

温经止痛凝胶膏剂的促渗剂优选

李周¹, 王利胜^{1*}, 陈辉清², 巴文强¹, 范文涛¹, 廖卫国¹, 王玗¹

(1. 广州中医药大学 中药学院, 广州 510006; 2. 广东省中医院, 广州 510370)

[摘要] 目的: 优选温经止痛凝胶膏剂中促渗剂的种类及用量。方法: 采用改良 Franz 扩散池, 以离体小鼠腹部皮肤为屏障, 采用 HPLC 检测不同促渗剂种类、比例及用量对温经止痛凝胶膏剂中藁本内酯累积透皮量、透皮吸收速率、增渗倍数等参数的影响, 流动相甲醇-水(80:20), 检测波长 328 nm。结果: 氮酮和丙二醇联用的促渗效果明显优于其他几种促渗剂, 确定氮酮与丙二醇的用量比(2:1), 总用量 4%。藁本内酯 24 h 的累计透皮量 $84.16 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 透皮速率常数 $3.28 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, 增渗倍数 3.33。结论: 氮酮和丙二醇组合的透皮促渗效果显著, 可作为温经止痛凝胶膏剂的促渗剂。

[关键词] 温经止痛方; 凝胶膏剂; 促渗剂; 藁本内酯; 透皮吸收速率; 增渗倍数

[中图分类号] R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0018-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015030018

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141211.1456.008.html>

[网络出版时间] 2014-12-11 14:56

Optimization of Penetrating Enhancers in Wenjing Zhitong Gel Paste LI Zhou¹, WANG Li-sheng^{1*}, CHEN Hui-qing², BA Wen-qiang¹, FAN Wen-tao¹, LIAO Wei-guo¹, WANG Ding¹ (1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510370, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize kinds and amounts of penetrating enhancers in Wenjing Zhitong gel paste. **Method:** Improved Franz diffusion cell was employed with isolated mice abdominal skin as barrier. Kinds and amounts of penetrating enhancers were optimized through kinetic parameters of percutaneous absorption, such as cumulative permeation quantity, penetration rate and enhancement ratio in way of HPLC, mobile phase was methanol-water (80:20), detection wavelength of ligustilide was set at 328 nm. **Result:** Combination of azone and propylene glycol was better than other kinds of enhancers for penetration effect, dosage of azone and propylene glycol was finally optimized to be 4% of prescription dosage, ratio between azone and propylene glycol was 2:1. Under these conditions, cumulative permeation quantity of ligustilide was $84.16 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, penetration rate of ligustilide was $3.28 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ and enhancement ratio was 3.33. **Conclusion:** Combination of azone and propylene glycol has significant penetration effect, which can be as an enhancer of Wenjing Zhitong gel paste.

[Key words] Wenjing Zhitong prescription; gel paste; penetration enhancers; ligustilide; penetration rate; enhancement ratio

凝胶膏剂又称巴布剂^[1], 具有基质与水溶性脂溶性药物相容性好、载药量大、透气性好、对皮肤刺激性小等优点^[2]。促渗剂可有效透入皮肤, 降低角质层的屏障作用, 提高药物渗透量^[3]。温经止痛方为临床经验方, 由当归、川芎、细辛、吴茱萸、冰片等 7 味中药组成, 临床常用于治疗寒凝瘀滞及气滞血瘀所致痛经。本实验将温经止痛方由汤剂改制成凝胶膏剂, 直接贴于腹部可方便患者用药, 处方中有效

成分可直达病所, 既体现中医“内病外治”的原则, 又与穴位经络学相结合, 有利于药效的发挥; 方中细辛及吴茱萸有小毒, 制成凝胶膏剂可降低其毒性^[4-5]。方中当归、川芎分别为君药和臣药, 藁本内酯为二者的主要有效成分之一^[6]。故本实验拟选取藁本内酯为指标成分, 以离体小鼠腹部皮肤为透皮屏障, 通过单因素试验优选温经止痛凝胶膏剂的促渗剂及其用量, 为该制剂的临床应用提供参考。

