

# 痹痛巴布剂中多元复合透皮吸收促进剂的优选

李智勇<sup>1\*</sup>, 罗霄山<sup>2</sup>, 孙冬梅<sup>1</sup>, 王洛临<sup>1</sup>, 罗文汇<sup>1</sup>

(1. 广东省中医研究所, 广州 510095; 2. 广东省第二中医院, 广州 510095)

**[摘要]** 目的: 优选痹痛巴布剂中多元复合透皮促进剂(MCPE)。方法: 采用 Frans 扩散池法进行体外透皮吸收试验, 以单位面积累积释放量为指标, 采用单因素试验考察 1% 冰片(BO), 1.5% 氮酮(AZ), 5% 丙二醇(PG) 及 1% 薄荷脑(MT) 对痹痛巴布剂中桂皮醛体外经皮渗透的影响; 以透皮速率、外观及初黏力的综合评分为指标, 通过  $U_7(7^4)$  均匀设计法优化 MCPE 的配比。结果: 1% MT, 1% BO, 5% PG 及 1.5% AZ 对痹痛巴布剂中桂皮醛的透皮渗透均具有不同程度的促进作用; MCPE 最佳 BO-AZ-PG-MT 配比为 1.33%:1.90%:6.40%:1.30%。结论: 优选的 MCPE 可明显提高痹痛巴布剂的透皮速率常数, 同时对其外观质量及初黏力的影响较小。

**[关键词]** 痹痛巴布剂; 经皮给药; 多元复合透皮吸收促进剂; 均匀设计

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0042-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013100042

## Optimization of Multiple Composite Penetration Enhancers for Bitong Cataplast

LI Zhi-yong<sup>1\*</sup>, LUO Xiao-shan<sup>2</sup>, SUN Dong-mei<sup>1</sup>, WANG Luo-lin<sup>1</sup>, LUO Wen-hui<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510095, China;  
2. Guangdong Second Provincial TCM Hospital, Guangzhou 510095, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize multiple composite penetration enhancers (MCPE) of Bitong cataplast. **Method:** *In vitro* percutaneous absorption test was used by Frans diffusion cell method, with cumulative release per unit area as index, effects of 1% borneol (BO), 1.5% azone (AZ), 5% propylene glycol (PG) and 1% menthol (MT) on *in vitro* percutaneous penetration of cinnamic aldehyde in Bitong cataplast were investigated by single factor test; With composite score of permeation rate, appearance and initial adhesion as index,  $U_7(7^4)$  uniform design was used to optimize the prescription of MCPE. **Result:** 1% BO, 1.5% AZ, 5% PG and 1% MT had different degrees role in promoting for transdermal penetration of cinnamic aldehyde in Bitong cataplast; Optimum ratio of MCPE was BO-AZ-PG-MT = 1.33%:1.90%:6.40%:1.30%. **Conclusion:** This optimized MCPE could significantly improve transdermal rate constant of Bitong cataplast, while effects on appearance and initial adhesion was small.

**[Key words]** Bitong cataplast; transdermal drug delivery; multiple composite penetration enhancers; uniform design

痹痛膏由熟附子、制川乌、制草乌、细辛、桂枝、透骨草、威灵仙、黑老虎、两面针等组成, 具有散寒除

湿、驱风剔痹、通络止痛等功效, 是广东省第二中医院骨伤科基于骨筋肉并重特色疗法研制的一种贴敷治疗膝关节退行性病的外用医院制剂, 临床应用近 10 余载, 疗效显著。但其存在稳定性差、易过敏、污染衣物、使用不便等缺点, 因此, 本研究拟将其研制成痹痛巴布剂, 以提高制剂质量和方便患者用药。经皮给药制剂是目前药物制剂研究的热点之一。但

