

盐酸氨溴索凝胶膏剂的制备及体外透皮研究

刘秀英*(第三军医大学第一附属医院药剂科,重庆 400038)

中图分类号 R943;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)34-4859-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.34.33

摘要 目的:制备盐酸氨溴索凝胶膏剂,并研究其体外透皮特性。方法:以聚乙烯醇、甘氨酸铝、聚丙烯酸钠等基质制备盐酸氨溴索凝胶膏剂。在单因素考察基础上,采用Box-Behnken响应面法,以外观性状、初黏力、持黏力、剥离强度的综合评分为指标优化处方中聚乙烯醇、甘氨酸铝、聚丙烯酸钠的用量,并进行验证试验。通过改良Franz扩散池法考察所制凝胶膏剂的体外透皮特性。结果:最优处方为聚丙烯酸钠2.35 g、甘氨酸铝0.1 g、聚乙烯醇1.0 g;所制3批凝胶膏剂的综合评分分别为9.4、9.5、9.7,与预测值比较的相对误差分别为2.08%、1.04%、1.04%;24 h内盐酸氨溴索的体外透皮速率为9.472 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$,符合零级动力学模型($r=0.994$)。结论:凝胶膏剂处方合理,具有较好的透皮特性,透皮行为符合零级动力学过程。

关键词 盐酸氨溴索;凝胶膏剂;Box-Behnken响应面法;体外透皮

Preparation of Ambroxol Hydrochloride Hydrogel Patch and Its Transdermal Permeability Study *in vitro*

LIU Xiuying (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital to Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Ambroxol hydrochloride hydrogel patch and study its transdermal permeability *in vitro*. METHODS: Polyvinyl alcohol (PVA), aluminum glycinate and polyacrylic acid sodium (PAAS) were used as excipients to prepare Ambroxol hydrochloride hydrogel patch. Based on single factor experiments, using appearance and property, initial bonding strength, endurance bonding strength and peel strength as indexes, Box-Behnken response methodology was used to optimize the amount of PVA, aluminum glycinate and PAAS. Validation test was also conducted. The transdermal permeability *in vitro* of prepared hydrogel patch was investigated by Franz diffusion cells. RESULTS: The optimal prescription was as follows as PAAS 2.35 g, aluminum glycinate 0.1 g, PVA 1.0 g. Comprehensive score of 3 batches of hydrogel patch were 9.4, 9.5, 9.7, respectively; relative errors were 2.08%, 1.04%, 1.04% compared with the predicted values. Within 24 hours, the transdermal rate of ambroxol hydrochloride was 9.472 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, which was up to zero-order kinetic model ($r=0.994$). CONCLUSIONS: Hydrogel patch formula is reasonable and shows good transdermal properties. Its transdermal absorption meets zero-order kinetic process.

KEYWORDS Ambroxol hydrochloride; Hydrogel patch; Box-Behnken response methodology; Transdermal permeability *in vitro*

盐酸氨溴索是新一代黏痰溶解剂,可显著改善排痰和呼吸状况,临床上主要用于治疗急、慢性呼吸道疾病,特别是慢性支气管炎的祛痰治疗。盐酸氨溴索制剂种类很多,2015年版《中国药典》(二部)收载的盐酸氨溴索剂型有口服溶液、片剂、胶囊、缓释胶囊4种,市售的还有盐酸氨溴索注射剂、气雾剂及复方制剂等。临床报道盐酸氨溴索制剂致不良反应与剂量有关,儿童用药超剂量是导致不良反应发生的主要因素^[1-2]。为填补儿童用药的空白,提高临床用药安全,本研究将其制成凝胶膏剂。以初黏力、持黏力、剥离强度、外观性状为指标进行单因素考察,采用Box-Behnken响应面法对凝胶膏剂处方进行优化,并对盐酸氨溴索的透皮特性进行研究,以期对盐酸氨溴索外用制剂的研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器

20A系列高效液相色谱仪、AUW220D电子天平(日本岛津公司);FY-6032初黏力测试仪(深圳市方源仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸氨溴索对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100599-201203,纯度:99.9%);盐酸氨溴索原料药(常州四药制药有限公司,批号:20131201,纯度:99.8%);聚丙烯酸钠(PAAS,广东中盛生物科技有限公司,批号:20150120,粒度:

