

新型伤湿止痛贴膏剂体外释药规律研究

黎 丽¹, 闫小平^{1*}, 郑 蕊¹, 毛超一²

1. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091

2. 中国中医科学院, 北京 100700

摘要: 目的 研究新型伤湿止痛贴膏剂(热熔压敏胶基质)体外透皮速率和释放规律。方法 采用 HPLC 法测定透皮接收液和释放液中指标成分马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品的量, 计算其体外透皮速率和释放速率。结果 马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品在体外透皮试验中, 分别以 $7.44\% \cdot h^{-1/2}$ 、 $10.53\% \cdot h^{-1/2}$ 、 $4.73\% \cdot h^{-1/2}$ 的速率恒速渗透; 体外释药速率分别为 $10.35\% \cdot h^{-1/2}$ 、 $18.13\% \cdot h^{-1/2}$ 、 $4.88\% \cdot h^{-1/2}$, 其释放过程符合 Higuchi 方程。结论 以热熔压敏胶为基质的新型伤湿止痛贴膏剂为骨架控释型释药系统。

关键词: 伤湿止痛贴膏; 马钱子碱; 士的宁; 硫酸阿托品; 体外透皮渗透; 体外释放

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)12-2430-04

Determination of *in vitro* release rule of new type Shangshi Zhitong Plaster

LI Li¹, YAN Xiao-ping¹, ZHENG Rui¹, MAO Chao-yi²

1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

2. China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To determine the percutaneous rate and *in vitro* drug release rule of new type Shangshi Zhitong Plaster (hot-melt pressure sensitive adhesive). **Methods** The content of brucine, strychnine, and Atropine sulphate in percutaneous reception fluid and release fluid were determined by HPLC, and the *in vitro* percutaneous rate and *in vitro* drug release rate were computed. **Results** The *in vitro* percutaneous permeation at a constant rate of brucine, strychnine, and atropine were $7.44\% \cdot h^{-1/2}$, $10.53\% \cdot h^{-1/2}$, and $4.73\% \cdot h^{-1/2}$, and their *in vitro* release rates were $10.35\% \cdot h^{-1/2}$, $18.13\% \cdot h^{-1/2}$, and $4.88\% \cdot h^{-1/2}$. **Conclusion** New type Shangshi Zhitong Plaster which were made of hot-melt pressure sensitive adhesive can be prepared as controlled release matrix system of skin permeation rate-limited type.

Key words: Shangshi Zhitong Plaster; strychnine; brucine; Atropine sulphate; *in vitro* percutaneous permeation; *in vitro* release

伤湿止痛膏主要由肉桂、丁香、荆芥、防风、骨碎补、乳香、没药、白芷、川乌、草乌等中药精制而成。肉桂、丁香性味辛热, 能散寒止痛, 温通经脉; 乳香、没药味辛、苦, 能活血止痛; 白芷性味辛温, 能解表、祛风燥湿、止痛; 川乌、草乌性味辛热, 可祛风除湿、温经止痛。因此, 伤湿止痛膏能迅速渗透皮肤, 具有促进血液循环、化瘀止痛、行气活血、通经活络的功效, 多用于治疗风湿及跌打损伤所致急、慢性扭伤, 腰背关节酸痛, 四肢麻木痠挛等。伤湿止痛膏价格低廉而且使用方便, 在临床上应用广泛^[1]。传统伤湿止痛膏的制备采用橡胶为基质, 而基质的制备过程中加入大量汽油作为

溶剂, 因此制备工艺存在非常大的安全隐患。为了提高生产过程的安全性、减少橡胶膏基质的刺激性, 本课题组采用热熔压敏胶^[2]代替橡胶膏作为伤湿止痛膏的基质, 制备出新型伤湿止痛贴膏剂。本实验通过体外透皮试验和释放度试验研究新型伤湿止痛贴膏剂的体外释药特点。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); YB—P6 智能透皮试验仪(天津药典标准仪器厂); GR—202 电子分析天平(日本 AND); RC—806 溶出试验仪(天大天发科技有限公司)。

马钱子碱(批号 110706-200505, 中国药品生物

收稿日期: 2011-05-10

基金项目: “十一五” 中医外治特色疗法和外治技术示范研究(2008BAI53B076)

作者简介: 黎 丽, 在读硕士, 主要从事中药制剂工艺及质量控制研究。Tel: (010)62835423 E-mail: lili85020807@126.com

*通讯作者 闫小平 Tel: 13911620265 E-mail: zhengrui712@sina.com

制品检定所); 士的宁 (批号 110705-200306, 中国药品生物制品检定所); 硫酸阿托品 (批号 100040-200510, 中国药品生物制品检定所); 热熔压敏胶伤湿止痛膏 (批号 100913-2, 甘肃奇正藏药集团); 乙腈、甲醇为色谱纯; 液相用水为自制重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

