

- potential of quercetin as a cardiovascular agent [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155: 889-904.
- [20] XU Y C, LEUNG S W, LEUNG G P, et al. Kaempferol enhances endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery through activation of large-conductance $Ca(2+)$ -activated $K(+)$ channels[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(12): 3003-3014
- [21] LI W, CHEN Z, YAN M, et al. The protective role of isorhamnetin on human brain microvascular endothelial cells from cytotoxicity induced by methylglyoxal and oxygen-glucose deprivation [J]. *J Neurochem*, 2016, 136(3): 651-659.
- [22] WONG H S, CHEN N, LEONG P K, et al. β -Sitosterol enhances cellular glutathione redox cycling by reactive oxygen species generated from mitochondrial respiration: protection against oxidant injury in H9c2 cells and rat hearts [J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 999-1006.
- [23] GENTILE D, FORNAI M, PELLEGRINI C, et al. Luteolin prevents cardiometabolic alterations and vascular dysfunction in mice with HFD-induced obesity [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1094.
- [24] NAIC, XUAN H, ZHANG Y, et al. Luteolin exerts cardioprotective effects through improving sarcoplasmic reticulum $Ca(2+)$ -ATPase activity in rats during ischemia/reperfusion in vivo [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 365854.
- [25] DUNN J, SIMMONS R, THABET S, et al. The role of epigenetics in the endothelial cell shear stress response and atherosclerosis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 67: 167-176.
- [26] SIASOS G, SARA J D, ZAROMYTIDOU M, et al. Local low shear stress and endothelial dysfunction in patients with nonobstructive coronary atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(19): 2092-2102.
- [27] JIA C, CHEN H, ZHANG J, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67: 311-318.
- [28] LEBLOND F, POIRIER S, YU C, et al. The anti-hypercholesterolemic effect of low p53 expression protects vascular endothelial function in mice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92394.
- [29] JAIN T, NIKOLOPOULOU E A, XU Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 183: 22-33.

【责任编辑：侯丽颖】

温通减肚水凝胶贴的制备及质量评价

张琦¹, 王美君¹, 何喆², 陈浩³

(1. 江西中医药大学基础医学实验中心, 江西南昌 330004; 2. 江西中医药大学科技学院, 江西南昌 330004; 3. 江西中医药大学附属医院, 江西南昌 330004)

摘要:【目的】优化温通减肚水凝胶贴基质处方的配比和制备, 并进行质量评价。【方法】以温通减肚水凝胶贴产品的外观性状、初黏力、内聚力和剥离强度为质量评价的主要指标, 采用 Plackett-Burman 设计联合 Box-Behnken 响应面法, 优化辅料配比, 采用正交试验设计测试最佳载药量及增黏剂含量, 优化制备工艺, 并以 C-松油烯、苜烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯为评价指标, 用改良 Franz 扩散池法, 考察不同质量分数促渗剂氮酮对温通减肚水凝胶贴体外透皮渗透量的影响。【结果】筛选出温通减肚水凝胶贴的基质辅料最优处方为: 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)120.50.78 g、酒石酸 20.75 g、羧甲基纤维素钠(CMC) 3.28 g。3%氮酮对指标成分促渗效果良好。【结论】温通减肚水凝胶贴制备符合相关质量要求, 具有良好的稳定性和释药性。

关键词: 温通减肚水凝胶贴; 肥胖; Plackett-Burman; Box-Behnken; 制备工艺; 氮酮; C-松油烯

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)01-0158-09

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.01.028

收稿日期: 2020-05-11

作者简介: 张琦(1984-), 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师; E-mail: 349750167@qq.com

通讯作者: 陈浩, 男, 副主任药师, 硕士研究生导师; E-mail: 651138086@qq.com

基金项目: 江西省卫健委中医药科研课题(编号: 2018B142); 江西省卫健委科技计划项目(编号: 20195327); 江西省2020年度研究生创新专项资金项目(编号: YC2020-S380)

Preparation and Quality Evaluation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

ZHANG Qi¹, WANG Mei-Jun¹, HE Zhe², CHEN Hao³

(1. Experiment Center of Foundation Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China;

2. College of Science and Technology, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China;

3. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: Objective To optimize the formulation and preparation of the matrix prescription of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch and to evaluate its quality. **Methods** Taking the appearance, initial adhesion, cohesion and peel strength of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch product as the main indexes of quality evaluation, Plackett-Burman design combined with Box-Behnken design response surface methodology was used to optimize the ratio of excipients, and orthogonal design was used to test the best drug loading and the content of tackifier for optimizing the preparation process. Taking C-terpinene, carmine, eucalyptus oil and dextralimonene as evaluation indexes, the effect of different mass fraction enhancer Azone on skin penetration of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch was investigated by modified Franz diffusion tank. **Results** The optimal formulation of matrix adjuvant for *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch was polyvinylpyrrolidone(PVPP) 50.78 g, tartaric acid 20.75 g and sodium carboxymethylcellulose (CMC) 3.28 g. Azone of 3% has a good effect on infiltration of the target components. **Conclusion** The preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch is in accordance with the related quality requirements, and has good stability and drug release.

