

丹黄凝胶体外释放和经皮渗透特性考察

程建明¹, 陈新民¹, 彭稳稳¹, 李俊松^{1*}, 李文^{2*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 江苏省南京市中医院, 南京 210001)

[摘要] **目的:** 研究丹黄凝胶体外释药特性和体外经皮渗透性。**方法:** 采用改良 Franz 扩散池, 以大黄酚、小檗碱为评价指标, 运用动力学模型描述指标成分在体外的释药规律和经皮渗透规律。**结果:** 大黄酚以零级动力释放模型拟合优度最好, 小檗碱以 Ritger-Peppas 模型拟合优度最好; 大黄酚和小檗碱在体外皮肤均以一级动力学渗透吸收; 大黄酚、小檗碱体外释药特性与经皮渗透性的相关方程分别为 $Y = 0.4687X + 4.9722$ ($r = 0.9664$), $Y = 0.6669X + 2.4874$ ($r = 0.9740$), 体外释放速率均 > 体外经皮速率。**结论:** 大黄酚、小檗碱体外释药特性与经皮渗透性存在较好线性相关性。

[关键词] 丹黄凝胶; 体外释放; 经皮渗透; 大黄酚; 小檗碱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0024-03

Investigation of *in vitro* Release and Transdermal Permeability Characteristics of Danhuang Gel

CHENG Jian-ming¹, CHEN Xin-min¹, PENG Wen-wen¹, LI Jun-song^{1*}, LI Wen^{2*}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001, China)

[Abstract] **Objective:** To study on characteristics of *in vitro* release and transdermal penetration of Danhuang gel. **Method:** Modified Franz diffusion cell was used, with berberine and chrysophanol as indexes, *in vitro* drug release and percutaneous penetration laws of index components were described by kinetic model. **Result:** Release of chrysophanol could be fitted best by zero-power kinetics model, but berberine by Ritger-Peppas model; Penetration of chrysophanol and berberine *in vitro* skin were best by fitting for one-power kinetics model; Relevant linear equation of *in vitro* release and transdermal penetration for chrysophanol could be described as $Y = 0.4687X + 4.9722$ ($r = 0.9664$), berberine as $Y = 0.6669X + 2.4874$ ($r = 0.9740$), and *in vitro* release rate was higher than *in vitro* transdermal rate of two index components in Danhuang gel. **Conclusion:** *In vitro* release and transdermal penetration of berberine and chrysophanol had a good linear correlation.

[Key words] Danhuang gel; *in vitro* release; transdermal permeability; chrysophanol; berberine

经皮渗透速率与释放度是评价经皮给药制剂生物利用度的重要方法及指标, 外用制剂的释药性质影响着药物经皮渗透的速率。丹黄凝胶由大黄、黄连、黄芩、丹参等 8 味中药组成, 为南京市中医院协

定处方, 用于治疗痤疮。本试验以其有效成分大黄酚、小檗碱为指标性成分, 探讨丹黄凝胶体外释药特性和经皮渗透性。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司), Kromasil C₁₈ 色谱柱(江苏汉邦科技有限公司), 改良 Franz 扩散池(自制), 透析袋 36DM(上海生科生物科技有限公司)。

丹黄凝胶(南京市中医院制剂室, 批号 20091106), 大黄酚、盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 0796-20005, 110713-200208), 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水, 其他试

[收稿日期] 20120502(003)

[基金项目] 江苏省中医药局科技项目(LB09081)

[第一作者] 程建明, 博士, 副研究员, 从事中药新产品开发, Tel: 025-86798011, E-mail: cjm7895@163.com

[通讯作者] * 李俊松, 博士, 研究员, Tel: 025-86798281, E-mail: lijunsong1964@163.com; * 李文, 本科, 主任中药师, Tel: 025-52275118, E-mail: njzyliwen@sohu.com

剂均为分析纯,SD大鼠[200~220 g,雌性,南京中医药大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(沪)2007-0005]。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件^[1] Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相(A)乙腈-(B)0.5%三乙胺溶液(磷酸调节pH 3.5)梯度洗脱(0~5 min,75%~67% B;5~12 min,67%~60% B;12~18 min,60%~20% B;18~28 min,20%~12% B;28%~32 min,12%~75% B),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量20 μL,检测波长254 nm(大黄酚),265 nm(小檗碱),参比波长360 nm。

2.1.2 标准曲线的制备 分别精密称取大黄酚和盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇溶解配制成质量浓度分别为88.4,115 mg·L⁻¹的混合对照品贮备液。精密吸取混合对照品贮备液适量,用含30%丙二醇和20%乙醇的生理盐水溶液按倍数关系稀释,配制质量浓度分别为44.20,22.10,5.525,1.381,0.345 mg·L⁻¹和57.50,28.75,7.188,1.797,0.449 mg·L⁻¹的大黄酚和盐酸小檗碱混合对照品溶液,过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液20 μL,按色谱条件进样测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得大黄酚的标准曲线方程 $Y = 39.537X - 12.059$ ($r = 0.9998$);盐酸小檗碱标准曲线方程 $Y = 51.014X - 30.005$ ($r = 0.9999$)。

