

# 星点设计-效应面法优化阴道用儿黄散白及胶缓释双层膜的处方

王艳宏<sup>1</sup>, 杨柳<sup>1</sup>, 王超<sup>1</sup>, 关枫<sup>1</sup>, 韩凤娟<sup>2\*</sup>

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040;

2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的:以白及胶为主要成膜材料,将临床有效经验方——儿黄散研制开发成阴道用缓释双层膜剂。方法:以羟丙甲基纤维素(HPMC)和白及胶为黄连明矾药膜层的成膜材料,羧甲基纤维素钠(CMC-Na)和白及胶为儿茶药膜层的成膜材料,甘油为增塑剂,制备儿黄散白及胶缓释双层膜,以外观质量(浆液状态、成膜性、脱膜性、均匀性、黏连性、表面光滑度、柔软性)评分、黏附力和体外累积释放度为考察指标,采用星点设计-效应面法优化该膜剂的处方,并对最优处方进行验证。结果:儿茶药膜层最优处方组成为 CMC-Na 质量分数 1.61%,白及胶质量分数 3.81%,甘油用量 8.49%;黄连明矾药膜层最优处方组成为 HPMC 质量分数 1.15%,白及胶质量分数 3.41%,甘油体积分数 10.02%。结论:通过星点设计-效应面法优化的儿黄散白及胶缓释双层膜处方稳定可行,该制剂具有使用方便、药物滞留时间延长等特点,为中医药治疗宫颈癌提供一个可行的现代中药制剂,并为类似中药膜剂的研究积累实验数据。

**[关键词]** 儿黄散; 双层膜; 缓释制剂; 星点设计-效应面法; 黏附力; 体外释放度; 外观质量评分

**[中图分类号]** R22;R94;R28;C37;R736 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)04-0146-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182406

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180927.1137.012.html>

**[网络出版时间]** 2018-09-27 17:15

## Optimization of Formulation of Erhuangsan Bletillae Rhizoma Gelatin Sustained Release Double-layer Membrane by Central Composite Design-response Surface Methodology

WANG Yan-hong<sup>1</sup>, YANG Liu<sup>1</sup>, WANG Chao<sup>1</sup>, GUAN Feng<sup>1</sup>, HAN Feng-juan<sup>2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** With Bletillae Rhizoma gelatin as the main film-forming materials, Erhuangsan was developed into a sustained-release double-layer membrane for vagina. **Method:** Taking hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) and Bletillae Rhizoma gelatin as the film-forming materials of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane layer, sodium carboxymethyl cellulose (CMC-Na) and Bletillae Rhizoma gelatin as the film-forming materials of Catechu membrane layer, glycerol as plasticizer, Erhuangsan Bletillae Rhizoma gelatin sustained release double-layer membrane was prepared. Central composite design-response surface methodology was used to optimize formulation of this preparation with appearance quality score, adhesion force and *in vitro* cumulative release as indexes. **Result:** Optimum formulation of Catechu membrane layer was 1.61% of CMC-Na, 3.81% of Bletillae Rhizoma gelatin and 8.49% of glycerol; optimum formulation of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane

**[收稿日期]** 20180525(011)

**[基金项目]** 哈尔滨市应用技术与开发项目(2016RAXXJ047);黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(yjscx2017058)

**[第一作者]** 王艳宏,博士,教授,从事中药经皮给药和中药药性理论研究,Tel:0451-87266893,E-mail:wang.yanhong@163.com

**[通信作者]** \*韩凤娟,博士,教授,从事中西医结合治疗妇科肿瘤研究,Tel:0451-82119168,E-mail:hanfengjuan2004@163.com

layer was 1.15% of HPMC, 3.41% of Bletillae Rhizoma gelatin and 10.02% of glycerol. **Conclusion:** The optimized formulation is stable and feasible. Erhuangsan Bletillae Rhizoma gelatin sustained release double-layer membrane has characteristics of advanced dosage form and convenient use, providing a feasible modern Chinese medicine preparation for treatment of cervical cancer, and accumulating data for the research of Chinese medicine film agent.

