力、持黏力以及剥离度为指标, 采用单因素试验与混料设计试验对凝胶贴膏基质辅料配比进行筛选, 并采用在体动物评价法, 以小鼠醋酸扭体次数为指标, 筛选凝胶贴膏的载药量; 另外采用甲醛致痛小鼠模型与代谢组学探究花椒挥发油对川乌凝胶贴膏药效的影响。**结果** 不同品牌凝胶贴膏其追随性、揭帖性、初黏力、剥离度差别较大, 且凝胶贴膏的初黏力与剥离度对其揭帖性影响较大, 初黏力与剥离度越大, 凝胶贴膏揭帖性越差; 川乌凝胶贴膏的基质处方为3%聚丙烯酸钠 NP700、1.5%羧甲基纤维素钠、0.25%卡波姆、0.06%结晶氯化铝、0.1%乙二胺四乙酸二钠、26%甘油、61.5%水、4%硅藻土、0.15%酒石酸; 每贴川乌凝胶贴膏载药量为560 mg 川乌提取物。花椒挥发油能够增强川乌凝胶贴膏的镇痛疗效, 可能主要通过甘油磷脂代谢、亚油酸代谢等发挥疗效。**结论** 为保证凝胶贴膏具有较好的追随性与揭帖性, 所制备的凝胶贴膏的初黏力应控制在7~18号小球之间, 剥离度应控制在0.03~0.97 kN/m; 所制备的川乌凝胶贴膏剂外观、黏附力、赋形性良好, 镇痛效果明确, 且花椒挥发油能够增强川乌凝胶贴膏的疗效, 为川乌外用新制剂的开发与应用提供基础。

关键词: 川乌; 凝胶贴膏; 成型工艺; 花椒挥发油; 配伍增效; 皮肤追随性; 揭帖性; 初黏力; 持黏力; 剥离度; 混料设计; 代谢组学; 镇痛; 甘油磷脂代谢; 亚油酸代谢

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)06-1517-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.06.019

Investigation on molding process and compatibility-synergistic mechanism of *Aconiti Radix-Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil gel patch

XU Run-chun¹, HE Ya-nan¹, PEI Jin^{1,2}, GENG Fu-neng², YANG Ming³, ZHANG Ding-kun^{1,2}

1. State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research of Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Sichuan Good Doctor Panxi Pharmaceutical Co., Ltd., Xichang 615000, China

3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: **Objective** To optimize the forming process of gel patch and explore the compatibility-synergistic mechanism of *Aconiti Radix-Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil gel patch. **Methods** According to the indexes of skin followability, disclosing ability, initial adhesion and peeling degree, the substrate-property of eight commercially gel patches was evaluated. Then, with the comprehensive sensory evaluation, initial adhesion, stickiness and peeling degree as the index, single factor experiment and mixture design experiment were used to screen the proportion of matrix excipients of gel patch. Taking the number of acetic acid-induced writhing in mice as the index, the drug loading of gel paste was screened by *in vivo* animal evaluation. In addition, the compatibility effect of *Aconiti Radix-Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil gel patch was studied by using formaldehyde-induced pain model and metabolomics. **Results** Different brands of gel plaster had great difference in their skin followability, disclosing ability, initial adhesion and peeling

收稿日期: 2019-10-09

基金项目: 四川省中医药管理局中医药科研专项(2018QN008); 四川省中医药管理局花椒专项(2018HJZX008); 江西省重大科技研发专项(20194ABC28009)

作者简介: 许润春, 硕士生导师, 副教授, 从事中药炮制与制剂研究。Tel: 1330806401 E-mail: 309786953@qq.com

*通信作者 张定堃 Tel: 13568982018 E-mail: 465790643@qq.com

degree. The initial adhesion and peel degree of gel patch had great influence on its disclosing ability and the greater the initial adhesion and peel degree were, the worse disclosing ability was. The matrix of the *Aconiti Radix* gel patch was 3% polyacrylic acid sodium NP700, 1.5% carboxymethyl cellulose sodium, 0.25% Carbomer, 0.06% crystalline aluminum chloride, 0.1% ethylenediamine tetra acetic acid two sodium, 26% glycerol, 61.5% water, 4% diatomaceous earth, 0.15% tartaric acid; Drug dosage of each gel patch was 560 mg extracts of *Aconiti Radix*. *Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil could enhance the analgesic effect of *Aconiti Radix* gel patch, which might be mainly through glycerol phospholipid metabolism and linoleic acid metabolism. **Conclusion** To ensure better adherence and disclosure of gel patch, the initial adhesive force of gel patch should be controlled between 7—18 balls and the peel degree should be controlled between 0.03—0.97 kN/m. The Prepared *Aconiti Radix* gel patch has a good appearance, adhesion and shape with a clear analgesic effect, and *Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil can enhance analgesic effect of *Aconiti Radix* gel patch. This study provides a basis for the development and application of new preparations for the external use in *Aconiti Radix*.

Key words: *Aconiti Radix*; gel patch; molding process; *Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil; compatibility-synergistic mechanism; skin followability; disclosing property; initial adhesion; holding power; peeling strength; mixture design; metabolomics; analgesia; glycerophospholipid metabolism; linoleic acid metabolism

透皮给药是一种古老的给药方法,早在宋代就已出现了经皮肤给药用于局部治疗的膏药,是中医药内病外治的经典用法之一。中药凝胶贴膏剂属于新型透皮载体,系指将中药原料药或提取物与适宜的基质制成膏状物、涂布于背衬材料上供皮肤贴敷、可产生全身性或局部作用的一种薄片状制剂^[1],尤其适用于不肯服药之人、不能服药之证及需要长期给药的疾病。它可防止肝脏首关效应,减少给药频率,降低胃肠道刺激,提高患者依从性^[2-4]。与传统的中药橡胶膏、软膏等外用制剂相比,凝胶贴膏还具有软化皮肤、提高药物吸收率、载药量大、可反复多次揭帖、刺激性小等优点^[4-6]。

川乌与花椒均为四川道地药材,在散寒止痛、祛风除湿外用中成药中常配伍使用,如复方风湿搽剂、新型狗皮膏药、田七镇痛膏等。然而,外用中成药贴剂大多具有“大处方、小剂量”的特点,即处方组成复杂,常以几种或十几种中药组成,但载药量又较小。因此,精简处方、提高载药量有助于推动中成药外用贴剂的发展。本研究首先通过对已上市 9 种贴膏的追随性、初黏力、持黏力以及剥离度进行测定,考察不同品牌市售贴膏的黏附力及外观的差异,筛选出凝胶贴膏黏附性的参数范围,为凝胶贴膏工艺优化提供参考标准;然后以量化的综合感官评价及黏附力为指标,通过单因素实验与混料设计实验优化凝胶贴膏基质,运用在体动物实验筛选载药量以及甲醛镇痛小鼠模型与代谢组学探究花椒挥发油对川乌凝胶贴膏药效的影响,为川乌外用制剂的开发与应用提供科学支撑。

1 实验材料

1.1 实验仪器

DHG-9145A 电热恒温鼓风干燥箱,上海凯朗仪

器设备厂;XKR-XB320D 实验室自动涂布机,常州德社精密仪器有限公司;BLD-200N 电子玻璃试验机、CZY-G 初黏力测试仪、CZY-6S 持黏力测试仪,济南兰光机电技术有限公司;LC-MS/MS-IT-TOF 仪,日本岛津公司;Waters XBridge[®] C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3.5 μm);TGL-16 型高速冷冻离心机,蜀科仪器有限公司。

1.2 供试药

花椒挥发油(批号 201712-1)由江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室提供,经 GC-MS 分析共鉴定出 12 种成分,其中相对丰度>5%的成分有桉烯、月桂烯、4-异丙基甲苯、(+)-柠檬烯、桉树醇、芳樟醇、(-)-4-萜品醇以及乙酸芳樟酯。川乌提取物由成都中医药大学中药制剂实验室自制,以 3 种单酯型乌头碱(苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱)含量计,川乌提取物每克不得少于 6 mg。

