

小茴香油微乳凝胶的制备及其体外透皮促渗行为研究

陆姗姗^{1,2a}, 陈军^{2a,2b*}, 赵玉荣¹, 徐怡冰¹, 张曼琦¹, 李浩榕¹ (1.南京中医药大学翰林学院, 江苏 泰州 225300; 2.南京中医药大学, a.江苏省中医外用开发与应用工程研究中心, b.江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 南京 210023)

摘要: 目的 优化筛选出小茴香油微乳凝胶的最佳处方组成, 并考察小茴香油微乳凝胶的体外透皮性能。方法 采用星点设计效应面法分别优化了微乳和微乳凝胶的处方, Franz 扩散池法考察小茴香油微乳及其凝胶的体外透皮性能。结果 微乳最优处方为油相: 乳化剂和助乳化剂(吐温-80: 二乙二醇单乙基醚=2.5: 1): 水=20: 27.6: 52.4, 进一步制备得到了小茴香油微乳凝胶。小茴香油微乳的流动性及稳定性好, 平均粒径为(42.03±0.9)nm、多分散性指数为(0.154±0.005)。小茴香油微乳凝胶均匀细腻, 易涂展, 有一定流动性, 为乳白色半透明半固体凝胶。体外透皮性能结果表明小茴香油作为油相, 制备成微乳和微乳凝胶, 其体外透皮吸收量分别提高了 3, 4 倍。结论 该研究为小茴香油的制剂技术奠定了基础, 也为挥发油类药物的广泛应用提供了理论依据。

关键词: 小茴香油; 微乳; 微乳凝胶; 星点设计-效应面法; 经皮渗透

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)08-1067-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.08.010

引用本文: 陆姗姗, 陈军, 赵玉荣, 等. 小茴香油微乳凝胶的制备及其体外透皮促渗行为的研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(8): 1067-1074.

Research on Preparation of Fennel Oil Microemulsion and Promotion of Transdermal Permeability *in Vitro*

LU Shanshan^{1,2a}, CHEN Jun^{2a,2b*}, ZHAO Yurong¹, XU Yibing¹, ZHANG Manqi¹, LI Haorong¹ (1.Hanlin College, Nanjing University of Chinese Medicine, Taizhou 225300, China; 2.Nanjing University of Chinese Medicine, a.Jiangsu Provincial Engineering Research Center of TCM External Medication Development and Application, b.Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the optimal formulation composition of fennel oil microemulsion gel and to investigate its transdermal performance *in vitro*. **METHODS** The formulations of microemulsion and microemulsion gel were optimized by central composite design-response surface method, and the transdermal properties of the microemulsion and its gel were investigated by Franz diffusion pool method. **RESULTS** The optimal formula of microemulsion was oil phase: emulsifier and co-emulsifier(Tween-80: diethylene glycol monoethyl ether=2.5: 1): water=20: 27.6: 52.4, and the microemulsion gel of fennel oil was prepared. The microemulsion of fennel oil had good fluidity and stability, the average particle size was (42.03±0.9)nm, and the polydispersion coefficient(PDI) was (0.154±0.005). The obtained microemulsion gel of fennel oil was uniform and delicate, easy to spread, and had a certain fluidity. It was an opalescent translucent semi-solid gel. The results of *in vitro* transdermal performance showed that microemulsion and microemulsion gel were prepared from fennel oil as oil phase, and the *in vitro* transdermal absorption of fennel oil was increased by 3 times and 4 times respectively. **CONCLUSION** This study lays a foundation for the preparation technology of fennel oil and provides a theoretical basis for the extensive application of volatile oil drugs.

KEYWORDS: fennel oil; microemulsion; microemulsion gel; central composite design-response surface method; transdermal permeability

小茴香油是从小茴香中提取的无色或淡黄色液体, 其主要成分为反式茴香脑、茴香醚、小茴香酮、蒎烯、苈烯等物质^[1-2], 具有抗菌、抗氧化、抗炎、调节胃肠机能等多种药理作用, 但小茴香油有挥发性、溶解性差、稳定性差, 需要选用合适的制剂技术提高小茴香油的生物利用度^[3]。

微乳是由水相、油相、乳化剂及助乳化剂按适当的比例制成的粒径为 10~100 nm 的热力学稳定的胶体体系^[4]。研究发现将中药挥发油载入油相中, 能发挥中药挥发油的药理作用, 并能减少油相辅料的应用, 促进药物的透皮吸收, 增加药物的透皮吸收量^[5-7]。但是微乳的流动性强, 黏附性

基金项目: 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室资助项目(JKLPS201808); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目(ZDXM-2020-1); 江苏省大学生创新创业训练计划一般项目(201913981002Y); 江苏省高等学校(自然科学)面上项目(21KJB360020)

作者简介: 陆姗姗, 女, 硕士, 讲师 E-mail: shizhe_lu@163.com

***通信作者:** 陈军, 男, 博士, 教授 E-mail: chenjun75@163.com

差,因此,本实验进一步制备成适合经皮给药的微乳凝胶。微乳凝胶既解决了疏水性药物难溶的问题,又提高了微乳水相的黏度,稳定性高,生物利用度高,同时具有长效缓释作用,是一种极具潜力的透皮给药剂型^[8]。

