

消炎镇痛巴布膏剂的体外透皮吸收研究

杨大凯¹, 刘志辉², 刘汉清^{1*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中医院, 江苏 南京 210029

摘要:目的 对消炎镇痛巴布膏剂中的主药丹参透皮特性进行研究, 优选消炎镇痛巴布膏剂最佳渗透促进剂。方法 以丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 为指标性成分, 采用 Franz 扩散池法进行体外透皮吸收实验, 用 HPLC 法测定丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 在不同促渗剂下的透皮吸收速率和累积透皮渗透量。结果 丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 在不同的促渗剂下具有不同的透皮吸收量, 在氮酮-丙二醇 (1:1) 促渗条件下, 巴布剂中丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 透皮吸收速率分别为 3.62、1.35 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ (大鼠皮肤), 24 h 累积渗透量分别为 88.72、16.12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 分别是不含促渗剂的巴布膏剂透皮吸收速率的 6 倍和 10 倍。结论 以氮酮-丙二醇 (1:1) 作为渗透促进剂, 对水溶性丹酚酸 B 和脂溶性丹参酮 II_A 都有较好的促渗作用。

关键词: 消炎镇痛巴布膏剂; 渗透促进剂; 氮酮; 丙二醇; 丹酚酸 B; 丹参酮 II_A

中图分类号: R283.6; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0881-05

Transdermal permeation *in vitro* of Xiaoyan Zhentong Cataplastm

YANG Da-kai¹, LIU Zhi-hui², LIU Han-qing¹

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To study the transdermal penetration absorption of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, the monarch drug in Xiaoyan Zhentong Cataplastm and to optimize the transdermal penetration enhancers of Xiaoyan Zhentong Cataplastm. **Methods** The Franz diffusion cell was used to study the *in vitro* permeation behavior, and salvianolic acid B and Tanshinone II_A were chosen as indexes. Samples with different penetration enhancers were assayed by HPLC method to determine the cumulative permeation quantity and permeation rate of salvianolic acid B and Tanshinone II_A. **Results** When azone-propylene glycol (1:1), the permeation rates of salvianolic acid B and Tanshinone II_A through rat skin *in vitro* were 3.62 and 1.35 $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, respectively, and the 24 h permeated amounts were 88.72 and 16.12 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively. Compared with the Xiaoyan Zhentong Cataplastm without penetration enhancers, the permeation rates increased by 6 and 10 times, respectively. **Conclusion** The combination of Azone-propylene glycol (1:1) is an effective penetration enhancer both to water-soluble salvianolic acid B and liposoluble Tanshinone II_A.

Key words: Xiaoyan Zhentong Cataplastm; penetration enhancers; Azone; propylene glycol; salvianolic acid B; Tanshinone II_A

消炎镇痛膏是江苏省中医院用于软坚消肿、活血止痛的伤科外用糊剂, 由丹参、续断、皂角等药材制成, 临床应用多年, 疗效肯定, 尤其对慢性损伤和损伤后遗症具有较好的治疗作用。但原剂型存在使用不方便, 易污染衣物等缺点, 设计将其研究制成巴布膏剂^[1-2], 旨在有效解决其临床应用的顺应性, 提高其有效性。作为外用制剂, 促渗剂^[3]的应用是其研究重点之一。本实验采用体外透皮实验, 优选消炎镇痛巴布膏剂的最佳渗透促进剂。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司, 包括: G1311A 四元泵、G1316A 柱温箱、G1314A VWD 检测器、Agilent Chemstation 紫外检测器软件、10 μL 定量进样环), BP—211D 型电子分析天平 (德国 Sartorius), 78—1 型恒温磁力加热搅拌器 (杭州仪表电机厂), 数显恒温水浴锅 HH—4 (国华电器有限公司), 改良 Franz 扩散池 (自制, 接收池体积 5 mL, 接收池有效接触面积 2.25 cm^2)。

丹酚酸 B 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111562-200706); 丹参酮 II_A 对照品 (中国药

收稿日期: 2010-08-20

作者简介: 杨大凯 (1983—), 女, 博士研究生, 主要从事中药新剂型研究。Tel: 13912976480 E-mail: yangdakai@126.com

