• 药剂与工艺 •

白芷香豆素储库型贴剂的研制及其体外评价

刘晓昱，赖 瑛
杭州市中医院 临床药学室，浙江 杭州 310007

摘 要：目的 制备白芷香豆素储库型贴剂，考察其体外释药特性和离体皮肤渗透性，筛选有效的透皮吸收促进剂，提高白芷香豆素的透皮吸收速率。**方法** 选取羟丙甲纤维素为储库介质，以乙烯-醋酸乙烯共聚物膜为控释膜，制备白芷香豆素储库型透皮贴剂。用 Franz 扩散池进行乳猪离体皮肤渗透实验，用 HPLC 测定欧前胡素量，考察凝胶用量、药物用量、促渗剂对药物透皮速率的影响，并对优选的贴剂进行体外释放研究。**结果** 最佳处方为 1%羟丙基甲基纤维素（HPMC）、1%白芷香豆素、3%肉豆蔻酸异丙酯、3%氮酮；由该处方制得的贴剂稳态透皮速率（J_s）达到 0.713 μg/(cm^2·h)，体外释放速率接近零级。**结论** 储库型白芷香豆素贴剂有较高的经皮渗透速率，体外释药完全，有望成为新型的透皮制剂。

关键词：白芷香豆素；经皮渗透；促渗剂；储库型；贴剂；释药特性；透皮吸收；欧前胡素
中图分类号：R283.1 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2018)02 - 0313 - 05
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.008

Development and *in vitro* evaluation of reservoir-type patch of coumarins in *Angelicae Dahuricae Radix*

LIU Xiao-yu, LAI Ying
Clinical Pharmacy, Hangzhou Traditional Medical Hosptital, Hangzhou 310007, China

Abstract: Objective To prepare the reservoir patch of coumarins in *Angelicae Dahuricae Radix* and investigate its release and transdermal absorption characteristics *in vitro*. The efficient enhancers were chosen to improve the drug's permeation rate. **Methods** The reservoir patch was prepared using hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) as medium and ethylene vinyl acetate (EVA) membrane to control the release of drug. The Franz diffusion cells were used and HPLC was used to determine imperatorin content and permeation rate. The content of imperatorin was determined by HPMC. The effect of the gel consumption, the content of coumarins and penetration enhancer on the transdermal flux were investigated by selecting porcine skin as model. The release of the selected patch *in vitro* was investigated. **Results** 1% HPMC, 1% coumarins in *Angelicae Dahuricae Radix*, 1% Isopropyl Myristate (IPM) and 3% Azone were the best permeation of the patch. The permeation rate reached 0.713 μg/(cm^2·h). The release mechanisms of the patch *in vitro* coincided with zero-order kinetic. **Conclusion** The reservoir patch of coumarins in *Angelicae Dahuricae Radix* had high transdermal rate and complete *in vitro* release. It was indicated that the patch could be expected to be an effective transdermal drug delivery system.

Key words: coumarins in *Angelicae Dahuricae Radix*; transdermal; permeation enhancers; reservoir; patch; releasing properties; skin absorption; imperatorin

白芷 *Angelicae Dahuricae Radix* 为伞形科当归属植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss.) Yuan et Shan 的干燥根，其性温，气芳香，味辛、微苦，具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓

收稿日期：2017-08-03
基金项目：浙江省杭州市卫生科技计划项目（2013A47）
作者简介：刘晓昱（1980—），女，浙江杭州人，副主任药师，药剂学硕士学位，研究方向为中药新剂型的开发。
Tel: (0571)85827864 E-mail: liuxiaoyuhz@163.com

的作用，被临床广泛应用于感冒头痛、眉棱骨痛、鼻塞、鼻渊、牙痛、白带和疮疡肿痛等症，并有较好的疗效[1-2]，其主要成分为香豆素类成分和挥发油[3-7]。

在前期工作中，本课题组已经把白芷中的香豆素进行了提取纯化[8]，以欧前胡素为指标成分，得到质量分数为 95%的白芷香豆素。香豆素类成分脂溶性大，相对分子质量小，非常适合于透皮给药。储库型贴剂利用高分子包裹材料将药物或透皮促进剂包裹成储库，利用包裹材料的性质控制药物的释放速率。储库为密闭结构，可以避免挥发性成分的损失，可包含大量的药物，适合中药的特点[9-10]。本实验将白芷香豆素制成储库型贴剂，以白芷香豆素的稳态透皮速率（J_s）为指标，考察了凝胶的用量、药物用量、促渗剂的种类和用量的影响，筛选出最佳处方，以期为白芷香豆素贴剂的开发应用提供实验基础。