本研究针对小茴香油溶解度低,易挥发,易被氧化的问题,结合微乳凝胶的优势,建立了一种稳定、高效、安全的药物透皮传递系统。将小茴香油制成微乳凝胶,并考察其体外透皮性能,以期达到增加药物溶解度、改善皮肤渗透性、提高生物利用度的目的^[9]。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司,紫外检测器);SL1020HK 多功能酶标仪(Thermo);VORTEX-6 漩涡混匀器(Qilinbeier);雷磁 PHS-25 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);RYJ-128 药物透皮扩散仪(上海黄海药检仪器有限公司);NDJ-1S 数显旋转黏度计(上海方瑞仪器有限公司);移液枪(Thermo Scientific);TGL-168 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);ME104E 万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];HH-4 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂);LXJ-B 低速大容量多管离心机(上海安亭飞鸽仪器有限公司);DHG-914385 鼓风干燥箱(厦门斯特全德信公司)。

卡波姆 934(河北冠朗生物科技有限公司,CAS 号:9007-20-9);三乙醇胺(中国医药集团,CAS 号:102-71-6);异丙醇(CAS 号:67-63-0)、无水乙醇(CAS 号:64-17-5)、冰乙酸(色谱,CAS 号:64-19-7)均购自上海沪试化工有限公司;反式茴香脑(CAS 号:4180-23-8;色谱纯度 $\geq 98\%$,批号:Y24N6S6391)、蓖麻油(CAS 号:8001-79-4)、吐温-80(CAS 号:9005-65-6)、二乙二醇单乙基醚(CAS 号:111-90-0)、1,2-丙二醇(CAS 号:57-55-6)、聚乙二醇 400(CAS 号:25322-68-3)、油酸(CAS 号:112-80-1)、肉豆蔻酸异丙酯(CAS 号:110-27-0)、油酸聚乙二醇甘油酯(CAS 号:85536-07-8)均购自上海源叶生物科技有限公司;小茴香药材(南通三越中药饮片有限公司;批号:170502);甲醇(色谱级,CAS 号:67-56-1)、乙腈(色谱级,CAS 号:75-05-8)均购自南京晚晴化玻仪器有限公司;其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 反式茴香脑含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×

150 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-水-冰乙酸(55:45:0.03);流速:0.8 mL·min⁻¹;检测波长:260 nm;柱温:25 °C;检测时间:20 min;进样量:5 μ L。在此色谱条件下,对照品的色谱图见图 1。

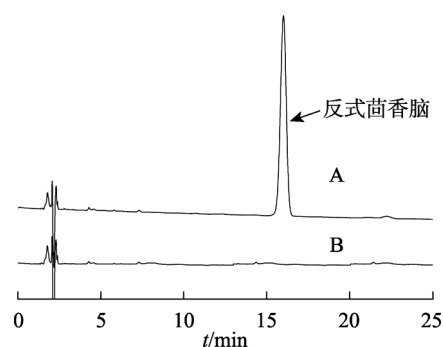


图 1 反式茴香脑对照品的 HPLC 图谱

A-反式茴香脑对照品溶液;B-空白无水乙醇溶液。

Fig. 1 HPLC analysis of trans-anethole brain reference
A-trans-anethole standard solution; B-blank ethanol solution.

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取反式茴香脑 20 mg,加入无水乙醇溶解定容至 25 mL 量瓶中,摇匀,制得浓度为 0.8 mg·mL⁻¹的对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密量取 50 mg 小茴香油于 50 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并定容,摇匀,精密吸取 2 mL 于 25 mL 量瓶中,用无水乙醇定容,摇匀,即得供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的建立 精密吸取对照品储备液 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mL 于 25 mL 量瓶中,用无水乙醇定容,摇匀,得浓度分别为 3.2, 9.6, 16, 32, 64, 128, 192 μ g·mL⁻¹,按“2.1.1”项下色谱条件测定峰面积。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,建立线性回归方程: $Y=24.601X-53.891$, $r=0.9997$ 。结果表明,反式茴香脑在 3.2~192 μ g·mL⁻¹内线性关系良好。

2.1.5 加样回收率试验 取已知浓度的供试品溶液 9 份,精密吸取对照品溶液加入其中,加入量为供试品溶液的 80%,100%和 120%,每组平行 3 份,摇匀,进样检测,测定反式茴香脑的含量,计算反式茴香脑峰面积的回收率分别为 99.8%,99.9%和 100.1%,其 RSD 分别为 0.18%,0.66%和 0.11%,表明回收率好。

2.1.6 仪器精密度试验 精密吸取 32 μ g·mL⁻¹的对照品溶液,连续进样 6 次,计算反式茴香脑峰面积的 RSD 为 0.12%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶

液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样检测, 结果反式茴香脑峰面积的 RSD 为 0.26%, 表明供试品溶液室温放置 10 h 内基本稳定。

2.2 各处方组成对小茴香油的溶解度考察

取 1 g 小茴香挥发油分别与 1 mL 的油、乳化剂和助乳化剂共置于离心管中, 涡旋 45 min, 以 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min。取试剂层经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 用甲醇稀释 25 000 倍后, 用 HPLC 测定反式茴香脑的量, 计算反式茴香脑在不同油相、乳化剂和助乳化剂中的溶解度。结果见表 1。

表 1 各处方组成对反式茴香脑的溶解度考察($n=3$)
Tab. 1 Solubility of various ingredients of trans-anethole ($n=3$)