200目,分析纯);甘氨酸铝(上海森磊化工有限公司,批号:20150801,粒度:200目,分析纯);聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯吡咯烷酮K30(PVPK30)(成都市科龙化工试剂厂,批号:20111122、20110909,分析纯);甘油、磷酸氢二铵(重庆市川东化工集团有限公司,批号:20140901、20130301,分析纯);酒石酸(重庆化学试剂厂,批号:20100501,分析纯);甲醇、乙腈(迪马科技有限公司,色谱纯)。

1.3 动物

SPF级健康Balb/c小鼠,3~4周龄,♀♂各半,体质量(18±2)g,由重庆医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(渝)2012-0001。

2 方法与结果

2.1 凝胶膏剂的制备

称取处方量的PAAS,加入甘油分散均匀,加水,溶胀均匀作为A相;PVA、PVPK30加适量水溶胀,与盐酸氨溴索混合均匀,甘氨酸铝、氮酮用甘油分散,搅拌均匀作为B相;酒石酸水溶液作为C相;将A相与B相混合均匀后,再加入C相混合均匀,60℃水浴搅拌20 min,涂布,烘干,剪切,即得。

2.2 凝胶膏剂评价方法的建立

2.2.1 外观性状 对膏体均匀性、涂展性、膜残留性、渗出度、皮肤追随性等感官性状进行评分,指定最大值为10分,计算外观性状评分(评分总和/评分最大值总和×10),评分标准^[3-4]见表1。

*药师。研究方向:临床药学、药事管理。电话:023-68765067。E-mail:jiuqing126@126.com

表1 外观性状评分标准

Tab 1 Scoring criteria of appearance and property

指标	评分标准
均匀性	涂布于背衬层观察,若均匀、无白斑为5~4分;白斑不成块状、量少为3~2分;膏体不均匀、白斑多、量大为1~0分
涂展性	涂布容易完成为5分;涂布可以完成为4~3分;涂布较难完成为2~1分;涂布费力、无法完成为0分
膜残留性	膜残留<0.050 g为5分;0.050~0.149 g为4分;0.150~0.249 g为3分;0.250~0.349 g为2分;0.350~0.449 g为1分;>0.450 g为0分
渗出度	无纺布背面无渗出为5分;渗出面积占总面积1%~20%为4分;21%~40%为3分;41%~60%为2分;61%~80%为1分;>80%为0分
皮肤追随性	将膏剂贴于受试者手腕部,用力下甩5次,不脱落为5分;第5次脱落为4分;第4次脱落为3分;第3次脱落为2分;第2次脱落为1分;第1次脱落为0分

2.2.2 黏力评价方法 按照2015年版《中国药典》(四部)通则0952第一法、第二法、第三法分别测定凝胶膏剂初黏力、持黏力、剥离强度^[9]。分别以实际测得的最大值为10分,其余得分与之相比较(最小值/测得值×10)计算得分。综合评分(Y)=外观性状×0.4+初黏力×0.2+持黏力×0.2+剥离强度×0.2。

2.3 单因素考察

在预实验的基础上对基质 PAAS、甘氨酸铝、酒石酸、PVA、PVPK30 进行单因素考察。

2.3.1 PAAS 用量 考察 PAAS 用量分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g 时对凝胶膏剂的影响。结果显示,PAAS 对膏体的性能有较大的影响,骨架材料用量增加,交联强度增加,持黏力、初黏力、剥离强度均增加;当其用量大于 2.5 g 时,骨架材料过载。故 PAAS 用量宜在 1.0~2.5 g 之间。

2.3.2 甘氨酸铝用量 考察甘氨酸铝用量分别为 0.03、0.06、0.09、0.12、0.15 g 时对凝胶膏剂的影响。结果显示,甘氨酸铝用量增加,凝胶膏剂交联作用增强,表现为持黏力、剥离强度增加,与骨架材料聚丙烯酸钠形成网状结构后,自身黏性降低,初黏力降低;甘氨酸铝用量大于 0.15 g 时,由于过度交联,初黏力迅速降低,持黏力、剥离强度迅速增大。故甘氨酸铝用量宜在 0.03~0.12 g 之间。