Keywords: *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch; obesity; Plackett-Burman; Box-Behnken; preparation process; azone; C-terpinene

腹型肥胖作为一种慢性低度炎症, 可非特异性激活免疫系统, 引发许多慢性疾病包括高血压、II型糖尿病等, 影响患者的身心健康^[1-2]。目前, 现代医学治疗腹型肥胖主要集中在胃肠道脂酶抑制药(奥利司他)、胰腺激素及其他影响血糖药(如二甲双胍)、食欲抑制药(如西布曲明)、作用于新靶点的减肥药(如瘦素)、外科手术治疗、基因治疗等方面, 但治疗存在价格昂贵、治疗靶向单一、不良反应较大、新靶点的口服药较少等缺点。因此, 从中草药中优选出无刺激性而有效的中药配方, 已成为开发减肚降脂药物的主要途径。

中药水凝胶贴剂是由传统中药提取物与适宜的凝胶基质混合后涂布于背衬材料上制备而成的一种中药新型外用给药系统。温通减肚水凝胶贴是以水溶性高分子材料为主要成分的交联聚合物, 其高浓度载药量, 药效稳定持久以及辅料基质与药物可调可控, 非常适宜中药多组方、大剂量的给药特点^[3]。而温通减肚水凝胶贴的中药组合物由火麻仁、厚朴、枳实、决明子、芦荟、荷叶等23味中药组成, 方中含有大量挥发油类成分, 将其贴于脂肪堆积的腹部, 经皮扩散, 可温经理

气, 畅达经络, 通彻表里上下, 达活血化瘀、润肠通便之效, 从而改善患者体内的新陈代谢, 加快腹部脂肪的分解, 可用于治疗脾虚、痰湿、气滞所致的单纯性肥胖^[4]。

本实验采用 Plackett-Burman 设计, 优选出对贴剂性能影响显著的基质辅料, 再应用 Box-Behnken 响应曲面设计法对辅料配方进行优化。以黏接力性能和外观评分为质量评价指标, 对温通减肚水凝胶贴进行质量评价, 并通过对比 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯等成分的含量, 对水凝胶贴进行体外透皮研究, 现将研究结果报道如下。

1 材料

1.1 药物与试剂 火麻仁(批号: 181202)、厚朴(批号: 180514)、枳实(批号: 180123)、决明子(批号: 181211)、芦荟(鲜)、荷叶(批号: 181219)、紫草(批号: 180617)、细辛(批号: 180519)、艾绒(批号: 181109)、干姜(批号: 181006), 由江西江中中药饮片公司提供。中和的聚丙烯酸、水凝胶树脂粉、冰片、甘油、羧甲基

纤维素钠(CMC)(常州市润洋化工有限公司); 甘羟铝、乙二胺四乙酸(EDTA)二钠盐、聚维酮(PVPK120)、10%酒石酸水溶液、薄荷脑、聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)、体积分数95%乙醇、氮酮(郑州琼岳化工产品有限公司); 二甲基乙内酰脲(DMDMH)、丙二醇、羟苯乙酯、药用级聚丙烯酸钠(NP-700)等水凝胶辅料(淮北汇强高分子材料有限公司); 无水乙醇(济南亿晓化工有限公司); 纯水, 实验室级超纯水器。

1.2 仪器 密度计、数显恒温水浴锅、电子天平(上海科兴仪器有限公司); 旋转蒸发仪、冷冻干燥机、电炉(上海岐耀仪器设备有限公司); Physica MCR101型流变仪、集热式恒温加热磁力搅拌器、电热鼓风干燥箱(苏州威尔实验用品有限公司); CZY-G型初黏性测试仪、BLD-200N型电子剥离试验机(东莞普赛特检测设备有限公司)。

1.3 动物 SPF级昆明雄性小鼠60只, 质量18~22 g, 购自江西中医药大学动物中心, 动物质量合格号: SCXK(赣)2019-0015。

2 方法与结果

2.1 温通减肚水凝胶贴的制备^[4-11] 将处方量的增黏剂PVPK120、酒石酸水溶液、薄荷脑、冰片加入乙醇搅拌均匀制成水相。再将一定量的青黛粉和紫草油加入乙醇中, 可得脱色后紫草油。将药粉与一定量纯净水混合, 搅拌均匀并将杂质过滤, 可得药液。将艾绒、干姜、细辛放入轻油提取器中, 采用水蒸气蒸馏法提取5~9 h, 得到艾绒、干姜、细辛挥发油。在甘油中加入各10 mL的细辛、干姜、艾绒挥发油稀释液, 以及HQ841(部分中和的聚丙烯酸)、EDTA二钠盐、CMC、PVPP、甘羟铝等制成甘油相。在甘油相中, 依次加入5 mL氮酮, 脱色后紫草油、药液和水相, 搅拌15 min后可得到水凝胶半固体, 将半固体转移置无菌敷贴进行涂布, 放置于40℃电热鼓风干燥箱中干燥2~4 h, 再移置阴凉处固化3~4 h, 即得。

2.2 温通减肚水凝胶贴评价方法的建立^[12-15] 以水凝胶贴的外观性状, 初黏力、内聚力和剥离强度等黏接力为评分指标, 对凝胶基质的综合性能进行评分。其综合评分=(外观性状分值+初黏力分值+内聚力分值+剥离强度分值)/4, 各指标的检测方法分别如下:

2.2.1 初黏力测试 用斜坡滚球法测定3个试

样。将倾斜板调至15°, 用消毒棉球清洁板面和钢球, 胶带固定贴剂试品两端。将钢球放入仪器中, 打开开关, 测试钢球是否在凝胶面上停留。取3片贴剂安排试验, 若钢球被全部或其中2片贴剂粘住, 便将其号码确定为该试品的初黏力。计算方法: 初黏力分值=10× M_i / M_{max} (M_i 为所测初黏力的最小值, M_{max} 为最大值)。

2.2.2 内聚力测试 通过测试凝胶基质的交联体系的稳定度及其黏基力的强度, 可确定凝胶贴的内聚力大小。在进行实验之前, 先用酒精清洁试验板, 然后将凝胶贴剂紧密贴于板上, 并用重压辊来回滚压3次去除气泡, 将试验板竖直放置, 在贴剂末端挂上250 g的砝码, 并记录脱离时间。每次取3份凝胶贴进行试验, 计算平均脱离时间作为试验结果, 以 T_{max} 为满分, 其余按(T_i / T_{max})×100计算分值(T_i 为所测内聚力的最小值, T_{max} 为最大值), 满分为100。