[ **Key words** ] Erhuangsan; double-layer membrane; sustained-release preparation; central composite design-response surface methodology; adhesion force; *in vitro* release; appearance quality score

宫颈癌是常见妇科恶性肿瘤之一,其发病率、死亡率均居中国女性肿瘤第 8 位,妇科肿瘤第 3 位,且逐年呈上升趋势<sup>[1]</sup>。宫颈癌从癌前病变期[宫颈上皮内瘤样病变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)]演变至癌症晚期(浸润癌)是一个较为漫长且可逆转的时期。因此,探索治疗宫颈癌前病变有效而无毒副作用的制剂已成为研究的焦点。目前,西医对 CIN 的转归尚无理想方法。

儿黄散是由儿茶、黄连、明矾、白及组成,是国家第二批带高徒著名老中医、黑龙江省著名中医王秀霞教授在长期临床实践中总结出的可有效治疗 CIN 的阴道用散剂,但散剂在临床使用上有给药不便、释药难控制等缺点<sup>[2-8]</sup>。膜剂具有给药面积大、与黏膜接触性好、制备工艺简单等优点。由于儿茶与明矾、黄连提取物混合均易发生沉淀,进而影响制剂的成型性;方中白及的主要有效成分为白及胶,白及胶是一种极具发展前景的生物材料,具有抗菌消炎、祛腐生肌、降低所载药物毒性、抗肿瘤等作用,以白及胶作为一种成膜基质,不仅能发挥其在处方中的药理作用,还能作为一种无毒、生物相容性好的载药基质,不仅具有显著的生物活性(尤其在宫颈癌的治疗方面),还具有卓越的辅料功能性和良好的生物相容性<sup>[9-10]</sup>。本实验拟将儿黄散研制开发成阴道用白及胶缓释双层膜剂(明矾、黄连为一层,儿茶单独为一层),以期望为临床宫颈癌的治疗提供一种有效的治疗药物,并为中药膜剂及外用制剂的研究积累数据。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BT25S 型分析天平(德国 Sartorius 公司), AB265-S 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), T-8 型透皮吸收试验仪(天津市正通科技有限公司)。儿茶、白及、黄连、明矾药材均购自哈药集团世一堂中药饮片有限责任公司,经黑龙江中医药大学孙慧峰教授鉴定,分别为豆科植物儿茶 *Acacia catechu* 的去皮枝、干的干燥煎膏,兰科植物白及 *Bletilla striata* 的干燥

块茎,毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根茎,硫酸盐类矿物明矾石 *Alunite* 经加工提炼制成,主要十二含水硫酸铝钾  $[KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O]$ ;羧甲基纤维素钠(CMC-Na),羟丙基甲基纤维素(HPMC)和甘油(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 20140520,20171206,20150806),盐酸小檗碱和儿茶素对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110713-200911,110877-201102,纯度均  $\geq 98\%$ ),透析袋(截留相对分子质量 8~12 kDa,美国光谱医学公司),甲醇和乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 儿黄散成型前处理** 称取处方量黄连、白及、儿茶、明矾。黄连加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h,合并滤液并旋转蒸发至黏稠膏状,真空干燥,得黄连总生物碱粉末(平行提取黄连粗粉 3 次,每份 20 g,得总生物碱质量平均值 4.1 g,计算平均得率 20.5%);儿茶及明矾分别粉碎过 120 目筛,得 2 种药粉<sup>[11]</sup>;白及加水提取,提取液经活性炭脱色,Sevag 法脱蛋白,醇沉,静置,离心后将沉淀物真空干燥,得白及胶<sup>[12]</sup>(平行提取白及粗粉 3 次,每份 10 g,得多糖质量平均值 2.0 g,计算平均得率 20%)。

**2.2 外观质量评价** 外观质量总分为各项具体分数乘以权重相加而得,总分越高越好。具体评分标准见表 1。

**2.3 黏附力** 图 1 为自制黏附力测定装置。a, b 板上均固定有面积为 2.0 cm × 2.0 cm 的新鲜大鼠腹腔黏膜组织。将供试膜置于 a 板的黏膜上,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸润湿药膜,迅速压上薄板 b 并用砝码施压 5 min,用装置 B 向 C 中匀速滴水,至 a 和 b 完全脱离。称取薄板、挂钩以及 C 中水的总质量(*m*),黏附力 =  $m \times g$  ( $g = 9.8 \text{ N} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。分别测量各个实验组的黏附力 3 次,取平均值作为最终结果<sup>[13]</sup>。

## 2.4 体外累积释放量

**2.4.1 体外累积释放度的测定** 儿茶中主要代表

表 1 儿黄散白及胶缓释双层膜的外观质量评分标准

Table 1 Appearance quality grading standards of Erhuangsan Bletillae Rhizoma gelatin sustained release double-layer membrane

