

正交试验优选延胡索乙素凝胶剂处方

徐剑*, 缪艳燕, 张永萍
(贵阳中医学院药学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的:优化延胡索乙素凝胶剂的处方配比。方法:选取卡波姆、氮酮、丙二醇、甘油的用量为考察因素,以 24 h 累积渗透量为指标,采用正交设计法优选延胡索乙素凝胶剂处方,考察凝胶的体外释药性能。结果:最佳处方为延胡索乙素 1%,卡波姆-940 0.5%,氮酮 3%,丙二醇 15%,甘油 10%。结论:该凝胶剂配方合理,制备工艺简单易行,体外渗透符合零级动力学方程。

[关键词] 延胡索乙素; 凝胶剂; 正交设计

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0031-03

Optimization of Prescription of Tetrahydropalmatine Gel by Orthogonal Design

XU Jian*, MIAO Yan-yan, ZHANG Yong-ping

(School of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize prescription ratio of tetrahydropalmatine gel. **Method:** With 24 h accumulative permeation amount as index, the amount of carbomer, azone, propylene glycol, glycerine was chosen as investigating factors, prescription of tetrahydropalmatine gel was optimized by orthogonal design, and to examine *in vitro* drug release property of this gel. **Result:** Optimum formulation contained 1% tetrahydropalmatine, 0.5% carbomer-940, 3% azone, 15% propylene glycol, 10% glycerol. **Conclusion:** This optimized formulation was reasonable, preparation technology was stable and simple, its *in vitro* penetration was in line with zero order kinetic equation.

[Key words] tetrahydropalmatine; gel; orthogonal design

延胡索乙素对中枢神经系统具有镇痛、镇静、催眠等作用,其镇痛作用比解热镇痛药强,尤其对持续性疼痛及钝痛的效果较好^[1]。目前以延胡索乙素为主药的剂型有注射液、片剂、胶囊剂、口服液剂等,凝胶剂为透明半固体,质地均匀细腻,展开后容易涂布,涂布在皮肤上能形成透明的薄膜,附着性强、释药快、滞留时间长、无气闷、油腻感、易洗除、不污染衣物、对皮肤和黏膜无刺激性,适合皮肤局部外用。本研究以 24 h 累积渗透量为指标,采用正交设计法

优选延胡索乙素凝胶剂处方,并对其体外透皮行为进行研究。

1 材料

515 型高效液相色谱仪(美国 Waters),TK-12B 型透皮扩散仪(上海铠凯科技有限公司),GZX-DH300BS II 型电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械厂),SK8210HP 型台式超声仪(上海科导),AE/240 型电子天平(上海梅特勒仪器有限公司)。

延胡索乙素对照品(康源植物药用研究所,批号 050301),卡波姆-940(上海精诚化工有限公司),甘油(天津市瑞金特化学有限公司),丙二醇(天津市富宇精细化工有限公司),氮酮(天津市科密欧化学试剂有限公司),三乙醇胺(成都五环高欣化学试剂厂),三乙胺(天津市大茂化学试剂厂),生理盐水(贵州科伦药业有限公司),甲醇为色谱纯。

[收稿日期] 20120606(017)

[基金项目] 贵州省中药现代化专项(黔科合中药字[2011]5082号)

[通讯作者] *徐剑,硕士,副教授,从事中药制剂研究, Tel: 0851-5652056, E-mail: twt8489@126.com

新西兰兔,购于贵阳中医学院动物实验中心,普通级,合格证号 20090013。

2 方法与结果

2.1 凝胶剂的制备^[2-4] 精密称取 0.5 g 卡波姆均匀撒于 20 mL 蒸馏水表面,稍作搅拌后使其自然溶胀过夜,得(I);称取甘油 8 g,丙二醇 10 g 不断搅拌下加入(I)中,得(II);精密称取延胡索乙素 1 g,水浴加热(80 ℃)使其溶于 30 mL 无水乙醇中,加入(II)中搅匀,得(III);在(III)中加入 1 g 氮酮搅匀,用适量三乙醇胺调 pH 6~7,加蒸馏水至 100 g,充分搅匀,静置脱气泡后装于避光容器中阴凉处贮存。

