

神效散巴布剂的体外透皮吸收研究

王爱国¹, 谷福顺², 郑昆仑², 陆军^{1*}, 赵允¹, 王晓辉³

1. 天津市中医药研究院附属医院, 天津 300120

2. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300250

3. 天津市医药科学研究所, 天津 300020

摘要: **目的** 比较神效散散剂和巴布剂的透皮吸收效果。**方法** 采用 HPLC 法测定神效散散剂和巴布剂中血竭素、三七皂苷 R₁。使用扩散池装置, 以离体小鼠皮肤为屏障进行体外透皮吸收研究, 比较神效散巴布剂和散剂中血竭素、三七皂苷 R₁ 的累积渗透量、渗透速率。**结果** 神效散散剂和巴布剂中血竭素、三七皂苷 R₁ 累积渗透量随着时间的增加而增大, 且两种成分的累积渗透量: 巴布剂 > 散剂; 渗透速率: 巴布剂 > 散剂。**结论** 与神效散散剂比较, 神效散巴布剂具有更强的透皮吸收效果。

关键词: 神效散巴布剂; 神效散; 血竭素; 三七皂苷 R₁; 累积渗透量; 渗透速率; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)09-1812-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.09.006

Transdermal absorption of Shenxiao Powder Cataplasm

WANG Ai-guo¹, GU Fu-shun², ZHENG Kun-lun², LU Jun¹, ZHAO Yun¹, WANG Xiao-hui³

1. Affiliated Hospital of Tianjin Academy of TCM, Tianjin 300120, China

2. Second Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300250, China

3. Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China

Abstract: Objective To evaluate the transdermal absorption effect of Shenxiao Powder Cataplasm. **Methods** Dracorhodin and notoginseng saponin R₁ in Shenxiao Powder Cataplasm and Shenxiao Powder were determined. Diffusion cell device was used, and *in vitro* transdermal absorption was studied with isolated mouse skin as a barrier. The cumulative penetration and penetration rate of dracorhodin and notoginseng saponin R₁ in Shenxiao Powder Cataplasm and Shenxiao Powder were compared. **Results** The cumulative penetration of the two dosage forms were increased with the increase of time, and the cumulative penetration of the two main components was: cataplasm > powder; Penetration rate: cataplasm > powder. **Conclusion** Compared with Shenxiao Powder, Shenxiao Powder Cataplasm has stronger transdermal absorption.

Key words: Shenxiao Powder Cataplasm; Shenxiao Powder; dracorhodin; notoginseng saponin R₁; cumulative penetration; penetration rate; HPLC

神效散长期应用于急性软组织损伤的临床治疗中, 收到了满意的疗效^[1-2]。神效散临床以散剂为主, 由于其全生药粉入药, 易产生污染、生产机械化程度低、缺乏科学的技术参数、产品质量难以控制, 在临床应用时易产生不良反应^[3]。巴布剂是一种可搭载各种中药的外治疗法新载体, 可克服传统制剂的弊端, 具有质量可控、依从性好、携带方便、

易于保存等优点^[4], 故将神效散改良为神效散巴布剂。为确证巴布剂的效果, 本实验采用扩散池法比较神效散巴布剂与散剂对小鼠皮肤的累积渗透量和渗透速率, 验证神效散巴布剂的透皮吸收效果。

1 材料

1.1 仪器

Waters 600 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公

收稿日期: 2021-02-07

基金项目: 天津市中医药重点领域科研项目 (2017007); 天津市中医药研究院附属医院内科研基金资助项目 (2020004)

作者简介: 王爱国, 男, 副主任医师, 硕士, 研究方向为中医、中西医结合治疗各种骨病及骨折。E-mail: wag_888@126.com

*通信作者: 陆军 E-mail: junlu0419@163.com

司); JH502型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); Sartorius BT125D型十万分之一分析天平(德国赛多利斯集团); FA2004型万分之一分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); TGL-16MC型台式高速冷冻离心机(西安明克斯公司); C3860A型超声波清洗器(天津市科贝尔光电技术有限责任公司); TK-20B型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司); DFD-100型数显恒温水浴器(东方电工机械厂); QL-901型旋涡混合器(功率200 W, 频率40 kHz, 江苏麒麟医用仪器厂)。

1.2 试药

神效散巴布剂由天津友康医疗卫生材料厂提供, 规格10 cm×7 cm, 批号101132; 神效散散剂由天津中医药大学第二附属医院药剂科提供, 规格8 g/包, 批号180401。两种制剂均为笔者统一采购药材, 委托生产。

