

# 促渗剂对疗筋涂膜剂中芍药苷经皮渗透的影响

李得堂<sup>1</sup>, 唐洪梅<sup>2\*</sup>, 丘振文<sup>2</sup>, 张丽娟<sup>1</sup>, 孙亦群<sup>2</sup>, 陈晓晔<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405;  
3. 桂林医学院, 广西 桂林 541002)

[摘要] 目的: 研究促渗剂对疗筋涂膜剂中芍药苷经皮渗透行为的影响。方法: 建立离体经皮渗透试验方法, 并作方法学考察。分别在涂膜剂中加入单一及复合促渗剂 1% Borneol, 3% Borneol, 8% Borneol, 1% Azone, 3% Azone, 5% Azone, 3% 1, 2-Propanediol, 5% 1, 2-Propanediol, 10% 1, 2-Propanediol, 1% Azone+ 8% Borneol, 3% Azone+ 8% Borneol, 5% Azone+ 8% Borneol, 5% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol, 5% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 3% Azone 和 10% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 5% Azone, 在相同条件下进行离体经皮渗透试验, 测定不同时间的药物累积透过量及增渗倍数。结果: 在涂膜剂处方中加入混合促渗剂后, 药物累积透过量 and 增渗倍数明显增加, 并高于相应单用促渗剂, 5% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 3% Azone 促渗剂累积透过量 and 增渗倍数最高。结论: 一定量的促渗剂可使涂膜剂中药物穿透角质层进入真皮层, 混合使用促渗剂促透效果明显高于单一使用。

[关键词] 促渗剂; 疗筋涂膜剂; 芍药苷; 经皮渗透

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0062-05

## Effect of Penetration Enhancers on the Transdermal Penetration of Peoniflorin in the Liaojin Membranes

LI De-tang<sup>1</sup>, TANG Hong-mei<sup>2\*</sup>, QIU Zhen-wen<sup>2</sup>, ZHANG Li-juan<sup>1</sup>, SUN Yi-qun<sup>2</sup>, CHEN Xiao-ye<sup>3</sup>

(1. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China;

3. Guilin Medical School, Guilin 541002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of penetration enhancers on the transdermal penetration of peoniflorin in the Liaojin membranes. **Methods:** We firstly established the experimental method of transdermal penetration, and the methodology study was carried out at the same time. Furthermore, we added 1% Borneol, 3% Borneol, 8% Borneol, 1% Azone, 3% Azone and 5% Azone, 3% 1, 2-Propanediol, 5% 1, 2-Propanediol, 10% 1, 2-Propanediol, 1% Azone+ 8% Borneol, 3% Azone+ 8% Borneol, 5% Azone+ 8% Borneol, 5% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol, 5% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 3% Azone and 10% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 5% Azone into the membranes. The cumulative penetration amounts and anatonosis multiple were determined during the test of transdermal penetration. **Results:** The cumulative penetration amounts and anatonosis multiple released from the membranes increased, and the effect to use mix penetration enhancers was far superior compared with penetration enhancers alone. **Conclusions:** The results indicate that quantitative penetration enhancers can facilitate drug through corneum into dermis, but to use mix penetration enhancers is far superior compared with penetration enhancers alone.

[Key words] penetration enhancers; Liaojin Membranes; peoniflorin; transdermal penetration

[收稿日期] 2008-05-26

[通讯作者] \* 唐洪梅, Tel: (020) 36588708; E-mail: lidetang2002@163.com

疗筋涂膜剂具有活血祛瘀、消肿止痛的功效。主要用于风湿性疾病,传统贴膏使用不方便、用量大、质量标准不完善、药理药效基础不明确,疗筋涂膜剂处方中赤芍为君药,芍药苷是主要祛瘀止痛成分,具有抗血栓形成、抗血小板聚集、止痛作用。笔者以芍药苷为透皮速率考察指标,通过进一步考察疗筋涂膜剂中药物经皮渗透行为,考察加入单一及复合透皮促进剂对制剂中芍药苷体外经皮渗透行为的影响。为了充分反映药物的经皮渗透行为,以拟合度(相关系数)为指标,通过零级、一级及 Higuchi 方程拟合<sup>[1-3]</sup>,为疗筋涂膜剂经皮渗透行为提供实验依据。