**[收稿日期]** 20121210(004)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2010B030700022)

**[通讯作者]** \* 李智勇, 博士, 副主任中药师, 从事中药制剂和质量标准研究, Tel: 020-83501292, E-mail: aaalzy@163.com

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性作用,故往往通过加入经皮促渗剂(PE)来克服这种屏障作用,从而改善药物的经皮通透性<sup>[1-2]</sup>。本实验选择最常用的冰片(BO)、氮酮(AZ)、丙二醇(PG)、薄荷脑(MT)等PE为研究对象,在单因素试验基础上,结合各PE的化学性质和特点,采用均匀设计法优选适合痹痛巴布剂的MCPE,为痹痛巴布剂的进一步开发和中药复方经皮给药制剂中PE的优选提供实验依据。

## 1 材料

1200系列高效液相色谱仪(美国Agilent公司),extend C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 美国Agilent公司),XS205DU型电子分析天平(瑞士METTLER Toledo),BT-S-1型小型试验巴布剂膏涂布机(温市皓丰机械有限公司),TK-12B型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),BBV-T型初黏力测试仪(济南格瑞特测试仪器有限公司)。

冰片(云南三木集团有限公司思茅香料厂),氮酮(天津市福晨化学试剂厂),丙二醇(天津市大茂化学试剂厂),薄荷脑(药用级,上海新嘉香料有限公司),生理盐水(湖南科伦制药有限公司),含不同PE的痹痛巴布剂(自制),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF级NIH小鼠,雌雄均用,由广东省医学实验动物中心提供,动物许可证号SCXK(粤)2008-0002。

## 2 方法与结果

**2.1 不同PE痹痛巴布剂的制备** 取聚丙烯酸钠、卡波姆适量,加甘油搅拌混匀作为A相;聚乙烯吡咯烷酮(PVP-k30)加水溶解后,加入于90℃水浴条件下充分溶解的聚乙烯醇(PVA)水溶液中,混合均匀得B相,再加入明胶,搅拌使明胶充分溶胀后,加入失水山梨酯80,充分混匀,将A缓缓加入,搅拌混匀得C相;甘羟铝与甘油混合后,加入酒石酸溶液、姜油及适当PE,混匀,分次少量加入药粉(过100目筛),搅拌混匀后得D相;CMC-Na加水使充分溶解,在90℃水浴保温下,加至C相中,混匀,加入硅藻土,搅拌均匀,再将D相分次少量加入,混匀,涂布,裁剪,干燥,即得。

**2.2 外观评价评分标准<sup>[3]</sup>。**

**2.2.1 基质均匀性** 制备的基质均匀、无颗粒状胶团,无杂斑(8~10分);杂斑略大,不多或较多,但体积小(5~7分);色泽不均匀,杂斑略大,且数量多或较多(1~4分)。

**2.2.2 表面光泽度** 反复掀开,表面仍然平滑,无凹洞(10分);表面光滑,但有细小凹洞(7~9分);表面凹洞较小,但较多或略大(4~6分);掀开后,部分或全部膏面无法回复平滑(1~3分)。

**2.2.3 气泡状态** 气泡小,数量少(8~10分);气泡小,零星分布四周(5~7分);气泡略大,分布较多(3~4分);气泡较大,分布较多(2分);气泡大,分布密集,数量多(1分)。

将基质均匀性、表面光泽度、气泡状态综合得分按权重求和,以测得的最大值为100分,按[(测得值/最大值)×100]计算得分。

**2.3 初黏力的测定<sup>[4]</sup>** 按《中国药典》2010年版贴膏剂黏附力测定法(附录XII E第一法)测定。

**2.4 桂皮醛的含量测定**

**2.4.1 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-水(32:68),检测波长290 nm,流速1 mL·min<sup>-1</sup>。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 取桂皮醛对照品适量,精密称定,加甲醇制成15.656 mg·L<sup>-1</sup>的对照品储备液。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 取各试验的接受液,滤过,取续滤液,即得。

**2.4.4 标准曲线的制备** 精密量取桂皮醛对照品储备液0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL,分别置5 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制成系列对照品溶液。精密吸取上述溶液各10 μL,注入液相色谱仪,进行测定,以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 10.191X - 0.013$  ( $r = 0.9999$ ),表明桂皮醛在1.5656~15.656 mg·L<sup>-1</sup>呈良好线性关系。

