

秦艽喷膜剂的制备工艺研究及其质量标准建立

李松洋¹, 邓妍², 杨放³, 雷诗懿², 高天赐², 杨敏², 徐玉玲^{2,4*}

1. 成都大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610106

2. 成都大学药学院, 四川 成都 610106

3. 成都天河中西医科技保育有限公司新药中试四川省重点实验室, 四川 成都 610106

4. 四川省抗病毒中药产业化工程技术研究中心, 四川 成都 610106

摘要:目的 制备秦艽 *Gentiana macrophylla* 喷膜剂, 并建立其质量标准。方法 结合层次分析法(analytic hierarchy process, AHP), 以成膜时间、挥发量、含量均匀度、膜的显微性状、黏性为指标对成膜辅料的种类及用量进行筛选; 以保湿性为指标, 对甘油的比例进行考察; 以有效成分龙胆苦苷的累积释放量为指标, 筛选出合适的促渗剂及其用量; 采用 HPLC 对秦艽喷膜剂中有效成分龙胆苦苷进行含量测定, 并建立包括保湿性等多个检查项在内的秦艽喷膜剂质量标准。结果 确定成膜处方为 6%聚乙烯吡咯烷酮 K30 (polyvinyl pyrrolidone K30, PVP) 和 0.2%甲基纤维素 MC-400 (methyl cellulose-400, MC), 促渗剂处方为 2.5%丙二醇和 2.5%氮酮; 建立秦艽喷膜剂质量标准为秦艽喷膜剂含龙胆苦苷不得少于 0.76 mg/mL; 保湿性不得低于 30.25%; 成膜时间不得高于 240 s; 挥发量不得低于 62.70%; 成膜后 433 nm 处吸光度 (*A*) 值不得大于 0.142, 成膜中 *A* 值不得小于 0.259; 运动黏度不得低于 6.91 mm²/s; 样品 pH 值为 3.67~5.50。结论 筛选所得秦艽喷膜剂的制备工艺稳定, 建立的质量标准为秦艽喷膜剂质量评价提供依据。

关键词: 秦艽; 喷膜剂; 龙胆苦苷; 质量标准; 层次分析法; 保湿性

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)20-6462-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.20.018

Preparation and quality standard of film spraying agent of *Gentiana macrophylla*

LI Song-yang¹, DENG Yan², YANG Fang³, LEI Shi-yi², GAO Tian-ci², YANG Min², XU Yu-ling^{2,4*}

1. School of Food and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China

2. School of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610106, China

3. Sichuan Key Laboratory of New Drug Pilot Test, Chengdu Tianhe Traditional Chinese and Western Medicine Technology Conservation Co., Ltd., Chengdu 610106, China

4. Sichuan Antiviral Chinese Medicine Industrialization Engineering Technology Research Center, Chengdu 610106, China

Abstract: Objective To prepare film spraying agent of *Gentiana macrophylla* and establish the quality control method. **Methods** Combined with the analytic hierarchy process (AHP), the film forming time, volatilization, content uniformity, film property and viscosity were used to screen the type and dosage of film forming excipients. The proportion of glycerin was investigated by using moisture retention as an index. The cumulative release amount of gentiopicroside, an effective component, was used as an indicator to screen out the appropriate type and dosage of penetration enhancers. HPLC was used to determine the content of gentiopicrosin, the active ingredient in *G. macrophylla* film spray. The moisture retention, film forming time, volatilization, viscosity, fluidity and pH value were studied to establish the quality standard of *G. macrophylla* film spray. **Results** The membrane forming prescription is 6% polyvinyl pyrrolidone K30 and 0.2% methyl cellulose-400, and the osmotic enhancer prescription is 2.5% propylene glycol and 2.5% azone. The quality standard of *G. macrophylla* film spray was established as follows: gentiopicrosin in 1 mL was determined to be no less than 0.76 mg; temporary moisture retention shall not be less than 30.25%; film forming time should not be higher than 240 s; volatilization should not be less than 62.70%; after film forming, the absorbance at 433 nm shall not be greater than 0.142, and the

收稿日期: 2022-05-12

基金项目: 四川省 2021—2023 年高等教育人才培养质量和教学改革项目 (JG2021-1106); 新药中试四川省重点实验室开放课题资助项目 (XYZS2022-01); 成都大学 2021—2023 年研究生人才培养质量和教学改革立项项目 (cdjgy2022004)

作者简介: 李松洋 (2000—), 女, 四川达州人, 本科生, 研究方向为中成药开发与质量再评价研究。E-mail: 1074576739@qq.com

*通信作者: 徐玉玲 (1975—), 女, 云南曲靖人, 硕士, 副教授, 从事中成药开发与再评价研究。E-mail: xuyuling.cdu.edu.cn

absorbance in film forming shall not be less than 0.259; kinematic viscosity shall not be less than 6.91 mm²/s; the pH of the samples was 3.67 to 5.50. **Conclusion** The optimized preparation process of *G. macrophylla* film spray is stable, and the established quality standard provides a certain basis for the quality evaluation of *G. macrophylla* film spray.

Key words: *Gentiana macrophylla* Pall.; spray membranes form; gentiopicroside; quality standard; analytic hierarchy process; moisture retention

秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall. 是多年生草本植物, 具有祛风湿、清湿热、止痹痛、退虚热的作用^[1], 用于风湿痹痛、中风半身不遂、筋脉拘挛等, 临床上多用于汤剂和贴剂。将秦艽制成外用制剂, 可以避免肝脏首过效应, 提高用药的安全性。

喷膜剂结合了贴剂、膜剂、喷雾剂的优点, 可以在常温状态下以液体的形式储存, 使用时呈雾状喷出, 在皮肤、黏膜表面等处快速形成一层透气性良好的可溶性生物薄膜, 可达到保护创面、抑菌抗炎的效果, 具有给药方便、提高生物利用度、实现缓释给药等优点^[2], 可以增强患者依从性。目前, 喷膜剂在临床上多应用于医疗器械, 载药喷膜剂的研发技术还处于发展中, 喷膜剂的成型工艺研究较少, 文献多为透皮性能方面的研究, 对喷膜剂本身的质量控制报道也较少, 本实验在课题组已有研究基础上, 参考已有研究文献并结合制剂成形、使用、储存等方面的要求, 以含量均匀度、成膜时间、挥发量、保湿性、黏性、膜的显微性状为指标, 对成膜材料的种类和用量进行筛选, 确定最佳用量及配比, 对秦艽喷膜剂的制备工艺及质量标准进行研究, 为喷膜剂的制备及评价提供一定的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FA2004 型万分之一分析电子天平, 上海良平仪器仪表有限公司; P230II 型高效液相色谱仪, 大连依利特分析仪器有限公司; SHZ-D (III) 型循环水式多用真空泵, 成都康宇科技有限公司; PS-40 型超声波清洗器, 深圳得康清洗设备有限公司; TP-6 型智能透皮试验仪, 天津盛大三合光学仪器有限公司; 广泛试纸 pH1-14, 中国上海三爱思试剂有限公司; OH6-903385 型电热鼓风干燥箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司; PHS-3E 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; TG20G 型离心机, 天津广丰科技有限公司。

