

椒姜凝胶贴膏的体外释药动力学与药效学评价

王明硕^{1,2,3}, 杜茂波², 沈硕², 党瑞华⁴, 王岚², 易红², 姚瑶², 王春民^{3*}, 刘淑芝^{2*}

(1. 承德医学院, 河北承德 067000; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

3. 河北省中药新辅料技术创新中心, 河北承德 067000;

4. 深圳建安医药有限公司, 广东深圳 518000)

[摘要] 目的:研究椒姜凝胶贴膏的体外动力学并对其药效学进行评价,为该制剂的开发提供可行性依据。方法:采用改良的Franz扩散池法进行体外释放与透皮试验,分别以半透膜和离体小鼠皮肤作为透过屏障,采用高效液相色谱法(HPLC)测定指标成分羟基- α -山椒素、人参皂苷Rb₁及6-姜辣素的含量,以评价椒姜凝胶贴膏的释放与经皮渗透效果。6-姜辣素和羟基- α -山椒素检测的流动相为水-乙腈-甲醇(2:1:1),检测波长280 nm;人参皂苷Rb₁检测的流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(31:69),检测波长203 nm。建立小鼠肠麻痹模型,动物随机分为5组,即假手术组、模型组、多潘立酮组(3.9 mg·kg⁻¹)及椒姜凝胶贴膏高、低剂量组(6.2, 3.1 g·kg⁻¹,以生药量计),观察椒姜凝胶贴膏对模型动物胃肠推进功能的影响。结果:椒姜凝胶贴膏中羟基- α -山椒素,6-姜辣素及人参皂苷Rb₁在24 h的平均释放速率分别为16.41, 4.23, 4.15 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$;体外透皮试验中24 h平均透过速率分别为2.31, 0.64, 0.29 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$;皮肤滞留量分别为19.56, 3.59, 1.61 μg 。根据Ritger-Peppas方程,确定羟基- α -山椒素、人参皂苷Rb₁及6-姜辣素的释放为非Fick扩散。椒姜凝胶贴膏高剂量组对模型小鼠小肠摩擦损伤术后的肠功能具有一定改善作用,可以促进肠蠕动,促进小肠推进率($P<0.05$)。结论:椒姜凝胶贴膏具有体外释放和透皮性能,体外释放符合Higuchi方程,经皮渗透行为符合零级动力学方程,其对术后的小肠功能有改善作用,可提高小肠推进功能,初步说明该制剂具有一定的临床开发价值。

[关键词] 椒姜凝胶贴膏; 透皮吸收; 体外释放; 羟基- α -山椒素; 6-姜辣素; 人参皂苷Rb₁; 肠麻痹

[中图分类号] R22;R28;R94;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)05-0141-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220155

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220105.1359.003.html>

[网络出版日期] 2022-01-05 20:00

In Vitro Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Evaluation of Jiaojiang Cataplasms

WANG Ming-shuo^{1,2,3}, DU Mao-bo², SHEN Shuo², DANG Rui-hua⁴, WANG Lan², YI Hong²,

YAO Yao², WANG Chun-min^{3*}, LIU Shu-zhi^{2*}

(1. Chengde Medical University, Chengde 067000, China;

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

3. Hebei New Excipients Technology Innovation Center of Traditional Chinese Medicine,

Chengde 067000, China; 4. Jian'an Pharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the *in vitro* kinetics of Jiaojiang cataplasms and evaluate its pharmacodynamics, so as to provide a feasible basis for the development of this preparation. **Method:** The improved Franz diffusion cell was used for the *in vitro* release in semipermeable membrane and transdermal

[收稿日期] 20211021(019)

[基金项目] 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04313);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(L2019010);国家非物质文化遗产项目[IX-4(1)]

[第一作者] 王明硕,在读硕士,从事中药制剂研究,E-mail:13832412280@163.com

[通信作者] *王春民,硕士,主任中药师,从事中药新技术与新应用研究,E-mail:13603140779@139.com;

