

• 药剂与工艺 •

不同促渗剂对少腹逐瘀方外用贴剂中效应成分群体外透皮吸收的影响

黄晓晨^{1,2}, 宿树兰^{1,2*}, 钱大玮^{1,2}, 刘培^{1,2}, 尚尔鑫^{1,2}, 段金廛^{1,2*}

1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 考察不同浓度和不同种类促渗剂作用下, 少腹逐瘀方贴剂(SZTP)中9种效应成分的体外经皮渗透特性并优选适宜的促渗剂, 为SZTP的研发、临床用药和传统剂型改革提供科学依据。方法 采用改良的Franz扩散池, 以大鼠离体腹部皮肤为透皮屏障, 以UPLC-TQ/MS/MS测定不同时间点接收室中药物浓度, 运用主成分分析方法建立一种中药多组分经皮渗透研究的评价方法以求算累积渗透量及稳态透皮速率。结果 与无促渗剂组相比, 不同浓度促渗剂混合组稳态透皮速率(J_s)均明显增加, 说明促渗剂效果显著, 其中以2.5%氮酮+2.5%丙二醇促渗效果最为明显, 为无促渗剂组的2.7倍。结论 氮酮和丙二醇能显著促进SZTP中9种主要效应成分的经皮渗透效果, 为SZTP开发成经皮给药制剂提供了一定的依据和参考。

关键词: 促渗剂; 少腹逐瘀贴剂; 效应成分群; 经皮渗透; UPLC-TQ/MS/MS

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)21-3074-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.21.008

Effect of different penetration enhancers on percutaneous absorption of active components groups in Shaofu Zhuyu Transdermal Patches

HUANG Xiao-chen^{1,2}, SU Shu-lan^{1,2}, QIAN Da-wei^{1,2}, LIU Pei^{1,2}, SHANG Er-xin^{1,2}, DUAN Jin-ao^{1,2}

1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To study the effect of different penetration enhancers on the percutaneous absorption of nine active components in Shaofu Zhuyu Transdermal Patches (SZTP) across skin of mice and optimize the proper penetration enhancers in order to provide the scientific basis for SZTP research, clinical medication, and reform of the traditional forms. **Methods** Using improved Franz diffusion cells and taking isolated rat abdomen skins as transdermal barrier, the concentration of these components was determined by UPLC-MS/MS, then the total factor scores of the concentrations at different time were calculated using PCA and employed instead of the concentration to compute the cumulative amounts and steady fluxes. **Results** The results showed that compared to the control group, the steady fluxes of the other groups increased significantly, and furthermore, 2.5% azone with 2.5% propylene glycol manifested the best effect. The nine components could penetrate through skin well under the action of penetration enhancers. **Conclusion** Azone and propylene glycol could significantly promote the percutaneous penetration effect of the nine active components in SZTP, and it could provide a scientific basis for the preparation research of SZTP.

Key words: penetration enhancers; Shaofu Zhuyu Transdermal Patches; active components groups; transdermal delivery; UPLC-TQ/MS/MS

收稿日期: 2014-06-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30973885, 81373889); 江苏省高校自然科学基金重大基础研究项目(11KJA360002, 06KJA36022); 江苏省方剂高技术重点实验室建设项目(BM2010576); 江苏省理血方剂创新药物工程中心建设项目; 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心建设平台

作者简介: 黄晓晨(1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药及方剂功效物质基础研究。Tel: 18662947869 E-mail: hxc63hxc@126.com