1.2 试药

聚乙烯吡咯烷酮 K30 (polyvinyl pyrrolidone K30, PVP, 批号 2021030901)、聚乙烯醇 1788 (polyvinyl alcohol 1788, PVA, 批号 2018082801)、

甲基纤维素 MC-400 (methyl cellulose-400, MC, 批号 2021072001)、薄荷脑 (批号 20180959)、冰片 (批号 20180959)、丙三醇 (批号 2019010901)、1,2-丙二醇 (批号 2018042301), 均购自成都市科隆化学制品有限公司; 无水乙醇 (批号 210801), 购自四川金山制药有限公司; SH-K4M 型羟丙甲纤维素 (hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC, 批号 160121) 购自安徽山河药用辅料股份有限公司; 秦艽中间体, 实验室自制, 批号 20201222、20201227、20220114。龙胆苦苷对照品, 批号 wkq20051205, 质量分数 >98% (HPLC), 购自四川省维克奇生物科技有限公司。秦艽药材购自成都荷花池中药材市场, 经成都大学刘涛教授鉴定为龙胆科龙胆属植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall. 的干燥根。

1.3 动物

SPF 级昆明种雄性小鼠, 6~8 周龄, 体质量 20~25 g, 由成都达硕实验动物有限公司提供, 合格证号 SCXK (川) 2020-030。饲养条件: 环境温度 (23±2) °C, 相对湿度 50%~60%, 光照时间 12 h, 自由饮水。所有动物实验遵循成都大学有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 成型工艺研究

2.1.1 中间体溶解性能研究

(1) 龙胆苦苷测定的色谱条件: 采用 Supersil ODS 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-0.1% 醋酸水溶液 (15:85) 为流动相; 检测波长为 254 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量为 10 μL。

(2) 中间体溶媒乙醇体积分数的考察: 取秦艽中间体 (批号 20220114) 约 0.5 g, 精密称定, 置 250 mL 具塞锥形瓶中, 平行称取 5 份, 分别精密加入 55%、45%、35%、25%、15% 乙醇溶液 100 mL, 超声处理 20 min (功率 100 W、频率 40 kHz), 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按照 “2.1.1 (1)” 项色谱条件进行 HPLC 含量测定。结果显示, 不同体积分数乙醇溶液中龙胆苦苷含量差异不显著, 其中 45% 乙醇溶液中龙胆苦苷含量较高 (10.39%),

考虑到不同体积分数乙醇的挥发性对喷膜剂的成膜时间有影响,故选择其作为溶媒。

(3) 中间体用量的考察:分别精密称定秦艽中间体(批号 20220114)约 0.6、1.2、1.8、2.4、3.0 g,置 250 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 45%乙醇 100 mL,制得质量浓度为 6、12、18、24、30 $\mu\text{g/mL}$ 的中间体溶液,超声处理 20 min (功率 100 W、频率 40 kHz),滤过,取续滤液,按照“2.1.1 (1)”项色谱条件进行含量测定,计算其转移率,并测定出膏率。如表 1 所示,秦艽中间体质量浓度为 12 mg/mL 时,其出膏率最高且转移率大于 80%。因此,选择秦艽中间体质量浓度为 12 mg/mL。

2.1.2 成膜辅料初筛 取秦艽中间体(批号 20220114)约 1.2 g,精密称定,加 100 mL 45%乙醇,超声处理 20 min (功率 100 W、频率 40 kHz),

抽滤,制得秦艽中间体溶液。参照文献报道^[3-6],分别按表 2 加入不同质量分数的 PVP、PVA、HPMC、MC,考察成膜辅料的种类及其用量组合,综合选出最佳的成膜材料。

最终初步筛选出 7% PVP、6% PVP+0.2% PVA、6% PVP+0.2% MC、6% PVP+0.2% MC+0.2% PVA 4 种成膜处方。

表 1 中间体用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Dosage of intermediate ($\bar{x} \pm s, n=3$)

中间体质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	转移率/%	出膏率/%
6	76.41±0.95	63.78±1.66
12	115.28±2.65	93.89±2.22
18	98.62±2.08	77.47±2.83
24	47.53±1.46	37.25±2.31
30	57.92±2.51	46.22±1.97

表 2 初筛成膜辅料

Table 2 Preliminary screening film forming excipients

组别	成膜材料	溶解情况	喷出状态	其他	组别	成膜材料	溶解情况	喷出状态	其他
1	6% PVP	良好	雾状	成膜后较黏,延展性不佳	9	7% PVP+0.2% HPMC	良好	雾状	膜呈斑点分布
2	7% PVP	良好	雾状	成膜后较黏,延展性不佳	10	7% PVP+0.2% PVA	良好/较稠	雾状	流动性强,延展性不佳
3	8% PVP	良好	雾状	成膜后较黏,延展性不佳	11	6% PVP+0.2% PVA	良好/较稠	雾状	无
4	1% PVA	难溶	雾状	流动性强	12	6% PVP+0.2% PVA+0.2% HPMC	难溶	雾状	延展性不佳
5	0.8% PVA	难溶	雾状	流动性强	13	6% PVP+0.2% MC	良好	雾状	无
6	0.5% HPMC	良好	线状	无	14	6% PVP+0.2% MC+0.2% PVA	较稠	雾状	无
7	0.2% HPMC+0.8% PVA	较稠	线状	无	15	5% PVP+0.8% PVA	难溶	雾状	延展性不佳
8	7% PVP+0.5% HPMC	较稠	线状	无					

2.1.3 成膜处方筛选 膜的质量对药物的疗效有着重要的影响,基于药品质量源于设计(quality by design, QbD)理念,优化成膜处方也有利于控制膜的质量,为后续质量标准的建立奠定基础。本研究以成膜时间、挥发量、含量均匀度、膜的显微性状、黏性作为评价指标,对成膜处方进行优选。

