

地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂的制备及药效研究

李芳龙, 卢先云, 冯鑫, 陈容, 王怀莹, 李丽霞* (四川农业大学动物医学院, 天然药物研究中心, 成都 611130)

摘要: 目的 研究地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂的处方和制备工艺, 并考察其对Ⅱ度烫伤的作用效果。方法 以蛋白质含量为指标, 优选地龙糖浆制备中地龙和白糖的最佳比例。以初黏力、持黏力、剥离力及外观为指标, 综合评价处方和成型工艺, 单因素试验考察甘油、甘羟铝、聚丙烯酸钠的最佳用量, 响应面法优化地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂基质的最佳处方。构建小鼠Ⅱ度烫伤模型, 以京万红烫伤膏为对照, 通过小鼠创面愈合率、小鼠创面含水量、创面组织羟脯氨酸含量为指标, 评价其药效。结果 地龙与白糖的最佳配比为 1 : 0.8; 最佳基质处方为甘油 25%、甘羟铝 0.4%、聚丙烯酸钠 3.5%; 该药物可明显提高小鼠创面组织愈合率, 缩短愈合时间, 缓解小鼠烫伤早期的水肿, 增加创面羟脯氨酸的含量。结论 根据最佳处方所得的贴剂外观整洁, 质地均匀, 黏附性和剥离力符合中国药典 2015 年版的规定, 对小鼠Ⅱ度烫伤有较好的疗效。

关键词: 地龙糖浆; 水凝胶贴剂; 基质处方; 响应面法; 制备工艺

中图分类号: R283.6 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)15-1842-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.15.008

引用本文: 李芳龙, 卢先云, 冯鑫, 等. 地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂的制备及药效研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(15): 1842-1847.

Preparation and Pharmacodynamics Study of Hydrogel Patch Combining Earthworm Syrup with Nano-silver

LI Fanglong, LU Xianyun, FENG Xin, CHEN Rong, WANG Huaiying, LI Lixia* (Natural Medicine Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the prescription and preparation process of earthworm syrup nano-silver hydrogel patch, and evaluate the effect of promoting wound healing of deep second degree burn. **METHODS** Optimizing the ratio of the dragon and caster sugar in the preparation of hydrogel patch, taking the protein content as an indicator. The formulation process of hydrogel patch combining earthworm syrup with nano-silver was optimized by single factor experiment, which factors containing glycerol, glyceryl aluminum hydroxy, and sodium polyacrylate, then response surface methodology was used for evaluation of the formulation process, with stick power, shear strength, peel force and appearance as comprehensive indexes. The model of second degree scald in mice was constructed. The efficacy of the hydrogel patch was evaluated by wound healing rate, the water content and hydroxyproline content in the wound skin while the Jingwanhong scalding cream was used as control. **RESULTS** The fittest ratio between the earthworm and caster sugar was 1 : 0.8. The optimal formulation process of hydrogel patch was as follows: 25% of glycerol, 0.4% of sodium glycerol, and 3.5% of sodium polyacrylate. The healing times of mice in the burn ointment groups were shorten. Meanwhile, the healing rates and the content of hydroxyproline were increased in the burn ointment groups. These edema in the early time of scald in mice were relieved. **CONCLUSION** The hydrogel patch prepared by the optimal formulation process has neat appearance with even quality and the adhesiveness meets the regulations of Chinese Pharmacopoeia 2015 Editon, and has a healing effect on deep second degree scald.

KEYWORDS: earthworm syrup; hydrogel patch; matrix formulation; response surface methodology; preparation technology

地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E.Perrier)、通俗环毛蚓 *P. vulgaris* Chen、威廉环毛蚓 *P.guillelmi* (Michaelsen)或栉盲环毛蚓 *P.pectinifera* Michaelsen 的干燥体, 是一种传统的中药。《本草纲目》记载: 地龙能治疗溃烂口舌糜疮。故临床上常用来治疗烧烫伤、下肢溃

烂等多种疾病^[1-2]。现代药理研究表明, 地龙有改善血液循环、抗炎、镇痛、加速创伤愈合等作用^[3-4]。周莹等^[5]研究表明蚯蚓蛋白具有减少早期创面水肿, 减少早期创面胶原变性和增加胶原含量的作用, 可以明显促进烫伤愈合, 缩短愈合时间。