9 种市售贴膏,分别采购于贵州神奇柏盛堂医药科技有限公司、广州圣君医药科技有限公司、广州金护士医疗用品有限公司(儿童用凝胶贴膏)、贵州神奇柏盛堂医药科技有限公司、南京同仁堂绿金家园保健品有限公司、帝国制药株式会社三本松工厂(进口镇痛凝胶贴膏)、上海雷允上药业有限公司、武汉兵兵药业有限公司(化学药类镇痛凝胶贴膏)、通化万通药业股份有限公司(镇痛橡胶膏)。无特别说明的品牌凝胶贴膏均为中成药类镇痛凝胶贴膏(为避免商业争端,此处不明确标出凝胶贴膏具体名称与生产批号)。

分析级甘油(批号 2015012601)、三氯化铝(批号 2016122301)、乙二胺四乙酸二钠(批号 20110416)、DL-酒石酸(批号 2016112501)、羧甲

基纤维素钠（批号 20110909）、硅藻土（批号 2016120801）均购于成都市科龙化工试剂厂；化妆品级卡波姆 934（批号 20170416）购于河南启文生物科技有限公司；分析级聚丙烯酸钠 NP700（批号 9Z0970A）购于日本昭和电工株式会社；甲醛（批号 20120320）购于成都市科龙化工试剂厂；色谱级乙腈、甲醇购于 Fisher 公司；水为实验室自制超纯水，Milli-Q 级别。

1.3 实验动物

昆明小鼠（SPF 级）48 只，雌雄各半，标准体质量 18~22 g，由成都达硕实验动物有限公司提供，合格证号 SCXK（川）2015-30，检疫后备用。

2 方法与结果

2.1 空白基质的制备

根据预试验，凝胶贴膏基质初始处方为聚丙烯

酸钠 NP700-羧甲基纤维素钠-卡波姆-三氯化铝-乙二胺四乙酸二钠-甘油-水-硅藻土-酒石酸 8:10:1:0.2:0.3:72:200:15:0.5。按照设计要求，取设计量的聚丙烯酸钠 NP700、羧甲基纤维素钠、卡波姆、三氯化铝、乙二胺四乙酸二钠，加入甘油，搅拌均匀，为甘油相。将设计量的水、硅藻土、酒石酸混合均匀后，加入到甘油相中，搅拌均匀至挂旗，涂布在无纺布上，40℃低温干燥后加盖防黏纸，切成 14 cm×10 cm，备用。

2.2 评价指标与检测方法

2.2.1 感官评价法 以均匀性、涂展性、稠度、皮肤追随性、反复揭帖性与残留的多指标综合评价总分（均匀性评分+涂展性评分+稠度评分+皮肤追随性评分+反复揭帖性与残留评分=总分）为指标^[7]，评价标准如表 1 所示。

表 1 综合感官评价标准

Table 1 Standard of comprehensive sensory evaluation

指标	分值	评分标准
均匀性	0~10	按照膏体的分散均匀程度以及是否有颗粒分为 6 个等级：0、2、4、6、8、10 分
涂展性	0~10	按照是否易于涂布的程度分为 6 个等级：0、2、4、6、8、10 分
稠度	0~10	按照是否能够搅拌均匀的程度分为 6 个等级：0、2、4、6、8、10 分
皮肤追随性	0~10	将贴膏贴敷于手腕，用力甩动 10 次，按照是否能够紧密贴于手腕的程度分为 6 个等级：0、2、4、6、8、10 分
反复揭帖性与残留	0~10	将贴膏反复粘贴于手背部，重复 3 次，按程度膏体在手背处残留的程度分为 6 个等级：0、2、4、6、8、10 分

2.2.2 初黏力评价 采用《中国药典》2015 年版（通则 0952）记载的滚球斜坡停止法测定凝胶贴膏剂的初黏力，从倾斜角为 30°的光滑不锈钢板斜面上滚落不同球号的钢球，记录贴膏剂所能粘住钢球的型号，球号越大，初黏力越大，并按照球号分为 9 个等级：0、2、4、6、8、10、12、14、16 分。

2.2.3 持黏力评价 按照《中国药典》2015 年版（通则 0952）持黏力测定方法，将凝胶贴膏敷贴面粘贴于试验板上，垂直悬挂，沿凝胶贴膏长度方向悬挂符合规定的砝码，记录凝胶贴膏从试验板上滑落的时间，时间越长，持黏力越大，并按照时间长短分为 9 个等级：0、2、4、6、8、10、12、14、16 分。

2.2.4 剥离度评价 根据《中国药典》2015 年版（通则 0952）采用 180°剥离强度测定方法，将凝胶贴膏背衬面用双面胶固定在实验板上，黏性面用聚脂薄膜覆盖。然后将聚酯薄膜对折（180°），薄膜的另一端和实验板分别上、下夹持于实验机上，实验机以

300 mm/min 下降速度连续剥离，记录下剥离强度数值，该值越大表明剥离强度越强，按照剥离强度分为 10 个等级：0、2、4、6、8、10、12、14、16、18 分。

2.3 凝胶贴膏指标范围确定

以追随性、揭帖性、初黏力以及剥离度为评价指标，对市售贴膏基质性能进行再评价。实验结果表明，不同厂家贴膏其追随性、揭帖性、初黏力、剥离度差别较大，且贴膏的初黏力与剥离度对其揭帖性影响较大，初黏力与剥离度越大，贴膏揭帖性越差（表 2）。贴膏 3、7、8 追随性略差，其余贴膏追随性较好。各贴膏之间的揭帖性评价表明，贴膏 1 与贴膏 4 的揭帖性较差，在揭帖时痛感显著，皮肤出现大面积红斑，该红斑 5 min 内自动消散；贴膏 2、5 在揭帖时，有明显痛感和少量红斑；贴膏 9 揭帖时，有轻微痛感，无红斑出现。其余贴膏揭帖性均较好，无痛感与红斑出现。初黏力结果表明，

表 2 市售凝胶贴膏基质性能测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Results of substrate-property evaluation of eight commercially gel patches ($\bar{x} \pm s, n=3$)

贴膏	追随性 评分	揭帖性 评分	初黏力 (球号)	剥离度/ (kN·m ⁻¹)
1	10	2	21	2.53
2	10	4	29	0.97
3	8	10	14	0.03
4	10	2	21	1.73
5	10	4	20	0.97
6	10	10	15	0.25
7	8	10	7	0.10
8	8	10	10	0.07
9	10	6	18	0.23

不同贴膏最小可以黏住 7 号小球, 最大可以粘住 29 号小球; 剥离度在 0.03~2.57 kN/m。为了保证凝胶贴膏具有较好的追随性与揭帖性, 初黏力应控制在 7~18 号小球之间, 剥离度应控制在 0.03~0.97 kN/m。

2.4 单因素筛选川乌凝胶贴膏基质处方

2.4.1 卡波姆的用量筛选 固定其他辅料处方量, 将卡波姆用量设为 0.16%、0.32%、0.48%、0.64%, 按“2.1”项下方法进行制备。通过感官综合评价, 不同剂量卡波姆制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 26、34、30、32。卡波姆用量为 0.32%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.2 三氯化铝用量筛选 固定其他辅料处方量, 将三氯化铝用量设为 0.048%、0.064%、0.081%、0.098%, 按“2.1”项下方法进行制备。通过感官综合评价, 不同剂量三氯化铝制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 24、24、42、30。三氯化铝用量在 0.081%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.3 乙二胺四乙酸二钠用量筛选 固定其他辅料处方量, 将乙二胺四乙酸二钠用量设为 0.032%、0.064%、0.096%、0.128%, 按“2.1”项下方法进行制备。通过感官综合评价, 不同剂量乙二胺四乙酸二钠制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 42、34、24、50。乙二胺四乙酸二钠用量为 0.128%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.4 酒石酸用量筛选 固定其他辅料处方量, 将酒石酸用量设为 0.098%、0.130%、0.160%、0.200%, 按“2.1”项下方法进行制备。通过感官综合评价, 不同剂量酒石酸制备的凝胶贴膏综合平均得分分别