*通讯作者 刘汉清 Tel: (025)85811517 E-mail: hqliu636@yahoo.com.cn

品生物制品检定所,批号 0766-200010)。药材提取物浸膏由江苏省中医院制剂部提供,批号 20090107。明胶(上海天晟医疗器材有限公司),卡波姆 940(南京赛普高分子材料有限公司),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,广州市化学试剂玻璃仪器批发部),聚乙烯醇 124(上海试剂一厂),甘油、丙二醇、氮酮(无锡市正达医药卫生用品厂),高岭土(国药集团化学试剂有限公司),高效液相色谱所用试剂为色谱纯,水为超纯水。

SD 大鼠,由江苏省中医院药理实验室动物中心提供,动物合格证号:200801205。

2 方法与结果^[4-11]

2.1 消炎镇痛巴布膏剂的制备

2.1.1 不含促渗剂的消炎镇痛巴布膏剂的制备 称取 4 g 卡波姆,配置成 0.5%溶液,充分溶胀后作为 I 相;称取聚乙烯醇 18 g,加入适量水充分溶胀后,加热至 70 ℃使溶解,再依次加入高岭土 10 g 和 10%明胶溶液 330 g,50 ℃慢速(60 r/min)搅拌 15 min,作为 II 相;量取 80 mL 甘油-丙二醇(1:1)混合液,加入 5% CMC-Na 溶液 168 g 研匀,作为 III 相。

将 III 相和 II 相 50 ℃慢速(60 r/min)搅拌 15 min 后,加入 I 相继续搅拌 10 min,再加入药材提取物浸膏 2 g,搅拌均匀,涂布,置冰箱冷藏(-5℃) 30 min,盖膜。

2.1.2 含促渗剂的消炎镇痛巴布膏剂的制备 制备时加入药材提取物浸膏后,再加入设计量的促渗剂(经预试确定,见表 1),余同上述方法操作,制得含不同促渗剂的 8 种供试样品。

2.2 离体皮肤的制备

将正常大鼠处死,迅速将其背部毛剃净,剥离背部皮肤并除去皮下脂肪、血管,用蒸馏水反复冲洗至净,再用生理盐水冲洗数遍,置生理盐水中冷藏备用(3 d 内使用)。

2.3 丹酚酸 B 的体外透皮吸收试验

采用 Franz 装置,固定,在接收室中加入 37 ℃预温的生理盐水。于冰箱中取出离体大鼠皮肤,以生理盐水洗净,用滤纸吸干表面水分;将相同面积的供试样品贴于皮肤角质层面,然后将其夹在接收室与供给室之间,贴药面朝向供给室,皮肤面朝向接收室。将 Franz 装置置于温度(37±0.5)℃超级恒温水浴中,电磁恒速(100 r/min)搅拌。分别于 2、4、6、8、12、24 h 取样 5 mL,并即时补充同体

积 37 ℃预温的生理盐水。样液用甲醇定容至 10 mL(此时甲醇体积分数为 50%),0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,收集续滤液,作为测定用供试品溶液。测定结果按下列公式计算累积渗透量(Q)。

$$Q = C_n V / A \quad C_n = C_1 + C_2 + \dots + C_j$$

Q 为累积渗透量, A 为接收池面积, V 为接收液体积, j 为接收液取样时间, C_n 为第 n 个取样点的累积药物质量浓度

2.4 丹酚酸 B 及其透皮渗透量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)柱,流动相为乙腈-甲酸-水(23:1:76),体积流量 1 mL/min,柱温 30 ℃,检测波长 286 nm,进样量 10 μL。理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算不低于 5 000。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取丹酚酸 B 对照品 6.43 mg,置 25 mL 量瓶中,50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;吸取适量对照品溶液,分别加 50%甲醇稀释成质量浓度为 32.15、16.08、8.04、4.02、2.01 μg/mL 的系列对照品溶液,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液作为对照品溶液。

2.4.3 阴性对照液的制备 取同法制备不含丹参药材的消炎镇痛巴布剂 1 片,按供试品溶液制备方法制成阴性对照液。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取不同质量浓度的丹酚酸 B 对照品溶液各 10 μL,分别注入液相色谱仪中,测定其色谱峰面积积分值。以丹酚酸 B 质量浓度为横坐标,相应色谱峰面积积分值为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 12.898 X + 0.797 3$, $r = 1.000 0$,表明丹酚酸 B 在 2.01~32.15 μg/mL 与色谱峰面积呈良好线性关系。