地龙糖浆是一种历史悠久的民间偏方, 在临

基金项目: 国家级大学生创新训练计划项目(201710626042)

作者简介: 李芳龙, 女, 硕士生 Tel: 13648186420 E-mail: 2041841981@qq.com *通信作者: 李丽霞, 女, 博士, 硕士 Tel: 13880803395 E-mail: lilixia@163.com

· 1842 · Chin J Mod Appl Pharm, 2020 August, Vol.37 No.15

中国现代应用药学 2020 年 8 月第 37 卷第 15 期

床上可用于治疗流行性腮腺炎、带状疱疹、下肢溃疡、丹毒、烧烫伤等多种皮肤疾病^[6-8]。但传统的地龙糖浆制备方法不一, 存储时间短, 使用不方便, 且易沾染衣物和变质。烫伤在临床上具有较高的感染风险, 而纳米银作为新型高分子材料, 具有较好的抗菌活性, 由于其抗菌机制不同于一般抗菌素, 故具有高效、安全、广谱及不易产生耐药性等优点, 在抗菌方面有广阔的应用前景^[9]。

针对传统地龙糖浆的不足, 本实验以地龙糖浆和纳米银为活性成分, 制备治疗烧烫伤等皮肤疾病的水凝胶贴剂, 使其使用方便、快捷、高效、安全、不易产生耐药性、不易污染衣物, 对创面有保湿和持续降温的特点。以小鼠创面愈合率、小鼠创面含水量、创面组织羟脯氨酸含量为指标, 考察其药效。地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂的开发, 将为烧烫伤等皮肤病的治疗提供一种新的外用药物。

1 材料

1.1 试药与仪器

纯牛血清白蛋白(北京索莱宝科技有限公司, 批号: 809A051); 聚乙烯吡咯烷酮(PVPK30, 批号: 171109)、考马斯亮蓝 G250(批号: 2019031201)、乙醇(批号: 2018011401)、磷酸(批号: 2018111201)、高岭土(批号: RQ18R323)、甘油(批号: 180815)、丙二醇(批号: 2018042307)、甘羟铝(批号: RH112808)、聚丙烯酸钠(批号: 2016051101)、羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 批号: 2017051601)、乙二胺四乙酸(EDTA, 批号: 2017070101)、卡波姆 940(批号: RH103484)、酒石酸(批号: 2017121056)、纳米银(批号: RH112937)、8%硫化钠(批号: 2014052601)、10%水合氯醛(批号: 2018091101)、0.9%生理盐水(批号: L218051002)均购自成都万科有限责任公司; 京万红烫伤膏(天津达仁堂京万红药业有限公司, 批号: 212242); 羟脯氨酸试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号: 20180704); 地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂(自制)。

101-1AB-B 电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司); FA2204A 型电子天平(上海精天电子仪器有限公司); SB-5200DT 超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司); SC3610 低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); TY0608 酶标仪(伯乐生命医学产品有限公司); 弹簧秤、钢球、不锈钢板等均购自成都浩博优科技有限公司。

1.2 动物

参环毛蚓 *Pheretima asperillum* E.Perrier 购自

广西南宁小七蚯蚓店; 昆明种小鼠 90 只, ♀♂各半, 体质量 28~36 g, 购自成都市达硕实验动物有限公司, 许可证号: SCXK(川)2015-030。饲养温度 18~22 ℃, 湿度 50%~60%。

2 方法与结果

2.1 地龙糖浆的制备

取地龙, 除去泥土, 称 10 g, 加入白糖 8 g, 静置 3 h 后以 4 000 r·min⁻¹ 的速度离心 15 min, 取上清液即为地龙糖浆^[6-8]。