处方组成	试剂	反式茴香脑溶解度/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
乳化剂	吐温-80	$2\,902.5\pm 0.36$
	油酸聚乙二醇甘油酯	$2\,530.0\pm 0.43$
	油酸	$2\,577.5\pm 0.12$
油相	蓖麻油	$3\,790.0\pm 0.06$
	肉豆蔻酸异丙酯	$2\,952.5\pm 0.25$
	大豆油	$2\,910.0\pm 0.09$
助乳化剂	二乙二醇单乙基醚	$2\,835.0\pm 0.13$
	无水乙醇	$2\,825.0\pm 0.46$
	1,2-丙二醇	737.5 ± 0.04

根据溶解度试验可看出, 小茴香油在乳化剂吐温-80 中的溶解度较大, 故直接选定吐温-80 为乳化剂。由于小茴香油 1,2-丙二醇中溶解度太低, 因此助乳化剂将在无水乙醇、二乙二醇单乙基醚中筛选得到。油相肉豆蔻酸异丙酯、大豆油和蓖麻油对小茴香油均有较强的溶解能力, 有待进一步筛选。

2.3 空白微乳处方筛选

采用 96 孔板稀释的方法绘制伪三元相图筛选油相。首先固定乳化剂与助乳化剂的比为 2, 以吐温-80 为乳化剂, 分别以无水乙醇和二乙二醇单乙基醚为助乳化剂, 肉豆蔻酸异丙酯、大豆油和蓖麻油为油相。

具体操作如下^[10]: 将油相(肉豆蔻酸异丙酯)和乳化剂(吐温-80: 无水乙醇=2)的混合物从 $A_1\ 200\text{ }\mu\text{L}$, $A_4\ 190\text{ }\mu\text{L}$ …… $F_3\ 0\text{ }\mu\text{L}$, 减幅为 $10\text{ }\mu\text{L}$, 每个孔做 3 个复孔, 水则从 $A_1\ 0\text{ }\mu\text{L}$, $A_4\ 10\text{ }\mu\text{L}$ …… $F_3\ 200\text{ }\mu\text{L}$, 增幅为 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。将填充好的 96 孔板置于振荡器上振摇 30 min, 使混合均匀, 用多功能酶标仪于 630 nm 处测定吸光度, 其吸光度反映的

是溶液的透光性, 当溶液澄清透明时吸光度小, 浑浊时, 吸光度大, 突然变大变小的点为临界点, 选择临界点进行伪三元相图的绘制, 结果见图 2(阴影区域为微乳区域)。

通过 Origin 8 分析软件作图, 将油相、水相、混合乳化剂作为伪三元相图中的 3 个顶点进行绘制, 将能形成澄清或带有蓝色乳光的实验点定为可形成微乳的处方点, 连接这些点与水相顶点形成的封闭区域, 即为微乳区域, 以该区域面积为指标确定实验结果, 结果见图 2。

由图 2 可知, 助乳化剂分别为无水乙醇和二乙二醇单乙基醚时, 油相为肉豆蔻酸异丙酯时, 所成的曲线下面积最大。以吐温-80 为乳化剂, 肉豆蔻酸异丙酯为油相, 无水乙醇或二乙二醇单乙基醚为助乳化剂。考察乳化剂与助乳化剂的比例分别为 1:1, 2:1, 3:1; 再与油相按 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 8:2, 9:1 混合均匀, 按上述 96 孔板法进行操作, 扫板, 结果见图 3。

图 3 为乳化剂与助乳化剂的比 $K_m=2$ 时, 不同助乳化剂所形成的微乳面积, 结果表明, 助乳化剂为二乙二醇单乙基醚时, 其形成的微乳面积最大, 故选择乳化剂为吐温-80, 助乳化剂为二乙二醇单乙基醚, 且乳化剂和助乳化剂的比值为 2:1。

2.4 星点设计-效应面法优化处方

根据前期预实验及单因素考察的结果, 选择对形成微乳较显著的 3 个因素, 即油相的质量分数(X_1)、乳化剂与助乳化剂的比 $K_m(X_2)$ 、混合乳化剂与油的比(X_3), 因素水平见表 2, 其中 X_1 范围 0.2~0.8, X_2 范围 1~4, X_3 范围 0.25~2.5, 采用 3 因素 3 水平的星点设计优化处方, 根据 17 个处方所得乳剂的粒径 $Y_1(\text{nm})$ 进行评价。

通过表 3 中粒径的结果可以看出, 微乳的粒径随着油相比例的增加而变大。根据效应面图和拟合方程, 选择粒径小, 乳化剂和含油量适中的最优处方, 最终确定结果: $X_1=0.2$, $X_2=2.5$, $X_3=1.38$, 油相所占质量分数为 20%, 乳化剂和助乳化剂(吐温-80: 二乙二醇单乙基醚=2.5:1)占总的 27.6%, 水为 52.4%。采用 Design Expert 8.0 软件对实验数据进行二项式拟合, 方程如下: $R_1=85.76+68.35X_1-2.14X_2+5.69X_3-3.15X_1X_2+11.95X_1X_3-1.87X_2X_3+19.78X_1^2+6.06X_2^2-7.89X_3^2$ ($R^2=0.990\,6$, $P<0.000\,1$)。

