

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110221. 1144. 008

伤科喷雾剂中土的宁的体外透皮吸收

吕佳,袁子民*,张振秋,叶焕

(辽宁中医药大学药学院,辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:研究伤科喷雾剂中土的宁的透皮吸收特性。方法:采用 SD 大鼠腹部离体皮肤为渗透屏障,体外透皮吸收,采用 Franz 扩散池进行体外扩散试验,HPLC 检测定土的宁的含量。结果:伤科喷雾剂中土的宁可以透过大鼠腹部皮肤,稳态渗透速率 $J=0.0153 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$,时滞 $T_{\text{lag}}=0.235 \text{ h}$ 。结论:本实验可为伤科喷雾剂的制备工艺研究提供科学的依据。

[关键词] 伤科喷雾剂;土的宁;透皮吸收

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0015-03

Study of Percutaneous Absorption of Strychnine in Shangke Sprays *in vitro*

LU Jia, YUAN Zi-min*, ZHANG Zhen-qiu, YE Huan

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To study the percutaneous absorption of strychnine in Shangke spray *in vitro*. **Method:** The transdermal permeation tests of strychnine in Shangke sprays were performed through excised rats skin in Franz diffusion cells. Strychnine concentration was determined by HPLC. **Result:** Strychnine can penetrate through rat skin. The permeation rate and the lag time were $0.0153 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ and 0.235 h respectively. **Conclusion:** The research provides experimental data for the design of Shangke sprays.

[Key words] Shangke sprays; strychnine; percutaneous absorption

伤科喷雾剂由三七、制马钱子、骨碎补等 10 味中药组成,具有活血化瘀,消肿止痛,续筋接骨之功。用于伤筋动骨,瘀血肿痛,急慢性挫伤、扭伤、关节痛、神经痛、跌打损伤等。

伤科喷雾剂具有不含抛射剂,给药方便,剂量小,便于携带等特点,在局部治疗方面疗效显著。方中制马钱子为君药,具有通络止痛,消结散肿之功,其中含有土的宁等生物碱类有效成分,有显著的镇痛、抗炎作用。土的宁既是有效成分,又是毒性成

分,因此本实验通过研究伤科喷雾剂中土的宁的透皮吸收特性,为剂型的选择及制备工艺的设计提供科学的依据。

1 材料

大鼠(大连医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(辽)2008-0002)。

TT-6 透皮吸收仪(天津正通科技有限公司, Franz 池内径 9.0 mm,体积 5 mL,有效扩散面积 0.64 cm^2); Agilent 1100 高效液相色谱仪(Chemstation system 工作站); AE200 电子分析天平(METTLER)。

土的宁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0705-200005);伤科喷雾剂(辽宁中医药大学药物制剂教研室提供,批号 100601)。

2 方法与结果

2.1 土的宁含量测定

2.1.1 色谱条件^[1-2] Diamonsil™(钻石)C₁₈ 色谱柱

[收稿日期] 20101206(009)

[基金项目] 辽宁省教育厅青年基金计划 A 课题(05L257)。

[第一作者] 吕佳,副教授,从事中药制药技术研究与新药研究开发, E-mail: lvjiaemail@163.com, Tel: 0411-87586010。

[通讯作者] *袁子民,讲师,从事药物新剂型研究, E-mail: yuanzimin@163.com, Tel: 0411-87586010

[网络出版时间] 2011-02-21 11:44

(4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.01 mol·L⁻¹庚烷磺酸钠与 0.02 mol·L⁻¹磷酸二氢钾等量混合液(10% 用磷酸调 pH 2.8)(21:79), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温室温, 检测波长 260 nm。

2.1.2 对照品溶液制备及线性范围的考察 精密称取士的宁对照品适量, 用甲醇制成含士的宁 0.045 2 mg·L⁻¹的储备液, 分别精密吸取上述储备液 0.2, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为系列对照品溶液。

