

· 中药工业 ·

艾天羊活血止痛按摩乳膏的制备及药效研究[△]许蕊蕊¹, 李越¹, 邱仁杰¹, 王秀丽^{1*}, 陈培², 阮婧华^{3*}

1. 北京中医药大学, 北京 102488; 2. 北京金亿门头医疗科技发展有限公司, 北京 102310;

3. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550001

[摘要] 目的: 制备光泽、均匀、易涂抹的艾天羊活血止痛按摩乳膏, 并对其进行药效学研究。方法: 基于药辅合一的理念, 将花椒油作为乳膏油相; 通过单因素以及星点设计-效应面法, 优化处方; 通过小鼠扭体实验、耳肿胀实验, 研究其镇痛和抗炎的作用。结果: 得到载药 10%、内外均匀光滑、涂展性好、稳定的乳膏; 且制备的乳膏镇痛率为 $(56.48 \pm 4.59)\%$, 和对照组相比较能显著延长小鼠扭体潜伏期 ($P < 0.05$); 减少小鼠扭体次数 ($P < 0.05$); 抑制小鼠耳廓肿胀率为 $(56.02 \pm 5.52)\%$, 和模型组相比有差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 制备的艾天羊活血止痛按摩乳膏涂展性好、外观均一; 小鼠药效实验表明, 其具有良好的镇痛和抗炎的作用。

[关键词] 活血止痛; 按摩乳膏; 风湿病; 抗炎镇痛

[中图分类号] R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)08-1099-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181029003

Preparation and Pharmacodynamic Study of Aitianyang Massage Cream

XU Rui-rui¹, LI Yue¹, QIU Ren-jie¹, WANG Xiu-li^{1*}, CHEN Pei², RUAN Jing-hua^{3*}

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Beijing JEMT Medical Technology Development Co. Ltd., Beijing 102310, China;

3. Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550001, China

[Abstract] **Objective:** To prepare and study the pharmacodynamics of Aitianyang massage cream with functions of promoting blood circulation and relieving pain. **Methods:** Based on the concept of pharmaceutical supplement, prickly ash oil was used as the oil phase of cream. Optimization of formulation was carried out by single factor and central composite design response surface methodology. The analgesic and anti-inflammatory effects of writhing test and mouse ear swelling test were studied. **Results:** The cream with ten percent of drug loading, smooth inside and outside, good coating stability and good stability were obtained. And swelling inhibition rate of the cream reached fifty six point four eight percent, which significantly prolonged the latency of writhing in mice compared with the control group ($P < 0.05$), it reduced the number of writhing ($P < 0.05$), the rate of inhibiting mouse auricle swelling was fifty six point zero two percent which was significantly different from the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The massage cream has good analgesic and anti-inflammatory effects.

[Keywords] Promoting blood circulation and relieving pain; massage cream; rheumatism; anti-inflammatory and analgesia

风湿病是一类侵犯关节、骨骼、肌肉、血管及有关软组织或结缔组织的自身免疫性疾病, 呈慢性进行性, 病情缠绵难愈, 晚期易出现关节功能障碍, 严重影响患者生活质量, 且大多具有遗传倾向^[1]。

现代医学多采用非甾体类抗炎药、糖皮质激素、免疫抑制剂等治疗, 但副作用较多, 多数患者难以坚持长期服药, 很难达到令人满意的疗效。

传统中医药及民族医药在治疗风湿这种慢性病

[△] [基金项目] 贵州省社发攻关项目 [(2018)2821]

* [通信作者] 王秀丽, 副研究员, 研究方向: 新型给药系统研究; E-mail: Lnwangxiuli@163.com
阮婧华, 副研究员, 研究方向: 新型药物传递系统; E-mail: 1438274952@qq.com