为 30、38、24、42。酒石酸用量为 0.2%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.5 聚丙烯酸钠 NP700 用量筛选 固定其他辅料处方量, 将聚丙烯酸钠 NP700 用量设为 1.3%、2.6%、3.9%、5.2%, 按“2.1”项下方法进行制备。通过感官综合评价, 不同剂量聚丙烯酸钠 NP700 制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 30、38、20、20, 且发现随着聚丙烯酸钠 NP700 用量的增加, 凝胶贴膏黏度增大, 均匀性逐渐降低, 到 5.4%用量时出现大块无法溶解颗粒。聚丙烯酸钠 NP700 用量在 2.6%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.6 羧甲基纤维素钠用量筛选 固定其他辅料处方量, 将羧甲基纤维素钠用量设为 1.3%、2.6%、5.2%、7.8%, 按“2.1”项下方法进行制备。感官综合评价结果表明, 不同剂量羧甲基纤维素钠制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 34、40、28、20。另外, 随着羧甲基纤维素钠用量增多, 凝胶贴膏黏性逐渐减小, 当用量为 7.8%时, 膏体没有黏性, 用量再次增加时, 凝胶贴膏的膏体甚至无法成型。因此羧甲基纤维素钠用量为 2.6%时, 凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.7 硅藻土用量筛选 固定其他辅料处方量, 将硅藻土的用量设为 1.2%、4.8%、7.2%、9.6%, 按“2.1”项下方法进行制备。感官评价结果表明, 不同剂量硅藻土制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 38、42、36、24, 且随着硅藻土用量增加, 凝胶贴膏黏性与均匀性逐渐下降。硅藻土用量为 4.8%时凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.8 甘油用量筛选 固定其他辅料处方量, 将甘油用量设为 14.5%、25.4%、33.8%、40.5%, 按“2.1”项下方法进行制备。感官综合评价表明, 不同剂量甘油制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 30、42、36、34。随着甘油用量增加, 凝胶贴膏黏性增大, 且容易牵拉变形。甘油用量为 25.4%时凝胶贴膏具有较好的外型。

2.4.9 水用量筛选 固定其他辅料处方量, 将水用量设为 42.8%、59.9%、69.2%、74.9%, 按“2.1”项下方法进行制备。感官综合评价表明, 不同剂量水制备的凝胶贴膏综合平均得分分别为 0、20、36、42。水用量较小时, 凝胶贴膏基质内聚力较大, 不利于涂布, 且表面有白色不溶性小颗粒。随着用量的增加, 凝胶贴膏涂展性能逐渐增加。水用量为 74.9%时凝胶贴膏具有较好的外型。

2.5 混料设计优化基质处方

2.5.1 混料设计因素范围及实验安排 通过 D-最优混料设计对处方中用量大于 1% 的辅料配比进行筛选, 实验设计因素及范围见表 3。使用 Design Expert 8.0.6 软件对上述因素进行混料设计, 以各黏附力与综合感官评价综合得分为评价指标, 混料设计的实验安排和结果见表 4。

2.5.2 数据处理及分析 对实验数据进行多元回归拟合分析, 得到的基质综合评分 (Y) 与基质因素变量的 2 次回归方程模型为 $Y=321.097\ 45\times$ 聚丙烯酸钠 NP700 用量 $-762.472\ 76\times$ 羧甲基纤维素钠用量 $+148.327\ 65\times$ 硅藻土用量 $+45.197\ 67\times$ 水用量 $+159.288\ 31\times$ 甘油用量, $P=0.000\ 1$ ($P<0.01$),

说明模型具有明显差异。响应面的 3D 图和等高线图见图 1。

2.5.3 实验验证 设定各成分的变化范围以及期望响应值, 运行 Design Expert 8.0.6 软件的最优化功能, 预测随机组合的目标响应值。运行结果给出了 1 组达到或接近目标响应值的组合, 该最优组合为

表 3 混料设计实验因素及范围

Table 3 Experimental factors and scope of mixture design

因素	用量/%				
	聚丙烯酸钠 NP700	羧甲基纤维素钠	硅藻土	甘油	水
上限	1.0	1.5	2.0	10.0	60.0
下限	3.0	4.5	4.0	30.0	80.0

表 4 混料设计实验安排及结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Experimental arrangement and results of mixture design ($\bar{x} \pm s, n=3$)

序号	用量/%					评分								总分
	聚丙烯酸钠	羧甲基纤维素钠	硅藻土	甘油	水	均匀性	涂展性	稠度	皮肤追随性	反复揭贴性与残留	初黏力	持黏力	剥离度	
1	1.0	3.6	3.0	26.6	65.8	4	6	6	6	10	6	8	2	48
2	1.5	4.5	4.0	30.0	60.0	4	2	4	10	10	8	4	4	46
3	3.0	3.7	4.0	19.8	69.5	4	4	2	6	10	4	10	6	46
4	2.0	3.2	2.0	27.4	65.4	6	8	6	10	10	8	0	4	52
5	3.0	1.5	4.0	15.6	75.9	8	8	8	10	10	6	10	8	68
6	1.0	4.5	4.0	10.5	80.0	0	10	0	0	0	2	0	0	12
7	1.7	2.5	2.8	13.0	80.0	4	10	8	6	10	4	4	6	52
8	3.0	1.5	2.0	19.9	73.6	8	10	8	10	10	10	2	10	68
9	2.6	2.0	3.5	30.0	61.9	10	10	10	10	10	16	0	6	72
10	1.2	1.5	4.0	21.1	72.2	10	10	4	10	6	14	0	6	60
11	2.2	4.5	2.9	27.9	62.5	6	4	4	8	10	8	4	10	54
12	1.0	4.5	2.0	12.9	79.6	4	10	0	6	8	4	0	6	38
13	3.0	4.5	4.0	24.8	63.7	6	4	2	8	10	8	4	8	50
14	3.0	4.5	2.0	10.5	80.0	0	10	0	0	0	0	0	0	10
15	1.0	3.6	3.0	26.6	65.8	6	10	6	10	6	8	4	10	60
16	1.5	1.5	2.0	25.1	69.9	8	10	6	10	10	14	0	12	70
17	1.0	1.5	2.0	30.0	65.5	10	10	6	10	4	14	0	12	66
18	2.0	4.5	2.9	18.0	72.6	4	10	6	4	8	6	4	8	50
19	2.0	3.2	2.0	27.4	65.4	10	6	6	10	10	10	0	16	68
20	2.8	4.5	3.7	22.3	66.7	10	4	0	8	8	8	16	12	66
21	2.6	2.0	3.5	30.0	61.9	8	6	4	10	10	14	0	18	70
22	1.7	2.5	2.8	13.0	80.0	6	8	4	6	8	4	14	2	52
23	3.0	1.5	4.0	11.5	80.0	4	10	6	10	10	4	8	8	60
24	2.0	4.5	2.9	18.0	72.6	8	6	4	8	8	4	0	4	42
25	3.0	4.5	2.5	30.0	60.0	4	2	0	10	10	8	0	10	44

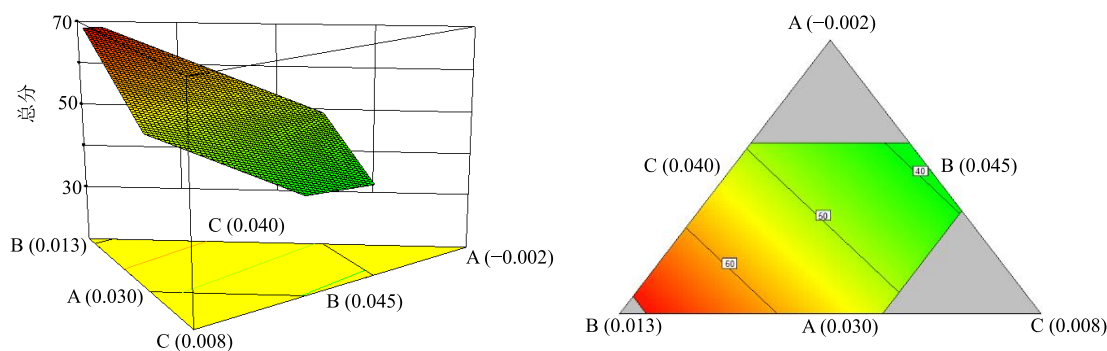


图 1 NP700 (A)、CMC-Na (B)、硅藻土 (C) 交互作用对评价分数影响

Fig. 1 Effect of NP-700 (A), CMC-Na (B) and diatomite (C) interaction on evaluation score

3.0%聚丙烯酸钠 NP700、1.5%羧甲基纤维素、26.0%甘油、61.5%水。按照最优组合进行 3 批验证, 评价总分为 78 ± 2 , 预测值和真实值之间有很好的拟合性, 说明模型的可靠性 (表 5)。