1　材料与仪器

1200 高效液相色谱仪，安捷伦科技有限公司；AB104N 电子分析天平，Mettler Toledo 公司；TK-12D Franz 透皮扩散池，上海锴凯科技贸易有限公司。欧前胡素对照品，批号 110827-201109，质量分数 99.60%，中国食品药品检定研究院；Eudragit E100，德国 Rohm 公司；羟丙基甲基纤维素（HPMC），上海昌为医药辅料技术有限公司；乙烯-醋酸乙烯共聚物膜（EVA 膜，美国 3M 公司）；乳猪（杭州文兴养殖场提供 10 日龄乳猪）；甲醇（色谱纯），Merck 公司；白芷香豆素，自制，质量分数 95%（以欧前胡素计，HPLC 法定量）；肉豆蔻酸异丙酯（IPM）、癸二酸二丁酯，国药集团化学试剂有限公司；油酸、异丙醇，杭州双林化工试剂厂；氮酮（Azone），天门科捷制药有限公司；丁二酸，中国五联化工厂；聚山梨酯 80（Tween 80，T80），温州清明化工有限公司；聚乙二醇 400（PEG400），杭州长青化工有限公司。

2　方法与结果

2.1　储库型贴剂的制备工艺[11]

贴剂由背衬层、药物储库、控释膜、胶黏层及防粘层 5 层结构组成。控释膜为 EVA 膜，胶黏层为 EudragitE100-癸二酸二丁酯-丁二酸（10∶5∶1）的压敏胶，防粘层是硅化纸。

先将白芷香豆素制成凝胶，凝胶作为药物储库充填封闭于背衬层和 EVA 膜间，热封密合，加胶黏层和防粘层，即得储库型贴片。

凝胶的制备：称取 0.02 g 凝胶基质，加水适量，溶胀 1 h 左右。将药物的乙醇溶液倒入溶胀后的凝胶基质，加水至 10 g，即得。

2.2　贴剂中欧前胡素分析方法的建立

2.2.1　色谱条件　色谱柱为 Agilent XDB-C_{18}（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为甲醇-水（60∶40）；检测波长 300 nm；柱温 25 ℃；体积流量 1 mL/min；进样量 20 μL。按峰面积以外标法定量。皮肤组织的浸出液在 7 min 内已被洗脱出柱，不干扰药物的测定，药物洗脱峰形良好。如图 1 所示。

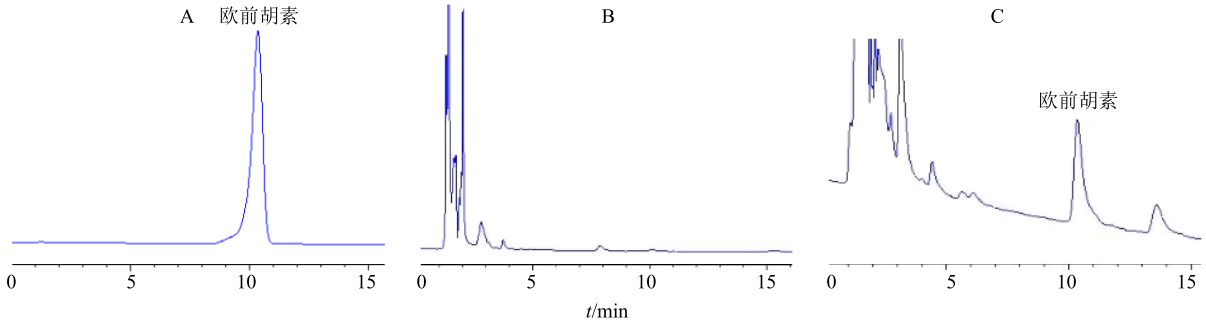

图 1　欧前胡素对照品 (A)、空白贴剂接收液 (B) 和贴剂接收液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1　HPLC of imperatorin reference substance (A), blank patch receiving fluid (B), and patch receiving fluid (C)

2.2.2　线性关系考察　精密称取欧前胡素对照品适量，加甲醇制成含欧前胡素 40.4 μg/mL 的对照品溶液。分别精密量取此对照品溶液 0.10、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00 mL 于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，照“2.2.1”项色谱条件进行 HPLC 检测，设进样质量浓度值为横坐标（X），峰面积值为纵坐标（Y），得一元线性回归方程 Y＝0.020 4 X－0.001 6，r＝0.999 9，结果表明欧前胡素在 0.404～12.120 μg/mL 呈良好线性关系。

