

· 工艺与制剂 ·

均匀设计法联合 Excel 优选九分巴布剂的基质配比

潘娅*, 周莉玲²

(1. 华南理工大学化学与化工学院, 广州 510640; 2. 广州中医药大学中药学院, 广州 510405)

[摘要] 目的: 优选九分巴布剂的基质配比并考察其体外释过程。方法: 以巴布剂的黏性及释放速率常数为指标, 采用均匀设计法考察卡波姆、聚丙烯酸钠、聚乙烯醇、羧甲基纤维素钠及甘油用量对九分巴布剂质量的影响, 联合 Excel 软件对试验数据进行多元回归分析, 优化九分巴布剂基质配比, 测定九分巴布剂的体外释放度。采用 HPLC 测定马钱子碱含量, 色谱条件为 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水-三乙胺-冰醋酸 (20: 280: 0.3: 2.4, pH 4.5), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm。结果: 九分巴布剂的最佳基质配比为卡波姆-聚丙烯酸钠-聚乙烯醇-羧甲基纤维素钠-甘油 (1: 1: 1: 1.75: 20)。体外释放试验表明九分巴布剂的体外释药过程符合 Higuchi 方程 ($R^2 = 0.9024$)。结论: 九分巴布剂基质成型好, 体外释药能维持 24 h 释药。将 Excel 软件与均匀设计联合的方法简便可行。

[关键词] 九分巴布剂; 基质配方; 均匀设计; 马钱子碱; 体外释放度试验

[中图分类号] R283.6; R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)21-0001-04

[doi] 10.11653/syjf2013210001

Optimization of Matrix Formulation of Jiufen Cataplasms by Combining Uniform Design and Excel

PAN Ya^{1*}, ZHOU Li-ling²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize matrix formulation of Jiufen cataplasms and investigate its *in vitro* release characteristics. **Method:** With viscosity and *in vitro* release constant of Jiufen cataplasms as indexes, effects of dosage of carbopol, CMC-Na, sodium polyacrylate, polyvinyl alcohol and glycerol on quality of Jiufen cataplasms were investigated by uniform design, multiple regression of test data was analyzed by Excel, then optimized matrix formulation of Jiufen cataplasms and determined its *in vitro* release. The content of strychnine was determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: Hypersil BDS C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of methanol-water-triethylamine-glacial acetic acid (20: 280: 0.3: 2.4, pH 4.5), flow rate 1 mL·min⁻¹, detection wavelength 254 nm. **Result:** The best matrix formulation of Jiufen cataplasms was: carbopol-polyacrylate sodium-polyvinyl alcohol-sodium carboxymethylcellulose-glycerol (1: 1: 1: 1.75: 20). *In vitro* release properties of Jiufen cataplasms conformed to Higuchi equation with R^2 of 0.9024. **Conclusion:** Jiufen cataplasms had good forming, it could maintenance *in vitro* release for 24 h. Method combining Excel software and uniform design was simple and feasible.

[Key words] Jiufen cataplasms; matrix formulation; uniform design; strychnine; *in vitro* release test

九分巴布剂由九分散改剂型而得, 原方出自清·费山寿《急救应验良方》, 由马钱子、麻黄、乳香、没药 4 味中药组成^[1], 具有活血散瘀、消肿止痛之功效^[2], 治疗类风湿性关节炎有良效^[3]。原剂型可内

[收稿日期] 20130412(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81001648); 中央高校基本科研业务费专项(2012ZZ0045)

[通讯作者] * 潘娅, 博士, 讲师, 从事中药新剂型与新技术的研究, Tel: 020-87110234, E-mail: tanpy@scut.edu.cn