2.2 离体兔皮的制备^[5] 取体重约为 2 kg 的新西兰种白兔 1 只,用 5 mL 注射器于耳缘静脉注射入空气处死,用剪刀剪去腹部长毛,用剃刀剃去腹部绒毛,沿去毛皮肤边缘剪开,取下无损伤皮肤,仔细剥离皮下脂肪层,置于 0.1% 苯扎溴胺中浸泡 30 min,取出后用生理盐水反复冲洗干净,剪成适当大小,置于生理盐水中并密封,放入冰箱保存。

2.3 体外透皮试验 采用透皮扩散池装置,扩散池有效面积 2.92 cm²,接受池容积 7 mL,内置 10% 乙醇生理盐水为接受液及配套的磁力搅拌转子。将处理好的兔皮固定于透皮扩散池的上下两室之间,使角质层朝上,真皮一侧与接受液接触,排除气泡。分别精密称取延胡索乙素凝胶 1 g,均匀涂抹于皮肤的表面。将扩散池置于(37 ± 1) ℃ 的恒温水浴中,磁力搅拌速度为 100 r·min⁻¹,在此恒定条件下分别于规定时间点 1,2,4,6,8,12,16,24 h 取样,将接受液全部倾出,同时立即补充等量新鲜接受液^[6]。接受液经 0.45 μm 滤膜过滤进样 20 μL,记录峰面积,测定延胡索乙素含量。

2.4 延胡索乙素含量测定

2.4.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相 0.1% 凝酸(用三乙胺调至 pH 6)-甲醇(32:68),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 280 nm,柱温 25 ℃,进样量 20 μL。

2.4.2 线性关系的考察 精密称取延胡索乙素对照品,加甲醇溶解,配制成质量浓度为 0.34, 1.36, 2.38, 3.40, 4.42 mg·L⁻¹ 系列对照品溶液,取上述溶液 20 μL 进样,记录峰面积。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得标准曲线方程 $Y = 1.22 \times 10^4 C - 2.29 \times 10^3$ ($r = 0.9999$),结果表明延胡索乙素在 0.0068~0.0884 μg 呈良好线性关系。

2.4.3 精密密度试验 精密吸取同一对照品溶液 20

μL 进样测定,重复 5 次,结果峰面积的 RSD 1.4%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 20 μL,分别于 0,2,4,6,12 h 进样,记录峰面积,结果峰面积 RSD 0.97%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验 取同一批号样品,平行制备 6 份供试品溶液,分别进样 20 μL,记录峰面积,结果 RSD 1.6%,表明方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 精密量取已知含量的对照品溶液 1,3,5 mL 各 3 份,分别加入空白皮肤接收液至 10 mL,混匀,依法进行 HPLC 测定,高、中、低 3 种质量浓度的平均回收率分别为 102.31%, 101.99%, 98.23%, RSD 2.25%,表明该方法准确度高。

2.5 正交试验优选 采用正交设计试验,以卡波姆、氮酮、丙二醇、甘油的用量为考察因素,每个设计 3 个水平,以延胡索乙素 24 h 累积渗透量(Q_{24})为考察指标。按 L₉(3⁴) 正交表安排试验。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 延胡索乙素凝胶剂处方配比优选正交试验因素水平

水平	A 卡波姆 用量	B 氮酮 用量	C 丙二醇 用量	D 甘油 用量
1	0.5	1	10	8
2	1	3	15	10
3	3	5	20	12

表 2 延胡索乙素凝胶剂处方配比优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	$Q_{24}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
1	1	1	1	1	14.5454
2	1	2	2	2	27.3647
3	1	3	3	3	19.5820
4	2	1	2	3	18.9410
5	2	2	3	1	13.2875
6	2	3	1	2	15.7663
7	3	1	3	2	16.9867
8	3	2	1	3	13.4016
9	3	3	2	1	19.0035
K_1	61.49	50.47	43.71	46.84	
K_2	47.99	54.05	65.31	60.12	
K_3	49.39	54.35	49.86	51.92	
R	4.50	1.29	7.20	4.43	

方差分析时,因素 B 离差平方和最小,故选为误差项^[7-8],因素 A, C, D 对试验结果均无显著性,由

表3 处方配方方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	36.73	2	0.965	>0.05
C	82.55	2	2.168	>0.05
D	29.83	2	0.786	>0.05
B(误差)	3.11	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

表2可知,各因素对指标的影响大小依次为 $C > A > D > B$,确定各因素最佳组合为 $A_1B_3C_2D_2$,但考虑到 B_2, B_3 的 K 值十分接近,最终确定最佳处方为 $A_1B_2C_2D_2$,即卡波姆-940 为 0.5 g,氮酮 3 g,丙二醇 15 g,甘油 10 g。

