

辅料羟丙基甲基纤维素-硬脂酸作为辣椒素透皮凝胶基质的研究

陈小云^{1,2}, 张振海¹, 胡琴¹, 蒋艳荣^{1,2}, 贾晓斌^{1,2*}

1. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 江苏 南京 210028

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 评价辅料羟丙基甲基纤维素-硬脂酸(HPMC-硬脂酸)做为辣椒素透皮凝胶基质的适用性, 并对制剂处方进行优化。方法 以 HPMC-硬脂酸为基质制备了辣椒素透皮凝胶, 通过正交设计试验, 对基质处方进行优化, 并考察其体外经皮渗透性能和稳定性。结果 所制备的凝胶为白色半透明胶体, 正交试验筛选出的优化处方组成为 1% HPMC-硬脂酸、15% 丙二醇、10% 甘油, 辣椒素 12 h 累积渗透量为 275.45 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。结论 以 HPMC-硬脂酸为基质制备的辣椒素凝胶性质稳定, 具有良好的适用性和经皮渗透性能, 有望成为辣椒素的新型透皮给药制剂。

关键词: HPMC-硬脂酸; 辣椒素; 凝胶; 累积渗透量

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)03-0000-00

Study on matrix for capsaicin transdermal gel based on HPMC-stearic acid

CHEN Xiao-yun^{1,2}, ZHANG Zhen-hai¹, HU Qin¹, JIANG Yan-rong^{1,2}, JIA Xiao-bin^{1,2}

1. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Meteria Medica, Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Nanjing 210028

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046

Abstract: Objective To evaluate the applicability of new materials HPMC-stearic acid that was used as matrix for capsaicin transdermal gel, and optimize the formulation. **Methods** HPMC-stearic acid was added as a supportive base for the preparation of capsaicin gel, and the formulation was optimized by orthogonal design, and investigate its permeation ability in vitro and stability. **Results** The prepared gel was white translucent colloid. The optimum formulation screened by orthogonal experiments was 1% HPMC-stearic acid, 15% propylene glycol and 10% glycerol, and the cumulative permeation quantity in vitro at 12 h was 275.45 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. **Conclusion** The capsaicin gel has good stability and percutaneous permeability, which may be a promising new dosage form for transdermal delivery of capsaicin.

Key words: HPMC-stearic acid; capsaicin; gel; cumulative permeation quantity

中药凝胶剂是一种新型中药外用制剂, 具有稳定性好、不良反应少、涂展性好, 无油腻感等优点。目前常用的凝胶基质有卡波姆、羧甲基纤维素钠等, 但其在盐或酸碱环境中黏度会降低, 因此制备过程中通常需加入稳定剂和 pH 调节剂^[1-2]。羟丙基甲基纤维素-硬脂酸(HPMC-硬脂酸)是在 HPMC 上引入了疏水的 C₁₈ 基团制成的, 具有优良的生物相容性和生物可降解性, 能够形成具有流体摇变性凝胶, 成形效果佳, 延展性好, 使用触感佳, 与酒精互溶性好, 具有一定的表面活性特性和高耐盐性, 适用于较高浓度盐分体系, 在酸碱环境中也可稳定使用^[3]。

目前此类产品如 sangelose 已上市。该辅料已广泛应用于化妆品的研制生产, 但在医药行业中应用较少。

辣椒素(capsaicin, CAP)是一种含香草酰胺的生物碱, 其药理作用十分广泛, 其中较为突出的是其强而持久的镇痛作用^[4-5], 目前已经有多个辣椒素镇痛药品上市。由于辣椒素存在着首过作用强、半衰期短、胃肠道刺激等缺陷^[6], 经皮给药是其较为合适的给药方式^[7], 可以避免肝脏的首过效应, 维持稳定持久的血药浓度, 降低其不良反应。本实验旨在以该辅料 HPMC-硬脂酸为基质制备辣椒素凝胶, 筛选最优处方, 并对凝胶进行了稳定性考察,

收稿日期: 2012-05-15

基金项目: 江苏省中医药领军人才专项(2006); 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室开放课题(2011NDDCM)