外观质量	权重 /%	分数评定
浆液状态	10	极不易铺展 1 分, 不易铺展 2 分, 较易铺展 3 分
成模性	15	差 1 分, 一般 2 分, 良好 3 分
脱模性	10	不能脱模 1 分, 能脱模 2 分, 易脱模 3 分
均匀性	20	差 1 分, 一般 2 分, 良好 3 分
黏连性	20	极易黏连 1 分, 黏连 2 分, 不黏连 3 分
表面光滑度	10	粗糙 1 分, 不光滑 2 分, 光滑平整 3 分
柔软性	15	柔软并有油迹 1 分, 较柔软 2 分, 柔软 3 分

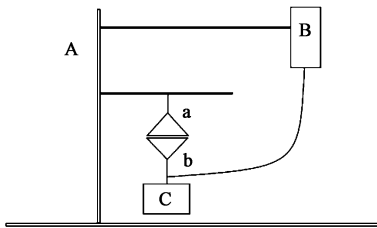


图 1 自制黏附力测定装置的示意

Fig. 1 Schematic diagram of self-made adhesion measurement device

性成分为儿茶素,小檗碱是黄连的主要化学成分。儿茶素具有抑制癌细胞的作用,对于防治癌症具有良好效果<sup>[14-15]</sup>;小檗碱在体外对宫颈癌细胞具有生长抑制以及诱导凋亡的作用<sup>[16]</sup>;故选择儿茶药膜层以儿茶素为指标成分,黄连明矾药膜层以小檗碱为指标成分。使用改良的 Franz 扩散池作为释药装置,以 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸 5 mL 为接受液,透析袋为透过膜,转速 400 r·min<sup>-1</sup> 为释放条件,有效扩散面积 0.64 cm<sup>2</sup>,温度 (37 ± 0.5) °C,分别以 2, 4, 8 h 时儿茶素及小檗碱的累积释放度 (Q) 为评价指标<sup>[17-22]</sup>,分别对不同处方的上述 3 个时间点的累积释放度进行评分,将分数进行加权相加后得到总分。

$$Q = [C_n \times 5 + \sum_{i=1}^{n-1} (C_i \times 2) \times 100\%] / M$$

式中 n 表示各个取样时间点, i 表示第 i 个取样点, C<sub>n</sub> 为各取样时间点测得的药物质量浓度, C<sub>i</sub> 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度, M 为测试药膜中儿茶素或者小檗碱的质量, 2, 4, 8 h 的累积释放度分别以 40%, 65%, 85% 为标准, 且权重均为 1, 总分计算公式为 Y<sub>i</sub> = |Q<sub>2h</sub> - 40%| + |Q<sub>4h</sub> - 65%| + |Q<sub>8h</sub> - 85%|, 其 Q<sub>t</sub> 为 t 时间的累积释放度, Y<sub>i</sub> 表示

体外累积释放度评分, 该评分越小越好。

**2.4.2 盐酸小檗碱的 HPLC 测定** 色谱条件为 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 345 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 流动相乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钠溶液 (每 100 mL 中加入十二烷基硫酸钠 0.4 g, 用磷酸调 pH 4.0) (45:55)<sup>[11,17]</sup>。用盐酸-甲醇 (1:100) 混合液制成盐酸小檗碱质量浓度分别为 30.12, 60.24, 90.36, 120.48, 150.6 mg·L<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液, 精密吸取系列对照品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程 Y = 33 732X - 156 253 (R<sup>2</sup> = 0.999 6), 线性范围 30.12 ~ 150.6 mg·L<sup>-1</sup>, 盐酸小檗碱的精密度, 重复性, 24 h 稳定性, 加样回收率的 RSD 分别为 0.7%, 0.8%, 0.6%, 1.8%。

**2.4.3 儿茶素的 HPLC 测定** 色谱条件为 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 35 °C, 流动相水 (A)-甲醇 (B)<sup>[11]</sup> 梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 20% ~ 60% A)<sup>[18-19]</sup>。用 50% 甲醇制备含儿茶素 20.1, 40.2, 60.3, 80.4, 100.85 mg·L<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液, 精密吸取系列对照品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得儿茶素回归方程 Y = 24 546X + 6 129.6 (R<sup>2</sup> = 0.999 8), 线性范围 20.1 ~ 100.5 mg·L<sup>-1</sup>, 儿茶素的精密度, 重复性, 24 h 稳定性, 加样回收率的 RSD 分别为 0.7%, 0.6%, 0.6%, 1.2%。