时具有不良反应少的显著优点。艾天羊活血止痛按摩乳膏的中药处方来源于民间验方^[2]。该方原本的应用是将中药处方粉碎后,按1:1的比例与凡士林混合,作为按摩膏,具有油腻、有效成分吸收极其有限等缺点。从制剂应用的角度出发,本文将中药材进行提取制备乳膏剂,通过单因素筛选和星点设计-效应面法优化处方工艺。利用药辅合一的理念,将处方中花椒单独提取花椒油,作为油相,既作为辅料,又可以很好地发挥促进透皮、抑菌以及活血止痛的作用。

1 材料

1.1 仪器

FA1204B型分析天平(上海精密仪器仪表有限公司);3-18N台式高速离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);BCD-182KZ50电冰箱(珠海格力电器股份有限公司);打孔器(上海垒固仪器有限公司);RB-200智能热板仪(上海益联科教设备有限公司)。

1.2 试药

无水乙醇(分析纯,北京化工厂);去离子水(实验室自制);辣椒碱油(清远铭仁生物技术有限公司,批号:18022821);尼泊金乙酯、冰醋酸(天津市福晨化学试剂厂);硬脂酸(上海麦克林生化科技有限公司,批号:C10070946);单硬脂酸甘油酯(北京华威锐科化工有限公司,批号:HW17C0319-2)、二甲苯、丙三醇(北京化学试剂公司);十二烷基硫酸钠(广东省精细化学品工程技术研究开发中心,批号:20180301);羧甲基纤维素钠(江门市高昌科技有限公司,批号:180420);创伤止痛乳膏(北京航琪医药有限公司,批号:220026668);消肿止痛酊(广州壮族自治区花红药业有限公司,批号:20180103);复方醋酸地塞米松乳膏(华润三九医药股份有限公司,批号:20180210);乳香、没药、红花、延胡索、血竭等(广州市岭南中药饮片有限公司佛山分公司,符合2015年版《中华人民共和国药典》相关项下的要求)。

2 实验内容

2.1 乳膏制备实验方法与结果

2.1.1 药材提取液的制备

2.1.1.1 药材鉴定与前处理 没药、乳香、红花、

延胡索、血竭等中药材,购买于安国中药材市场,经北京中医药大学廖艳副教授鉴定为真。药材打粉,过40目筛,干燥,备用。

2.1.1.2 药材提取 按照处方称量各药材(冰片除外),置适宜容积锥形瓶中,加入适量95%乙醇,以没过药材为佳。每隔12 h适当振荡,使乙醇和药材混合均匀,冷浸放置。第一次冷浸72 h后减压抽滤,滤液避光保存,滤渣再加入适量95%乙醇冷浸。第二次和第三次均冷浸24 h,其余操作同第一次冷浸,合并所有滤液。用旋转蒸发仪回收滤液中的乙醇,浓缩至稠浸膏,用乙醇稀释稠浸膏至乙醇药液质量浓度约为 $8.2 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,得提取液。

2.1.2 基质筛选

2.1.2.1 星点设计 根据相关文献^[3]和预实验确定的用量范围,利用软件Design-Expert 8.06进行星点设计^[4],选择硬脂酸、单硬脂酸、十二烷基硫酸钠用量为考察因素,每因素设计5个水平,因素水平见表1,设计结果与实验结果见表2。

表1 乳膏基质处方星点实验因素水平(总质量10 g)

水平	A 硬脂酸/g	B 单硬脂酸甘油酯/g	C 十二烷基硫酸钠/g
alpha	1.30	0.80	0.30
+1	1.24	0.74	0.26
0	1.10	0.60	0.17
-1	0.96	0.46	0.09
-alpha	0.90	0.40	0.05

2.1.2.2 方程拟合与绘三维图 以光泽度、均匀度和涂展性的总评分为评价指标,利用Design-Expert 8.0.6 Trial软件对各因素进行二项式拟合,得出总评分与各因素的回归方程为: $D(\text{评分}) = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_4AB + b_5AC + b_6BC + b_7A^2 + b_8B^2 + b_9C^2$ 。

将方程根据 R^2 进行调整,以 $P < 0.05$ 拒绝假设,得到二项式方程: $D = 188.59A + 311.08B + 3737.90C - 3157.94C^2 - 2013.68BC - 1256.41AC$ ($P < 0.01$, $r = 0.9113$)。