(1) 成膜时间:将药液以同样的喷射次数均匀喷洒在同样大小的载玻片上,计时,于烘箱中(37 $^{\circ}\text{C}$),5 min 后每隔 30 s 查看 1 次。每种成膜处方平行 3 次实验^[7]。

(2) 挥发量:成膜过程中药液的挥发程度以挥发量进行表示。在培养皿中喷射 3 次,称定质量,于烘箱中(温度 37 $^{\circ}\text{C}$),每隔 10 min 测 1 次质量,直到质量不再上升为止。平行 3 次,计算挥发量。

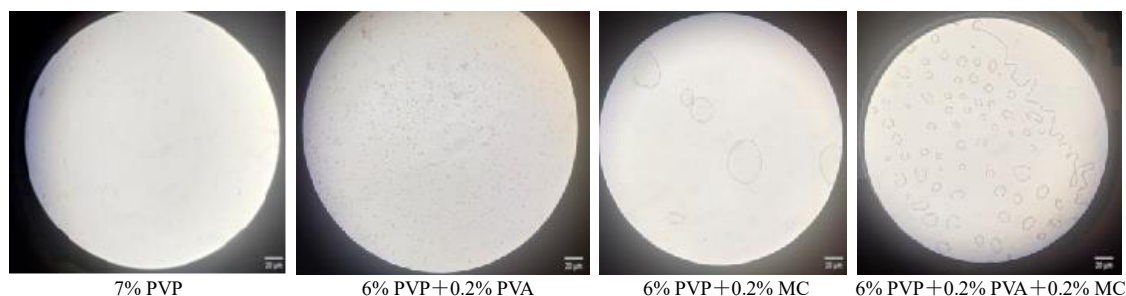
(3) 含量均匀度:《中国药典》2020 年版四部中对于单剂量的固体、半固体和非均相液体制剂采用含量均匀度检查法检查其含量符合标示量的程

度。由于喷膜剂这一剂型尚未被《中国药典》2020 年版收载,因此本研究建立喷膜剂的含量均匀度指标以判断药液的均匀程度,保证给药均一。

用喷膜剂喷射 1 次于已称定质量的 2 mL 量瓶中,精密称定,计算喷量,用 45%乙醇定容至刻度,0.45 μm 微孔滤膜滤过,得续滤液,按照“2.1.1 (1)”项下方法测定龙胆苦苷含量,平行 6 次,并计算每组含量均匀度的 RSD 值。

(4) 膜的显微性状:采用显微镜对成膜结构进行研究,可以直观地观察给药后膜的均一性以及致密均匀程度。具体步骤为将药液以同样的喷射次数均匀喷洒在同样大小的载玻片上,于烘箱中(37 $^{\circ}\text{C}$)。烘干后置于生物显微镜 40 倍镜下观察膜的气泡及分散程度^[8-10],结果见图 1。

(5) 黏性:喷膜剂在成膜前必须具有一定的黏性,才能附着在皮肤表面,便于释药,而成型后,对衣服等的黏性应较弱,避免污染衣物,破坏药物

图 1 4 种成膜处方的显微性状 (标尺为 20 μm)Fig. 1 Microscopic characters of four kinds of membrane formulation (scale is 20 μm)

膜表面。目前,尚无特定的方法测定喷膜剂的黏性,本研究建立了药物对苯酚红棉球的黏附性能测定模型。取苯酚红适量,精密称定,加 35%乙醇制成 0.02 mg/mL 苯酚红溶液。精密量取上述溶液于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释,制得质量浓度为 2.0、2.2、2.6、3.4、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 的苯酚红溶液,测定其在最大吸收波长 433 nm 处的吸光度 (A) 值,以质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y),绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程 $Y=0.165\ 3\ X+0.038\ 1$, $R^2=0.998\ 6$,结果表明苯酚红在 2.0~4.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

用喷膜剂以同样的喷射次数均匀喷洒在培养皿中,于烘箱中 (37 $^{\circ}\text{C}$) 记录成膜时间。将含有苯酚红的 4 cm $\times$ 4 cm 棉花置于膜上,取 300 g 的砝码于棉花上保持 30 s,用 5 mL 35%乙醇洗下膜,10 000

r/min 离心 (离心半径约 4 cm) 5 min,每种喷膜剂均分为成膜后、成膜中,在 433 nm 下测定 A 值。

综合各指标的成膜处方筛选结果见表 3。

(6) AHP 法确定综合评分权重系数 (W_i): 层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 是将与决策有关的元素分解成目标、准则、方案等层次,将主观判断结果和客观判断结果有效地结合起来的方法^[11]。将膜质量的评价指标成膜时间、挥发量、含量均匀度、膜的显微性状、黏性 (成膜中) 作为权重指标赋值,两两比较量化,根据矩阵评分情况采用几何平均法进行处理,确定各指标的 W_i 分别为 0.2、0.2、0.25、0.15、0.2,如表 4 所示,一致性比率因子 (consistency ratio factor, CR) < 0.10,一致性检验通过,表明 W_i 合理有效。

根据文献研究^[12],规定含量均匀度 RSD 值最

表 3 成膜处方筛选结果 ($\bar{x} \pm s$)Table 3 Screening results table of membrane formation prescription ($\bar{x} \pm s$)

成膜处方	成膜时间/s ($n=3$)	挥发量/% ($n=3$)	含量均匀度 RSD/% ($n=6$)	膜的显微性状	黏性 ($n=3$)	
					成膜中 A 值	成膜后 A 值
7% PVP	560.00 $\pm$ 61.64	88.17 $\pm$ 1.59	4.09	气泡小,较均匀	0.373 $\pm$ 0.060	0.012 $\pm$ 0.010
6% PVP+0.2% PVA	500.00 $\pm$ 61.64	81.57 $\pm$ 0.47	2.58	气泡最小,均匀	0.638 $\pm$ 0.050	0.050 $\pm$ 0.040
6% PVP+0.2% MC	460.00 $\pm$ 74.83	82.55 $\pm$ 0.25	3.95	气泡大,较均匀	0.878 $\pm$ 0.070	0.031 $\pm$ 0.090
6% PVP+0.2% PVA+0.2% MC	560.00 $\pm$ 56.57	93.89 $\pm$ 0.27	2.92	气泡中,均匀	0.580 $\pm$ 0.060	0.272 $\pm$ 0.070

