

康摩膏的基质及促渗透剂考察

冯青云, 贾永艳*, 周昌妮, 陈书慧, 徐如冰

(河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 郑州 450046)

[摘要] **目的:** 优选康摩膏中基质类型及复合促渗透剂, 为改善该制剂的透皮扩散速率提供参考。**方法:** 采用 HPLC 测定芍药苷含量, 流动相甲醇-0.1% 冰乙酸 (30:70), 流速 $0.9 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 234 nm。选择 SD 小鼠腹部皮肤, 通过 Franz 扩散池法进行体外透皮吸收试验, 以芍药苷 12 h 累积渗透量及渗透率为指标, 评价药物在不同类型基质中的释放性能和透皮性能, 优选基质类型; 通过星点设计-效应面法考察复合促渗透剂氮酮、丙二醇对康摩膏中芍药苷体外经皮渗透的影响, 优选最佳的透皮吸收促进剂组合。**结果:** 选择 O/W 乳剂型基质, 最佳促渗透剂组合为 2.4% 氮酮和 1.6% 丙二醇, 芍药苷在 12 h 的累积渗透率 72.20%。**结论:** 优选的基质及促渗透剂可明显提高康摩膏的透皮吸收性能, 可为该制剂的工业化生产提供参考。

[关键词] 康摩膏; 经皮给药; 基质; 促渗透剂; 芍药苷; 丙二醇

[中图分类号] R283.6; R945; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0015-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016100015

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160331.1442.014.html>

[网络出版时间] 2016-03-31 14:42

Prescription Research of Kangmo Paste

FENG Qing-yun, JIA Yong-yan*, ZHOU Chang-ni, CHEN Shu-hui, XU Ru-bing

(Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment &
Chinese Medicine Development of Henan Province, Henan University of
Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To observe enhancement of transdermal diffusion rate of Kangmo paste by screening type of substrates and compound penetration enhancers. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of paeoniflorin by taking methanol-0.1% glacial acetic acid (30:70) as mobile phase and detection wavelength of 234 nm. Utilized skin on the back of SD rats, *in vitro* percutaneous absorption test was used by Frans diffusion cell method, with cumulative osmotic quantity in 12 h and penetration rate as indexes, which was used to evaluate release and transdermal performance of drug in different types of substrates, in order to select substrate type. Effects of composite permeability dose of azone and propylene glycol on *in vitro* percutaneous penetration of paeoniflorin in Kangmo paste were investigated by central composite design-response surface methodology. **Result:** Matrix of O/W emulsion was chosen; when accumulative release rate of paeoniflorin was 72.20% in 12 h, combination of penetration enhancer was 2.4% azone and 1.6% propylene glycol. **Conclusion:** This optimized substrate and penetration enhancer can significantly improve transdermal rate constant of Kangmo paste.

[Key words] Kangmo paste; transdermal administration; substrate; penetration enhancers; paeoniflorin; propylene glycol

[收稿日期] 20150719(002)

[基金项目] 郑州市科技局普通科技攻关项目(10PTGS485-9)

[第一作者] 冯青云, 在读硕士, 从事药物制剂新技术研究, E-mail:417018951@qq.com

[通讯作者] *贾永艳, 教授, 硕士生导师, 从事药物制剂新技术与新剂型研究, E-mail:hnzyjy@126.com

康摩膏是治疗中风后偏瘫的临床验方,由当归、赤芍、川芎、丹参等 13 味中药组成,具有活血化瘀、通经舒络、消肿止痛等功效。由于正常皮肤角质层的天然屏障作用,限制了大多数药物经皮吸收达到全身的作用,故需选择合适的基质和经皮促渗透剂来克服这种屏障作用,以改善药物的经皮通透性^[1]。芍药苷是康摩膏中主要祛瘀止痛成分,具有抗血栓形成、止痛的作用^[2]。本实验以芍药苷的累积渗透量及渗透率为指标,通过体外渗透试验从水溶性基质、油脂性基质、乳剂型基质中选择释放度较高的基质,并以氮酮、丙二醇为研究对象,采用星点设计优选康摩膏的促渗透剂,为该制剂的深入开发和中药复方经皮给药制剂中基质和促渗透剂的选择提供实验依据。

1 材料

Summit 系统高效液相色谱仪(美国戴安公司,含 TCC-100 型柱温箱, PDA-100 型检测器), AE240 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒公司), HC-2061 型中佳高速离心机(安徽中科科学仪器有限公司), YB-P6 型智能透皮试验仪(天津市富兰斯电子科贸有限公司)。

芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110736-201430), 氮酮(天津市博迪化工有限公司,批号 20140513), 丙二醇(PDO)和甘油、三乙醇胺、蓖麻油、尼泊金乙酯、硬脂酸、单硬脂酸、白凡士林、十八醇(天津市致远化学试剂有限公司), 液体石蜡(烟台市双双化工有限公司), 月桂山梨坦(司盘-20,天津市瑞金特化学品有限公司), 聚山梨酯-80(tween-80,天津市瑞金特化学品有限公司), 康摩膏(自制), 脱毛膏(上海诗碧化妆品有限公司), 水为超纯水, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性小鼠, 体重(20 ± 2) g, 由河北省实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(冀)2014-0097。

2 方法与结果

2.1 康摩膏的制备 按处方比例称取赤芍、丹参等药味,加 10 倍量 80% 乙醇提取 3 次,每次 1 h,得浸膏,备用;当归、川芎等药材采用超临界萃取法提取,得超临界萃取物,备用。按比例将油相成分单硬脂酸甘油酯、硬脂酸、蓖麻油、尼泊金乙酯共置于干燥烧杯中,65 °C 水浴熔融;将水相成分三乙醇胺、水、醇提物置于另一干燥烧杯中,混匀,65 °C 水浴保温;将超临界萃取物与油相混合均匀,迅速将水相倒入油相中,混合均匀,搅拌至室温,即得。

2.2 离体皮肤的制备 在 Franz 透皮扩散试验中,

离体皮肤种类对试验结果有一定影响,以人体皮肤最为理想,但比较难获取,由于小鼠腹部皮肤与人体皮肤的结构较为相似,故选用离体小鼠腹部皮肤模型进行透皮扩散试验。取小鼠,将腹部脱毛,24 h 后处死,剪取无毛的腹部皮肤,去除皮下组织和脂肪,用生理盐水反复冲洗,置于生理盐水中,4 °C 冷藏保存备用,48 h 内使用。使用前用生理盐水洗干净,放置室温后可进行试验。

2.3 体外经皮渗透试验 体外经皮渗透试验的接受液较常用的有水、生理盐水、生理盐水乙醇溶液等,预试验表明芍药苷在 30% 乙醇-生理盐水溶液中释放性能较为理想^[3],性质稳定,故选择 30% 乙醇-生理盐水溶液为接收液。取已制备好的小鼠腹部离体皮肤,将皮肤固定在改良的 Franz 扩散池的接受池与供给池之间,角质层向上,用弹簧夹固定。接受池内充满 30% 乙醇-生理盐水溶液,排出气泡,保证接受液与皮肤紧密接触。将康摩膏加入到供给池中均匀涂布于皮肤表皮上,在(37 ± 0.5) °C 恒温水浴中,打开磁力搅拌器以 200 r·min⁻¹ 恒速搅拌,分别于 2,4,6,8,10,12 h 取 15 mL,每次取样后补加等体积等温的 30% 乙醇-生理盐水溶液,将取出的接受液蒸干,用甲醇溶解于 2 mL 量瓶中,经 0.22 μm 滤膜过滤,取续滤液,采用 HPLC 测定芍药苷含量,计算单位面积的累积渗透量。

$$Q_n = \frac{C_n V_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i}{S}$$

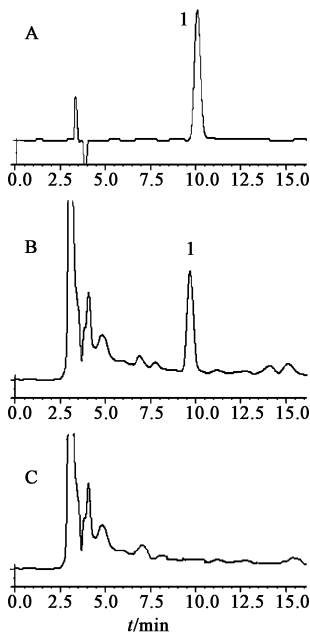
式中 Q_n 为累积渗透量, C_n 为第 n 个小时取样时接受液中药物的浓度, V_n 为接受池的体积 17 mL, C_i 为第 i 个取样点接受液中药物的浓度, V_i 为取样体积 15 mL, S 为有效扩散面积 1.7 cm²。以每小时的 Q_n 对时间 t 进行线性回归,所得斜率 d_Q/d_t 即为渗透速率常数(J_{ss})。

2.4 芍药苷的含量测定

2.4.1 溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成 38.5 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。取接收液 15 mL 置于蒸发皿中,水浴蒸干,残渣用甲醇溶解并定容于 2 mL 量瓶中,经 0.22 μm 滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