根据模型回归方程绘制总评分D对A、B、C的三维效应面图^[5],具体见图1。由图可得,10 g乳膏中A、B、C的最佳含量分别为:0.96~1.1、0.46~0.53、0.17~0.26 g。根据试验结果选择最佳配方:2% A、11% B、5% C。

表 2 乳膏基质处方星点试验设计与评分结果

编号	A	B	C	光泽度	均匀度	涂展性	稳定离心性	耐寒性	耐热性	总分
1	0.96	0.74	0.26	3.3	3.3	13.3	5.0	15.0	13.3	53.2
2	1.24	0.74	0.09	8.3	10.0	20.0	15.0	20.0	13.3	86.7
3	1.10	0.80	0.17	2.5	5.0	13.3	15.0	20.0	13.3	69.2
4	1.10	0.60	0.17	10.0	8.3	16.7	15.0	20.0	20.0	90.0
5	0.96	0.46	0.09	5.0	2.5	5.0	5.0	5.0	6.7	29.3
6	1.10	0.60	0.05	5.0	2.5	5.0	5.0	5.0	6.7	29.2
7	1.10	0.60	0.17	10.0	8.3	16.7	20.0	20.0	20.0	95.0
8	1.10	0.40	0.17	10.0	5.0	13.3	20.0	20.0	13.3	81.7
9	1.10	0.60	0.30	2.5	2.5	10.0	5.0	15.0	6.7	41.7
10	1.10	0.60	0.17	5.0	10.0	15.0	20.0	20.0	13.3	83.3
11	0.90	0.60	0.17	10.0	10.0	10.0	20.0	20.0	13.3	83.3
12	1.24	0.46	0.26	7.5	10.0	20.0	10.0	20.0	6.7	74.2
13	1.30	0.60	0.17	5.0	5.0	20.0	15.0	15.0	13.3	73.3
14	1.10	0.60	0.17	10.0	10.0	20.0	20.0	20.0	20.0	100.0
15	1.10	0.60	0.17	7.5	5.0	15.0	20.0	20.0	13.3	80.8

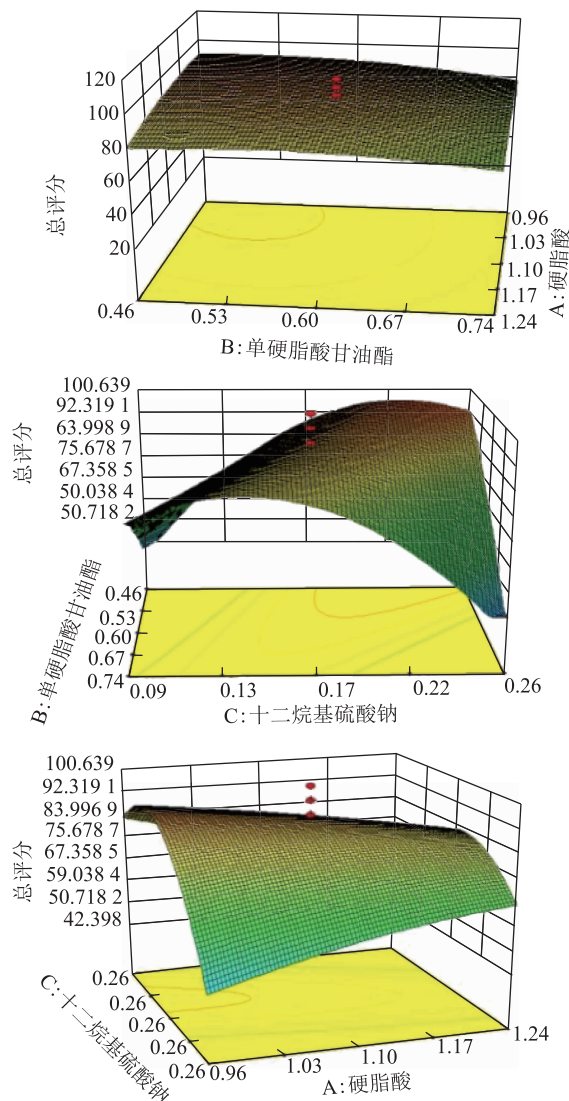


图 1 硬脂酸、单硬脂酸甘油酯对和十二烷基硫酸钠总评分影响的三维效应面图

2.1.2.3 评分标准 查阅文献^[6]和实际情况,光泽度、均匀度和涂展性采用 3 人进行评分,每项评分取平均值计算。具体评价标准见表 3。

表 3 乳膏基质外观评价标准(n=3)