SD 大鼠, 雄性, 体质量 230~250 g, 中国中医科学院西苑医院实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (京) 2006-0009。

2 方法与结果

2.1 马钱子碱、士的宁、硫酸阿托品的测定

2.1.1 色谱条件^[3] 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), G1314A VWD 检测器, 检测波长 210 nm, 流动相为乙腈-[0.01 mol/L 庚烷磺酸钠-0.03 mol/L 磷酸二氢钾 (1:1), 10%磷酸调节 pH 值至 2.8](20:80), 进样量 10 μL, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 理论板数按士的宁峰计算不低于 5 000。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取马钱子碱对照品 5.00 mg、士的宁对照品 5.30 mg、硫酸阿托品对照品 8.04 mg 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 制成含马钱子碱 100.0 μg/mL、士的宁 106.0 μg/mL、硫酸阿托品 160.8 μg/mL 混合对照品溶液。

2.1.3 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 mL, 分别用甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 按照上述色谱条件分别进样 10 μL 测定, 以马钱子碱、士的宁、硫酸阿托品的质量浓度为横坐标, 相应峰面积积分为纵坐标进行线性回归, 得回归方程分别为马钱子碱 $Y=24.833 X-0.9214$, $r=0.9998$; 士的宁 $Y=39.227 X-3.6598$, $r=0.9998$; 硫酸阿托品 $Y=9.4993 X-0.6576$, $r=0.9998$; 表明马钱子碱在 0.100 0~10.000 0 μg/mL、士的宁在 0.106 0~10.600 0 μg/mL、硫酸阿托品在 0.160 8~16.080 0 μg/mL 线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 (8 h 采样) 10 μL, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 分别计算峰面积的 RSD, 马钱子碱为 0.86%、士的宁为 0.66%、硫酸阿托品为 1.85%。

2.1.5 稳定性试验 取同一供试品溶液 (8 h 采样), 分别于制备后 0、3、6、9、12 h 进样, 每次 10 μL, 计算峰面积的 RSD, 马钱子碱为 2.25%、士的宁为 1.20%、硫酸阿托品为 3.03%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2 体外透皮试验

2.2.1 离体鼠皮制备^[4] 取体质量为 230~250 g 的雄性大鼠, 断颈处死, 即刻用电动剃毛刀剔除腹部鼠毛, 取下皮肤, 将取下的皮肤平铺于干净的玻璃板上, 角质层朝下, 用镊子剔除皮下的脂肪组织及粘连物后, 用生理盐水反复冲洗干净, 密封冷冻于 -10 °C 冰箱中保存, 于 1 周内使用, 每次实验前目视检查鼠皮的完整性, 如有破损则不得使用。

2.2.2 试验方法^[5] 采用改良 Franz 装置 (接收池体积为 28 mL, 接收池有效接触面积为 6.15 cm²), 取一定量的新型伤湿止痛膏, 精密称定 (0.170 3±0.004) g, HPLC 法测定含马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品分别为 (57.96±1.42)、(113.92±2.79)、(196.84±4.82) μg; 贴于大鼠皮肤上, 使之与皮肤表面密切接触, 将贴药后的皮肤放入接收室中, 真皮一侧与接收液接触, 接收池加 30%乙醇生理盐水作为接收液, 排除气泡, 使液面与皮肤接触。开动搅拌器和恒温 (37±1) °C 水浴, 磁力搅拌器恒速搅拌速率为 100 r/min, 在设定时间 1~72 h 内的不同时间点 (1、2、4、8、12、16、24、36、48、60、72 h) 倒出全部接收液, 同时补足同等体积新鲜接收液。将取出的接收液置于干燥蒸发皿中, 水浴蒸干, 用甲醇定容于 2 mL 量瓶中, 用 HPLC 测定马钱子碱、士的宁、硫酸阿托品的量, 计算累积透过量 (Q)。

2.2.3 数据计算及结果^[6] 按下列公式计算 Q 和累积透过率 (J)。

$$Q=C_n V$$

$$J=C_n V/M_0$$

$$C_n=C_1+C_2+C_4+\dots+C_j$$

M_0 为皮上样品中马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品的总给药量 (μg), V 为接收液体积 (mL), j 为取样时间点 (h), C_n 为取样时间点接收液的累积质量浓度 (μg/mL)