**2.4.5 精密度试验** 精密吸取桂皮醛对照品储备液10 μL,注入液相色谱仪,依法测定,连续进样5次,测定峰面积。结果峰面积RSD 0.08%,表明仪器精密度良好。

**2.4.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于0, 2, 6, 12, 18, 24 h各进样10 μL,结果桂皮醛峰面积的RSD 0.23%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

**2.5 体外经皮渗透试验<sup>[5-7]</sup>**

**2.5.1 动物离体皮肤的制备** 取NIH小鼠,用电动剃毛刀除去腹部的体毛,用0.8% Na<sub>2</sub>S溶液涂布剃毛皮肤,1 min后清水洗净,饲养24 h,处死,剥离剃毛皮肤,小心剔除皮下组织和脂肪等黏连物质,用无菌生理盐水反复冲洗至净,置于无菌生理盐水中,

密封、置低温冰箱中保存。试验前自然恢复至室温，并检查鼠皮的完整性。

**2.5.2 体外渗透试验** 采用 Franz 扩散池，释药面积 1.971 cm<sup>2</sup>，接收室体积 18.54 mL。从冰箱中取出动物离体皮肤，用滤纸小心吸干表面水分，将其平放在已经放入磁搅拌子的接收池上端，角质层面向上，再将痹痛巴布剂紧贴于皮肤角质层上，释放池用铁夹固定于接收池上，通过取样管将 50% 乙醇-生理盐水溶液注入接收池，注意确保皮肤与接收液间无气泡存在。磁力搅拌速度 200 r·min<sup>-1</sup>，水浴恒温至 (32 ± 0.5) °C，分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h 抽取接收液 5.0 mL，同时补加等体积 50% 乙醇-生理盐水。取各接收液，滤过，精密吸取续滤液 10 μL，注入液相色谱仪，测定，按以下公式计算单位面积累积释放量 (Q<sub>n</sub>) 和透皮速率 (J)。

$$Q_n = (VC_n + V_0 \sum C_i) / A \dots \dots (i = 1 \dots n-1);$$

$$J = \frac{V}{3600A} \times \frac{dC_n}{dt}$$

式中 Q<sub>n</sub> 为 t 时间药物的单位面积累积透过量，A 为渗透面积，C<sub>n</sub> 为 t 时间质量浓度测量值，C<sub>i</sub> 为 t 时间以前质量浓度测量值，V 为接收液总体积，V<sub>0</sub> 为每次取样体积，J 为透皮速率 (以 Q<sub>n</sub> 对 t 作回归得方程，此方程斜率即为透皮速率)。

运用 SPSS 15.0 进行统计 (α = 0.05)。采用重复测定方差分析，对多组间不同时间点痹痛巴布剂中桂皮醛的体外透皮渗透量总体均值进行比较，采用 SNK 法进行比较多组间总体均值。不同试验组中所有时间点的累积渗透量以  $\bar{x} \pm s$  表示。并运用 Microsoft Excel XP 进行线性回归分析和绘制统计图。

**2.6 不同 PE 对痹痛巴布剂中桂皮醛体外经皮渗透的影响**<sup>[5]</sup> 取分别含有 1% 的 MT, 1% 的 BO, 5% 的 PG, 1.5% 的 AZ 和不含任何 PE 的痹痛巴布剂，依 2.5 项下方法进行体外透皮试验，计算 Q<sub>n</sub> 和 J，绘制渗透曲线。结果见图 1 和表 1。结果表明 1% MT, 1% BO, 5% PG 及 1.5% AZ 对痹痛巴布剂中桂皮醛的透皮渗透均具有不同程度的促进作用。

**2.7 均匀设计法优化痹痛巴布剂中 MCPE**<sup>[5,8-9]</sup>

在单因素试验基础上，选取 BO, AZ, PG, MT 质量分数为考察因素，以巴布剂的外观、初黏力和 J 的综合评分为考察指标，采用均匀设计 U<sub>7</sub> (7<sup>4</sup>) 表进行 MCPE 优选，将四因素分别安排在 U<sub>7</sub> (7<sup>6</sup>) 表的 1, 2, 3, 6 列<sup>[10]</sup>，分别制成含有不同 MCPE 的痹痛巴布剂。因素水平见表 2，试验安排及结果见表 3。