2.2.3　精密度试验　精密称取欧前胡素适量，用流

动相配制成质量浓度为 0.404、2.020、4.040 μg/mL 的低、中、高 3 个质量浓度，分别在同日的 3 个不同时间点和连续 3 d 进行测定。低、中、高质量浓度样品的日内精密度为 0.35%、0.19%、0.37%，日间精密度为 0.45%、0.64%、0.69%。样品日内与日间精密度 RSD 均小于 2%，精密度达到分析要求。

2.2.4 稳定性试验 取同一接收液样品，分别于 0、2、4、8、12、24、36、48 h 在“2.2.1”项色谱条件下进行分析，峰面积 RSD 为 0.73%，表明接收液样品在 48 h 内稳定。

2.2.5 重复性试验 取同一时间的接收液样品 6 份，在“2.2.1”项色谱条件下进行分析，平均质量浓度为 2.45 μg/mL，RSD 为 2.82%。

2.2.6 加样回收率试验 精密量取接收液样品 0.5 mL（4.15 μg/mL），共 9 份，每 3 份为一水平，分别精密加入欧前胡素对照品溶液（40.4 μg/mL）0.01、0.02、0.04 mL，在“2.2.1”项色谱条件下进行分析，加样平均回收率为 99.16%，RSD 为 2.63%。

2.3 体外透皮实验

取于−80 ℃保存的已去除皮下组织的乳猪皮肤，自然解冻后用生理盐水浸洗数遍，将皮肤固定在扩散池上，角质层朝上，以 20% PEG400 生理盐水为接收液，池内置磁力搅拌子，转速约 300 r/min，恒温 37 ℃水浴循环，先平衡 1 h，更换接收液，排尽皮肤下的空气，滤纸吸干皮肤表面的液体。在供给室分别加入事先准备的样品，密封。于设定的时间点取样，并补充等量新鲜接收液。样品经 0.45 μm 滤膜滤过，按分析方法进行 HPLC 测定，计算接收液中欧前胡素的量。计算透皮累积渗透量（总渗透量，Q），以 Q 为纵坐标，时间 t 为横坐标作图，得药物累积渗透曲线。对所得曲线的直线部分进行回归，求出斜率，即为药物的稳态透皮速率［J_s，μg/(cm^2·h)］。

$$Q_i = C_i V + \sum_{n=1}^{i-1} C_{i-1} V_i$$

V 为接收室体积，V_i 为每次取样体积，C_i 为第 i 次取样时接收液中的药物质量浓度

2.4 储库型贴剂的处方筛选

2.4.1 凝胶基质和用量的筛选 以 HPMC 为凝胶基质，考察凝胶基质用量对 J_s 的影响。结果见表 1。其中处方 A 得到的凝胶太稀，呈半液体状。处方 B 和处方 C 得到的凝胶成型性均较好，但处方 C 的 J_s 低于处方 B。因此，选择 HPMC 的用量为 1%。

表 1 储库型贴剂凝胶基质用量筛选结果（$\bar{x} \pm s$, $n = 3$）

Table 1 Screening results of gel content ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

编号	处方	J_s/(μg·cm^{-2}·h^{-1})
A	0.5% HPMC，0.50%白芷香豆素	0.40±0.04
B	1% HPMC，0.50%白芷香豆素	0.41±0.03
C	2% HPMC，0.50%白芷香豆素	0.23±0.03

2.4.2 贴剂中药物用量的筛选 以药物的 J_s 为指标考察储库中药物用量对 J_s 的影响。结果见表 2。可以看出，随着药物用量的增加，J_s 呈现先升高后平稳的趋势，因此药物用量选择 1.00%。

2.4.3 贴剂中单一促渗剂的筛选 在处方 E 的基础上（HPMC 用量为 1%，药物用量 1.00%）加入促渗剂，分别为 IPM、T80、氮酮、油酸，考察促渗剂的种类和用量对 J_s 的影响，结果见表 3。3 种质量分数的 IPM 均对欧前胡素有促渗作用，3%和 5% IPM 与未加促渗剂相比有显著差异（P＜0.05）。T80、氮酮和油酸促渗作用不明显。

表 2 储库型贴剂药物用量筛选结果（$\bar{x} \pm s$, $n = 3$）

Table 2 Screening results of drug content ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

编号	处方	J_s/(μg·cm^{-2}·h^{-1})
D	1% HPMC，0.50%白芷香豆素	0.37±0.03
E	1% HPMC，1.00%白芷香豆素	0.49±0.04
F	1% HPMC，1.50%白芷香豆素	0.45±0.03

