

· 药剂与炮制 ·

青防肿痛外敷散剂与凝胶剂的体外渗透行为比较

郭玉岩, 吕邵娃, 王锐, 孙爽, 孟令超, 刘磊, 李永吉*

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的:比较青防肿痛外敷散剂与凝胶剂体外渗透行为的差异性。方法:采用透皮扩散仪,以青藤碱为指标,含角质层的 Wistar 大鼠腹部皮肤为渗透媒介,采用 HPLC 考察青防肿痛外敷散剂与凝胶剂在不同时间点的青藤碱经皮渗透量,流动相甲醇-水-乙二胺(50:50:0.1),检测波长 262 nm,比较 2 种剂型的体外渗透行为。结果:青防肿痛外敷散剂与凝胶剂 12 h 单位面积累计透过量分别为 0.405 24, 0.191 14 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$, 累计透过率分别为 74.52%, 35.15%。2 种剂型中青藤碱的渗透行为均符合 Higuchi 方程,透皮速率分别为 0.180 5, 0.073 4 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ 。结论:青防肿痛外敷散剂与凝胶剂均具有缓释释药效果。在释药前期,凝胶剂较外敷散剂释药迅速;在整体经皮渗透过程中,外敷散剂较凝胶剂显著提高了青藤碱的经皮渗透量及透过速率。

[关键词] 青防肿痛外敷散; 凝胶剂; 青藤碱; 经皮渗透

[中图分类号] R283.6; R284.1; R944.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0001-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090001

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150317.1039.001.html>

[网络出版时间] 2015-03-17 10:39

Comparison of *in vitro* Penetration Behavior Between Qingfang Zhongtong External Application Powder and Gel GUO Yu-yan, LYU Shao-wa, WANG Rui, SUN Shuang, MENG Ling-chao, LIU Lei, LI Yong-ji* (Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To compare *in vitro* permeation behavior differences between Qingfang Zhongtong external application powder and gel. **Method:** Taking transdermal diffusion instrument, with sinomenine as index component, abdominal skin of wistar rats containing cuticular as permeability medium, percutaneous penetration content of sinomenine in Qingfang Zhongtong external application powder and gel at seteing times were determined by HPLC, mobile phase was methanol-water-ethylene diamine (50:50:0.1), detection wavelength was 262 nm, *in vitro* permeation behavior of these two formulations was compared. **Result:** Cumulative penetration content of Qingfang Zhongtong external application powder and gel were 0.405 24, 0.191 14 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ in 12 hours, respectively. Cumulative penetration percentage of them were 74.52% and 35.15%, respectively. Penetration behavior of sinomenine in these two formulations conformed to Higuchi equation, transdermal rate were 0.180 5, 0.073 4 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** Both Qingfang Zhongtong external application powder and gel have sustained release effect. The gel releases drugs much more quickly at an early period, but during whole process of percutaneous penetration, external application powder can significantly improve both cumulative penetration content and transdermal rate of sinomenine.

[Key words] Qingfang Zhongtong external application powder; gel; sinomenine; percutaneous penetration

[收稿日期] 20140626(010)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81473359);黑龙江省自然科学基金项目(H201472);黑龙江省中医药管理局项目(ZHY12-2073)

[第一作者] 郭玉岩, 硕士, 讲师, 从事中药新药开发研究, Tel:13845046561, E-mail: guoyuyan622@163.com

[通讯作者] *李永吉, 博士, 教授, 从事新药制剂技术开发研究, E-mail: liyongji2009@163.com

青防肿痛外敷散是根据《普济方》风湿痹门中的经典方剂制成的一种新型外用散剂^[1],原方由青风藤和防己组成,经酒煮后,徐徐服饮,具有祛风除湿、消肿止痛之功效,用于治疗膝关节骨关节炎等风湿痹阻症^[2]。原处方中主要药味青风藤有效成分青藤碱具有释放组胺而致皮疹、胃肠道不良反应等^[3],口服给药难以避免药源性的不良反应;且对于风湿痹症这类疾病,口服给药作用缓慢,局部患处难以达到理想药物浓度。故拟将其改制成以特殊膜材包封的新型外敷散剂,药物直接贴敷于患处,可增加炎性关节局部药物浓度,提高疗效;同时还可避免肝脏的首过效应及胃肠道对药物的破坏作用,降低药物毒副作用,有效地避免了药疹、恶心等不良反应。新型外敷散剂的释药行为具有特殊性,药物突破皮肤壁垒^[4]、有效渗透并释药于患处是其药效发挥的关键点。本实验选择方中活性成分青藤碱为评价指标,比较青防肿痛外敷散剂与普遍水溶性基质凝胶剂的体外经皮渗透特性,为青防肿痛外敷散的新药研究提供技术支持,同时为中药传统散剂的剂型改革提供参考。

