



消癥止痛凝胶膏剂经皮渗透性研究

鲍艳举¹, 杜茂波^{2*}, 刘淑芝², 花宝金^{1*}

(1. 中国中医科学院 广安门医院, 北京 100053; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 考察消癥止痛方凝胶膏剂大鼠的透皮行为。方法: 以延胡索乙素为指标, 采用改良 Franz 扩散池法进行实验, HPLC 测定样品的含量。结果: 24 h 累积经皮渗透率和速率分别为 20.20%, $0.744\ 1\ \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。结论: 消癥止痛方凝胶膏剂大鼠的经皮渗透行为符合零级动力学模型且离散度较小, 经皮渗透行为较为理想。

[关键词] 消癥止痛方; 透皮吸收; 延胡索乙素; HPLC; 凝胶膏剂

消癥止痛凝胶膏剂由延胡索、血竭、乳香、没药、冰片等中药组成, 具有化瘀通络、解毒抗癌、行气止痛的功效^[1-2]。凝胶膏剂(原巴布剂)是一类以水溶性高分子材料为基质的新型外用剂型, 具有载药量大、保湿性强、可反复揭帖、随时终止给药、用药安全等优点, 是当前中药经皮给药新剂型研究热点。本实验以延胡索乙素为指标, 对消癥止痛方凝胶膏剂经皮渗透性规律进行研究。

1 材料

高效液相色谱仪(2487 型双波长紫外检测器, 717 型自动进样系统, 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-20 透皮扩散实验仪(上海锴凯科技贸易有限公司); Z92-B 型多功能搅拌器(天津利华仪器厂)。

延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110726-201011); PEG400(国药集团化学试剂有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯; 凝胶膏剂基质均为食用或者药用规格, 包括聚丙烯酸钠、卡波姆、明胶等。

Wistar 雌性大鼠, SPF 级, 体重 250 ~ 300 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证

号[SCXK(京)2012-0001]。

2 方法与结果

2.1 消癥止痛凝胶膏剂的制备

2.1.1 消癥止痛浸膏的制备 延胡索、血竭、乳香、没药以 60% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并醇提液, 回收乙醇, 水浴浓缩至膏状物(相对密度 1.12 ~ 1.14), 放置 10 min, 加入处方量的冰片, 混匀, 即得该浸膏。

2.1.2 基质的制备 称取处方量的聚丙烯酸钠、卡波姆、明胶, 加水溶胀, 混匀, 即得该基质。

称取处方量浸膏和基质, 混合均匀, 制成膏体后均匀涂布于衬布上, 加盖聚乙烯薄膜, 即得消癥止痛方凝胶膏剂样品。

2.2 透皮实验方法与装置

采用垂直式 Franz 扩散池, 将消癥止痛方凝胶膏剂小贴紧密贴与处理好的屏障上, 固定于释放池与接收池之间, 于接收池中准确加入接受液 18 mL, 排净气泡。接受液为 PEG400-95% 乙醇-水(1:3:6)^[3-4], 扩散池的有效扩散面积为 $2.834\ \text{cm}^2$, 磁力搅拌器转速 $400\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 水浴温度 $(32.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$, 分别于 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 取样, 取样时将接收液全部取出, 同时补加同样体积的新鲜接收液。

2.3 延胡索乙素的含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 取延胡索乙素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含延胡索乙素 $42.80\ \mu\text{g}$ 的溶液, 即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取透皮接收液适量过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 即得。

2.3.3 色谱条件 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, $5\ \mu\text{m}$); 流动相甲醇-乙腈-15