2.2.3 剥离强度测试 取3份试样进行试验, 采用180°剥离强度试验法测定^[9]。将凝胶贴的黏性面与试验板黏接, 并用重压辊捻除气泡, 然后使试验板向左移动到试验机的固定端。供试品的另一端空白贴180°对折夹持在固定端, 最后试验板向右移动, 并以(300±10) mm/min的速度将贴剂从试验板上匀速剥离, 记录下试验机显示的力值, 以上操作重复3次, 计算方法: 初黏力分值=10× N_i / N_{max} (N_i 为所测剥离强度最小值, N_{max} 为最大值)。

2.2.4 外观性状评分 外观性状评分指标包括膏体光泽、污染性、无纺布的渗出色、皮肤亲和力、气味, 每项占20分, 总计100分。将每份试品的5项指标得分相加即外观性状得分。

2.3 Plackett-Burman 实验

2.3.1 实验因素及水平的筛选 对凝胶贴剂的基质辅料: PVPP(A)、酒石酸(B)、甘油(C)、HQ841(D)、CMC(E)和甘羟铝(F)安排实验。筛选出对凝胶贴剂的综合性能影响较大的因素, 每个因素取最高、最低2个水平, 共12组实验, 响应值为综合评分, 筛选结果见表1。

2.3.2 Plackett-Burman 实验结果及分析 按照表1进行实验, 按“2.2”项评价方法计算综合分值。用Design-Expert 8.0进行F检验, 结果见表2。模型P值为0.031 2<0.05, 回归模型有显著性。因此基质辅料对凝胶贴剂综合性能的影响, 从大到小

表1 温通减肚水凝胶贴制备的Plackett-Burman
实验设计与结果

Table 1 Plackett-Burman experimental design and results for preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

序号	A(g)	B(g)	C(g)	D(g)	E(g)	F(g)	综合评分(分)
1	48.57	22.85	214.3	45.79	5.71	1.23	93
2	50.78	18.64	218.5	45.79	5.71	1.23	63
3	48.57	22.85	218.5	42.86	5.71	2.37	88
4	50.78	18.64	214.3	42.86	3.28	1.23	55
5	50.78	22.85	214.3	42.86	3.28	2.37	54
6	50.78	22.85	218.5	42.86	3.28	1.23	68
7	50.78	22.85	214.3	45.79	5.71	2.37	59
8	50.78	18.64	214.3	42.86	5.71	1.23	95
9	48.57	18.64	218.5	42.86	5.71	2.37	78
10	48.57	18.64	214.3	45.79	3.28	2.37	76
11	48.57	22.85	218.5	45.79	3.28	1.23	65
12	50.78	18.64	218.5	45.79	3.28	2.37	83

表2 温通减肚水凝胶贴制备的Plackett-Burman方差分析

Table 2 Plackett-Burman design using analysis of variance for preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

因素	平方和	自由度	F值	P值
模型	7 949.69	21	1.49	0.031 2
A	384	1	1.51	0.011 3
B	3.38	1	0.03	0.027 8
C	0.042	1	6.78	0.189 9
D	0.75	1	0.01	0.912 8
E	672.04	1	2.64	0.020 9
F	32.67	1	0.13	0.722 3

排列为PVPP、CMC、酒石酸、甘油、甘羟铝、HQ841, PVPP、CMC、酒石酸3个因素影响较显著。

2.4 Box-Behnken 响应曲面法实验

2.4.1 实验设计^[16-17] 根据“2.3”项的实验数据结果, 筛选出影响水凝胶贴性能的主要辅料为PVPP、酒石酸、CMC。自变量为PVPP用量(A)、酒石酸用量(B)、CMC用量(C), 凝胶贴剂的外观性状分值(Y₁)、初黏力分值(Y₂)、内聚力分值(Y₃)、剥离强度分值(Y₄)的综合评分(Y)为响应值进行Box-Behnken实验, 试验因素与工艺参数的设计及结果见表3。

2.4.2 模型拟合及F检验 对表3中的数据进行模型拟合和F检验, 计算出的模型方程为 $Y=77.20-6.62A+2.00B-0.87C+5.75AB-2AC-6.75BC+10.15A^2-1.60B^2-2.85C^2$ 。R²=0.886 4, 表明预测结果与试验较吻合, 可进一步测定和分析贴剂的综合性能。

表3 温通减肚水凝胶贴制备的响应曲面实验
设计方案与实验结果

Table 3 Design and results of response surface experiment for preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

序号	A(g)	B(g)	C(g)	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y
1	50.78	20.75	5.71	70	79	74	70	73
2	48.57	22.85	4.50	72	91	72	86	90
3	49.67	20.75	4.50	81	74	69	69	73
4	48.57	18.64	4.50	78	96	58	76	77
5	49.67	18.64	5.71	64	75	70	94	76
6	49.67	22.85	3.28	95	84	65	75	80
7	50.78	20.75	3.28	64	79	87	69	75
8	49.67	18.64	3.28	84	69	63	74	73
9	48.57	20.75	5.71	75	94	76	79	81
10	49.67	20.75	4.50	94	74	84	81	83
11	49.67	22.85	5.71	85	63	94	83	81
12	49.67	20.75	4.50	79	75	74	75	76
13	50.78	18.64	4.50	95	69	96	92	88
14	49.67	20.75	4.50	88	82	85	86	85
15	49.67	20.75	4.50	93	81	78	82	84
16	48.57	20.75	3.28	70	86	76	76	77
17	50.78	22.85	4.50	89	87	74	87	84