2.6 验证试验 按优选的优化处方制备 3 批延胡索乙素凝胶,按 2.3 项下方法进行体外透皮试验操作,计算 3 批样品中延胡索乙素的累积渗透量,结果见表 4。

表4 延胡索乙素凝胶的累积渗透量(Q_t) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$

批号	Q_1	Q_2	Q_4	Q_6	Q_8	Q_{12}	Q_{16}	Q_{24}
123011	0	0	1.885	4.391	7.593	13.143	19.718	28.234
123012	0	0	1.952	4.810	7.937	13.456	20.221	28.488
123013	0	0	1.766	4.500	7.543	12.998	19.609	28.232

由表4结果可知,24 h 累积渗透量均大于正交设计试验,RSD 0.52%,3 批样品的经皮渗透重复性与每一批样品的经皮渗透均一性良好,说明经优选的处方工艺具有合理性。

2.7 释药模型拟合 将上述 3 批延胡索乙素凝胶样品进行数学模型拟合,结果见表 5,从拟合方程的相关系数可知,3 批样品均以零级动力学方程拟合相关性最好,说明该凝胶剂经皮渗透过程符合零级动力学方程。

表5 延胡索乙素凝胶释药模型拟合

样品批号	方程模型	线性方程	r
123011	零级动力学	$Q = -2.5187 + 1.3029t$	0.9964
	一级动力学	$\ln Q = 0.2016 + 0.1565t$	0.9327
	Higuchi	$Q = -11.438 + 7.5477t^{1/2}$	0.9711
123012	零级动力学	$Q = -2.4104 + 1.3171t$	0.9963
	一级动力学	$\ln Q = -0.2334 + 0.1562t$	0.9275
	Higuchi	$Q = -11.480 + 7.6491t^{1/2}$	0.9735
123013	零级动力学	$Q = -2.540 + 1.3009t$	0.9966
	一级动力学	$\ln Q = -0.1894 + 0.157t$	0.9321
	Higuchi	$Q = -11.435 + 7.5323t^{1/2}$	0.9708

3 讨论

在凝胶的制备过程中发现,卡波姆-940 含量为 0.5% 时凝胶流动性及透明度均较好,含量为 1% 时凝胶流动性、透明度均较差,含量为 2% 的凝胶为胶冻状,透明度极差。且由正交设计试验结果可知,随着卡波姆-940 用量的增加,凝胶层强度增大,药物透过凝胶层的扩散速度明显减慢,因此释药速率降低。因为药物从凝胶中释放以药物通过凝胶层的扩散为主要机制,随基质浓度的增加,其黏稠度增加,扩散系数减小,从而使释药缓慢。黏度过大,在皮肤上不易涂布均匀。说明凝胶基质浓度低,利于药物透过皮肤,同一种基质,随基质浓度降低,含药凝胶剂透皮吸收效果越好。

正交试验结果表明,在影响延胡索乙素凝胶经皮渗透的诸因素中,以增溶剂丙二醇影响最大。丙二醇在处方中主要起增溶作用,此外还有促透、防腐作用。含量 10% 的丙二醇组,累积渗透量小于其他两组,含量为 15%,20% 组累积渗透量明显增加,但差异无显著性,故最终确定其用量为 15%。

[参考文献]

- [1] 徐婷,金昔陆,曹惠明.延胡索乙素药理作用的研究进展[J].中国临床药学杂志,2001,10(1):58.
- [2] 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.
- [3] 于敏,邵伟军,严升平,等.正交设计法优选妇宁康凝胶剂的基质配方[J].中国微生态学杂志,2009,21(6):562.
- [4] 廖龔,蒋德锡,王沼丹,等.汉方抗痘凝胶制备工艺研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(5):32.
- [5] 杨芳芳,张永萍.罐疗提高盐酸川芎嗪透皮吸收的研究[J].时珍国医国药,2009,20(6):1396.
- [6] 何群,黄海兵,郭建生,等.颈瘤康贴膏剂体外释放、透皮试验研究[J].中成药,2008,30(2):197.
- [7] 杨人泽,钟美兴,严金玲.正交试验法稳定性选安神颗粒的醇提工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(19):43.
- [8] 弓宝,黄立标,冯锦东,等.正交实验法优化提取肉豆蔻挥发油的最佳工艺研究[J].时珍国医国药,2011,22(8):1958.

[责任编辑 仝燕]