## 2.5 黄连明矾药膜层的处方优化<sup>[23-24]</sup>

**2.5.1 黄连明矾药膜层的制备** 取白及胶和 HPMC, 根据铸膜所需的膜材浓度加入水中溶胀, 再加入处方量的甘油及黄连、明矾细粉搅拌均匀 (使黄连总生物碱、明矾、儿茶在膜剂中药物质量保持 1:1:1, 但又不能使膜剂过载, 选择黄连总生物碱与明矾的加入量均为成膜材料用量的 25%), 共制备 50 mL, 置 50 °C 水浴保温, 得药物基质胶浆; 采用匀浆流延成膜法制成药膜, 采用液体石蜡作为脱模剂, 50 °C 烘干, 启膜。

**2.5.2 星点设计** 预试验发现当固定黄连总生物碱与明矾细粉加入量分别为成膜材料使用量的 25% 时, HPMC 和白及胶的质量分数、甘油体积分数对黄连明矾药膜层成膜性、外观质量及成膜性有显著影响。故以上述影响因素为基础设计试验, 试验安排及结果见表 2。

表 2 黄连明矾药膜层处方优化的星点试验分析

Table 2 Central composite test analysis of formulation of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane layer

No.	$X_1$ HPMC 质量分数 /%	$X_2$ 白及 胶质量 分数/%	$X_3$ 甘油 体积分数 /%	外观质量 评分( $Y_1$ ) /分	体外累积 释放度 评分 ( $Y_2$ )/分	黏附力 ( $Y_3$ ) /g
1	0.70	2.00	7.00	2.30	14.42	46.54
2	1.50	2.00	7.00	1.90	28.76	57.16
3	0.70	4.00	7.00	2.85	36.27	54.12
4	1.50	4.00	7.00	2.50	16.10	76.19
5	0.70	2.00	13.00	2.55	27.63	47.71
6	1.50	2.00	13.00	2.05	28.77	56.78
7	0.70	4.00	13.00	2.55	17.07	53.34
8	1.50	4.00	13.00	2.50	19.05	80.28
9	0.43	3.00	10.00	2.10	20.08	63.24
10	1.77	3.00	10.00	1.90	38.47	80.12
11	1.10	1.32	10.00	2.20	20.29	43.18
12	1.10	4.68	10.00	2.40	36.75	86.24
13	1.10	3.00	4.95	2.40	28.15	67.18
14	1.10	3.00	15.05	2.25	31.89	66.87
15	1.10	3.00	10.00	2.90	4.53	72.29
16	1.10	3.00	10.00	2.90	4.51	72.30
17	1.10	3.00	10.00	2.90	4.51	72.31
18	1.10	3.00	10.00	2.90	4.54	72.28
19	1.10	3.00	10.00	2.90	4.53	72.30
20	1.10	3.00	10.00	2.90	4.52	72.31

**2.5.3 效应面法优化** 通过 SAS 9.1 软件建立球面设计二次回归模型,得回归方程分别为  $Y_1 = -2.507 + 2.721X_1 + 1.239X_2 + 0.403X_3 + 0.156X_1X_2 + 0.021X_1X_3 - 0.029X_2X_3 - 1.681X_1^2 - 0.163X_2^2 - 0.017X_3^2$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.7279$ ),  $Y_2 = 133.607 - 71.841X_1 - 16.639X_2 - 13.888X_3 - 10.522X_1X_2 + 0.932X_1X_3 - 1.228X_2X_3 + 45.113X_1^2 + 6.951X_2^2 + 0.831X_3^2$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.7945$ ),  $Y_3 = -35.067 + 14.547X_1 + 25.137X_2 + 7.529X_3 + 9.163X_1X_2 + 0.346X_1X_3 + 0.105X_2X_3 - 12.600X_1^2 - 4.480X_2^2 - 0.407X_3^2$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.8626$ )。采用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制各评价指标与自变量的三维曲面图,见图 2~4。综合分析,得最优处方为 HPMC 质量分数 1.15%,白及胶质量分数 3.41%,甘油体积分数 10.02%。