表 3 储库型贴剂单一促渗剂筛选结果（$\bar{x} \pm s$, $n = 3$）

Table 3 Screening results of single transdermal enhancer ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

编号	处方	J_s/(μg·cm^{-2}·h^{-1})	编号	处方	J_s/(μg·cm^{-2}·h^{-1})
G	1% IPM	0.57±0.04	M	1%氮酮	0.48±0.07
H	3% IPM	0.66±0.05*	N	3%氮酮	0.48±0.04
I	5% IPM	0.62±0.06*	O	5%氮酮	0.53±0.05
J	1% T80	0.50±0.02	P	1%油酸	0.52±0.11
K	3% T80	0.50±0.04	Q	3%油酸	0.51±0.12
L	5% T80	0.52±0.05	R	5%油酸	0.50±0.06

与处方 E 比较：*P＜0.05

*P < 0.05 *vs* recipe E

2.4.4 贴剂中混合促渗剂的筛选 选择促渗作用较好的 3%和 5% IPM，与 T80、氮酮、油酸配伍，考察混合促渗剂对 J_s 的影响。结果见表 4。可以看出促渗剂混合之后，都比单独使用的促渗效果要好，与未加促渗剂相比，均有显著性差异（P＜0.05）。其中处方 S（3% IPM＋3% T80）和处方 T（3%

表 4　储库型贴剂混合促渗剂筛选结果（$\bar{x} \pm s, n = 3$）

Table 4　Screening results of mixture transdermal enhancers ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	处方	J_s/(μg·cm^{-2}·h^{-1})
S	3% IPM+3% T80	0.695±0.04*△
T	3% IPM+3%氮酮	0.713±0.03*△
U	3% IPM+1%油酸	0.690±0.04*
V	5% IPM+3% T80	0.630±0.07*
W	5% IPM+3%氮酮	0.636±0.07*
X	5% IPM+1%油酸	0.617±0.02*

与处方 E 比较：*P<0.05；与处方 H 比较：△P<0.05

*P < 0.05 *vs* recipe E; △P < 0.05 *vs* recipe H

IPM＋3%氮酮)组合的促渗效果最佳，与处方 H（3% IPM）相比，有显著性差异（P<0.05）。

2.5　贴剂的释放度考察

根据以上筛选的 T 处方制备贴剂，根据《中国药典》2015 年版四部 0931 第四法规定[12]，分别量取溶出介质置各溶出杯中，待溶出介质预温至（32.0±0.5）℃，将贴片置于 2 层碟片中央，置于溶出杯底部，溶出面向上，保持平整。将网碟水平放置于溶出杯下部，并使网碟与浆底旋转面平行，两者相距（25±2）mm 以 100 r/min 速度搅拌，于 1～7 h 每小时取样 5 mL，取样位置在释放介质液面与桨叶上端之间正中，离杯壁不得少于 1 cm，样液于 0.45 μm 微孔滤膜滤过测定药物质量浓度，取样后立即补充等体积的温度为（32.0±0.5）℃空白释放介质。计算累积释放率，绘制释放曲线，见图 2。6 h 内贴片中的欧前胡素累积释放率达到 85%，7～8 h 释放完全，释放速度接近零级，释药方程为 Q＝13.968 t＋12.133，r＝0.969 6。

3　讨论

在经皮给药系统中，药物经皮渗透受药物理化性质、载体、促渗剂类型及浓度等多种因素[13-15]的影响。本研究中采用 HPMC 为凝胶基质，HPMC

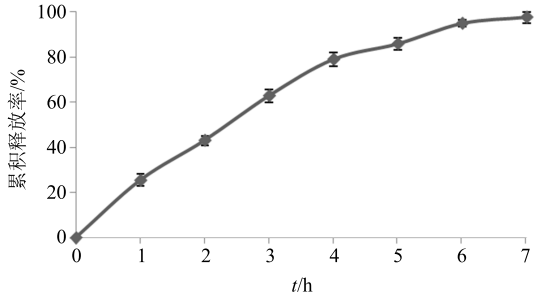

图 2　白芷香豆素储库型贴剂的体外释放曲线

Fig. 2　Release curve of patch *in vitro*

用于调节储库溶液的稠度，利于贴片的制备。本实验考察了 3 种凝胶用量对经皮渗透速率的影响，发现 0.5%和 1% HPMC 组要高于 1.5%组。这可能是因为 HPMC 用量过高使黏度增加，导致了药物的有效扩散速率下降，释药速率降低；而 0.5% HPMC 用量太低，未能成凝胶状而呈溶液状，故选择 1% HPMC 为凝胶基质。在筛选药物质量分数时，随着药物质量分数的增加，J_s 呈现先升高后平稳的趋势，可能是因为当药物质量分数到达 1.00%后，药物质量分数达到饱和的原因。因此药物质量分数选择 1.00%。