由表4分析结果可知, 模型P=0.003 1<0.05, 模型显著且与实验结果相吻合, 并且模型的失拟项P=0.273 3>0.05, 差异并不显著, 说明该二次多元回归拟合方程可综合预测此实验的结果。各因素对水凝胶贴性能的影响次序为PVPP>CMC>酒

表4 温通减肚水凝胶贴制备的二次回归F检验

Table 4 Quadratic regression F test for preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

方差来源	平方和	自由度	F值	P值
模型	1 182.21	9	6.07	0.003 1
A	32	1	1.48	0.113 6
B	351.12	1	16.22	0.000 7
C	6.12	1	0.28	0.007 6
AB	132.25	1	6.11	0.042 7
AC	16	1	0.74	0.418 4
BC	182.25	1	8.42	0.022 9
A ²	433.78	1	20.04	0.002 9
B ²	10.78	1	0.50	0.503 2
C ²	34.2	1	1.58	0.249 1
残差	151.55	7		
失拟项	88.75	3	1.88	0.273 3
净误差	62.8	4		
总离差	1 333.76	16		
R ²	0.886 4			

石酸，其中PVPP含量的影响最显著。

2.4.3 响应面优化与预测 根据表3，绘制响应曲面图和二维等高线图。图1-b的曲线较陡，说明PVPP、CMC对综合性能的影响最明显，与F检验结果一致。等高线图的形状可反映出各因素之

间的联系，其中心点代表交互作用最强的位置。由等高线图可以看出，AC与AB之间交互效应显著。以综合评分最高的各辅料参数水平为优化目标，得出最佳配方为A=50.78，B=20.75，C=3.28，即PVPP 120 50.78 g、酒石酸20.75 g、CMC 3.28 g。

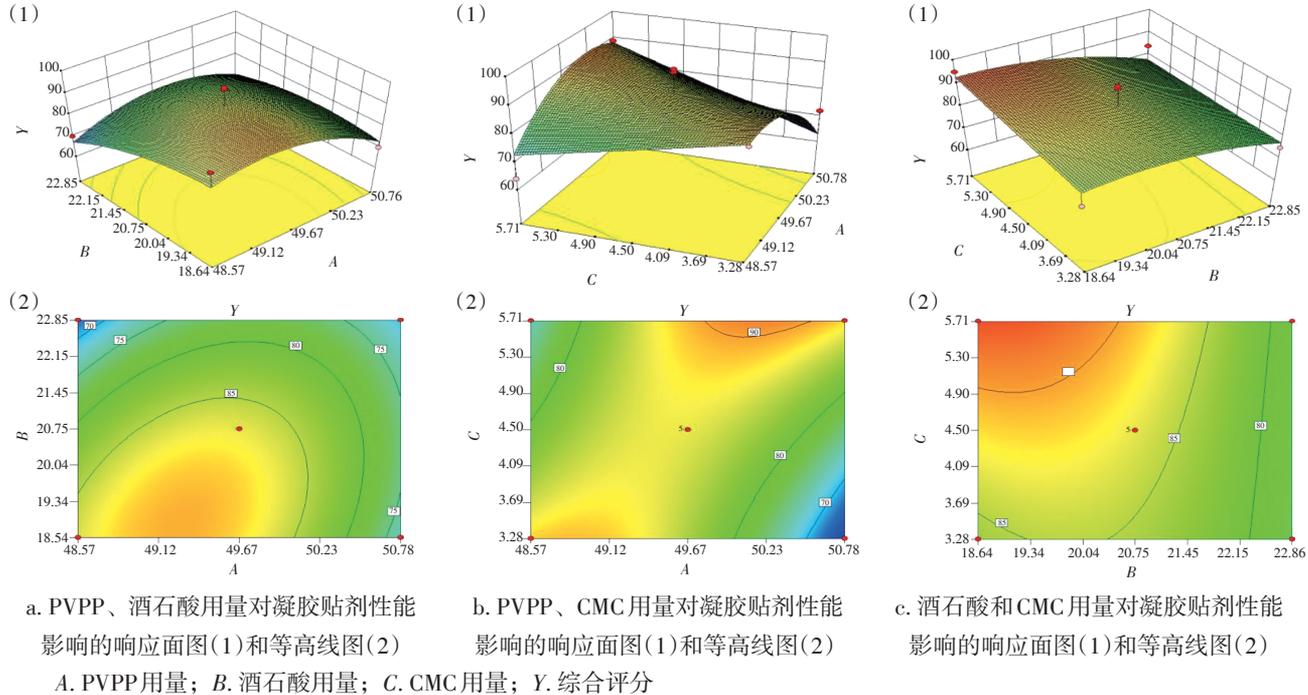


图1 PVPP、酒石酸和CMC用量对温通减肚水凝胶贴剂性能影响的响应面图和等高线图

Figure 1 Response surface plots and contour maps for the effects of PVPP, tartaric acid and CMC dosage on the properties of gel patches

2.4.4 验证试验 根据基质辅料最佳处方制备3份水凝胶贴剂，按“2.2”项评价体系，得出各项性能的综合分值。结果可看出，以最优处方制备的水凝胶贴膏体光泽、无纺布的渗出度小、皮肤亲和力强、气味芳香、可反复揭贴且无污染物残留，验证结果见表5。

表5 温通减肚水凝胶贴制备的响应曲面设计法的验证
Table 5 Verification of response surface design method for preparation of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

序号	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y
1	92	91	86	87	89.00
2	95	90	87	91	90.75
3	94	92	85	88	89.50

2.4.5 温通减肚水凝胶贴载药量的考察^[18] 本研究在优选出的辅料处方基础上，参照“2.2”项，对凝胶贴剂的最大载药量进行了综合测定(见表6)。

由表6可知，载药浓度的高低会对贴剂的综合评分产生影响，当贴剂载药浓度逐渐增高时，初黏力、内聚力都有所下降，且贴剂较硬、皮肤残留量增多、气味不佳。当贴剂载药浓度较低时，各项分值无显著改变，但是不能充分发挥药效。当贴剂载药量为12 g时，其各项指标的综合评分最高，因此12 g为最佳载药量。