另外, 所制备的凝胶贴膏其初黏力为 8 号小球, 剥离度为 (0.19 ± 0.02) kN/m, 与市售凝胶贴膏的初黏力与剥离度接近 (表 6)。

2.6 载药量的筛选

2.6.1 川乌凝胶贴膏剂的制备 按照设计要求, 取设计量的聚丙烯酸钠 NP700、羧甲基纤维素、卡波姆、三氯化铝、乙二胺四乙酸二钠, 加入甘油, 搅拌均匀, 为甘油相; 将设计量的川乌提取物溶解于水中, 再加入设计量的酒石酸、硅藻土, 混合均匀, 再将混悬液加入到甘油相中, 搅拌均匀至挂旗, 涂

表 5 3 批最优组合验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 5 Verification results of three batches of optimal combination ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

序号	评分							总分
	均匀性	涂展性	稠度	皮肤追随性	反复揭帖性与残留	初黏力	剥离度	
1	6	10	8	10	10	14	18	76
2	8	10	8	10	10	14	18	78
3	10	10	8	10	10	14	18	80
平均	8	10	8	10	10	14	18	78

表 6 最优组合质量再评价 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 6 Quality revaluation of optimal combination ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

贴膏	追随性 评分	揭贴性 评分	初黏力 (球号)	剥离度/ (kN·m ⁻¹)
1	10	10	8	0.18
2	10	10	8	0.21
3	10	10	8	0.19
平均	10	10	8	0.19 ± 0.02

布在无纺布上, 40 °C 低温干燥后加盖防黏纸, 切割成 14 cm×10 cm, 分别制备成每贴含川乌提取物 140、280、560、1 120 mg 的凝胶贴膏。

2.6.2 小鼠醋酸扭体实验 取健康昆明小鼠, 雌雄各半, 随机分为 6 组 ($n=8$), 分别为模型组 (空白凝胶贴膏)、阳性组 (吲哚美辛凝胶贴膏)、给药 1 组 (140 mg 浸膏/贴)、给药 2 组 (280 mg 浸膏/贴)、

给药 3 组 (560 mg 浸膏/贴)、给药 4 组 (1 120 mg 浸膏/贴)。各实验组小鼠每日在背部脱毛处贴敷 1 次 (给药剂量为 6 cm²), 每次保持 6 h, 给药 4 d。给药后 1 h ip 0.6%冰醋酸溶液 (0.01 mL/g), 观察并记录 15 min 内各组小鼠扭体反应次数, 结果见表 7。与对照组比较, 各给药组小鼠扭体次数显著减少 ($P<0.01$)。随着给药剂量增加, 镇痛效果越好, 但是剂量增加至一定限度时, 镇痛效果趋于平稳。各给药组之间比较, 给药 4 组给药量最大, 小鼠扭体次数最少, 但是与给药 3 组之间差异无显著性, 因此选择给药 3 组的剂量作为凝胶贴膏载药量。

2.7 花椒挥发油对川乌凝胶贴膏药效的影响

2.7.1 川乌凝胶贴膏、川乌-花椒挥发油凝胶贴膏制备 按照设计要求, 取设计量的聚丙烯酸钠 NP700、羧甲基纤维素钠、卡波姆、交联剂、乙二胺四乙酸二钠加入甘油, 研磨均匀后, 根据预试验结果, 加

表 7 醋酸扭体实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Results of acetic acid writhing test ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	扭体次数
对照	35.00 ± 3.03
阳性	15.83 ± 5.74**
给药 1	22.83 ± 2.86**##
给药 2	24.83 ± 3.25**##
给药 3	19.67 ± 1.63**▲▲&&
给药 4	17.17 ± 1.17**▲▲&&

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与阳性组比较: ## $P < 0.01$; 与给药 1 组比较: ▲▲ $P < 0.01$; 与给药 2 组比较: && $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs the positive group; ▲▲ $P < 0.01$ vs the administration group 1; && $P < 0.01$ vs administration group 2

入 2% 的花椒挥发油, 研磨均匀。按照基质配方比例, 将设计量的川乌提取物、硅藻土、酒石酸溶解于水相中, 然后缓慢加入至甘油相, 研磨均匀直至挂旗, 涂布在无纺布上, 40 °C 低温干燥后加盖防黏纸, 切成 14 cm × 10 cm, 分别制备成川乌凝胶贴膏、川乌-花椒挥发油凝胶贴膏, 备用。

2.7.2 甲醛致痛实验 取 30 只健康雄性小鼠, 随机分为 5 组, 分别为对照组、模型组 (空白凝胶贴膏)、阳性组 (吡啶美辛凝胶贴膏)、川乌组 (川乌凝胶贴膏)、川乌-花椒组 (川乌-花椒挥发油凝胶贴膏)。各组小鼠将相应凝胶贴膏连续贴敷于背部 4 d (6 cm²/贴), 每日 1 次, 每次 6 h。实验前禁食 24 h, 除对照组外, 其余各组最后一次给药后将单只小鼠放入大烧杯中适应 1 h, 然后在小鼠右后足跖部 sc 5% 甲醛溶液 20 μL, 立即将小鼠放回原烧杯, 并开始计时^[8-9]。观察 0~5 min 和 15~35 min 2 个时间段内小鼠舔 (抓咬) 右后足的累计时间。结果如表 8 所示。与模型组相比, 川乌-花椒挥发油凝胶贴膏

表 8 甲醛致痛小鼠 I 相疼痛期与 II 相疼痛期结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 Results of I phase pain (A) and II phase pain (B) in formaldehyde-induced mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	I 相疼痛期/s	II 相疼痛期/s
对照	—	—
模型	92.99 ± 15.88	317.26 ± 31.56
阳性	85.64 ± 7.23	196.94 ± 32.39**
川乌	90.43 ± 9.31	228.13 ± 24.48**
川乌-花椒	77.24 ± 4.13**▲▲	111.83 ± 15.30**▲▲

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与川乌组比较: ▲▲ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; ▲▲ $P < 0.01$ vs Aconiti Radix group

能显著减少 I 相神经疼痛期的舔足时间, 说明花椒挥发油的加入能够显著提高川乌凝胶贴膏的急性镇痛作用。与模型组相比, 所有给药组均能够显著减少 II 相神经疼痛期 (15~35 min) 内的舔足时间, 说明所有给药组均能够有效减少小鼠继发性炎症疼痛 (慢性疼痛)。与川乌组相比, 加入花椒挥发油能明显减少 II 相神经疼痛期内的舔足时间, 说明花椒挥发油的加入可增加川乌凝胶贴膏治疗慢性疼痛的效果。综上, 川乌凝胶贴膏可抑制甲醛造成的慢性疼痛, 加入花椒挥发油能增强川乌凝胶贴膏的镇痛作用。

2.7.3 血清样本的收集与处理 甲醛致痛模型小鼠在观察结束后摘眼球取血, 冷冻离心 (4 °C、3 500 r/min, 10 min), 取 100 μL 加入到 1.5 mL EP 管中, 再加入甲醇溶液 300 μL, 混匀, 静置, 取上清液 200 μL, 用氮吹仪吹干, 4 °C 保存。临用前加入 500 μL 甲醇, 充分混匀, 4 °C 下冷冻离心 (12 000 r/min, 10 min), 取上清, 备用。

2.7.4 LC-MS/MS-IT-TOF 检测 采用 Waters XBridge® C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 3.5 μm); 柱温为 40 °C, 体积流量为 1 mL/min, 进样量为 10 μL, 样品温度为 4 °C; 液相洗脱条件: 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈, 具体洗脱程序: 0~5 min, 5%~10% 乙腈; 5~10 min, 10%~20% 乙腈; 10~15 min, 20%~35% 乙腈; 15~20 min, 30%~50% 乙腈; 20~25 min, 50%~70% 乙腈; 25~30 min, 70%~85% 乙腈; 30~35 min, 85%~95% 乙腈; 35~40 min, 95% 乙腈; 40~42 min, 95%~5% 乙腈; 42~45 min, 5% 乙腈。

质谱条件: 电离模式为 (±) ESI; 扫描范围为 m/z 100~1 000; 离子源电压 4.5 kV; 雾化器流量 1.5 L/min; 干燥气 (N₂) 100 kPa; 脱溶剂部温度 200 °C; 离子累积时间: 30 ms; CID 能量: 50%; 检测器电压 1.80~2.10 kV。

