

不同促渗剂对白芥子散贴剂体外透皮吸收效果的影响

白云凤, 宫凯敏, 王银洁, 刘军
(银川市中医医院, 银川 750001)

[摘要] 目的: 考察氮酮、丙二醇及二者混合物对白芥子散贴剂中延胡索乙素透过量的影响, 为该复方的凝胶膏剂研制提供参考。方法: 采用改良 Franz 扩散池, 以离体雄性大白兔皮肤为模型, 通过 HPLC 测定延胡索乙素含量, 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液 (三乙胺调 pH 6.0) (60:40), 检测波长 280 nm, 拟合延胡索乙素透皮吸收的累积透过量, 考察不同促渗剂对白芥子散贴剂体外透皮效果的影响。结果: 以 2% 氮酮制备的白芥子散贴剂累积透过量最高; 促渗剂合用时以 2% 氮酮 + 5% 丙二醇促渗作用较好, 但其合用效果弱于 2% 氮酮单用的效果。结论: 氮酮能显著提高白芥子散贴剂的透皮吸收效果。

[关键词] 促渗剂; 白芥子散; 贴剂; 透皮吸收; 延胡索乙素

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0030-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020030

Effects of Different Penetration Enhancers on *in vitro* Transdermal Permeation of Baijiezi San Patches

BAI Yun-feng, GONG Kai-min, WANG Yin-jie, LIU Jun (Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of different penetration enhancers on transdermal permeation of tetrahydropalmatine from Baijiezi San patches and provide a reference for development of this preparation. **Method:** Modified Franz diffusion cell was adopted, with excised male rabbits skin as model, HPLC was adopted to determine the content of tetrahydropalmatine with mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid (adjusting pH to 6.0 with triethylamine) (60:40) and detection wavelength at 280 nm. Accumulative permeation quantity of tetrahydropalmatine was fitted, in order to investigate effects of different penetration enhancers on transdermal permeation of Baijiezi San patches. **Result:** Accumulative permeation quantity of Baijiezi San patches with 2% azone as penetration enhancers was highest. When combination of penetration enhancers, transdermal permeation of 2% azone combined with 5% propanediol was better, but its effects was weaker than 2% azone alone. **Conclusion:** Azone can significantly improve transdermal absorption of Baijiezi San patches.

[Key words] penetration enhancer; Baijiezi San; patch; transdermal absorption; tetrahydropalmatine

白芥子散为本院治疗哮喘常用三伏贴, 由白芥子、延胡索、甘遂、细辛、麻黄按 2:2:1:1:1 比例混合后制剂而成^[1]。该制剂的临床穴位贴敷疗法都是将药材研成粉末^[2], 用姜汁调成药饼给药, 制备工艺简单, 剂型为橡胶膏剂。但由于皮肤的屏障作用及药物本身的理化性质等原因, 许多药物穿过皮肤的通透率很低, 使得经皮到达体内的药物很难达到有效治疗浓度, 影响了药物的生物利用度, 而且有效成分的溶出亦受到限制, 不利于药物的透皮吸收。为了克服皮肤对药物的屏障作用, 增加药物的透皮量, 可采用加入透皮吸收促进剂的方法。根据有关

研究资料, 本实验选择氮酮、丙二醇为透皮吸收促进剂^[3], 并考察不同促渗剂按一定比例组合成二元或多元复合促渗剂^[4-5]对白芥子散中延胡索有效成分——延胡索乙素累积透过量的影响, 通过离体透皮吸收试验优选促进剂的配方和用量, 为该复方的凝胶膏剂研制提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), XS205 型 1/10 万电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司), ZD-90W 型多功能电动搅拌机 (南京科尔设备有限公司), TK-12A 型垂直式 Franz 扩散池 (上海铂

凯科技贸易有限公司)。

氮酮、丙二醇(北京化学试剂公司),延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号110726-200711),三乙醇胺(国药集团化学试剂有限公司),硫化物脱毛剂(自制),甲醇、磷酸为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

家兔,2只,雄性,一级,由北京市海淀区学院路通利试验动物养殖场提供,许可证号SCXK(鲁)2014-0006。

2 方法与结果

2.1 延胡索乙素的含量测定

2.1.1 色谱条件^[6] Diamonsil™(钻石) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 6.0)(60:40),检测波长 280 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 50 μL。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取延胡索乙素对照品适量,用 60% 甲醇稀释成 6.6, 3.3, 1.65, 0.825, 0.412 5 mg·L⁻¹ 的系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积积分为纵坐标,得回归方程 $Y = 298.3X - 0.347$ ($r = 0.9999$),结果表明延胡索乙素在 0.412 5 ~ 6.6 mg·L⁻¹ 与峰面积积分值线性关系良好。