2.2 水凝胶贴剂的制备

选用聚丙烯酸钠为交联骨架, 甘羟铝为交联剂, 甘油为保湿剂, EDTA 及酒石酸为交联调节剂, 卡波姆、CMC-Na、PVPK30 为增黏剂, 丙二醇为促渗剂。称量 8.5 g 甘油、2 g 丙二醇于洁净烧杯中, 在 250 r·min⁻¹ 下, 搅拌 2 min, 依次加入 0.04 g EDTA、0.14 g 甘羟铝, 分别搅拌 5 min 作为 A 相; 称取 1.19 g 聚丙烯酸钠、0.5 g CMC-Na、0.3 g PVPK30 用等量递加混合法混合均匀作为 B 相; 称取 0.4 g 卡波姆加入 15 g 蒸馏水中, 待聚合物润湿后将分散液以 300 r·min⁻¹ 搅拌 30 min 后备用作为 C 相; 称取 0.12 g 酒石酸、0.18 g 高岭土依次溶解于蒸馏水中, 最后加入 3 mL 地龙糖浆和 1 mL 以水为分散剂浓度为 200 μg·mL⁻¹ 纳米银溶胶, 250 r·min⁻¹ 搅拌 5 min 作为 D 相; 在 250 r·min⁻¹ 搅拌下, 将 B 相加入 A 相, 6 min 后, 将 C 相加入 AB 混合相中, 搅拌 2 min, 最后加入 D 相, 搅拌 20 min, 然后超声脱气 15 min 后均匀涂于无纺布上, 厚度约 1.5 mm 左右, 烘干 0.5 h, 室温固化 48 h, 盖上背衬层, 密封包装, 室温保存^[10-15]。

2.3 地龙与白糖最佳配比的确定

2.3.1 地龙糖浆蛋白质含量测定 采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量^[16]。以牛血清白蛋白的浓度为横坐标(x), 以浓度所对应的吸光度为纵坐标(y), 得到线性回归方程为 $y=0.023\ 3x+0.547\ 3$, $r^2=0.999\ 8$ 。

2.3.2 地龙与白糖最佳比例的优选 分别设置地龙与白糖 1:0.6, 1:0.8, 1:1, 1:1.2, 1:1.4, 1:1.6 共 6 个不同水平的配比, 按照“2.1”项下方法制备地龙糖浆, 以地龙糖浆蛋白质百分含量为指标优选出地龙和白糖的最佳比例。结果显示, 地龙与白糖比例为 1:0.8 时, 地龙糖浆的蛋白质百分含量最高。

2.4 制备工艺单因素考察

2.4.1 评价方法 本实验以外观、初黏力、持黏

力及剥离力为评价指标,各评价项总分为100分;权重系数分别为0.5,0.2,0.2和0.1,进行综合评分^[17]。初黏力、持黏力和剥离力测定依据中国药典2015年版第四部通则项下规定。初黏力记录能够黏住的最大钢球号,试验中以球号1~5,6~10,11~21,22~32分别计算为0~60,60~80,80~90,90~100分^[17]。持黏力记录重物完全脱落的时间^[15]。试验中脱落时间0~0.5,0.5~1,1~2 min,>2 min分别记为0~30,30~60,60~90,90~100分^[16]。剥离力评价标准以剥离力<1.0 N,1.0~1.5 N,1.5~2 N,>2 N分别记为0~60,60~80,80~90,90~100分^[17]。参照文献方法,对外观进行评价,具体评分标准见表1^[17-18]。

表1 外观评分标准

Tab. 1 Scoring standard of appearance

外观评价	评分
膏体搅拌容易,稠度适中,涂展性好;表面光洁,无气泡、无颗粒团块;背衬层无渗出;贴剂贴于皮肤无残留	100~90
膏体搅拌容易,涂展性好,表面光洁,有少量气泡或颗粒团块;背衬层无渗出;贴剂贴于皮肤无残留	90~80
膏体搅拌稍困难,膏体稍稠,涂展尚好,有大量气泡或颗粒团块;背衬层有渗出;贴剂贴于皮肤有残留	80~60
膏体搅拌困难,膏体较稠,涂展困难,有拱纸现象;有大量气泡或颗粒团块;背衬层有大量渗出;贴剂贴于皮肤有大量残留	<60

2.4.2 单因素试验 分别设置因素(A)甘油(20.3%,24.3%,28.3%,32.3%,36.3%,40.3%)、因素(B)甘羟铝(0.04%,0.24%,0.44%,0.64%,0.84%,1.04%)、因素(C)聚丙烯酸钠(3.1%,3.5%,3.9%,4.3%,4.7%,5.1%)6个不同用量水平进行单因素试验,按“2.2”项下方法制备地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂,通过“2.4.1”项下评价方法进行综合评价,综合评分值越高,认为基质成型性越好。结果显示,3个因素的最优用量为甘油24.3%、聚丙烯酸钠3.5%、甘羟铝0.24%。

2.5 制备工艺的响应面优化研究

2.5.1 方案设计与结果 以甘油(A)、甘羟铝(B)、聚丙烯酸钠(C)的用量为考察因素,水凝胶贴剂的综合评分为响应值,采用响应面设计试验方案,进行3因素3水平的方案设计优化,因素和水平见表2,设计和结果见表3。