*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,E-mail:liushuzhi2004@sina.com

absorption in *in vitro* mouse skins. The contents of hydroxy- α -sanshool, 6-gingerol, ginsenoside Rb₁ were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), to evaluate the *in vitro* release and transdermal absorption of Jiaojiang cataplasms. The mobile phase of 6-gingerol and hydroxy- α -sanshool was water-acetonitrile-methanol (2:1:1) with the detection wavelength of 280 nm. The mobile phase of ginsenoside Rb₁ was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (31:69) with the detection wavelength of 203 nm. A mouse intestinal paralysis model was established, and mice were randomly divided into five groups, namely sham operation group, model group, domperidone group (3.9 mg·kg⁻¹) and high- and low-dose groups of Jiaojiang cataplasms (6.2, 3.1 g·kg⁻¹, measured by crude drug dosage), to observe the effect of this preparation on gastrointestinal propulsion function. **Result:** Average release rates of hydroxy- α -sanshool, 6-gingerol and ginsenoside Rb₁ at 24 h were 16.41, 4.23, 4.15 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, the average transdermal rates of them at 24 h were 2.31, 0.64, 0.29 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, their skin retention values were 19.56, 3.59, 1.61 μg , respectively. According to the Ritger-Peppas equation, the release of hydroxy- α -sanshool, 6-gingerol, ginsenoside Rb₁ was non-Fick diffusion. The high-dose group of Jiaojiang cataplasms could improve intestinal function of model mice after small intestinal friction injury, and promote intestinal peristalsis and small intestinal propulsion rate ($P<0.05$). **Conclusion:** Jiaojiang cataplasms has *in vitro* release and transdermal properties, the *in vitro* release conforms to Higuchi equation, and transdermal absorption behavior conforms to zero-order kinetic equation, which can improve the postoperative function of the small intestine and the propulsion function of small intestine. It preliminarily indicates that the preparation has certain clinical development value.

[Keywords] Jiaojiang cataplasms; transdermal absorption; *in vitro* release; hydroxy- α -sanshool; 6-gingerol; ginsenoside Rb₁; intestinal paralysis

中药穴位贴敷给药是一种在中医药理论指导下充分体现中医药特色的给药方式,具有给药剂量小、定点给药、用药次数少、作用时间长、临床疗效好等优点^[1-3]。中药凝胶贴膏是指中药或中药提取物与水溶性高分子化合物或亲水性物质混匀后,涂布于裱背材料上制得的外用贴剂^[4-5]。其具有载药量大、给药剂量准确、药物释放平稳、血药浓度稳定、透气性好、皮肤刺激小、使用方便并可重复使用等特点^[6-7],克服了传统穴位贴敷疗法的药膏所存在的易粘染衣物、皮肤刺激性和致敏性等缺点^[8],是实现中药穴位贴敷给药的理想剂型。神阙穴位于脐正中,为任脉要穴,与人体诸经百脉相通;中药穴位贴敷给药可用于治疗多种疾病^[9-10]。神阙穴贴敷给药在健脾和胃、涩肠止泻的治疗领域效果显著,适用于消化不良、腹痛、腹泻、脱肛等病证的治疗。因此,本研究拟采用穴位贴敷与凝胶贴膏相结合的方式给药,既可发挥凝胶贴膏的剂型特点,又能使药物与经络穴位在协同作用下调节脏腑功能和治疗疾病。

椒姜凝胶贴膏是以经典名方为基础的加减化裁方研制的用于神阙穴贴敷给药的中药外用制剂,处方由花椒、干姜、人参、枳实、白芍5味药组成,用于治疗脾胃虚寒证,具有促进胃肠动力的作用,临

床定位是术后胃肠功能障碍的治疗。本研究选择处方药味花椒、干姜、人参中的主要有效成分羟基- α -山椒素、人参皂苷 Rb₁和6-姜辣素为评价指标,考察椒姜凝胶贴膏的体外释药动力学特性,并以小鼠小肠推进率为评价指标,考察椒姜凝胶贴膏对胃肠功能的促进作用,以初步评价其成药性。

1 材料

e2695和Arc型高效液相色谱仪(美国沃特世公司),DHC-6TD型透皮仪[禄亘仪器设备(上海)有限公司],JJ-500型电子天平(常熟市双杰测试仪器厂,量程0~500 g,精度0.01 g),ME155DU型电子天平[瑞士梅特勒-托利多公司,精度0.1 mg],BSA224S CW型1/1万电子分析天平(德国赛多利斯公司,精度0.01 mg),P4型多功能搅拌器(德国IKA公司),SCIENTZ-950E型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