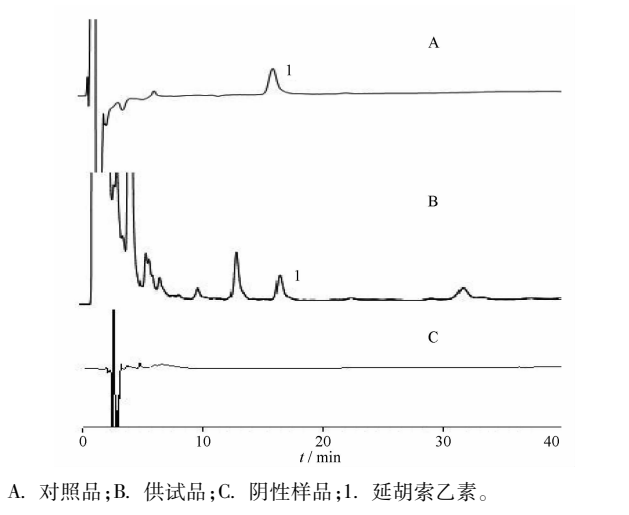
[收稿日期] 2013-04-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81273718)

[通信作者] * 杜茂波, 助理研究员, 主要从事中药制剂与经皮给药新剂型研究, E-mail: dumaobo@126.com; * 花宝金, 主任医师, 博士生导师, 主要从事中西医结合治疗肿瘤的临床与基础研究, Tel: (010)88001221, E-mail: huabaojin@sohu.com

[作者简介] 鲍艳举, 主治医师, 博士研究生, Tel: (010)88001192, E-mail: baoyanju@126.com

mmol 十二烷基磺酸钠(SDS)溶液-三乙胺(24:32:44:0.5)^[5],流速 1.0 mL·min⁻¹;检测波长 280 nm;柱温 30℃。在此条件下,延胡索乙素与其他组分色谱峰均达到基线分离,空白接收液无干扰,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 延胡索乙素。

图 1 消癥止痛凝胶膏剂的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC gram of Xiaozheng Zhitong cataplasm

2.3.4 线性关系考察 精密吸取延胡索乙素对照品 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,得对照品稀释液 I。精密移取对照品稀释液 I 2 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度得对照品稀释液 II。取对照品稀释液 II,分别进样 1,2,5,10,20,40,80 μL,记录峰面积,以延胡索乙素进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $y = 891\,977x + 73.081$ ($r = 0.999\,9$),延胡索乙素在 0.000 856 ~ 0.068 48 μg 线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 精密吸取供试品溶液连续进样 6 次,记录峰面积,结果 RSD 2.1%,表明方法精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 0,2,4,8,12,24 h 进样,记录峰面积,结果 RSD 1.9%,表明方法稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 平行制备 6 份供试品溶液,分别进样,记录延胡索乙素峰面积并计算含量,结果 RSD 1.0%,说明方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密量取 6 份已知延胡索乙素含量的供试品,分别置于 10 mL 量瓶中,按 1:1 加入对照品,混匀,用接收液定容,即得加样回收

试验样品,平行进行 6 次试验。按 2.3.3 项下色谱条件进行测定,计算得平均回收率为 100.1%,RSD 0.50%,表明本方法的准确度良好,见表 1。

表 1 延胡索乙素的加样回收率

Table 1 Recovery rate of tetrahydropalmatine in Zhitong cataplasm

样品中量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.015 3	0.015 5	0.030 8	99.97	100.1	0.36
0.015 3	0.015 5	0.030 8	99.70		
0.015 2	0.015 5	0.030 7	100.0		
0.015 3	0.015 5	0.030 9	100.4		
0.015 3	0.015 5	0.030 9	100.5		
0.015 3	0.015 5	0.030 7	99.67		

2.4 体外经皮渗透实验研究

2.4.1 离体鼠皮的制备 将大鼠断颈处死,用适量脱毛剂将大鼠毛小心脱去,用生理盐水冲洗干净,剪下皮肤,小心剥离脂肪层,选取完整的皮肤,置于生理盐水中,于冰箱中 4℃ 贮存。

2.4.2 经皮渗透实验 按 2.2 项下方法进行实验,将屏障换成大鼠皮肤,于 1,2,4,8,12,24 h 取样,制备透皮样品,用 HPLC 测定延胡索乙素含量,结果见图 2,对结果进行线性拟合,得消癥止痛方凝胶膏剂中延胡索乙素的透皮曲线为 $Q = 0.744\,1t + 0.023\,5$,透皮速率为 $0.744\,1\,\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$,累计透过率为 20.20%。