1 材料

HC-188型透皮扩散仪(天津市正通科技有限公司),2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司)。青风藤和防己药材均购自于哈尔滨市药材公司,经黑龙江中医药大学药学院都晓伟教授鉴定,均符合2010年版《中国药典》一部相关项下要求;青防肿痛外敷散(哈尔滨怡康药业有限公司,批号140301),青藤碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号0774-201206),甲醇为色谱纯,其他试剂均为市售分析纯。清洁级Wistar大鼠,雌雄各半,体重150~200g,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(黑)2008-004。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制 精密称取减压干燥至恒重的青藤碱对照品3.25mg,置于50mL量瓶中,加生理盐水溶解并稀释至刻度,即得。

2.2 供试品溶液制备 称取处方量青风藤、防己药材,采用外敷散剂制备方法^[1]制得药材提取物。称取处方量卡波姆940,加适量水溶胀;按处方称取药材提取物,加少许水分散均匀,水浴温热使其溶于凝胶基质中,边搅拌边加入甘油明胶[甘油-水-明胶(3:50:20)]和丙二醇,混匀,用三乙醇胺调节pH6.0,得青防肿痛凝胶剂。取青防肿痛外敷散剂及凝胶剂样品进行透皮试验,于不同时间点取样,接收液

过0.22μm微孔滤膜,得供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈色谱柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相甲醇-水-乙二胺(50:50:0.1),检测波长262nm,流速1mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量10μL。

2.3.2 标准曲线的制备 分别精密吸取2.1项下对照品储备液1,1,2,3,4mL,分别置于10,5,5,5,5mL量瓶中,加生理盐水稀释至刻度,摇匀,滤过,按2.3.1项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 8 \times 10^6 X - 25144$ ($r = 0.9996$),线性范围0.0065~0.052g·L⁻¹。

2.3.3 精密度试验 取同一对照品溶液按2.3.1项下色谱条件重复进样6次,结果青藤碱峰面积RSD0.6%,表明仪器精密度良好。

2.3.4 检测限、定量限 称取青藤碱对照品2.5mg,加生理盐水定容至25mL,精密量取1mL加生理盐水定容至10mL,逐级稀释,按2.3.1项下色谱条件测定,得检测限0.8mg·L⁻¹,定量限2.5mg·L⁻¹。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液室温放置,分别于0,2,4,8,12,24h按2.3.1项下色谱条件测定,计算青藤碱含量的RSD0.7%,表明供试品溶液在24h内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验 取青防肿痛外敷散剂样品6份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件测定,计算青藤碱透过率的RSD1.9%,表明该方法重复性良好。

2.3.7 准确度试验 分别向已知含量的渗透液样品中加入一定量青藤碱对照品溶液,用生理盐水定容至刻度,按2.3.1项下色谱条件测定,结果平均准确度97.76%,RSD2.8%,表明该方法准确度良好。

2.4 体外透皮试验 Wistar大鼠6只,随机分为2组,散剂组与凝胶剂组各3只。腹部用硫化钠乙醇溶液脱毛,饲养24h,处死,取腹部皮肤,剥离皮下脂肪层,置于生理盐水中低温保藏,待用。采用透皮扩散仪,Franz扩散池由上下2只筒状玻璃管对合而成,夹于玻璃管间的皮肤将其分为上、下室。上室为扩散室,下室为接受室,体积5.0mL,在接受室底部连有1个取样管,供取样、补充接受液和排除气泡用。接受室直径0.9cm,渗透面积0.63585cm²,接受室浸于恒温水浴中,置于磁力搅拌器上,保持接受液温度及浓度的均匀一致。将处理好的大鼠腹部皮肤紧密夹于扩散池和接受池之间,皮肤外层朝向扩散池。将2组分别混匀散于覆盖在扩散池的大鼠皮

肤上,压实使药物与皮肤紧密接触,每组 3 个平行样,采用相同方法处理。向放有磁子的接受池内注入生理盐水 5 mL,液面与皮肤接触要无气泡,打开设有 37 °C 恒温水浴和磁力搅拌器(恒速 200 r·min⁻¹),分别在 2,4,6,8,10,12 h 时间点取样 1 mL,同时补加等体积的新鲜接收液,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下色谱条件测定不同时间点样液中青藤碱含量,计算青防肿痛外敷散的单位面积累积渗透量(Q)。

$$Q = C_n \times 5 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 2/A$$

式中 C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度, C_i 为第 i 个取样点的药物质量浓度, A 为渗透面积。由实验数据可知,二者相比,外敷散剂的累计透过率 74.52%,凝胶剂的累计透过率 35.15%,外敷散剂是凝胶剂的 2.12 倍,说明在 12 h 内外敷散剂的透过更为完全,见图 1。将数据进行模型拟合,包括零级动力学方程、一级动力学方程和 Higuchi 方程, Weibull 方程,结果见表 1。根据其 r 值确定青防肿痛外敷散剂与凝胶剂的体外扩散均符合 Higuchi 方程,说明二者均具有缓释的作用效果。方程斜率(透皮速率常数)分别为 0.180 5 mg·cm⁻²·h⁻¹ 与 0.073 4 mg·cm⁻²·h⁻¹。表明外敷散剂较凝胶剂显著提高了青藤碱的透过速率。