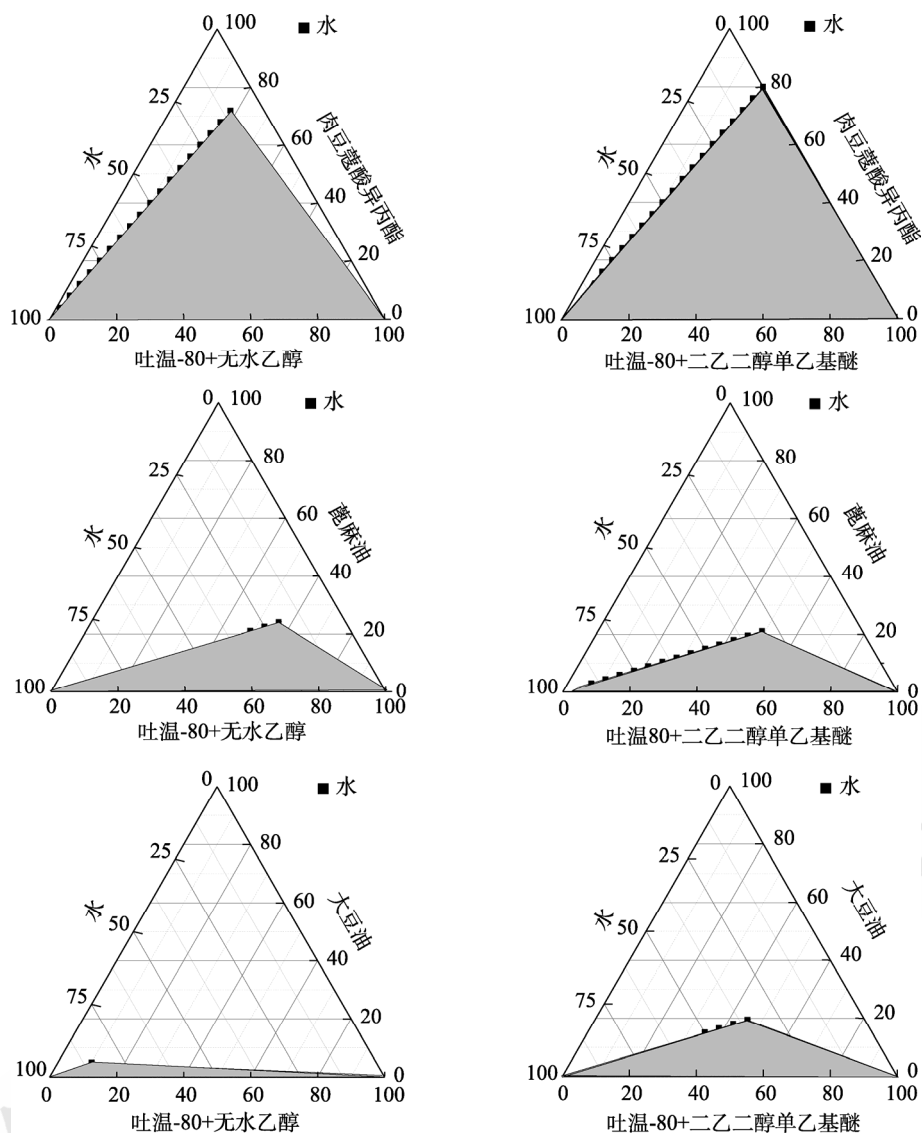


图2 伪三元相图-不同的油相绘制得到的微乳区域

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram-microemulsion regions drawn with different oil phases

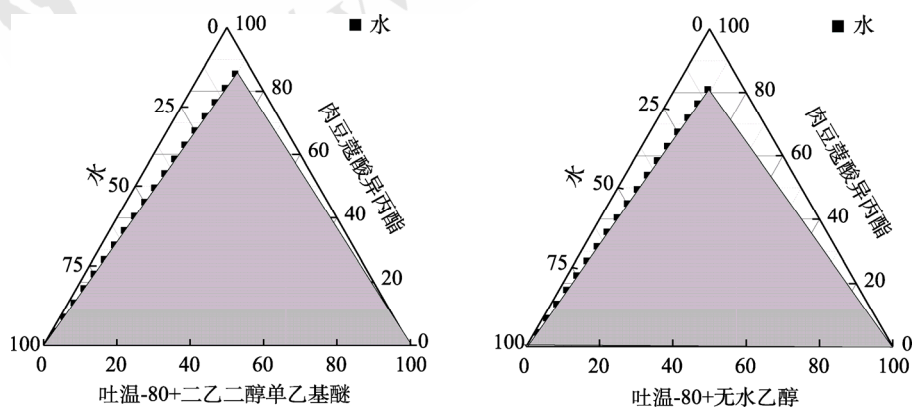


图3 $K_m=2$ 时微乳的伪三元相图分析结果

Fig. 3 Analysis results of the pseudo-ternary phase diagrams of the microemulsion at $K_m=2$

用上述确定的比例下平行制备3批的空白微乳并进行验证,外观形状为澄清、均一液体。粒径及其分布:采用粒度仪测得空白微乳的粒径($39.03 \pm$

0.5)nm、多分散性指数(polydispersion coefficient, PDI)= (0.174 ± 0.004) , $10\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,不分层。

表 2 星点设计的因素水平

Tab. 2 Factor level of star design

变量	水平		
	-1	0	1
X_1	0.2	0.5	0.8
X_2	1	2.5	4
X_3	0.25	1.38	2.5

表 3 星点设计表及评价

Tab. 3 Table and evaluation of star design

编号	油相的质量分数	乳化剂与助乳化剂的比	混合乳化剂与油的比	平均粒径/nm
1	0.8	1	1.38	191.5
2	0.8	4	1.38	180.5
3	0.2	2.5	0.25	38.5
4	0.5	2.5	1.38	84.4
5	0.5	1	2.5	90.3
6	0.5	2.5	1.38	84.2
7	0.2	2.5	2.5	32.2
8	0.2	4	1.38	38.0
9	0.2	1	1.38	36.4
10	0.8	2.5	2.5	180.7
11	0.5	2.5	1.38	85.8
12	0.5	2.5	1.38	88.7
13	0.5	4	2.5	82.7
14	0.5	2.5	1.38	85.7
15	0.8	2.5	0.25	139.2
16	0.5	1	0.25	81.4
17	0.5	4	0.25	81.3