A 是指成膜中、成膜后棉花残留量中苯酚红所测得的 A 值,下表同

A refers to the A value measured by phenol red in the cotton residue during and after film formation

表 4 指标成对比较的判断优先矩阵

Table 4 Judgment priority matrix for pairwise comparison of indices

权重指标	成膜时间	挥发量	含量均匀度	膜的显微性状	黏性 (成膜中)	特征向量	W_i	最大特征值 ($\lambda_{\max}$)	CR
成膜时间	1.00	1.00	0.8	1.33	1.00	1.01	0.20		
挥发量	1.00	1.00	0.8	1.33	1.00	1.01	0.20		
含量均匀度	1.25	1.25	1.0	1.67	1.25	1.27	0.25	5	0
膜的显微性状	0.75	0.75	0.6	1.00	0.75	0.76	0.15		
黏性	1.00	1.00	0.8	1.33	1.00	1.01	0.20		

小为 100 分, 每增大 0.1% 减 1 分; 成膜时间最短为 100 分, 每增加 10 s 减 2 分; 挥发量最大为 100 分, 每减少 0.5% 减少 1 分; 以黏性 (成膜中) 最大为 100 分, 每减少 0.5 减少 2 分。评分结果见图 2 和表 5, 结果显示 6% PVP+0.2% MC 喷膜剂评分最高, 选择 6% PVP+0.2% MC 作为成膜辅料。

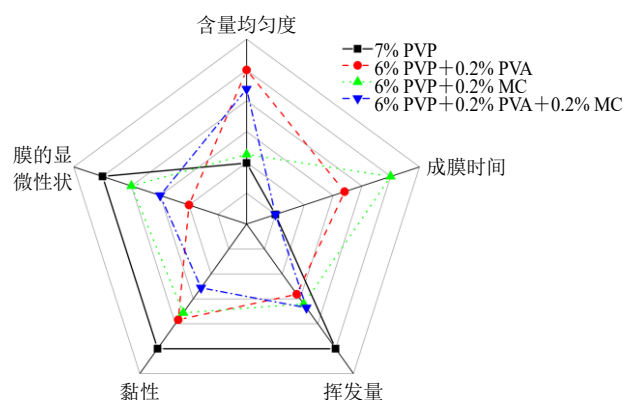


图 2 成膜处方指标评分雷达图

Fig. 2 Radar chart of membrane formulation index scoring

综合评分 = 含量均匀度 × 0.25 + 成膜时间 × 0.20 + 挥发量 × 0.20 + 黏性 × 0.20 + 膜的显微性状 × 0.15

2.1.4 甘油对成膜性的影响 甘油作为保湿剂和增塑剂, 对膜的性质有着重要的影响^[13]。因此本实验在最佳成膜处方的基础上, 依次考察含 0、2%、4%、6% 甘油对成膜性的影响。

(1) 保湿性: 水的含量与膜的柔韧性有着一定的关系。膜与外界的水分交换速度越慢, 膜的柔韧性与延展性则能保持越久, 同时, 膜的保湿性也有利于膜中药物的释放。因此, 保湿性对于膜的质量评价起着重要的作用。

取适量喷膜剂溶液于称量瓶中, 成膜后称定质量, 并置于装有饱和氯化钠溶液的干燥器中 24 h, 称定质量, 平行 3 次实验, 计算膜的保湿性。

(2) 成膜时间: 按照“2.1.3 (1)”项下的方法, 每种成膜处方平行 3 次实验。

(3) 挥发量: 按照“2.1.3 (2)”项下的方法平行 3 次实验, 计算 10 min 内的挥发量。

表 5 综合评分结果

Table 5 Comprehensive score results

成膜处方	评分					综合评分
	含量均匀度	成膜时间	挥发量	黏性	膜的显微性状	
7% PVP	84.90	80.00	100.00	100.00	100.00	89.79
6% PVP+0.2% PVA	100.00	92.00	89.08	94.20	85.00	92.81
6% PVP+0.2% MC	86.30	100.00	91.04	92.80	95.00	94.03
6% PVP+0.2% PVA+0.2% MC	96.90	80.00	91.80	87.80	90.00	90.65

(4) 含量均匀度: 按照“2.1.3 (3)”项下方法, 平行 6 次实验, 并计算每组含量均匀度的 RSD 值。

(5) 膜的显微性状: 按照“2.1.3 (4)”项下的方法进行实验, 结果见图 3。

(6) 黏性: 按照“2.1.3 (5)”项下的方法进行实验, 测定不同甘油含量的成膜材料喷膜剂成膜前后的 A 值。各指标试验结果见表 6。

(7) AHP 法确定综合评分 W_i : 将评价指标保湿性、成膜时间、挥发量、含量均匀度、膜的显微性状、黏性作为权重指标赋值, 两两比较量化, 根据矩阵评分情况采用几何平均法进行处理, 确定各指标的 W_i , 分别为 0.5、0.1、0.1、0.15、0.05、0.05、0.05, 如表 7 所示, $CR < 0.01$, 一致性检验通过, 表明 W_i 合理有效。

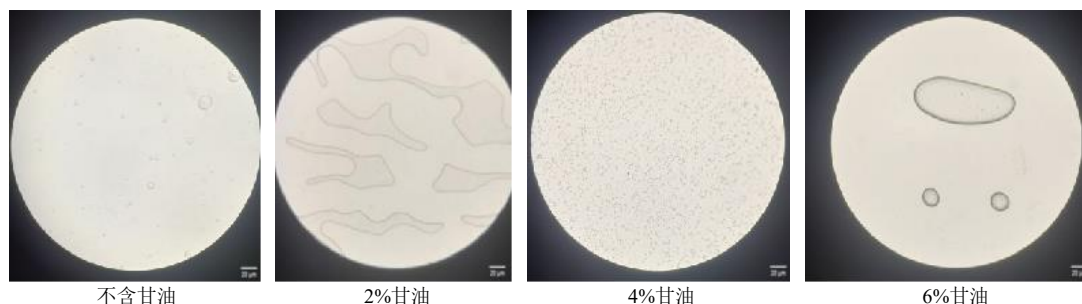


图 3 不同甘油质量分数下膜的显微性状 (标尺为 20 μm)

Fig. 3 Microscopic properties of films with different glycerol concentrations (scale is 20 μm)