评分项目	评分标准		
	10 分(优)	5 分(良)	2.5 分(差)
光泽度	亮泽,光滑,无颗粒	较平整,有些许小颗粒	表面粗糙,有较大颗粒
均匀度	均匀,细腻,无气泡	较均匀,较细腻,略有气泡	不均匀,有气泡
涂展性	易涂抹,不泛白,清爽	涂展性中等	涂展性差,油腻,泛白

离心稳定性评价:取少量乳膏于 2 mL 的 EP 管中,4000 r·min⁻¹离心 15 min;耐热稳定性评价:取少量乳膏于适宜容器中密封,于 50 ℃ 水浴锅中,恒温保持 6 h。耐寒稳定性:密封乳膏置 -20 ℃,24 h,取出至室温。评价标准以是否油水分层为主,具体见表 4。

表 4 乳膏基质稳定性评价标准(n=3)

评分项目	20 分(优)	15 分(良)	10 分(中)	5 分(差)
离心稳定性	完全不分层	略有分层	严重分层	完全分层
耐热稳定性				
耐寒稳定性				

评分处理^[6]:根据表 3~4 评价标准,采用加权评分法评分。光泽度、均匀度两个外观因素各占 10%;涂展性、离心稳定性、耐热稳定性、耐寒稳定性各占 20%;总共 100 分。

2.1.2.4 验证实验 根据最佳配方平行制备 3 份,得到基质为黄色、表面光泽、均匀、细腻的半固体,评分见表 5,评分标准同表 3~4。

表5 基质验证实验结果($n=3$)

序号	光泽度	均匀度	涂展性	离心稳定性	耐热稳定性	耐寒稳定性	实际综合得分	理论综	偏差/%	偏差平均值/%
1	10	10	10	20	20	20	90	90	0	3.3
2	10	5	10	20	20	20	85	90	5	
3	10	10	5	20	20	20	85	90	5	

2.1.3 载药量的确定 将硬脂酸、单硬脂酸甘油酯置一蒸发皿中,水相置另一蒸发皿中,乳化剂加入水中。置80℃恒温水浴锅上加热融化搅拌均匀,加入花椒油搅拌均匀。再向油相中分别加入5%、10%、15%、20%药材提取物无水乙醇溶液,保温6 min,再加入对应量的冰片,加热使之溶解。搅匀后,将油相加入水相中,沿同一方向边加边搅拌,先快后慢,均匀后停止,冷凝。评分标准见表3~4,结果见表6。

表6 乳膏不同载药量综合评分比较($n=3$)

药液加入比例/%	光泽度	均匀度	涂展性	离心稳定性	耐热稳定性	耐寒稳定性
5	10.0	10.0	10.0	20.0	15.0	20
10	10.0	10.0	10.0	20.0	15.0	20
15	5.0	5.0	10.0	10.0	15.0	20
20	2.5	2.5	2.5	5.0	5.0	10