2.5 小茴香油微乳的制备

取空白微乳，将肉豆蔻酸异丙酯与小茴香油分别以 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 比例进行混合，观察制备好的小茴香油微乳的形态，光泽等外观。并通过丁达尔效应得出小茴香油 : 肉豆蔻酸异丙酯 = 1 : 1 的效果最佳，由此得出处方为油相(肉豆蔻酸异丙酯 : 小茴香油 = 1 : 1)所占质量分数为 20%，乳化剂和助乳化剂(吐温-80 : 乙二醇单乙基醚 = 2.5 : 1)占总的 27.6%，水为 52.4%，重复实验 3 次，最终获得小茴香油微乳。

2.6 小茴香油微乳的质量评价

2.6.1 pH 值和黏度的测定 配制 pH 值 6.86 的标准缓冲液和 pH 4.00 的标准缓冲液，用标准缓冲液两点校正 pH 计后，用 pH 计测定小茴香油微乳的 pH 值。测得 pH 值为 6.51。采用黏度计测定，小茴香油微乳的黏度为 274 mPa·s(张角 50.3%)。

2.6.2 粒径和电导率 小茴香油微乳的平均粒径为(42.03±0.9)nm、PDI 为(0.154±0.005)，平均电导率为 14.6 μS·cm⁻¹。

2.6.3 稳定性考察 取 1 mL 制备好的小茴香油微乳到 2 mL 的离心管中，放入高速离心机，在 10 000 r·min⁻¹，10 min 的条件下离心。小茴香油微乳未出现分层现象，稳定性较好。

在(40±2)℃和相对湿度(75±5)%条件放置 30 d 后，小茴香油微乳的平均粒径为(45.12±0.4)nm、PDI 为(0.138±0.015)，平均电导率为 15.3 μS·cm⁻¹，微乳没有相分离或药物沉淀的迹象，且小茴香油的含量并未见降低，表明小茴香油微乳在此条件下稳定。

3 小茴香油微乳凝胶的制备

3.1 卡波姆 934 用量的考察

量取 50 mL 稀释后的小茴香油微乳 4 份，分别加入 0.3%，0.6%，0.9%，1.2%卡波姆 934，静置 24 h，待其充分溶胀，调节 pH 至 6.0，考察其外观性状、成型性、黏稠度、涂展性。

凝胶基质的黏稠度随着卡波姆用量的增加而增强，当卡波姆用量为 0.9%时，基质成型且有一定黏稠性，并且具有良好涂展性。结果见表 4。

表 4 卡波姆用量的考察

Tab. 4 Investigation of carbomer dosage

用量/%	外观性状	成型性	黏稠度	涂展性
0.3	乳白色	未成型	较稀	易涂展
0.6	乳白色，半固体	成型	适中	易涂展
0.9	乳白色，半固体	成型	适中	易涂展
1.2	乳白色，半固体	成型	过于黏稠	厚重，慢速涂展

3.2 丙三醇用量的考察

精密量取 50 mL 稀释后的小茴香油微乳 4 份，分别加入 0.9%卡波姆 934，1 份作对照品，另外 3 份分别加入 2%，4%，6%丙三醇，静置 24 h，待其充分溶胀，调节 pH 至 6，考察其外观性状、成型性、黏稠度、涂展性及黏度(4 号转子，12 r·min⁻¹)。

结果见表 5。结果表明，定量卡波姆用量下，凝胶基质的黏度和黏稠度随着甘油用量增加而增强。甘油用量为 2%时，基质黏度明显增强，流动性适中。

表 5 丙三醇用量考察结果

Tab. 5 Results of glycerol dosage

用量/%	外观性状	黏稠度	涂展性	黏度/mPa·s	张角/%
0	乳白色	较稀	极易涂展	10 406	17.8
2	乳白色	适中	易涂展	16 562	37.7
4	乳白色	适中	易涂展	15 986	29.9
6	乳白色	黏稠	易涂展	26 493	22.7

3.3 pH 值的考察

精密量取 50 mL 稀释后的小茴香油微乳 4 份, 分别加入 0.6%卡波姆和 4%丙三醇, 静置 24 h, 待其充分溶胀后, 加入适量 20%三乙醇胺调节 pH 至 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 考察其外观性状、成型性、黏稠度、涂展性及黏度(4 号转子, 12 r·min⁻¹)。

结果表明, 凝胶基质的黏稠度随着 pH 增加而增强, 接近皮肤 pH 为 6.0 时, 具有良好涂展性, 结果见表 6。

表 6 pH 值考察结果

Tab. 6 pH value results

pH 值	外观性状	成型性	黏稠度	涂展性	黏度/ mPa·s	张角/ °
4.0	乳白色	成型	较稀	极易涂展	15 263	34.4
5.0	乳白色	成型	适中	易涂展	32 686	52.8
6.0	乳白色	成型	适中	易涂展	34 091	62.9
7.0	乳白色	成型	较黏稠	慢速涂展	36 286	52.6