血竭素(批号110811-201506)、三七皂苷R₁(批号110745-200617)对照品均购自中国食品药品检定研究院。氯化钠, 分析纯, 天津市北方天医化学试剂厂; 甲醇、乙腈, 色谱纯, 天津市康科德科技有限公司; 磷酸, 分析纯, 天津市津北精细化工有限公司; 纯净水, 杭州娃哈哈食品有限公司。

1.3 实验动物

昆明种小鼠, 体质量(20±1) g, 由天津市山川红实验动物科技有限公司提供, 许可证号SCXK(津)2009-0001。

2 方法与结果

2.1 离体鼠皮的制备

取小鼠, 断颈处死。刮去腹部鼠毛, 剥离取下腹部鼠皮, 用刀片、镊子小心将鼠皮与皮下脂肪层、结缔组织剥离。用0.9%氯化钠溶液反复冲洗干净, 置于保鲜膜上, 封好于冰箱中, 冷冻保存备用。每次使用前检查鼠皮的完整性, 不可有任何破损。

2.2 供试品溶液的制备

称取等质量的散剂、巴布膏剂(从巴布膏上刮取)各约1.0 g, 精密称定, 置于锥形瓶中, 加70%甲醇10 mL, 称定质量, 30℃超声处理30 min, 冷却至室温, 用70%甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.22 μm针芯式微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 血竭素、三七皂苷R₁的HPLC法测定

2.3.1 色谱条件 XBridge C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 血竭素: 流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钠溶液(50:50); 检测波长440 nm;

体积流量1 mL/min; 柱温40℃; 进样量10 μL。三七皂苷R₁: 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱, 0~12 min 19%乙腈, 12~60 min 19%~36%乙腈; 检测波长203 nm; 体积流量1 mL/min; 柱温35℃; 进样量10 μL。

2.3.2 线性关系考察 精密称取血竭素、三七皂苷R₁对照品5.02、5.07 mg, 分别置50 mL量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 作为对照品储备液, 放置于4℃冰箱保存, 备用。精密吸取对照品储备液适量, 分别稀释配制血竭素质量浓度分别为2、4、10、20、40、100 μg/mL, 三七皂苷R₁质量浓度分别为2、4、10、20、40、100 μg/mL的系列标准溶液。进样分析, 记录峰面积。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程。血竭素 $Y=1.70 \times 10^4 X + 1.07 \times 10^3$ ($R^2=0.9997$), 三七皂苷R₁ $Y=2.50 \times 10^3 X - 8.70 \times 10^3$ ($R^2=0.9980$), 线性范围均为2~100 μg/mL。

2.3.3 专属性考察 分别以空白皮肤接收液作为空白样品溶液; 以已知质量浓度的对照品溶液作为对照品溶液; 以给药接收液作为样品溶液, 进样测定, 结果见图1。空白中的内源性物质对药液中各成分的测定无干扰, 表明该方法的专属性良好。

2.3.4 精密度试验 分别取20 μg/mL血竭素、三七皂苷R₁对照品溶液, 连续进样6次, 测定峰面积, 计算得血竭素、三七皂苷R₁峰面积的RSD值分别为0.89%、0.91%。

2.3.5 重复性试验 分别精密量取神效散散剂、巴布剂供试品溶液各6份, 进样测定血竭素、三七皂苷R₁的峰面积, 结果血竭素、三七皂苷R₁峰面积的RSD值分别为1.40%、1.38%, 1.36%、1.55%。

2.3.6 稳定性试验 分别精密量取神效散散剂、巴布剂供试品溶液各1份, 分别在0、1、2、4、6、8、10、24 h进样测定血竭素、三七皂苷R₁的峰面积, 结果峰面积的RSD值分别为1.06%、1.22%, 1.3%、0.96%, 表明两种剂型24 h内稳定性均良好。

2.3.7 回收试验 取神效散散剂、巴布剂各6份, 每份约0.1 g, 精密加入147.60、182.00 μg血竭素、三七皂苷R₁对照品, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果神效散散剂中血竭素、三七皂苷R₁的平均回收率分别为99.87%、100.68%, RSD值分别为1.71%、1.91%; 神效散巴布剂中血竭素、三七皂苷R₁的平均回收率分别为100.11%、100.07%, RSD值分别为1.09%、0.88%。