2.1.3 精密度试验 精密吸取 2.2.2 项下 1.65 mg·L⁻¹ 延胡索乙素对照品溶液适量,按 2.1.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算峰面积 RSD 2.4%,表明仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 取 8 h 接受液供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定,记录延胡索乙素峰面积,计算 RSD 2.6%,表明该方法稳定性良好。

2.1.5 加样回收率试验 精密量取 6 份已知延胡索乙素质量(3.52 μg)的样品,分别置于 10 mL 量瓶中,各加入对照品 3.48 μg,混匀,用接收液定容,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果测得量分别为 6.88, 7.03, 6.99, 7.05, 6.88, 7.12 μg,计算平均回收率 99.76%,RSD 2.8%,表明该方法准确度良好。

2.2 白芥子散贴剂的制备 处方中细辛挥发油采用水蒸气蒸馏法提取,药材粉碎成粗粉后加 8 倍量水加热回流 2 h,运用挥发油提取器进行提取。将处方量白芥子、延胡索、细辛、麻黄粉碎过 100 目筛,与透皮吸收促进剂、细辛挥发油提取液混合均匀,以流涎工艺在玻璃模具内铺膜,厚度约 5 mm,于 40 °C 烘箱内烘干,切割成 1.5 cm × 1.5 cm(质量约 2 g) 的小块,采用热合工艺将其黏附于铝箔上,覆盖防粘

纸,即得。

2.3 离体兔皮的制备 取健康家兔,用剪毛剪剪去腹部长毛,用脱毛膏脱毛,24 h 后剥取腹部皮肤,分离皮下脂肪及组织,选用无损伤表皮,浸泡于生理盐水中,置冰箱 -4 °C 低温保存备用。

2.4 离体透皮吸收试验 在接收池中注入接收液(含 0.9% NaCl 的 50% 乙醇溶液)约 7 mL,取经过预处理的动物皮肤 10 块,大小基本相同(有效扩散面积 2.54 cm²),固定在接收池上盖与接收池之间,角质层朝上,使液面恰与皮肤内层面接触,取不同试验号的贴剂样品约 2 g,均匀涂抹在皮肤上,排除气泡,用滴管从取样管口加入接收液至与管口相平。开动搅拌器和水浴,保持恒速 300 r·min⁻¹ 搅拌和恒温(37 ± 1) °C,分别于 2, 4, 8, 12, 24 h 取样,置具塞锥形瓶中,每次取样 200 μL,取样后均补加新鲜接收液至与取样管管口相平并排除气泡,样品照按 2.1.1 项下色谱条件测定延胡索乙素含量,计算单位面积累积透过量(Q)。

$$Q = (V \times C_n + V_0 \sum C_i) / A$$

式中 A 为有效经皮吸收面积, V 为接受液体积, V₀ 为取样体积, C_n 为第 n 个取样点测得的接受液中药物质量浓度, C_i 为第 i (i ≤ n - 1) 个取样点测得的接受液中药物质量浓度。以不同时间的 Q 对 t 作图,对作图后直线部分的 Q 对 t 进行线性回归,所得斜率即为药物的经皮吸收速率(J_s)。

2.4.1 促渗剂单用对经皮渗透效果的影响 考察不同体积分数氮酮在不同时间段对延胡索乙素累积透皮吸收量的影响,每组体积分数平行 3 次,制作渗透曲线,见表 1 和图 1。结果显示加入 2% 氮酮的贴剂中延胡索乙素有较快的经皮吸收速率和较高的累积透过量,表明延胡索乙素的经皮吸收速率不随氮酮体积分数的升高而加快。

表 1 不同体积分数氮酮对白芥子散贴剂中延胡索乙素累积透过量的影响(n=3)

Table 1 Effects of different concentrations of azone on cumulative penetration quantity of tetrahydropalmatine in Baijiezi San patches (n=3)

促进剂	累积透过量/μg				
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
空白	0.88	1.63	2.83	3.32	3.56
1% 氮酮	1.06	2.28	3.55	3.88	4.54
2% 氮酮	1.48	2.52	3.98	4.45	5.12
3% 氮酮	1.35	2.43	3.75	4.13	4.78