3.4 响应面法优化凝胶处方

以卡波姆用量、甘油用量、pH 值为实验因素, 因素与水平见表 7, 以微乳凝胶的外观性状、流动性、涂展性、黏稠度为评价指标, 4 个指标各 25 分, 评价总分为响应值, 总分 100 分。其中, 外观性状均匀细腻, 呈乳白色半透明半固体状为 25 分; 流动性适中为 25 分, 流动过快/过慢为 15 分; 黏稠度适中为 25 分, 黏性过强或质地过稀为 15 分; 易于涂展为 25 分^[11-12]。根据单因素考察法结果, 3 因素 3 水平设计结果见表 7, 响应面法试验及结果见表 8、图 4。

表 7 因素与水平设计结果

Tab. 7 Factors and horizontal design results

因素	水平		
	-1	0	+1
X ₁ (卡波姆用量, %)	0.6	0.8	1.0
X ₂ (甘油用量, %)	3	4	5
X ₃ (pH)	5.5	6.0	6.5

通过响应面法的筛选, 最终结果见图 4, 得出最优微乳凝胶处方: 0.748%卡波姆、4.08%甘油、pH 为 6.5。稀释小茴香油微乳后加入卡波姆 934 和甘油润湿, 搅拌均匀, 溶胀 24 h 后, 滴加少许 20%三乙醇胺使其成型, 测量 pH 后继续滴加, 使其 pH 达到 6.5, 即得均匀细腻、易涂抹、有一定的黏性的乳白色半透明半固体凝胶, 平行 3 份, 质量评价合格。

表 8 响应面法试验设计

Tab. 8 Experimental design of response surface method

编号	X ₁ /%	X ₂ /%	X ₃	外观性 状评分	涂展性 评分	流动性 评分	黏稠性 评分	综合 评分
1	1.0	3	6.0	20	25	15	15	75
2	0.6	4	6.5	25	25	15	25	90
3	0.6	5	6.0	20	25	25	15	85
4	0.8	4	6.0	20	25	25	25	95
5	0.8	3	6.5	20	20	25	25	90
6	0.8	4	6.0	25	25	25	15	90
7	0.8	5	5.5	25	15	25	15	80
8	0.8	3	5.5	20	25	15	15	75
9	0.8	4	6.0	20	25	25	15	85
10	0.6	3	6.0	15	25	15	15	70
11	0.8	4	6.0	25	15	25	25	90
12	1.0	5	6.0	20	25	15	25	85
13	0.8	4	6.0	15	25	25	25	90
14	1.0	4	5.5	25	25	15	15	80
15	0.8	5	6.5	20	25	25	15	85
16	1.0	4	6.5	25	25	15	15	80
17	0.6	4	5.5	20	25	25	15	85

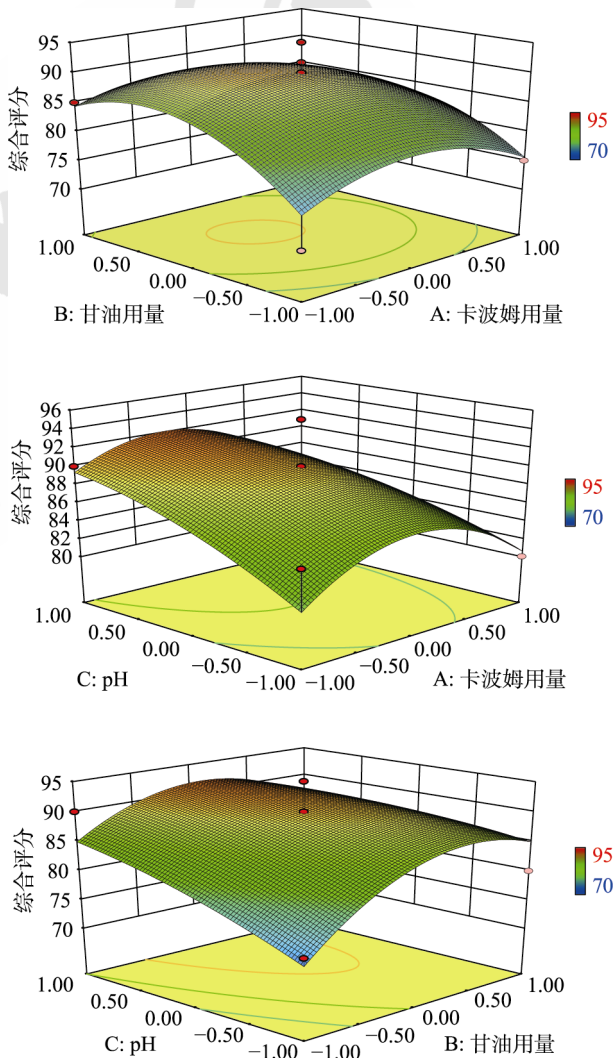


图 4 响应面法考察微乳凝胶的处方结果

Fig. 4 Prescription results of microemulsion gel investigated by response surface method

3.5 小茴香油微乳凝胶的质量评价

3.5.1 外观形状 制备3批小茴香油微乳凝胶均为均匀细腻,易涂展,有一定流动性的乳白色半透明半固体凝胶。

3.5.2 稳定性考察 取3批各1.5 mL微乳凝胶,在10 000 r·min⁻¹速度下,离心30 min,与离心前对比,微乳凝胶除去气泡,仍是均匀细腻,涂展性良好的乳白色半透明半固体凝胶,见图5。

