

透皮吸收促进剂对小儿腹泻凝胶膏经皮渗透性的影响

秦海军^{1,2}, 马玲^{1,2}, 张毅^{1,2*}, 陈师农^{1,2}, 任燕茹³

(1. 安徽省药物研究所, 合肥 230022; 2. 安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230022;
3. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230031)

[摘要] 目的: 考察不同透皮促进剂对小儿腹泻凝胶膏体外透皮吸收能力的影响。方法: 采用药物透皮仪进行小儿腹泻凝胶膏的体外经皮渗透试验, 通过单因素试验筛选接受液, 并分别考察加入不同质量分数(1%, 3%, 5%)氮酮、油酸、丙二醇后小儿腹泻凝胶膏剂中吴茱萸碱及吴茱萸次碱的24 h体外累积渗透总量和累积透过率。采用HPLC测定吴茱萸碱及吴茱萸次碱含量, 流动相乙腈-水(51:49), 检测波长225 nm。结果: 空白样品中吴茱萸(次)碱在24 h内的累积透过率34.53%, 含不同质量分数氮酮样品中吴茱萸(次)碱累积透过率分别为33.92%, 34.78%, 34.65%, 含不同质量分数油酸样品则分别为33.67%, 34.57%, 34.57%, 含不同质量分数丙二醇样品则分别为34.49%, 34.61%, 34.53%。结论: 小儿腹泻凝胶膏剂中不需加入化学透皮吸收促进剂, 其所含挥发性成分本身具有促进药物渗透的作用。

[关键词] 小儿腹泻凝胶膏; 透皮吸收促进剂; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 累积渗透总量; 累积透过率

[中图分类号] R283.6; R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)03-0039-03

[doi] 10.11653/syjf2014030039

Effects of Penetration Enhancers on Percutaneous Penetration of Infantile Diarrhea Gel Ointments

QIN Hai-jun^{1,2}, MA Lin^{1,2}, ZHANG Yi^{1,2*}, CHEN Shi-nong^{1,2}, REN Yan-ru³

(1. Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China;

2. Anhui Provincial Key Laboratory of Research and Development of Chinese Medicine, Hefei 230022, China;

3. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of different penetration enhancers on *in vitro* transdermal absorption ability of infantile diarrhea gel ointments. **Method:** Drug transdermal instrument was adopted to investigate percutaneous penetration of infantile diarrhea gel ointments, acceptable solution was selected by single factor test, and then 24 h *in vitro* total cumulative permeation and cumulative transmittance of evodiamine and retaecarpine in infantile diarrhea gel ointments were investigated after adding different content (1%, 3%, 5%) azone, oleic acid, propylene glycol. HPLC was adopted to determine contents of evodiamine and retaecarpine by taking acetonitrile-water (51:49) as mobile phase and detection wavelength of 225 nm. **Result:** Within 24 h, cumulative transmittance of evodiamine and retaecarpine in blank sample was 34.53%, in samples containing different amounts of azone were 33.92%, 34.78% and 34.65%, in samples containing different contents of oleic acid were 33.67%, 34.57% and 34.57%, in samples containing different contents of propylene glycol were 34.49%, 34.61% and 34.53%, respectively. **Conclusion:** Volatile components from infantile diarrhea gel ointments had promotion role of drug penetration.

[Key words] infantile diarrhea gel ointments; percutaneous absorption enhancer; evodiamine; retaecarpine; total cumulative permeation; cumulative transmittance

[收稿日期] 20130709(006)

[第一作者] 秦海军, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药研究, Tel: 15375457851, E-mail: ahqinhaijun@126.com

[通讯作者] *张毅, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药新药研究, Tel: 13339299722, E-mail: yanzhang0312@126.com

小儿腹泻凝胶膏为民间治疗小儿腹泻的有效验方,由吴茱萸、肉桂、苍术等 11 味中药组成,具有健脾温中、散寒止泻的功效,临床用于治疗小儿腹泻(寒湿证)所致大便每日数次或数十次,色较淡,可伴有少量黏液,无臭气,精神不振,不渴或渴不欲饮,腹满,舌苔白腻,脉濡。原方采用药材粉末直接敷于脐部的服药方式,存在使用不方便等问题,故拟制成供脐部给药的外用凝胶膏剂。吴茱萸为方中君药,主要化学成分包括生物碱类、苦味素类、挥发油类等^[1],具有明显的镇痛、抗炎、止泻及降血压等药理作用^[2]。本实验以吴茱萸碱和吴茱萸次碱的累积渗透总量、累积透过率为评价指标,采用单因素试验考察透皮吸收剂对小儿腹泻凝胶膏体外透皮吸收能力的影响,为小儿腹泻凝胶膏的临床开发提供实验依据。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), YB-P6 型智能透皮实验仪(天津药典标准仪器厂), AR1140 型电子天平(美国奥豪斯公司)。吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110802-200606, 110801-201006), 小儿腹泻凝胶膏(自制), 聚丙烯酸钠(国药集团化学试剂有限公司), 明胶(天津博迪化工股份有限公司), 羧甲基纤维素钠(安徽山河药用辅料有限公司), 氮酮(上海士锋生物科技有限公司), 丙二醇(天津可帮化工), 油酸(武邑油脂化工有限公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

