

黄芩苷外用温敏凝胶的处方设计及优化

梁浩明, 龙晓英*, 卢彬

(广东药学院 中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**通过不同数学模型及评价指标优选黄芩苷外用温敏凝胶的处方。**方法:**以泊洛沙姆 407,188 为凝胶基质,以胶凝温度为指标比较全样本多元线性模型及星点设计-效应面法优选的黄芩苷外用温敏凝胶处方。以胶凝时间及凝胶长度为评价指标进行处方优化。**结果:**星点设计-效应面法优选的处方置信度较高。黄芩苷外用温敏凝胶的最优处方为 1% 黄芩苷,17% 泊洛沙姆 407 和 1.5% 泊洛沙姆 188;胶凝温度、胶凝时间及凝胶长度分别为 $(30.3 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$, $(18.9 \pm 1.9) \text{ s}$, $(0.7 \pm 0.6) \text{ cm}$ 。**结论:**制备的黄芩苷外用温敏凝胶符合局部迅速富集、提高患者顺应性的要求,指标评价应以人体测定的结果为准,为外用温敏凝胶的处方优选提供参考。

[关键词] 黄芩苷; 外用温敏凝胶; 全样本多元线性模型; 胶凝温度; 凝胶长度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0034-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240034

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1358.003.html>

[网络出版时间] 2014-11-06 13:58

Optimization and Evaluation of Baicalin Thermosensitive Gels for External Application

LIANG Hao-ming, LONG Xiao-ying*, LU Bin

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare baicalin thermosensitive gels for external application through different mathematical models and evaluation indexes. **Method:** Taking poloxamer 407 (P407) and poloxamer 188 (P188) as gel matrices, gelation temperature was applied as a target to compare formulations of baicalin thermosensitive gels, which were optimized by all sample multiple linear regression model and central composite design-response surface methodology (CCD-RSM), while combination of gelation time and length were adopted to optimize formulation. **Result:** Counting on high reliability of CCD-RSM. Gels formulation was finally confirmed as

[收稿日期] 20140515(002)

[第一作者] 梁浩明, 硕士, 从事中药制剂研究与开发, Tel:13450405140, E-mail:L_haoming@163.com

[通讯作者] * 龙晓英, 教授, 硕士生导师, 从事药物新剂型与新技术及中药新药研究, Tel:020-39352559, E-mail:longxy3156@163.com

- [9] 王璐,赵烽,刘珂.牛蒡子苷及牛蒡子苷元的药理作用研究进展[J].中草药,2008,39(3):467.
- [10] 齐艳明,柏玲,张文治.牛蒡子化学成分研究[J].齐齐哈尔大学学报:自然科学版,2012,28(2):19.
- [11] 李卓恒,于彩平,管海燕,等.牛蒡子化学成分的分离与鉴定[J].中国药房,2012,23(39):3696.
- [12] 丁玉萍,崔兆杰,邱琴,等.牛蒡子脂肪油的超临界CO₂流体萃取及GC-MS分析[J].食品工业科技,2006,27(4):73.
- [13] 刘月蓉,陈晔,郑建灿,等.亚临界萃取设备在天然产物有效成分提取中的应用[J].莆田学院学报,2012,19(2):73.
- [14] 祁鲲.亚临界溶剂生物萃取技术的发展及现状[J].粮食与食品工业,2012,19(5):5.

[责任编辑 刘德文]

1% baicalin, 17% P407 and 1.5% P188; gelation temperature, time and length were $(30.3 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$, $(18.9 \pm 1.9) \text{ s}$, $(0.7 \pm 0.6) \text{ cm}$, respectively. **Conclusion:** Baicalin thermosensitive gels for external application is consistent with external requests for rapid enrichment at the local and elevated compliance, index evaluation should be based on results of human determination, references are offered to filter prescriptions of external thermosensitive gels scientifically and reasonably.