2.4.2 促渗剂联用对经皮渗透效果的影响 考察不同体积分数氮酮与5%丙二醇合用及2%氮酮单用在不同时间段对延胡索乙素累积透皮吸收量的影响,计算累积透皮量,结果见表2。表明1%,2%,3%氮酮分别与5%丙二醇合用为促渗剂时,2%氮酮+5%丙二醇促渗效果较好,但其促渗效果低于单一使用2%氮酮。

表2 促透剂联用对白芥子散贴剂中延胡索乙素累积透过的影响 (n=3)

Table 2 Effects of mixture penetration enhancers on cumulative penetration quantity of tetrahydropalmatine in Baijiezi San patches (n=3)

促透剂	累积透过量/ μg				
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
2% 氮酮	1.48	2.52	3.98	4.45	5.12
1% 氮酮 + 5% 丙二醇	1.16	1.97	3.12	3.64	3.98
2% 氮酮 + 5% 丙二醇	1.32	2.37	3.34	3.89	4.45
3% 氮酮 + 5% 丙二醇	1.02	1.87	3.01	3.55	3.78
空白	0.88	1.63	2.83	3.32	3.56

3 讨论

试验结果显示不同浓度促渗剂对延胡索乙素产生的渗透促渗作用差异较大,氮酮促渗透作用较好,其浓度对透皮累积透过量及透过速率亦有一定影响,以2%氮酮的效果最好,说明氮酮的促渗作用在低体积分数范围内呈浓度依赖性,达到一定浓度时促渗作用降低。丙二醇属于脂肪醇类促渗剂,可增加药物溶解度,与氮酮合用可延长氮酮在角质层中滞留时间,进而延长促渗时间。采用氮酮单用的促渗效果好于氮酮与丙二醇促渗剂联用,与韩旻等^[5]报道的结果一致,即氮酮与其他促渗剂合用后效果较差,不利于药物的经皮渗透。可能是由于丙二醇与氮酮合用后基质的黏度增加,抑制了皮肤的水合作用^[6]。

预试验以生理盐水,30%乙醇-生理盐水溶液及50%乙醇-生理盐水溶液为接收介质,考察白芥子散

贴剂中延胡索乙素经过家兔腹部离体皮肤在不同接收介质中透皮渗透情况。结果显示生理盐水组中体外透皮渗透量在0~8 h均未检测到延胡索乙素,说明生理盐水不宜作为透皮吸收试验的接受介质。而30%乙醇-生理盐水溶液与50%乙醇-生理盐水溶液相比,延胡索乙素在不同接收介质中体外透皮渗透量均增加,在后两者中吸收量较前者具有极显著性差异,故本文选择50%乙醇-生理盐水溶液为接受介质。

曾对临床常用促透剂——薄荷脑进行考察,薄荷脑主要促渗作用与氮酮相似,通过破坏角质层间质,使表皮细胞间隙增加,从而降低药物透过角质层的阻力^[7]。结果表明氮酮单用的促渗透作用优于与薄荷脑联用。方中白芥子为君药,促透剂对其主要活性成分芥子碱硫氰酸盐的促渗透作用规律有待进一步考察。

[参考文献]

[1] 张伯臬,董建华,周仲瑛. 中医内科学[M]. 北京:上海科学技术出版社,1985:63-65.

[2] 杨立峰,何晓华. 白芥子散穴位敷贴治疗肺癌晚期咳嗽一例[J]. 中华针灸电子杂志,2013,2(5):252-253.

[3] 方晓阳,叶青. 中药透皮吸收促进剂的研究与发展[J]. 中草药,2003,34(2):188-190.

[4] 李玲,李祖伦,何宇新. 不同促渗剂对川白芷中欧前胡素透皮吸收的影响[J]. 中成药,2009,31(4):627-629.

[5] 韩旻,钟韵伟,李新平,等. 不同促渗剂对氢溴酸高乌甲素贴片体外经皮渗透的影响[J]. 中国中药杂志,2008,33(11):1252-1255.

[6] 曾爱国,程秀云,王云彩,等. 促渗剂对盐酸小檗碱体外经皮渗透的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版,2004,25(4):359-361.

[7] 祁艳,陈军,李磊,等. 不同促渗剂对马钱子碱贴剂体外透皮吸收的影响[J]. 中国药房,2011,22(3):195-197.

[责任编辑 刘德文]