

· 工艺与制剂 ·

万通筋骨喷雾剂的体外经皮渗透效果考察

葛克亚¹, 杜茂波², 刘淑芝^{2*}, 李曼玲², 康琛², 宋立华¹, 王洪珍³, 李颖³

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

3. 通化万通药业股份有限公司, 吉林 通化 134001)

[摘要] 目的: 考察万通筋骨喷雾剂的经皮渗透效果。方法: 以绿原酸为指标, 采用垂直式改良 Franz 扩散池装置进行试验, HPLC 测定含量。结果: 万通筋骨喷雾剂样品的透皮速率 $27.919 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 6 h 内平均累积透过率 13.53%; 绿原酸喷雾剂的透皮速率 $6.636 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 6 h 内平均累积透过率 3.78%。结论: 万通筋骨喷雾剂的体外透皮行为符合零级方程, 其经皮渗透效果优于绿原酸喷雾剂。

[关键词] 经皮渗透; 绿原酸; 高效液相色谱; 喷雾剂

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)05-0001-03

Investigation of *in vitro* Transdermal Permeation Effect of Wantong Jingu Sprays

GE Ke-ya¹, DU Mao-bo², LIU Shu-zhi^{2*}, LI Man-ling²,
KANG Chen², SONG Li-hua¹, WANG Hong-zhen³, LI Ying³

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Wantong Pharmaceutical Co. Ltd, Tonghua 134001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate transdermal permeation effect of Wantong Jingu sprays. **Method:** Modified Franz diffusion cell was applied to investigate *in vitro* transdermal absorption behavior of Wantong Jingu sprays, with the content of chlorogenic acid as index, which was determined by HPLC. **Result:** In six hours, accumulated transdermal rate of Wantong Jingu sprays and chlorogenic acid sprays were 13.53%, 3.78%, respectively; Transdermal rate were $27.919, 6.636 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** *In vitro* transdermal absorption behavior of Wantong Jingu sprays was in accordance with zero-level equation, its transdermal absorption effect was better than chlorogenic acid sprays.

[Key words] percutaneous penetration; chlorogenic acid; HPLC; sprays

万通筋骨喷雾剂组方来源于万通筋骨片, 由金银花、马钱子、麻黄等药材组成, 具有祛风散寒、通络止痛的功效, 主要治疗类风湿性关节炎等痹症。由于皮肤具有类脂双分子层结构, 水溶性成分一般透过相对较差, 脂溶性成分透过相对较好。中药复方成分复杂, 既有脂溶性成分, 又有水溶性成分, 水溶

性成分经皮渗透的主要途径是皮肤水化形成孔隙通道^[1]。本实验以绿原酸为指标, 考察万通筋骨喷雾剂的经皮渗透性、药物在皮肤中残留的情况及药物存在形式(复方、单体)对经皮渗透性的影响, 旨在考察万通筋骨喷雾剂中水溶性成分的透皮行为。

1 材料

717 型高效液相色谱仪(2487 型双波长紫外检测器, Empower 色谱工作站, 美国 Waters 公司), BSA224S CW 型电子分析天平(德国赛多利斯公司), TK-20B 型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司)。

雄性小鼠由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, SPF 级, 许可证号 SCXK-(军)-

[收稿日期] 20121018(006)

[基金项目] 国家科技重大专项重大新药创制项目(2009ZX09301-005-05)

[第一作者] 葛克亚, 在读硕士, 从事中药制剂研究, Tel: 13671300560, E-mail: gckeya@163.com

[通讯作者] * 刘淑芝, 研究员, 博士生导师, 从事中药新剂型与新药开发研究, Tel: 010-84043227, E-mail: liushuzhi2004@sina.com

2009-0017。
绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200413),聚乙二醇 400(PEG-400,国药集团化学试剂有限公司)。甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制 精密称取绿原酸对照品 2.11 mg,置于 50 mL 量瓶中,加适量 50% 甲醇超声溶解,放冷,定容至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2 样品的制备