2.3.3 酒石酸用量 考察酒石酸用量分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g 时对凝胶膏剂的影响。结果显示,随着酒石酸的用量增加,持黏力、初黏力、剥离强度均降低,酒石酸的使用可以降低膏体的交联强度。故确定酒石酸用量为 0.1 g。

2.3.4 PVA 用量 考察 PVA 用量分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 g 时对凝胶膏剂的影响。结果显示,PVA 作为黏合剂可增加膏体内部的凝聚力,膏体的弹性提高,持黏力、剥离强度增加,初黏力降低。故 PVA 用量宜在 1.0~2.0 g 之间。

2.3.5 PVPK30 用量 考察 PVPK30 用量分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g 时对凝胶膏剂的影响。结果显示,PVPK30 作为增黏剂可增加凝胶膏剂表面黏性,对持黏力、剥离强度影响不大。故确定 PVPK30 用量为 1.0 g。

2.4 Box-Behnken 设计优化处方

2.4.1 设计与结果 在单因素所筛选出的基质处方基础上,采用 Box-Behnken 设计^[6-8],以凝胶膏剂的外观性状、初黏力、持黏力、剥离强度综合评分(Y)为指标,以 PVA 用量(X_1)、甘氨酸铝用量(X_2)、PAAS 用量(X_3)为因素进行 Box-Behnken 设计。因素与水平见表 2,试验设计与结果见表 3。

2.4.2 线性拟合 采用 Design Expert 8.0.6 软件,对试验数据进行 Linear、2FI、Quadratic、Cubic 模型拟合处理,结果 Quadratic 模型置信区间相关系数(R^2)=0.988 5, $P<0.000 1$,拟合回归模型具有极显著差异。拟合二次项方程: $Y=9.5+0.075X_1-0.95X_2-1.3X_3-0.65X_1X_2-0.55X_1X_3-1.15X_2X_3-2.00X_1^2-2.75X_2^2-1.40X_3^2$ 。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	X_1 ,g	X_2 ,g	X_3 ,g
-1	1	0.03	1
0	1.5	0.075	1.75
1	2	0.12	2.5

表3 Box-Behnken 试验设计与结果

Tab 3 Design and results of Box-Behnken test

序号	X_1 ,g	X_2 ,g	X_3 ,g	Y
1	1	0.03	1.75	5.1
2	1.5	0.12	2.5	2.2
3	2	0.12	1.75	3.1
4	1.5	0.075	1.75	9.4
5	1.5	0.075	1.75	9.6
6	1.5	0.03	1	6.2
7	1.5	0.03	2.5	6.3
8	2	0.075	1	8.3
9	1.5	0.075	1.75	9.6
10	1	0.12	1.75	4.4
11	1	0.075	1	6.9
12	1.5	0.12	1	6.7
13	1.5	0.075	1.75	9.6
14	1	0.075	2.5	5
15	2	0.03	1.75	6.4
16	2	0.075	2.5	4.2
17	1.5	0.075	1.75	9.3

2.4.3 数据分析 对试验数据进行方差分析发现,Quadratic 模型的 $P<0.001$, $R^2=0.988 5$,说明回归模型具有极显著差异。失拟项的 $P=0.052 2>0.05$,说明拟合方程对试验结果预测性好。变异系数 RSD=5.34%。方差分析结果见表 4。

表4 方差分析结果

Tab 4 Analysis of variance

误差来源	离均差平方和	自由度	F	P
模型	91.96	9	153.82	<0.000 1
X_1	0.045	1	0.68	0.437 6
X_2	7.22	1	108.69	<0.000 1
X_3	13.52	1	203.53	<0.000 1
X_1X_2	1.69	1	25.44	0.001 5
X_1X_3	1.21	1	18.22	0.003 7
X_2X_3	5.29	1	79.63	<0.000 1
X_1^2	16.84	1	253.54	<0.000 1
X_2^2	31.84	1	479.34	<0.000 1
X_3^2	8.25	1	124.23	<0.000 1
残差	0.097	7		
失拟项	0.047	3	6.42	0.052 2
纯误差	0.080	4		
总相关	92.43	16		
R^2	0.988 5			
RSD,%	3.09			

由表 4 中离均差平方和可知,各因素影响顺序依次为 $X_3>X_2>X_1$,即 PAAS>甘氨酸铝>PVA。由表 4 可知, X_3 、 X_2 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 均具有显著性差异,表明各个因素之间存在较为显著的交互作用,在各因素中 PAAS 影响最大,其次为甘氨酸铝。