表6 温通减肚水凝胶贴载药量的考察

Table 6 Investigation of drug loading on *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

载药量(g)	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y
6	70	84	78	86	78.00
9	80	86	84	85	82.00
12	90	95	88	85	91.00
15	70	90	83	80	81.00
18	60	80	72	78	70.66

2.5 温通减肚水凝胶贴的性能研究

2.5.1 水凝胶黏弹性能 增黏剂可以增加贴剂基质的黏附力, 提高基质内聚力, 减少皮肤黏附后的膏体残留。本实验采用的增黏剂——PVPK120 具有优良的生物相溶性、稳定性和多种有机、无机化合物复合的能力, 与贴剂内其他成分稳定溶合。采用流变仪测定不同质量分数(6%、8%、10%)增黏剂基质材料的黏弹性参数, 研究凝胶贴剂的内在特性, 从而测试出增黏剂的最佳含量。测试4个试样, 提前打开水浴、空气压缩机、流变仪主机和电脑相关软件, 进行初始化调整及设置温度和测试参数。装上P50转子, 进行“零差距”调节, 加热到指定温度。装样并清除多余样品, 开始测试。自动保存好数据曲线, 升高马达, 摘下转子, 清洗转子和测试台, 以上操作重复4次。最终将4组数据整理在同一个曲线图(见图2)上保存。

G' 表示基质材料发生弹性变形的应力, 为弹性模量; G'' 反映材料基质的黏性大小, 为黏性模量; $\text{Strain } \gamma$ 表示振荡实验时应变大小, Pa 为线性黏弹区。由图2可看出, 每条不同的增黏剂体系都表现为 $G' > G''$, 说明不同的增黏剂体系均呈现固体性质的特征。6%体系和10%体系的弹性模量和黏性模量都比8%体系小, 因此, 表明黏性过大或过小会影响载药状态和基质的黏弹性。空白体系(不载药, 添加8%增黏剂)与8%增黏剂体系的弹性模量基本一致, 但8%增黏剂体系的黏性模量比空白体系大, 说明载药之后会影响基质的黏性。应变逐渐提高, 各体系的模量随之降低, 说明应变越大, 各体系的黏弹性可能越差。因此, 选择8%增黏剂体系, 凝胶体系的载药状态最佳, 结构最稳定。

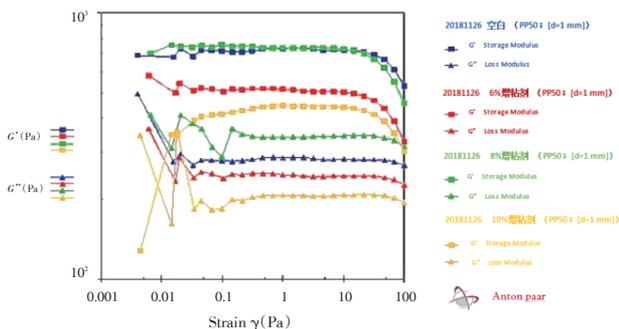


图2 不同含量增黏剂贴剂的黏弹性参数变化图

Figure 2 Variation of viscoelastic parameters of the Patch with different contents of tackifier

2.5.2 水凝胶增黏剂含量测试^[18] 按照“2.2”项, 对不同含量增黏剂的水凝胶贴剂进行性能测试。由表7可知, 添加的增黏剂越多, 水凝胶贴剂的初黏力越大, 吸附在皮肤的黏性越大, 剥离强度也越大, 皮肤相容性越差。本实验采用药典中的黏附力测定法, 包含黏附力在内的综合测试与流变学特性参数考察实验相结合, 直观地评价了添加增黏剂后基质的黏附性能, 并通过了解基质的内在结构性能参数, 全面评价了基质的综合性能。综合分析, 暂定含量8%的增黏剂为最佳。

表7 不同含量增黏剂的贴剂综合性能测定

Table 7 Determination of comprehensive properties of the Patch with different contents of tackifier

增黏剂含量(%)	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y
6	60	75	76	90	70.25
8	70	84	87	88	80.33
10	80	85	89	62	75.33

2.6 主要成分含量测定^[19-20]

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Acclaim™ 120 C₈ HPLC Columns(150 mm × 2.1 mm, 2.2 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸缓冲液, 梯度洗脱: 0~20 min, 25%~50% 甲醇, 体积流量 1 mL/min; 检测波长: 235 nm; 进样量: 15 μL; 柱温: 35 °C。

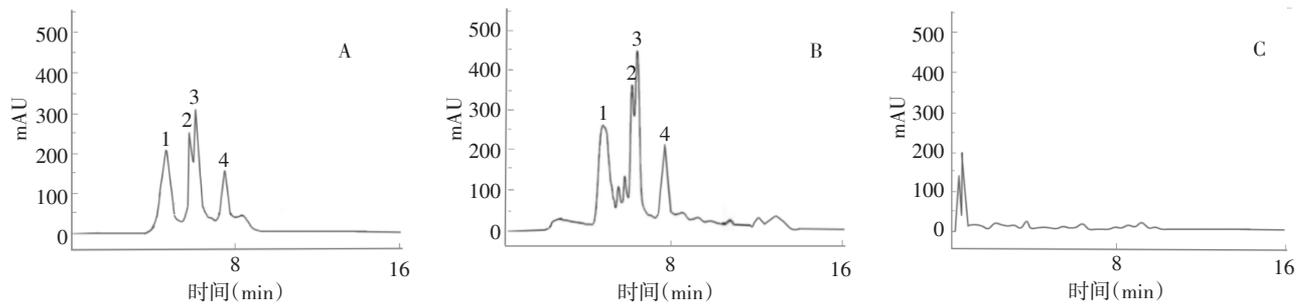
2.6.2 配制溶液

2.6.2.1 配制对照品溶液 将适量C-松油烯、苧烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯分别用甲醇稀释, 配制含0.528、0.574、0.618、0.632 mg/mL的C-松油烯、苧烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯储备液。分别将3.2、2.5、3.4、3.6 mL的C-松油烯、苧烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯储备液用甲醇定容, 即得对照品溶液。