2.5.2 回归模型的建立和方差分析 采用 Design Expert 8.0.6 软件,对表3数据进行回归分析,得到综合评分(Y)对甘油(A)、甘羟铝(B)、聚丙烯酸钠(C)的回归方程: $Y=+83.52+2.62A+2.82B+1.67C-$

$0.58AB-1.72AC+0.21BC-3.99A^2-2.08B^2-6.47C^2$,显著性检验和方差分析见表4。模型 $P=0.0003<$

表2 响应面分析因素与水平

Tab. 2 Analysis factors and levels of response surface

水平	A(甘油)/%	B(甘羟铝)/%	C(聚丙烯酸钠)/%
-1	20.3	0.04	3.1
0	24.3	0.24	3.5
1	28.3	0.44	3.9

表3 处方优选实验设计和结果

Tab. 3 Screen experimental design and results of prescription

序号	因素			评分				
	A	B	C	外观	初黏力	持黏力	剥离力	Y综合评分
1	-1	0	1	83	83	36.0	78.8	73.18
2	0	1	1	83	81	75.5	65.0	79.30
3	0	-1	-1	80	81	41.0	76.4	71.04
4	1	-1	0	76	88	36.2	60.0	76.84
5	0	0	0	87	85	83.7	86.2	85.36
6	-1	1	0	86	81	60.0	80.4	79.20
7	0	0	0	86	84	65.0	89.2	81.72
8	0	-1	1	78	87	51.4	83.0	74.98
9	0	0	0	84	83	81.5	78.0	82.70
10	1	1	0	85	86	84.2	65.0	83.04
11	0	1	0	78	82	55.0	81.2	74.52
12	1	0	-1	80	80	66.0	71.6	76.36
13	-1	0	-1	76	80	27.0	80.4	67.44
14	0	0	0	89	83	80.0	74.0	84.50
15	-1	0	1	81	84	49.0	81.2	75.22
16	0	0	0	84	83	75.0	83.0	83.30
17	-1	-1	0	80	84	32.0	68.8	70.68

表4 显著性检验和方差分析

Tab. 4 Significance test and analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	439.63	9	48.85	20.69	0.0003
A	54.92	1	54.92	23.26	0.0019
B	63.39	1	63.39	26.85	0.0013
C	22.18	1	22.18	9.39	0.0182
AB	1.35	1	1.35	0.57	0.4749
AC	11.83	1	11.83	5.01	0.0602
BC	0.18	1	0.18	0.075	0.7925
A ²	67.13	1	67.13	28.43	0.0011
B ²	18.27	1	18.27	7.74	0.0272
C ²	176.42	1	176.42	74.71	<0.0001
残差	16.53	7	2.36	—	—
失拟项	8.22	3	2.74	1.32	0.3847
纯误差	8.31	4	2.08	—	—
总和	456.16	16	—	—	—

0.01, 具有极显著性差异; 失拟项为 0.384 7>0.05, 不具有显著性差异, 表明模型拟合合理, 回归方程拟合情况良好, 结果可靠。同时, 对实验结果有极具显著影响的因素为甘油(A)、甘羟铝(B), 有显著影响的有聚丙烯酸钠(C), 表明可以用此模型对基质处方进行分析与预测。

根据回归模型, 绘制出相应的响应曲面图和等高线图, 甘油(A)、甘羟铝(B)对综合评分的影响最显著, 曲线较陡; 聚丙烯酸钠(C)对综合评分的影响较显著, 曲线较平滑。等高线的形状反映了因素交互作用的强弱, 图形越趋于椭圆, 两因素交互作用越显著, 由等高线图可以看出, AC 间交互作用影响比 AB、BC 更加显著。结果见图 1。

2.5.3 最佳工艺的优化与验证 采用 Design-Expert 8.0.6 软件回归分析, 优选出最佳处方为甘

油 25.33%、甘羟铝 0.37%、聚丙烯酸钠 3.54%, 预测综合评分为 84.85。根据实际情况优化为甘油 25%、甘羟铝 0.4%、聚丙烯酸钠 3.5%。按照优化处方进行了 3 次平行实验, 测得其综合评分平均值为(84.25±2.8)分, 与模型预测值 84.85 非常接近, 表明该模型的预测性和重现性良好。

