

基于AHP-CRITIC法赋权的星点设计-效应面法优化瓜子金乳膏处方及其质量评价^Δ

李学娥^{1,2*}, 张蜀^{1,2#}, 邓红^{1,2}, 吕竹芬^{1,2}, 谭钰霖^{1,2}, 陈佳敏¹, 余予善¹(1.广东药科大学新药研发中心/广东省新剂型重点实验室, 广州 510006; 2.广东省局部精准药物传递制剂工程技术研究中心, 广州 510006)

中图分类号 R283.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)21-2615-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.21.10

摘要 目的:优化瓜子金乳膏的制备处方,并对所制乳膏的质量进行评价。方法:以离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度为考察指标,通过层次分析法(AHP法)、基于指标相关性的指标权重确定方法(CRITIC法)、AHP-CRITIC混合加权法确定各指标的权重并计算综合评分,采用星点设计-效应面法筛选瓜子金乳膏处方中十八醇、十六醇、混合乳化剂(聚山梨酯60与单硬脂酸甘油酯以质量比2.82混合)的用量,对优化处方进行验证。对按最优处方制备的瓜子金乳膏的外观性状、粒度、pH、稳定性及流变学特性进行评价。结果:按照AHP-CRITIC混合加权法得到离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度3个指标的权重分别为0.428 5、0.415 6、0.155 9。最优处方为十六醇1.96 g、十八醇5.17 g、混合乳化剂2.48 g、聚山梨酯60 1.83 g、单硬脂酸甘油酯0.65 g、苯甲醇1 g、丙二醇5 g、肉豆蔻酸异丙酯6 g、瓜子金提取液5 g,然后加水至100 g。所制乳膏为浅黄色流体状膏体,粒度为0.5~2.5 μm, pH值为6.5;离心、耐热及耐寒稳定性试验结果显示,乳膏均无油水分离、膏体变粗等现象;所制乳膏为剪切变稀型非牛顿流体。结论:成功制备了瓜子金乳膏,该制剂具有良好的外观性状、粒度、酸碱性和稳定性。

关键词 瓜子金乳膏;星点设计-效应面法;处方优化;质量评价;流变学特性

Optimization of the Formulation of *Polygala japonica* Cream by Central Composite Design-response Surface Methodology Based on AHP-CRITIC Analysis and Its Quality Evaluation

LI Xue'e^{1,2}, ZHANG Shu^{1,2}, DENG Hong^{1,2}, LYU Zhufen^{1,2}, TAN Yulin^{1,2}, CHEN Jiamin¹, YU Yushan¹(1. Center for New Drug Research and Development, Guangdong Pharmaceutical University/Guangdong Provincial Key Laboratory of Advanced Drug Delivery, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Engineering & Technology Research Center of Local Precision Drug Delivery System, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the formulation of *Polygala japonica* cream, and to evaluate the quality of prepared cream. METHODS: With centrifugal stability, heat resistance stability and viscosity as evaluation indexes, the weight coefficient was determined by analytic hierarchy process (AHP), criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) method and mixed weighted AHP-CRITIC, and the comprehensive score was calculated. The amount of octadecyl alcohol, hexadecanol and mixed emulsifier (polysorbate 60 mixed with glycerin monostearate at the mass ratio of 2.82) in the formulation of *P. japonica* cream were screened by central composite design-response surface methodology. The optimized formulation was validated. *P. japonica* cream prepared by the optimal preparation was evaluated in terms of appearance, particle, pH, stability and rheological characteristics. RESULTS: The weight coefficients of centrifugal stability, heat resistance stability and viscosity were 0.428 5, 0.415 6 and 0.155 9 respectively, according to the mixed weighted AHP-CRITIC. The optimal formulations were 1.96 g of hexadecyl alcohol, 5.17 g of octadecyl alcohol, 2.48 g of mixed emulsifier, 1.83 g of polysorbate 60, 0.65 g of glyceride monostearate, 1 g of benzyl alcohol, 5 g of propylene glycol, 6 g of isopropyl myristate and 5 g of *P. japonica* extract, and then added water to 100 g. Prepared cream was a light yellow fluid paste with particle size of 0.5-2.5 μm and pH value of 6.5; the results of centrifugal test, heat resistance test and cold resistance stability test showed that the cream had no oil-water separation or thickened paste. The prepared cream was shear-thinning non-Newtonian fluid. CONCLUSIONS: *P. japonica* cream is prepared successfully, which shows good appearance, particle, acidity and stability.

KEYWORDS *Polygala japonica* cream; Central composite design-response surface methodology; Formulation optimization; Quality evaluation; Rheology characteristics

^Δ 基金项目:广东省自然科学基金资助项目(No.2019A15150-11018)

* 硕士研究生。研究方向:药物研发与转化。E-mail: 3042812142@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:缓控释制剂及中药新剂型。电话:020-39352507。E-mail:linzhangshu@tom.com

瓜子金始记载于《植物名实考录》,为远志科植物瓜子金 *Polygala japonica* Houtt. 的干燥全草,春季花开时采挖,除去泥沙,晒干即得^[1]。在多个本草著作中均提及了其作用及功效,如《生草药性备药》中记载:“理跌打,去淤生新,能止痛消肿,散毒气”^[2];《江西草药》中记载:“清热解毒,活血止血,治毒蛇咬伤、风湿性关节炎”^[3];2015