[**Key words**] baicalin; external thermosensitive gels; all sample multiple linear model; gelation temperature; gelation length

痤疮,俗称“青春痘”,是一种发生在皮肤毛囊皮脂腺的慢性炎症,据国外研究表明,青少年发病率高达85%。痤疮的发病机制多与雄激素分泌增多、痤疮丙酸杆菌的增殖有关^[1]。中药治疗痤疮具有副作用小、不易产生耐药性等优势,市场份额日益上升。黄芩苷是黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的主要有效成分,具有抗菌、抗病毒、抗炎等药理作用^[2-3],对痤疮丙酸杆菌表现出良好的抑制效果^[4],还能拮抗雄性激素对皮脂腺细胞的活性作用^[5]。黄芩苷温敏凝胶已被应用在眼部、阴道和鼻腔^[6-8],但由于黄芩苷亲水性弱,在皮肤累计透过率低,限制其在皮肤外用制剂的应用^[9]。

由泊洛沙姆407制备的温敏凝胶具有反向热凝胶性质,即在低温时为液态,当升温至室温或体温时可成为半固态凝胶。在此过程中,疏水性药物包裹于聚丙烯疏水内核中,能根据用药部位的体温迅速由液态转变为半固态,起到缓慢释药,延长药物滞留时间的作用^[10]。泊洛沙姆407常与泊洛沙姆188配合使用,与传统凝胶剂相比,具有给药方便、患者顺应性好、刺激性小、释放性能良好^[7]等优势,还可提高难溶性药物黄芩苷的溶出速率。本实验拟选择黄芩苷为主药,泊洛沙姆等为基质,研制黄芩苷经皮给药系统,通过星点设计-效应面法优选黄芩苷外用温敏凝胶的处方,使其在皮肤局部迅速富集,更好地发挥治疗痤疮作用。

1 材料

TK-20B型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),BSA2245型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司),85-2型控温磁力搅拌器(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂),WLB-21型精密温度计(量程 $50 ^\circ\text{C}$,精确至 $0.1 ^\circ\text{C}$)。黄芩苷(批号XC090725,西安小草植物有限责任公司,纯度98%),泊洛沙姆407(P407)和泊洛沙姆188(P188)购自德国BASF公司,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 空白温敏凝胶的制备 配制pH 7.0磷酸盐缓

冲液。取适量P407,P188均匀撒在磷酸盐缓冲液中,放入 $4 ^\circ\text{C}$ 冰箱冷藏12h至溶液澄清,取出,搅拌均匀,冷藏12h,即得。

2.2 胶凝温度的测定 将不同浓度的空白凝胶溶液置于西林瓶中,加入搅拌子,放入低温($10 ^\circ\text{C}$)水浴中,磁力搅拌,转速 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,同时缓慢升温,升温速度 $1 ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,至磁力搅拌子完全停止转动的温度即为胶凝温度,平行测定3次。

2.3 胶凝时间的测定^[11] 采用搅拌子法。将样品于室温放置1h,取固定体积的样品均匀涂于西林瓶底部(涂层厚度0.5mm),将直径0.5mm,长8mm的铁丝放入西林瓶底部,将西林瓶放置于 $(32 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$,转速 $50 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的水浴中,立即计时,记录铁丝完全停止转动的时间,即为胶凝时间,平行测定3次。

2.4 凝胶长度的测定 将层析缸倾斜 30° ,置于 $(32 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$ 水浴中,平衡30min至容器内外温度一致。取固定体积的样品快速均匀地涂于规定大小区域内,测定液体凝胶变为固体凝胶流淌的长度,记为凝胶长度,平行测定3次。

2.5 处方工艺优选

2.5.1 全样本多元线性模型 以体表温度 $32 ^\circ\text{C}$ 为胶凝温度,根据预试验结果,选择P407质量分数分别为17%,18%,19%,20%,加入P188质量分数分别为2%,4%,6%,8%,测定胶凝温度,见表1,结果表明胶凝温度随不同质量分数泊洛沙姆的增加呈规律性变化。