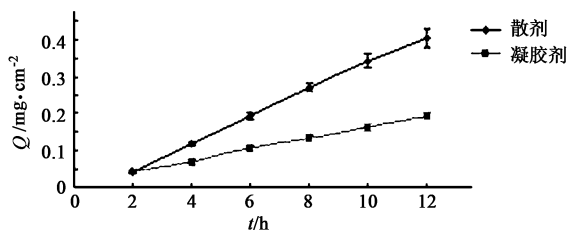


图 1 青防肿痛外敷散剂与凝胶剂体外透皮曲线($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig.1 *In vitro* transdermal curves of Qingfang Zhongtong external application powder and gel ($\bar{x} \pm s, n=3$)

表 1 青防肿痛外敷散剂与凝胶剂的经皮渗透试验参数
Table 1 Percutaneous penetration test parameters of Qingfang Zhongtong external application powder and gel

剂型	方程	回归方程	r
散剂	零级	$Q = 0.0368t - 0.0292$	0.9843
	一级	$\ln Q = 1.2915 \ln t - 4.0243$	0.9951
	Higuchi	$Q = 0.1805t^{1/2} - 0.2322$	0.9954
	Weibull	$\ln(1/1-Q) = 0.2610 \ln t - 0.1943$	0.9578
凝胶剂	零级	$Q = 0.0150t + 0.0124$	0.9864
	一级	$\ln Q = 0.8478 \ln t - 3.7760$	0.9918
	Higuchi	$Q = 0.0734t^{1/2} - 0.0699$	0.9925
	Weibull	$\ln(1/1-Q) = 0.0927 \ln t - 0.0393$	0.9630

3 讨论

前期研究表明青防肿痛外敷散对风湿痹症,特别是对膝关节骨性关节炎具有明显疗效^[1,5-7];安全性研究提示改变给药途径后可明显降低药物自身带来的不良反应,无过敏、刺激性等现象发生,安全性良好。传统散剂多采用药材原粉入药,给药时直接敷于患处,易污染。青防肿痛外敷散在继承传统剂型的同时,利用现代中药提取分离技术,将药材精制提取后的有效成分入药,可大大减少使用量;采用膜材包封,将传统散剂的给药方式转化为方便的方式定量分装,在保证给药剂量准确的同时,可大大提高患者使用的顺应性。

与相同给药途径凝胶剂比较,在 0~2 h 时,凝胶剂的平均累积渗透量大于散剂,初步推测初始时间凝胶剂与皮肤结合紧密,透过速度快;2 h 后由于散剂分散度大,整体粒径较小,与接受液接触充分润湿后与皮肤紧密接触且比表面积大,有利于药物的释放,散剂亦可在皮肤表面形成黏附性薄膜,通过闭塞效应提高角质层水和程度^[8],进而增加青藤碱的透皮效果。离体大鼠皮肤的制备应选同品种、同品系且年龄体重均相近的大鼠^[9]。

[参考文献]

- [1] 姜雷,郭玉岩,吕少娃,等.多指标综合评分法优选青防痛瘀散提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):26-28.
- [2] 袁小红,袁雪妹,范瑞强.香莲软膏剂体外透皮试验[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):10-12.
- [3] 张玲莉,王军,何文袁,等.盐酸青藤碱醇质体凝胶与脂质体凝胶体外经皮渗透动力学比较研究[J].中国药师,2012,15(12):1678-1681.
- [4] 刘方艺.经络贴巴布剂的制备工艺与体外经皮渗透研究[D].广州:广州中医药大学,2011.
- [5] 臧玲玲,李永吉,孙凌,等.青藤碱精制工艺的优化[J].哈商大学学报,2011,4(27):536-538.
- [6] 孙瑜,李永吉,张喜武,等.盐酸青藤碱外敷贴散的体外释药研究[J].时珍国医国药,2009,20(2):425-427.
- [7] 夏畅,郭玉岩,吕邵娃,等.青藤祛湿外敷散的长期毒性试验研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2013,29(3):263-266.
- [8] 王岩,王婴,凌佳俊,等.青藤碱脂质体贴剂的经皮渗透行为研究[J].中国新药杂志,2008,17(24):2108-2111.
- [9] 郭晨煜.槲皮素纳米脂质体制剂及其经皮给药研究[D].济南:山东大学,2011.

[责任编辑 刘德文]