年版《中国药典》(一部)中也有记载:“其可以活血消肿,解毒止痛,外治跌打损伤,疔疮疖肿,蛇虫叮咬”^[1]。现代药理研究表明,瓜子金具有抗炎镇痛、神经保护、抗抑郁、抗肿瘤等作用^[4]。

瓜子金素有别称“来马回”,意即治疗恶疮或无名肿毒的疗效如疾马来回飞奔般的快速,其在河南、江西、四川、广西等地区民间广泛应用,药用其根或者全草,用于治疗多发性脓肿、风湿痹痛、蛇虫叮咬等,且疗效显著^[4]。但目前已上市的瓜子金相关制剂品种极少。为了更好地开发这一民间用药,笔者参考其常被捣敷外用的用法,并结合前期笔者研究发现的其具有的抗炎作用,本研究将瓜子金药材提取液制成水包油(O/W)型乳膏剂,用于因跌打损伤、蛇虫叮咬等引起的皮肤肿痛,以期对瓜子金及其新制剂全面深入的研究和开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

T25型高速均质机、RW20型匀速搅拌机(德国IKA公司);CX41RF型光学显微镜(日本Olympus公司);XT PLUS型质构仪(美国TA公司);TGL-20B型高速离心机(上海安亭科学仪器厂);Itherm-7A型恒温水浴锅(德国VIVO公司);MCR 102型流变仪(奥地利Anton Paar公司)。

1.2 药品与试剂

瓜子金饮片(批号:190924)于2019年9月购自南北沙药材饮片公司,经广东药科大学中药学院刘基柱教授鉴定,符合2015年版《中国药典》(一部)瓜子金项下要求^[1]。十八醇(批号:105220181002)、十六醇(批号:105120190101)、单硬脂酸甘油酯(批号:105620180704)、丙二醇(批号:100420180701)、苯甲醇(批号:104020180401)均购自湖南尔康制药股份有限公司;肉豆蔻酸异丙酯(浙江物美生物科技有限公司,批号:1901001);聚山梨酯60(广东润华化工有限公司,批号:B1340BJ336);其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 提取液的制备

称取适量瓜子金饮片,加入8倍量(mL/g)50%乙醇回流提取2次,每次1h,滤过,合并2次滤液。将滤液以3500 r/min离心15 min,取上清液,用旋转蒸发器回收乙醇并浓缩至质量浓度为0.5 g/mL(以生药量计)、相对密度为1.01~1.05 g/mL(60℃),即得,备用。

2.2 瓜子金乳膏的制备工艺

分别取水相(丙二醇、苯甲醇、水、提取液)和油相(十八醇、十六醇、单硬脂酸甘油酯、聚山梨酯60、肉豆蔻酸异丙酯)适量,置于2个烧杯中,水浴加热至80℃时,将水相倒入油相中,边加边搅拌,然后置于高速均质机剪切机中以3000 r/min乳化10 min,再取出置于低速搅拌机中以400 r/min搅拌至室温,即得乳膏(每100 g乳膏含主药5 g)。

2.3 处方评价指标及标准

经过查阅相关文献^[5],发现乳膏的考察指标有性状、

乳滴大小及范围、离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度等。根据预试验结果,所制得的瓜子金乳膏外观皆为均匀细腻的浅黄色膏体,肉眼观察差别不大;显微镜下观察乳滴大小及范围未见明显不同。因此,本研究仅采用离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度作为评价指标进行瓜子金乳膏的处方考察。

2.3.1 离心稳定性

取适量瓜子金乳膏,置于10 mL离心管中,以5000 r/min离心30 min,观察其油水分离情况,分别测定其油相高度和水相高度。离心稳定性得分=上层油相高度/(下层水相高度+上层油相高度)×10。

2.3.2 耐热稳定性

取适量瓜子金乳膏,置于45℃烘箱中烘烤6 h,观察乳膏是否有分层及融化现象。若融化分层,则记为5分;若不融化、不分层,则记为10分。

2.3.3 黏稠度

通过质构仪对瓜子金乳膏的物理属性进行测试,主要包括探头施加的力(g)、探头运行时间(s)和探头运行位移(mm),并通过构成的二维坐标得出相关的评价结论。质构仪的主要参数如下:模式为Compression;测试操作为Return to start;探头为A/BE-d40;测前速度和测试速度均为1.00 mm/s;测后速度为10 mm/s;测试距离为30 mm;感应力为Auto(Force 5 g);记录速率为500 pps。其中,以质构仪生成曲线的正向面积代表乳膏的黏稠度。当黏稠度为2500~3500 g·s时,黏稠度得分记为满分10分;当黏稠度>3500 g·s时,黏稠度得分=10-(黏稠度-3500)/500;当黏稠度<2500 g·s时,黏稠度得分=10-(2500-黏稠度)/500。

2.4 星点设计-效应面法优化瓜子金乳膏的处方

基于试验设计的需要和优化设计的准确性,首先需要对乳膏体系中重要辅料的量进行确定。星点设计是在二水平析因设计的基础上加上星点及中心点而成,试验次数少,是一种适合进行非线性拟合的试验设计法^[6]。本课题组在预试验和单因素试验的基础上,筛选出了对瓜子金乳膏处方影响最大的3个因素,即十八醇、十六醇、混合乳化剂(聚山梨酯60与单硬脂酸甘油酯按质量比2.82混合)的用量,每个因素设置5个水平,从低到高依次用 $-a$ 、 -1 、 0 、 $+1$ 、 $+a$ 表示,在三因素设计中 $a=1.682$ 。本研究以上述3个辅料的用量为考察因素(其余辅料定量,乳膏剂成品总量固定为100 g),以离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度为考察指标,设计了三因素五水平的星点试验,每个试验平行3次,以优选瓜子金乳膏的最优处方(乳膏评价指标常常还需同时考虑耐寒稳定性,但经过前期预试验发现,瓜子金乳膏在耐寒试验中稳定性较好,故在本研究中未考虑)。因素与水平见表1,试验安排与结果见表2。