[收稿日期] 20140624(007)

[基金项目] 广州市科技计划项目(2013J4100080)

[第一作者] 李周, 硕士, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel: 15918737815, E-mail: 1158795408@qq.com

[通讯作者] * 王利胜, 教授, 博士生导师, 从事药物制剂新剂型与新技术研究, Tel: 020-39358043, E-mail: 541718797@qq.com

1 材料

TK-12A型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),515型高效液相色谱仪(美国Waters公司),N3000色谱工作站(浙江大学),DLB200型电子天平(日本岛津)。藁本内酯对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号121204), β -环糊精(β -CD,广东省郁南县永光环状环糊精有限公司),甘羟铝、聚丙烯酸钠 NP-700(广州市拜澳生物科技有限公司),甘油、丙二醇、油酸(广州化学试剂厂),酒石酸(国药集团化学试剂有限公司),卡波姆-980(北京海淀会精细化工厂),冰片(江西吉安市林科天然冰片厂),氮酮(天津市北联精细化学试剂厂),温经止痛方干浸膏、挥发油包合物均为自制,甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

健康雌性昆明小鼠,体重(20 ± 2) g,由广州中医药大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(粤)2008-0020。

2 方法与结果

2.1 温经止痛凝胶膏剂的制备 在前期研究基础上,取处方量卡波姆-980,加入适量水和挥发油包合物的滤液溶胀24 h,加入处方量过5号筛的药物干膏粉和挥发油包合物,作为A相;取处方量冰片、甘油、聚丙烯酸钠 NP-700和乙醇,加入适量透皮促渗剂置于烧杯中,搅拌均匀,作为B相;取处方量甘羟铝、酒石酸、水置于烧杯中混合均匀,作为C相。将C相加至A相中混合均匀,再将B相加至A和C的混合相中,搅拌5 min,即得。

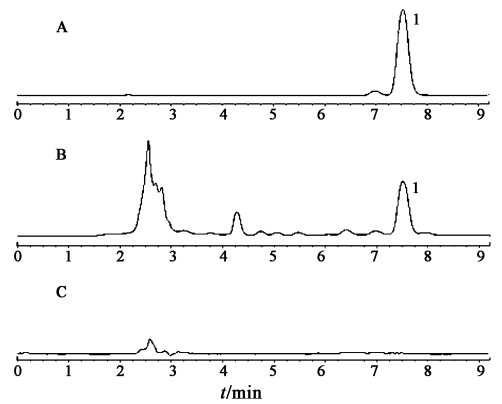
2.2 藁本内酯的含量测定

2.2.1 色谱条件 Platisil ODS 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相甲醇-水(80:20),流速1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长328 nm,进样量10 μ L,柱温25 $^{\circ}$ C。理论塔板数按藁本内酯峰计 ≥ 5000 ,见图1。

2.2.2 对照品贮备液的配制 采用微量进样器吸取藁本内酯对照品适量,精密称取5.04 mg置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性样品与供试品溶液的制备 将无水乙醇与生理盐水按4:6混合均匀,得阴性样品(空白接收液);取温经止痛凝胶膏剂体外透皮接收液,过0.22 μ m微孔滤膜,得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取藁本内酯对照品贮备液0.05,0.1,0.25,0.5,0.75,1.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,得2.52,5.04,12.6,25.2,37.8,50.4 mg \cdot L⁻¹系列对照



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 藁本内酯

图1 温经止痛凝胶膏剂透皮吸收液 HPLC

Fig.1 HPLC chromatogram of transdermal absorption liquid of Wenjing Zhitong gel paste

品溶液。按2.2.1项下色谱条件测定($n=3$),以平均峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y=16926X-3816.6$ ($r=0.9996$),线性范围2.52~50.4 mg \cdot L⁻¹。