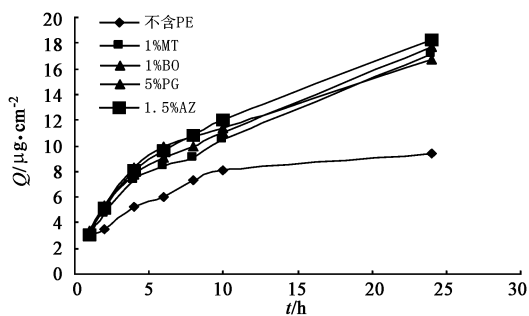


图 1 不同 PE 制备的痹痛巴布剂 Q<sub>n</sub>-t 渗透曲线

表 1 不同 PE 对痹痛巴布剂中桂皮醛体外透皮渗透参数

透皮促渗剂	释药方程	r	J /μg· cm <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup>	Q <sub>24</sub> /μg· cm <sup>-2</sup>
不含促渗剂	Y = 0.571 0X + 2.566 7	0.992 2	0.571 0	9.42
1% 薄荷脑	Y = 0.863 9X + 2.849 0	0.959 6	0.863 9	17.21
1% 冰片	Y = 1.045 1X + 3.126 2	0.966 0	1.045 1	16.76
5% 丙二醇	Y = 0.888 1X + 3.232 8	0.953 1	0.888 1	17.76
1.5% 氮酮	Y = 1.043 7X + 2.877 2	0.963 4	1.043 7	18.21

表 2 痹痛巴布剂中 MCPE 配比优选均匀设计因素水平 %

水平	X <sub>1</sub> 冰片	X <sub>2</sub> 氮酮	X <sub>3</sub> 丙二醇	X <sub>4</sub> 薄荷脑
1	1.8	0.0	6.5	0.7
2	1.6	0.5	6.0	0.8
3	1.4	1.0	5.5	0.9
4	1.2	1.5	5.0	1.0
5	1.0	2.0	4.5	1.1
6	0.8	2.5	4.0	1.2
7	0.6	3.0	3.5	1.3

表 3 痹痛巴布剂中 MCPE 配比优选均匀设计安排 分

No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	外观评价 (Y <sub>1</sub> )	初黏力 (钢球号 数, Y <sub>2</sub> )	J (Y <sub>3</sub> )	综合评分
1	1.8	0.5	5.5	1.2	71.67	21	3.343	95.84
2	1.6	1.5	4.0	1.1	63.33	21	2.190	87.57
3	1.4	2.5	6.0	1.0	65.00	18	2.819	82.79
4	1.2	0.0	4.5	0.9	77.33	17	3.731	87.90
5	1.0	1.0	6.5	0.8	80.00	19	3.101	90.91
6	0.8	2.0	5.0	0.7	75.00	20	2.192	87.64
7	0.6	3.0	3.5	1.3	60.00	20	3.149	89.02

注:外观评价评分 = Y<sub>1x</sub>/MAX(Y<sub>1</sub>) × 0.2 × 100;初黏力评分 = Y<sub>2x</sub>/MAX(Y<sub>2</sub>) × 0.2 × 100;透皮速率常数评分 = Y<sub>3x</sub>/MAX(Y<sub>3</sub>) × 0.6 × 100;综合评分 = 外观评价评分 + 初黏力评分 + 透皮速率常数评分。

运用 DPS 6.55 软件程序对试验结果进行二次多项式逐步回归分析,得综合评分回归方程  $Y = 147.41 + 2.79X_3 - 151.70X_4 - 1.24X_2^2 + 86.92X_4^2 - 1.47X_3X_4$ ,调整后  $r = 0.9999$ ,  $S = 0.0456$ ,  $F = 9036.690$ 。上述方程经  $T$  检验,具有显著意义 ( $P < 0.05$ ),方程成立。故确定最优的 MCPE 的 BO-AZ-PG-MT 配比为 1.33% : 1.90% : 6.40% : 1.30%。