2.5 指标权重的确立

2.5.1 层次分析法(AHP法)

AHP法是通过把复杂问题中的各种因素分为相互

表1 星点设计因素与水平

Tab 1 Factors and levels of central composite design

因素	水平				
	-1.682	-1	0	+1	+1.682
十八醇用量(X_1),g	2.00	2.81	4.00	5.19	6.00
十六醇用量(X_2),g	1.00	1.61	2.50	3.39	4.00
混合乳化剂用量(X_3),g	1.50	2.41	3.75	5.09	6.00

表2 瓜子金乳膏处方优化的星点设计-效应面试验安排与结果($n=3$)

Tab 2 Design and results of central composite design-response surface methodology for formulation optimization of *P. japonica* cream ($n=3$)

编号	混合乳化剂用量			十八醇用量,g	十六醇用量,g	指标评分		
	总量,g	聚山梨酯60,g	单硬脂酸甘油酯,g			离心稳定性,分	耐热稳定性,分	黏稠度,分
1	3.75	2.77	0.98	2.00	2.50	10	5	8.83
2	3.75	2.77	0.98	4.00	2.50	10	10	4.18
3	2.41	1.78	0.63	2.81	1.61	10	5	9.08
4	2.41	1.78	0.63	5.19	3.39	10	10	7.23
5	2.41	1.78	0.63	2.81	3.39	10	10	4.43
6	3.75	2.77	0.98	4.00	1.00	10	10	10.00
7	5.09	3.76	1.33	5.19	1.61	10	10	9.37
8	5.09	3.76	1.33	2.81	3.39	10	10	5.00
9	3.75	2.77	0.98	4.00	4.00	10	10	5.32
10	3.75	2.77	0.98	6.00	2.50	10	10	4.58
11	1.50	1.11	0.39	4.00	2.50	10	10	10.00
12	2.41	1.78	0.63	5.19	1.61	10	10	9.47
13	6.00	4.43	1.57	4.00	2.50	10	10	10.00
14	5.09	3.76	1.33	5.19	3.39	10	10	0.26
15	5.09	3.76	1.33	2.81	1.61	9	5	6.10

联系的有序层次使之条理化,将主观判断结果和客观判断结果直接而有效地结合起来的一种方法^[7]。根据乳膏剂相应指标的重要程度和可量化难易程度,本研究选择离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度作为权重指标予以量化,即将这3个指标分为3个层次,并确定各指标的优先顺序为离心稳定性>耐热稳定性>黏稠度。据此顺序,采用yaahp 10软件构建各指标成对比较的判断优先矩阵(见表3),并对矩阵进行归一化处理,计算出权重系数分别为0.539 0、0.297 3、0.163 8,最大特征根(λ)为3.009 2,一致性指标(CI)为0.004 6;由矩阵阶数为3得到随机一致性指标(RI)为0.580,一致性比率(CR)为0.007 9(<0.1),即指标优化比较矩阵通过一致性检验,表明各评价指标权重系数有效。

表3 瓜子金乳膏评价指标成对比较的判断优先矩阵

Tab 3 Priority matrix for comparison on index pairs of *P. japonica* cream

权重指标	离心稳定性	耐热稳定性	黏稠度
离心稳定性	1	2	3
耐热稳定性	1/2	1	2
黏稠度	1/3	1/2	1

2.5.2 基于指标相关性的指标权重确定方法(CRITIC法)

CRITIC法是一种以评价指标间的对比强度及冲突性作为基础,通过计算标准差将对对比强度及冲突性体现出来的计算方法,可客观反映各评价指标的权重值,主

要通过采用极差标准化对试验结果进行标准化处理来消除单位量纲,极差标准化公式为(实测值-最小值)/(最大值-最小值) $\times 100^{[8-9]}$ 。以乳膏剂的离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度为评价指标,采用SPSS 20.0软件得到各评价指标的相关系数矩阵 A ,由相关系数矩阵可得到 r_{ij} (r_{ij} 表示评价指标 i 和 j 之间的相关系数, $i,j=1,2,3,\dots,n$),再计算对比强度即指标内数值标准差(σ_j)、冲突性(R_j)、综合权重(C_j)与权重(W_j),计算结果见表4。

表4 瓜子金乳膏评价指标的CRITIC法对比强度计算结果

Tab 4 Comparative strength calculation results of evaluation indexes of *P. japonica* cream by CRITIC

权重指标	离心稳定性	耐热稳定性	黏稠度
σ_j	0.258 2	0.414 0	0.276 0
R_j	0.952 0	1.044 0	1.066 0
C_j	0.245 8	0.432 3	0.294 2
W_j	0.252 8	0.444 6	0.302 6