2.4.4 响应面法 PVA、甘氨酸铝、PAAS 用量对综合评分的响应面图和等高线图见图 1。

由图 1 可知,响应面均较为弯曲,等高线均呈椭圆形,说明各个因素之间具有显著性交互作用,这和方差分析的结果相

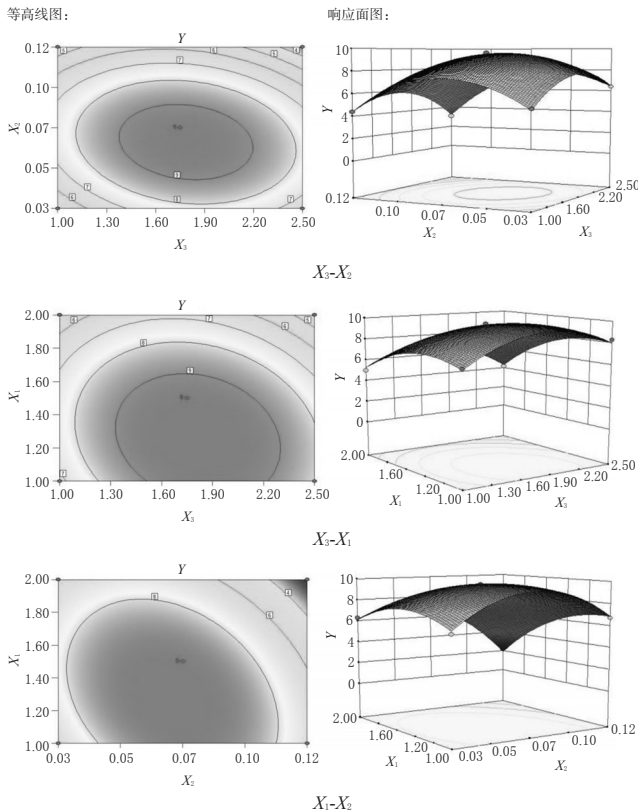


图1 PVA (X_1)、甘氨酸铝 (X_2)、PAAS (X_3) 用量对综合评分 (Y) 的响应面图和等高线图

Fig 1 Response surface graph and contour plot of PVA (X_1), aluminum glycinate (X_2) and PAAS (X_3) to comprehensive score (Y)

一致。由等高线图可知,各因素取值均在较佳范围内,由 Design Expert 软件优选出凝胶膏剂最优基质量量为 PAAS 2.35 g、甘氨酸铝 0.1 g、PVA 1.0 g。

2.4.5 验证试验 按最优基质量量制备凝胶膏剂,并对其外观性状、初黏力、持黏力、剥离强度进行综合评分,重复试验 3 次。结果显示,综合评分分别为 9.4、9.5、9.7,预测值为 9.6,其相对误差分别为 2.08%、1.04%、1.04%。

2.5 盐酸氨溴索凝胶膏剂含量的测定

2.5.1 供试品溶液的制备 取盐酸氨溴索凝胶膏剂除去覆盖,剪成细块,取 1.0 g,精密称定,置于 50 ml 圆底烧瓶中,加入甲醇 20 ml,密封,超声 30 min。提取液转移至 25 ml 量瓶,用甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.22 μm 滤膜,取续滤液,即得。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸氨溴索对照品适量,加流动相制备成 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液,备用。

2.5.3 色谱条件^[9-10] 色谱柱为 Kromacil C_{18} (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.01 mol/L 磷酸氢二铵水溶液-乙腈 (50:50); 流速为 1.0 ml/min; 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 248 nm。在该色谱条件下,各组分分离良好,盐酸氨溴索的出峰时间约为 14 min,其他组分不干扰其测定。

2.5.4 方法学考察 按方法学考察相关方法进行试验。盐酸氨溴索峰面积 (A) 与质量浓度 (c) 的回归方程为 $A=3.16 \times 10^4 c - 237.6$ ($r=0.9999$),线性范围为 0.5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$;精密密度试验 RSD=0.70% ($n=6$),重复性试验 RSD=0.62% ($n=6$),48 h 内稳定性试验 RSD=1.54% ($n=6$);平均加样回收率为 99.89% (RSD=1.10%, $n=6$)。