2.4.5 样品测定 分别取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,计算各样品累积渗透量,结果见表 1、2。阴性对照对丹酚酸 B 测定无干扰。

在氮酮-丙二醇(1:1)时,丹酚酸 B 透皮吸收速率最大,是不含促渗剂巴布膏剂的 6 倍左右;24 h 累积渗透量约为 88 μg/cm²,经计算其转移率为 40.3%。

2.5 丹参酮 II_A 的体外透皮吸收试验

渗透介质为 50%乙醇,余同“2.3”项下,制得测定用供试品溶液。

2.6 丹参酮 II_A 及其透皮渗透量测定

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为甲醇-水(75:25),

表 1 不同样品的丹酚酸 B 累积渗透量

Table 1 Cumulative permeation amount of salvianolic acid B in different samples at various times

样 品	累积渗透量/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)					
	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h
不含促渗剂	1.230	2.464	3.739	4.910	7.150	14.300
1%氮酮	1.671	3.291	5.238	6.719	10.975	22.226
3%氮酮	5.410	12.198	19.073	24.465	39.179	75.068
5%氮酮	3.670	6.961	10.131	13.628	20.296	40.230
3%丙二醇	2.001	3.865	5.998	7.786	11.453	21.003
5%丙二醇	2.354	4.786	6.989	8.766	13.689	28.992
氮酮-丙二醇 (1:1)	8.921	16.786	22.345	34.321	45.653	88.725
氮酮-丙二醇 (1:2)	4.002	7.876	10.231	15.103	18.732	34.216
氮酮-丙二醇 (1:3)	3.856	6.998	9.233	13.233	17.112	33.123

表 2 不同样品的丹酚酸 B 透皮释药方程

Table 2 Equations of cumulative percutaneous amount of salvianolic acid B in different samples

样 品	丹酚酸 B 释药方程	r^2	透皮吸收速率/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)
不含促渗剂	$Y=0.591\ 3\ X+0.114$	0.999 8	0.591 3
1%氮酮	$Y=0.942\ 3\ X-0.440\ 9$	0.999 3	0.942 3
3%氮酮	$Y=3.165\ 6\ X-0.312\ 7$	0.998 9	3.165 6
5%氮酮	$Y=1.664\ 5\ X+0.284\ 7$	0.998 9	1.664 5
3%丙二醇	$Y=0.860\ 5\ X+0.654\ 8$	0.997 5	0.860 5
5%丙二醇	$Y=1.209\ 9\ X+0.363\ 2$	0.998 3	1.209 9
氮酮-丙二醇 (1:1)	$Y=3.617\ 2\ X+2.364\ 9$	0.996 9	3.617 2
氮酮-丙二醇 (1:2)	$Y=1.343\ 0\ X+2.491\ 6$	0.990 9	1.343 0
氮酮-丙二醇 (1:3)	$Y=1.315\ 4\ X+1.648\ 9$	0.997 2	1.315 4

体积流量 1 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 270 nm, 进样量 10 μL 。

2.6.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II_A 对照品 5.08 mg, 置 25 mL 量瓶中, 70%甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 吸取适量对照品溶液, 分别加 70%甲醇稀释成质量浓度为 40.68、20.34、10.17、5.085、2.542 5、1.271 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液作为对照品溶液。

2.6.3 阴性对照液的制备 取同法制备不含丹参的消炎镇痛巴布剂 1 片, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照液。

2.6.4 线性关系考察 精密吸取不同质量浓度的丹参酮 II_A 对照品溶液各 10 μL , 分别注入液相色谱仪中, 测定其色谱峰面积积分值。以丹参酮 II_A 质量浓度为横坐标, 相应色谱峰面积积分值为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y=46.736\ X-0.463\ 4$, $r=0.999\ 9$, 结果表明丹参酮 II_A 在 1.271 25~40.68