2.1.3 确证试验 按设定的色谱条件进样,结果大黄酚和小檗碱可与相邻组分峰达到较好分离,分离度均>1.5;阴性凝胶样品渗透液色谱图在大黄酚和小檗碱吸收峰处无吸收峰干扰。大黄酚和小檗碱的平均回收率分别为100.57%,100.03%,RSD分别为1.58%,2.09%;精密度试验RSD分别为1.09%,0.56%。说明该含量测定方法可行。

2.2 体外经皮试验^[2] 用刀片刮去大鼠腹部毛,处死,剥离腹部皮肤,去除皮下脂肪及黏液,用生理盐水冲洗干净并浸泡,冷藏备用。预处理过的鼠皮,固定于改良Franz扩散池上,池口面积为3.14 cm²,取丹黄凝胶1.0 g,均匀涂布于鼠皮,池内充入扩散介质(30%丙二醇和20%乙醇的生理盐水溶液), (37±1)℃恒温水浴,不断搅拌(300 r·min⁻¹),分别于1,2,4,6,8,12,24 h吸取接受液5 mL,同时补入等体积的接受液。接受液用0.45 μm微孔滤膜滤过,进样量20 μL,按上述的分析方法测定。取丹黄凝胶6份,每份1.0 g,进行体外经皮试验,计算凝

胶中大黄酚累积渗透率分别为7.38%,9.24%,11.35%,14.50%,21.18%,30.23%,40.35%;小檗碱累积渗透率依次为4.88%,8.42%,14.81%,21.26%,33.61%,46.83%,58.85%。

分别采用零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi模型对该批次凝胶样品中大黄酚和小檗碱的体外经皮数据进行拟合,结果见表1。

表1 丹黄凝胶中大黄酚及小檗碱的皮肤渗透模型拟合方程

成分	模型	拟合方程	r
大黄酚	零级动力	$M = 1.455t + 6.077$	0.9989
	一级动力	$\ln(100 - M) = -0.019t + 4.556$	0.9990
	Higuchi	$M = 6.8831t^{1/2} - 1.399$	0.8115
小檗碱	零级动力	$M = 2.389t + 5.446$	0.9882
	一级动力	$\ln(100 - M) = -0.037t + 4.586$	0.9989
	Higuchi	$M = 11.730t^{1/2} - 8.114$	0.8333

由表1结果可知,本批丹黄凝胶中大黄酚和小檗碱的体外经皮渗透规律均以一级动力学模型方程拟合优度最高,说明大黄酚和小檗碱在体外皮肤均以一级动力学渗透吸收。

2.3 体外释放试验^[3,4] 将透析膜置于50%乙醇中,水浴加热煮沸1 h,用10 mmol·L⁻¹NaHCO₃溶液洗涤2次,用1 mmol·L⁻¹EDTA溶液洗涤2次,加水冲洗2次,在蒸馏水煮沸30 min。取出,置4℃蒸馏水中保存。取处理好的透析膜,固定在经皮仪Franz扩散池上,池口面积3.14 cm²,取丹黄凝胶1.0 g,均匀涂布于透析膜,池内充入扩散介质(30%丙二醇和20%乙醇的生理盐水溶液),置于(37±1)℃恒温水浴中,不断搅拌(300 r·min⁻¹),分别于1,2,4,6,8,12,24 h吸取接受液5 mL,同时补入等体积接受液。用0.45 μm微孔滤膜滤过,进样量20 μL,按上述分析方法测定。取丹黄凝胶6份,每份1.0 g,进行体外经皮试验,计算各时间点内单位面积的累积释放量Q,绘制累积释放度曲线图(图1,2)。

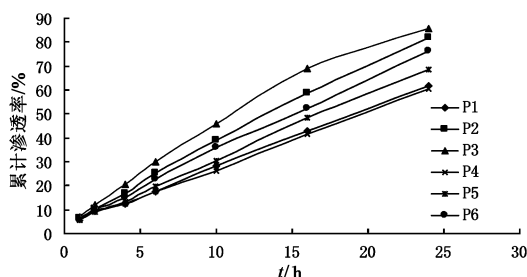


图1 丹黄凝胶中大黄酚的累积释放率

选择零级释放模型、一级释放模型、Higuchi模型、Ritger-Peppas模型对丹黄凝胶中大黄酚和小檗碱的体外释放数据进行拟合,结果见表2。

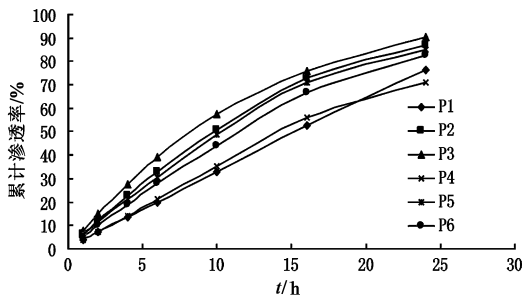


图 2 丹黄凝胶中小檠碱的累积释放率

表 2 丹黄凝胶中大黄酚及小檠碱的释药模型拟合方程

成分	模型	拟合方程	r
大黄酚	零级动力	$Q = 2.899t + 4.218$	0.999 0
	一级动力	$\ln(100 - Q) = -0.052t + 4.643$	0.992 6
	Higuchi	$Q = 17.108t^{1/2} - 15.946$	0.987 5
	Ritger-Peppas	$\ln Q = 0.780 \ln t + 1.750$	0.996 9
小檠碱	零级动力	$Q = 3.404t + 6.042$	0.989 0
	一级动力	$\ln(100 - Q) = -0.072t + 4.667$	0.997 5
	Higuchi	$Q = 20.477t^{1/2} - 18.678$	0.996 3
	Ritger-Peppas	$\ln Q = 0.873 \ln t + 1.739$	0.998 1