表1 P407与P188质量分数对黄芩苷外用温敏凝胶胶凝温度的影响

P188/%	胶凝温度/ $^\circ\text{C}$			
	17% P407	18% P407	19% P407	20% P407
2	31.2	28.2	26.2	22.2
4	33.8	31.5	29.0	26.2
6	36.4	32.7	30.7	27.9
8	36.6	33.1	30.9	28.5

2.5.2 星点设计-效应面法^[12] 在预试验基础上,

选择 P407 和 P188 质量分数为考察因素,根据中心组合设计原理^[13],以胶凝温度为指标,每个因素设置 5 个水平,依次用代码值 $\pm \alpha, \pm 1, 0$ 表示 ($\alpha = 1.414$),试验安排及结果见表 2。

表 2 黄芩苷外用温敏凝胶处方工艺星点设计安排

No.	代码值		实际值		胶凝温度 /℃
	X_1 P407	X_2 P188	X_1 /%	X_2 /%	
1	1	1	21.27	8.54	25.5
2	1	-1	21.27	1.46	18.5
3	-1	1	17.73	8.54	33.6
4	-1	-1	17.73	1.46	26.9
5	1.414	0	22.00	5.00	21.2
6	-1.414	0	17.00	5.00	36.1
7	0	1.414	19.50	10.00	28.9
8	0	-1.414	19.50	0.00	20.6
9	0	0	19.50	5.00	28.2
10	0	0	19.50	5.00	28.2
11	0	0	19.50	5.00	28.2
12	0	0	19.50	5.00	28.2
13	0	0	19.50	5.00	28.2

2.5.3 模型拟合 利用 SAS 8.1 软件分别对表 1, 2 中试验数据进行分析。通过多元线性模型对各因素和评价指标进行回归计算,得方程 $Y = 75.964 - 2.708X_1 + 0.889X_2$ ($r = 0.9769, P < 0.01$); 采用二次多项式模型对各因素和指标进行数学模型拟合,得方程 $Y = 82.874 - 3.737X_1 + 2.160X_2 + 0.026X_1^2 - 0.149X_2^2 + 0.012X_1X_2$ ($r = 0.9934, P < 0.01$)。结果发现星点设计的二次多项式模型的拟合效果优于全样本多元线性模型,故选择该模型用于温敏凝胶胶凝温度的分析和预测。

2.5.4 拟合方程的验证 利用 SigmaPlot 12.1 软

件,根据确立的二次多项式方程分别绘制三维效应面和二维等高线图,见图 1。选取预测值接近人体体表温度 32℃ 的处方配比,测定其胶凝温度,见表 3,结果表明各指标与预测值的差异较小,偏差的绝对值均 $< 2\%$,提示建立的数学模型具有良好预测效果。

2.6 处方优化评价 在使用过程中温敏凝胶最好能快速胶凝,以避免液体流淌和反复涂抹,提高使用者的顺应性,故有必要增加胶凝时间与凝胶长度作为评价指标。由于第一组胶凝时间和凝胶长度最短,故后序组别均与第一组作比较,计算温度变化率和时间变化率,见表 3。结果表明胶凝时间与长度间呈现良好相关性,以第 1 组效果最好。处方差异造成温度的变化较小,而对时间的变化则显得更为突出,从经皮给药角度考虑,为符合患者用药的顺应性,避免药物的流淌,提高药物富集于患处,应选择室温下稳定,皮肤温度下胶凝且胶凝时间短,凝胶长度短的处方。故选择 17% P407 和 1.5% P188 作为空白温敏凝胶的基质处方。

2.7 黄芩苷对胶凝温度、胶凝时间和凝胶长度的影响 室温下黄芩苷在 pH 6.8 ~ 7.4 磷酸盐缓冲液中溶解度 12.96 ~ 11.49 $g \cdot L^{-1}$ ^[14],故确定外用温敏凝胶中黄芩苷质量浓度 0.01 $g \cdot mL^{-1}$ 。将黄芩苷加入泊洛沙姆凝胶基质中,测定胶凝温度、胶凝时间及凝胶长度,数据 ($\bar{x} \pm s$) 采用 SPSS 17.0 作两独立样本 t 检验,结果空白凝胶的 3 个参数分别为 (30.1 \pm 0.3)℃, (14.7 \pm 1.7) s, (0.1 \pm 0.1) cm,黄芩苷凝胶则分别为 (30.3 \pm 0.1)℃, (18.9 \pm 1.9) s, (0.7 \pm 0.6) cm,表明加入黄芩苷会造成 3 个指标均发生显著变化。