SPF 级 KM 小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 由安徽省实验动物中心提供, 动物合格证号 No. 0001040。

2 方法与结果

2.1 离体小鼠皮肤的制备和处理^[3] 取小鼠, 于腹部同一位置处涂上 8% 的 Na₂S 溶液, 约 3 min 后, 反复用清水清洗至无 Na₂S 残留, 24 h 后颈椎脱臼处死, 剥取腹部皮肤, 清理残余的皮下组织和脂肪, 用水反复冲洗至净, 用生理盐水冲洗数遍, 置生理盐水中冷藏备用, 1 周内使用。

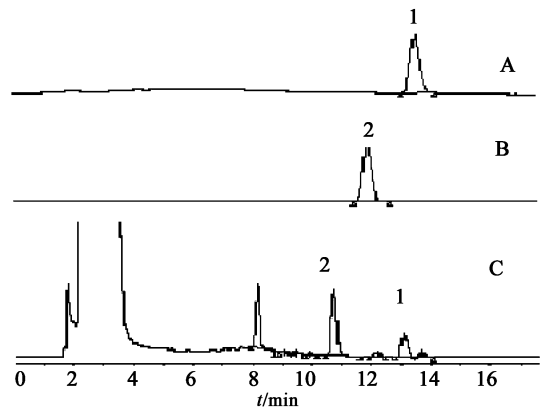
2.2 凝胶膏剂的制备^[4] 取处方量聚丙烯酸钠、明胶、羧甲基纤维素钠、三氯化铝等制成空白基质, 加入药液浸膏和提取的挥发油, 加入设计量的氮酮、丙二醇和油酸, 搅拌均匀, 制成涂料, 进行涂膏, 盖衬, 切片, 即得 3 种不同含量促渗剂的样品及不加透皮吸收剂的空白样品。

2.3 体外透皮吸收试验^[5] 采用药物透皮实验仪配套的扩散池, 上室为供给室, 下室为接受室, 接受

室的一侧连一取样管, 供取样、补充接受液和排除气泡用。接受池体积 16 mL, 扩散面积 1.76 cm²。将制备好的离体皮肤从冰箱中取出, 浸泡于生理盐水中解冻 1 h, 用滤纸吸干表面水分后, 将小儿腹泻凝胶膏贴在皮肤的角质层面, 将处理好的皮肤固定于扩散池的供给室与接受室之间, 角质层面向供给室, 接受池中加入 30% 乙醇生理盐水 16.0 mL 作为接受液, 排净气泡, 磁力搅拌速度约 200 r·min⁻¹, 水浴温度(32 ± 1) °C, 以开启磁力搅拌器时开始计时, 于 24 h 从接受池中取出全部接受液, 样品溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 采用 HPLC 测定吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量, 计算单位面积累积经皮渗透量和累积透过率。

2.4 吴茱萸碱和吴茱萸次碱透皮渗透量的测定^[6-8]

2.4.1 色谱条件 COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(51:49), 检测波长 225 nm, 柱温 25 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL, 见图 1。



A. 对照品; B. 对照品; C. 接受液; 1. 吴茱萸次碱; 2. 吴茱萸碱

图 1 小儿腹泻凝胶膏 HPLC

2.4.2 标准曲线制备 分别精密称取吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品约 2.23, 1.92 mg, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度。分别精密吸取吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品溶液 1, 2 mL 置于不同 10 mL 量瓶中, 量取 0.5, 1, 1.5 mL 置于不同 2 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 精密吸取系列对照品溶液各 10 μL, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得吴茱萸碱、吴茱萸次碱回归方程分别为 $Y = 6.0 \times 10^7 X - 13\ 702$ ($r = 0.999\ 9$), $Y = 9.4 \times 10^7 X + 18\ 236$ ($r = 0.999\ 9$), 线性范围分别为 0.089 ~ 0.89, 0.077 ~ 0.768 μg。

2.4.3 精密度试验 取同一对照品溶液, 按 2.4.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱峰面积的 RSD 分别为 1.01%, 1.12%。

2.4.4 稳定性试验 取同一接受液分别于0,1,2,4,6,8 h进样,按2.4.1项下色谱条件测定,结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱峰面积的RSD分别为0.89%,1.03%,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取样品1.0 g,共6份,按2.3项下方法制备样品溶液,置具塞锥形瓶中,各加入适量吴茱萸碱和吴茱萸次碱对照品,制成供试品溶液,按2.4.1项下色谱条件测定,结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱平均回收率分别为98.90%,99.17%,RSD分别为0.97%,1.02%。