**2.6 儿茶药膜层的处方优化**

**2.6.1 儿茶药膜层的制备** 根据 2.5.1 方法将膜

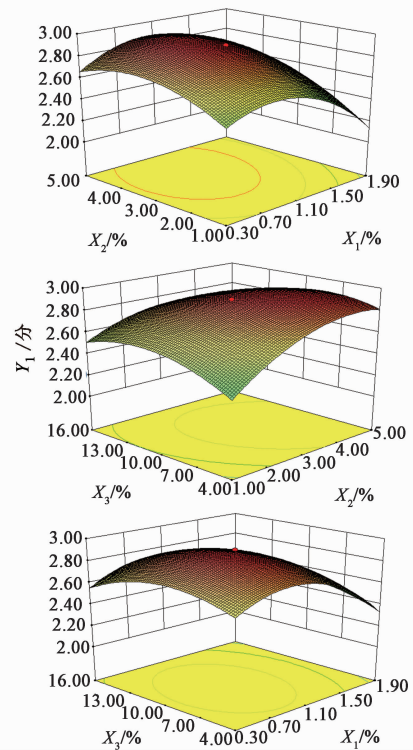


图 2 各自变量对黄连明矾药膜层外观质量评分影响的三维曲面  
Fig. 2 Three-dimensional surfaces of effect of each independent variable on appearance quality score of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane layer

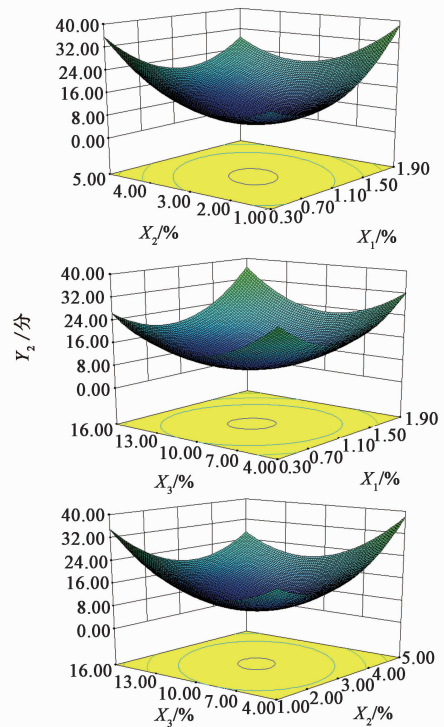


图 3 各自变量对黄连明矾药膜层体外累积释放度评分影响的三维曲面  
Fig. 3 Three-dimensional surfaces of effect of each independent variable on *in vitro* cumulative release score of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane layer

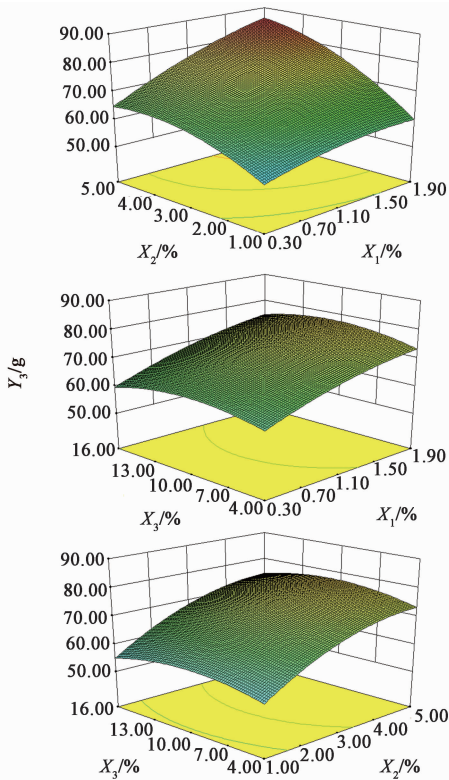


图 4 各自变量对黄连明矾药膜层黏附力影响的三维曲面  
Fig. 4 Three-dimensional surfaces of effect of each independent variable on Adhesion force of Coptidis Rhizoma-Alumen membrane layer

材换为白及胶和 CMC-Na, 主药换为儿茶细粉(加入量为成膜材料用量的 1/4)即可制得儿茶药膜层。

**2.6.2 星点设计** 根据预试验考察结果可知,当固定儿茶细粉加入量为成膜材料使用量的 25% 时, CMC-Na 和白及胶的质量分数以及甘油体积分数对儿茶药膜层的成膜性、外观质量及黏附力有显著影响,试验安排及结果见表 3。

**2.6.3 效应面法优化** 通过 SAS 9.1 软件建立球面设计二次回归模型,得回归方程分别为  $R_1 = -6.107 + 3.455A + 2.678B + 0.462C - 0.275AB + 0.058AC - 0.063BC - 1.040A^2 - 0.244B^2 - 0.021C^2$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.8350$ ),  $R_2 = 341.662 - 205.779A - 55.824B - 18.995C + 2.723AB + 0.381AC - 0.054BC + 63.899A^2 + 8.787B^2 + 0.904C^2$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.5188$ ),  $R_3 = 6.308 + 27.288A + 18.197B - 1.234C$  ( $P < 0.05, R^2 = 0.6236$ ),采用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制各因变量与自变量的三维曲面图,见图 5~6。综合分析,得儿茶药膜层最优处方为 CMC-Na 质量分数 1.61%,白及胶质量分数 3.81%,甘油用量 8.49%。