2.6.2.2 配制样品溶液 将2片凝胶贴剂去掉防黏层, 剪碎置于烧杯中, 称定甲醇100 mL, 静置10 h后, 超声处理30 min, 取提取液, 经0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液作为样品溶液进样测定。

2.6.2.3 空白对照溶液的制备 取凝胶贴剂空白基质的体外透皮接收液, 过0.45 μm 微孔滤膜, 取滤液即得。

2.6.3 专属性考察 取对照溶液、样品溶液、空白接受液适量, 按“2.6.1”项下色谱条件测定各成分含量, 结果见图3。结果发现空白接受液对指



1. C-松油烯; 2. 茨烯; 3. 桉叶油醇; 4. 右旋柠檬烯

图3 对照溶液(A)、样品溶液(B)、空白对照溶液(C)的高效液相色谱(HPLC)图

Figure 3 HPLC chromatogram for control solution(A), sample solution(B), and blank control solution(C)

标成分的测定无干扰。

2.6.4 标准曲线考察 分别用甲醇稀释至不同质量分数的对照品溶液。取各质量分数的对照品溶液 10 μ L, 按照“2.6.1”色谱条件依次进样, 测定 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯的峰面积(RSD), 并以各成分的进样量(V/μ L)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果见表8。

表8 温通减肚水凝胶贴4种成分的回归方程及相关系数
Table 8 Regression equations and related coefficients of 4 kinds of constituents in *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

样品	回归方程	相关系数	线性范围/mg
C-松油烯	$Y = 18\,476.29X - 34.56$	0.999 16	0.015 ~ 0.200
茨烯	$Y = 18\,678.18X - 27.48$	0.999 73	0.010 ~ 0.200
桉叶油醇	$Y = 18\,640.57X - 7.19$	0.999 63	0.010 ~ 0.150
右旋柠檬烯	$Y = 15\,622.49X + 53.81$	0.999 28	0.010 ~ 0.300

2.6.5 供试品溶液含量测定 将供试品溶液用甲醇稀释20倍后, 以0.45 μ m滤膜滤过, 取滤液, 取10 μ L注入高效液相色谱仪中, 按“2.6.1”项色谱条件进行测定。并按外标法公式计算供试品中 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯的含量: 含量(c_x)= $c_r \times A_x/A_m$, 其中 c_x 为供试品浓度, c_r 为对照品浓度; A_x 为供试品峰面积, A_m 为对照品峰面积。结果测得供试品中 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯的含量分别为(1.66 \pm 0.04)%、(1.92 \pm 0.02)%、(2.36 \pm 0.03)%、(1.45 \pm 0.01)%。

2.6.6 精密度试验 取样品溶液, 配制成高、中、低浓度, 一日内连续进样6次, 日间精密度每日进样6次, 连续进样3 d, 分别测定 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯的峰面积。结

果显示各成分的RSD均在3%以下, 表明仪器精密度良好。结果见表9。

2.6.7 稳定性试验 室温放置样品溶液, 分别于0、4、8、12、24 h取样测定, 并记录色谱图。结果显示 C-松油烯、茨烯、桉叶油醇、右旋柠檬烯的RSD为1.36%、1.59%、1.76%、0.35%, 表明样品溶液在24 h内稳定。

2.6.8 重复性试验 分别制备6份样品溶液, 用相同的色谱条件, 测定4种成分的峰面积。结果显示RSD分别为 C-松油烯1.54%、茨烯1.54%、桉叶油醇1.69%、右旋柠檬烯1.20%, 表明样品溶液制备方法的重复性良好。结果见表9。

表9 温通减肚水凝胶贴含量测定方法学考察结果
Table 9 Results of methodological investigation on the content determination of *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

指标	浓度	C-松油烯 (%)	茨烯 (%)	桉叶油醇 (%)	右旋柠檬烯 (%)
日内精密度 RSD	高浓度	1.36	1.83	2.34	0.81
	中浓度	1.32	1.74	2.18	0.56
	低浓度	0.75	1.03	1.84	0.95
日间精密度 RSD	高浓度	1.25	1.39	2.32	0.83
	中浓度	1.37	1.87	2.24	0.47
	低浓度	1.41	1.78	1.98	1.27
稳定性 RSD		1.36	1.59	1.76	0.35
重复性 RSD		1.69	1.54	1.49	1.20

2.6.9 加样回收率测定 取凝胶贴剂5份, 加入4种待测成分适量, 分别制备成高、中、低3种浓度的混合样品溶液, 按上述色谱条件进行分析并计算加样回收率。结果显示平均加样回收率分别为 C-松油烯 100.6%、茨烯 101.4%、桉叶油醇

102.3%、右旋柠檬烯 99.7%，表明该方法加样回收率合格。

2.7 体外透皮实验^[21-23]

2.7.1 制备不同质量分数氮酮的贴剂 按照“2.4”及“2.5”“2.6”项下的制备工艺，分别加入0%、1%、2%、3%、4%和5%质量分数的氮酮，制备一批贴剂备用。

2.7.2 离体小鼠皮肤的制备 脱去小鼠腹部的毛发，24 h后将小鼠处死，剥取完整的腹部皮肤并去除皮下组织，用氯化钠溶液清洗。将皮肤放于Franz扩散池结合处，皮肤外层朝上，将贴剂紧贴于皮肤外层，并固定接收池与释放池。将氯化钠