***通信作者** 宿树兰 E-mail: sushulan@njutcm.edu.cn

段金廛 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

少腹逐瘀方 (Shaofu Zhuyu Decoction, SZD) 源于清代王清任的《医林改错》, 由当归、赤芍、川芎、五灵脂、蒲黄、小茴香、干姜、肉桂、延胡索、没药 10 味中药组成。方中以当归、赤芍、川芎为君药, 具有活血化瘀、养血调经之功效; 五灵脂、蒲黄、延胡索、没药为辅药, 以通利血脉、祛瘀止痛; 小茴香、干姜、肉桂为佐药, 温经散寒、理气止痛, 并引诸药直达少腹, 全方组合具有温经散寒、活血化瘀、消肿止痛之功效^[1]。现代研究表明, SZD 具有解痉、镇痛、抗炎、改善血液循环的药理作用^[1-4]。SZD 传统给药方式为口服给药, 而少腹逐瘀方贴剂 (Shaofu Zhuyu Transdermal Patches, SZTP) 经皮给药相对于口服给药具有独特的优势和特色, 例如给药方便, 药效作用时间长, 给药次数较少, 患者适应性较好, 用药方便等, 还可避免肝脏首关效应, 从而提高有效物质在体内的利用度。透皮药物传递系统 (transdermal delivery systems, TDS) 是指通过皮肤表面给药, 以达到局部或全身治疗作用的一类制剂, 具有安全性高、血药浓度稳定等优点, 近年来已引起广泛关注并有了长足发展^[5]。为了保证 TDS 的有效性、安全性并达到控释目的, 对药物的经皮渗透性进行研究十分必要, 从而为处方的设计和优化提供科学依据^[6-7]。体外经皮渗透实验可直接测定药物的透皮速率, 并可模拟体内微环境, 预测药物分子经过皮肤进入体内的动力学过程, 在处方工艺研究和促渗剂优化等方面具有重要意义^[8]。本实验在前期研究的基础上^[1,3-4], 评价了在不同浓度和不同种类促渗剂作用下 SZTP 中 9 种主要效应成分的体外经皮渗透特性并优选出适宜的促渗剂, 为 SZTP 的研发、临床应用和传统剂型改革提供一定科学依据与参考。

1 仪器与材料

ACQUITY™ UPLC 超高效液相色谱系统, 美国 Waters 公司; Xevo™ TQ 质谱系统, 美国 Waters 公司; TK—12D 透皮扩散试验仪, 上海锴凯科技贸易有限公司; Startorius BT1250 电子天平, 赛多利斯科学仪器北京有限公司; EPED 超纯水机, 南京易普易达科技发展有限公司; TDL240B 离心机, 上海安亭科学仪器厂。

对照品香蒲新苷 (TH, 批号 111573-200503)、咖啡酸 (CA, 批号 110885-200102)、没食子酸 (GA, 批号 110831-200302)、异鼠李素-3-O-新橙皮苷 (IN, 批号 111571-200402)、芍药内酯苷 (AF, 批号

110736-200833)、阿魏酸 (FA, 批号 110773-200611), 质量分数均 $\geq 98\%$, 购自中国食品药品检定研究院; 对照品普鲁托品 (PP)、延胡索乙素 (TP)、四氢非洲防己碱 (TB), 质量分数均 $\geq 98\%$, 实验室自制; 氮酮, 福建寿宁美菲思生物化学制品厂; 1, 2-丙二醇, 上海凌峰化学试剂有限公司; 乙腈, 色谱纯, Tedia 公司; 甲酸, 色谱纯, Merck 公司; 超纯水, 自制; 其余试剂均为分析纯。

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 (220 ± 10) g, 由浙江省实验动物中心提供, 合格证号 SCXK (浙) 2008-0033。

2 方法与结果

2.1 SZTP 有效部位的制备

称取 SZTP 组方药材粗粉 930.0 g, 按照当归-川芎-赤芍-肉桂-小茴香-五灵脂-没药-蒲黄-延胡索-干姜 (3:1:2:1:0.5:2:1:3:1:1) 比例配比, 水煎煮提取 2 次, 第 1 次加 10 倍量水煎煮 2 h, 第 2 次加 8 倍量水煎煮 1.5 h, 合并 2 次煎出液, 浓缩至一定体积, 将水煎液用 95% 乙醇调至含醇量为 80%, 放置 24 h, 滤过沉淀, 取上清液浓缩至生药量为 1.25 g/mL, 即得 SZD 混悬液, 其中 FA、TH、IN、AF、CA、GA、PP、TP、TB 分别为 0.56、0.16、0.19、0.69、3.70、2.60、0.17、0.13、0.19 mg/mL。