2.7.5 方法稳定学考察 从每个待分析的血清样本取 10 μL 混匀后得到 QC 样品 (quality control), 序列进样前, 连续进 6 针 QC 样本, 随后检测中, 正、负离子模式下均每隔 6 个样品进 1 针 QC 样本, 观察系统的重复性和稳定性。

2.7.6 实验数据处理 将所测代谢组学数据采用 Profiling solution 软件进行数据预处理, 如色谱峰识别、对比、归一化等, 再将数据导入 SIMCA-P13.0 软件, 标准化后进行主成分分析 (principal component

analysis, PCA) 及偏最小二乘法-判别 (partial least squares-discriminate analysis, PLS-DA) 分析。运用变量影响投影 (variable influence in the projection, VIP) 方法来预测各个数据对模型的贡献值, $VIP > 1$ 说明具有明显贡献, 有统计学意义, 为可能的潜在标志物。再进一步应用 SPSS 21.0 软件(美国 IBM 公司)对筛选出的潜在标志物进行单因素方差分析和 t 检验, 以 $P < 0.05$, $FC > 2$ 或 $FC < 0.5$ 为条件得到差异代谢物^[10]。最后在 Human Metabolome Database (HMDB) 和 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 数据库中进行匹配。

2.7.7 实验结果

(1) 代谢组学结果分析: 采用 LC-MS/MS-IT-TOF 的方法分析各组小鼠血清代谢物的变化, 样本采用正、负 2 种模式进行扫描。从总离子流图(TIC)可以看出各组血清样品代谢物含量存在一定差异(图 2)。为了获得对照组与模型组之间的代谢差异,

采用多元统计分析方法进行分析。无监督的 PCA 得分图显示, 对照组和模型组明显聚为 2 类, 说明建模之后, 2 组小鼠血清内源性代谢产物存在显著差异, QC 样品聚集良好, 说明该检测系统稳定可靠, 所得差异物能反映样本间的生物学差异(图 3)。

为进一步评价花椒挥发油对川乌凝胶贴膏药效

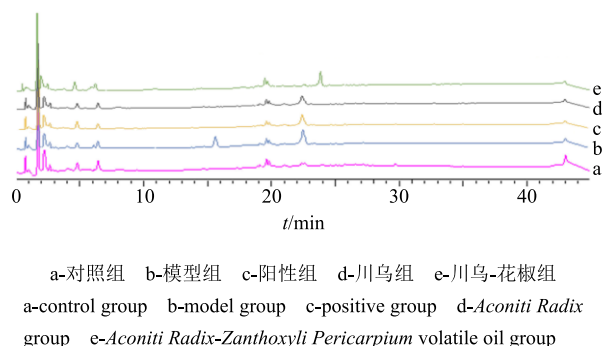


图 2 小鼠血清样本总离子流图
Fig. 2 TIC graph of mouse serum sample

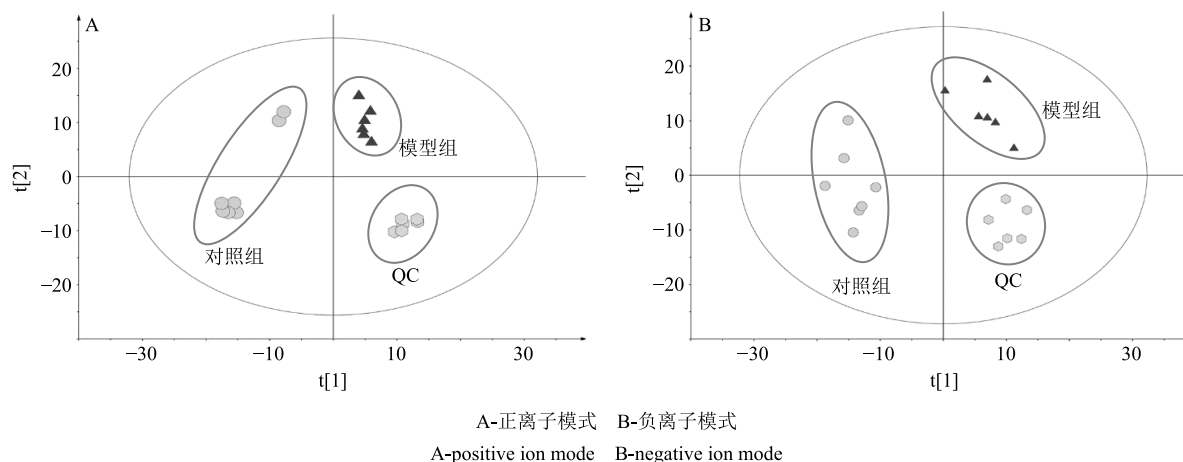


图 3 小鼠血清代谢物的 PCA 评分图
Fig. 3 PCA score of serum metabolites in mice

的影响, 对对照组、模型组、阳性组、川乌组、川乌-花椒组进行有监督 PLS-DA 分析(图 4)。在正离子和负离子模式下, 模型组小鼠与对照组小鼠血清代谢轮廓有明显分离, 给药组干预后的小鼠血清代谢轮廓与模型组有明显差别。PLS-DA 是一种有监督的预测模型, 为验证模型的可靠性, 防止过拟合, 进行了 Permutation 验证, 正离子模式下, $R_X^2 = 0.928$, $R_Y^2 = 0.985$, $Q^2 = 0.856$; 负离子模式下 $R_X^2 = 0.776$, $R_Y^2 = 0.954$, $Q^2 = 0.796$, 说明模型有良好的预测能力。

(2) 代谢差异标志物筛选与通路分析: 作为有监督的多元分析方法, PLS-DA 能进一步区分分

析组的差异, 并通过 VIP 确认潜在的生物标志物。应用 SIMCA-P 13.0 软件对实验数据进行 PLS-DA 分析, 建立代谢物表达量与样品类别之间的关系模型。该模型投影中 $VIP > 1$, $|p(\text{corr})| > 0.58$ 的变量, 被认为是潜在代谢生物标志物(图 5、6)。

再进一步应用 SPSS 21.0 软件(美国 IBM 公司)对筛选出的潜在标志物进行潜在单因素方差分析和 t 检验, 以 $P < 0.05$, $FC > 2$ 或 $FC < 0.5$ 为条件得出差异代谢物。本研究在正离子模式下共鉴定出 28 个生物标志物, 负离子模式下未鉴别出差异性代谢产物, 见表 9。其中, 包括标志物在模型中所对应的质荷比、保留时间、标志物种类、误差值及在各