2.6 药效学研究

2.6.1 烧烫伤模型的建立 实验前用 8%硫化钠给小鼠背部脱毛, 脱毛面积约 30 cm²。24 h 后给小鼠腹腔注射 10%水合氯醛(350 mg·kg⁻¹)麻醉后置于操作台上, 75%酒精消毒。采用砝码 85 ℃水浴加热, 分别烫伤 8, 12, 16, 20, 24 s, 以烫伤皮肤的病理切片确定建模是否成功。结果显示烫伤 20 s 可成功建立小鼠 II 度烫伤模型。

2.6.2 给药方法及检测指标 取小鼠 90 只, ♂♀

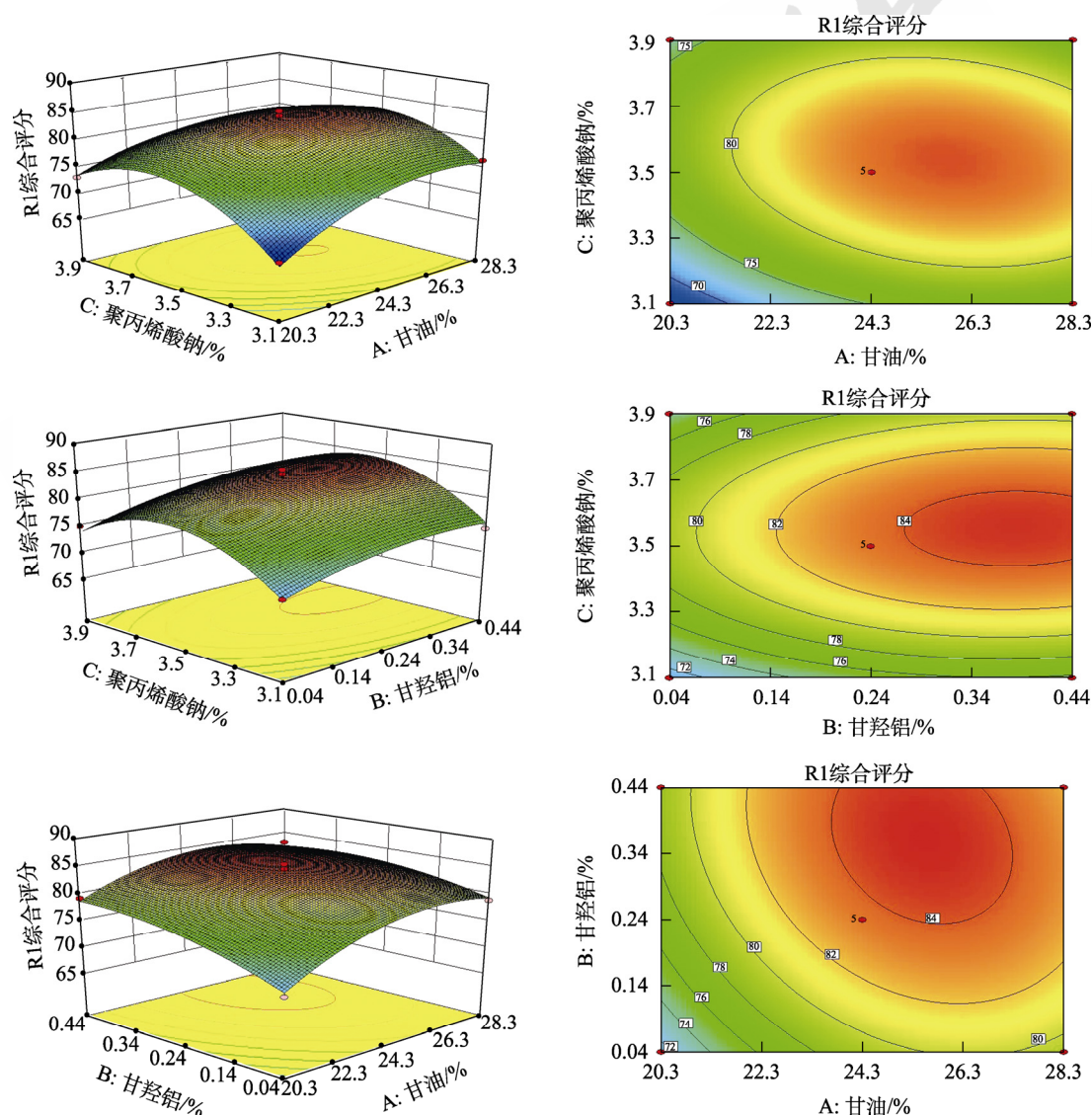


图 1 响应面图和等高线图

Fig. 1 Response surface and contour plots

各半, 分成 6 组, 每组 15 只, 分别为正常组、贴剂组、生理盐水组、京万红组、纳米银组、地龙糖浆组。建模成功后, 每日 8 点、18 点各给药 1 次。贴剂组直接贴水凝胶贴剂, 京万红组、纳米银组、地龙糖浆组和生理盐水组分别给予京万红烫伤膏、纳米银混悬液、地龙糖浆、生理盐水每只 3 g, 涂抹均匀。在烫伤后第 3, 7, 11, 15, 20 天采样, 以小鼠创面组织愈合率^[19]、创面组织含水量^[20]、创面组织中羟脯氨酸的含量^[5]为指标评价该药物对 II 度烫伤小鼠的治疗作用。

2.6.3 数据分析 用 SPSS 21.0 统计学软件进行实验数据分析, 用规范格式 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 ANOVA 检验差异的统计学意义, $P < 0.05$ 表示差异具有显著统计学意义。

2.6.4 药效学研究结果

2.6.4.1 小鼠创面愈合率 贴剂组、京万红组、纳米银组、地龙糖浆组小鼠与生理盐水组相比均有加快愈合的趋势, 但同一时间点贴剂组和京万红组愈合率明显高于其他组($P < 0.05$), 可以初步判定, 地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂具有明显的促进小鼠创面愈合的作用。结果见表 5。

2.6.4.2 小鼠创面含水量 烫伤以后, 各个时间点的含水量均有变化, 可以看出均随时间的推移组织含水量逐渐降低, 给药后第 7 天, 贴剂组与生理盐水、纳米银和地龙糖浆组比较, 均有显著差异($P < 0.05$), 与正常组和京万红组对比无明显差异, 可以初步判定, 贴剂可以显著降低创面愈合的早中期含水量, 缓解烫伤皮肤水肿, 且疗效优于京万红。结果见表 6。