表 3 不同处方黄芩苷外用温敏凝胶的胶凝参数测定 ($n = 3$)

No.	P407-P188	胶凝温度/℃		偏差值 /%	温度变化率 /%	胶凝时间 /s	时间变化率 /%	凝胶长度 /cm
		预测值	实测值					
1	17.0:1.5	30.1	30.1 \pm 0.2	0.1 \pm 0.4	-	14.7	-	0.1
2	17.0:2.0	31.0	31.1 \pm 0.3	-0.5 \pm 0.9	3.32	29.8	102.7	3.2
3	18.0:3.5	30.5	31.0 \pm 0.1	-1.7 \pm 0.4	2.99	29.3	99.3	3.0
4	18.0:4.0	31.2	31.5 \pm 0.1	-1.1 \pm 0.4	4.65	36.9	151.0	4.5
5	18.0:4.5	31.7	32.0 \pm 0.1	-0.9 \pm 0.4	6.31	53.5	263.9	>7.0
6	19.0:6.0	30.2	30.3 \pm 0.3	-0.2 \pm 1.0	0.66	16.7	13.6	0.7
7	19.0:6.5	30.5	31.0 \pm 0.3	-1.7 \pm 0.9	2.99	27.8	89.1	2.9
8	19.0:7.0	30.7	31.1 \pm 0.3	-1.2 \pm 1.0	3.32	28.1	91.2	3.2
9	19.0:7.5	30.8	31.1 \pm 0	-0.9 \pm 0.1	3.32	27.7	88.4	3.1

注:偏差 = (预测值 - 实测值) / 预测值 $\times 100\%$ 。

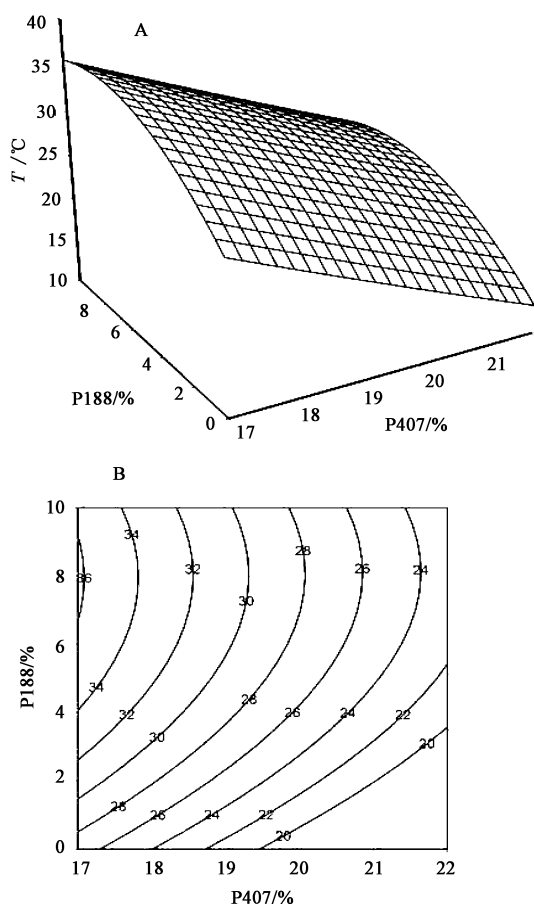


图1 P407和P188质量分数对黄芩苷温敏凝胶胶凝温度影响的效应面(A)与等高线(B)