作者简介: 陈小云, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂剂型研究。Tel: 15850519215 E-mail: chenxy1190@163.com

*通讯作者 贾晓斌 Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

为研制辣椒素经皮给药新制剂提供实验依据。

1 仪器与材料

TP-3 透皮扩散仪 (南京新联电子设备有限公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪 (包括四元泵, 自动进样器, DAD 二极管阵列检测器); UV-2450 型紫外分光光度仪 (日本岛津); 超声机 (昆山市超声仪器有限公司); pH 计 (上海精密科学仪器有限公司); BP-211D 分析电子天平 (德国 Sartorius 公司, 十万分之一); XP205 电子天平 (梅特勒托利多, 百万分之一); 充电式修剪器。

辣椒素 (西安小草植物科技有限责任公司, 批号 XC111224, 相对分子质量 305.4 g/mol, HPLC 测定质量分数为 98%); HPMC-硬脂酸 (吉世科贸易有限公司, 规格 60 L, 批号 B1413); 无水乙醇和无水 CaCl₂ 等试剂均购自国药集团化学试剂有限公司; 甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其余试剂均为分析纯。

昆明种小鼠, 雄性, 体质量 (22±2) g; 家兔, 雄性, 体质量 (2.5±0.5) kg; 均购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。动物许可证: SCXK (沪) 2007-0005。

2 方法与结果

2.1 辣椒素凝胶的制备

称取 1.00 g 辣椒素溶于 10 mL 无水乙醇, 加入处方量的丙二醇、甘油混合均匀, 将处方量的 HPMC-硬脂酸均匀分散于混合溶液中, 加纯化水至 100.00 g 使其充分溶胀, 即得辣椒素凝胶。

2.2 辣椒素的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Hedera ODS-2 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-磷酸 (85:15:0.1); 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 检测波长 281 nm。在此色谱条件下, 取“2.1.3”项下对照品溶液、“2.1.2”项下供试品溶液及空白凝胶溶液分别进样。色谱图见图 1。

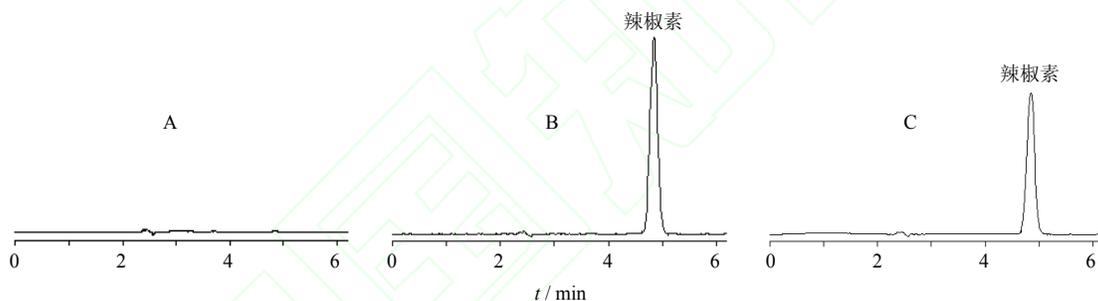


图 1 空白凝胶 (A)、辣椒素对照品 (B) 和辣椒素凝胶供试品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank gel (A), capsaicin reference substance (B) and capsaicin gel sample (C)

2.2.2 供试品溶液和空白凝胶溶液的制备 取辣椒素凝胶适量 (0.97 g, 约相当辣椒素 8.36 mg), 精密称定, 置 250 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声, 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。按“2.1”项下操作方法称取处方中除辣椒素外的其余各组制备空白凝胶, 精密称取与辣椒素凝胶等量的此空白凝胶, 按供试品溶液制备的方法制备空白凝胶溶液。

2.2.3 线性关系考察 精密称取辣椒素对照品 4.21 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 得质量浓度为 42.10 μg/mL 辣椒素对照品溶液。分别精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.5、4.0、5.0、7.5 mL 至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并定容, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液进行 HPLC 测定其对应的峰面积, 以质量浓度 (C) 为横坐标, 对应的峰面积 (A) 为纵坐标进行线性回归, 得回