2.5.3 AHP-CRITIC混合加权法

AHP-CRITIC混合加权法是从主观与客观两个方面考虑,较单一方法得到的权重系数更加全面、合理且符合实际。笔者将上述AHP法与CRITIC法结合起来,计算两者的综合权重: $\omega_{综合ij} = \omega_{AHPij} \times \omega_{CRITICij} / \sum (\omega_{AHPij} \times \omega_{CRITICij})$,得到离心稳定性、耐热稳定性、黏稠度的权重分别为0.428 5、0.415 6、0.155 9。

2.5.4 3种权重分析方法计算的综合评分结果比较

分别用上述3种指标权重系数对试验数据进行综合评分,结果见表5。采用SPSS 20.0软件对3种综合评分结果进行相关系数分析。结果,AHP法与CRITIC法的综合评分之间的相关系数为0.984,AHP法与AHP-CRITIC混合加权法的综合评分之间的相关系数为0.983,CRITIC法与AHP-CRITIC混合加权法的综合评分之间的相关系数为0.945,两两比较相关性均显著($P < 0.05$),即3种赋权法得到的综合评分结果具有一致性。采用SPSS 20.0软件对3种赋权方法所得权重系数分析。结果,AHP法与CRITIC法的权重系数之间的相关系数为-0.893,二者相关性不具有统计学意义($P > 0.05$),即所反映的信息不具叠加性。从主观和客观两个方面考虑,AHP-CRITIC混合加权法较单一赋权法更为科学、合理、稳定,故本研究最终以该方法确定指标权重并计算综合评分,即综合评分=0.428 5 X_1 +0.415 6 X_2 +0.155 9 X_3 。

2.6 模型拟合及验证试验

2.6.1 模型拟合

使用Design-Expert 12软件,以综合评分为因变量,以因素 X_1 、 X_2 、 X_3 为自变量进行二次多项式拟合,得到回归方程为:综合评分=-0.784 9+4.045 X_1 +2.143 X_2 -0.874 7 X_3 -0.642 8 X_1X_2 -0.023 41 X_1X_3 -0.009 335 X_2X_3 -0.238 1 X_1^2 +0.104 0 X_2^2 +0.118 3 X_3^2 ($R^2=0.916 0$, $P=0.010 1$)。方差分析结果显示, X_1 、 X_1X_2 、 X_1^2 对综合评分具有显著性影响($P < 0.05$);由 R^2 和 P 值可知,该回归方程

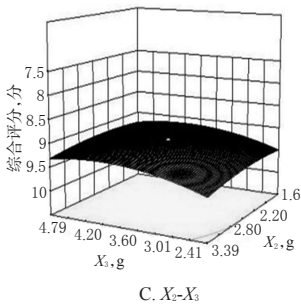
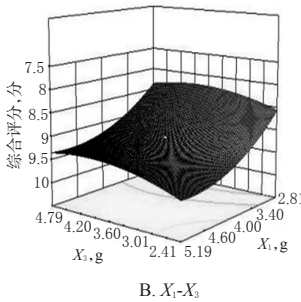
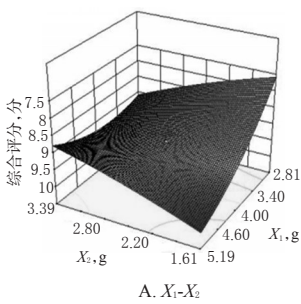
表5 瓜子金乳膏3种权重分析方法的综合评分比较

Tab 5 Comparison of comprehensive score of three weighting methods for *P. japonica* cream

编号	AHP法	CRITIC法	AHP-CRITIC混合加权法
1	8.323	7.423	7.740
2	9.048	8.239	9.094
3	8.364	7.499	7.779
4	9.547	9.162	9.569
5	9.089	8.314	9.133
6	10.000	10.000	10.000
7	9.898	9.809	9.903
8	9.182	8.487	9.222
9	9.234	8.584	9.271
10	9.113	8.360	9.156
11	10.000	10.000	10.000
12	9.914	9.840	9.918
13	10.000	10.000	10.000
14	8.406	7.053	8.482
15	7.337	6.344	6.886

拟合度较好,试验误差小,可用于瓜子金乳膏基质处方的预测。各因素对综合评分影响的效应面图和等高线图见图1,方差分析结果见表6。

效应面图:



等高线图:

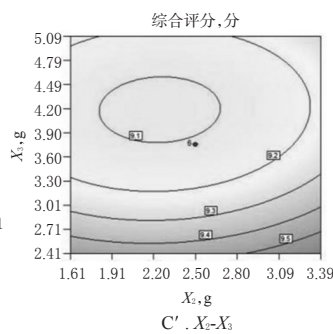
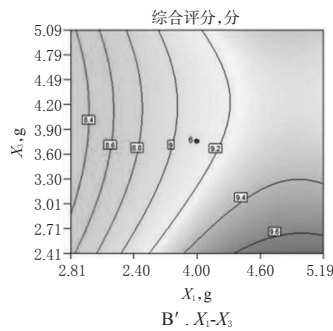
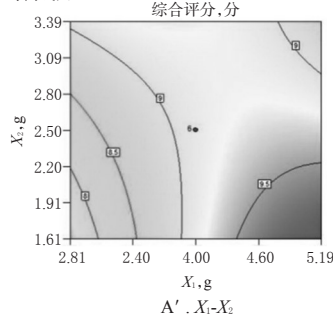


图1 各因素对综合评分影响的效应面图和等高线图
Fig 1 Contour map and response surface map of the influence of various factors on comprehensive score