分别精密吸取系列对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值(Y)为纵坐标, 对照品质量浓度(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程分别为 $Y = 32.62X - 0.628$ ($r = 0.9995$)。最低定量限为 6 ng (s/N ≥ 3)。结果表明, 士的宁在 0.904 ~ 22.6 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.1.3 阴性干扰试验 取缺制马钱子的其他药材饮片, 按喷雾剂制法制成阴性样品, 按透皮实验方法同法操作, 制成透皮 24 h 阴性液。精密吸取透皮吸收供试品溶液、阴性液、对照品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件测定, 结果阴性液在与士的宁相同保留时间处无色谱峰出现, 阴性液对本品含量测定无干扰。见图 1。

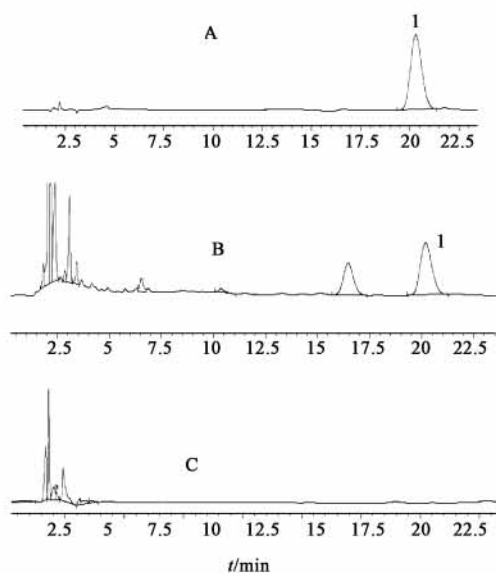


图 1 伤科喷雾剂透皮吸收 HPLC

A. 对照品; B. 透皮吸收供试品; C. 缺马钱子阴性样品; 1. 士的宁

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一透皮吸收供试品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 连续进样 5 次, 分别测定色谱峰峰面积, 结果表明, 精密度良好, 士

的宁 RSD 1.6% ($n = 5$)。

2.1.5 稳定性试验 精密吸取同一透皮吸收供试品溶液, 按 0, 2, 4, 6, 8 h 时间间隔, 分别进样, 测定色谱峰面积, 结果表明, 样品溶液在 8 h 内保持稳定, 士的宁的 RSD 1.8% ($n = 5$)。

2.1.6 方法回收率 取空白透皮吸收样品液, 加入士的宁对照品, 使士的宁质量浓度为 5, 10, 20 mg·L⁻¹, 各 3 份, 按上法测定。求得士的宁平均回收率分别为 97.9%, 97.6%, 98.5%, RSD 分别为 1.2%, 1.1%, 0.93% ($n = 3$)。

2.2 体外透皮试验

2.2.1 离体皮肤的制备 取雌性 SD 大鼠(200 g ± 10 g), 以 200 g·L⁻¹乌拉坦麻醉大鼠后, 用电动剃毛器(model 900, TGC, Japan)剃除鼠毛, 再用剃须刀仔细剃刮大鼠腹部皮肤, 至肉眼见皮肤表面光洁, 断颈处死大鼠, 剥离约 5 cm² 的大鼠全层腹部皮肤, 小心地去除所黏附的皮下脂肪, 用生理盐水漂洗干净, 滤纸吸干水分, 用铝箔平展包好, 置于 -20 °C 冰箱中保存备用, 保存时间不超过 1 周。试验前将皮肤取出, 于生理盐水中解冻, 用滤纸吸干后立即使用。

2.2.2 离体皮肤渗透实验^[3] 取自然解冻的离体鼠皮固定于 Franz 扩散池中间, 使角质层朝向供给池。接通仪器电源, 打开开关, 池内循环水温度(32 ± 0.5) °C, 转速 300 r·min⁻¹; 温度平衡后, 接受池精密加入预热至 32 °C 的 30% 乙醇生理盐水接受液 5 mL, 排除空气, 并放入加转子, 于供给池中精密加入伤科喷雾剂 1.5 mL (含士的宁为 0.32 g·L⁻¹), 平衡 30 min 后, 于 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 间隔时间定时取样 1 mL, 同时补加 1 mL 等温的接受液于接受池中保持原体积。

