

# 正交试验优化设计 兽用复方癣净凝胶剂处方

陈 曦 徐宗香 李 阳 王观悦 安丽娜 冯万宇\*

黑龙江省兽医科学研究所,黑龙江齐齐哈尔 161006

**摘要** 为了以酮康唑为主药,优选出抗真菌药兽用复方癣净凝胶剂的处方,设计了 3 因素 3 水平的正交试验,通过改良 Franz 扩散池,用小鼠腹部皮肤进行体外模拟渗透研究,并采用高效液相色谱法测定皮肤给药后酮康唑的累积渗透百分率,筛选出最佳处方配比。结果发现:按处方制备的凝胶剂呈无色或微红色,胶体细腻、透明、均匀、性状稳定。表明该凝胶剂配方合理,适宜于动物真菌性皮肤病的治疗研究。

**关键词** 酮康唑;兽用复方癣净;凝胶剂;正交设计;外用抗真菌药;高效液相色谱法

动物皮肤真菌病由于病程长、反复发作且临床可用药物剂型单一,一直困扰着兽医临床工作者。本试验旨在研制一种高效、低毒、给药方便、经济可靠的抗真菌外用剂型,以利于动物皮肤真菌病的有效控制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

Waters2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司生产;改良 Franz 扩散池,沈阳玻璃仪器厂生产;磁力搅拌器,上海精密科学仪器有限公司生产。

### 1.2 试验试剂

酮康唑对照品(99.9%,批号为 100294-200602),购自中国药品生物制品检定所;酮康唑原粉和卡波姆-940,购自湖北健源化工有限公司;三乙醇胺、氮酮、聚乙二醇(PEG-400)、无水乙醇(分析纯)、甲醇(色谱纯)和三乙胺(色谱纯),购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

### 1.3 色谱条件

色谱柱:岛津 Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(V:V=75:25);流速:1 mL/min;检测波长:240 nm;柱温:(25±2)℃;进样量:20 μL。

### 1.4 标准曲线制作

精密称取酮康唑对照品 10.01 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,配制成 100 μg/mL 标准溶液,作为储备液。使用储备液分别配制浓度为 2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、40.0 和 50.0 μg/mL 的酮康唑甲醇标准溶液,0.22 μm 微孔滤膜过滤;用高效液相色谱仪按 1.3 中条件进样,测定 4 次取平均值;根据结果绘制标准曲线。

### 1.5 凝胶制备工艺

首先,将卡波姆-940 置于小烧杯中,均匀铺撒一层,再用喷雾器喷洒适量蒸馏水,过夜溶胀;加入适量的无水乙醇,得半透明的胶冻状物体,搅拌均匀。其次,取酮康唑于锥形瓶中,加乙醇,水浴(低于 70℃)并磁力搅拌,使其完全溶解至透明;加入尼泊金甲酯和尼泊金丙酯,搅拌溶解;再依次加入 PEG-400、甘油和氮酮。再次,将制备好的胶体缓慢匀速地加入其中,并持续磁力搅拌至无凝块状态;加入适量蒸馏水。最后,用三乙醇胺调节 pH 值至 5,得兽用复方癣净凝胶剂,标示量为 30 mg/g。

### 1.6 离体皮肤渗透试验

取健康雄性昆明小鼠(体重 25~30 g),脱臼处死,用电动剃毛器剃去腹部皮肤的毛,以手术剪剥离腹部皮肤。将剥离下来的皮肤平铺于器械盘上(角

收稿日期:2013-09-11

\* 通讯作者

陈 曦,女,1983 年生,硕士,助理研究员。

质层向下),用手术刀剔除皮下脂肪及粘连物,并用生理盐水冲洗干净。将冲洗干净的小鼠皮肤剪成适当大小并经检查确定完整无损后,固定在改良 Franz 扩散池的供给室和接受室之间(角质层朝向供给室)。将 PEG-400/生理盐水(V:V=2:8)从取样口处注满接受室(接受面积为 2.54 cm<sup>2</sup>,溶液体积为 25 mL),使其与鼠皮紧密接触(接触面无气泡);精确称取 1 g 兽用复方癣净凝胶剂,均匀涂抹于固定好的小鼠皮肤角质层上;将扩散池放在(35±2)℃水浴中并进行磁力搅拌,分别在 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0 h 将接受液全部抽出,并加入新的 PEG-400/生理盐水(V:V=2:8);将抽出溶液置于同一离心管中涡旋震荡,以混匀;用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,进样。按 1.4 中所得方程计算酮康唑质量,并按以下公式计算酮康唑在 PEG-400/生理盐水中的累积释放百分率。