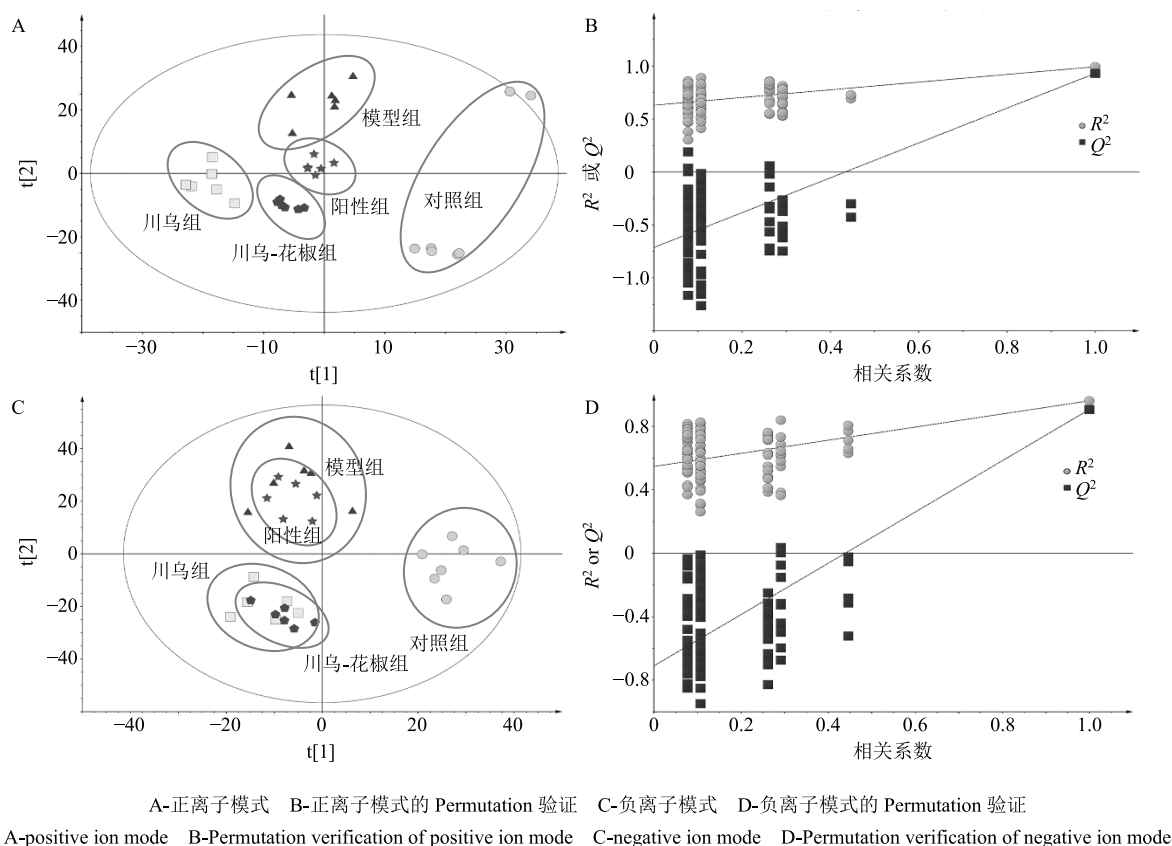


图 4 PLS-DA 得分图及 Permutation 验证
Fig. 4 PLS-DA score chart and Permutation verification

组小组血清中的含量变化等信息（阳型组与模型组比较，未筛选出标志性差异产物）。在所鉴定出的 28 个生物标志物中，涉及到鞘胺醇、脂肪酸、脂肪酸酰胺、磷脂酰乙醇胺、环磷酰胺、尿苷、磷脂酰胆碱、溶血磷脂、乳糖神经酰胺、瓜氨酸、磷酸胆碱和甘油磷脂酰胆碱等代谢物质。

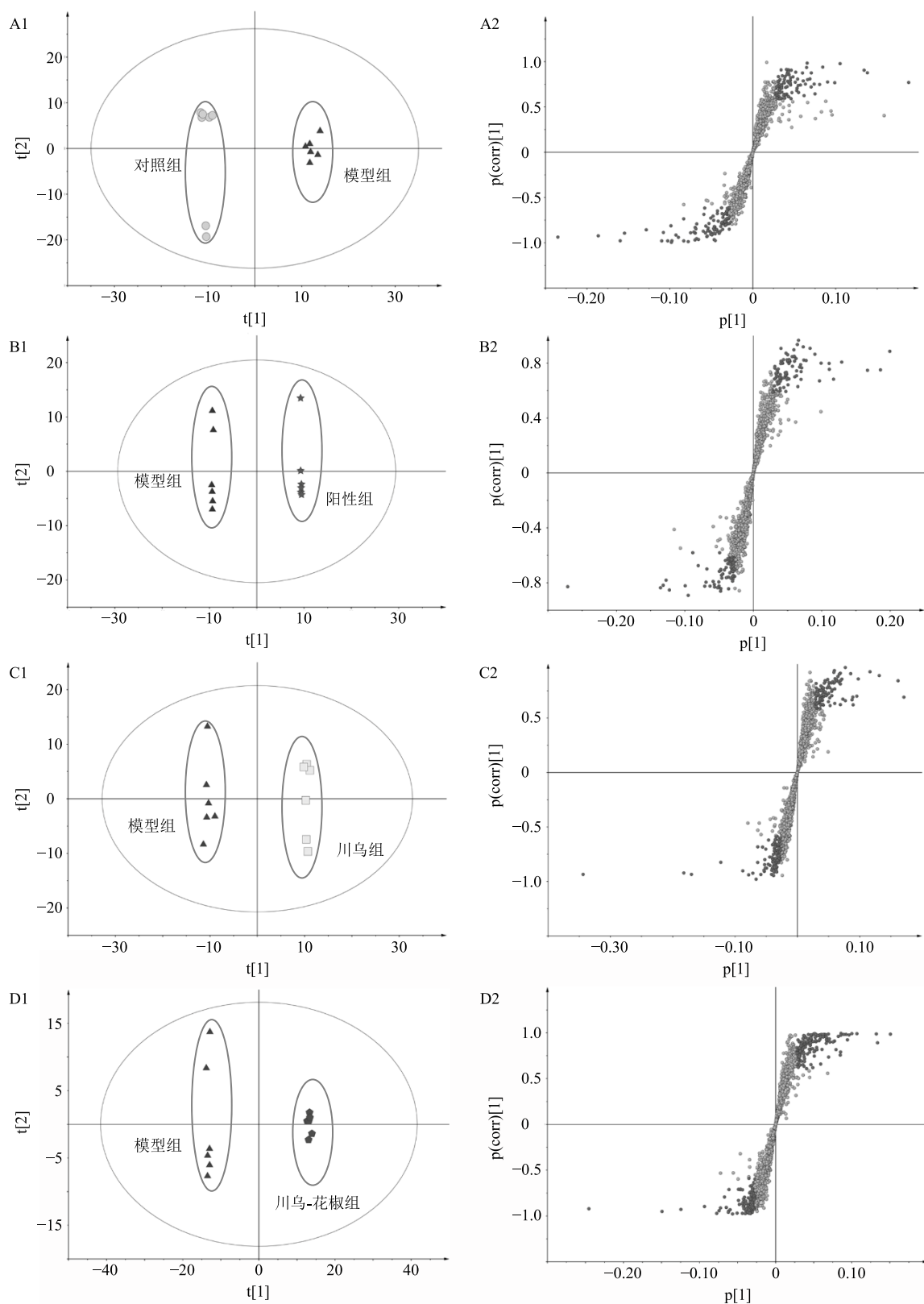
3 讨论

近年来，凝胶贴膏评价方式与评价指标已趋于多元化^[11]，但仍然存在部分问题，如各种评价指标之间缺乏相关性。从实验结果可以看出，在一定范围内，追随性与初黏力基本上成正比，追随性越好，初黏力越好；揭帖性与剥离度成反比，揭帖性越差，剥离度越大。但仅以初黏力与剥离度为指标，很难评价初黏力与剥离度在什么范围合适。因此，本研究首先对市售凝胶贴膏的追随性、揭帖性、初黏力及剥离度进行了再评价，确定凝胶贴膏的初黏力与剥离度最优范围，以此为参考指标，保证川乌凝胶贴膏具有较好的基质性能。

经皮给药系统最基本的递药方式是由浓度差推动的被动扩散。当把皮肤当成一个均质膜时，药物

通过皮肤被吸收进入体循环的过程符合 Fick 扩散定律，且浓度梯度越大，扩散通量越大^[12]。因此，根据经皮给药透皮吸收原理，凝胶贴膏的载药量常采用体外吸收扩散池法确定，从而预测药物的载药量^[13-14]。体外透皮实验简单易行，却无法真正模拟皮肤内环境，所测定的实验值与真实值存在一定偏差，因此本实验采用在体实验来筛选载药量。醋酸扭体实验结果表明，川乌凝胶贴膏的镇痛作用并不是随着载药量增加一直增强，当载药量达到一定程度，镇痛效果会趋于稳定。综合考虑，最终确定每贴川乌凝胶贴膏载药量为 560 mg 川乌提取物。

甲醛致痛模型是典型的慢性疼痛，因其更接近于疼痛的临床表现，被广泛用于镇痛药物的筛选^[15]。它可以造成双相痛觉反应，第 I 相（0~5 min）是由于甲醛刺激伤害感受器产生的急性疼痛，随后是静息期（5~15 min），第 II 相（15~35 min）是除了机械性疼痛外，还有因 I 相频繁的神经元活动致使中枢神经系统敏化以及炎症应答的炎症性中枢疼痛^[16]。本研究在甲醛致痛模型的基础上，采用血清代谢组学方法探究花椒挥发油配伍川乌凝胶贴膏增