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 与色谱峰面积呈良好线性关系。

2.6.5 样品测定 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 结果见表 3、4。

在氮酮-丙二醇 (1:1) 时, 丹参酮 II_A 透皮吸收速率最大, 是不含促渗剂巴布膏剂的 10 倍左右; 24 h 累积渗透量约为 16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 经计算其转移率约为 76.2%。

3 讨论

实验结果表明, 方中主药丹参的主成分丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 在促渗剂氮酮-丙二醇 (1:1) 作用下, 透皮吸收速率和 24 h 累积渗透量均最大, 故初步确定氮酮-丙二醇 (1:1) 为消炎镇痛巴布膏剂透皮吸收促渗剂; 但其对方中其他药材相关成分透皮吸收速率的影响尚待进一步研究。

氮酮能降低脂质体的相变温度, 增加脂质的流动性, 同时增加皮肤角质层含水量, 使该层细胞 (尤

表3 不同样品的丹参酮II_A累积渗透量Table 3 Cumulative permeation amount of Tanshinone II_A in different samples at various times

样 品	累积渗透量/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)					
	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h
不含促渗剂	0.106	0.206	0.311	0.416	0.612	1.498
1%氮酮	0.267	0.499	0.883	1.555	2.429	4.298
3%氮酮	0.948	2.271	3.288	4.267	6.176	11.184
5%氮酮	0.495	1.001	1.611	2.066	2.999	5.616
3%丙二醇	0.216	0.399	0.499	0.838	1.216	2.166
5%丙二醇	0.339	0.503	0.950	1.271	1.811	3.606
氮酮-丙二醇 (1:1)	1.233	2.616	4.107	4.999	7.661	16.122
氮酮-丙二醇 (1:2)	1.001	1.999	3.000	4.061	6.055	10.503
氮酮-丙二醇 (1:3)	0.998	1.721	3.002	3.990	5.995	10.106

表4 不同样品的丹参酮 II_A 透皮释药方程Table 4 Equations of cumulative percutaneous amount of Tanshinone II_A in different samples

样 品	丹参酮 II _A 释药方程	r^2	透皮吸收速率/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)
不含促渗剂	$Y=0.126\ 9\ X-0.135\ 3$	0.990\ 9	0.126\ 9
1%氮酮	$Y=0.377\ 4\ X-0.212\ 5$	0.986\ 5	0.377\ 4
3%氮酮	$Y=0.912\ 5\ X+0.861\ 3$	0.995\ 2	0.912\ 5
5%氮酮	$Y=0.461\ 8\ X+0.284\ 9$	0.997\ 6	0.461\ 8
3%丙二醇	$Y=0.179\ 8\ X+0.099\ 8$	0.991\ 3	0.179\ 8
5%丙二醇	$Y=0.300\ 5\ X+0.020\ 9$	0.997\ 6	0.300\ 5
氮酮-丙二醇 (1:1)	$Y=1.345\ 8\ X-0.315\ 9$	0.990\ 7	1.345\ 8
氮酮-丙二醇 (1:2)	$Y=0.862\ 0\ X+0.826\ 8$	0.992\ 9	0.862\ 0
氮酮-丙二醇 (1:3)	$Y=0.834\ 3\ X+0.816\ 4$	0.987\ 7	0.834\ 3

其是基底角质层的细胞) 膨胀, 药物在该层形成储备库, 从而维持一定的药物释放和作用时间^[12]。丙二醇是一种广泛使用的助渗剂, 单独使用时作用不明显。但丙二醇可以增加药物在角质层中的溶解度, 提高药物对皮肤的渗透性。氮酮-丙二醇系统是一种常见的二组分系统, 有时单独使用氮酮促透效果并不理想, 丙二醇的加入, 可以影响皮肤多层亲油层和连续性通道而增加药物的渗透性^[13], 即两者合用, 可产生明显的促透效果。实验结果表明, 氮酮-丙二醇二组分系统对丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 均能发挥较好的促渗作用, 提示其对二者的促渗透机制可能与上述文献报道^[12-13]相符, 而与促成分的水溶性或脂溶性关系不大。但对水溶性被促成分和脂溶性被促成分促渗作用大小应有差异。

本实验结果表明, 水溶性成分丹酚酸 B 可以透过皮肤, 但其透皮率仅为 $3.6\ \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, 分析原因可能是: ①丹酚酸 B 是大分子物质, 不易透过角质