以 Q 为纵坐标, 时间 (t) 为横坐标, 体外透皮释药曲线见图 1。

按照常用的 4 种释放模型拟合, Q 与 t 之间有相关性的函数关系分别为零级速率模型、一级速率模型、Higuchi 模型和威布尔模型, 根据不同拟合模型所得的相关系数 (R^2) 选择最佳的释放模型。

由数学模型拟合结果的 R^2 可知, 马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品体外透皮释放更符合 Higuchi 模型, 以 Q 对时间 $t^{1/2}$ 进行 Higuchi 方程拟合^[7]。马钱子碱、士的宁和硫酸阿托品的体外透皮释放方程分

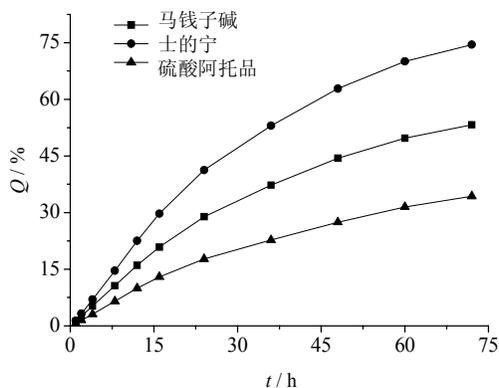


图 1 体外透皮释放曲线

Fig. 1 Curves of percutaneous release *in vitro*

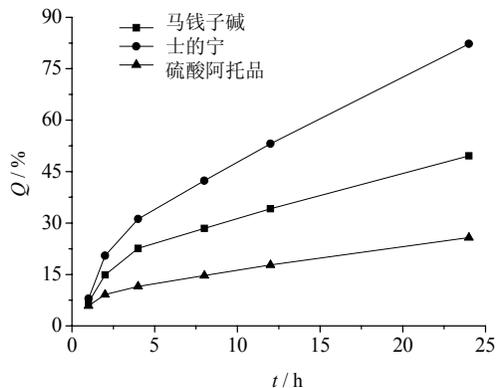


图 2 体外溶出释放曲线

Fig. 2 Curves of dissolution release *in vitro*

别为 $Q=7.4415 t^{1/2}-8.4474$ ($R^2=0.9952$), $J=7.4415\% \cdot h^{-1/2}$; $Q=10.533 t^{1/2}-12.131$ ($R^2=0.9941$), $J=10.533\% \cdot h^{-1/2}$; $Q=4.7315 t^{1/2}-5.6727$ ($R^2=0.9963$), $J=4.7315\% \cdot h^{-1/2}$ 。

2.3 体外释放度试验^[8-9]

按照《中国药典》2010年版二部附录XD释放度测定法项下第三法进行试验。将伤湿止痛贴膏裁剪成5cm×6cm的贴片，固定于两层碟片之间，释放面朝上，置于溶出仪中的溶出杯下部，并使贴片与浆底旋转面平行，两者相距(25±2)mm，将一定量的30%乙醇生理盐水加入溶出杯内，排除碟片底下的气泡，预温于(32±0.5)℃，转速为150r/min，搅拌，在设定时间1~24h内不同时间点(1、2、4、8、12、24h)取样10mL，并及时补充同体积新鲜脱气释放介质，排除碟片底下的气泡，继续进行试验。取出的液体置于蒸发皿中蒸干，甲醇定容于2mL量瓶中，HPLC法测定马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品的量，按峰面积计算J(计算方法同体外透皮试验)；以时间t为横坐标，各时间点马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品的Q为纵坐标作图，马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品的体外溶出释放曲线见图2。

由数学模型拟合结果的 R^2 可知，马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品三者的体外溶出释放与以上4个模型均有相关性，进一步比较 R^2 ，其体外溶出释放更符合Higuchi模型，以Q对时间 $t^{1/2}$ 进行Higuchi方程拟合，马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品的释放方程分别为 $Q=10.349 t^{1/2}-0.8237$ ($R^2=0.9854$), $J=10.349\% \cdot h^{-1/2}$; $Q=18.134 t^{1/2}-7.6063$ ($R^2=0.9925$), $J=18.134\% \cdot h^{-1/2}$; $Q=4.8763 t^{1/2}+1.4254$ ($R^2=0.9928$), $J=4.8763\% \cdot h^{-1/2}$ 。

3 讨论

新型(热熔压敏胶基质)伤湿止痛膏的体外释药随时间呈递增过程，释药曲线符合骨架型结构的Higuchi方程的扩散模式，表明该制剂为骨架控释系统。比较新型伤湿止痛膏中马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品释放速率与透皮速率，在相同时间(24h)释放速率大于透皮速率，说明皮肤是药物透皮达作用部位的主要限速步骤，该制剂为皮肤限速型的骨架控释系统。