$$Q = \rho \cdot V / m \times 100\%$$

式中:V 指取出接受液的总体积;ρ 指接受液中酮康唑的浓度;m 指凝胶剂中酮康唑的质量。

### 1.7 正交设计优化处方

正交设计考察的因素为:A 为 PEG-400、B 为氮酮、C 为卡波姆-940,因素水平设计见表 1。以酮康唑 12 h 累计释放百分率为考察指标,正交设计 3 因素 3 水平方案见表 2。

表 1 处方筛选因素水平 %

水平	A	B	C
1	5.0	0.0	0.5
2	10.0	1.0	1.0
3	20.0	2.0	2.0

表 2 处方筛选正交试验安排及结果 %

组别	A	B	C	Q
1	5.00	0.00	0.50	27.83
2	5.00	1.00	1.00	34.66
3	5.00	2.00	2.00	30.29
4	10.00	1.00	0.50	40.35
5	10.00	2.00	1.00	39.27
6	10.00	0.00	2.00	38.44
7	20.00	2.00	0.50	38.79
8	20.00	0.00	1.00	37.24
9	20.00	1.00	2.00	40.49
K <sub>1</sub>	92.78	103.51	106.97	
K <sub>2</sub>	118.06	115.50	111.17	
K <sub>3</sub>	116.52	108.35	109.22	
$\overline{K_1}$	30.93	34.50	35.66	
$\overline{K_2}$	39.35	38.50	37.06	
$\overline{K_3}$	38.84	36.12	36.41	
R	8.48	4.00	1.40	

注:K<sub>n</sub>(n 为 1,2,3)依次为 A、B 和 C 因素 n(n 为 1,2,3)水平 Q 值的和; $\overline{K_n}$ (n 为 1,2,3)依次为 A、B 和 C 因素 n(n 为 1,2,3)水平 Q 值的平均值;R 为  $\overline{K_1}$ 、 $\overline{K_2}$  和  $\overline{K_3}$  的极差。

## 2 结果与分析

### 2.1 酮康唑的高效液相色谱结果

在 1.3 色谱条件下进样,得酮康唑甲醇溶液高效液相色谱图(见图 1),保留时间为 5.1 min,峰形良好,分离度好。绘制标准曲线(见图 2),并得线性方程  $A = 6.2547 C + 1.4123$ ,  $R^2 = 0.9997$ ,在 2.5~50.0 μg/mL 浓度范围内线性关系良好。

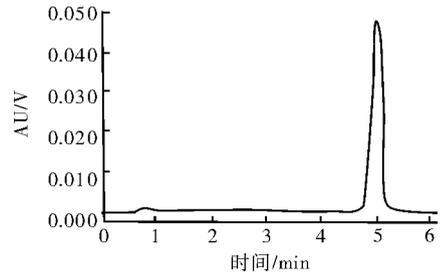


图 1 酮康唑对照品甲醇溶液高效液相色谱图

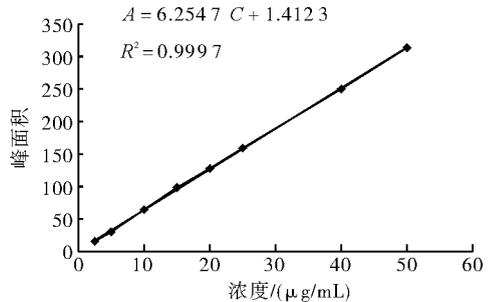


图 2 酮康唑对照品甲醇溶液标准曲线图

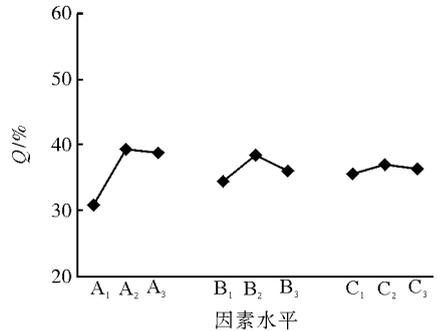


图 3 兽用复方癣净凝胶剂组方筛选因素指标直观分析图

### 2.2 正交试验结果

兽用复方癣净外用凝胶剂处方正交试验筛选结果见表 2,其直观分析图如图 3 所示。各因素在兽用复方癣净外用凝胶剂经皮肤渗透过程中 A (PEG-400)最主要,其次是 B(氮酮),再次是 C(卡波姆-940)。优选出最佳组合是 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即 PEG-400 含量 10%、氮酮含量 1%、卡波姆-940 含量 1%。最终所得处方为:酮康唑 3.0 g,卡波