花椒、干姜、人参、枳实、白芍等饮片均购自北京仟草中药饮片有限公司,经中国中医科学院中药资源中心冯学锋研究员鉴定,均符合2020年版《中华人民共和国药典》(一部)的相关规定;椒姜凝胶贴膏(自制,批号20210830),羟基- α -山椒素对照品(成都普思生物科技股份有限公司,批号PS011460,纯度>98%),6-姜辣素和人参皂苷 Rb₁对照品(中国

食品药品检定研究院,批号分别为111833-202007,110753-201716,纯度分别为99.3%,94.3%),卡波姆(固安希星药业有限公司,批号20201202),聚乙二醇400(PEG400,国药集团化学试剂有限公司,批号20210120),羧甲基纤维素钠(安徽山河药用辅料股份有限公司,批号201015),聚丙烯酸钠(日本昭和电工株式会社,批号112670B),甘油(湖南尔康制药股份有限公司,批号100320210301),透析袋(北京瑞达恒辉科技发展有限公司,截留相对分子质量为3 kDa),多潘立酮口腔崩解片(广东人人康药液有限公司,批号20201201),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。

雄性 SPF 级昆明种小鼠,透皮试验小鼠体质量16~18 g,购自北京维通利华实验动物有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-0011;药效学实验小鼠体质量25~28 g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2019-0010。本实验所涉及动物实验经中国中医科学院中药研究所实验动物伦理委员会批准,批准号 2021B167。

2 方法与结果

2.1 椒姜凝胶贴膏的制备 花椒、干姜、人参、枳实、白芍5味药(1个处方量共27 g)采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,药渣加入6倍量60%乙醇回流提取2次,200目筛过滤,合并滤液,回收乙醇后与水煎液一并浓缩成适宜稠度的稠膏。取氢氧化铝、酒石酸、卡波姆、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸钠、甘油等辅料,按一定比例制成基质。精密称取处方量椒姜浸膏、挥发油、基质,稠膏与基质的比例为1:3,搅拌均匀,涂布于衬布上,制成每贴0.2 g,加盖聚乙烯膜,即得椒姜凝胶贴膏。每贴椒姜凝胶贴膏中羟基- α -山椒素、人参皂苷 Rb₁ 和 6-姜辣素的质量分数分别为5.10,2.02,1.37 mg·g⁻¹。

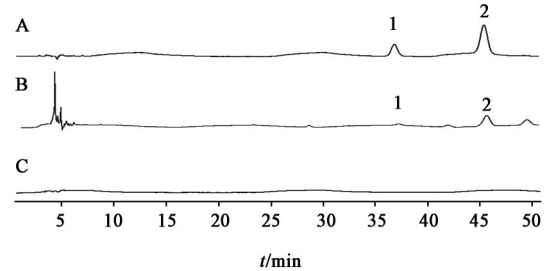
2.2 指标成分的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取羟基- α -山椒素和6-姜辣素对照品适量,置10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,得质量浓度分别为1.00,1.01 g·L⁻¹的对照品储备液;精密量取羟基- α -山椒素对照品储备液0.10 mL和6-姜辣素对照品储备液0.05 mL于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。精密称取人参皂苷 Rb₁对照品适量,置10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,得1.01 g·L⁻¹对照品储备液;精密量取该储备液0.10 mL于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得人参皂苷 Rb₁对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取椒姜凝胶贴膏体外透皮接收液适量,过0.22 μ m微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取空白凝胶贴膏体外透皮接收液适量,过0.22 μ m微孔滤膜,取续滤液,即得。

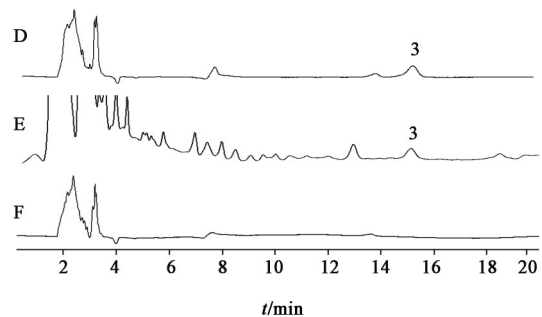
2.2.4 色谱条件 羟基- α -山椒素与6-姜辣素为 Agilent 5 TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μ m),流动相水-乙腈-甲醇(2:1:1),流速0.7 mL·min⁻¹,检测波长280 nm,柱温30 $^{\circ}$ C。人参皂苷 Rb₁ 为 Kromasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μ m),流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液(31:69),流速1 mL·min⁻¹,检测波长203 nm,柱温30 $^{\circ}$ C。见图1和图2。