2.4.2 色谱条件 Venusil XBP C₁₈ (L) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 冰乙酸(30:70), 柱温 30 °C, 流速 0.9 mL·min⁻¹, 检测波长 234 nm。见图 1, 供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱图相应的保留时间有色谱峰,色谱峰均达

到基线分离,阴性样品则无干扰峰,符合定量分析的要求。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 芍药苷

图 1 康摩膏透皮接受液 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of percutaneous receptor fluid of Kangmo paste

2.4.3 线性关系考察 精密取 2.4.1 项下对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL , 按 2.4.2 项下条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 33.853X - 1.998$ ($R^2 = 0.9998$), 线性范围 0.193 ~ 1.155 μg 。

2.4.4 稳定性试验 取透皮接受液约 15 mL, 按 2.4.1 项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12 h 按 2.4.2 项下条件测定, 结果芍药苷峰面积的 RSD 1.3%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.5 康摩膏体外透皮、释药性能研究

2.5.1 体外释药过程初步研究^[4] 将小鼠离体皮肤 2 ~ 12 h 所得累积渗透率 (S), 待渗透率对数 $\ln(100 - S)$ 及 $\ln S$ 分别与时间 (t), $t^{1/2}$, $\ln t$ 按零级, 一级, Higuchi 和 R-P 方程处理, 研究药物的体外释药类型。得相应方程依次为 $S = 6.619t + 13.559$ ($r = 0.9878$), $\ln(100 - S) = -0.201t + 4.890$ ($r = 0.9506$), $S = 32.709t^{1/2} - 23.616$ ($r = 0.9960$), $\ln S = 0.758 \ln t + 2.644$ ($r = 0.9926$), 结果表明芍药苷的释放拟合 Higuchi 模型较其他模型优势明显, 说明康摩膏在体内的释药主要有 2 种机制, 即 Fick 扩散协同骨架溶蚀作用。

2.5.2 基质与药物的配比 称取 30 个处方量药材, 按 2.1 项下工艺条件提取, 得浸膏、挥发油, 备用。分别称取 5 个处方量的提取物按不同比例 (1:0.50, 1:0.61, 1:0.72, 1:0.84, 1:0.96) 与一定基质和促透剂混合制成软膏, 观察其外观形状; 将制成的软膏分别以 2 000, 3 000, 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 恒温 (-20, -10, 0, 10, 25, 35, 45, 60 $^{\circ}\text{C}$) 放置, 观察有无油水分离现象, 确定最佳配比。结果表明药物-基质 (1:0.61) 时, 即软膏 1 g 相当于含药材 0.67 g, 软膏的稳定性较高。耐热、耐寒试验考察时间分别为 6, 24 h。

2.5.3 基质筛选 软膏剂是由基质和药物组成, 基质作为赋形剂, 不仅影响药物的释放度, 而且还会直接影响软膏剂的其他理化性质。分别将药物制成水溶性 [卡波普 930-tween-80-水 (20:3:300)]^[5], 油脂性 [白凡士林-羊毛脂 (9:1)]^[6], 乳剂 O/W 型 [硬脂酸-单硬脂酸甘油酯-蓖麻油-尼泊金乙酯-三乙醇胺-水 (16:5:40:0.1:2:10)] 和乳剂 W/O 型基质 [单硬脂酸甘油酯-白凡士林-液体石蜡-十八醇-司盘-20-甘油-tween-80-水 (100:60:380:18:6:124:4:120)]^[7] 的软膏。

将适量 tween-80 加入水中, 搅拌均匀, 将卡波普 930 撒与液面上, 溶胀过夜, 搅拌, 脱泡, 得水溶性基质。取白凡士林与羊毛脂, 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴熔融后混合, 得油脂性基质。将油相成分 (单硬脂酸甘油酯、硬脂酸、蓖麻油、尼泊金乙酯) 与水相成分 (三乙醇胺、水) 分别水浴加热至 65 $^{\circ}\text{C}$, 将熔融的油相与水相混合, 搅拌均匀, 得 O/W 乳剂型基质。将油相成分 (单硬脂酸甘油酯、白凡士林、液体石蜡、十八醇、司盘-20) 与水相成分 (甘油、水和 tween-80), 分别水浴加热至 75 $^{\circ}\text{C}$, 将熔融的油相与水相混合, 搅拌均匀, 得 W/O 乳剂型基质。采用改良的 Franz 透皮扩散池, 以离体小鼠的腹部皮肤为模型, 评价药物在不同类型基质中的释放性能和体外透皮能力, 见图 2 和表 1。