2.6.4.3 羟脯氨酸含量 随着时间的延长, 各给药组的羟脯氨酸含量均有一定上升。其中贴剂组和京万红组的含量增加速度显著高于其他给药组, 地龙糖浆组的含量增加速度显著高于纳米银和生理盐水组。结果见表 7。

表 7 小鼠皮肤羟脯氨酸含量($n=3$)

Tab. 7 Hydropxyproline content of mice skin($n=3$)

时间	贴剂组	生理盐水组	京万红组	纳米银组	地龙糖浆组	正常组
第 3 天	0.60±0.26 ⁴⁾	0.56±0.12	0.62±0.26 ⁴⁾	0.57±0.11	0.62±0.16 ⁴⁾	1.02±0.26
第 7 天	0.73±0.27 ¹⁾²⁾³⁾	0.65±0.20 ⁴⁾	0.72±0.18 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.64±0.20	0.69±0.15 ⁴⁾	1.07±0.32
第 11 天	0.85±0.24 ¹⁾²⁾⁴⁾	0.74±0.25	0.83±0.21 ¹⁾²⁾⁴⁾	0.71±0.18	0.82±0.19 ¹⁾²⁾⁴⁾	1.06±0.23
第 15 天	0.95±0.32 ¹⁾²⁾³⁾	0.79±0.26	0.94±0.26 ¹⁾²⁾³⁾	0.78±0.22	0.88±0.23 ¹⁾²⁾⁴⁾	1.06±0.36
第 20 天	1.03±0.39 ¹⁾²⁾³⁾	0.84±0.31	1.00±0.24 ¹⁾²⁾³⁾	0.83±0.26	0.93±0.26 ¹⁾²⁾⁴⁾	1.07±0.21

注: 与生理盐水组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与纳米银组比较, ²⁾ $P < 0.05$; 与地龙糖浆组比较, ³⁾ $P < 0.05$; 与正常组比较, ⁴⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal saline group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with nanosilver group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with earthworm syrup group, ³⁾ $P < 0.05$; compared with the normal group, ⁴⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