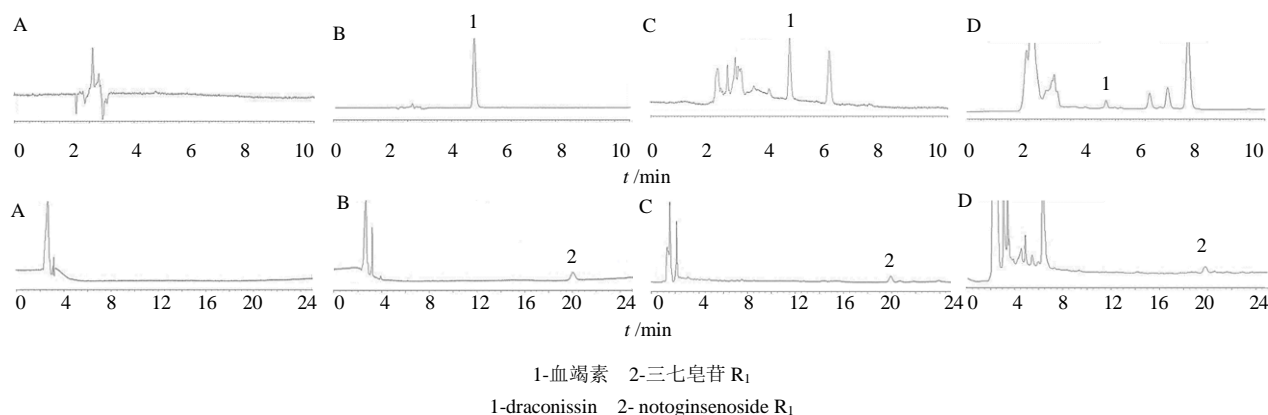


图 1 空白样品 (A)、对照品 (B)、神效散巴布剂 (C) 和神效散散剂 (D) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank sample (A), reference substance sample (B), Shenxiao Powder Cataplasm (C), and Shenxiao Powder (D)

2.4 透皮扩散实验

将处理好的鼠皮从冰箱中取出，解冻后放入盛有 0.9% 氯化钠溶液的烧杯中，浸泡至室温后，平铺于扩散池上（有效接触面积 2.92 cm²）。真皮一侧与接收池接触，角质面向供给池。用配套铁夹子固定。向接收池中加入 0.9% 氯化钠溶液 7.5 mL，并倾斜排出气泡，每个制剂平行做 2 组。用玻璃棒在供给池供给面上均匀涂上 0.5 g 待测散剂或 2.92 cm² 的巴布剂。放入磁力搅拌速度为 100 r/min、水浴温度为 (37.0 ± 0.5) °C 的透皮扩散试验仪中。分别于 1、2、3、4、5、6、8、10、12、24 h 从接收池中取出 0.5 mL 接收液，并立即向接收池中补入等体积的 0.9% 氯化钠溶液，倾斜排出气泡。接收液用 0.45 μm 滤膜滤过，精密吸取续滤液，采用 HPLC - 标准曲线法计算血竭素、三七皂苷 R₁ 的质量浓度，计算待测物的累积透过量 Q_n (μg/cm²)。

$$Q_n = (7.5C_n + 0.5 \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / 2.92$$

Q_n 为第 n 次取样时接收液中待测物的累积透过量，2.92 (cm²) 为有效扩散面积，7.5 (mL) 为接收室中接收液总体

积，C_n (μg/mL) 为第 n 次取样时接收液中待测物的质量浓度，C_i (μg/mL) 为第 i 次取样时接收液中待测成分的质量浓度

以取样时间为横坐标，累积透过量为纵坐标，绘制取样时间 - 累积透皮率曲线，所得斜率为渗透速率 (J)，即单位时间内药物透过单位面积的透过量。根据不同采集时间点的接受液中血竭素、三七皂苷 R₁ 的质量浓度测定结果绘制累积透过量 - 时间曲线，结果见表 1、图 2。

3 讨论

巴布剂是以水溶性高分子材料为基质的一种新型外用贴剂，具有载药量大、使用方便、反复粘贴、不易过敏、血药浓度稳定、无污染等特点，能有效解决临床应用的顺应性，同时提高外用制剂的有效性^[5-6]。透皮吸收系统是指药物通过恒定速度或接近恒定速度进入皮肤，通过体循环对全身或局部起到治疗作用的新系统^[7]。研究显示利用扩散池的方法不仅可以模拟药物在皮肤中的释放规律，同时可以考察药物透过皮肤的渗透能力^[8-10]，本实验中通过扩散池法测得神效散散剂中血竭素、三七皂苷