服及外用,由于马钱子有毒性,内服易引起中毒,不宜久服。传统外用方法是将九分散用水调和,以纱布外敷于患处,存在药物透过率低、生物利用度低、易污染衣服等缺陷。外用经皮给药可避免胃肠道刺激性,实现局部用药,提高药效。巴布剂由药物与水溶性高分子基质混匀制得^[4],具有载药量大、透气性好、可反复揭贴、不污染衣物等优点,能明显提高药物生物利用度^[5],基质是影响巴布剂性能的重要因素^[6]。本实验采用均匀设计法^[7],以巴布剂的黏性、体外释放系数为考察指标,对基质处方配比及其体外释放度进行研究,为九分巴布剂的临床开发与推广提供依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国惠普公司),SPD-ZA 型紫外检测器(日本岛津),DKS-12 型电热恒温水浴锅(上海沈荡中新电器厂),DF-101S 型磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂),ZRD-7230 型恒温干燥箱(上海智城分析仪器制造有限公司),挥发油提取器(自制,符合 2010 年版《中国药典》规定),TB-25 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),ZRS-8 型智能药物溶出仪(天津大学精密仪器厂),弹簧拉力器与涂布器(自制)。

马钱子(*Strychnos nux-vomica* L.)、草麻黄(*Ephedra sinica* Stapf)、乳香(*Boswellia carterii* Birdw.)、没药(*Commiphora myrrha* Engl.)均购于广州清平药材市场,经广州中医药大学黄海波教授鉴定,符合 2010 年版《中国药典》相关规定。卡波姆(Carbopol,广州东征化玻有限公司),聚丙烯酸钠(PANa,广州东征化玻有限公司),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津市百世化工有限公司),聚乙烯醇-124(PVA-124,天津市北联化学试剂开发公司),甘油(购自国药集团化学试剂有限公司),马钱子碱对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 110706-200505),甲醇为色谱级,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药材的提取 称取处方量乳香、没药,加水浸泡 1 h,采用水蒸气蒸馏法提取 5 h,收取挥发油,经适量无水硫酸钠脱水,即得黄绿色油状挥发油,另器收集,备用。称取处方量马钱子、麻黄,加 8 倍量水浸泡 1 h,煎煮 2 h,过滤,滤液与乳香、没药提油后的药液混合,于室温浓缩至相对密度 1.10,即得九分散浸膏,备用。

2.2 巴布剂的制备 称取处方量 Carbopol,PVA-124,CMC-Na 适量,加水浸泡,水浴加热使溶胀;另

取处方量 PANa 溶于甘油中,混合均匀后加入上述溶胀液中,搅拌数分钟,即得巴布剂空白基质。将 2.1 项下九分散浸膏、挥发油加至空白基质中搅拌均匀,超声波脱气泡,均匀涂布在无纱布上,盖上防黏纸,低温干燥,即得九分巴布剂,备用。

2.3 黏性的测定^[8]

2.3.1 180°剥离强度 将巴布剂揭去保护膜,贴于洁净的玻璃板上,压紧放置 20 min,在巴布剂的一端做 180°或 90°折返,同时将巴布剂粘贴部分揭去 20 mm,接在弹簧拉力器上,弹簧拉力器接在升降器上,以一定速度拉下,每隔 20 mm 读数 1 次,共读 3 次,记录读数。

2.3.2 持黏力 将巴布剂揭去保护膜,贴于垂直玻璃板上,于玻璃板平行挂上 1 kg 砝码,读取巴布剂完全脱落时的时间,记录数值,每个样品测定 3 次,取平均值。

2.3.3 初黏性 将巴布剂揭去保护膜,置于长 30 cm,与水平面成 15°或 30°的斜面装置中央,膏面朝上,斜面上部 10 cm 及下部 15 cm 用涤纶薄膜覆盖,中间留出 5 cm 膏面,将钢球自顶端自由滚下,观察并记录钢球滚过的距离,每个样品测定 3 次,取平均值。

2.4 马钱子碱的含量测定^[9]

2.4.1 色谱条件 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm,大连依利特科学仪器有限公司),流动相甲醇-水-三乙胺-冰醋酸(20:280:0.3:2.4,pH 4.5),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 254 nm。