A-对照组 vs 模型组 B-模型组 vs 阳性组 C-模型组 vs 川乌组 D-模型组 vs 川乌-花椒组

A-control group vs model group B-model group vs positive group C-model group vs *Aconiti Radix* group D-model group vs *Aconiti Radix-Zanthoxyli Pericarpium* volatile oil group

图 5 正离子模式下不同给药组的 PCA (1) 及差异化合物的 S-plot (2)

Fig. 5 PCA of different administration groups (1) and S-plot of different compounds (2) under positive ion mode

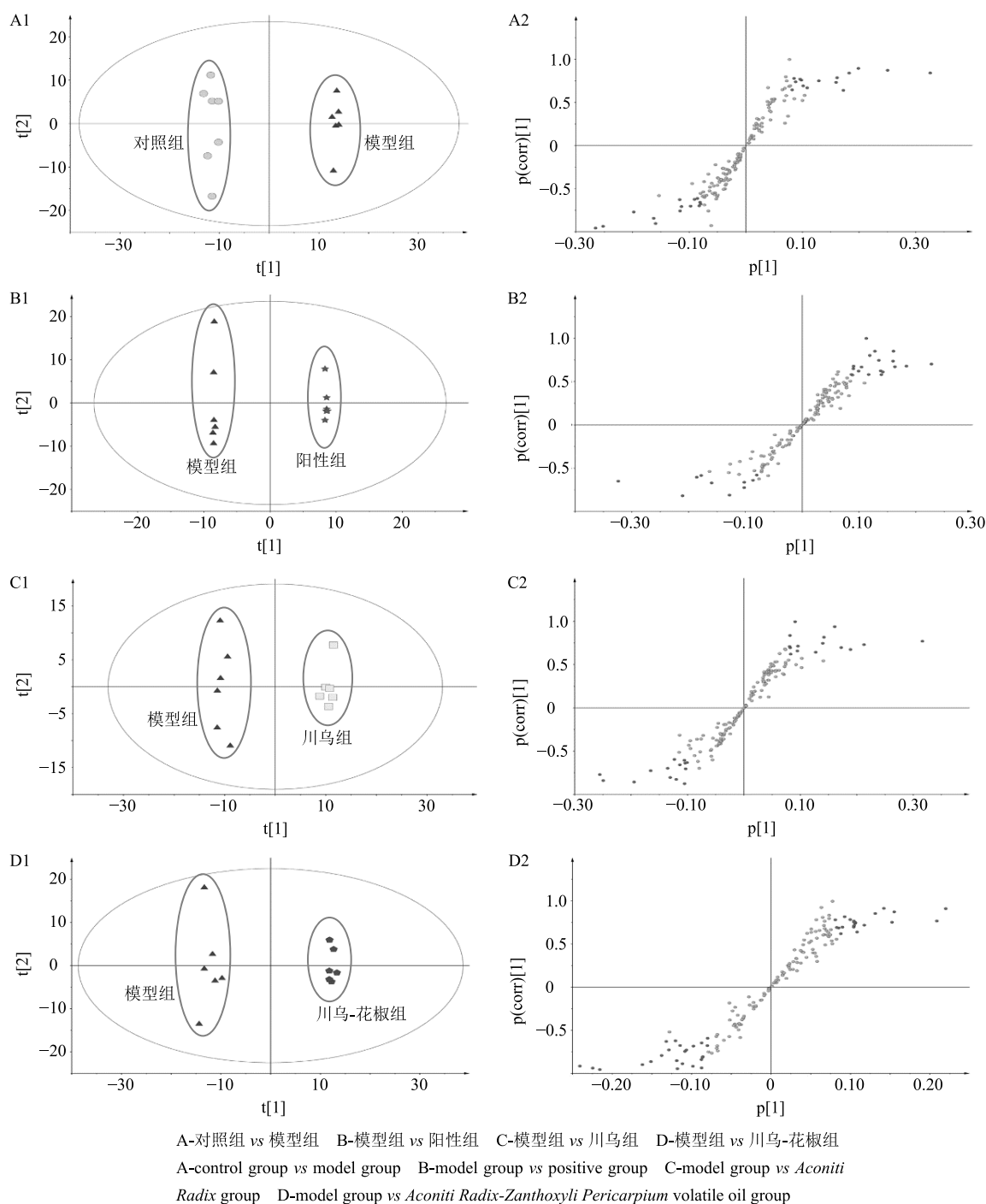


图 6 负离子模式下不同给药组的 PCA (1) 及差异化合物的 S-plot (2)

Fig. 6 PCA of different administration groups (1) and S-plot of different compounds (2) under negative ion mode

效机制。从小鼠行为学指标可以看出，与花椒挥发油配伍比单独使用川乌疗效更佳，通过 KEGG 通路分析（表 10 和图 7），甲醛致痛模型主要影响鞘脂类代谢、甘油磷脂代谢、亚油酸代谢、 α -亚油酸代谢、花生四烯酸代谢、嘌呤代谢，其中鞘脂类代谢、甘油磷脂代谢、亚油酸代谢影响值最高。川乌凝胶贴膏对甲醛致痛模型小鼠的影响主要是亚油酸代

谢、 α -亚油酸代谢及鞘脂类代谢，而含有花椒挥发油的川乌凝胶贴膏主要影响甘油磷脂代谢、亚油酸代谢以及 α -亚油酸代谢。

近年来，脂质代谢与炎症的关系受到了广泛关注。研究表明，炎症可以导致脂质代谢紊乱，而脂质代谢失衡也可诱导炎症的发生^[17-19]。磷脂酰胆碱类（PC）是脂质代谢中的一类重要产物，其合成水

表 9 正离子模式下与甲醛致痛模型相关的 28 个潜在生物标志物信息

Table 9 Twenty-eight potential biomarker information related to formaldehyde induced pain model in positive ion mode

序号	质荷比	t_R/min	化合物	分子式	$\Delta/(\times 10^{-6})$	对照组	阳性组	川乌组	川乌-花椒组
1	318.30	18.996	phytosphingosine	$\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}_3$	-0.72	↓**	↓***	↓**	↓**
2	806.57	31.292	PC (22:6 (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/16:0)	$\text{C}_{46}\text{H}_{81}\text{NO}_8\text{P}$	2.02	↓**	↓	↓	↓##
3	780.55	33.266	PC (22:5 (7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/14:0)	$\text{C}_{44}\text{H}_{79}\text{NO}_8\text{P}$	-0.15	↓**	↓***	↓***	↓***
4	782.56	31.073	PC (22:4 (7Z,10Z,13Z,16Z)/14:0)	$\text{C}_{44}\text{H}_{81}\text{NO}_8\text{P}$	6.43	↓**	↓	↑##	↓
5	568.34	28.621	LysoPC (22:6 (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	$\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{NO}_7\text{P}$	2.23	↑**	↑	↑***	↑##
6	570.36	31.179	LysoPC (22:5 (7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	$\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{NO}_7\text{P}$	-4.18	↑	↑***	↓##	↓***
7	544.34	29.022	LysoPC (20:4 (8Z,11Z,14Z,17Z))	$\text{C}_{28}\text{H}_{51}\text{NO}_7\text{P}$	4.16	↑	↑	↑	↑
8	546.36	23.757	LysoPC (20:3 (8Z,11Z,14Z))	$\text{C}_{28}\text{H}_{53}\text{NO}_7\text{P}$	0.40	↓**	↑***	↑	↑##
9	524.37	22.442	LysoPC (18:0)	$\text{C}_{26}\text{H}_{55}\text{NO}_7\text{P}$	-6.36	↓**	↑##	↓##	↓
10	806.57	29.648	lactosylceramide (d18:1/12:0)	$\text{C}_{42}\text{H}_{79}\text{NO}_{13}$	-4.57	↓**	↓**	↓##	↓**
11	176.10	28.753	citrulline	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$	4.38	↓**	↓##	↓##	↑##
12	274.27	25.732	C16 sphinganine	$\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{NO}_2$	8.25	↑	↓	↑***	↓
13	496.34	29.161	1-palmitoyllysophosphatidylcholine	$\text{C}_{24}\text{H}_{51}\text{NO}_7\text{P}$	-3.70	↓**	↑##	↓**	↑***
14	520.34	27.537	1-linoleoylglycerophosphocholine	$\text{C}_{26}\text{H}_{51}\text{NO}_7\text{P}$	-3.72	↑**	↑**	↑##	↑**
15	311.22	36.744	13(S)-HpOTrE	$\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_4$	-0.69	↓	↓	↓	↓***
16	302.31	33.864	sphinganine	$\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}_2$	-0.81	↓	↑***	↑***	↑***
17	249.16	8.081	pindolol	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$	3.04	↑	↓***	↓***	↓***
18	256.26	38.308	palmitic amide	$\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{NO}$	-0.43	↓	↓**	↓**	↓
19	316.98	1.98	lythidathion	$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{PS}_3$	7.54	↑	↑	↑**	↑
20	504.31	28.844	LysoPE (0:0/20:3 (11Z,14Z,17Z))	$\text{C}_{25}\text{H}_{46}\text{NO}_7\text{P}$	-4.24	↑**	↑##	↓***	↑##
21	435.17	17.918	cis-(Z)-flupenthixol	$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}$	2.87	↑	↓	↑***	↑***
22	549.41	37.424	cholesteryl beta-D-glucoside	$\text{C}_{33}\text{H}_{56}\text{O}_6$	4.68	↑**	↑##	↑**	↑
23	406.36	40.453	aminopentol	$\text{C}_{22}\text{H}_{47}\text{NO}_5$	-6.41	↓**	↓**	↓**	↓**
24	245.08	2.056	uridine	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$	5.38	↑	↑	↑***	↑
25	381.3	31.488	MG (0:0/20:3 (11Z,14Z,17Z)/0:0)	$\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_4$	6.41	↑**	↓##	↓##	↓***
26	567.29	16.085	mesoporphyrin IX	$\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$	3.68	↓	↓	↑	↑***
27	425.21	27.848	didrovaltratum	$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_8$	4.94	↓	↑	↑***	↑***
28	261.03	1.865	cyclophosphamide	$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{P}$	2.68	↓	↓	↑**	↑***