表 1 不同剂型的神效散中三七皂苷 R₁、血竭素的渗透速率

Table 1 Permeation rates of notoginsenoside R₁ and dracorhodin in different dosage forms of Shenxiao Powder

剂型	成分	Q-T 方程	R ²	J/(μg·cm ⁻² ·h ⁻¹)
散剂	血竭素	Y=3.129 X+14.211	0.999	3.129
	三七皂苷 R ₁	Y=6.868 X+11.871	0.923	6.868
巴布剂	血竭素	Y=3.862 X+15.193	0.999	3.862
	三七皂苷 R ₁	Y=8.470 X+13.310	0.960	8.470

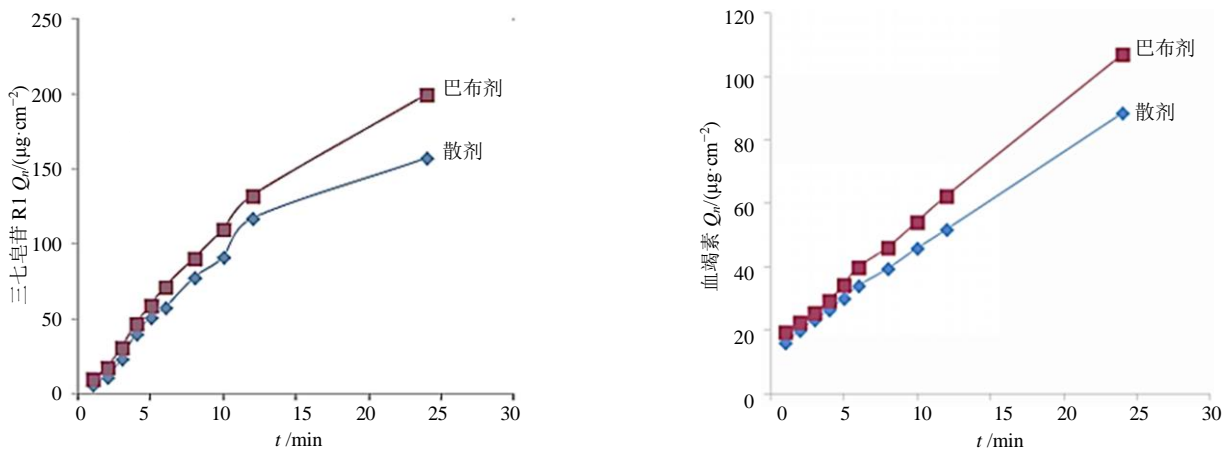


图2 不同剂型的神效散中三七皂苷 R₁、血竭素的累积透过量 - 时间曲线

Fig. 2 Cumulative permeation time curves of notoginsenoside R₁ and dracorhodin in different dosage forms of Shenxiao Powder

R₁的渗透速率分别为 3.129、6.868 μg/(cm² h), 神效散巴布剂中血竭素、三七皂苷 R₁的渗透速率分别为 3.862、8.470 μg/(cm² h)。在体外透皮吸收试验中, 离体皮肤的取材相当重要, 不能有破损, 宜选厚度、大小类似的皮肤作为透皮样品, 每次要排尽皮肤与接受液间的气泡再加样, 减少气泡对有效透皮面积的影响^[11]。

神效散为使用多年的院内制剂, 在中医外治治疗急性软组织损伤的疗效显著^[1-2,12]。方中栀子、大黄、泽兰、侧柏叶、赤芍、天花粉清热泻下通经、利尿消肿, 桂枝、羌活、白芷辛温散寒、消肿止痛, 沉香降气止痛, 血竭、三七、乳香、没药、紫荆皮活血化瘀、疏通经络, 同时辅以骨碎补、续断接骨续筋。血竭、三七为神效散的君药, 血竭乙醇液外用可治疗急性软组织损伤^[13], 三七总皂苷可用于大鼠急性软组织损伤的治疗^[14], 其中血竭素和三七皂苷 R₁是治疗软组织损伤的活性成分, 因此本实验选用血竭素、三七皂苷 R₁作为定量目标, 研究神效散不同剂型中血竭素、三七皂苷 R₁的吸收特性, 通过专属性考察发现空白中的内源性物质对样品中各成分的测定无干扰, 表明高效液相色谱法的专属性良好, 精密度试验测定血竭素峰面积 RSD 值为 0.89%, 三七皂苷 R₁峰面积 RSD 值为 0.91%, 重复性试验测定神效散散剂、巴布剂中血竭素、三七皂苷 R₁峰面积的 RSD 值分别为 1.40%、1.38%、1.36%、1.55%, RSD 值都符合检测要求, 说明高效液相色谱法适合本实验的研究要求。