表 3 儿茶药膜层处方优选的星点试验分析

Table 3 Central composite test analysis of formulation of Catechu membrane layer

No.	A CMC-Na 质量分数 /%	B 白及胶质量分数 /%	C 甘油 体积分数 /%	外观质量 评分( $R_1$ ) /分	体外累积 释放度评分 ( $R_2$ )/分	黏附力 ( $R_3$ ) /g
1	1.00	2.00	7.00	2.30	26.81	64.03
2	2.00	2.00	7.00	2.30	17.32	72.87
3	1.00	4.00	7.00	3.00	22.31	86.67
4	2.00	4.00	7.00	2.75	32.62	99.26
5	1.00	2.00	13.00	1.75	15.82	68.37
6	2.00	2.00	13.00	2.40	22.97	64.89
7	1.00	4.00	13.00	2.00	25.03	81.10
8	2.00	4.00	13.00	1.80	23.27	98.46
9	0.66	3.00	10.00	1.90	77.43	59.78
10	2.34	3.00	10.00	2.16	65.18	149.58
11	1.50	1.32	10.00	1.60	55.21	58.21
12	1.50	4.68	10.00	2.55	46.74	149.29
13	1.50	3.00	4.95	2.20	51.72	105.32
14	1.50	3.00	15.05	2.25	46.55	81.21
15	1.50	3.00	10.00	2.90	3.98	91.79
16	1.50	3.00	10.00	2.90	4.00	91.82
17	1.50	3.00	10.00	2.90	3.96	91.80
18	1.50	3.00	10.00	2.90	3.98	91.77
19	1.50	3.00	10.00	2.90	3.99	91.79
20	1.50	3.00	10.00	2.90	3.98	91.79

**2.6.4 儿黄散白及胶缓释双层膜优化处方的验证** 分别称取黄连总生物碱、儿茶细粉和明矾细粉 0.5 g,按最优处方制备黄连明矾含药胶浆和儿茶含药胶浆各 50 mL,采用匀浆流延成膜法制药膜,结果黄连明矾药膜层的外观质量评分、体外累积释放度评分、黏附力的平均值分别为 3.00 分,6.83 分,76.94 g( $n = 3$ );儿茶药膜层的外观质量评分、体外累积释放度评分、黏附力的平均值分别为 3.00 分,14.97 分,108.95 g( $n = 3$ );说明优选的处方组成稳定可行。

### 3 讨论

阴道用膜剂可以充分覆盖在黏膜上,可与黏膜紧密黏附,并且具有给药面积大、释药持续稳定等优点,故考虑将儿黄散开发制作成阴道用膜剂<sup>[25-26]</sup>。但儿黄散处方中黄连提取物会与儿茶的酚酸类发生配伍变化生成沉淀,儿茶与明矾混合配伍后容易在成膜材料的浆液中产生沉淀,故将明矾药粉与黄连提取物混合作为一层药膜,儿茶药粉单独成为一层药膜而制成缓释双层膜。

在本实验室环境温度较低时,按 2015 年版《中国药典》(一部)收录的黄连项下 HPLC 色谱条件

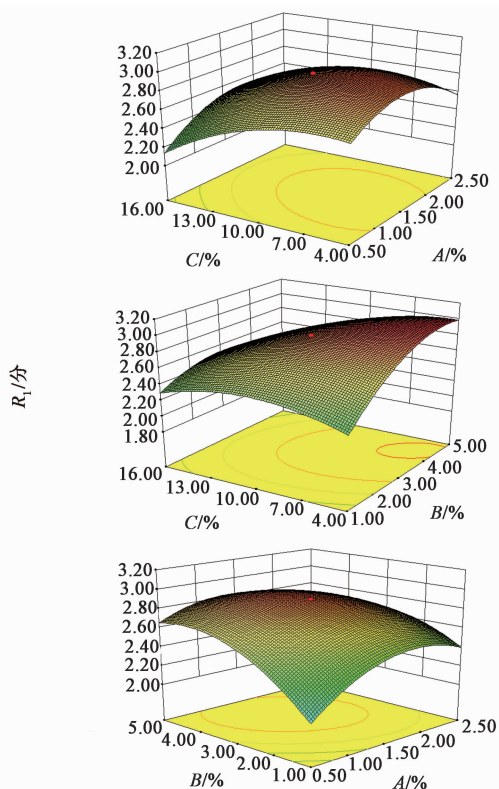


图 5 各自变量对儿茶药膜层外观质量评分影响三维曲面  
Fig. 5 Three-dimensional surfaces of effect of each independent variable on appearance quality score of Catechu membrane layer