2.8 人体使用结果 6名受试者,男女各半,室温适应30 min,测定面部皮肤温度(32.3 ± 0.2) °C,按2.7项下规定用量和涂抹面积,快速均匀涂于面部皮肤,开始计时,以倾斜面部凝胶不具流动性为判断依据,记录胶凝时间,同时测量凝胶长度。结果显示胶凝时间(12.1 ± 1.8) s,胶凝长度(0 ± 0) cm,均显著低于上述通过仪器测定的结果,符合局部迅速富集、提高患者顺应性的要求,故最终确定黄芩苷外用温敏凝胶的最优处方为1%黄芩苷,17.5% P407和1.5% P188。

3 讨论

本文建立了2种模型对黄芩苷外用温敏凝胶的处方进行优化,均获得较高的可信度,其中以星点设计-效应面法更具优势。二项式拟合效应面反映了泊洛沙姆与温度的变化规律,当P188浓度一定时,空白凝胶溶液的胶凝温度随P407用量的增大而减少;当P407浓度一定时,胶凝温度随P188用量的增大呈先升后降的趋势。当达到临界胶束温度时,聚合物链上的疏水性聚氧丙烯(PPO)嵌段脱水,疏水

性增强,临界胶束浓度降低,利于胶束形成,泊洛沙姆分子在水溶液中聚集成以脱水PPO链为内核、包裹着聚氧乙烯(PEO)为外壳的球状胶束。随着温度的升高,由于胶束间缠结和堆砌作用加剧而发生胶凝,此温度称为最低临界溶解温度(LCST)^[15-16]。这种相转化温度受PEO/PPO比例的影响。体系中氧化丙烯(PO)数目的增加可使胶凝温度下降,而氧化乙烯(EO)的增加则使胶凝温度升高,但以PO占主导作用。少量P188可参与P407胶束的形成,EO比例提高,降低体系中PPO/PEO的比例,胶凝温度升高;随着P188用量的增加,其自身会形成胶束,降低了对体系P407胶束形成的影响,故胶凝温度降低^[17]。

胶凝时间和凝胶长度反映了温敏凝胶在特定温度下发生相转化的变化过程,即黏度的变化过程。在不同实用性和体内作用考察时,黏度是温敏凝胶一个非常重要的流变学参数^[18]。Chang等^[19]将胶凝时间定义为当弹性模量高于黏性模量的时间,认为胶凝温度高,表现出黏弹性能的时间更长;而胶凝时间短的处方在给药时更具优势,因其能减少凝胶在用药部位的流淌。

文献报道中对温敏凝胶的评价方法较多,如测定黏度^[20]、生物黏附力^[21]、剪切力^[22]、累计释放率^[23]等,均对实验条件与时间提出了较高要求,且根据软件得到符合体表温度使用要求的处方多达几十个。本文利用胶凝温度、胶凝时间、凝胶长度3个指标综合评价处方,建立了一个直观、便捷的评价方法。

处方量黄芩苷对泊洛沙姆溶液的胶凝温度、时间和凝胶长度均有所提高。报道指出在泊洛沙姆疏水嵌段中增加1个氨基或羟基则可升高LCST,即升高了胶凝温度,减慢相转换速率。因为氨基或羟基增加了聚合物与水分子间的氢键作用,内核疏水性减弱,抑制了由液体转变为半固体的趋势^[16,24]。黄芩苷属于黄酮苷类物质,含有多个羟基,故推测黄芩苷凝胶胶凝温度的上升也可能是基于黄芩苷插入到泊洛沙姆结构中,加强了与水分子氢键作用的结果。

黄芩苷外用温敏凝胶在皮肤上使用效果更好,表现为胶凝时间更短且不流动。这可能与采用仪器测定时,磁力搅拌产生了剪切力,致使凝胶处于流动状态有关。冯怡等^[25]认为磁力搅拌对凝胶溶液存在明显的切稀作用,干扰凝胶的形成,造成相变温度测定值偏高。故应以人体测定的结果为准。

[参考文献]

[1] 殷迪,牛松青. 痤疮的病因及治疗进展[J]. 吉林医药学院学报, 2009, 30(3): 166.