传统的地龙糖浆制备大多数都没有涉及地龙与白糖的具体配比。如王有恒、章梅等^[8,21]曾提过的制备方法是大致以地龙与等量白糖混合所制, 于际明等^[22]也提到过以约 5 : 1 的配比混合地龙与白糖。目前未见关于地龙与白糖最优比例的研究报道, 本研究在民间偏方地龙糖浆原有的制备方法上, 运用了单因素考察的方法筛选出地龙与白糖的最佳比例为 1 : 0.8; 且实验中排除了地龙体内泥土对称量的影响, 为地龙糖浆溶液质量的可控性和均一性提供了依据, 为后续标准化工艺研究奠定了基础。

水凝胶贴剂基质组成较多, 包括交联骨架、

表 5 小鼠皮肤愈合率($n=3$)

Tab. 5 Healing rates of mice skin($n=3$)

时间	贴剂组	生理盐水组	京万红组	纳米银组	地龙糖浆组
第 3 天	17.1±0.82 ¹⁾²⁾³⁾	11.3±1.14	17.3±1.42 ¹⁾²⁾³⁾	12.6±0.98	11.4±1.21
第 7 天	48.4±1.08 ¹⁾²⁾³⁾	28.9±1.37	47.1±0.98 ¹⁾²⁾³⁾	39.7±0.89	34.7±0.75
第 11 天	61.9±1.31 ¹⁾²⁾³⁾	37.5±0.95	60.1±2.10 ¹⁾²⁾³⁾	47.3±1.65	40.1±4.19
第 15 天	83.1±1.39 ¹⁾²⁾³⁾	48.8±1.25	80.1±1.39 ¹⁾²⁾³⁾	56.7±2.51	51.5±0.95
第 20 天	97.8±1.95 ¹⁾²⁾³⁾	54.6±1.05	96.2±3.41 ¹⁾²⁾³⁾	60.1±1.95	58.4±1.25

注: 与生理盐水组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与纳米银组比较, ²⁾ $P < 0.05$; 与地龙糖浆组比较, ³⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal saline group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with nano-silver group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with earthworm syrup group, ³⁾ $P < 0.05$ 。

表 6 小鼠皮肤组织含水量($n=3$)

Tab. 6 Water content of mice skin($n=3$)

时间	贴剂组	生理盐水组	京万红组	纳米银组	地龙糖浆组	正常组
第 3 天	79.3±7.37 ⁴⁾	77.3±3.06	80.3±3.21	82.7±0.58	83.7±3.21	66.0±2.00
第 7 天	60.3±1.53 ¹⁾²⁾³⁾	80.0±2.00	64.0±5.29	54.0±2.65	68.7±3.51	61.7±4.04
第 11 天	60.0±2.00	56.3±6.51	60.0±4.00	53.7±4.16	67.0±2.00	63.7±2.50
第 15 天	53.0±2.00	54.3±4.16	53.0±9.85	52.7±6.66	53.3±3.06	64.0±8.72
第 20 天	56.0±1.73	52.7±2.89	55.3±6.66	53.3±1.15	52.7±9.61	65.0±2.31

注: 与生理盐水组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与纳米银组比较, ²⁾ $P < 0.05$; 与地龙糖浆组比较, ³⁾ $P < 0.05$; 与正常组比较, ⁴⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal saline group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with nano-silver group, ²⁾ $P < 0.05$; compared with earthworm syrup group, ³⁾ $P < 0.05$; compared with the normal group, ⁴⁾ $P < 0.05$ 。

交联剂、增稠剂、保湿剂、交联调节剂、填充剂、渗透促进剂等。经过预试验选择聚丙烯酸钠、甘羟铝、甘油、卡波姆、PVPk30、CMC-Na、EDTA、酒石酸、乙二醇、高岭土作为处方基质，贴剂成型，结果比较满意。

通过文献考证^[14,17,23]，理论上各基质对贴剂成型均有影响，本实验依据预试验结果，选择对贴剂成型更为关键的 3 个因素作为研究对象，即交联材料聚丙烯酸钠、交联剂甘羟铝、保湿剂甘油。目前对于水凝胶贴剂成型大多以黏附力包括初黏力、持黏力及剥离力为评价指标，考虑到未来的推广，本实验把性状外观也作为评价指标之一。水凝胶贴剂的制备过程中，各种辅料的加入方法、添加顺序及搅拌速度等也是贴剂成型的关键。