2.2.5 精密度试验 取37.8 mg \cdot L⁻¹对照品溶液10 μ L,按2.2.1项下色谱条件连续进样6次,藁本内酯峰面积RSD 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在0,2,4,6,8,10,12,24 h按2.2.1项下色谱条件测定,计算藁本内酯峰面积的RSD 2.1%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.2.7 加样回收率试验 量取已知藁本内酯含量(11.9 mg \cdot L⁻¹)的透皮吸收液6份,每份0.1 mL,各精密加入等体积12.6 mg \cdot L⁻¹藁本内酯对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,计算平均回收率99.69%,RSD 2.0%,表明本方法回收率良好。

2.3 透皮吸收试验^[7] 取健康小鼠,用电动剃毛机剃去小鼠腹部毛,用6%硫化钠溶液脱除剩余毛发,2 d后小鼠脱白处死,小心剥离腹部皮肤,剔除皮下脂肪组织及粘连物,用生理盐水冲洗干净,保存于-20 $^{\circ}$ C冰箱中备用(1周内使用),试验前自然解冻,皮肤不能有任何破损。采用改良 Franz 扩散池进行体外透皮试验,扩散池容积8 mL,有效扩散面积3.14 cm²。将处理好的离体鼠皮固定于供给池与接收室之间,角质层面向上,供给池中均匀涂抹温经止痛凝胶膏剂,接收室中加入已超声脱气的乙醇-生理盐水(4:6)混合液。调节温度至(32 ± 0.5) $^{\circ}$ C,200 r \cdot min⁻¹恒速搅拌,分别于1,2,4,6,8,10,12,24 h从样品接收室吸取接受液1 mL,同时向接收室中补加同温度同体积的空白接受液。将吸取的接受液

用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算累计渗透量(Q)、渗透速率常数(J)和增渗倍数(enhancing rate,ER)。

$$Q_n = \frac{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_i}{A}$$

$$J = \frac{dQ}{dt}; ER = J/J_0$$

式中 Q_n 为第 n 个时间点的单位面积累计透过量, V 为接收室中接受液的总体积(8 mL), V_i 为每次取样体积(1 mL), C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度, A 为有效扩散面积(3.14 cm²), J_0 为未加促渗剂的透皮速率常数或参比制剂的透皮速率常数。

2.4 单因素试验考察

2.4.1 促渗剂种类 以藁本内酯 24 h 时 J 和 ER 为指标,按 2.3 项下方法操作,分别对温经止痛凝胶膏剂空白组(不加促渗剂)、加质量分数 4% 的氮酮组、丙二醇组、油酸组和不同促渗剂的联合运用组进行考察,比较各组的促渗能力,见表 1。结果显示氮酮和丙二醇合用时,藁本内酯 24 h 的 J ,ER 均为最大值,说明此凝胶膏剂的透皮吸收效果最好,故选择氮酮与丙二醇为促渗剂。

表 1 温经止痛凝胶膏剂中透皮促渗剂种类的筛选($n=3$)

Table 1 Screening kinds of penetration enhancers in Wenjing Zhitong gel paste($n=3$)

种类	质量分数 /%	$Q-t$ 方程	r	$J/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	ER
空白	0	$Q = 0.90t + 5.73$	0.994 5	0.90	1.00
丙二醇	4	$Q = 0.91t + 7.03$	0.992 6	0.91	1.04
氮酮	4	$Q = 1.86t + 6.09$	0.995 3	1.86	1.81
油酸	4	$Q = 1.21t + 8.10$	0.993 7	1.21	1.33
氮酮 + 丙二醇	2+2	$Q = 2.02t + 9.18$	0.992 5	2.02	2.15
氮酮 + 油酸	2+2	$Q = 1.17t + 8.52$	0.985 5	1.17	1.30
丙二醇 + 油酸	2+2	$Q = 1.77t + 5.54$	0.995 1	1.77	1.78