层; ②丹酚酸 B 为水溶性物质, 虽然可以在该巴布剂中保持高的质量浓度, 但因其难于透过类脂双分子层, 对透皮吸收表现出相当的阻滞作用; ③水溶性的丹酚酸 B 和巴布剂亲水性基质亲和力较强, 限制了其释放; ④虽然在促透剂的作用下, 丹酚酸 B 的透皮率有所提高, 但水溶性药物制备巴布膏剂其透皮吸收效果仍不理想。

渗透介质的种类、用量对累积渗透量有重要影响, 因此, 应选择对被促成分溶解度较大且不会造成蛋白质变性的渗透介质。本实验中, 丹参酮 II_A 为脂溶性物质, 经测定, 油水分配系数为 6 056.21, 采用水性渗透介质透过量极低, 故考虑采用含醇介质。分别测定了丹参酮 II_A 在 95%、70%、50%、30% 乙醇溶液中的溶解度, 结果表明, 含醇量在 50% 以上的乙醇溶液对丹参酮 II_A 的溶解度都能满足要求, 且低体积分数乙醇不会引起蛋白质变性, 故选择采用 50% 的乙醇作为渗透介质。

参考文献

- [1] 王庆月, 唐斌斌, 杜书君, 等. 止痹痛巴布剂体内外透皮给药的相关性评价 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 484-486.
- [2] 郝保华, 王彦玲, 李伟泽, 等. 青风藤电离巴布剂电致孔透皮给药的药动学研究 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1060-1062.
- [3] 孔伶俐, 夏春英. 氮酮对小儿肺炎贴体外透皮吸收的促进作用 [J]. 中草药, 1998, 29(3): 170-171.
- [4] 刘成, 胡晋红, 朱全刚. 巴布剂透皮给药系统的基质设计 [J]. 第二军医大学学报, 2002, 23(8): 923-924.
- [5] 马运淑, 刘月圆. 黄连解毒巴布剂的研制与体外透皮吸收研究 [J]. 云南中医学院学报, 2002, 25(3): 31-33.
- [6] 寿张轩. 氮酮应用研究进展 [J]. 中国药业, 2002, 11(8): 73-74.
- [7] 陈凌云, 张卫兵, 张丽萍. 类风关巴布剂体外透皮吸收研究 [J]. 医药导报, 2004, 23(7): 444-445.
- [8] 毛林燕, 高家鉴, 褚东宁. 咳喘巴布膏的体外透皮实验研究 [J]. 中国现代应用药学, 2004, 21(3): 249-250.
- [9] 汪小根, 周莉玲. 跌打镇痛巴布剂体外透皮吸收实验 [J]. 医药导报, 2006, 25(5): 399-400.
- [10] 刘淑芝, 彭丽华, 郭春燕, 等. 两种巴布剂基质体外释放度研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 5-7.
- [11] 吴云鸣, 杨莉娅, 戴修道, 等. 含马钱子巴布剂的豚鼠离体皮肤透皮试验 [J]. 中成药, 1997, 19(7): 223-225.
- [12] 侯雪梅, 李国栋, 李卫华. 化学促渗剂及其机理的探讨 [J]. 上海医药, 2008, 29(5): 231-235.
- [13] 胡晋红, 陈岚, 朱宇. 药物透皮吸收促进剂及其联合应用 [J]. 国外医学: 药学分册, 1996, 23(2): 105-108.

天津中草药杂志社开通网上在线投稿系统

天津中草药杂志社编辑出版的4种期刊《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版)、《现代药物与临床》(原刊名《国外医药·植物药分册》)、《药物评价研究》(原刊名《中文科技资料目录·中草药》), 为提高稿件处理效率, 更好地为广大读者和作者服务, 中草药杂志社开通网上在线投稿系统。

1. 在线投稿请登陆天津中草药杂志社网站: <http://www.中草药杂志社.中国> 或 www.tiprpress.com 点击进入4刊网页, 在页面左侧有“作者登录”链接, 第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿; 作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。

2. 原则上不再采用电子邮件、纸质投稿。

衷心感谢广大读者、作者和编委对本刊长期以来的关心和支持!

天津中草药杂志社