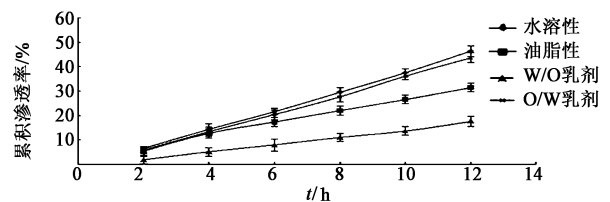


图 2 不同基质制备的康摩膏中芍药苷的累积渗透率曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Cumulative penetration curves of paeoniflorin from four different Kangmo paste in 12 h ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

芍药苷 12 h 的 S 排序为水溶性基质 > O/W 乳剂型基质 > 油脂性基质 > W/O 乳剂型基质。考虑到 O/W 乳剂型基质较水溶性基质涂抹舒适,且本处方中既含有水溶性成分又含有挥发性有效成分, O/W 乳剂型基质不仅能促进水溶性成分的透皮吸收,还对挥发油成分有一定的保护作用。故选择 O/W 乳剂型基质进行后续试验。

表 1 不同基质对康摩膏中芍药苷单位面积渗透量的影响
Table 1 Effects of different substrate on permeation amount per unit area of paeoniflorin in Kangmo paste

基质	回归方程	渗透速率 $/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$
水溶性	$S = 3.9630t - 1.7366$	3.96
油脂性	$S = 2.5338t + 1.4860$	2.53
W/O 乳剂型	$S = 1.5465t - 1.3695$	1.55
O/W 乳剂型	$S = 3.7835t - 1.9797$	3.78

2.5.4 促透剂筛选^[8-11] 在预试验基础上,选取氮酮、丙二醇 2 种常用的促透剂,分别按不同比例混合制成软膏,采用星点设计-效应面法,以芍药苷的 $Q_{12\text{h}}$ 为评价指标。试验采用两因素五水平的星点设计,代码分别为 +1.414, -1.414, +1, -1, 0, 试验安排及结果见表 2。采用软件 Minitab 15 处理试验数据,方差分析见表 3。

表 2 康摩膏促透剂优选星点试验分析
Table 2 Central composite design of optimization of penetration enhancers in Kangmo paste

No.	X_1 氮酮/g	X_2 丙二醇/g	芍药苷 $Q_{12\text{h}}$ /mg
1	0.392	0.392	0.401
2	0.392	0.392	0.426
3	0.115	0.115	0.139
4	0	0.392	0.313
5	0.392	0.392	0.377
6	0.392	0.392	0.411
7	0.115	0.669	0.156
8	0.669	0.669	0.202
9	0.392	0.392	0.458
10	0.392	0	0.319
11	0.392	0.784	0.111
12	0.784	0.392	0.313
13	0.669	0.115	0.365

由表 3 可知,该模型拟合结果良好。考察因素的一次项、二次项均对芍药苷的累积渗透量有显著

表 3 回归方程方差分析
Table 3 ANOVA of regression equation for paeoniflorin

来源	f	SS	MS	F	P
模型	5	0.150	0.029	9.96	0.004
线性	2	0.033	0.017	6.75	0.033
平方	2	0.103	0.052	17.77	0.002
交互作用	1	0.008	0.008	2.78	0.139
失拟	3			6.11	0.056

影响。以芍药苷累积渗透量的回归方程 $Y = 0.005 + 0.994X_1 + 1.172X_2 - 0.818X_1^2 - 1.446X_2^2 - 0.585X_1X_2$ 。利用 Minitab 15 软件绘制自变量与因变量的三维曲面图及等值线图,见图 3。结果显示促透剂对芍药苷的透皮释放作用最佳范围全部在所选的水平范围内。通过软件对试验数据进行优化,促透剂为氮酮 0.487 g 和丙二醇 0.309 g 时累积渗透量较高,故确定 2.4% 氮酮和 1.6% 丙二醇为促透剂。根据最佳处方制备 3 批康摩膏,结果该制剂中芍药苷在 2,4,6,8,10,12 h 的体外经皮平均累积渗透率为 14.54%, 27.02%, 38.51%, 49.77%, 61.35%, 72.20%。