2.2.1 万通筋骨喷雾剂的制备 按处方量称取药材,将金银花等 6 味药材水提醇沉得上清液,马钱子等 19 味药材渗漉提取得渗漉液,按处方比例将两部分提取液混匀,按比例加入相应辅料,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得(绿原酸质量浓度 0.450 4 g·L⁻¹)。

2.2.2 绿原酸喷雾剂的制备 参照万通筋骨喷雾剂中绿原酸的质量浓度,精密称取适量绿原酸对照品至 10 mL 量瓶中,加 65% 乙醇及相应辅料,超声溶解,即得。

2.2.3 供试品溶液制备 将万通筋骨喷雾剂样品进行透皮试验,不同时间点取样,将所得接收液过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.3 方法学考察

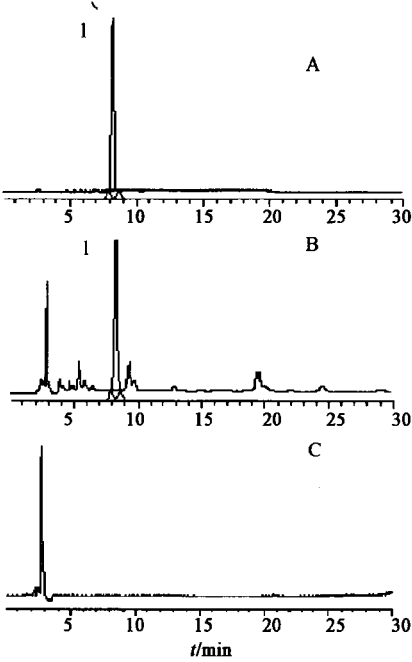
2.3.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.4% 磷酸(13:87),检测波长 327 nm,柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹。在上述色谱条件下,绿原酸与周边杂峰达到基线分离,空白溶液无干扰,满足定量分析的要求。见图 1。

2.3.2 线性关系考察 取对照品溶液适量,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,分别进样 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μL,按 2.3.1 色谱条件测定绿原酸的峰面积。以对照品进样质量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 2.652 2 \times 10^6 X + 3 175.2$ ($r = 0.999 8$),线性范围 0.004 22 ~ 0.422 μg。

2.3.3 精密度试验 将同一供试品溶液于同日内连续进样 6 次,测定峰面积,经计算 RSD 0.65%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取 6 份供试品溶液分别进样,测定绿原酸含量。结果 RSD 1.43%,表明方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12 h 进样,测定峰面积。结果 RSD 2.39%,说明供试品溶液在 12 h 内稳定。



A. 对照品;B. 供试品;C. 空白对照;1. 绿原酸
图 1 万通筋骨喷雾剂 HPLC

2.3.6 加样回收试验 精密吸取已知含量的 6 份供试品溶液各 2.5 mL,分别置 5 mL 量瓶,按供试品-对照品 1:1 加入对照品溶液 1.5 mL,混匀,用接收液定容至刻度,测定。结果平均回收率 102.70%,RSD 0.64%,表明方法的准确度良好。

2.4 离体鼠皮的制备 将年龄适宜的雄性健康小鼠(18 ~ 20 g)处死,用脱毛剂将鼠毛小心脱去,冲洗干净,剪下皮肤,小心剥离脂肪层,选取腹部皮肤,用生理盐水冲洗干净,冷藏(4 ~ 5 ℃)备用。

2.5 接收液的筛选^[2] 分别选择生理盐水,生理盐水-乙醇(7:3),PEG-95% 乙醇-水(1:3:6),30% 乙醇为接受液,采用 Franz 扩散池装置进行透皮试验,分别于 0.5, 1, 2 h 取出接收液,同时补充等体积的新鲜接收液。将所取接收液过 0.22 μm 微孔滤膜,采用 HPLC 进行含量测定,结果见表 1。确定选用生理盐水-95% 乙醇(7:3)作为接收液。