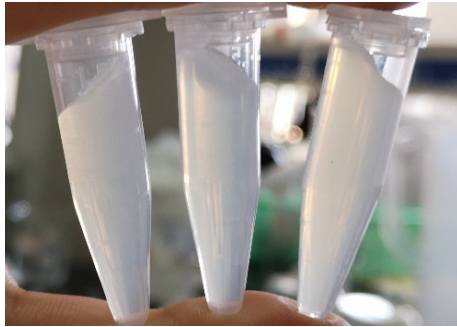


图5 离心后的微乳凝胶的形态

Fig. 5 Morphology of the microemulsion gel after centrifugation

将上述3批微乳凝胶在(40±2)℃和相对湿度(75±5)%条件放置30 d后,微乳凝胶未发生显著变化,没有相分离或药物沉淀,表明小茴香油微乳凝胶稳定。

3.5.3 黏度 小茴香油微乳凝胶黏度为4 919 mPa·s(张角45.5%),是小茴香油微乳274 mPa·s(张角50.3%)的17.9倍,说明小茴香油微乳凝胶相较于微乳的生物黏附性更强。

4 Franz 扩散池法体外透皮试验^[13]

4.1 离体动物皮的制备

剔除大鼠背部毛后断颈处死,剥离背部无损伤皮肤,小心除去皮下脂肪组织和血管,用生理盐水冲洗干净,置于4℃冰箱保存,24 h内使用^[14]。

4.2 透皮试验方法

将离体皮肤(含毛的面向上)固定在扩散池装置上,向接收池中加入20%乙醇-生理盐水接收液,排尽皮肤下的气泡,将恒温水浴温度调至37℃,预热30 min。分别向供给池中加入小茴香油微乳、小茴香油微乳凝胶和小茴香油(平行3份),使其均匀分布在离体鼠皮表面,分别于1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h取样0.2 mL,并迅速补充同体积等温度的空白接收液,稀释后,用高效液相色谱法测定反式茴香脑的含量,计算各时间点的反式茴香脑的体外经皮渗透动力学参数稳态透皮速率(J_s),

$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)和单位面积累积透皮量(Q_n , $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$),公式如下:

$$Q_n = \left(VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 0.2 \right) / A$$
$$J_s = dQ/dt$$

式中, V 为接收液体积; A 为皮肤有效透皮面积(2.8 cm²); C_i 为第*i*($i \leq n-1$)个取样点的药物浓度, J_s 为稳态透皮速率。结果见图6和表9。

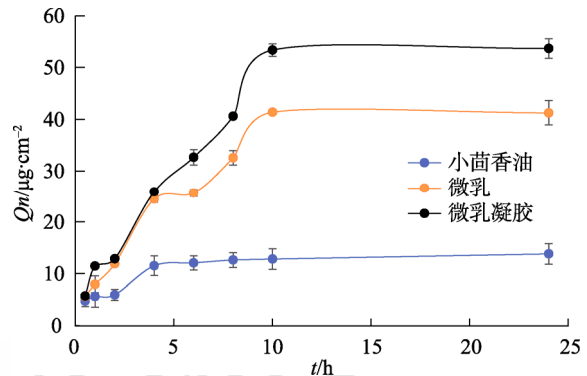


图6 小茴香油、小茴香油微乳、小茴香油微乳凝胶的体外透皮的单位面积累积透皮量

Fig. 6 In vitro percutaneous penetration of fennel oil, fennel oil microemulsion and fennel oil microemulsion gel

表9 不同制剂的经皮渗透试验结果

Tab. 9 Percutaneous penetration test results of different preparations

制剂	经皮渗透回归曲线	$Q_{24}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	$J_s/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$
小茴香油	$y=0.364\ 2x+7.370\ 1$	13.81	0.364 2
小茴香油微乳	$y=1.521\ 8x+13.30\ 6$	41.27	1.521 8
小茴香油微乳凝胶	$y=2.054\ 9x+15.28\ 3$	53.67	2.054 9

不同制剂的经皮渗透的实验结果如表9所示:小茴香油微乳凝胶的单位面积累积渗透量为53.67 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,明显优于微乳,而这两者又明显优于小茴香油的透皮性能。

5 讨论

小茴香油同许多中药挥发油一样,容易挥发,其溶解度和稳定性较差,需要采用合适的制剂技术来改善,本实验通过伪三元相图和星点效应面法相结合,最终确定处方比例为油相:乳化剂和助乳化剂:水相=20:27.6:52.4的小茴香油微乳,其粒度为(42.03±0.9)nm、PDI为(0.154±0.005),且具有良好的溶解性和稳定性,为中药挥发油新剂型的研究和发展提供了可靠的依据^[15]。

通过单因素考察和响应面法相结合考察微乳凝胶的处方,在稀释的小茴香油微乳中加入

0.748%卡波姆 934 和 4.08%甘油润湿,搅拌均匀,溶胀 24 h 后,滴加少许 20%三乙醇胺使其 pH 达到 6.5,得质量评价合格的均匀细腻、易涂抹、有一定的黏性的乳白色半透明半固体微乳凝胶。得到的微乳凝胶黏附性和涂布性更高,稳定性好。由于凝胶基质的网状结构使其具有较好的载药能力;同时构成微乳的表面活性剂和助表面活性剂是良好的透皮吸收促进剂,能大大地提高皮肤屏障的渗透速度,提高生物利用度更高。