[2] 辛文好,宋俊科,何国荣,等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J]. 中药新药杂志, 2013, 22(6): 647.

[3] 张喜平,田华,陈琪辉. 黄芩苷的药理作用研究现状[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(11): 1212.

[4] 朱亚芳,赵浩如. 中药体外抑制痤疮丙酸杆菌的活性测定[J]. 药学与临床研究, 2009, 17(3): 224.

[5] 鞠强,尹兴平,石继海,等. 黄芩苷等中药单体对人皮脂腺细胞内雄性激素受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29(2): 167.

[6] 宋成君,王莹,王春艳,等. 黄芩温度敏感凝胶剂的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(6): 628.

[7] 朱铁梁,胡霞,张莉,等. 黄芩苷温敏凝胶的处方筛选及体外释放研究[J]. 中草药, 2012, 43(11): 2164.

[8] 国大亮,何新,刘玉莹,等. 黄芩苷鼻用温敏凝胶的制备及其经鼻扩散研究[J]. 中草药, 2013, 44(10): 1253.

[9] 李俊生,吕佳佳,王兴慧,等. 黄芩总黄酮及其单体的溶解性及体外经皮渗透性能研究[J]. 中草药, 2014, 45(2): 200.

[10] Cho C W, Shin S C, Oh I J. Thermorheologic properties of aqueous solutions and gels of poloxamer 407[J]. Drug Dev Ind Pharm, 1997, 23(12): 1227.

[11] 宋成君,刘志东,田蕾,等. 葛根素温度敏感凝胶剂的研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(15): 1157.

[12] 孟冬梅,徐月红,丁平田,等. 星点设计-效应面法优化磷酸川芎嗪温敏凝胶的处方[J]. 中草药, 2008, 31(2): 286.

[13] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学药学分册, 2000, 27(5): 292.

[14] 何琳,丁沐淦,卢秀霞,等. 黄芩苷在不同 pH 值缓冲液中理化常数的测定[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(3): 208.

[15] Bohorquez M, Koch C, Trygstad T, et al. A study of the temperature dependent micellization of pluronic F127

[J]. J Colloid Interf Sci, 1999, 216(1): 34.

[16] 施斌,方超,裴元英. 两亲性嵌段共聚物胶束的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(4): 239.

[17] 鞠凤阁,朱照静,王丽娟,等. 双氯芬酸钠眼用温敏凝胶的处方优化及体外释放[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(7): 541.

[18] Qian Y, Wang F Z, Li R, et al. Preparation and evaluation of in situ gelling ophthalmic drug delivery system for methazolamide[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2010, 36(11): 1340.

[19] Chang J Y, Oh Y K, Choi H G, et al. Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions[J]. Int J Pharm, 2002, 241(1): 155.

[20] 宋涛,王东凯,高红,等. 利巴韦林鼻用温敏凝胶热力学和流变学性质研究[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(8): 540.

[21] Qi H Y, Li L, Huang C Y, et al. Optimization and physicochemical characterization of thermosensitive poloxamer gel containing puerarin for ophthalmic use[J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(11): 1500.

[22] Varshosaz J, Tabbakhian M, Salmani Z. Designing of a thermosensitive chitosan/poloxamer *in situ* gel for ocular delivery of ciprofloxacin[J]. Open Drug Delivery J, 2008, 2: 61.

[23] Zhou S Q, Zheng X L, Zheng C H, et al. A thermosensitive gel formulation of an empirical traditional Chinese prescription for treating cervical erosion[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2012, 2(5): 495.

[24] Chung J E, Yokoyama M, Aoyagi T, et al. Effect of molecular architecture of hydrophobically modified poly (N-isopropylacrylamide) on the formation of thermoresponsive core-shell micellar drug carriers[J]. J Control Release, 1998, 53(1): 119.

[25] 冯怡,姜玲海,沈岚,等. 外用多糖温敏凝胶相变温度的选择及处方筛选[J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(4): 294.

[责任编辑 刘德文]