归方程 $A=17.969 C+16.782$, $r=0.999 7$, 结果表明辣椒素在 2.105~31.575 μg/mL 线性关系良好。

2.2.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定其峰面积, 得 RSD 为 1.48%, 表明该方法精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样, 测定其峰面积值, 得 RSD 为 1.46%, 表明该供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.6 重复性试验 精密称取同一份辣椒素凝胶 6 份, 平行配制一定质量浓度的 6 份供试品溶液, 分别进样, 测定峰面积, 计算得辣椒素质量分数的 RSD 为 1.95%, 表明重复性好。

2.2.7 回收率试验 精密称取已测定的辣椒素凝胶, 制备成供试品溶液 6 份, 分别加入对照品溶液适量, 精密吸取混合溶液 1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 分别进样, 测定并计算平均回收率及其 RSD,

结果分别为 96.32% 和 2.48%。

2.3 辣椒素凝胶的体外透皮试验

2.3.1 离体皮肤的制备 取体质量为 22 g 左右的小鼠，处死，剃净腹部体毛，剥离腹部无损伤皮肤，除去皮下脂肪及黏液组织，选取完整皮肤，用生理盐水反复冲洗干净至无白色浑浊，置于 -20 °C 冰箱中保存，1 周内使用。

2.3.2 体外透皮渗透试验 采用 Franz 扩散装置，取小鼠皮肤，将其平整地固定在供给池和接收池之间，角质层面向供给池，真皮层面向接收池，两池有效面积为 2.008 9 cm²，接收池容积约 20 mL，接收液为含 0.3% 聚山梨酯 80 的生理盐水，封口膜密封，搅拌子转速为 300 r/min，水浴温度 (37 ± 0.5) °C。取 0.5 g 凝胶均匀涂布在角质层上，排除接收室内气泡。启动磁力搅拌器并计时，分别于 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 h 时刻取样 1 mL，同时补以同体积的空白接收液。将取得的样品用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取滤液 HPLC 法测定其中辣椒素的质量浓度，再按公式计算单位面积药物累积渗透量 (Q_n)。

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

C_n 为第 n 个取样点质量浓度的测量值 (μg/mL)， C_i 为第 i 个取样点以前质量浓度的测量值 (μg/mL)， V 为接收液的总体积 (mL)， V_i 为每次取样的体积 (mL)， A 为扩散渗透面积 (cm²)

2.4 单因素考察试验

通过单因素考察试验对凝胶的处方进行初步筛选，固定其他因素，改变某一条件，以凝胶剂 12 h 累积渗透量 (Q_{12}) 为评价指标，安排试验，其结果见表 1。

处方 1~4 考察不同质量分数的 HPMC-硬脂酸对凝胶 Q_{12} 的影响。结果显示，随着 HPMC-硬脂酸质量分数的提高，辣椒素的 Q_{12} 呈下降趋势，这可能是随着基质质量分数的提高，凝胶剂的黏度增大，交联度增大，使得辣椒素在凝胶骨架中扩散的阻力增大，从而降低了其扩散速率，药物的 Q_{12} 也随之降低。

处方 2、5、6 考察不同质量分数的丙二醇对凝胶 Q_{12} 的影响。结果表明，随着其质量分数的增大辣椒素的体外 Q_{12} 逐渐增大，当质量分数为 15.0% 时促渗作用达到最大，此后随着其质量分数的继续增大其促渗作用无显著增强。

表 1 不同因素对凝胶 Q_{12} 影响的试验结果 ($n=3$)

Table 1 Results of different factors on the impact of gel Q_{12} ($n=3$)

处方	HPMC-硬脂酸/%	丙二醇/%	甘油/%	乙醇/%	$Q_{12}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$
1	0.5	10	10	10	281.92 ± 9.42
2	1	10	10	10	253.57 ± 7.73
3	2	10	10	10	227.20 ± 4.24
4	3	10	10	10	195.33 ± 8.91
5	1	15	10	10	276.82 ± 11.35
6	1	20	10	10	279.57 ± 7.53
7	1	20	1	10	255.42 ± 7.99
8	1	20	5	10	265.11 ± 4.52
9	1	20	10	5	240.35 ± 6.14
10	1	20	10	15	283.42 ± 9.63