表6 方差分析结果

Tab 6 Analysis result of variance

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	10.51	9	1.17	4.93	0.010 1
X_1	3.83	1	3.83	16.16	0.002 4
X_2	0.035	1	0.035	0.15	0.707 8
X_3	0.27	1	0.27	1.12	0.314 7
X_1X_2	3.72	1	3.72	15.71	0.002 7
X_1X_3	0.011	1	0.011	0.047	0.833 0
X_2X_3	9.924×10^{-4}	1	9.924×10^{-4}	4.185×10^{-3}	0.949 7
X_1^2	1.64	1	1.64	6.91	0.025 2
X_2^2	0.099	1	0.099	0.42	0.533 6
X_3^2	0.65	1	0.65	2.72	0.129 9

2.6.2 验证试验

根据二次多项式拟合模型结果,以综合评分最高为目标,得到各因素的最佳取值为十八醇用量5.17 g、十六醇用量1.96 g、混合乳化剂用量2.48 g;其余辅料用量固定为苯甲醇1 g、丙二醇5 g、肉豆蔻酸异丙酯6 g,加水至100 g。按上述处方进行3批工艺验证。结果,综合评分预测值和实测值的平均相对误差为1.74%,表明该模型可以准确预测瓜子金乳膏基质处方,详见表7。

表7 验证试验结果

Tab 7 Results of validation tests

样品批号	综合评分预测值,分	综合评分实测值,分	相对误差,%	平均相对误差,%
20200115-1	10.000	10.000	0	
20200115-2	10.000	10.000	0	1.74
20200115-3	10.000	9.477	5.23	

2.7 瓜子金乳膏质量评价

2.7.1 外观性状

本品为浅黄色流体状乳膏,质地细腻均匀,易于涂布,无油腻感。

2.7.2 粒度

取本品(批号:20200115-1)少许,置于载玻片上,滴水1滴,均匀涂抹,盖上盖玻片,按照2015年版《中国药典》(四部)通则0982粒度与粒度分布测定法第一法(显微镜法)^[1]测定。结果,本品粒度为0.5~2.5 μm,视野中未检出大于180 μm的粒子,详见图2。

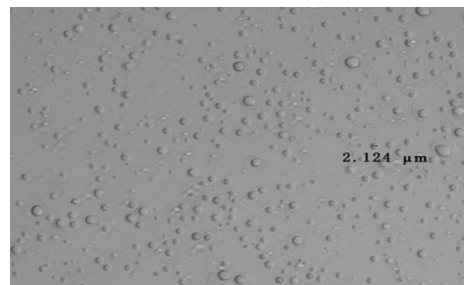


图2 瓜子金乳膏粒度测定的显微图(×400)
Fig 2 Micrograph of particle size of *P. japonica* cream (×400)

2.7.3 pH

取本品(批号20200115-1)适量,加10倍量(mL/g)水溶解,使用pH计测定溶液pH,平行测定3次,取平均值。结果,本品平均pH为6.5,符合外用O/W型乳膏

pH ≤ 8.3 的要求^[10]。

2.7.4 离心、耐热及耐寒稳定性

取本品(批号:20200115-1)适量,按“2.3”项下方法进行离心稳定性和耐热稳定性考察;另取本品适量置于离心管中,于-20℃下放置24h,再进行耐寒稳定性考察。结果显示,在3种条件下,本品均无油水分离、膏体变粗等现象发生。

2.7.5 流变学特性

(1)稳态剪切试验。取本品(按最优处方新制)适量于流变仪平板模具上(转子型号为CP25),设定温度为25℃、剪切速率(r)为0~100 s⁻¹,检测随着剪切速率的增加,乳膏的动力黏度(η , Pa·s)及内部剪切应力(τ , Pa)的变化情况,结果见图3。利用Origin 8.0 软件对图中 r 与 τ 值进行 Ostwald-de Wale 幂律方程拟合($\tau = K \times r^n$, 方程中 n 为非牛顿指数,表示流体偏离牛顿流体特性的程度,其中假塑性流体 $n < 1$,胀塑性流体 $n > 1$,牛顿流体 $n = 1$; K 为常数)^[11],得到拟合方程为 $\tau = 8.382r^{0.5139}$ ($R^2 = 0.9264$), $n < 1$,表明本品为假塑性流体,具有剪切变稀的特性,便于生产、罐装与使用。

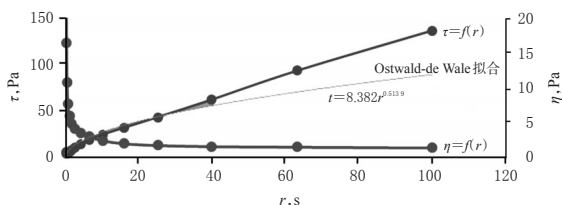
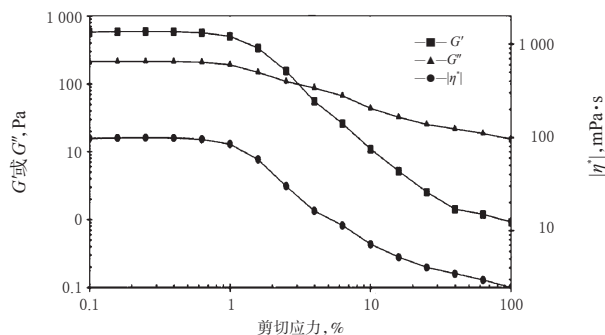