溶液注入接收池，使液面与皮肤紧密接触，并使气泡消散。接收池 300 r/min 恒速搅拌，水浴温度 32 ℃，分别于 3、6、9、12、15、24 h 各取 2.0 mL 接收液，并快速补充等量的氯化钠溶液。将移取的氯化钠溶液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，并用 HPLC 法检测各成分的含量。以公式 $Q_n = (V_n C_n + V_0 C_{n-1}) / A$ 计算其单位面积累积渗透量 (Q_n)，其中： V_n 为接收室的体积， C_n 为第 n 个时间点移取的氯化钠溶液中的药物质量浓度， C_{n-1} 为第 $n-1$ 个时间点移取的氯化钠溶液中药物质量浓度， V_0 为移取的氯化钠溶液的体积， A 为渗透池的面积。以 Q_n-t 做图，得到 4 种化学成分的体外透皮曲线，见图 4。

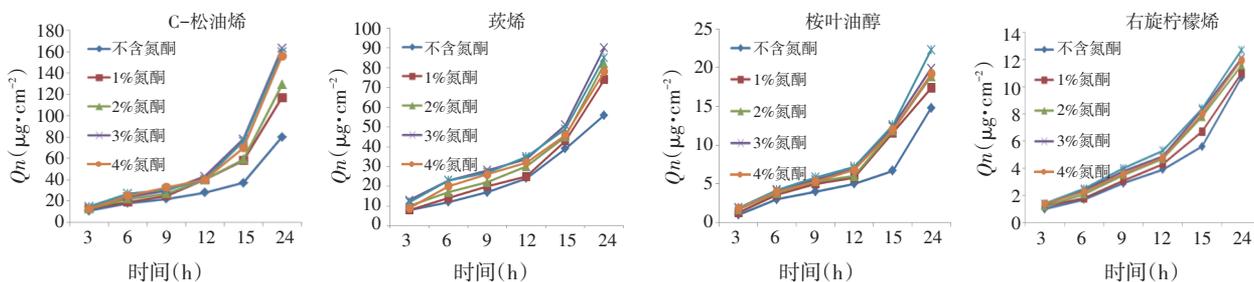


图4 温通减肚水凝胶贴4种成分在不同含量氮酮下的 Q_n-t 曲线

Figure 4 Q_n-t curves with different contents of azone for 4 constituents in *Wentong Jiandu* Hydrogel Patch

将 Q_n 对 t 进行回归，得到 Q_n-t 模型拟合方程，见表 10。从表 10 可以看出，当凝胶贴剂不含氮酮时，体外透皮速率 (J) 由大到小依次为 C-松油烯 $3.229 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ 、菝烯 $2.422 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ 、桉叶油醇 $0.634 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ 、右旋柠檬烯 $0.469 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ 。与不含氮酮的对照组相比，加入一定含量氮酮的凝胶贴剂的 J 明显更高，且氮酮对 4 种化学成分中的 C-松油烯和桉叶油醇的促渗效果最明显。促渗效果与氮酮浓度不一定都成正相关，当达到一定浓度时，反而起到抑制作用。当氮酮浓度为大于 3% 时，C-松油烯和菝烯的 J 均下降。当氮酮浓度为 3%、4% 时，桉叶油醇、右旋柠檬烯的 J 均相差不多，因此，选择氮酮用量为 3% 比较合适。

3 讨论

水凝胶贴膏剂的制备过程须严格按照规范操作，辅料基质的选择和配比至关重要。本研究对温通减肚水凝胶贴进行制剂学研究，以水凝胶贴的黏力和外观评价为指标，进行处方的优化设计。利用 Plackett-Burman 实验设计，快速地从 6 个辅料中筛选出对凝胶贴性能影响显著的辅料，

即 PVPP、CMC、酒石酸。Box-Behnken 响应面法可以找到响应值与各因子间的定量规律，计算出各因子的最佳工艺参数并进行组合，通过实验可以得到辅料的最佳配比为 PVPP120 50.78 g、酒石酸 20.75 g、CMC 3.28 g。制备过程中搅拌速度和时间、浓缩温度和时间对水凝胶贴的性能也有一定的影响，还需进一步的研究。

促渗剂及其浓度的选择决定了药物实际疗效的大小。氮酮可使皮肤角质层与脂质发生交互效应，促进了皮肤对药物活性成分的吸收。体外透皮研究证明了氮酮促透效果与用量有关，含量为 3% 的氮酮能发挥最大促透作用。当氮酮含量小于 3% 时，4 种成分的透皮速率均随着氮酮含量的增加而增加，C-松油烯和桉叶油醇的促透效果最显著。当氮酮质量分数为大于 3% 时，C-松油烯和菝烯促透速率则存在抑制现象，说明药物成分的渗透效果并不一定与促渗剂浓度成正比。此外，温通减肚水凝胶贴中 4 种有效成分在 24 h 内透皮曲线 Q_n-t 线性良好，体外扩散均符合零级方程，能长效恒定地缓释药物，避免了药物的峰谷现象，可以更好地针对腹部脂肪囤积型肥胖的治疗。

表 10 温通减肚水凝胶贴不同含量氮酮贴剂的体外
 Q_n-t 模型拟合方程

Table 10 Fitting equations of Q_n-t model of different
contents of Azone patch *in vitro*