2.4.2 标准曲线的建立 精密称取马钱子碱对照品适量,用甲醇配制一定质量浓度的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1,2,4,6,8,10 μL,按 2.4.1 项下色谱条件下进样,以峰面积为纵坐标,马钱子碱质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 42.26X + 0.693$ ($r = 0.9993$),线性范围 10.12 ~ 101.2 mg·L⁻¹。

2.4.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 5 次,结果马钱子碱峰面积的 RSD 0.99%;精密量取同一供试品溶液,按上述色谱条件连续测定 5 次,结果马钱子碱峰面积的 RSD 0.24%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在室温下放置 0,2,4,8,12,24 h,进样测定,结果马钱子碱峰面积的 RSD 0.16%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取马钱子碱对照品适量,加入样品溶液中,制备供试品溶液,按

2.4.1 项下色谱条件测定,结果平均加样回收率 99.5% ($n=5$, RSD 1.98%)。

2.5 体外释放度试验 采用溶出度测定仪,按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 第三法浆法测定。取巴布剂 3 片,以含 30% 无水乙醇的生理盐水 250 mL 为释放介质,预温至 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,将巴布剂固定于两层碟片的中央,释放面向上,碟片置于杯底,使巴布剂与浆底旋转面平行,两者相距 (25 ± 2) mm,开始搅拌,转速 $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 取出释放液 5 mL,得各样品溶液,并立即补充等量空白释放介质,释放液用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,收集续滤液 1 mL,即得供试品溶液,按 **2.4.1** 项下色谱条件测定,由马钱子碱累积释放量与时间进行线性回归,回归方程斜率即为释放速率常数(J)。

2.6 基质处方优化 采用均匀设计法。选取 Carbopol, PVA-124, CMC-Na, PANa 及甘油用量为考察因素,以剥离强度、持黏力、初黏力的综合评分(权重系数分别为 0.3, 0.3, 0.4)和 J 评分为考察指标,按 $U_8(8^5)$ 均匀设计表进行试验。各指标以 $(C_i/C_{\max}) \times 100\%$ (C_i 为实测值, C_{\max} 为试验测得最大值)进行标准化处理,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 九分巴布剂的基质处方均匀设计因素水平

水平	A Carbopol	B CMC-Na	C PVA-124	D PANa	E 甘油
1	1.00	0.50	0.25	0.25	0.00
2	2.00	1.00	0.50	0.50	0.25
3	3.00	2.00	0.75	0.75	0.5
4	4.00	4.00	1.00	1.00	1.00
5	5.00	6.00	1.25	1.25	1.25
6	6.00	8.00	1.50	1.50	1.5
7	7.00	10.00	2.00	1.75	1.75
8	8.00	12.00	2.50	2.00	2.00

表 2 九分巴布剂的基质处方均匀设计安排

No.	A	B	C	D	E	黏性			释放速率常数	
						剥离强度/%	持黏力/%	初黏性/%	评分/%	
1	1	2	4	7	8	95.98	94.94	97.00	96.08	100.00
2	2	4	8	5	7	94.47	78.09	76.04	82.18	76.38
3	3	6	3	3	6	84.42	73.88	84.02	81.10	73.13
4	4	8	7	1	5	96.98	69.10	55.99	72.22	75.00
5	5	1	2	8	4	95.98	100.00	86.02	93.20	91.88
6	6	3	6	6	3	100.00	80.90	87.02	89.08	69.38
7	7	5	1	4	2	94.97	71.91	80.03	82.08	71.25
8	8	7	5	2	1	63.82	73.03	100.00	81.06	68.75

将表 2 中数据输入计算机,运用 Excel 软件对各变量进行多元逐步回归分析,讨论各变量因子对各性能指标的影响,得回归方程,对回归方程的显著性进行 F 检验。引入因素的 $F_{\text{临界值}} = 0.05$, 变量因子个数 (m) = 5, 试验次数 (n) = 8, 查表 t 的临界值为 $t_{\alpha/2}(n-m-1)$ (α 为显著水平, $\alpha=0.05$), 即 $t_{0.025}(2) = 4.303$, 如果变量因子的 t 绝对值 $> t_{0.025}(2)$, 则说明该变量因子对性能指标的影响作用显著, t 绝对值越大影响作用越大, 反之, 则不显著。