A. 混合对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 6-姜辣素;2. 羟基- α -山椒素

图1 椒姜凝胶贴膏中6-姜辣素和羟基- α -山椒素的HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of 6-gingerol and hydroxy- α -sanshool in Jiaojiang cataplasms



D. 对照品;E. 供试品;F. 阴性样品;3. 人参皂苷 Rb₁

图2 椒姜凝胶贴膏中人参皂苷 Rb₁ 的HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of ginsenoside Rb₁ in Jiaojiang cataplasms

2.2.5 线性关系考察 取2.2.1项下各对照品溶液适量,加甲醇制成质量浓度为0.26,0.52,1.04,5,10.6 mg·L⁻¹的羟基- α -山椒素对照品储备液;质量浓度为0.25,0.5,1,5,10 mg·L⁻¹的6-姜辣素对照品储备液;质量浓度为0.5,1,2,5,10,20 mg·L⁻¹的人参皂苷 Rb₁对照品储备液;进样量20 μ L,按2.2.4项下色谱条件测定,以各成分进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得羟基- α -山椒素,6-姜辣素和人参皂苷

Rb₁回归方程分别为 $Y=2\ 117\ 435.99X-5\ 215.74$ ($r=0.999\ 0$), $Y=810\ 451.50X-2\ 419.55$ ($r=0.999\ 7$), $Y=219\ 233.10X-1\ 086.33$ ($r=0.999\ 6$), 线性范围分别为0.005~0.212, 0.005~0.200, 0.010~0.400 μg。

2.2.6 精密度试验 将2.2.1配制的羟基-α-山椒素与6-姜辣素混合对照品溶液、人参皂苷Rb₁对照品溶液于1 d内连续进样6次,按2.2.4项下色谱条件测定,计算羟基-α-山椒素、人参皂苷Rb₁和6-姜辣素峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为0.3%, 0.4%, 0.4%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于制备后0, 2, 4, 8, 12, 24 h按2.2.4项下色谱条件测定,计算羟基-α-山椒素、6-姜辣素与人参皂苷Rb₁峰面积的RSD分别为0.8%, 2.5%, 0.8%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 精密吸取同批样品的6份供试品溶液,按2.2.4项下色谱条件测定,计算供试品溶液中羟基-α-山椒素、6-姜辣素与人参皂苷Rb₁的平均质量浓度分别为475.80, 17.32, 1.38 mg·L⁻¹, RSD分别为1.0%, 2.1%, 1.2%,表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收试验 精密量取已知指标成分含量的释放接收液1 mL,按样品中待测成分含量与对照品加入量大致为1:1的比例加入羟基-α-山椒素、6-姜辣素与人参皂苷Rb₁的对照品溶液,按2.2.4项下色谱条件测定,进行加样回收试验,结果上述3个成分的平均加样回收率分别为100.20%, 100.62%和98.47%, RSD分别为1.1%, 1.5%和2.6%,表明该方法的准确度良好,见表1。

2.3 体外释放试验

2.3.1 半透膜预处理 将透析袋剪成适当长度的小段,放入沸水中煮20 min,放冷后置4℃冰箱中保存,使用前用水清洗干净。取2.1项下椒姜稠膏,加水分散成0.05 g·mL⁻¹药液(以稠膏量计),取1 mL放置于透析袋(长3.5 cm,宽2.5 cm)中,将袋口两端扎紧,置于盛有50 mL的PEG400-95%乙醇-生理盐水(1:3:6)释放介质的锥形瓶中,瓶内放入搅拌子,并将锥形瓶放在磁力搅拌器上,搅拌转速600 r·min⁻¹,控制温度(32±0.2)℃。分别于1, 2, 3, 4, 5, 6 h取透析外液2 mL,将取出的溶液过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液作为供试液,测定3种待测成分的含量,计算释药率。结果显示,3种指标性成分在6 h分别能通过97.37%, 100%, 96.12%。说明羟基-α-山椒素、人参皂苷Rb₁和6-姜辣素在相对分子质量为3 kDa的半透膜、释放介质为PEG400-95%乙醇-生理盐水