甘油可作为增湿剂，促渗剂。处方 2、7、8 考察不同质量分数的甘油对凝胶 Q_{12} 的影响。结果显示，随着甘油质量分数的增大辣椒素的体外 Q_{12} 逐渐增大。

处方 2、9、10 考察不同乙醇用量（无水乙醇体积与凝胶剂质量之比）对凝胶 Q_{12} 的影响。结果显示，0.05 mL/g 与 0.10 mL/g 乙醇用量结果相差较大，可能是当乙醇用量为 0.05 mL/g 时，凝胶剂中的辣椒素有所析出，而处方 9、10 结果无显著差别，因此确定处方中乙醇用量为 0.10 mL/g。

2.5 正交试验筛选处方

在单因素考察的基础上，通过正交试验设计对凝胶剂中 HPMC-硬脂酸质量分数 (A)、丙二醇质量分数 (B) 和甘油质量分数 (C) 进行筛选，每个因素选取 3 个水平，采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排 9 个处方分别制成凝胶剂，以凝胶剂 Q_{12} 为评价指标进行试验。正交试验方案及结果见表 2，方差分析见表 3。

对正交试验结果进行直观分析和方差分析，表明各因素对 Q_{12} 的影响顺序为 $A > B > C$ ，最佳处方为 $A_1 B_2 C_3$ ，即凝胶处方为 HPMC-硬脂酸用量为 1.0%，丙二醇用量为 15%，甘油用量为 10%。用该处方制备的凝胶外观均匀，呈白色半透明状，体外渗透性能好。

2.6 验证试验

考虑到试验误差和实际生产，尚需对试验结果加以进一步验证。按上述正交试验优化结果制得 3 批凝胶样品，进行体外渗透试验，以各时间点的

Q_n 为纵坐标, 取样时间为横坐标, 作体外累计渗透曲线 (见图 2)。结果 3 批凝胶的 Q_{12} 分别为 (280.11 ± 6.43) 、 (269.82 ± 6.89) 、 (276.43 ± 9.81) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ($n=3$), 与正交实验结果相符, 说明优选的处方条件正确、可靠, 制备工艺稳定。

表 2 正交试验设计与结果

处方	A/%	B/%	C/%	D(空白)	$Q_{12}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$
1	1(1)	10(1)	1(1)	(1)	240.51
2	1(1)	15(2)	5(2)	(2)	271.69
3	1(1)	20(3)	10(3)	(3)	279.57
4	2(2)	10(1)	5(2)	(3)	226.66
5	2(2)	15(2)	10(3)	(1)	257.12
6	2(2)	20(3)	1(1)	(2)	243.91
7	3(3)	10(1)	10(3)	(2)	195.33
8	3(3)	15(2)	1(1)	(3)	220.17
9	3(3)	20(3)	5(2)	(1)	214.24
K_1	791.77	662.50	704.59	711.87	
K_2	727.69	748.98	712.59	710.93	
K_3	629.74	737.72	732.02	726.40	
R	162.03	86.48	27.43	15.47	

表 3 方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	4 439.352	2	88.527	$P<0.05$
B	1 473.736	2	29.388	$P<0.05$
C	132.659	2	2.645	
D(误差)	50.147	2		

$$F_{0.05}(2, 2)=19.00 \quad F_{0.01}(2, 2)=99.00$$

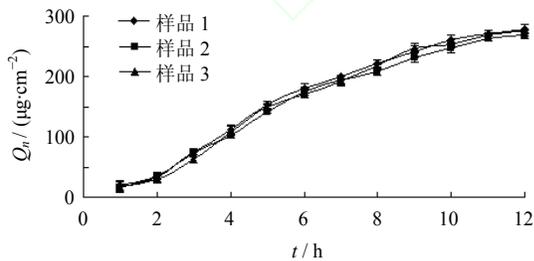


图 2 辣椒素凝胶的体外渗透曲线

Fig. 2 Release kinetic profile of capsaicin gel with optimum formulation across mouse skin