### 1 材料

疗筋涂膜剂(Liaojin membreres)处方由赤芍、大黄、黄芩、冰片、两面针、白芷、苏木、薄荷脑组成,试验用药材经本制剂室依据药典鉴定为正品后投料,经过优选的提取工艺制备得到稠膏,对中间体进行质量控制,主要建立君药赤芍和大黄的 HPLC 分析方法,将 PVA-124 处理后,加入蒸馏水,85 °C 水浴溶化,慢慢加入中药稠膏,将乙醇溶解的冰片、薄荷脑加入搅拌均匀,再慢慢滴加丙酮,边加边搅拌,最后加入氮酮、丙二醇和甘油适量,即得,进行成品质量检验合格后使用(批号:20071102);芍药苷对照品供含量测定用(批号:110736-200630,中国药品生物制品检定所);1,2-丙二醇(1,2-Propanediol)天津市福晨化学试剂厂(批号:20061017);聚乙二醇-400

(Polyethylene glycol)中国医药集团上海化学试剂公司(批号:F000214);氮酮(Azone)广州精细化学工业公司广州助剂化工厂(批号:990622);冰片(Borneol)广东康美药业股份有限公司。

裸鼠(SPF级,体重16~20g,广东省医学实验动物中心,动物合格证号:SCXK(粤)2003-0001粤监证字2007A014)。

RJY-6A型药物透皮扩散实验仪,接受池体积为6.5 mL,接受池有效接触面积为2.8 cm<sup>2</sup>(上海黄海药检仪器厂);Agilent-1100 HPLC 色谱仪、Agilent-1100 系列四元梯度泵、Agilent-1100 系列 DAD、UV、FID 等检测器、Agilent-1100 化学工作站(美国 Agilent 公司)电子分析天平(Denver instrument company AA-200)超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 离体经皮渗透试验方法的建立

2.1.1 液相色谱条件 色谱柱:Hypersil ODS-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),大连科学仪器有限公司生产,柱温:34 °C。检测波长:230 nm。流动相:乙腈-水(14:86)。流速:1 mL·min<sup>-1</sup>。进样量5 μL,理论板数(N)以芍药苷计算为8 000以上,保留时间约为7.9 min,分离度大于1.5。在此条件下,对照品、未给药裸鼠皮肤以及给药裸鼠皮肤经上述处理后的 HPLC 图如下,由图可见,空白皮肤渗透液不干扰药物的测定,见图1。

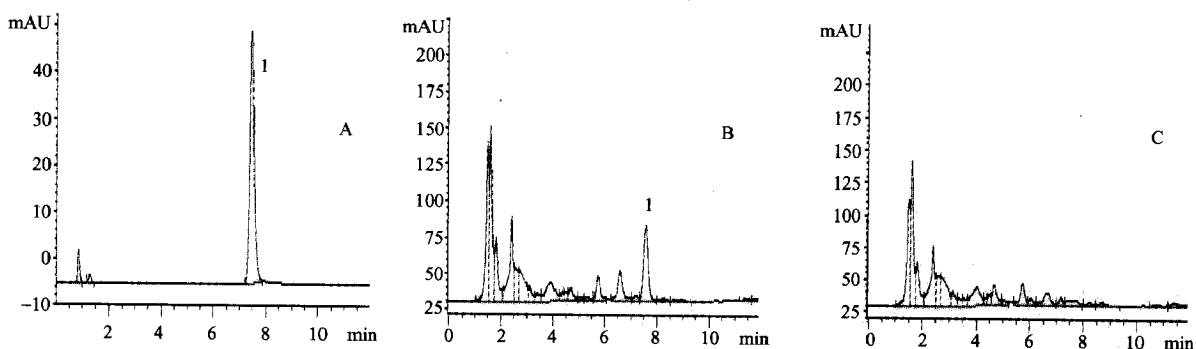


图1 芍药苷在裸鼠皮肤中的 HPLC 图

A. 对照品 B. 皮肤样品 C. 空白皮肤样品 1. 芍药苷

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取五氧化二磷减压干燥的芍药苷对照品 3.53 mg,置 25 mL 的容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,静置 15 min,配成浓度为0.141 2 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品溶液,备用。

2.1.3 线性范围的考察 精密吸取上述对照品溶液(浓度0.141 2 mg·mL<sup>-1</sup>)0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 分别置

5 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,按“2.1.1”项下的色谱条件测定峰面积,以进样浓度(μg·mL<sup>-1</sup>)对峰面积(A)进行线性回归,求得回归方程:Y = 1.3 × 10<sup>3</sup>X + 8.975, r = 0.999 9。表明芍药苷在 14.12~141.2 μg·mL<sup>-1</sup>范围呈良好的线性关系。