图3 瓜子金乳膏流变曲线

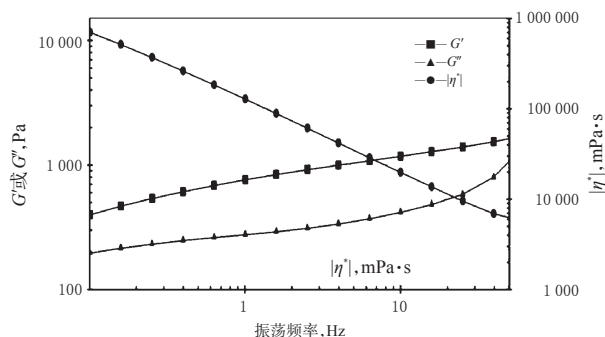
Fig 3 Rheological curves of *P. japonica* cream

(2)振荡剪切试验。乳膏作为半固体制剂,黏弹性是其最重要的性质之一,而表征黏弹性最常用的方法就是振荡剪切试验。因此,本研究采用流变仪分别在应变扫描和频率扫描两种扫描方式下对本品的流变学性质进行研究和测定。

①应变扫描方式:应变扫描是固定扫描频率,观察弹性模量(G' , Pa)、黏性模量(G'' , Pa)以及复数黏度 $|\eta^*|$, Pa·s; $|\eta^*| = [(G'/\omega)^2 + (G''/\omega)^2]^{1/2}$, 式中, ω 为角频率}在不同应力范围内的变化情况^[12]。取本品(批号:20200115-1)适量于流变仪平板模具上(转子型号为CP25),设定温度为25℃、扫描频率为1 Hz、剪切应力范围为0.1%~100%,进行应变扫描。结果发现,在剪切应力0.1%~1%范围内, G' 与 G'' 均不随 τ 的改变而显著变化,提示此区域为乳膏的线性黏弹区。在该范围内,本品的 G' 大于 G'' ,说明本品在小振幅应变范围内以弹性特征为主; $|\eta^*|$ 大小恒定,提示乳膏性质较为稳定,利于样品的贮存和运输。当剪切应力逐渐增大,达到乳膏开始产生流动的最低应力值(4.434 Pa)时,其内部结构发生变化, G' 明显减小, G'' 的降低速度较 G' 缓慢且大于 G' ,其优势逐步体现, $|\eta^*|$ 也急剧减小,此时乳膏的流动性增强,这可以使乳膏的生产罐装、涂抹使用较为方便。瓜子金乳膏的 G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随剪切应力的变化曲线见图4A。



A. G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随剪切应力的变化



B. G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随振荡频率的变化

图4 瓜子金乳膏的 G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随剪切应力和振荡频率的变化曲线

Fig 4 Curve changes of G' , G'' , $|\eta^*|$ of *P. japonica* cream with shear stress and oscillation frequency

②频率扫描方式:频率扫描是选择在线性黏弹区范围内的某个应变条件下,用不同的振荡频率扫描,观察样品在LVE内的 G' 、 G'' 及 $|\eta^*|$ 随着振荡频率变化的情况。取本品适量于流变仪的平板模具上(转子型号为CP25),设定温度为25℃、频率处于100~1000 Hz之间、剪切应力固定为0.5%,检测 G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随振荡频率的变化情况。结果发现,随着振荡频率的增大, G' 和 G'' 均呈上升趋势,且 G' 大于 G'' ,说明乳膏具有较好的稳定性,有利于存储;此外,乳膏的 $|\eta^*|$ 随振荡频率的增大而降低,这与稳态剪切试验中该乳膏具有剪切变稀特性的结论是一致的。瓜子金乳膏的 G' 、 G'' 、 $|\eta^*|$ 随振荡频率的变化曲线见图4B。

(3)触变性试验。在恒定的温度下,如果剪切速率保持不变,流体的 η 会随时间的延长而减小,或者说流体的流变性受到应力作用时间的制约,则这种流体被称为“触变性流体”^[12]。本研究采取三阶段测定法来测定乳膏的触变性。取本品(批号:20200115-1)适量于流变仪的平板模具上(转子型号为CP25),设定剪切速率为0.25 s⁻¹,连续剪切25 s;然后将剪切速率增大至100 s⁻¹,连续剪切90 s;最后将剪切速率迅速恢复至0.25 s⁻¹,再继续剪切90 s。记录样品的 η 随时间的变化情况,通过 η 的恢复情况来判断样品的触变性大小。结果显示,第一阶段乳膏的黏度随着剪切时间的延长而逐渐降低;到第二阶段时,剪切速率增大,乳膏 η 迅速下降;到第三阶段

时,剪切速率较第二阶段降低,乳膏黏度升高,但与第一阶段相比相差不大。可见,所制乳膏相对稳定,剪切操作对于其内部结构无太大影响。瓜子金乳膏在3个阶段的 η 测试曲线见图5。