表 6 甘油含量筛选结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 6 Screening of glycerin content ($\bar{x} \pm s$)

甘油/%	保湿性/% ($n=3$)	成膜时间/s ($n=3$)	挥发量/% ($n=3$)	含量均匀度 RSD 值/% ($n=6$)	黏性	
					成膜中 A 值 ($n=3$)	成膜后 A 值 ($n=3$)
0	34.70±0.18	630.00±24.49	85.90±1.68	6.94	0.212±0.040	0.012±0.020
2	57.13±0.10	810.00±64.81	74.60±5.09	3.53	0.140±0.040	0.015±0.050
4	43.72±0.16	600.00±88.32	63.74±7.64	6.06	0.181±0.050	0.143±0.040
6	25.78±0.09	710.00±61.64	72.01±2.24	12.51	0.362±0.080	0.222±0.060

表 7 指标成对比较的判断优先矩阵
Table 7 Judgment priority matrix for pairwise comparison of indices

权重指标	保湿性	成膜时间	挥发量	含量均匀度	黏性		膜的显微性状	特征向量	W_i	$\lambda_{\max}$	CR
					成膜中 A 值	成膜后 A 值					
保湿性	1.0	5.00	5.00	5.00	3.33	10.00	10.00	10.00	0.50		
成膜时间	0.2	1.00	1.00	1.00	0.67	2.00	2.00	2.00	0.10		
挥发量	0.2	1.00	1.00	1.00	0.67	2.00	2.00	2.00	0.10		
含量均匀度	0.3	1.49	1.49	1.49	1.00	3.03	3.03	3.03	0.15	7	0
成膜中	0.1	0.50	0.50	0.50	0.33	1.00	1.00	1.00	0.05		
成膜后	0.1	0.50	0.50	0.50	0.33	1.00	1.00	1.00	0.05		
膜的显微性状	0.1	0.50	0.50	0.50	0.33	1.00	1.00	1.00	0.05		

规定保湿性 0 为 100 分, 每增大 5% 减 2 分;
含量均匀度 RSD 值最小为 100 分, 每增大 1% 减 3 分;
成膜时间最短为 100 分, 每增加 30 s 减 5 分;
挥发量最大为 100 分, 每减少 1% 减少 1 分; 黏性
(成膜中) A 值最大为 100 分, 每减少 0.01, 加 1 分;
黏性 (成膜后) A 值最小为 100 分, A 值每增大 0.01, 减 1 分;
膜的显微性状规定视野范围内每增加 1 个大气泡, 扣 2 分。

综合评分 = 保湿性 $\times$ 50% + 含量均匀度 $\times$ 15% + 成膜时间 $\times$ 10% + 挥发量 $\times$ 10% + 成膜前 $\times$ 5% + 成膜后 $\times$ 5% + 膜的显微性状 $\times$ 5%

评分结果见图 4 和表 8, 结果显示不加甘油的喷膜剂评分最高, 所以选择不加甘油。

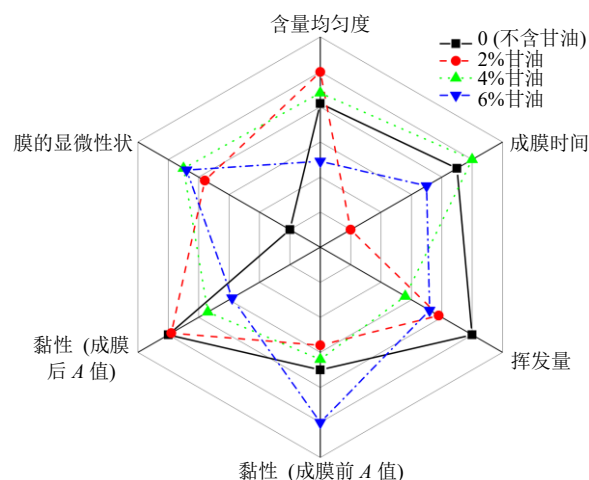


图 4 甘油含量筛选雷达图

Fig. 4 Screening radar chart of glycerin content

表 8 甘油对成膜性的影响评分

Table 8 Effect score of glycerin on membrane formation

甘油/%	含量均匀度	成膜时间	挥发量	黏性		膜的显微性状	综合评分
				成膜前 A 值	成膜后 A 值		
0 (不含甘油)	91.00	95.00	100.00	85.00	100.00	60.00	88.40
2	100.00	60.00	89.00	78.00	99.00	88.00	81.15
4	94.00	100.00	78.00	82.00	87.00	95.00	87.10
6	74.50	85.00	86.00	100.00	79.00	94.00	86.93

2.2 促渗剂的筛选

经皮给药可以使药物避免首过效应, 具有药物

释药速度可控、给药便捷、患者依从性高等优点, 但皮肤强大的屏障作用限制了药物的渗透作用, 为

改善药物的吸收效果,需加入一定量的透皮吸收促进剂。因此,对促渗剂的选择及用量进行研究,筛选出合适的促渗剂,提高药物透皮率。

2.2.1 离体皮肤的制备 用脱毛膏将小鼠腹部的毛脱去,数小时后处死小鼠,剥离腹部皮肤,刮离皮肤的脂肪组织后,于锡箔纸中展开,置于-20℃保存待用。

2.2.2 促渗剂处方的制备 分别按照“2.1”项下的最优成膜处方 6% PVP+0.2% MC 制备成膜液,加入文献中筛选出的 5 种较优中药促渗剂处方 1%氮酮+2%冰片+2%薄荷脑^[14]、2.5%氮酮+2.5%丙二醇、5%丙二醇^[15]、2%氮酮+2%冰片+1%丙二醇^[16]、3%薄荷脑^[17],对照组不加入促渗剂。

2.2.3 促渗剂的筛选 采用透皮智能仪进行透皮吸收实验,有效透皮面积为 2.25 cm²,接收池体积为 14.5 mL,接收池溶液为磷酸盐溶液^[18]。将小鼠的离体皮肤固定在 2 池之间,排尽气泡,平衡 30 min 后,向供给池中加入 1 mL 药液,开始计时。池底内置磁力搅拌子,搅拌速度为 350 r/min,水浴温度为 (37.0±0.5)℃。分别于 1、2、4、6、8、12、16、20、24 h 取样 1 mL 并迅速补充同体积等温度的磷酸盐溶液,样品过 0.45 μm 微孔滤膜,得续滤液, HPLC 法测定龙胆苦苷含量,计算其累积释放量 (Q_n)^[19-20]。规定不含促渗剂为第 1 组,促渗剂处方 2.5%氮酮+2.5%丙二醇为第 2 组,3%薄荷脑为第 3 组,2%氮酮+2%冰片+1%丙二醇为第 4 组,5%丙二醇为第 5 组,1%氮酮+2%冰片+2%薄荷脑为第 6 组。由 24 h 累积释放量 (Q_{24} , 图 5) 可知,第 2 组的 Q_{24} 值最大,故选择 2.5%氮酮+2.5%丙二醇作为促渗剂。