**2.1.4 裸鼠离体皮肤的制备** 取体重(16~20)g 健康裸鼠,用生理盐水洗净皮肤表面,处死动物,剥离无损伤皮肤,以手术刀小心刮去皮下组织及脂肪,用生理盐水洗净后,立即使用。

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取上述对照品溶液 5 μL 重复进样 5 次,按上述色谱条件测得芍药苷峰面积积分值 RSD 为 0.77,表明精密度较好。

**2.1.6 稳定性试验** 取 5% 氮酮+ 8% 冰片为渗透促进剂,8 h 渗透后的样品供试液分别于 0, 2, 4, 8, 10, 24, 36 h 按上述色谱条件测定其含量,测得样品中芍药苷峰面积积分值的 RSD 为 1.45%,表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

**2.1.7 加样回收率实验** 分别向已知准确浓度的 8 h 时间点的样品液(各 0.5 mL,共 5 份),中精密加入 0.141 2 mg·mL<sup>-1</sup> 芍药苷对照品溶液 20 μL,涡旋振荡混匀后进样测定峰面积,计算回收率。结果芍药苷的平均加样回收率为 98.43%,RSD 为 0.82%。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=5)

序号	取样量 (μg)	加入量 (μg)	测得值 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 $\bar{x} \pm s$ (%)	RSD (%)
1	2.303 1	2.824 0	5.081 6	98.39		
2	2.303 1	2.824 0	5.077 7	98.25		
3	2.303 1	2.824 0	5.120 3	99.76	98.43 ± 0.81	0.82
4	2.303 1	2.824 0	5.074 6	98.14		
5	2.303 1	2.824 0	5.059 0	97.59		

**2.1.8 接受液筛选<sup>[4-6]</sup>** 采用改良 Franz 装置(接受池体积为 6.5 mL,接受池有效接触面积为 2.8 cm<sup>2</sup>),固定装置,在接受室中加入预温(32 ± 0.5) °C 的生理盐水。离体鼠皮以生理盐水洗净,用滤纸吸干表面水分,用 502 胶固定于扩散池的两个半池之间,角质层面向供给池。供体池、受体池分别加入所需试液。分将精密称取 1.00 g 疗筋涂膜剂涂于皮肤角质层面,然后置于温度(32 ± 0.5) °C 超级恒温水浴中,电磁恒速搅拌,搅拌速度 200 r·min<sup>-1</sup>。分别于 2, 4, 8,

12, 24 h 取接收液 5 mL,同时立即补充同体积预温 32 °C 的生理盐水。接受液蒸干,用无水乙醇溶解并定容至 1 mL,微孔滤膜(0.45 μm) 滤过,弃去初滤液,收集续滤液,按照上述色谱条件进样测定,再按下列公式计算单位面积累积渗透量  $Q(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$ :

$$Q = \frac{C_n \times 6.5 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 1}{A}$$

式中,  $C_n$  为第  $n$  个取样点测得的药物浓度 ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );  $C_i$  为第  $i$  ( $i \leq n-1$ ) 个取样点测得的药物浓度 ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );  $A$  为有效透皮面积 ( $\text{cm}^2$ )。以单位面积累积透过量  $Q$  对  $t^{1/2}$  进行 Higuchi 方程的拟合回归得到在筛选促渗剂过程中衡量促渗效果的参数—增渗倍数 ( $ER$ )。

$$ER = \frac{J_e}{J_0}$$

其中,  $J_e$  为加入促渗剂后的透皮速率,  $J_0$  为未加促渗剂的透皮速率。

在受、供体池内分别加入 40% PEG-400、0.9% NaCl,蒸馏水-40% 乙醇溶液及 10% 1, 2-Propanediol+ 8% Borneol+ 5% Azone 为促渗剂的疗筋涂膜剂。按上述分析方法取样分析,数据处理,得到涂膜剂中芍药苷在不同渗透介质中的渗透动力学曲线及参数,考察所得 Higuchi 方程的拟合度,结果见表 2。可见 Higuchi 方程拟合效果较佳,相关系数都在 0.94 以上,从实验结果中看出,涂膜剂中 4 种接受液中的经皮渗透行为均接近 Higuchi 释药方程。其中 40% PEG-400 生理盐水溶液在 4 种接受液中透皮速率和增渗倍数最高,24 h 的累计渗透量 40% PEG-400 水溶液最高;4 h 的累计渗透量以 40% 乙醇最高,随着试验的进行,12 h 后乙醇可能有挥发,使 40% 乙醇溶液为接受介质的透皮速率、增渗倍数和 24 h 累计渗透量较低。4 种接受液中,透皮速率和增渗倍数依次为 40% PEG-400 水溶液,生理盐水、蒸馏水、40% 乙醇溶液。因此确定采用 40% PEG-400 水溶液作为接受液。