**2.8 验证试验** 按优选的 MCPE 配比制备 3 批痹痛巴布剂,结果外观评价分别为 84.33, 81.67, 86.33 分;初黏力分别为 19, 19, 20 分;  $Q_{24}$  分别为  $(23.14 \pm 3.65)$ ,  $(24.06 \pm 2.83)$ ,  $(22.83 \pm 3.13)$   $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;  $J$  分别为 3.874, 3.910, 3.816  $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。表明优选的 MCPE 对痹痛巴布剂的外观质量、初黏力的影响均较小,而对透皮速率常数有明显提高,说明优选的 MCPE 性能稳定可靠。

### 3 讨论

目前常用的 PE 主要包括水、亚矾类、吡咯烷酮类、脂肪酸及其酯类、氮酮类、表面活性剂、尿素、多醇类、挥发油剂萜类等<sup>[11-12]</sup>。在实际生产中,往往需要选择适宜的 PE 组合成复合透皮促渗系统。研究发现,由亲水性分子和亲油性分子共同组成的二元、三元甚至多元复合透皮吸收促渗系统,既能减少 PE 的用量,又可使主药发挥最佳效能,取得采用单一 PE 无法达到的效果<sup>[13]</sup>,目前 MCPE 研究已成为中药经皮给药制剂需要克服的关键技术之一<sup>[14]</sup>。

采用 Franz 扩散池进行体外透皮吸收试验时,分别以生理盐水,30% 乙醇-生理盐水溶液及 50% 乙醇-生理盐水溶液为接收介质,考察痹痛巴布剂中桂皮醛经过小鼠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 均未检测到桂皮醛,说明生理盐水不宜作为痹痛巴布剂中桂皮醛的透皮吸收试验接受介质。而 50% 乙醇-生理盐水溶液与 30% 乙醇-生理盐水溶液相比,桂皮醛在不同接收介质中体外透皮渗透量均有显著性增加(均有  $P < 0.01$ )。因此本实验选择 50% 乙醇-生理盐水溶液为接受介质。同时对搅拌速度和水浴稳定进行了考察,结果发现磁力

搅拌速度  $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,水浴恒温至  $(32 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$  即可满足要求。

### [参考文献]

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 刘淑芝,费虹,汤亚池,等.中药巴布剂制备工艺的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(3):9.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:附录74.
- [5] 李智勇.中药复方经皮给药制剂—痹痛巴布剂的研制[D].广州:广州中医药大学,2010.
- [6] 张超.氮酮对骨平巴布膏中葛根素体外透皮吸收的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):1.
- [7] 杜茂波,吴志成,刘淑芝,等.冠心凝胶膏剂的体外释放和透皮吸收评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):43.
- [8] 张瑞涛,王晖,陈丽.均匀设计法筛选盐酸川芎嗪促透剂组方的最佳配比[J].中草药,2007,38(1):50.
- [9] 梁旭霞,黄小平,陈兴兴,等.均匀设计法筛选蟾酥贴剂的透皮吸收促进剂[J].广东药学院学报,2008,24(3):211.
- [10] 曾昭钧.均匀设计及其应用[M].北京:中国医药科技出版社,2005:23.
- [11] 高鹏飞.经皮渗透促进剂的研究[J].广州化工,2010,38(2):42.
- [12] 赵桂福,李雁.中药透皮吸收促进剂的研究进展[J].上海中医药杂志,2009,43(9):82.
- [13] Riviere J E, Brooks J D. Predicting skin permeability from complex chemical mixtures: dependency of quantitative structure permeation relationships on biology of skin model used[J]. Toxicol Sci,2011,119(1):224.
- [14] 邹玉繁,张健泓,汪小根.均匀设计法优选广藿香酮巴布剂基质和透皮促进剂[J].中药新药与临床药理,2011,22(3):342.

[责任编辑 全燕]