体外渗透性是考察透皮制剂释放规律的重要指标,本研究中透皮吸收试验结果表明,小茴香油微乳和微乳凝胶的单位面积累积透皮量分别为小茴香油的 3, 4 倍,大大地提高了脂溶性药物的透皮效率^[16-18]。而微乳凝胶的单位面积的累积透皮渗透量优于微乳,这可能是因为卡波姆是一种水溶性聚合物的凝胶基质,与皮肤接触时能润湿皮肤,增加皮肤的水合作用,从而利于其透皮吸收,但到 10 h 以后,药物的单位面积累积透皮量不再增加,有可能是处方中的卡波姆 934 黏度较大,药物从凝胶的网状结构中渗透较难,也可能是加入卡波姆 934 后使得微乳凝胶变成秩序更高的结构,从而不利于药物全部释放出来^[19-20]。

本研究以小茴香油为模型药物,制备形成了微乳制剂,并通过凝胶基质的加入,解决了微乳的流动性高、附着性差,难以涂布等问题,为小茴香油的制剂技术奠定了基础,也为挥发油类药物的广泛应用提供了理论依据^[9]。然而,关于小茴香油微乳及微乳凝胶的在体皮肤渗透性能及体内的药动学特征还有待后期进一步的研究^[21]。

REFERENCES

- [1] BAO X P, LIU Y Y, SUN J, et al. Comparison of 2 extraction methods for *Foeniculum vulgare* Mil. seeds oil and its application effects in cigarettes[J]. Food Ind(食品工业), 2018, 39(9): 20-22.
- [2] MA L, ZHOU Y L, TAN H. Content uniformity determination of fennel oil in Weitongning tablets by GC[J]. China Pharm(中国药师), 2015, 18(11): 1995-1996, 2017.
- [3] HAN B, GUAN Y B, TIAN Y D, et al. Preparation and evaluation *in vitro* of self-microemulsifying drug delivery system of berberine hydrochloride[J]. J Chin Med Mater(中药材), 2018, 41(10): 2398-2402.
- [4] CHEN B H, YANG S L, WU S X. Progress in new carriers for topical medication of dermatology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(4): 615-621.
- [5] GANNU R, PALEM C R, YAMSANI V V, et al. Enhanced bioavailability of lacidipine via microemulsion based transdermal gels: Formulation optimization, *ex vivo* and *in vivo* characterization[J]. Int J Pharm, 2010, 388(1/2): 231-241.
- [6] CHEN J J, XIA J, SONG J, et al. Effect of eugenol in the microemulsion as an oil excipient and enhancer on percutaneous absorption of baicalin[J]. Prog Mod Biomed(现代生物医学进展), 2016, 16(3): 410-413.
- [7] 庞博, 王园. 苍术油作为微乳油相促进丹皮酚透皮吸收的实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2013, 30(2): 17-19.
- [8] LI W W, YI S L, WANG Z H, et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system of persimmon leaf extract: Optimization and bioavailability studies[J]. Int J Pharm, 2011, 420(1): 161-171.
- [9] WU C Q, LI X F, ZHENG Y, et al. Progress in application of microemulsion gel in transdermal drug delivery system of traditional Chinese medicine[J]. Shandong Chem Ind(山东化工), 2019, 48(11): 38-40.
- [10] 孙林芳, 郑广娟, 冯兵, 等. 白术挥发油微乳的制备[J]. 中成药, 2015, 37(4): 889-895.
- [11] JIANG F, WANG Y, YAN J L, et al. Preparation and *in vitro* antibacterial effect of citronellol microemulsion gel[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(20): 8-13.
- [12] WANG J Y, MA S W, ZHAO X Y, et al. Preparation of compound liquorice microemulsion gel and its pharmacodynamics evaluation[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2020, 45(21): 5193-5199.
- [13] SHAO P, ZHENG J Q, PAN F F, et al. *In vitro* release tests and equivalence evaluation for topical semisolid dosage forms[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(20): 2481-2487.
- [14] MA S S, ZHANG Z F, LV L Y, et al. Preparation of plumbagin transfersomal gel and investigation on its transdermal penetration characteristics *in vitro*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49(15): 3625-3631.
- [15] LI Y Q, MA J. Oil-in-water microemulsion with oleic acid as the oil phase[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(4): 549-552.
- [16] HE Z Y, ZOU T, LUO T, et al. Preparation of self-microemulsion gel drug delivery system of *Carthamus tinctorius* extract based on *Mentha haplocalyx* oil as oil phase[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(11): 2922-2928.
- [17] LIANG L Y, CAI H X, DENG J R, et al. Preparation and pharmacodynamic study of Flos Magnoliae oil-based microemulsion gel[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(23): 2899-2908.
- [18] YU Y T, ZHU W F, CHEN L H, et al. Preparation of Triptolide microemulsion-based gel and investigation of its *in vitro* percutaneous permeability[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2016, 36(13): 1087-1091.
- [19] SABALE V, VORA S. Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery[J]. Int J Pharma Investig, 2012, 2(3): 140.
- [20] YAN M, ZHANG Z W, XU F L, et al. Preparation of eugenol microemulsion gel and study on its *in vitro* release characteristics[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(2): 170-174.
- [21] LI X, GUO L G, DENG L, et al. Study on the synthesis and properties of nifedipine self microemulsion system[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017, 34(11): 1576-1581.

收稿日期: 2021-11-10

(本文责编: 曹粤锋)