本实验分别对其所含的马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品进行了体外透皮释放和体外溶出释放研究，结果表明，新基质伤湿止痛贴膏的基质更有利于亲脂性成分马钱子碱和土的宁的释放，而对于亲水性成分硫酸阿托品的释放有一定限制，但是三者的释放规律均符合Higuchi方程的扩散模式。在此基础上，有关热熔压敏胶的释放性能有待于进一步研究。

新型(热熔压敏胶基质)伤湿止痛膏的处方主要由伤湿止痛浸膏、颠茄浸膏和芸香浸膏组成，硫酸阿托品为颠茄浸膏的主要成分，亦是止痛的关键成分之一，其量较大，故将其作为定量测定的一项指标成分；马钱子碱和土的宁为生马钱子的有效成分，二者即是止痛的有效成分，又是毒性成分，对其进行定量测定有助于控制该制剂的安全性。虽然乌头碱亦是毒性成分之一，但由于制剂中川乌和草乌同时入药，对乌头碱的定量限度难以控制，因此未作为定量测定的指标成分。

伤湿止痛贴膏为中药外用复方制剂，所含成分复杂，相互干扰大，本实验采用HPLC法在同一色谱条件下测定方中的马钱子碱、土的宁和硫酸阿托品3种生物碱的量，结果稳定，色谱分离效果良好，精密度高，准确可靠，可用于该制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 沈炜东, 杨晓美. 伤湿止痛膏的临床应用 [J]. 临床军医杂志, 2004, 32(5): 103-104.
- [2] 王承潇, 汤秀珍, 沈平孃, 等. 热熔压敏胶应用于中药贴剂的研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 496-499.
- [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): 1053-1056.
- [4] 王红梅, 张彤, 赵婷婷, 等. 消痛贴膏中润湿剂的透皮促透作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 686-687.
- [5] 官仕杰, 闫小平, 毛超一, 等. 微米大黄痤疮乳膏的透皮吸收研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(10): 1215-1217.
- [6] 杨立平, 邓桂明, 杨广民. 哮喘穴位贴片体外透皮速率和体外释放规律研究 [J]. 中国药房, 2009, 20(18): 1372-1374.
- [7] 王志强, 吴继禹, 张秀华. 用 Excel 软件对溶出数据进行多种曲线拟合和处理 [J]. 海峡药学, 2006, 18(1): 47-49.
- [8] 刘志敏, 牛欣, 杨学智, 等. 草乌提取物乌头碱和新乌头碱的透皮速率测定 [J]. 中西医结合学报, 2006, 4(1): 68-72.
- [9] 阙慧卿, 陈梦玲, 钱丽萍, 等. 贴剂溶出度的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(5): 388-391.

《药物评价研究》征稿与征订启事

《药物评价研究》(原《中文科技资料目录·中草药》)杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级药学科技学术性期刊, 双月刊, 国内外公开发行。桑国卫院士为名誉主编, 刘昌孝院士任编委会主任委员, 汤立达研究员为主编。

办刊宗旨: 报道药物评价工作实践, 推动药物评价方法研究, 开展药物评价标准或技术探讨, 促进药物评价与研究水平的提高, 为广大药物研究人员提供交流平台。

内容与栏目: 针对药物及其制剂的评价规范以及药理学评价、安全性评价、药效学评价、药物代谢动力学评价、临床评价、上市药物评价等评价研究的内容, 设置论坛、综述、方法学研究、试验研究(论著)、审评规范、国外信息、专题7个栏目。

读者对象: 药品管理、新药研发、药物临床应用、药学教育等相关的高等院校、科研院所、CRO组织、生产企业、药品管理与审评机构的研究人员、管理人员、临床医生和研究生等。

本刊的创办填补了药物评价领域期刊的空白, 将为我国广大药物研究人员提供一个交流的平台, 通过交流药物评价工作的实践经验, 发展和完善评价的方法学, 探讨评价相关的国际标准或指南, 提高我国的总体评价研究水平。

欢迎广大作者积极投稿, 广大读者踊跃订阅! 本刊自办发行, 订阅请直接与编辑部联系! 本刊热忱与中外制药企业合作, 宣传推广、刊登广告(包括处方药品广告)。

本刊已正式开通网上在线投稿、审稿、查询系统, 欢迎广大读者、作者、编委使用!

《药物评价研究》编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道308号(300193) 网址: www.中草药杂志社.中国

电话/传真: 022-23006822

www.tiprpress.com (在线投稿)

E-mail: der@tiprpress.com

开户银行: 兴业银行天津南开支行

帐号: 441140100100081504

户名: 天津中草药杂志社