2.6 离体透皮试验

2.6.1 鼠皮的制备^[11-13] 小鼠脱去腹部毛发,生理盐水洗净,断颈处死,剪下腹部皮肤,剔除皮连组织,用生理盐水反复冲洗干净,置生理盐水中于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

2.6.2 试验方法 将盐酸氨溴索凝胶膏剂紧贴于鼠皮上,并固定于改良 Franz 扩散池的接收池与供给池之间,角质层朝上,真皮层朝下,接收池小心注入 50% 生理盐水乙醇溶液,排尽气泡。38 $^{\circ}\text{C}$ 水浴,搅拌速率 100 r/min。分别于 2、4、8、12、24 h 移取接收液 5 ml,同时补加等量的新鲜接收介质。接收液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后测定其中盐酸氨溴索的含量,计算累积渗透量 (Q) [$Q=(C_i V + \sum C_{i-1} V)/A$,式中 C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$), C_{i-1} 为第 $i-1$ 个取样点测得的药物质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$), A 为渗透面积 (2.92 cm^2), V 为接收池的体积 (18.5 ml), V 为取样量 (10 ml)]。以 Q 对 t 进行回归分析,得方程为 $Q=9.472t-2.428$ ($r=0.994$),滞后时间为 0.256 h, $Q_{24\text{h}}$ 为 226.865 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,透皮速率为 9.472 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ 。

3 讨论

本试验在单因素考察基础上,采用 Box-Behnken 法对方进行了优化,通过对响应面图、等高线图、方差的分析,对影响响应值的各因素水平及其交互作用进行优化和评价,并对最佳处方进行了验证。与目前普遍采用的正交设计和均匀设计优化工艺相比,本法模型准确、可靠,适合于非线性拟合。药物透皮特性是评价凝胶膏剂主要指标。有效成分从高分子骨架材料中释放出来,通过皮肤外表皮,渗透进入体内发挥作用,所以,对凝胶膏剂体外透皮特性进行研究意义重大。本研究利用改良 Franz 扩散池法,对凝胶膏剂进行了 24 h 透皮吸收试验。结果证明,其 24 h 内透皮曲线线性拟合良好,符合零级动力学模型,属于皮控型给药系统,且具有较好释药性能。

参考文献

- [1] 何杰,高永良.盐酸氨溴索的制剂学研究新进展[J].中国药业,2010,19(2):15.
- [2] 赵建波,黄娜,金锋.35例盐酸氨溴索制剂致不良反应文献分析[J].中国药物评价,2012,29(4):296.
- [3] 林媛媛,刘静,王冬梅,等.Box-Behnken 试验设计法优化宝泻灵凝胶膏剂处方及其体外透皮特性研究[J].中草药,2014,45(9):1238.
- [4] 鹿静,魏希颖,张琼,等.灯盏花素巴布剂的处方优选[J].中成药,2013,35(3):504.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:130.
- [6] 刘艳杰,项荣武.星点设计效应面法在药学试验设计中的应用[J].中国现代应用药学,2007,24(6):455.
- [7] 张洪兵,朱雪瑜,张铁军,等.星点设计-效应面优化法优选复方止痛巴布剂基质处方[J].中草药,2013,44(8):985.
- [8] 张艳,李永哲.响应面法及其在药学领域中的应用[J].吉林化工学院学报,2012,29(7):20.
- [9] 付建,苏贵勇,赵海桥.HPLC 法测定盐酸氨溴索注射液的含量和有关物质[J].齐鲁药事,2012,31(2):84.
- [10] 王博,李洪起,徐芳,等.HPLC 法测定盐酸氨溴索注射液中有关系物质[J].现代药物与临床,2012,27(3):226.
- [11] 何嘉仑,唐洪梅,涂星.吴茱萸提取物的透皮吸收促进剂的筛选[J].中成药,2013,35(6):1184.
- [12] 祁艳,陈军,李磊,等.不同促渗剂对马钱子碱贴剂体外透皮吸收的影响[J].中国药房,2011,22(3):195.
- [13] 吴蔚苗,罗锦莹.吴茱萸超微粉巴布剂促渗剂的优选[J].中国药房,2016,27(1):50.

(收稿日期:2016-02-23 修回日期:2016-05-26)

(编辑:邹丽娟)