小鼠腹部皮肤较少, 皮肤较薄, 皮下脂肪层容

易分离, 能够接近人体皮肤, 因此选择小鼠皮模拟人体皮肤进行药物透皮吸收实验。本实验空白中的内源性物质对样品中各成分的测定无干扰, 表明该方法的专属性良好。同一质量浓度的血竭素、三七皂苷 R₁对照品溶液 1 d 内重复进样 6 次, 峰面积评价结果表明, 两个成分的日内精密性 RSD 值分别为 0.89%、0.91%, 且 24 h 峰面积 RSD 值分别为 1.40%、1.38%、1.36%、1.55%, 表明 24 h 内稳定性良好。两者累积透皮量随着时间的增加而增大, 且两种成分的累积透皮量: 巴布剂 > 散剂; 渗透速率: 巴布剂 > 散剂, 进一步确证了中药巴布剂具有透皮吸收促进效果好、安全性高等优势^[15-16]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王琳珏, 郑昆仑, 谷福顺. 神效散联合交变脉冲磁疗仪治疗急性踝关节扭伤的临床研究 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2014, 22(2): 140-142.
- [2] 于智强, 谷福顺, 王爱国. 点穴手法结合神效散外敷治疗急性踝关节扭伤 46 例 [J]. 吉林中医药, 2011, 31(9): 891-892.
- [3] 李 宁. 传统散剂在临床中的应用 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(10): 119-120.
- [4] 张 影, 陈小勇. 浅谈中药巴布剂的研究现状 [J]. 中医药信息, 2015, 32(5): 116-118.
- [5] 李慧敏, 王晓辉, 李京洋, 等. 木香提取物巴布剂基质配方优化与体外透皮特性考察 [J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2019, 28(7): 7-12.
- [6] 杨大凯, 刘志辉, 刘汉清. 消炎镇痛巴布膏剂的体外透皮吸收研究 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 881-885.

- [7] 梁佳敏, 李楠, 徐海蓉, 等. 经皮给药系统的体外释放、透皮特性及体内药动学研究进展 [J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2013, 22(12): 1137-1140.
- [8] 李琳, 杨晓艳, 杨野, 等. 三七素体外经皮渗透性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2563-2567.
- [9] Balázs B, Vizser Áek G, Berk óS, *et al.* Investigation of the efficacy of transdermal penetration enhancers through the use of human skin and a skin mimic artificial membrane [J]. *J Pharm Sci*, 2016, 105(3): 1134-1140.
- [10] 庞晓晨, 成睿珍, 赵静, 等. 中药透皮给药系统研究进展及其新剂型的应用 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(3): 286-291.
- [11] 谢彬, 王雪峰, 王思源. 敷胸方不同剂型的体外透皮吸收效果比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(15): 1-4.
- [12] 王爱国, 谷福顺, 赵敏, 等. 神效散外用联合追风透骨胶囊口服治疗急性痛风性关节炎临床观察 [J]. 山西中医学院学报, 2017, 18(4): 20-21.
- [13] 余德文, 杨宇, 杨海捷, 等. 龙血竭乙醇液与云南白药气雾剂治疗急性软组织损伤的临床对照研究 [J]. 中华保健医学杂志, 2013, 15(2): 97-98.
- [14] 陈思思, 郑杭生, 王娟, 等. 三七总皂苷传递体的制备及其治疗大鼠急性软组织损伤作用研究 [J]. 中草药, 2015, 46(14): 63-68.
- [15] Herman A, Herman A P. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: A review [J]. *Pharm Pharmacol*, 2015, 67(4): 473-485.
- [16] Jiang Q D, Wu Y M, Zhang H, *et al.* Development of essential oils as skin permeation enhancers: Penetration enhancement effect and mechanism of action [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 1592-1600.

[责任编辑 解学星]