表1 椒姜凝胶贴膏中指标成分含量测定的加样回收试验

Table 1 Recovery test for determination of index components in Jiaojiang cataplasms

成分	样品中量/μg	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
羟基-α-山椒素	10.557	9.264	19.799	99.76	100.20	1.1
	9.757	9.264	19.149	101.37		
	9.413	9.264	18.758	100.87		
	9.435	9.264	18.594	98.85		
	9.475	9.264	18.661	99.15		
	9.263	9.264	18.641	101.22		
6-姜辣素	3.168	2.952	6.183	102.14	100.62	1.5
	2.981	2.952	5.987	101.82		
	2.940	2.952	5.921	101.00		
	2.978	2.952	5.963	101.12		
	2.936	2.952	5.855	98.90		
	2.953	2.952	5.868	98.75		
人参皂苷Rb ₁	2.548	2.200	4.732	99.27	98.47	2.6
	2.625	2.200	4.796	98.72		
	2.339	2.200	4.601	102.83		
	2.426	2.200	4.520	95.21		
	2.041	2.200	4.176	97.05		
	2.345	2.200	4.496	97.76		

(1:3:6)的条件下能较短时间内通过。

2.3.2 释放试验^[11] 采用Franz扩散池,扩散池体积12 mL,扩散面积1.767 cm²,接收液PEG400-95%乙醇-生理盐水(1:3:6),超声30 min排除气泡,磁力搅拌转速600 r·min⁻¹,控制温度(32±0.2)℃,接收池内加入搅拌子,将预处理的透析膜固定在扩散池与接收池之间,取2.1项下制备的椒姜凝胶贴膏,将其紧密贴敷于扩散池内的透析膜上($n=6$)。计时,分别在0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h的时间点将接收液全部取出,同时补加同体积的新鲜接收液。将取出的接收液过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液作为样品溶液,按2.2.4项下条件测定3种待测成分的含量,绘制释放曲线。结果显示,椒姜凝胶贴膏中羟基-α-山椒素、6-姜辣素与人参皂苷Rb₁在24 h的累积释放量分别为695.78, 179.48, 175.85 μg,平均释放速率分别为16.41, 4.23, 4.15 μg·cm⁻²·h⁻¹;三者释放率规律均符合Higuchi方程。见表2和图3。

2.4 体外透皮试验^[12-14]

2.4.1 离体鼠皮制备 将小鼠断颈处死,用脱毛剂脱去鼠毛,在生理盐水中清洗后小心剪下鼠皮,剥离脂肪组织,注意保留腹部皮肤完整性,清洗干净

表2 椒姜凝胶贴膏中指标成分的体外释放动力学方程

Table 2 *In vitro* release kinetics equation of index components in Jiaojiang cataplasms

拟合方程	羟基- α -山椒素	6-姜辣素	人参皂苷Rb ₁
零级	$Q=2.761\ 9t+9.189\ 7(r=0.947\ 8)$	$Q=2.610\ 3t+11.669\ 0(r=0.918\ 3)$	$Q=1.750\ 7t+6.843\ 5(r=0.934\ 0)$
一级	$\ln Q=0.047t+4.538\ 3(r=0.982\ 8)$	$\ln Q=0.043\ 6t+4.497\ 8(r=0.957\ 9)$	$\ln Q=0.017\ 2t+4.546\ 1(r=0.963\ 3)$
Higuchi	$Q=16.261t^{1/2}-8.385\ 2(r=0.992\ 4)$	$Q=15.682t^{1/2}-5.670\ 6(r=0.981\ 1)$	$Q=10.269t^{1/2}-4.706\ 6(r=0.989\ 4)$
Ritger-Peppas	$\ln Q=0.813\ 3\ln t+1.881\ 8(r=0.990\ 4)$	$\ln Q=0.775\ 3\ln t+2.018\ 0(r=0.983\ 3)$	$\ln Q=0.839\ 8\ln t+1.553\ 4(r=0.998\ 7)$