2.7 pH 值对不同基质辣椒素凝胶黏度的影响

本研究中尝试比较卡波姆与 HPMC-硬脂酸为基质制备的辣椒素凝胶的差异, 经查阅文献发现卡

波姆的黏度极易受 pH 值影响, 一般 pH 值在 5~11 凝胶比较稳定, 因此, 分别以 0.5%卡波姆和 1% HPMC-硬脂酸为基质制得辣椒素凝胶 A、B, 用氢氧化钠和稀盐酸作为 pH 值调节剂调节相应 pH 值, 以凝胶黏度为指标考察 pH 值对不同基质的辣椒素凝胶的影响, 结果见表 4。

表 4 pH 值对不同基质的辣椒素凝胶黏度的影响 ($n=3$)

pH 值	黏度/(Pa·s)	
	凝胶 A	凝胶 B
3	7.12 ± 0.01	25.04 ± 0.03
4	18.37 ± 0.02	26.81 ± 0.01
5	38.28 ± 0.02	26.20 ± 0.04
6	42.63 ± 0.07	26.57 ± 0.06
7	45.31 ± 0.04	25.80 ± 0.04
8	46.85 ± 0.03	25.59 ± 0.02

2.8 稳定性试验

2.8.1 酸碱度测定 按照最佳处方制备 3 批辣椒素凝胶样品, 各取 2 g 于小烧杯中, 加水 50 mL 制备均匀溶液, 测定 pH 值。结果 pH 值分别为 6.96 ± 0.24 、 6.82 ± 0.63 、 6.87 ± 0.38 ($n=3$)。

2.8.2 离心试验 按照最佳处方制备 3 批辣椒素凝胶样品, 各取适量置于离心管中, 在 2 500 r/min 离心 30 min, 均无分层现象。

2.8.3 耐热耐寒试验 按照最佳处方制备 3 批辣椒素凝胶样品, 各取适量于密闭离心管中, 分别置于 $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ 烘箱和 $(-15 \pm 2)^\circ\text{C}$ 冰箱中, 24 h 后取出, 恢复室温。结果在 $(60 \pm 2)^\circ\text{C}$ 条件下放置 24 h 后, 辣椒素量下降, 颜色无变化, 无分层、沉淀现象; 而在 $(-15 \pm 2)^\circ\text{C}$ 条件下存放时, 颜色和辣椒素量均无明显变化, 也无分层、沉淀现象, 说明辣椒素凝胶剂在低温状态下比较稳定。定量测定结果见表 5, 对两组数据进行 t 检验, 结果有显著性差异 ($P<0.01$)。

2.8.4 室温留样观察 按照最佳处方制备 3 批辣椒素凝胶样品, 各取适量于密闭离心管中, 室温下放置, 并于 0、1、2、3 个月末分别取样, 观察。结果颜色无变化, 无分层、沉淀现象; 定量测定结果见表 6。

2.9 皮肤刺激性试验

取健康雄性家兔, 剃去背部毛, 取辣椒素凝胶

表5 辣椒素定量测定结果 (n=3)

样品	温度/°C	
	60±2	-15±2
1	94.71±0.38	98.93±0.93
2	96.34±0.82	99.14±0.67
3	96.09±0.40	99.56±0.51

表6 辣椒素定量测定结果 (n=3)

样品	质量分数/%			
	0个月	1个月	2个月	3个月
1	100.38±0.34	99.29±0.76	100.04±0.52	99.97±0.29
2	98.96±0.19	98.60±0.42	99.01±0.57	98.65±0.55
3	99.72±0.28	98.19±0.42	98.68±0.49	99.52±0.15