2.2.3 供试品溶液的制备及测定 将各时间点的透皮接受液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液作为供试品溶液, 分别精密吸取 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按 2.1.1 色谱条件测定含量。

2.2.4 数据处理 根据下列公式计算各时间点的伤痛宁喷雾剂中士的宁累积透过量:

$$Q = \frac{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_i}{A}$$

式中, Q 为单位面积累积透过量 (mg·cm⁻²); A 为有效经皮吸收面积 (0.64 cm²); V 为接受液体积 (5 mL); V_i 为取样体积 (1 mL); C_n 为第 n 次取样测得的接受液中药物的质量浓度 (g·L⁻¹); C_i 为第 i (

$\leq n-1$ 个取样点测得的接受液中药物质量浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); $\sum C_i V_i$ 为取样时带走的药物累积和。以单位面积累积透过量 $Q(\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2})$ 对时间 $t(\text{h})$ 作图进行线性拟合,得透皮曲线,直线部分的斜率即为稳态渗透速率 $J(\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$,直线与 X 轴的交点为时滞 (T_{lag})。

2.2.5 结果

2.2.5.1 累积透过量及 24 h 累积透过率计算结果

根据 HPLC 含量测定结果及累积透过量计算公式,不同时间点伤科喷雾剂中土的宁累积透过量计算结果见表 1。

表 1 土的宁累积透过量 ($n=5$)

t/h	累积透过量/ $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$
2	0.027 22
4	0.046 06
6	0.092 22
8	0.129 6
12	0.177 1
24	0.361 3

经计算,24 h 累积透过率为 48.2%。

2.2.5.2 稳态渗透速率 $J(\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$ 及时滞 (T_{lag}) 将 Q 对 t 进行线性拟合,得土的宁的回归方程为 $Q=0.015\ 3t-0.003\ 6$ ($r=0.998\ 1$)。由方程可知,伤科喷雾剂中土的宁大鼠离体皮肤的稳态渗透速率 $J=0.015\ 3\ \text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, $T_{\text{lag}}=0.235\ \text{h}$ 。透皮吸收曲线见图 4。

3 讨论

3.1 离体皮肤的选择 根据文献报道^[4],经皮通透

实验所用的离体皮肤除人的皮肤以外,常用猴、乳猪、大鼠、小鼠、无毛小鼠的皮肤,但为取材方便,本试验选用大鼠皮肤作为离体皮肤。

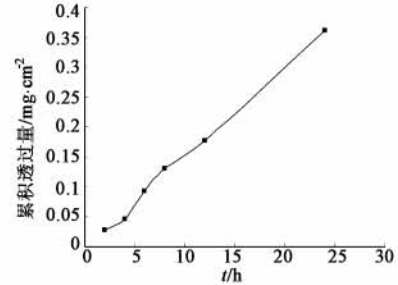


图 4 伤科喷雾剂中土的宁透皮吸收曲线

3.2 透皮接受液的选择 分别用生理盐水、pH 7.4 磷酸盐缓冲液、含 30% 乙醇的生理盐水为接受液,以 24 h 的土的宁渗透量为考察指标。结果表明,以含 30% 乙醇的生理盐水土的宁透过量较大,故以此液为接受液。

[参考文献]

- [1] 许晓峰,谭永恒,王沛坚. RP-HPLC 法测定消痹宁喷雾剂中土的宁和马钱子碱的含量[J]. 中药新药与临床药理,2007,18(3):235.
- [2] 乔丽,王静,袁子民. RP-HPLC 法同时测定伤科接骨片中土的宁和马钱子碱的含量[J]. 中国医药导报,2009,6(31):38.
- [3] 胡巍,陈军,蔡宝昌. 马钱子碱与土的宁体外经皮渗透性质的考察[J]. 中国新药杂志,2008,17(12):1053.
- [4] 罗世英,陈华萍. 透皮吸收常用的几种实验动物[J]. 中国药业,2004,13(4):74.

[责任编辑 仝燕]