表 1 4 种接收液的体外透皮试验

接收液	绿原酸累积透过量/μg		
	0.5 h	1 h	2 h
生理盐水	5.905	13.036	25.087
生理盐水-95% 乙醇	17.612	33.707	62.057
PEG-95% 乙醇-水	11.593	26.553	57.731
30% 乙醇	12.047	27.206	62.896

2.6 体外透皮试验^[3-4] 由于本制剂为液体制剂,药物在皮肤停留时间较短,溶媒为 65% 乙醇,挥发性强,综合考虑,将体外透皮取样时间设定为 6 h。采用垂直式改良扩散池装置,该装置由上下两只筒

状玻璃管对合而成,上有自制盖帽,防止药液的挥发。扩散池体积 18 mL,有效扩散面积 0.727 5 cm²,水浴温度(32.5 ± 0.2) °C,接受液为生理盐水-95%乙醇(7:3),内加搅拌子。

将已处理好的鼠皮固定在两室之间,角质层一侧朝上;向扩散池中加入接收液,排除气泡,向供给池中精密加入 2 mL 喷雾剂药液,盖帽,密封,开动透皮扩散试验仪,转速 350 r·min⁻¹。分别于时间点 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 h 将接收液全部取出,同时补加等体积的新鲜接收液,将所得透皮接收液过 0.22 μm 微孔滤膜,每次进样 50 μL,采用 HPLC 进行含量测定。按下式计算单位面积的累积透过量(Q)和单位面积累积透过率(P)。

$$Q = \left(\sum_{i=1}^n C_n \right) \times V / S$$

$$P = Q \times 100 / T$$

式中 C_n 表示第 n 次取样时接收液中药物的质量浓度,V 表示取样体积,S 表示有效扩散面积,T 表示原药液中绿原酸的质量浓度。Q 对取样时间进行动力学方程拟合,结果见表 2,透皮曲线见图 2。

表 2 万通筋骨喷雾剂和绿原酸喷雾剂的
动力学拟合参数(n=6)

参数	Q _t 方程	r	透皮速率常数 /μg·cm ⁻² ·h ⁻¹	P /%
万通筋骨喷雾剂	Q = 27.919t + 3.026	0.999 4	27.919	13.53
绿原酸喷雾剂	Q = 6.6360t + 7.559	0.996 8	6.636	3.78

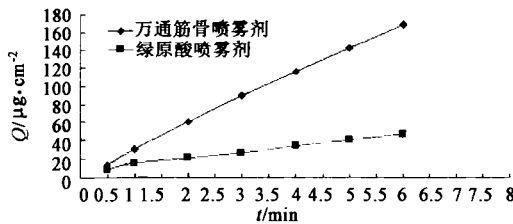


图 2 万通喷雾剂和绿原酸喷雾剂中绿原酸的透皮曲线

2.7 皮肤中药物滞留量考察^[5] 6 h 体外透皮试验结束后,立即清除供给池药液,同时用水将皮肤表面残留药物冲洗干净,重新加入新鲜接收液,放入透皮扩散仪中进行透皮试验,于时间点 1,2,4 h 将接收液全部取出,同时立即补加等体积的新鲜接收液,将所得接收液过 0.22 μm 的微孔滤膜,采用 HPLC 进行含量测定。将皮肤取下,用滤纸吸干,加入 25 mL 50% 甲醇进行超声提取 30 min,所得提取液过 0.22 μm 微孔滤膜,测定绿原酸含量。结果万通筋骨喷雾剂的累积透过量分别为 1.603,1.633,2.117

μg;绿原酸喷雾剂均为 0.114 μg;万通筋骨喷雾剂样品和绿原酸喷雾剂透皮后皮肤中绿原酸质量分数分别为 1.505,0.183 μg·g⁻¹。绿原酸的皮肤滞留量理论上应等于清除药物后继续透皮所得的累积透过量与皮肤超声提取液中绿原酸含量之和。万通筋骨喷雾剂透皮试验结束后 4 h 内皮肤滞留量 3.622 μg,占其 6 h 累积透过量 2.97%;绿原酸喷雾剂透皮试验结束后 4 h 内皮肤滞留量 0.297 μg,占其 6 h 累积透过量 0.87%。表明绿原酸在皮肤中滞留量很少,即皮肤“贮库效应”^[6] 不明显,该研究结果对确定给药间隔时间有一定指导意义。