由上表可得,药液加入量为10%时,乳膏各方面评分达到要求,所以确定药液加入量为10%。

2.2 药效学实验

2.2.1 方法

2.2.1.1 小鼠醋酸扭体实验 雄性 SPF 级 KM 小鼠 30 只,体质量为18~22 g,合格证号 SCXK(京)2016-0002,购于北京斯贝福实验动物科技有限公司,饲养于北京中医药大学动物房。根据体质量随机分为3组:模型(0.5%羧甲基纤维素钠 20 mL·kg⁻¹)、乳膏组和阳性组(扶他林乳膏^[7]),每组10只,上双侧耳廓均匀涂抹给药^[8],其中乳膏组涂药后按摩20 min,每天1次。实验第7天,每只小鼠腹腔注射1%冰醋酸[0.1 mL·(10g)⁻¹]致痛^[9],记录开始出现扭体(拗体潜伏期)的时间及15 min内扭体次数,以潜伏期、扭体次数和镇痛百分率表示乳膏的镇痛活性,依下列公式算出潜伏期延长率、扭体次数抑制率和镇痛百分率。比较组间差异。

扭体潜伏期延长率(%)=(给药后时间-给药前时间)/给药前时间×100 (1)

扭体次数抑制率(%)=(对照组扭体均数-受

试组扭体鼠均数)/对照组扭体均数×100 (2)

镇痛百分率(%)=(对照组扭体鼠数-受试组扭体鼠数)/对照组扭体鼠数×100 (3)

2.2.1.2 对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 取小鼠30只,随机分为3组,每组10只,分别为模型组、乳膏组和阳性药组(复方醋酸地塞米松乳膏),实验时各组分别取对应剂量的乳膏、空白乳膏或0.9%氯化钠溶液,均匀涂布于小鼠脱毛的皮肤上,按摩20 min。每隔2 h给药1次,连续给药3次。每次给药前,先用0.9%氯化钠溶液清洗给药处,待皮肤干燥后给药。于末次给药1 h后,在小鼠左耳前后均匀涂抹二甲苯0.05 mL致炎,右耳不涂作为对照。1 h后将小鼠颈椎脱臼处死,再将其耳朵剪下,用8 mm直径打孔器直接在小鼠左右两耳郭同一位置打下圆片,称质量。以两耳片质量差值(左耳-右耳)作为程度指标。

2.2.2 统计学处理方法 所有数据使用 SAS 9.0 统计学软件进行处理,数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,组内比较采用配对样本 t 检验法,组间比较采用独立样本 t 检验法。

2.2.3 药效实验结果

2.2.3.1 对小鼠醋酸扭体法镇痛实验的影响 结果表明,与对照组比较,艾天羊活血止痛按摩乳膏组和阳性药(扶他林乳膏)组能够显著延长小鼠扭体潜伏期和降低小鼠扭体次数($P < 0.05$),且乳膏组和阳性组小鼠镇痛百分率差异无统计学意义,提示艾天羊活血止痛按摩乳膏有明显的镇痛作用,结果见表7。

表7 乳膏对小鼠醋酸扭体法镇痛实验的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	潜伏期/s	扭体次数	镇痛百分率/%
对照组	251.33 ± 27.37	48.33 ± 4.23	
乳膏组	348.33 ± 16.89	21.00 ± 2.31	56.48 ± 4.59
阳性药组	340.00 ± 25.91	24.17 ± 2.64	49.50 ± 8.82

注:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.2.3.2 对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 结果表明,与二甲苯模型组比较,艾天羊活血止痛按摩乳膏组和阳性药(复方醋酸地塞米松乳膏)组明显降低二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀($P < 0.05$),表明艾天羊活血止痛按摩乳膏有明显的抗炎作用,结果见表8。

表8 乳膏对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
模型组	7.03 ± 0.39	
乳膏组	3.08 ± 0.33	56.02 ± 5.52
阳性药组	2.11 ± 0.26	69.69 ± 5.27

注:与二甲苯模型组比较, $P < 0.05$ 。

肿胀抑制率(%) = (对照组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 空白组肿胀度 × 100 (4)

3 结果

本研究运用“药辅合一”的理念,在乳膏基质的制备过程中花椒油既用作油相又发挥药效,不仅简化了制备工艺还减少了辅料的加入。制备的艾天羊活血止痛乳膏光滑、均匀、易涂抹,稳定性符合要求;乳膏对醋酸引起的扭体和疼痛,均有明显的抑制作用;对二甲苯引起的耳廓肿胀有明显消肿的效果。