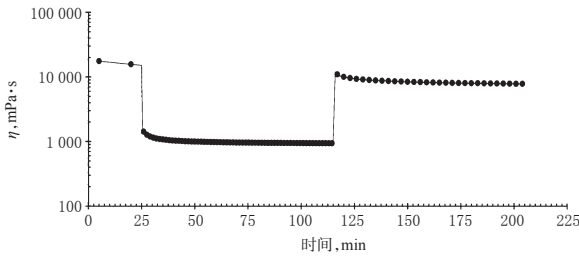


图5 瓜子金乳膏 η 测试曲线

Fig 5 η curve of *P. japonica* cream

3 讨论

3.1 处方优化方法的选择

制剂处方优化常常需要同时考虑多个因素对结果的影响,国内常用的正交设计与均匀设计因试验的精度不够,所建立的数学模型预测性较差,不能灵敏地考察各因素间的交互作用,而星点设计-效应面法具有试验次数少、精度高、因素间可得到最优配比的特点,且该方法已经成熟应用于处方优化中^[13],故本文采用星点设计-效应面法进行瓜子金乳膏的处方优化。

3.2 考察指标及其赋权方法的选择

现有的乳膏评价指标如外观性状(包括细腻均匀、光泽度、涂展性等)因多依赖于肉眼观察,主观因素偏差大、无法量化,制约了其研发的进展。因此,本研究制订了多个量化指标用于瓜子金乳膏处方的优化,除了传统的粒度、外观性状、离心稳定性及耐热稳定性外,还增加了使用质构仪测试的乳膏黏稠度,且因黏稠度与使用者的感官评价直接相关,故提高了乳膏指标评价的可信度^[12]。此外,本研究采用常用的主观与客观相结合的综合评价方法(即AHP-CRITIC混合加权法)进行指标赋权,避免了AHP法强烈的主观性及CRITIC法对实际指标轻重关系的忽略,体现了指标评价的科学性及合理性^[14],可为日后的中药制剂处方筛选研究提供参考及基础。

3.3 质量评价方法的选择

本研究对乳膏的质量评价有外观、粒度、pH、稳定性(离心稳定性、耐热及耐寒稳定性)、流变学性质等。乳膏良好的外观、粒度及pH可提高患者顺应性;良好的稳定性可确保乳膏在贮藏及运输中不变质。流变学是指从剪切速率、剪切应力等方面来研究物体变形和流动规律的一种方法,与国内大部分局限于稳态剪切条件下的相关研究不同的是,本研究从稳态剪切、振荡剪切、触变性3个方面来测试按最优处方制备的乳膏的流变学性质^[15],更为全面地考察了乳膏的流变学特性并预测了其稳定性。

综上,本研究成功优化了处方并制备了瓜子金乳膏。该制剂具有良好的外观性状、粒度、酸碱性和稳定性,相较于中药水煎外敷给药,大大提高了用药的依从性及便利性,具有很大的开发生产空间及应用价值^[16-17],可为瓜子金的进一步研究及产品开发提供参考依据。有关瓜子金乳膏的有效剂量及药理、药效等,笔者将在后续研究中进一步探讨。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:112-113.
- [2] 南京中医药大学.中华大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2006:1044-1045.
- [3] 江西省卫生局革命委员会.江西草药[M].南昌:江西省新华书店,1970:194-195.
- [4] 吴志瑰,胡生福,温晓峰,等.瓜子金药材基原、化学成分及药理作用研究进展[J].江西中医药大学学报,2016,28(3):110-113.
- [5] 张迪,张娟利,宋薇,等.松果菊苷防晒乳膏剂的制备工艺与质量评价[J].中南药学,2020,18(4):558-561.
- [6] 部娜,王承志.星点设计-效应面法优化雄黄乳膏剂的处方组成[J].中成药,2016,38(4):930-934.
- [7] ZHOU SJ, LIU B, MENG J. Quality evaluation of raw Moutan Cortex using the AHP and gray correlation-TOPSIS method[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(51): 528-533.
- [8] 刘小妹,王姗姗,施崇精,等.基于AHP-CRITIC权重分析的Box-Behnken响应面法优化参膝口服液提取工艺研究[J].中药材,2019,42(1):150-155.
- [9] ZHOU GS, MA JY, TANG YP, et al. Multi-response optimization of ultrasonic assisted enzymatic extraction followed by macroporous resin purification for maximal recovery of flavonoids and ginkgolides from waste Ginkgo biloba fallen leaves[J]. *Molecules*, 2018. DOI: 10.3390/molecules23051029.
- [10] 方亮.药剂学[M]. 8版.北京:人民卫生出版社,2016:251-252.
- [11] 吴晓鸾,马建芳,任飞亮,等.普罗雌烯乳膏流变学性质质量控制方法的建立[J].中国医药工业杂志,2019,50(2):220-225.
- [12] NGE L H, KASSIM A, MING H N, et al. Study of highly concentrated olive oil-in-water emulsions stabilized by palm-based nonionic surfactant[J]. *Sains Malays*, 2009, 38(1):95-102.
- [13] 侯晓军,唐菱,周芃,等.星点设计-效应面法优化硼酸乳膏基质配方及质量控制[J].中国药师,2016,19(5):879-883.
- [14] 孟凡敏.基于O/W型乳剂基质的盐酸阿莫罗芬乳膏的研究[D].济南:山东中医药大学,2016.
- [15] 刘小妹,程中琴,施崇精,等.基于AHP-CRITIC法的正交设计优选参膝口服液提取工艺[J].中草药,2018,49(11):2577-2583.