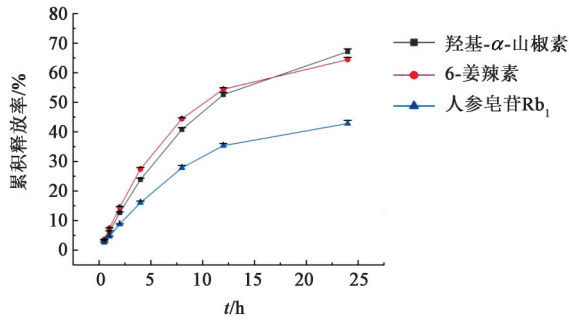


图3 椒姜凝胶贴膏中指标成分的累积释放曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 3 Cumulative release curves of index components in Jiaojiang cataplasms ($\bar{x}\pm s, n=6$)

后置于生理盐水中,存放在4℃冰箱中备用。

2.4.2 经皮渗透试验 将透析膜换成小鼠皮,其他条件与2.3.2项相同,取2.1项下制备的椒姜凝胶贴膏,将其紧密贴敷于扩散池内的小鼠皮肤角质层上($n=7$),其余操作同2.3.2项。测定供试液中3种待测成分的含量,透过曲线见图4。结果羟基- α -山椒素,6-姜辣素与人参皂苷Rb₁在24 h累积透过量分别为97.91, 27.11, 12.43 μg ,累积透过率分别为9.40%, 9.70%, 3.01%,平均透过速率分别为2.31, 0.64, 0.29 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ 。这3个成分的透过率规律均符合零级方程,三者方程分别为 $Q=0.391\ 5t-0.216\ 1(r=0.997\ 8)$, $Q=0.402\ 3t+0.183\ 1(r=0.997\ 5)$, $Q=0.193\ 5t+0.712\ 5(r=0.966\ 1)$,稳态渗透速率(J_{ss})分别为2.308 3, 0.636 0, 0.274 1 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$;表观渗透系数(P_{app})分别为0.631 0, 0.092 6, 0.016 6 $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

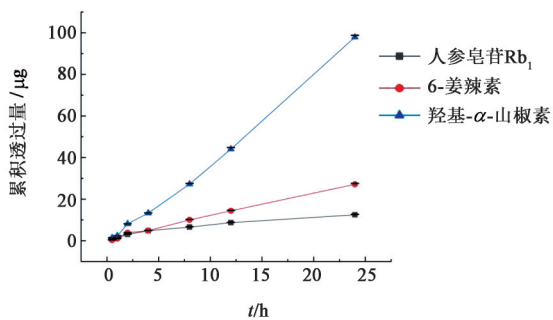


图4 椒姜凝胶贴膏中指标成分的累积透过曲线($\bar{x}\pm s, n=7$)

Fig. 4 Cumulative permeation curves of index components in Jiaojiang cataplasms ($\bar{x}\pm s, n=7$)

2.5 皮肤滞留量测定 待2.4项下24 h体外透皮试验结束后,将小鼠皮肤角质层上的凝胶贴膏去除并用蘸取生理盐水的棉棒将皮肤表面清洗干净,沿扩散池边缘剪下有效渗透面积的皮肤,剪碎,加入甲醇5 mL,称定质量,用超声波细胞粉碎机超声处理6 min,取出放凉,用甲醇补足减失的质量,摇匀,按2.2.4项下条件测定,计算椒姜凝胶贴膏中羟基- α -山椒素,6-姜辣素与人参皂苷Rb₁皮肤滞留量分别为19.56, 3.59, 1.61 μg 。说明椒姜凝胶贴膏中3种指标性成分即使在药物从皮肤上去除的情况下,滞留在皮肤中的药物仍能继续释药。

2.6 椒姜凝胶贴膏的药效学研究 采用摩擦法建立小鼠肠麻痹模型,观察椒姜凝胶贴膏对模型动物胃肠推进功能的影响,通过体内药效学实验,进一步考察椒姜凝胶贴膏剂型开发的可行性。

2.6.1 剂量设置^[15] 样品分别设置高、低2个剂量组,根据椒姜凝胶贴膏的人临床用量(人的体质量按70 kg计算)折算为小鼠的等效剂量为3.1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以生药量计,下同),设为低剂量;高剂量设定为2倍临床用量,即6.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。阳性药(多潘立酮口腔崩解片)折算小鼠等效剂量为3.9 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,给药体积20 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.6.2 分组及给药 动物按体质量随机分为5组,即假手术组、模型组、多潘立酮组及椒姜凝胶贴膏高、低剂量组(0.003 9, 0.001 95 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,以稠膏质量计)。其中,假手术组仅进行麻醉剪皮,模型组不给药,多潘立酮组口服灌胃给药,其他各组小鼠肚脐部贴敷给药,椒姜凝胶贴膏高剂量组的给药面积为2 cm^2 ,低剂量组给药面积1 cm^2 。