进行实验会出现流动相浑浊问题,因为十二烷基硫酸钠与磷酸二氢钾的钾盐在本实验室环境温度较低时,易生成难溶的十二烷基硫酸钾,使缓冲盐流动相为白色浑浊状态,无法进行分析<sup>[26-27]</sup>。本文基于 2015 年版《中国药典》收录的黄连项下色谱条件基础上,将磷酸二氢钾换成磷酸二氢钠,更换为磷酸二氢钠后无此现象且分离效果较好。

2015 年版《中国药典》中并未给出关于阴道膜剂具体的释放度测定方法,但治疗宫颈癌的膜剂是透过病灶处的黏膜作用于病灶处,从而发挥局部作用,并且阴道不是被水完全包围的环境,考虑到药物基质的性质和实际的用药环境,最终采用 Franz 扩散池法测定释放度<sup>[28-29]</sup>。此方法较好地模拟了阴道内黏膜的吸收过程,并且可防止膜剂过度水化而出现快速释药现象,此方法在研究本膜剂释药环境中具有一定的可行性。

白及胶不仅在宫颈癌的治疗方面生物活性显著,其还能作为一种无毒、生物相容性好的载药基质,起到了药辅双效的效果;但以白及胶单一基质作为成膜材料时,发现其成膜效果不佳,故利用单因素试验筛选出了与白及胶混合使用的成膜材料;通过

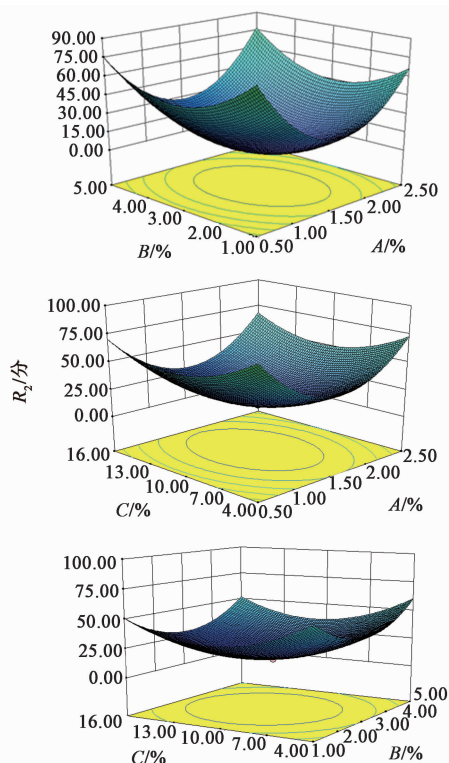


图 6 各自变量对儿茶药膜层体外累积释放度评分影响三维曲面  
Fig. 6 Three-dimensional surfaces of effect of each independent variable on *in vitro* cumulative release score of Catechu membrane layer

考察不同成膜材料以及不同材料型号对药膜的浆液状态、成膜性、脱膜性等的影响,儿茶药膜层首先采用聚乙烯醇(PVA)17-88,HPMC 及 CMC-Na 分别与白及胶混合,对上述指标进行考察发现 CMC-Na 表现良好,然后对其型号进行考察,最终确定选择白及胶和 CMC-Na 的 FM 型号为成膜材料;黄连明矾药膜层也是用 PVA17-88,HPMC 及 CMC-Na 进行筛选,最终确定选择白及胶和 HPMC 的 100 mPa·s 型号为成膜材料。所选择使用的成膜材料白及胶,HPMC 及 CMC-Na 均有生物黏附性特质,阴道黏附性制剂可以延长制剂在给药部位的滞留时间,减少药物泄露及给药次数,提高患者顺应性及生物利用度<sup>[30]</sup>。说明膜剂的生物黏附力也应作为处方筛选的考察指标之一。

[参考文献]

[1] CHEN W Q, ZHENG R S, Baade P D, et al. Cancer statistics in China[J]. CA-Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.  
[2] 谭展望. 儿黄散对宫颈上皮内瘤变逆转机理的实验研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2006.  
[3] 韩凤娟, 陈惠铮, 姜醒, 等. 儿黄散对宫颈上皮内瘤变