2.4.2 氮酮与丙二醇用量比 控制促渗剂的总质量分数 4%,处方中其他药物用量不变,以藁本内酯 24 h 的 J 和以氮酮-丙二醇(1:1)为参比制剂计算的 ER 为考察指标,按 2.3 项下方法操作,调整氮酮与丙二醇的用量比分别为 2:1,1:1,1:2,结果 $Q-t$ 方程分别为 $Q = 3.23t + 8.45$ ($r = 0.989 7$), $Q = 2.06t + 6.11$ ($r = 0.992 3$), $Q = 2.24t + 7.67$ ($r = 0.991 5$); J 分别为 3.23,2.06,2.24 μg·cm⁻²·h⁻¹;ER 分别为 1.55,1.00,1.10。表明氮酮-丙二醇(2:1)时,促渗效果最佳。

2.4.3 促渗剂用量 以氮酮-丙二醇(2:1)为促渗

剂,以藁本内酯 24 h 的 J 与 ER 为评价指标,按 2.3 项下方法操作,考察促渗剂用量分别为 4%,6%,8% 时促渗效果,得 $Q-t$ 方程分别为 $Q = 3.28t + 5.44$ ($r = 0.998 1$), $Q = 3.14t + 1.11$ ($r = 0.999 5$), $Q = 2.87t + 2.03$ ($r = 0.998 3$); J 分别为 3.28,3.14,2.87 μg·cm⁻²·h⁻¹;ER 分别为 1.00,0.91,0.84。表明当氮酮与丙二醇的总用量为 4% 时,促渗效果最好,总用量继续增加,促渗效果有所降低。

3 讨论

挥发油加入 β-CD 饱和溶液中,搅拌,静置,过滤得挥发油包合物,滤液则在温经止痛凝胶膏剂制备时,加至 A 相中。因为挥发油在过饱和 β-CD 溶液包合时,未包合的部分溶于或分散在 β-CD 溶液中,若弃去此部分,会造成挥发油的浪费且减少了处方用量。同时挥发油包合后,可能会影响其在凝胶膏剂中的释放与透皮特性,如释放速率与透皮特性降低等,在制备时加入部分未包合的挥发油则可部分抵消这种现象。

选择硫化钠对小鼠皮肤进行脱毛时,由于硫化钠具有较强的碱性,可能会对皮肤角质层造成一定程度的破坏,进而改变皮肤对药物的透过性,故本文在用硫化钠对小鼠腹部皮肤脱毛后,要过 2 d 再取小鼠皮肤,目的是让小鼠皮肤自然恢复。温经止痛凝胶膏剂是以中药复方提取物制成的凝胶膏剂,成分多样而复杂,由于时间条件等的限制,本文仅以藁本内酯为指标成分筛选透皮促渗剂,可能不能反映其对全方整体促渗效果的影响。

[参考文献]

[1] 李学敏,吴清,范峥,等. 骨伤凝胶膏剂中促渗剂的优选研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(1):64-67.

[2] 徐月红,叶卉,官素桃,等. 白芥子涂方凝胶膏剂的体外释放及透皮特性研究[J]. 中成药,2011,33(12):2068-2072.

[3] 李磊,赵秀丽,陈大为,等. 化学促渗剂在经皮给药系统中的应用进展[J]. 中南药学,2007,5(6):532-535.

[4] 徐建兵,文竹,杨国正,等. 细辛毒性研究进展[J]. 西部医学,2011,23(12):2473-2474.

[5] 周绮,张茜,金若敏. 吴茱萸致小鼠肝毒性时效、量效关系研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):232-235.

[6] 汪程远,杜俊蓉,钱忠明. 藁本内酯的研究进展[J]. 中国药学杂志,2006,41(12):889-891.

[7] 卢映,涂星,吴俊洪,等. 不同基质和促渗剂对川芎嗪凝胶经皮吸收的影响[J]. 中药新药与临床药理,2013,24(2):166-169.

[责任编辑 刘德文]