本实验最终得到了外观整洁光滑、易涂布、剥离后皮肤无膏体残留，黏附性符合要求的地龙糖浆纳米银水凝胶贴剂，且通过动物的药效学实验初步证明该贴剂具有明显的促进小鼠创面愈合的作用，显著降低创面愈合的早中期含水量、缓解小鼠烫伤早期的水肿，增加创面羟脯氨酸的含量，对烫伤创面有较好的疗效。

REFERENCES

- [1] 周二付. 地龙的现代药理及常见临床配伍分析[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(3): 238-239.
- [2] DENG Z H, YIN J J, LUO W, et al. The effect of earthworm extract on promoting skin wound healing [J]. Biosci Rep, 2018, 38(2): 11-34.
- [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1980: 2353-2358.
- [4] DU H, SUN J M, GUO X Q, et al. The chemical composition and pharmacological action of earthworms [J]. Jilin J Tradit Chin Med(吉林中医药), 2014, 34(7): 707-709.
- [5] 周莹, 奚望, 宋淑亮, 等. 蚯蚓蛋白对大鼠深 II 度烫伤的促愈作用[J]. 中华创伤杂志, 2010, 26(4): 377-379.
- [6] 王道芳, 李有文. 鲜蚯蚓糖浆的制备及临床应用[J]. 基层中药杂志, 2001, 15(5): 62-63.
- [7] 曾凡举, 贺子岑, 刘士平, 等. 地龙浸出液治疗烧伤 168 例疗效观察[J]. 国医论坛, 2001, 16(1): 36.
- [8] 王有恒, 梁焱, 王昊, 等. 蚯蚓白糖浸出物对深二度烧伤创面愈合的影响[J]. 人人健康, 2016(22): 248.
- [9] ZHONG H Q, YE W J, WANG X Y, et al. Research progress of nanosilver [J]. Hans J Nanotechnol, 2012, 3(2): 50-57.
- [10] 范彬, 石晓峰, 蔺莉, 等. 祖师麻凝胶膏剂基质处方的优化[J]. 中成药, 2016, 38(7): 1632-1636.
- [11] LIU J X, HU S, LI J W. Optimization study on the matrix of aloe hydrogel cloth patch [J]. World Latest Med Inf(世界最新医学信息文摘), 2019, 19(66): 320-322, 324.
- [12] LI Y T, PAN H, HU S C, et al. Study on rescription screening of verapamil hydrochloride gel-matrix patch [J]. J Harbin Univ Commer Nat Sci Ed(哈尔滨商业大学学报: 自然科学版), 2019, 35(5): 529-533.
- [13] HE J F, HU X D, ZHANG W J, et al. Preparation of micronized shuanghuangpo hydrogel patch and its transdermal penetration *in vitro* [J]. Her Med(医药导报), 2015, 34(10): 1339-1342.
- [14] LIU X Y, LAI Y. Preparation of drug-in adhesive patch of *Angelica dahurica* coumarins and study its *in vitro* permeability through excised Anthony pig skin [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(3): 330-334.
- [15] YOU C Y, ZHAO N N, LI S, et al. Preparation of clon-targeting [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学杂志), 2019, 36(16): 2044-2048.
- [16] 中国药典. 四部[S]. 2015: 130-131.
- [17] 郭香琴. 盐酸氨基葡萄糖巴布剂的制备与质量研究[D]. 重庆: 重庆师范大学, 2017.
- [18] XIE W J, ZHANG Y P, XU J. Matrix formulation screening of indomethacin hydrophilic gel patch by uniform design [J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28(10): 1382-1385.
- [19] 周伟. 蚯蚓提取物对小鼠烫伤治疗效果的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [20] HE L, LIU Y, ZHANG G X, et al. Study on scald effects of Herbal *Pheretima aspergillum* gels [J]. Strait Pharm J(海峡药理学), 2009, 21(4): 39-41.
- [21] 章梅, 李旭, 叶峰, 等. 地龙提取物对大鼠深 II 度烫伤创面愈合的影响[J]. 中药材, 2004, 27(10): 744-747.
- [22] 于际明, 高殿英, 朱印东. 白糖蚯蚓浸出液治疗 2 度烧伤 3 例的临床报告[J]. 中国农村医学, 1990(8): 53-54.
- [23] 肖宇硕. 复方吴茱萸水凝胶贴剂的制备工艺及质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.

收稿日期: 2019-08-12

(本文责编: 沈倩)