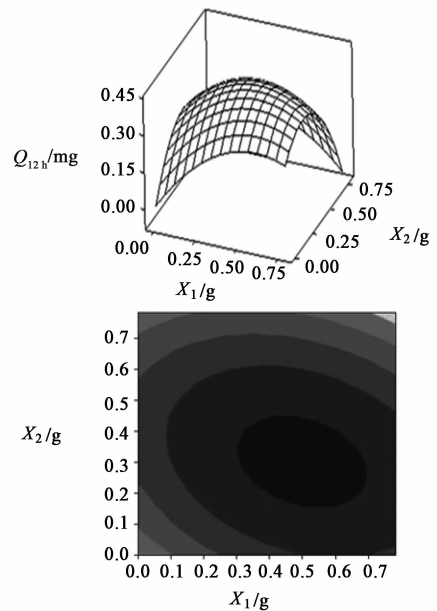


图 3 氮酮、丙二醇用量对康摩膏中芍药苷体外释药性能的影响
Fig. 3 Effects of amounts of azone and propylene glycol on *in vitro* release of paeoniflorin in Kangmo paste

3 讨论

经皮给药已成为新药研究时经常选用的给药途径,使药物克服皮肤的屏障作用进入皮下及血液循环系统是经皮给药的主要技术难点之一,其中最常用的方法是选用化学促透剂来增加药物的经皮渗入

速度及数量^[12]。目前,氮酮、丙二醇、油酸等是国内常用的透皮吸收促透剂。氮酮是一种高效皮肤渗透促进剂,对亲水和亲油药物均有很强的透皮作用,其机制主要是通过加速角质层类脂流动和溶解皮肤的类脂,增加药物的透皮吸收。丙二醇是透皮吸收助渗剂,单独使用效果不明显,其机制主要是增加药物在角质层中的溶解度^[13]来提高药物对皮肤的渗透性,常与氮酮、油酸等合用产生协同作用。对于中药透皮制剂而言,选用混合透皮吸收促进剂的促渗透效果往往优于单独使用一种透皮吸收促进剂^[14]。因此,为了提高康摩膏中药物有效成分的透皮吸收,本文选择最常用的透皮吸收促进剂为研究对象,结果表明当2.4%氮酮及1.6%丙二醇联合使用时促渗透效果最好。

优选基质时发现,软膏基质类型会影响药物的经皮渗透,水溶性和O/W乳剂型基质的渗透率优于油脂性和W/O乳剂型基质。水溶性基质易溶于水,能与皮肤渗出液混合且易洗除,但由于其有较强的吸水性,用于皮肤常有刺激感,且久用可引起皮肤脱水干燥感。乳剂型基质不阻止皮肤表面分泌物的分泌和水分蒸发,对皮肤正常功能影响较小,故选择O/W乳剂型基质。

[参考文献]

[1] 潘林梅,周静,徐小燕,等. 中药经皮给药制剂促渗透研究策略与应用[J]. 中国药房, 2012, 23(11): 1039-1041.
[2] 李得堂,唐洪梅,丘振文,等. 促渗剂对疗筋涂膜剂中药药昔经皮渗透的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 62-65.

[3] 秦海军,马玲,张毅,等. 透皮吸收促进剂对小儿腹泻凝胶膏经皮渗透性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 39-41.
[4] 陈向丽,赵颖飞. 一种抗菌中药挥发油软膏的制备[J]. 海峡药学, 2009, 21(5): 24-25.
[5] 郭东艳,白甫. 宫糜康软膏剂制备工艺的研究[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(11): 114-116.
[6] 郝海鸥,沙蕾,毛珊,等. 盐酸平阳霉素软膏基质筛选研究[J]. 中国药房, 2012, 23(25): 2358-2360.
[7] 华海婴,归振华,乔淑会,等. 紫苏醇软膏的制备及其体外经皮渗透研究[J]. 中草药, 2013, 44(14): 1911-1917.
[8] 潘慧莹,隋金婷,张蓓,等. 氮酮对双丁香儿脐贴中原儿茶酸和丁香酚透皮吸收的影响[J]. 中医药信息, 2011, 28(1): 92-94.
[9] 黄雨威,王利胜,兰小群,等. 促渗剂对消喘巴布剂中白芥子体外透皮吸收特性的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(21): 1754-1757.
[10] 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.
[11] 滕坤,阮洪生,武子敬,等. 星点设计-响应面法优选藤梨根总皂苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(22): 26-28.
[12] 魏舒畅,闫治攀,李芸,等. 吴茱萸挥发油、芥子油、大黄总蒽醌对阿魏酸体外经皮渗透的影响[J]. 中药材, 2013, 39(9): 1493-1496.
[13] 王新成,王丽娜,曹志友,等. 优选复方穿蛭透皮贴中透皮吸收促进剂[J]. 中成药, 2012, 34(5): 848-852.
[14] 顾圣莹,丁雪鹰,高静,等. 透皮促渗剂对双乌跌打损伤药方体外透皮吸收和体内药效的影响[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(8): 607-611.

[责任编辑 刘德文]