2.6.3 造模^[16-18] 实验前1 d对小鼠脐周腹部进行脱毛处理,术前动物禁食18 h,用3.5%水合氯醛麻醉,于侧腹部打开腹腔,将整个小肠轻柔地放在浸湿的生理盐水纱布上,用微湿的生理盐水棉签将小肠从空肠近端到回肠末端,再从回肠末端到空肠近端,来回摩擦3次,5 min内完成。常规缝合关腹,电热毯保温至苏醒。术后1 h给药(脐周避开伤口)。

2.6.4 样品采集及指标测定 贴敷药物5 h后(术后6 h),除去药物,处死动物,观察小肠推进率,将小肠平铺于纸板上,自然拉直,取幽门括约肌至回盲部的距离(M),幽门括约肌至色素最前端距离(m),计算小肠推进率,公式为小肠推进率= $m/M \times 100\%$,见表3。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 22.0进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。结果发现与假手术组比较,模型组小肠推进率显著降低($P < 0.01$),说明模型复制成功;与模型组比较,多潘立酮组、椒姜凝胶贴膏高剂量组小肠推进率明显升高($P < 0.01, P < 0.05$),说明受试药对摩擦损伤术后的小肠功能具有改善作用,可提高小肠推进功能,加快蠕动。

表3 椒姜凝胶贴膏对模型小鼠小肠推进率的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effect of Jiaojiang cataplasms on propulsion rate of small intestine in model mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	小肠推进率/%
假手术	8		97.42 \pm 4.28 ²⁾
模型	9		65.13 \pm 7.11
多潘立酮	10	0.003 9	79.43 \pm 9.96 ²⁾
椒姜凝胶贴膏	9	6.2	73.73 \pm 8.78 ¹⁾
	12	3.1	68.47 \pm 9.16

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

本研究选择花椒、干姜与人参中的羟基- α -山椒素,6-姜辣素与人参皂苷Rb₁为指标,测定其体外释放与经皮渗透量。这3个指标性成分在24 h的累积释放量分别为695.78, 179.48, 175.85 μg ,均符合Higuchi方程,说明椒姜凝胶贴膏属于药物可均匀分散于骨架材料中的骨架型缓释制剂。根据表2中Ritger-Peppas方程对释放行为做进一步分析,结果发现3种成分的释放为非Fick扩散,即药物的扩散和骨架溶蚀协同作用。椒姜凝胶贴膏中羟基- α -山椒素,6-姜辣素与人参皂苷Rb₁在24 h的累积透过量分别为97.91, 27.11, 12.43 μg ,透过规律符合零级方程,说明该制剂在用药后能在机体内以恒定速率释放药物;椒姜凝胶贴膏中3种指标性成分的皮肤滞留量测定结果显示,在经皮吸收过程中,该凝胶贴膏的指标成分会在皮肤内产生滞留,形成贮库^[9]。通过建立小鼠肠麻痹模型,以小肠推进率为评价指标,证实了椒姜凝胶贴膏具有促进肠蠕动,改善胃肠功能的作用。

药物体外释放受多种因素的影响,包括扩散池

的面积、高度,释放温度,接收液的性质,搅拌速度,膜的通透性等,通过对这些仪器参数进行优化,得到适应的漏槽条件以提高体外释放量。药物经皮吸收受物理化学性质、经皮给药系统和皮肤生理病理3个方面因素的影响^[9]。药物的理化性质决定了其在皮肤内的转运速度,对其经皮吸收的影响复杂。处方中羟基- α -山椒素与6-姜辣素相对分子质量较小,较易进入表皮继而被吸收,但方中人参的有效成分人参皂苷Rb₁相对分子质量大,较难透过角质层^[19]。何百寅等^[20]发现,在未加透皮促进剂时,三七提取液中人参皂苷Rb₁不能透过豚鼠皮肤。在本实验中,测得人参皂苷Rb₁在未加促渗剂的情况下可以穿透小鼠皮肤,这可能与以下几个因素有关:①选择了通透性较好的小鼠皮肤作为透过屏障;②处方中的挥发油对人参的经皮渗透起了一定的促进作用;③有部分人参皂苷通过毛囊等附属器途径经皮渗透。椒姜凝胶贴膏用于术后胃肠功能障碍的治疗,可采用摩擦法建立小鼠肠麻痹模型,从药效结果来看,椒姜凝胶贴膏对小鼠小肠摩擦损伤术后的肠功能受损、蠕动减慢、食物推进功能减弱等具有一定改善作用,可以使其蠕动加快,对促进小肠推进率、促进排气具有一定积极作用。