由表 2 可知,大黄酚的释放规律用零级释放动力学模型拟合效果最好,小檠碱用 Ritger-Peppas 动力学模型拟合效果最好。

2.4 体外释药特性与经皮渗透性相关性 基于体外释放与经皮比较研究结果,以累积渗透率为纵坐标,累积释放率为横坐标,建立相关回归方程 $Y = 0.4687X + 4.9722$ ($r = 0.9664$);小檠碱回归方程 $Y = 0.6669X + 2.4874$ ($r = 0.9740$)。两个指标成分的体外释放数据与经皮数据的相关系数均 > 0.95 ,表明丹黄凝胶剂的体外释药特性与经皮渗透性的线性相关性良好。

3 讨论

凝胶剂体外释放度的测定,目前较多研究借鉴口服制剂的释放度测定方法,使用溶出仪,采用透析袋扩散方法,其存在释放面积难以准确控制、易出现“反渗”现象^[5]、准确性难以保证等问题。本文采用改良 Franz 扩散池进行研究^[3-4],既可最大程度的模拟凝胶在体使用时的状态,同时能满足漏槽条件,释放面积固定,得到的数据更准确、更具重复性。

以含 30% 丙二醇的生理盐水溶液(A)、含 40% 乙醇的生理盐水溶液(B)、含 30% 丙二醇和 20% 乙醇的生理盐水溶液(C)及含 30% 丙二醇的生理盐水溶液(D)作为接受液,分别于第 2 h 取样,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液 20 μL 进样,测定含量并计算凝胶中大黄酚和小檠碱在 2 h 内的单位面积透过

量,结果大黄酚的渗透量依次为 $C > B > D > A$,小檠碱的渗透量依次为 $C > D > B > A$,2 个指标成分均以 C 接受液中渗透量最大;依此接受液作为释放介质,释放效果良好。故选择含有 30% 丙二醇和 20% 乙醇的生理盐水溶液作为经皮渗透试验的接受液与释放试验的释放介质。

采用相似因子分析方法^[6-7],对同 1 批丹黄凝胶剂中大黄酚和小檠碱在各取样时间点的平均累积渗透率及其累积释放度分别进行相似因子评价,结果表明,相似因子值均 > 95 ,表明本批凝胶小试样品中大黄酚和小檠碱的体外经皮与释放规律均无差异。

本试验对同批样品进行体外释药特性研究和体外经皮渗透性研究,运用多种动力学模型方程来描述指标成分在体外的释药规律和经皮渗透规律。对丹黄凝胶剂中大黄酚和小檠碱的体外释放和经皮进行比较分析,发现体外释放速率均 $>$ 体外经皮速率,表明皮肤等生理因素是丹黄凝胶剂经皮吸收的主要屏障。为进一步探讨体外释放速率与经皮速率间的内在联系;对该批丹黄凝胶剂中大黄酚和小檠碱的体外释放与经皮数据进行相关性考察,建立两者的相关回归方程,结果表明体外释药特性与经皮渗透性有着较好的线性相关性。

[参考文献]

- [1] 陈新民,李文,李俊松,等. 均匀设计优选丹黄凝胶方的提取工艺[J]. 药学服务与研究, 2011, 11(1):401.
- [2] 杨跃辉,丁平田,何溥汉. 氢定乳膏制备工艺的优化及体外释放度考察[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(10):790.
- [3] AAPS/FDA Workshop: Assessment of value and applications of in vitro testing of topical dermatological drug products[Z]. Arlington. VA, 1997.
- [4] 沈岚,朱卫丰,蔡贞贞,等. 不同基质丹参凝胶剂的释放比较实验研究[J]. 中成药, 2000, 22(2):118.
- [5] 朱盛山,袁旭江,李苑新. 复方丹参缓释片中水溶性成分体外释放度研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1):38.
- [6] 孟祥磊,王洪光,刘会芹. 离心法制备卡托普利凝胶骨架丸及其体外释放度的研究[J]. 华西药理学杂志, 2010, 20(1):15.
- [7] 秦剑,刘淑芝,张强,等. 左金微乳凝胶与水凝胶体外释放和经皮渗透特性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12):41.
- [8] 赵文昌,宋丽军,邓虹珠. 苦豆子总碱瓜尔胶凝胶骨架片体外释放行为的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 16(6):1.

[责任编辑 全燕]