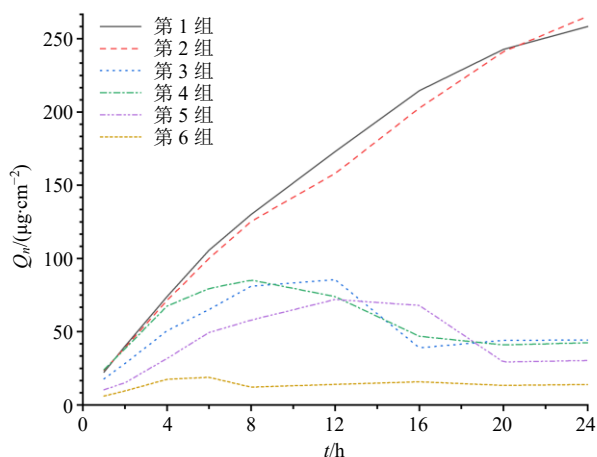


图 5 不同促渗剂处方的 Q_{24}

Fig. 5 Q_{24} of different osmotic enhancer prescriptions

$$Q_n = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

C_n 为第 n 个取样点测得的质量浓度, C_i 为第 i 个取样点测得的质量浓度, V 为接收池总体积, V_i 为取样体积, A 为有效透皮面积

2.2.4 验证试验 按照筛选出的最优成膜辅料 6% PVP+0.2% MC 及促渗剂处方 2.5%氮酮+2.5%丙二醇制备秦艽喷膜剂 3 份,同法进行体外透皮吸收实验。结果(表 9)显示,该处方 12 h 内的平均累积释放量(Q_{12})为 11.65 μg/cm², RSD 值为 13.21%,较大,可能是由于小鼠离体皮肤的差异性较大,在刮离脂肪组织时容易厚薄不均,甚至出现肉眼难以观察出的细小破损,实验条件有限,难以控制误差。因此在进行透皮-吸收实验时,为保证实验的严谨性,在条件允许的情况下可选用人工膜或仿生膜^[21-22]。

表 9 验证试验的 Q_{12}

Table 9 Q_{12} of validation test

试验号	峰面积/(mAU·s)	$Q_{12}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$
1	19.30	12.11
2	20.57	12.90
3	15.83	9.93

2.3 质量标准建立

目前《中国药典》2020 年版尚未收载喷膜剂这种剂型,其质量标准评价还处于探索阶段,本部分在前期的制备工艺研究指标的基础上,对秦艽喷膜制剂的 pH 值、含量、成膜时间、挥发量、黏性、保湿性进行考察,并增加流动性作为其成品的评价指标,建立秦艽喷膜制剂的质量标准,为其临床使用提供安全保证。

2.3.1 处方及制法 取秦艽,加 12 倍量水,回流提取 4 次,每次提取 1.5 h,滤过,合并滤液,90℃、8 h 范围内浓缩,常压干燥,粉碎,过 3 号筛,加 45%乙醇溶解(1 g:100 mL),超声处理 30 min(功率 100 W、频率 40 kHz),10 000 r/min 离心 5 min(离心半径约 4 cm),加入成膜辅料 6% PVP+0.2% MC,促渗剂 2.5%氮酮和 2.5%丙二醇,超声处理 30 min(功率 100 W、频率 40 kHz),混合搅拌均匀,制成喷膜剂 100 mL,即得。

2.3.2 pH 值的测定 按照《中国药典》2020 年版四部 0631 项下,用 pH 计测定 3 批秦艽喷膜剂的 pH 值,结果分别为 4.53、4.68、4.54,按照平均值 4.58 的±20%确定 pH 值上、下限,规定秦艽喷膜剂 pH

值为 3.67~5.50。

2.3.3 流动性 喷膜剂当喷出至皮肤表面时,药液的流动性越小,患者依从性越强^[23]。黏度是流体黏滞性的量度,是流体流动力对其内部摩擦的现象。黏度越大表示内摩擦力越大,流动性越小。因此,本研究用运动黏度对流动性进行表征。

取 3 批秦艽喷膜剂 7.5 mL 于毛细管黏度计中(黏度计常数为 1.264 mm²/s),用洗耳球将液体吸至高于第 1 刻度线,将黏度计调整为垂直状态^[24],当液体在重力下流至第 1 刻度线时开始计时,到第 2 刻度线停止计时,每批喷膜剂样品平行测定 5 次。黏度计的毛细管常数与流动时间的乘积即为运动黏度。结果见表 10,暂定运动黏度不得低于实验所测的最低值,即 6.91 mm²/s。

2.3.4 膜的质量检查 在秦艽喷膜剂质量标准中,膜的质量控制能够直接影响药效与使用感受,因此,基于制备工艺研究指标的基础上,以保湿性、成膜时间、挥发量、黏性对于这种剂型进行控制,结果见表 11。

表 10 流动性 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 10 Fluidity ($\bar{x} \pm s, n=5$)

批号	时间/s	运动黏度/(mm ² ·s ⁻¹)
20201222	20.7±0.07	26.16±0.08
20201227	10.69±0.09	13.52±0.12
20220114	5.46±0.14	6.91±0.18

表 11 膜的质量检查结果

Table 11 Quality inspection results of membrane

批号	保湿性%	成膜时间/s	挥发量/%	黏性	
				成膜中 A 值	成膜后 A 值
20201222	25.23	315	70.54	0.259	0.032
20201227	43.25	210	69.72	0.168	0.053
20220114	44.96	90	89.46	0.216	0.142