氮酮 (%)	指标成分	累计渗透方程	R	ER	$J(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$
0	C-松油烯	$Q_n = 3.229t - 4.465$	0.969	1.331	3.229
	茨烯	$Q_n = 2.422t - 1.849$	0.986	1.421	2.422
	桉叶油醇	$Q_n = 0.634t - 1.543$	0.978	1.483	0.634
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.469t - 1.096$	0.989	1.175	0.469
1	C-松油烯	$Q_n = 5.074t - 13.016$	0.977	1.067	5.074
	茨烯	$Q_n = 3.218t - 6.341$	0.984	1.305	3.218
	桉叶油醇	$Q_n = 0.784t - 1.570$	0.980	1.438	0.784
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.487t - 0.922$	0.991	1.501	0.487
2	C-松油烯	$Q_n = 5.550t - 15.486$	0.970	1.137	5.550
	茨烯	$Q_n = 3.474t - 5.616$	0.985	1.003	3.474
	桉叶油醇	$Q_n = 0.837t - 1.694$	0.981	1.993	0.837
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.591t - 0.824$	0.990	1.737	0.591
3	C-松油烯	$Q_n = 7.378t - 1.837$	0.965	1.007	7.378
	茨烯	$Q_n = 3.652t - 2.168$	0.969	1.152	3.652
	桉叶油醇	$Q_n = 0.879t - 1.678$	0.971	1.801	0.879
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.537t - 0.708$	0.988	1.285	0.537
4	C-松油烯	$Q_n = 6.893t - 1.624$	0.960	1.049	6.893
	茨烯	$Q_n = 3.443t - 1.097$	0.990	1.216	3.443
	桉叶油醇	$Q_n = 0.983t - 2.301$	0.984	1.293	0.983
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.559t - 0.713$	0.992	1.545	0.559
5	C-松油烯	$Q_n = 7.179t - 1.735$	0.963	1.121	7.179
	茨烯	$Q_n = 3.245t - 2.151$	0.993	1.435	3.245
	桉叶油醇	$Q_n = 0.846t - 1.549$	0.986	1.766	0.846
	右旋柠檬烯	$Q_n = 0.529t - 0.746$	0.989	1.391	0.529

参考文献:

- [1] 谢绍锋, 黄莉吉, 狄红杰, 等. 中医药基于肠道菌群调节防治肥胖研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(11): 2474-2479.
- [2] 韩静, 王亚平, 张伟, 等. 中药健脾祛湿法结合运动干预肥胖症临床疗效观察[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(8): 1924-1926.
- [3] 万思琦, 徐京育. 中药凝胶贴膏研究进展及问题展望[J]. 河北中医, 2019, 41(2): 305-311.
- [4] 侯雪梅, 丁宝月, 张纬, 等. 水凝胶贴剂的研究进展及目前存在的问题[J]. 药学服务与研究, 2012, 12(6): 442-446.
- [5] 李伟泽, 张光伟, 赵宁, 等. 中药水凝胶巴布剂产业化工艺技术攻关研究[J]. 中草药, 2012, 43(10): 1928-1933.

- [6] 陈浩, 张琦, 王万春, 等. 一种用于减肚消脂的中药水凝胶贴膏及其制备方法: 中国专利, CN109692324 B[P]. 2019-06-25.
- [7] 廖豪. 厚朴中酚类化合物分离与提取工艺的研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2008.
- [8] 王艳宏, 王锐, 管庆霞, 等. 麻黄附子细辛汤中细辛挥发油的提取工艺研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2011, 27(5): 652-653.
- [9] 董爱君, 刘华臣, 吴昭. 艾叶挥发油及其热裂解物成分分析[J]. 香料香精化妆品, 2017(3): 5-9, 12.
- [10] 郑玉霞, 李佳木, 庞丽纹. 水蒸气蒸馏法从干姜中提取姜油[J]. 内蒙古石油化工, 2012, 38(10): 16-17.
- [11] 赵贺, 任君刚, 王树巍. 紫草油膏的制备工艺筛选[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2018, 34(5): 533-536.
- [12] 陆继伟, 夏晶, 仇佳思, 等. 贴膏剂粘着力测定法研究[J]. 中成药, 2016, 38(2): 309-314.
- [13] 王森, 欧水平, 袁涛. 复方独一味凝胶贴膏的处方优化和制备工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(8): 1319-1324.
- [14] 李伟泽, 张光伟, 赵宁, 等. 中药水凝胶巴布剂产业化工艺技术攻关研究[J]. 中草药, 2012, 43(10): 1928-1933.
- [15] 王逸飞. 中药凝胶贴膏成型工艺参数筛选和质量属性评价研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [16] 李启泉, 马德宇. Box-Behnken 响应曲面法优化马钱子总碱凝胶贴膏基质处方的研究[J]. 广州化工, 2019, 47(19): 70-73, 120.
- [17] 赵大伟, 王浩博, 李佳丽, 等. Box-Behnken 响应曲面法优化五味子中木脂素的微波提取工艺[J]. 吉林农业, 2019(6): 46-48.
- [18] 何金凤. 双黄朴水凝胶贴剂的微粉化制备、药效学评价及其药动学的微透析法研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015.
- [19] 姚瑶, 冯伟红, 王岚, 等. 活血止痛纳米凝胶贴膏经皮渗透特性及药效评价[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(2): 70-75.
- [20] 管咏梅, 宋昕祁, 刘佳, 等. 解郁安神凝胶贴膏剂的处方优选与质量评价[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5731-5738.
- [21] 张莹莹, 刘伟, 周文杰, 等. 少腹逐瘀凝胶贴膏剂基质处方优化及体外透皮特性研究[J]. 中草药, 2018, 49(18): 4284-4292.
- [22] 王丽娜, 陈来祥, 王冬梅, 等. 复方穿蛭透皮贴的制备及其体外透皮吸收、释放度研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4): 863-864.
- [23] 关波, 皇甫俊茹, 徐媛, 等. 不同促透剂对根皮素体外透皮吸收的影响[J]. 中国医药导报, 2019, 16(32): 4-8.

【责任编辑: 侯丽颖】