姆-940 1.0 g, 氮酮 1.0 g, PEG-400 10.0 g, 甘油 10.0 g, 尼泊金甲酯 0.2 g, 尼泊金丙酯 0.1 g, 三乙醇胺适量, 加蒸馏水至 100.0 g。按上述处方配制兽用复方癣净外用凝胶剂, 所得凝胶剂无色或微红、透明、均匀、性状稳定、延展涂布效果良好。

### 3 讨论

本试验设计 3 因素 3 水平的正交试验是以单因素考察为基础的。主要考察的因素有凝胶基质、保湿剂、透皮促进剂、pH 调节剂和防腐剂的选择。在初步考察后, 确定凝胶剂形成的主要因素并设计正交试验; 在通过直观分析后经试验证明, 筛选出的组方制成的凝胶剂型在外观、性状等方面符合要求。

本试验中 12 h 的酮康唑累计渗透量相对较小,

原因可能是药物在皮肤中滞留, 需要进一步进行试验研究。

### 参 考 文 献

[1] 朱静. 酮康唑经皮渗透性及凝胶剂研究[D]. 天津: 天津大学, 2009.

[2] 徐仲安, 王天保, 李常英, 等. 正交试验设计法简介[J]. 科技情报开发与经济, 2002, 12(5): 148-150.

[3] 范义凤, 李德明, 徐旭娟. 正交设计优化复方酮康唑凝胶剂的处方配比[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(4): 323-325.

[4] 李霞, 李继, 张秉华, 等. 高效液相色谱法测定酮康唑乳膏中酮康唑含量[J]. 药物鉴定, 2010, 19(4): 22-23.

[5] 徐从娟. 经皮给药原理与数学模型分析[D]. 济南: 山东大学, 2011.

(责任编辑: 郭会田)

## 引进猪的特点及使用介绍

### 1 适宜作为母本的品种

1) 法系大白、长白猪。产地法国, 由原先从中国引进的太湖猪与伦约克猪杂交并经世代选育而成, 保留了太湖猪发情明显、易配种、产仔多、母性好的特点。国内 2002 年从法国纽克诺司公司引进, 经多年驯化培育, 已经适应了我国的饲养条件; 2006 年从法国伊彼得公司引进了新法系长白、大白猪, 体型得到了改善, 生长速度更快。目前, 国内绝大部分种猪场均以法系母猪作为基础母猪。虽然法系长白猪哺乳性能优于法系大白猪, 但四肢偏软, 因而淘汰率高、使用年限短。

2) 英系大白、长白猪。2006 年引进 SPF 系列建立了中国唯一的 SPF 种猪场, 其形体优美、瘦肉率略高于法系, 但产仔数、生长速度、肉质均逊于法系。其主要用于种猪场同一品种内不同品系之间杂交培育大白或长白猪, 如英系长白×法系长白、英系长白×丹系长白、英系大白×法系大白。

### 2 适宜作为父本的品种

#### 2.1 第一父本品种

即用来与基础母猪杂交生产二元母猪的父本。

1) 美系长白猪。四肢健壮, 瘦肉率高。其与法系大白母猪杂交(双方基因优劣互补)生产的美法系二元母猪体大腹深、背沟明显、臀部发达, 但性成熟较晚、配种技术要求高, 适于规模化猪场使用。

2) 丹系长白猪。其繁殖性能尤其是泌乳性能极佳, 与英系大白猪杂交生产的英丹系二元母猪体长背平、产仔略逊于美法系, 但易于配种、适应性好。

#### 2.2 第二父本品种

即与长大二元母猪或长大三元母猪杂交生产生长速度更快、抗病率更强的三元或四元杂交商品猪的终端父本。

1) 杜洛克猪。瘦肉率 68% 左右, 臀部发育好。美系杜洛克猪比台系杜洛克猪四肢更粗壮。

2) 皮特兰猪。瘦肉率 75% 左右, 生长速度略逊于杜洛克猪, 早期引进的比系皮特兰猪应激大, 2006 年引进的新法系皮特兰猪基本无应激反应。

来源: 中国猪业网