基于SIRT1/Akt/GSK3 β / β -catenin信号通路研究右美托咪定对脓毒症模型大鼠脑损伤的保护机制^A

董晓柳^{1*}, 宋丽华¹, 董伟², 高铭¹, 张秀清¹, 刘蔚然¹, 徐士军¹, 刘铁军³, 崔璐莎⁴(1.唐山市人民医院神经康复科, 河北唐山 063000; 2.唐山市人民医院神经外科, 河北唐山 063000; 3.华北理工大学附属医院麻醉科, 河北唐山 063000; 4.开滦精神卫生中心五病区, 河北唐山 063000)

中图分类号 R971^{·2} 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)21-2621-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.21.11

摘要 目的:通过右美托咪定(Dex)对脓毒症模型大鼠脑损伤中沉默信息调节因子1(SIRT1)/蛋白激酶B(Akt)/糖原合酶激酶3 β (GSK3 β)/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路的影响,探究其对脑损伤的保护作用机制。方法:选取雄性SD大鼠80只,随机分为假手术组(Sham组)、脓毒症组(CLP组)、CLP+Dex组(10 μ g/kg Dex)、CLP+Dex+Sirtinol组(10 μ g/kg Dex+2 μ L/100 g SIRT1抑制剂Sirtinol),每组20只。造模前2 h,CLP+Dex+Sirtinol组大鼠经侧脑室注射给予Sirtinol;各组大鼠采用盲肠结扎穿孔法制备脓毒症模型(Sham组仅手术但不结扎穿孔)。造模结束后0、3、6 h,CLP+Dex组、CLP+Dex+Sirtinol组大鼠分别腹腔注射Dex(10 μ g/kg),Sham组和CLP组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。末次给药24 h后,检测大鼠脑组织含水量、伊文思蓝(EB)含量、大脑皮层组织细胞凋亡情况和脑组织中白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)表达水平,以及海马组织中SIRT1、p-Akt、p-GSK3 β 、 β -catenin蛋白表达水平。结果:与Sham组比较,CLP组大鼠脑组织含水量、EB含量、大脑皮层组织凋亡细胞数及脑组织中IL-1 β 、TNF- α 表达水平显著增加或升高($P<0.05$);海马组织SIRT1、p-Akt、p-GSK3 β 、 β -catenin蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。与CLP组比较,CLP+Dex组大鼠脑组织含水量、EB含量、大脑皮层组织凋亡细胞数及脑组织中IL-1 β 、TNF- α 表达水平显著减少或降低($P<0.05$);海马组织中SIRT1、p-Akt、p-GSK3 β 、 β -catenin蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。而Sirtinol可显著逆转Dex的上述脑保护和因子调节作用($P<0.05$)。结论:Dex对脓毒症模型大鼠具有脑保护作用,该作用可能是通过激活SIRT1/Akt/GSK3 β / β -catenin信号通路而发挥抗炎、抗凋亡等作用,从而减轻脑水肿、保护血脑屏障并减轻脑损伤。

关键词 右美托咪定;脓毒症;脑损伤;脑保护作用;SIRT1/Akt/GSK3 β / β -catenin信号通路;炎症反应;机制;大鼠

Study on Protective Mechanism of Dexmedetomidine on Cerebral Injury in Sepsis Model Rats Based on SIRT1/Akt/GSK3 β / β -catenin Signaling Pathway

DONG Xiaoli¹, SONG Lihua¹, DONG Wei², GAO Ming¹, ZHANG Xiuqing¹, LIU Weiran¹, XU Shijun¹, LIU Tiejun³, CUI Lusha⁴ (1. Dept. of Neurological Rehabilitation, Tangshan People's Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 2. Dept. of Neurosurgery, Tangshan People's Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 3. Dept. of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of North China University of Technology, Hebei Tangshan 063000, China; 4. Five Wards, Kailuan Mental Health Center, Hebei Tangshan 063000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of dexmedetomidine (Dex) on SIRT1/Akt/GSK3 β / β -catenin signaling pathway in cerebral injury of sepsis model rats, and explore the mechanism of its protective effect on cerebral injury. METHODS: A total of 80 male SD rats were randomly divided into sham operation group (Sham group), sepsis group (CLP group), CLP+Dex group (10 μ g/kg Dex), CLP+Dex+Sirtinol group (10 μ g/kg Dex+2 μ L/100 g SIRT1 inhibitor sirtinol), with 20 mice in each group. Two hours before modeling, CLP+Dex+Sirtinol group was injected with sirtinol via lateral ventricle. Sepsis model was induced by cecal ligation and perforation in each group (in sham group, only operation was performed but no ligation was performed). At 0, 3, 6 h after modeling, CLP+Dex group and CLP+Dex+Sirtinol group were given Dex (10 μ g/kg) intraperitoneally, Sham group and CLP group were given constant volume of normal saline intraperitoneally. Cerebral tissue water content, Evans blue (EB) content, apoptosis in cerebral cortex, the levels of IL-1 β and TNF- α in cerebral tissue as well as the

[16] 郭涤亮,徐萍蔚,王亚敏.皮肤局部外用仿制药质量等同性评价的一般考虑[J].中国新药杂志,2018,27(18):

^A基金项目:河北省医学科学研究课题计划(No.20191109)
*副主任医师,博士研究生。研究方向:脑血管疾病及神经免疫。电话:0315-2864734。E-mail:12128012@qq.com

2116-2120.

[17] 张景景,王旭,崔占虎,等.瓜子金的化学成分及药理作用研究进展[J].中国现代中药,2015,17(11):1216-1222.

(收稿日期:2020-03-15 修回日期:2020-09-14)

(编辑:林静)