“↑”表示含量升高，“↓”表示含量降低；与模型组比较：** $P < 0.01$ ；与对照组比较：## $P < 0.01$ ；“Δ”表示相对分子质量误差

“↑” means the content is increased, “↓” means the content is decreased vs the model group, ** $P < 0.01$; ## $P < 0.01$ vs the normal group; “Δ” means error of relative molecular mass

表 10 代谢通路分析信息汇总

Table 10 Summary of metabolic pathway analysis

通路	化合物数量	期望值	击中值	P 值	Holm 调整	FDR	影响值
鞘脂类代谢	21	0.133 380	2	0.007 077	0.580 290	0.580 290	0
甘油磷脂代谢	30	0.190 540	2	0.014 228	1	0.583 370	0.183 330
亚油酸代谢	6	0.038 109	1	0.037 574	1	1	0
α -亚油酸代谢	9	0.057 163	1	0.055 886	1	1	0
花生四烯酸代谢	36	0.228 650	1	0.207 270	1	1	0
嘌呤代谢	68	0.431 900	1	0.358 460	1	1	0.050 070

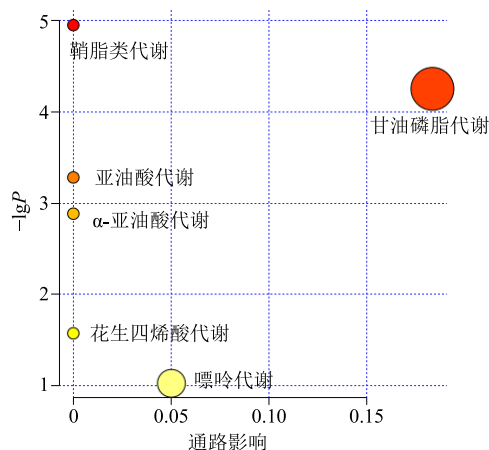


图 7 代谢通路分析

Fig. 7 Metabolic pathway analysis

平升高, 预示着机体可能出现炎症反应^[20]。花生四烯酸是重要的炎症反应介质。研究报道, 亚油酸在 Δ^6 -脱氢酶、 Δ^5 -脱氢酶等作用下可转化生成花生四烯酸, 调控亚油酸代谢、 α -亚油酸代谢对于炎症的发生具有重要意义^[21-22]。在模型组中, PC 类的水平升高, 而在给予川乌凝胶贴膏干预后, 水平有所下降, 其中川乌-花椒组水平接近于对照组, 且与行为学结果一致, 说明川乌-花椒挥发油凝胶贴膏可能主要通过甘油磷脂代谢调控小鼠疼痛与炎症反应。

参考文献

- [1] Pastore M N, Kalia Y N, Horstmann M, et al. Transdermal patches: History, development and pharmacology [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(9): 2179-2209.
- [2] 王 瑾, 杨 明, 李 剑. 中药巴布膏剂的研究进展及存在的问题 [J]. *中国药业*, 2009, 18(24): 15-17.
- [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] 韩 霜, 冯松浩, 马旭伟, 等. 中药凝胶贴膏剂的研究进展及在产品开发中的应用 [J]. *中草药*, 2018, 49(21): 5197-5204.
- [5] 宋立华, 刘淑芝. 中药凝胶膏剂的研究进展分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(22): 133-136.
- [6] 文 敏, 肖瑞飞, 王 璐, 等. 儿童用凝胶贴膏的研究进展 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2016, 36(11): 91-95.
- [7] 章烨雯, 臧青民, 卢成淑, 等. D-最优混料试验设计优化金黄纳米凝胶贴膏基质处方 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2019, 26(2): 93-96.
- [8] Xu Q, Wang Y, Guo S, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of *Flos Populi* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(3): 540-545.

- [9] 朱力阳, 涂 禾, 马 建, 等. 二黄凝胶贴膏镇痛抗炎作用及机制研究 [J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(2): 148-151.
- [10] 马致洁, 章从恩, 唐进法, 等. 雷公藤配伍甘草降低肝毒性的代谢通路探讨 [J]. *药学学报*, 2017, 52(7): 1077-1084.
- [11] 管咏梅, 宋昕祁, 刘 佳, 等. 解郁安神凝胶贴膏剂的处方优选与质量评价 [J]. *中草药*, 2019, 50(23): 5731-5738.
- [12] 梁佳敏, 李 楠, 徐海蓉, 等. 经皮给药系统的体外释放、透皮特性及体内药动学研究进展 [J]. *武警后勤学院学报: 医学版*, 2013, 22(12): 1137-1140.
- [13] 庞晓晨, 成睿珍, 赵 静, 等. 中药透皮给药系统研究进展及其新剂型的应用 [J]. *中国新药杂志*, 2019, 28(3): 286-291.
- [14] Saleem M N, Idris M. Formulation design and development of an unani transdermal patch for antiemetic therapy and its pharmaceutical evaluation [J]. *Scientifica*, 2016, 2016: 7602347.
- [15] Salinas-Abarca A B, Avila-Rojas S H, Barragan-Iglesias P, et al. Formalin injection produces long-lasting hypersensitivity with characteristics of neuropathic pain [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 797: 83-93.
- [16] Cervantes-Duran C, Ortega-Varela L F, Godinez-Hernandez D, et al. Toluene exposure enhances acute and chronic formalin-induced nociception in rats: Participation of 5-HT₃ receptors [J]. *Neurotoxicology*, 2017, 63: 97-105.
- [17] 刘虎威, 白 玉. 脂质组学及其分析方法 [J]. *色谱*, 2017, 35(1): 86-90.
- [18] Guo L, Davies S S. Bioactive aldehyde-modified phosphatidylethanolamines [J]. *Biochimie*, 2013, 95(1): 74-78.
- [19] 龚勇珍, 孙少卫, 廖端芳. 细胞炎症反应与脂质代谢的相互作用及调节 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(6): 623-629.
- [20] Snider S A, Margison K D, Ghorbani P, et al. Choline transport links macrophage phospholipid metabolism and inflammation [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(29): 11600-11611.
- [21] Chuang L T, Thurmond J M, Liu J W, et al. Effect of conjugated linoleic acid on fungal Δ^6 -desaturase activity in a transformed yeast system [J]. *Lipids*, 2001, 36(2): 139-143.
- [22] 弓 剑, 晓 敏. 多不饱和脂肪酸代谢及其对炎症的调节 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(1): 1-7.