对 J 变量进行多元逐步回归分析, 按 t 绝对值大小判断各因素对方程的贡献, 由于 $t_C = -1.5022 < t_{0.025}(2)$, 剔除影响较小的 C 因素, 剩余四因素进行线性回归, 根据 t 值大小剔除 A 因素, 得回归方程 $Y_1 = -95.873 + 11.521 2B + 91.281 78D + 0.971 88E$ ($R=0.962 2, R^2=0.925 8$), $t_B = 3.661 5, t_D = 4.071 9, t_E = 3.570 8$, 说明 B, D, E 因素的 $|t|$ 均 $> t_{0.025}(4) = 2.776$, 表明各因素均有统计学意义。对回归方程的显著性进行 F 检验, 查表, F 检验的临界值 $F_{\alpha}(m, n-m-1)$, 即 $F =$

$16.643 > F_{0.05}(3, 4) = 6.591, P = 0.01$, 表明线性回归方程具有显著性意义, 是可信的。由 $|t|$ 判断各因素对方程的影响作用, 依次为 $D > B > E$, 三因素均为正相关。

对黏性变量进行多元逐步回归分析, 根据 t 绝对值, $t_C = 2.184 2 < t_{0.025}(2)$, 剔除影响较小的 C 因素, 再进行线性回归, 以 t 值判断各因素对方程的贡献, 逐步剔除影响较小的 B, E, A 因素, 得回归方程 $Y_2 = 71.446 4 + 11.714 3D$ ($R=0.930 5, R^2=0.865 8$, $t_D = 6.220 5 > t_{0.025}(6) = 2.447$, 检验值 $F = 38.695 1 > F_{0.05}(1, 6) = 5.987, P = 0.000 8$, 表明线性回归方程具有显著性意义, D 因素具有统计学意义, 对黏性具有显著影响, A, B, C, E 因素对黏性影响较小, 方差分析见表 3。

表 3 九分巴布剂的基质处方方差分析

指标	方差类型	f	SS	MS	F
J	回归方差	3	849.015 5	283.005 2	16.643 0
	残差	4	68.018 0	17.004 5	
	总和	7	917.033 5		
黏性	回归方差	1	360.214 3	360.214 3	38.695 1
	残差	6	55.854 3	9.309 1	
	总和	7	416.068 6		

由以上结果可知,回归方程均具有显著性意义,是可信的。 D 因素对 J ,黏性均有显著影响; A, C 因素的影响不显著; B, E 因素对 J 影响显著,但对黏性影响不显著。通过 Excel 软件中规划求解功能从释放系数线性方程中可快捷地获得 B, D, E 因素的最佳配比,即 $B - D - E = 1.007 : 1.806 : 20$,为确保释放速率最大的同时黏性适宜,确定优化的基质处方配比为 $A-B-C-D-E(1 : 1 : 1 : 1.75 : 20)$,即 Carbopol: PANa: PVA-124: CMC-Na: 甘油 = 1 : 1 : 1 : 1.75 : 20。

2.7 验证试验 按优选方案制备 3 批巴布剂,测定黏性及体外释放度,绘制体外释放曲线,结果剥离强度 (1.96 ± 0.1) cm,持黏力 (3.34 ± 0.21) kg,初黏力 (12.47 ± 0.59) s。将制得巴布剂贴敷于皮肤上,粘贴紧密,撕下后无基质残留于皮肤,质量较好。体外释放度结果表明 3 批样品均能维持 24 h 释药,在 2,4,8 h 取样点的累积释放量 (Q) 分别为 $(32.5 \pm 0.91)\%$, $(52.4 \pm 0.78)\%$, $(83.3 \pm 0.51)\%$,24 h 的 Q 可达 $(98.61 \pm 0.21)\%$,符合缓释要求,可满足临床需要。分别以零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程对释药曲线(图 1)进行拟合,结果方程分别为 $Q = 3.9889t - 27.137 (R^2 = 0.7109)$, $\ln Q = 0.1327t - 2.4967 (R^2 = 0.3398)$, $Q = 24.972t^{1/2} - 3.7792 (R^2 = 0.9024)$,说明九分巴布剂的体外释放符合 Higuchi 方程。