(1) 保湿性:按照“2.1.4 (1)”项下的方法进行实验。规定不得低于平均值的 80%,即保湿性不得低于 30.25%。

(2) 成膜时间:按照“2.1.3 (1)”项下的方法进行实验。规定不得高于平均值的 120%,即成膜时间不得高于 240 s。

(3) 挥发量:按照“2.1.3 (2)”项下的方法进行实验,计算 10 min 内挥发量。规定不得低于平均值的 80%,暂定挥发量不得低于 62.70%。

(4) 黏性:按照“2.1.3 (5)”项下的方法进行

实验,测定成膜前后的 A 值。规定成膜后 433 nm 处 A 值不得大于 0.142,成膜中 A 值不得小于 0.259。

2.3.5 秦艽喷膜剂的含量测定

(1) 色谱条件:采用 Supersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈-0.1%醋酸溶液(15:85)为流动相;检测波长为 254 nm;体积流量为 1.0 mL/min;柱温 30 °C;进样体积为 10 μL。

(2) 对照品溶液制备:取龙胆苦苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成含龙胆苦苷 50.5 μg/mL 的溶液,即得。

(3) 供试品溶液的制备:精密移取秦艽喷膜剂 0.5 mL,置 10 mL 量瓶中,以 45%乙醇定容至刻度,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

(4) 专属性考察:取处方辅料适量,按照“2.3.5 (3)”项下的方法制备阴性对照溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液,按照“2.3.5 (1)”项色谱条件进样检测,记录色谱图,结果如图 6 所示。结果表明,处方辅料对龙胆苦苷的测定无干扰,专属性良好。

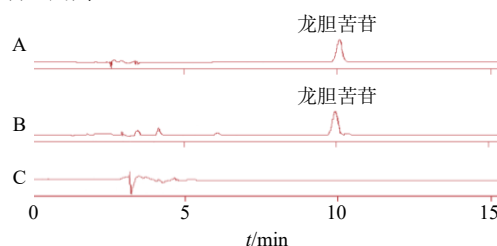


图 6 龙胆苦苷对照品溶液 (A)、秦艽喷膜剂供试品溶液 (B) 和阴性对照溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC of gentiopicroside reference substance (A), film spraying agent of *G. macrophylla* test solution (B), and negative control solution (C)

(5) 线性关系考察:取龙胆苦苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成含龙胆苦苷 0.505 mg/mL 的溶液,为龙胆苦苷对照品储备液,精密量取上述溶液,加甲醇稀释制成 5 种不同质量浓度的对照品溶液,分别得到 350.0、210.0、105.0、52.5、31.5 μg/mL 的龙胆苦苷对照品溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,得续滤液,按照“2.3.5 (1)”项下方法进行含量测定。以龙胆苦苷质量浓度为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归,得回归方程 $Y=10\,902\,X-15.723$, $R^2=0.999\,9$,结果表明,龙胆苦苷在 31.5~350.0 μg/mL 线性关系良好。

(6) 检测限与定量限:在“2.3.5 (1)”项的色谱条件下,当信噪比为 3:1 时,测得龙胆苦苷的检

测限为 0.40 $\mu\text{g/mL}$ ；当信噪比为 10:1 时，测得龙胆苦苷的定量限为 1.35 $\mu\text{g/mL}$ 。

(7) 精密度试验：取 0.35 mg/mL 龙胆苦苷对照品溶液适量，0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，精密吸取 10 μL ，按照“2.3.5 (1)”项下色谱条件连续进样 6 次，测定龙胆苦苷峰面积，RSD 为 0.96%，表明仪器精密良好。

(8) 重复性试验：精密移取 0.5 mL 秦艽喷膜剂(批号 20220114)，置 10 mL 量瓶中，以 45%乙醇定容至刻度，0.45 μm 微孔滤膜滤过，得续滤液，平行制备 6 份。按照“2.3.5 (1)”项下色谱条件，测定龙胆苦苷的含量，计算 RSD 为 2.03%，表明供试品溶液的制备方法良好。

(9) 稳定性试验：精密移取 0.5 mL 秦艽喷膜剂(批号 20220114)，置 10 mL 量瓶中，用 45%乙醇定容至刻度，在 0、1、2、4、8、12 h 各测 1 次。计算峰面积的 RSD 值为 0.56%，表明供试品溶液的稳定性良好。

(10) 加样回收率试验：精密量取秦艽喷膜剂(批号 20220114) 0.25 mL，按照质量比例 1:1 精密加入龙胆苦苷对照品，按照“2.3.5 (3)”项方法制备供试品溶液，平行制备 6 份，按照“2.3.5 (1)”项下色谱条件，测定龙胆苦苷含量，计算平均加样回收率为 102.73%，RSD 为 4.70%。依据《中国药典》2020 年版第四部指导原则 9101，龙胆苦苷的加样回收率应在 92%~105%，符合规定，表明方法加样回收良好^[25]。

(11) 含量测定：精密移取 0.5 mL 秦艽喷膜剂(批号 20201222、20201227、20220114)，按照“2.3.5 (3)”项方法制备供试品溶液，按照“2.3.5 (1)”项下色谱条件，测定龙胆苦苷质量浓度，结果分别为 1.00、1.02、0.83 mg/mL，3 批平均质量浓度为 0.95 mg/mL。规定 3 批喷膜剂中龙胆苦苷质量浓度平均值的 80%为含量下限，暂定以龙胆苦苷($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_9$)计质量浓度不得低于 0.76 mg/mL。

3 讨论

目前，由于成膜指标并未有统一的定义及标准，本研究亦对成膜质量的评价进行探索，一些指标在进行不同的工艺考察时实验步骤略有出入，例如挥发量在成膜材料的筛选时规定为“计算质量不再降低时的挥发量”，此时意在考察药液最终挥发的程度，在甘油比例的考察时修改为“计算 10 min 内的挥发量”，较之前能够从时间上更好的控制药液的挥

发速度，更加合理且具有科学性。

喷膜剂的药液喷出后、在成膜前可能会在皮肤表面流动，其流动性越强，患者的依从性越差，目前尚无指标对药液流动性质进行控制，本研究建议以运动黏度对药液的流动性进行表征，在实验过程中发现 3 批喷膜剂的运动黏度差值较大，表明流动性可以表征产品内在理化性质，为了保证样品质量稳定，有必要进行控制。

喷膜剂制备工艺简单、使用方便，又能保护创面，防止细菌感染，在外用透皮给药方面应用前景广阔，但是目前喷膜剂制备工艺及质量标准尚不规范。以“喷膜剂”为主题在《中国知网》上检索 2019—2022 年相关文献，以“成膜时间”为例，均将此作为成型工艺或质量标准的指标，但具体标准各不相同，王晓瑜等^[26]以药液喷射于人体皮肤上，所成膜完全干燥为计时结束，朱小凤^[27]以在皮肤表面不再黏手的时间为结束。党学良等^[28]在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下，将药液喷涂于载玻片上，膜不黏手时结束。以人体皮肤为实验对象固然简单有效，但个体不同，体温略有差异，统一的标准难以界定。若以玻璃器皿为载体，于烘箱中观察成膜时间最为客观，但容易出现现在取出观察之前就已成膜的情况，因此需统一观察的间隔时间。