表 2 不同渗透介质涂膜剂中芍药苷渗透动力学参数

接受液	累计透过量 $Q(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$					$Q-t^{1/2}$ 方程	$r$	$J$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}^{-1}$ )	$ER$
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h				
40% PEG	7.71	25.62	42.73	60.05	72.60	$Q = 18.680 3t^{1/2} - 12.824 4$	0.972 5	18.68	17.79
0.9% NaCl	7.33	22.09	41.60	57.04	69.32	$Q = 18.110 0t^{1/2} - 13.425 2$	0.973 4	18.11	17.24
蒸馏水	7.01	22.66	40.19	55.99	67.93	$Q = 17.667 9t^{1/2} - 12.855 2$	0.973 3	17.67	16.82
40% 乙醇	7.70	29.87	42.11	55.16	63.66	$Q = 2.748 7t^{1/2} - 14.256 0$	0.946 1	15.39	14.65

**2.1.9 促渗剂的筛选** 按照处方工艺制做不加促渗剂的疗筋涂膜剂,按上述方法考察涂膜剂中芍药苷的经皮渗透动力学参数。分别制备含 1% Borneol、3% Borneol、8% Borneol、1% Azone、3% Azone 和 5% Azone、3% 1, 2-Propanediol、5% 1, 2-Propanediol、10% 1, 2-Propanediol、1% Azone+ 8% Borneol、3% Azone+

8% Borneol、5% Azone + 8% Borneol、5% 1, 2-Propanediol + 8% Borneol、5% 1, 2-Propanediol + 8% Borneol + 3% Azone 和 10% 1, 2-Propanediol + 8% Borneol + 5% Azone 的疗筋涂膜剂,按照上述方法分别考察不同浓度促渗剂单用的促渗效果。计算增渗倍数,透皮速率等渗透动力学参数。结果见表 3。

表 3 不同促渗剂作用下涂膜剂中芍药苷渗透动力学参数

促渗剂比例	累计透过量 $Q(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$					$Q-t^{1/2}$ 方程	$r$	$J$	$ER$
	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h				
无促渗剂	0.403 4	1.070 9	2.148 4	3.149 3	3.937 0	$Q=1.050 3t^{1/2}-0.926 2$	0.981 0	1.050 3	
冰片 1%	1.256 4	2.356 8	4.569 8	6.598 7	8.973 6	$Q=2.296 4t^{1/2}-1.957 1$	0.993 1	2.296 4	2.186 4
冰片 3%	1.569 8	3.256 4	5.986 9	10.257 0	13.265 4	$Q=3.529 3t^{1/2}-3.442 5$	0.984 3	3.529 3	3.360 3
冰片 8%	1.642 3	6.155 8	10.400 1	16.390 4	24.280 4	$Q=6.518 9t^{1/2}-7.268 7$	0.996 6	6.518 9	6.206 7
氮酮 1%	1.446 3	6.485 2	10.107 3	19.052 3	27.672 5	$Q=7.633 3t^{1/2}-9.345 0$	0.989 8	7.633 3	7.267 7
氮酮 3%	3.283 8	12.396 7	22.967 7	29.788 7	51.080 6	$Q=13.457 9t^{1/2}-15.408 5$	0.998 7	13.457 9	12.813 4
氮酮 5%	3.343 3	12.364 0	22.796 0	28.975 1	49.512 7	$Q=12.968 9t^{1/2}-14.485 4$	0.998 5	12.968 9	12.347 8
丙二醇 3%	1.352 8	2.453 3	3.998 9	5.986 8	8.126 5	$Q=1.998 0t^{1/2}-1.452 8$	0.993 9	1.998 0	1.902 3
丙二醇 5%	1.856 9	2.958 9	4.126 2	6.158 9	9.269 5	$Q=2.150 3t^{1/2}-1.407 2$	0.994 3	2.150 3	2.047 3
丙二醇 10%	2.598 6	3.569 3	5.263 5	7.123 6	10.356 9	$Q=2.271 5t^{1/2}-0.853 0$	0.997 6	2.271 5	2.162 7
氮酮:冰片 (1%:8%)	3.469 3	11.891 7	20.444 0	31.124 5	48.294 9	$Q=12.862 8t^{1/2}-14.528 8$	0.998 5	12.862 8	12.246 8
氮酮:冰片 (3%:8%)	5.695 2	14.404 0	31.433 6	45.213 8	62.015 5	$Q=16.694 0t^{1/2}-17.012 6$	0.992 0	16.694 0	15.894 5
氮酮:冰片 (5%:8%)	6.080 2	15.112 6	30.294 1	43.799 6	60.405 1	$Q=16.001 3t^{1/2}-15.603 4$	0.993 6	16.001 3	15.235 0
丙二醇:冰片 (5%:8%)	4.907 7	20.435 3	37.852 8	49.977 2	65.366 3	$Q=17.273 4t^{1/2}-14.749 7$	0.981 9	17.273 4	16.446 2
丙二醇:氮酮:冰片 (5%:8%:3%)	7.711 1	25.431 9	42.584 2	58.692 2	71.962 9	$Q=18.434 1t^{1/2}-12.571 7$	0.974 5	18.434 1	17.551 3
丙二醇:氮酮:冰片 (10%:8%:5%)	11.442 0	27.301 3	46.571 5	62.087 8	70.287 7	$Q=17.182 0t^{1/2}-6.652 6$	0.957 3	17.182 0	16.359 1