综上所述,椒姜凝胶贴膏中的有效成分可透过皮肤屏障发挥药效,对术后的小肠功能恢复及肠蠕动均具有促进作用,这为该制剂的后续研究提供了可行性依据;针对漏槽条件及药物本身的性质所产生的问题,后续将对促渗剂的选择、仪器参数的考察等进行优化。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 吕邵娃,潘世伟,付起凤,等. 脐部给药剂型的发展概况与展望[J]. 中医药学报, 2015, 43(6): 109-112.
- [2] YANG J G, XU H, WANG H. External application of herbal medicine to acupoints[J]. J Tradit Chin Med, 2008, 28(1): 21-23.
- [3] RONG P J, ZHU B, LI Y Q, et al. Mechanism of acupuncture regulating visceral sensation and mobility[J]. Front Med, 2011, 5(2): 151-156.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 22.
- [5] PASTORE M N, KALIA Y N, HORSTMANN M, et al. Transdermal patches: History, development and pharmacology[J]. Br J Pharmacol, 2015, 172(9): 2179-2209.

- [6] 宋立华,刘淑芝. 中药凝胶膏剂的研究进展分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(22):133-136.
- [7] AHSAN A, TIAN W X, FAROOQ M A, et al. An overview of hydrogels and their role in transdermal drug delivery [J]. *Int J Polym Mater Polym Biomat*, 2021,70(8):574-584.
- [8] 刘淑芝. 中药巴布剂研究现状分析及展望[J]. 中医外治杂志,2005,14(5):3-5.
- [9] 梁秉文,刘淑芝,梁文权. 中药经皮给药制剂技术[M]. 北京:化学工业出版社,2013:4-22.
- [10] 周建新,沈硕,杜茂波,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术和整合药理学方法探索吴茱萸经皮成分及其治疗腹泻的分子机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(7):112-120.
- [11] 何爱萍,易红,冯伟红,等. 活血止痛微乳凝胶剂的体外释放和透皮吸收评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):17-21.
- [12] 姚瑶,冯伟红,王岚,等. 活血止痛纳米凝胶贴膏经皮渗透特性及药效评价[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(2):70-75.
- [13] 杜茂波,毛著鸿,沈硕,等. 工艺变更对祖师麻关节止痛膏体外释放及经皮渗透的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(8):135-141.
- [14] 杜茂波,刘淑芝,李曼玲,等. 黄连巴布剂体外释放和透皮行为的研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(8):969-972.
- [15] 陈奇. 中药药理学实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:55.
- [16] 张林,蒋宁,周文霞,等. 三种小鼠术后肠麻痹模型的比较研究[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(2):346-350.
- [17] ENDO M, HORI M, OZAKI H, et al. Daikenchuto, a traditional Japanese herbal medicine, ameliorates postoperative ileus by anti-inflammatory action through nicotinic acetylcholine receptors [J]. *J Gastroenterol*,2014,49(6):1026-1039.
- [18] KALFF J C, BUCHHOLZ B M, ESKANDARI M K, et al. Biphasic response to gut manipulation and temporal correlation of cellular infiltrates and muscle dysfunction in rat[J]. *Surgery*, 1999,126(3):498-509.
- [19] 方蓉,郑杭生,陈思思. 离体皮肤渗透法测定三七总皂苷传递体经皮吸收特性[J]. 中草药,2015,46(4):513-519.
- [20] 何百寅,谢友良,刘常青,等. 三七提取液中三七皂苷R₁、人参皂苷Rg₁和人参皂苷Rb₁的透皮规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):130-134.

[责任编辑 刘德文]