- 小鼠宫颈组织 PCNA、EGFR 和 bcl-2 表达的影响[J]. 山东中医杂志, 2006, 25(12): 835-837.
- [4] 王建英. 儿黄散对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡影响的实验研究及对 CIN 的临床观察[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009.
- [5] 陈海丽. 儿黄散治疗 CIN 临床观察及其诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡机制实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [6] 马宁, 韩凤娟, 郭蕊, 等. 儿黄散促进宫颈柱状上皮异位物理治疗后创面修复的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(12): 1601-1603.
- [7] 陈海丽, 韩凤娟, 宫艳秋, 等. 中药复方儿黄散对宫颈癌 HeLa 细胞增殖抑制及 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(11): 2102-2104.
- [8] 宋璟璐. 儿黄散治疗宫颈柱状上皮异位合并 HPV 感染 LEEP 术后的临床研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2013.
- [9] 赵永伟, 王艳宏. 白及多糖的研究进展[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(4): 479-481.
- [10] 侯绪浩, 刘学蔚, 彭凤梅, 等. 天然药物材料白及胶制备生物支架材料的实验研究[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2230-2233.
- [11] 崔殿波, 赵永伟, 姜继宗, 等. 儿黄散缓释双层栓的体外释药特性研究[J]. 中成药, 2014, 36(8): 1619-1625.
- [12] 刘莉, 李泳怡, 潘育方. 荔枝核多糖脱蛋白工艺考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 52-55.
- [13] 李晓强, 何荣霞, 秦龙, 等. 复方苦参碱阴道生物黏附性栓的制备及质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 36(8): 1619-1625.
- [14] Arts I C W, Hollman P C H, Feskens E J M, et al. Catech in intake and associated dietary and lifestyle factors in a representative sample of Dutch men and women[J]. Eur J Clin Nutr, 2001, 55(2): 76-81.
- [15] 谭晓华, 周殿元, 张亚历. 神经酰胺在儿茶素诱导 LoVo 细胞凋亡中的作用[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(8): 517-520.
- [16] 狄晓鸿, 高英敏, 郭红云. 黄连素对人宫颈癌 HeLa 细胞株的体外作用研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(1): 30-32.
- [17] 张瑶, 郑欢, 曹风光, 等. 治疗宫颈癌儿黄散温敏凝胶的制备与质量控制[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2013, 29(2): 148-152.
- [18] 李锐, 陈国彪. 儿茶 HPLC 指纹图谱研究[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(4): 388-391.
- [19] 曲园, 张振秋, 张杰, 等. HPLC 法同时测定儿茶青黛复合膜中 4 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(10): 1698-1701.
- [20] 邢树礼, 徐燕平, 孙迎东, 等. 复方阿昔洛韦双层缓释膜剂的制备及质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(18): 1068-1071.
- [21] 崔日新, 张蜀, 邓红, 等. 盐酸利多卡因缓释膜的体外释放度测定[J]. 广东药学院学报, 2015, 31(6): 701-704.
- [22] 金玲, 王锦玉, 仝燕, 等. 五倍子提取物喷雾膜剂体外释放评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 27-29.
- [23] 周昌妮, 冯青云, 徐如冰, 等. 星点设计-效应面法优化复方葛黄微孔渗透泵片的处方组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 20-24.
- [24] 王双双, 刘睿, 何新. 星点设计-效应面法优化桔梗泡腾片的处方[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(12): 23-27.
- [25] 彭芬芬, 黄开合, 杜士明. 妇科膜剂的研究概况[J]. 中国药师, 2013, 16(12): 1921-1923.
- [26] 刘芳, 张浩, 青琳森. 黄连 HPLC 数字化指纹图谱研究及 7 种生物碱含量测定[J]. 中国中药杂志, 2013, 21(12): 3713-3719.
- [27] 陈芳, 邓雁如, 许妍妍, 等. 双波长 HPLC 同时测定黄连及金芪降糖片中 6 种生物碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 60-65.
- [28] 洪军辉, 乡世健, 曹思玮, 等. 甘草总黄酮微海绵的制备及体外释放度评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 12-18.
- [29] 谢兴亮, 杨明, 邱雪兰, 等. pH-时滞型愈肠宁结肠靶向片的制备及体外释放评价[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(13): 1280-1284.
- [30] 陈两绵, 王锦玉, 仝燕, 等. 黏膜给药原位凝胶的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(8): 76-80.

[责任编辑: 刘德文]