从上表结果得出:乙醇(处方辅料含有量)对涂膜剂中芍药苷体外经皮渗透有一定促进作用,但影响程度不大。Borneol、Azone 在所测浓度范围内,浓度升高其促渗效果亦随之提高。单用 Azone 的促渗效果明显高于单用 Borneol,单用 3% Azone 的渗透速率和增渗倍数是单用 8% Borneol 的 2 倍。Azone 在 3% 是促渗效果最好,在 5% 时反而下降,具体原因有待进一步研究,单用 Propanediol 的渗透速率和增渗倍数没有明显的差别。Borneol、Azone、Propanediol 联合使用的多元促渗剂,促渗效果明显高于单一使用和 Borneol 与 Azone 等二元促渗剂。

### 3 讨论

本文在疗筋涂膜剂的基本处方和基质固定后,比较研究了不同促渗剂对涂膜剂的经皮渗透行为的影响,结果表明,在涂膜剂处方中加入一定量促渗剂后,药物累积透过量、增渗倍数和透皮速率都增加。表明促渗剂可使涂膜剂内药物穿透角质层进入真皮层。

通过零级、一级及 Higuchi 方程拟合,零级和一级方程拟合的相关系数明显低于 Higuchi 方程拟合, Higuchi 方程拟合的相关系数均在 0.94 以上,故选取 Higuchi 方程作为芍药苷透皮释药方程。

筛选涂膜剂剂中应用的促渗剂,应该兼顾促渗效果、刺激性、及涂膜剂本身的特点。前期预实验 Borneol 在处方中本身含有 8%,所以前期在离体小鼠皮试验设计中也考察了不用 Borneol 和 2%、4%、8% Borneol 对芍药苷的促渗效果,结果表明 8% Borneol 促渗效果较好,随浓度增加,累计渗透量和增渗倍数增加微小,通过在裸鼠皮肤选择 1%、3%、8% Borneol 为促渗剂,发现 8% 促渗效果较好,最终选择以 8% Borneol 作为渗透基本处方。Propanediol: Borneol: Azone(5%:8%:3%) 24 h 累计渗透量、渗透速率和增渗倍数高于 Propanediol: Borneol: Azone(10%:8%:5%),且对处方剂量和皮肤刺激性较小,故本试验暂确定 Propanediol: Borneol: Azone(5%:8%:3%) 为疗筋涂膜剂的渗透促进剂。

## [参考文献]

- [1] 周莉玲,李 锐,周 华,等.青藤碱制剂药动学相关性研究[J].中成药,1996,18(9):1.
- [2] 郑俊民.经皮给药新剂型[M].北京:人民卫生出版社,99:44-47.
- [3] 周莉玲,李 锐,刘 强.青藤碱透皮吸收接收液和实验皮肤的选择研究[J].中药新药与临床药理,1999,10(1):40.
- [4] 郑俊民.经皮给药新剂型[M].北京:人民卫生出版社,2006.17.
- [5] 张永军,于志庚,胡志林.氮酮促进复方替硝唑凝胶经皮渗透作用研究[J].中国药房,2004,15(9):538-540.
- [6] 孙镜沂,孙永超,丁平田.促渗剂对咪喹莫特体外经皮渗透的影响[J].沈阳药科大学学报,2008,25(2):85.