3 讨论

本实验表明,绿原酸的体外透皮行为近似零级方程,万通筋骨喷雾剂的透皮效果优于绿原酸喷雾剂,初步可推测复方中绿原酸的透皮效果优于绿原酸单体的透皮效果。

在透皮吸收试验中,皮肤的屏障及药物的理化性质等因素均会影响药物成分的透皮过程,其中皮肤的障碍及相关生理学性质直接制约着药物成分的经皮渗透。绿原酸虽为水溶性成分,却表现出良好的经皮渗透规律,推测原因可能为①中药复方多种成分的相互作用和处方中其他成分对万通喷雾剂浓度的贡献,使其在皮肤表面停留时间较绿原酸单体喷雾剂长,有利于皮肤水合并通过水化孔隙通道;②复方中绿原酸与其他成分形成某种复合物,脂溶性增强,使其更容易透过皮肤;③复方中多种挥发性成分促进了绿原酸的经皮渗透。

[参考文献]

[1] 杜茂波,吴志成,刘淑芝,等. 冠心凝胶膏剂的体外释放和透皮吸收评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):43.

[2] 周莉玲,侯海霞,李锐. 青蒿琥酯透皮吸收研究中接收液的筛选[J]. 中成药,2000,22(3):184.

[3] 朱鹏飞,冯伟红,杜茂波,等. 三黄喷雾剂体外透皮吸收[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):15.

[4] 李丽华,郭美华,孙昭君,等. 双黄连溶液剂的制备及体外透皮吸收考察[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(11):1594.

[5] 陈鸿清,黄加庆,姚梅坤,等. 盐酸尼卡地平贴剂的制备及体外透皮释药[J]. 中国医院药学杂志,2000,20(11):649.

[6] 葛竹兴,秦枫,郁杰. 中兽药复方涂膜剂乳炎清体外透皮效果研究[J]. 中兽医医药杂志,2006,25(5):12.

[责任编辑 全燕]

万通筋骨喷雾剂的体外经皮渗透效果考察

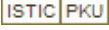
作者：

葛克亚，[杜茂波](#)，[刘淑芝](#)，[李曼玲](#)，[康琛](#)，[宋立华](#)，[王洪珍](#)，[李颖](#)

作者单位：

葛克亚, [宋立华](#) (首都医科大学中医药学院, 北京, 100069)，[杜茂波](#), [刘淑芝](#), [李曼玲](#), [康琛](#) (中国中医科学院中药研究所, 北京, 100700)，[王洪珍](#), [李颖](#) (通化万通药业股份有限公司, 吉林通化, 134001)

刊名：

[中国实验方剂学杂志](#) 

英文刊名：

[Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae](#)

年，卷(期)：

2013, 19(5)

参考文献(6条)

1. [杜茂波](#), [吴志成](#), [刘淑芝](#) [冠心凝胶膏剂的体外释放和透皮吸收评价](#) 2012(11)
2. [周莉玲](#), [侯海霞](#), [李锐](#) [青蒿琥酯透皮吸收研究中接收液的筛选](#) 2000(03)
3. [朱鹏飞](#), [冯伟红](#), [杜茂波](#) [三黄喷雾剂体外透皮吸收](#) 2012(12)
4. [李丽华](#), [郭美华](#), [孙昭君](#) [双黄连溶液剂的制备及体外透皮吸收考察](#) 2007(11)
5. [陈鸿清](#), [黄加庆](#), [姚梅坤](#) [盐酸尼卡地平贴剂的制备及体外透皮释药](#) 2000(11)
6. [葛竹兴](#), [秦枫](#), [郁杰](#) [中兽药复方涂膜剂乳炎清体外透皮效果研究](#) 2006(05)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgsyfjxzz201305001.aspx