剂和空白凝胶适量分别涂于脊柱两侧对称剃毛处,并用纱布覆盖固定。24 h后拆开观察涂药部位,均未见水泡、皮疹、红肿等现象。

3 讨论

凝胶剂的成型工艺一般为首先将 HPMC-硬脂酸加适量水溶胀,后将辣椒素加入其中搅拌均匀,并加入其他添加剂,加水至处方量。但在实验过程中发现用此种工艺制备凝胶时辣椒素易析出,且产生块状物质。所以改用“2.2”项下制备方法,制备的凝胶较均匀。

本实验中采用适量的无水乙醇作为溶媒,由于辣椒素为水难溶性药物^[8],处方中加入甘油和丙二醇仍不能使其完全溶解,所以加入一定量无水乙醇,增加其溶解性。同时乙醇具有一定的促渗作用,且挥发后凝胶黏度增大,有利药物在皮肤上滞留。

0.5% HPMC-硬脂酸黏度较小,不宜黏附于皮肤上;1% HPMC-硬脂酸制备的凝胶黏度适中,具有良好的渗透性,此时处于高度溶胀的 HPMC-硬脂酸有较大的空隙,药物分子容易通过。丙二醇是一种常用的透皮促进剂,同时具有保湿作用,且对辣椒素的溶解也有益,毒性和刺激性均较小。丙二醇促渗透的机理可能是由于其渗入角质层形成积蓄,增加药物在角质层中的溶解和分配,从而提高了药物的渗透的效果^[9]。甘油保湿效果较好,刺激性小,起润湿和防冻作用,制备辣椒素凝胶时加入适量甘油可使凝胶更加均匀、细腻,同时可增加凝胶的透明度。

本实验研究结果表明以新一代纤维素类材料 HPMC-硬脂酸为基质制备的辣椒素凝胶剂配方合理,制备方法简单易行,外观均匀细腻,无毒、无刺激性,对皮肤温和且不会产生黏着感,稳定性好,易涂展,易洗除,不污染衣物,透皮性能好,同时辣椒素以一定的速率缓慢持续地释放,减少了给药次数,降低不良反应,避免口服给药的缺陷,提高患者的顺从性,是一类理想的凝胶基质材料,具有一定的市场应用前景。本实验为某些药物的透皮给药制剂的研究与发展提供参考。

参考文献

- [1] 曾祖平, 何薇, 杜雯, 等. 正交设计法优选芩柏凝胶基质配方 [J]. 中成药, 2007, 29(6): 833-835.
- [2] Lim S J, Lee J H, Piao M G, *et al.* Effect of sodium carboxymethylcellulose and fucidic acid on the gel characterization of polyvinylalcohol-based wound dressing [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(7): 1073-1081.
- [3] Ghosal K, Chandra A, Rajabalaya R, *et al.* Mathematical modeling of drug release profiles for modified hydrophobic HPMC based gels [J]. *Pharmazie*, 2012, 67(2): 147-155.
- [4] Aykanat V, Gentgall M, Briggs N, *et al.* Intradermal capsaicin as a neuropathic pain model in patients with unilateral sciatica [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2012, 73(1): 37-45.
- [5] 尹芹芹, 张文胜. 辣椒素与疼痛: 致痛与镇痛 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2010, 31(2): 145-149.
- [6] Luqman S, Meena A, Marler L E, *et al.* Suppression of tumor necrosis factor- α -induced nuclear factor κ B activation and aromatase activity by capsaicin and its analog capsazepine [J]. *J Med Food*, 2011, 14(11): 1344-1351.
- [7] Bajaj S, Whiteman A, Brandner B. Transdermal drug delivery in pain management [J]. *Contin Educ Anaesth, Crit Care Pain*, 2011, 11(2): 39-43.
- [8] Yan H, Wang Z, Wang J K. Correlation of solubility and prediction of the mixing properties of capsaicin in different pure solvents [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2012, 51(6): 2808-2813.
- [9] 蔡铮, 黄娟, 吴越, 等. 天麻苷元体外透皮特性与皮肤刺激性研究 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 266-270.
- [10] 周蕾, 陈彦, 张振海, 等. 不同促渗剂对芍药苷透皮吸收的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 2100-2103.