2.5 接受液的选择 接受液应具有接受透过皮肤药物的能力,考虑到不破坏小鼠离体皮肤组织机构及吴茱萸碱和吴茱萸次碱的累积经皮渗透量,分别选择生理盐水、20%乙醇生理盐水和30%乙醇生理盐水为接受液,按2.3项下方法进行体外透皮试验,按2.4.1项下色谱条件测定,计算累积经皮渗透量分别为3.68,6.53,8.42 μg ,累积透过率分别为13.12%,27.78%,34.35%,故选择30%乙醇生理盐水为接收液。

2.6 透皮吸收促进剂种类及用量考察^[9-10] 分别在基质中加入不同质量分数(1%,3%,5%)的氮酮、丙二醇、油酸,分别按2.2项下方法制备凝胶膏剂,依照2.3项下方法进行体外透皮吸收试验,计算累积渗透量和累积透过率,见表1。结果显示含不同量透皮促进剂的样品中吴茱萸(次)碱24 h体外累积渗透量和空白样品相差不大,无显著性差异,原因可能是样品中含有本身具备促进药物透皮吸收作用的挥发油类成分,故确定小儿腹泻凝胶膏中不需加入化学透皮吸收促进剂。

表1 不同促渗剂对小儿腹泻凝胶膏经皮渗透性能的影响($n=3$)

促进剂	含量	累积经皮渗透量/ μg	累积透过率/%
氮酮	空白	8.43 \pm 0.98	34.53
	1%	8.28 \pm 0.75	33.92
	3%	8.49 \pm 0.89	34.78
	5%	8.46 \pm 0.62	34.65
	丙二醇	空白	8.43 \pm 0.98
丙二醇	1%	8.42 \pm 0.81	34.49
	3%	8.45 \pm 0.73	34.61
	5%	8.43 \pm 0.71	34.53
	油酸	空白	8.43 \pm 0.98
油酸	1%	8.22 \pm 0.65	33.67
	3%	8.44 \pm 0.75	34.57
	5%	8.44 \pm 0.81	34.57

3 讨论

在体外经皮渗透试验中,为了模拟人体正常的生理环境,应采用生理盐水作为接受液,但由于处方中所含成分性质不一,故宜加入适量的醇类或表面活性剂以增加药物在接受液中的溶解度。在预试验基础上,综合考虑化学成分溶解度、乙醇的防腐作用及不损害离体皮肤通透性能,最终选择30%乙醇生理盐水作为接受液。

透皮吸收促进剂被广泛用于制备各种剂型,大多数药物透皮吸收促进剂均会表现出不同程度的局部或全身毒性^[11],故宜选择一种合适的透皮吸收促进剂,在增加药效的基础上尽可能地降低毒性。小儿腹泻凝胶膏中囊括苍术、丁香、木香等药材,含有的挥发油类成分本身会起到透皮吸收促进剂的作用,但具体作用机制尚不明确。

[参考文献]

- [1] 战光绪,吴大正,胡之璧. 吴茱萸有效成分的药理研究进展[J]. 上海中医药杂志,2006,40(2):62.
- [2] 杨志欣,孟永海,王秋红,等. 吴茱萸药理作用及其物质基础研究概况[J]. 中华中医药学刊,2011,29(11):2415.
- [3] 林文亮. 黄连凝胶剂体外透皮实验研究[J]. 海峡药学,2012,24(4):25.
- [4] 刘强,揭春,何文,等. 透皮吸收促进剂对甲氧沙林脂质凝胶剂体外透皮作用的影响[J]. 广东药学院学报,2006,22(1):29.
- [5] 高成林,蒋俊,贾晓斌,等. 小儿腹泻脐贴膏的体外释放与透皮行为研究[J]. 中华中医药杂志,2010,25(5):674.
- [6] 何咏梅,田静,邓晶. HPLC法同时测定吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱与吴茱萸内酯的含量[J]. 中国药房,2012,23(31):2944.
- [7] 史万忠,李世芳,刘瑾,等. 复方灵通胶囊稳定性试验中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量变化[J]. 中成药,2011,33(8):1356.
- [8] 黄丹,蔡光先,李顺祥,等. 吴茱萸超微前后吴茱萸碱和吴茱萸次碱的比较研究[J]. 湖南中医杂志,2011,27(3):130.
- [9] 李智勇,罗宵山,孙冬梅,等. 痹痛巴布剂中多元复合透皮吸收促进剂的优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(10):42.
- [10] 高鹏飞,尹爱武. 肉桂油巴布剂的研制及体外经皮渗透性实验[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):25.
- [11] 李昕,王晖. 药物吸收促进剂的毒性研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2005,36(1):51.

[责任编辑 全燕]