合适促渗剂的应用，可以显著改善药物在皮肤的渗透与吸收，是良好透皮给药系统的重要组成部分[16-17]。本实验对 4 种常用的促渗剂 IPM、油酸、氮酮、T80 的不同质量分数进行考察，发现 3%和 5% IPM 对欧前胡素有促渗作用。IPM 作为透皮促进剂，它能进入角质层，破坏脂质排列的紧密性而增加其流动性；IPM 可能在活性皮肤层产生某些特殊脂溶性高的区域[18-19]，促进了欧前胡素在基质和皮肤间的分配，从而提高欧前胡素的经皮渗透。促渗剂的联用往往比单一促渗剂效果要好[16,20]。本实验把 3% IPM 和 5% IPM 与其他 3 种促渗剂的不同质量分数联用，促渗效果均增加，其中处方 S（3% IPM＋3% T80）和 T（3% IPM＋3%氮酮）效果最佳，与单用 3% IPM 相比有显著性差异。

本实验制得的白芷香豆素储库型贴片（含 1% HPMC，1.00%含药量，3% IPM 和 3%氮酮），有良好的 J_s 和体外释放度。24 h 内体外经皮渗透量已达到 17.11 μg/cm；体外释放 6 h 内贴片中的欧前胡素累积释放率达到 85%，释放速度接近零级。下一步本课题组将对该贴片的皮肤的刺激性、生物利用度等进行进一步的考察研究。

参考文献

[1]　中国药典 [S]. 一部. 2015.

[2]　李永超, 宋　杨, 齐　云. 白芷的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2007, 22(4): 161-164.

[3]　张　倩, 陈进春. 白芷活性成分的研究进展 [J]. 中医临床研究, 2016, 28(8): 145-146.

[4]　董　伟, 管雪静, 廖正根, 等. 白芷香豆素类化合物与 P-糖蛋白体外亲和作用研究 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2893-2896.

[5]　史　洋, 雷　云, 许海玉, 等. 白芷中 3 个主要活性成分含量测定及其质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 915-919.

[6] 王梦月, 贾敏如, 马逾英, 等. 白芷总香豆素的药理作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 954-956.

[7] 王春梅, 孙晶波, 刘惠民. 白芷总香豆素和白芷总挥发油配伍药效学比较 [J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2015, 16(4): 450-453.

[8] 刘晓昱, 王 佩. 白芷香豆素类成份的提取及大孔树脂纯化的工艺研究 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(2): 438-441.

[9] 吴 争. 细辛醚经皮给药系统的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

[10] 邱 琳. 骨架型川芎嗪透皮贴剂的研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2006.

[11] 吴 争, 高建青, 陈海靓, 等. α-细辛醚储库型贴片研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 484-487.

[12] 中国药典 [S]. 四部. 2015.

[13] 华晓东, 任变文. 经皮给药系统的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 282-285.

[14] 侯雪梅, 李国栋, 李卫华, 等. 化学促渗剂及其机理的探讨 [J]. 上海医药, 2008, 29(5): 231-235.

[15] 李文华, 王英姿, 骆声秀, 等. 苦参总碱纳米乳和苦参总碱纳米乳凝胶的透皮机制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 484-489.

[16] 刘志辉, 李俊生, 郑 啸, 等. 透皮促渗剂对黄芩总黄酮凝胶膏剂成分体外经皮渗透的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(18): 2703-2711.

[17] 陈 勇, 赵 育, 蔡依璐, 等. 右旋布洛芬透皮贴剂的制备 [J]. 南通大学学报: 自然科学版, 2016, 15(4): 55-58.

[18] 曾 佳, 谢谭芳, 黄 婷, 等. 睾酮经皮吸收相关理化性质及体外经皮渗透特性的研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(6): 428-434.

[19] 李龙伟, 孙英华, 王金兰, 等. 酮洛芬贴剂的体外经皮渗透性考察 [J]. 中国药剂学杂志, 2016, 14(1): 11-17.

[20] 胡 晓, 胡静波, 董少华, 等. 不同促渗剂对复方积雪草苷凝胶膏剂透皮吸收的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(7): 543-547.