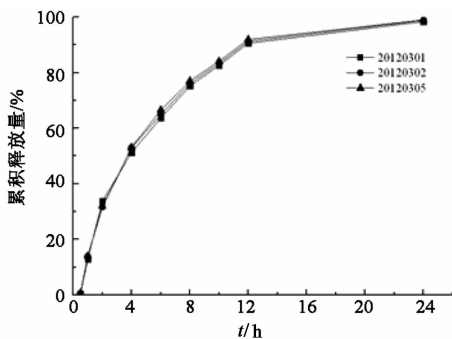


图 1 九分巴布剂的体外释放曲线

3 讨论

制备的九分巴布剂与原剂型相比,具有载药量大、可反复揭贴、无残留、无刺激性等优点。巴布剂基质中含有多种水溶性高分子化合物,通过分子间氢键形成交联网状结构,其作为巴布剂的骨架材料,以控制药物的释放。PANa 遇水易吸湿成团块难以溶散,溶于甘油中可提高其分散度,易于与其他基质材料混合。而 CMC-Na, Carbopol 及 PVA-124 搅拌时剪切速度不可太快,剪切力太强会使黏性降低。甘

油作为保湿剂则可锁住水分,避免巴布剂干燥过程中出现水分过度蒸发导致粘性降低、表面不平整等现象,确保巴布剂的质量。

均匀设计与正交设计“均匀分布,整齐可比”的特点不同,只考虑试验点在试验范围内的均匀散布,能用较少的试验点获得最多的信息,能有效处理多水平试验,减少试验次数^[10]。但均匀设计数据处理需要使用专业统计软件进行多元回归分析,使用的难度阻碍了其在试验设计中推广使用。但利用 Office 自带的 Excel 电子表格进行多元线性回归即可满足一般试验数据的处理需要,采用“工具-数据分析-回归”功能,输入相关数据区,根据回归系数及 t 检验,可舍弃系数较小的项,从而得到试验的多元回归方程^[11],再通过“工具-规划求解”功能求极值的方法可获得最佳配比^[12],特别适用于处方配比的相关研究,该方法简便可行,适于推广。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:348.
- [2] 王坤山. 推荐一个治痹良方“九分散”[J]. 河南中医, 1984,4(5):49.
- [3] 李淑平,王克美,张昌平. 九分散的抗炎镇痛作用研究[J]. 中成药,1988,10(8):24.
- [4] 吴华振. 中药巴布剂的研究进展[J]. 中药材,1999, 22(2):101.
- [5] 余敏,邵华静,杨素芝,等. 皮肤科外用制剂选编[M]. 北京:中国医药科技出版社,1991:214.
- [6] 林以宁,钱方. 复方黄柏抗炎止痛巴布剂的基质处方优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):56.
- [7] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社,1994,49.
- [8] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社,1997:119.
- [9] 潘金水,严国俊,周娟娟. 马钱子粉中土的宁和马钱子碱含量测定方法的研究[J]. 中国药学杂志,2010, 45(13):1024.
- [10] 曾昭均. 均匀设计及其应用[M]. 沈阳:辽宁人民出版社,1994:5.
- [11] 张一芳,耿焯. 用电子表格 Excel 进行均匀设计的数据处理[J]. 数理医药学杂志,2008,21(5):534.
- [12] 黄芳,黄子杰. 均匀设计及其在药学研究中的应用[J]. 数理医药学杂志,2007,20(5):612.

[责任编辑 全燕]