4 讨论

风湿病属于中医“痹症”范畴,临床多以局部疼痛为表现。活血止痛按摩乳膏源于民间验方,对风湿病的治疗效果明确。方中君药川椒^[10]具有温中止痛的功效。《神农本草经》载:“逐骨节皮肤死肌,寒湿痹痛。”《本草纲目》记载:“纯阳之物, …, 治风寒湿痹。”没药、乳香、延胡索、血竭作为臣药合用能够发挥气血兼固、活血祛瘀、通经活络、消肿止痛的作用^[11]。外用乳膏具有避免口服给药可能发生肝首过效应和胃肠灭活的特点,还可以提高药物疗效、延长有效作用时间、减少给药次数和自主给药等优点。结合按摩的手法进一步促进血液循环、药物吸收、提高药物疗效。动物实验结果表明,活血止痛按摩乳膏能有效地延长小鼠醋酸扭体潜伏期,减少小鼠醋酸扭体次数和抑制小鼠耳廓肿胀,具有很好的止痛、消炎作用,与十余年良好的临床应用反馈效果一致,体现了该乳膏的确切疗效。

“药辅合一”通常指制剂处方中部分中药兼任原料和辅料的双重角色^[12]。方中花椒油既是乳膏中的油相,起到承载脂溶性提取物及构建乳膏的作用,还能够发挥促进药物透皮吸收的作用,同时作为川椒的

主要药效部位,可以很好地发挥驱寒止痛的作用。花椒油在发挥药效的同时,还代替了乳膏的油相,并与冰片一起起到促透剂的作用,有效减少了其他试剂的加入量,不仅节约资源,也提高了制剂的安全性。

乳膏制备过程中,为避免气泡产生,搅拌时应同一方向搅拌。搅拌时间适当,时间过短易导致混合不均匀;时间过长易影响稳定性。乳膏制备完成后,储存及分装均需注意及时密封,避免表面水分挥发而出现“结壳”现象。为了提高稳定性,延长有效时间,乳膏储存环境温度在0~20℃。

致谢:感谢北京中医药大学本科生李龙宇、刘子源、刘悦三位同学在处方筛选过程中对实验操作的参与。

参考文献

- [1] 方利,刘健,章平衡,等.膏方治疗风湿病优势探讨[J].风湿病与关节炎,2015,4(4):54-56.
- [2] 方晓明,柯中古,曹庭江,等.血川按摩乳膏的制备及临床应用[J].中国医院药学杂志,2007(8):1156-1157.
- [3] 皮凤娟,黄娟,张庆莲.复方大黄酒膏制备工艺研究[J].中医外治杂志,2017,26(5):59-61.
- [4] 邱仁杰,黄艺钟,王秀丽.乳剂型凝胶剂预混辅料的初步研制[J].中国中药杂志,2017,42(3):498-504.
- [5] 高梦洁,贾春燕,姜林.星点设计-效应面法优化苍桂颗粒提取工艺[J].中国现代中药,2018,20(4):462-468.
- [6] 魏宁.甘草乳膏的制备工艺与质量标准研究[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2015.
- [7] 刘虎,李洁,王喜梅,等.苧苈膏醋酸扭体法镇痛实验研究[J].新疆中医药,2014,32(2):54-55.
- [8] 赵子剑.新型青藤碱衍生物合成及其透皮、抗炎和镇痛活性研究[D].长沙:湖南大学,2016.
- [9] 孙璠璠.风湿祛痛胶囊新工艺治疗类风湿性关节炎的作用及其机制[D].长春:吉林大学,2016.
- [10] 张治文.膝痹舒药袋洗剂治疗膝关节骨关节炎的临床观察[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2017.
- [11] 镇树清,文晓芳,石欣,等.名老中医镇万雄巧用药对治疗风湿病临床经验[J].光明中医,2017,32(9):1240-1242.
- [12] 戴胜云,徐冰,史新元,等.中药质量源于设计方法和应用:产品和工艺设计[J].世界中医药,2018,13(3):550-555.

(收稿日期:2018-10-29 编辑:王笑辉)