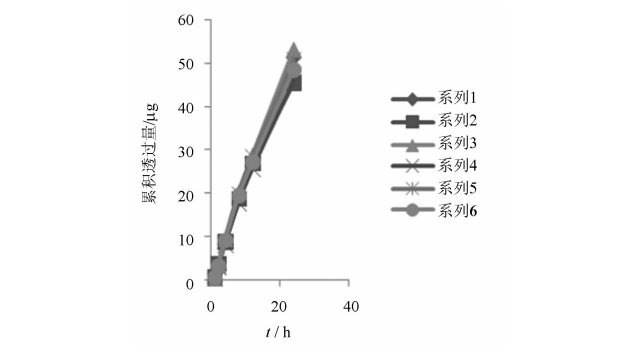


图 2 消癥止痛方凝胶膏剂中延胡索乙素的累计渗透曲线

Fig. 2 $Q-t$ release curves of tetrahydropalmatine in Xiaozheng Zhitong cataplasm

3 讨论

由于皮肤角质的限速,经皮给药制剂 24 h 的累

计透过率都在10%~20%,本实验的结果超过了20%,较为理想。可能与处方中含有冰片、乳香、没药等芳香走窍的药物有关^[6]。

由于动物皮肤的原因,经皮渗透样品之间的离散度都比较大;课题组对以往经皮渗透的数据进行总结,发现问题的原因可能是动物皮肤角质层以下的组织很难处理干净,皮下组织中又以脂肪最难处理;基于该思路,课题组用新鲜的大鼠皮肤浸于0.5%十二烷基硫酸钠溶液中,于4℃下放置24h,取出室温放置30min,进行皮下组织的处理,生理盐水反复冲洗,然后进行该透皮实验。从实验结果来看,该种除去角质层以下组织的方法取得了较好的效果,样品之间的离散度较为理想。处理之后的大鼠经皮渗透规律仍符合零级动力学模型,说明大鼠皮肤角质层的屏障作用没有破坏。综上所述,用

该方法处理大鼠皮肤是可行的,但是此方法能否成为皮肤处理的一般方法进行应用,还需进一步的试验进行验证。

[参考文献]

- [1] Bao Yan-ju, Hua Bao-jin, Hou Wei, et al. Alleviation of cancerous pain by external compress with Xiaozheng Zhitong paste[J]. Chin J Integr Med, 2010, 16(4):1.
- [2] 鲍艳举,花宝金,侯炜,等. 消癥止痛外用方治疗癌性疼痛的临床作用特点分析[J]. 北京中医药, 2010, 29(2):24.
- [3] 田璐,张蜀,林华庆,等. 经皮给药制剂体外透皮扩散实验方法的研究进展[J]. 中国药房, 2012, 23(29):2761.
- [4] 杜茂波,刘淑芝,李曼玲,等. 黄连巴布剂体外释放和透皮行为研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8):969.
- [5] 杜茂波,刘淑芝,刘树扬,等. 元胡止痛软胶囊中延胡索提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9):50.
- [6] 叶青. 中药促渗剂的若干问题研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2003.

Study on percutaneous absorption of Xiaozheng Zhitong cataplasm

BAO Yan-Ju¹, DU Mao-bo^{2*}, LIU Shu-zhi², Hua Bao-jin^{1*}

- (1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China;
2. Institute of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the transdermal behavior of Xiaozheng Zhitong cataplasm in rats. **Method:** With tetrahydropalmatine as the index, the Franz diffusion cell method was adopted for the experiment. Sample content was determined with HPLC. **Result:** The transdermal permeability and the transmission rate of tetrahydropalmatine accumulated for 24 h were 20.20% and 0.744 1 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The transdermal behaviors of Xiaozheng Zhitong cataplasm were ideal in conformity with the zero order kinetic model.

[Key words] Xiaozheng Zhitong cataplasm; transdermal absorption; tetrahydropalmatine; HPLC; cataplasm

doi:10.4268/cjcmm20132222

[责任编辑 曹阳阳]