建立喷膜剂的质量标准，有利于增强不同研究者之间实验结果的可比性，提升药品的质量，加速载药喷膜剂应用于临床的时间。总之为了喷膜剂用药安全性和合理性，还需不断的探索、总结与发展。

在处方筛选时，本研究以“保湿性、成膜时间、挥发量、含量均匀度、膜的显微性状、黏性”等作为指标，采用 AHP 法确定其权重系数，对实验结果进行量化。在制剂处方优化过程中，采用单因素实验，对制剂处方进行优化筛选，最终确定了成膜处方为 6% PVP 与 0.2% MC。采用透皮-吸收实验，筛选出促渗剂为 2.5%氮酮与 2.5%丙二醇。

在控制膜的质量及成品的质量时，本研究新增了保湿性、黏性、流动性 3 个创新性指标，保湿性可控制膜的柔韧性，黏性可控制膜在成膜前后与衣物、皮肤的粘黏程度，流动性可控制膜在喷出后的流动程度，从延长药物在皮肤上的作用时间和增强患者依从性出发，建立了较为完善的秦艽喷膜剂质量标准，为秦艽喷膜剂的质量提供保障，为喷膜剂剂型的质量评价提供思路及依据。

喷膜剂综合了透皮吸收制剂的优点，目前市场

上尚无相关中成药上市, 本研究为喷膜剂在中成药上的应用进行了探索, 为该剂型的应用提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨飞霞, 王玉, 夏鹏飞, 等. 秦艽化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2718-2731.
- [2] 齐笑, 赵雪, 赵雪琪, 等. 喷膜剂的研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2018, 21(4): 463-466.
- [3] 王倩. 白头翁喷膜剂的研制 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2019.
- [4] 舒洁倩, 梁盈军, 李子行, 等. 响应面法优选山藿香涂膜剂成膜工艺条件 [J]. 中医药导报, 2020, 26(2): 13-15.
- [5] 杨娜, 吴静澜. 正交优选三七总皂苷涂膜剂的成型工艺 [J]. 贵州科学, 2019, 37(2): 11-14.
- [6] 徐小彬, 胡华, 黄慧学, 等. 龙血竭喷雾膜剂制备工艺的研究 [J]. 中国当代医药, 2018, 25(24): 8-11.
- [7] 李倩, 高瑜, 邹佳, 等. 中药透皮吸收促进剂的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(1): 189-193.
- [8] 何红杰, 王继龙, 刘晓霞, 等. 促渗剂对淫羊藿苷体外经皮渗透特性影响的研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(11): 2661-2663.
- [9] 刁宇, 肖刚, 刘玉婷. 复方丹参口溶膜剂制备工艺研究 [J]. 中国处方药, 2021, 19(8): 31-33.
- [10] 钟林江, 杨俊莉, 何勇志, 等. 熊胆粉的成分、鉴定及应用研究进展 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2021, 40(4): 335-339.
- [11] 林帅军, 郭丽, 荣晓哲, 等. 正交试验-多指标权重分析法优选芪苓益肾颗粒的提取工艺 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(11): 2259-2263.
- [12] 朱红梅. NFS 喷膜-透皮吸收剂新药临床前药学研究 [D]. 成都: 成都大学, 2019.
- [13] 李文娜, 欧水平, 王玉和. 皮肤用成膜制剂研究进展 [J]. 遵义医科大学学报, 2021, 44(3): 389-395.
- [14] 李春雪, 曾锐, 高元平, 等. 粗茎秦艽醇提物体内经皮渗透性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(11): 2914-2921.
- [15] 李峥, 谢红, 魏晓, 等. 正交实验对复方鱼肝油膜剂制备工艺的优化研究 [J]. 重庆医学, 2020, 49(2): 280-285.
- [16] 党学良, 宋彦峰, 刘梅, 等. 烧伤 II 号喷膜剂的制备及其质量评价 [J]. 中国药师, 2019, 22(5): 827-830.
- [17] 袁旭, 刘新, 郝旺青, 等. 正交实验优化川陈皮素微乳凝胶剂促渗剂及体外释药评价 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(5): 856-861.
- [18] 李清, 周秋娟, 瞿发林, 等. 口疳散穴位贴敷的制备工艺及体外透皮吸收研究 [J]. 药学与临床研究, 2022, 30(1): 43-46.
- [19] 岑月眉, 闻萍, 李久盛, 等. 体外实验用人工皮肤模型的研究简介 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(9): 1543-1549.
- [20] 黄文涛, 肖柳, 程璐, 等. 芩术痛经巴布剂中黄芩苷和黄芩素及汉黄芩素的离体小鼠经皮渗透行为 [J]. 医药导报, 2019, 38(8): 983-986.
- [21] 张小灵, 郭嘉俊, 时军, 等. 双丹脂质体凝胶剂的制备工艺优化及体外透皮性能研究 [J]. 中药材, 2017, 40(2): 402-407.
- [22] 李学敏, 吴清, 范峥, 等. 骨伤凝胶膏剂中促渗剂的优选研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(1): 64-67.
- [23] 王流忠. 影响石油产品运动粘度准确测定因素探究 [J]. 化工管理, 2019(2): 14-15.
- [24] 黄虹, 金山同. 连铸用保护渣的粘度与流动性关系的研究 [J]. 炼钢, 2003, 19(4): 43-46.
- [25] 杨慧, 张佳, 钟林江, 等. 基于酶活性丹参茎叶散剂活血活性谱: 效模型研究 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2022, 41(1): 6-10.
- [26] 王晓瑜, 张磊, 郭一沙, 等. 黄苍湿疹喷雾薄膜剂处方优化 [J]. 实用药物与临床, 2020, 23(5): 454-456.
- [27] 朱小凤. 双柏喷膜剂药学研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [28] 党学良, 宋彦峰, 刘梅, 等. 烧伤 II 号喷膜剂的制备及其质量评价 [J]. 中国药师, 2019, 22(5): 827-830.

[责任编辑 郑礼胜]