2.2 实验分组

实验前取“2.1”项下制备的 SZD 混悬液 240 mL, 分为 6 组后加入不同促渗剂: 无促渗剂组 (对照组); 5% 氮酮组 (组 1); 5% 丙二醇组 (组 2); 2.5% 氮酮+2.5% 丙二醇组 (组 3); 1% 氮酮+4% 丙二醇组 (组 4); 4% 氮酮+1% 丙二醇组 (组 5)。

2.3 离体大鼠皮肤的制备

取雄性 SD 大鼠, 麻醉后用电动剃须刀将腹部毛剔除干净, 24 h 后脱颈处死, 剥离腹部皮肤, 清除皮下血管及组织, 用纯水冲洗至无白色浑浊, 铝箔包裹后于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 备用。实验前将皮肤浸于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生理盐水中解冻, 将无菌纱布覆盖在角质层上, 在纱布上滴加含不同促渗剂的 SZD 混悬液 0.5 mL, 确保扩散至整个皮肤表面并充分接触 8 h, 除去纱布后用纯水洗净并立即使用^[7-8]。

2.4 体外透皮实验

采用垂直式 Franz 扩散池进行透皮实验, 将离体腹部皮肤角质层朝上固定于扩散池上, 接收池中加入 7.5 mL 接收液, 供给池中加入 3 mL 供给液, 水浴槽温度控制在 $(37 \pm 0.2)\text{ }^{\circ}\text{C}$, 磁搅拌子转速 200

r/min, 分别于加样后 1、2、4、6、8、10、12 h 从接收池取 250 μ L 接收液作为待测液, 同时补充等量等温的接收液。待测液 13 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清用于分析。

2.5 供给液和接收液的制备

每份供给液 3 mL, 分别为上述 6 组 SZD 混悬液, 接收液为 20%乙醇溶液, 使用前均预热至 37 $^{\circ}$ C, 并且超声除气。

2.6 对照品溶液的制备

精密称量 9 种成分的对照品适量于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 配制成混合对照品溶液, 其中 FA、TH、IN、AF、CA、GA、TP、PP、TB 的质量浓度分别为 212、117、105、123、150、149、236、187、228 μ g/mL。取上述混合对照品溶液并用空白皮肤接收液稀释成 7 个不同质量浓度的对照品工作液。

2.7 分析条件

2.7.1 液相条件 ACQUITYTM UPLC BEH C₁₈ 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m, Waters 公司); 流动相为 0.1%甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~1 min, 5%~10%乙腈; 1~6 min, 10%~30%乙腈; 6~7

min, 30%~40%乙腈; 7~8 min, 40%~95%乙腈; 8~10 min, 95%~5%乙腈; 体积流量 0.4 mL/min; 进样体积 2 μ L; 柱温 35 $^{\circ}$ C。

2.7.2 质谱条件 离子源: ESI 源; 毛细管电压 3 kV; 扫描方式: 多反应监测 (MRM) 方式, 正负离子模式, 选择监测的离子反应分别为 FA (-) m/z 193 $\rightarrow$ 134, TH (+) m/z 771 $\rightarrow$ 317, IN (-) m/z 623 $\rightarrow$ 314, AF (+) m/z 481 $\rightarrow$ 197, CA (+) m/z 181 $\rightarrow$ 89, GA (-) m/z 169 $\rightarrow$ 125, TP (+) m/z 356 $\rightarrow$ 192, PP (+) m/z 354 $\rightarrow$ 188, TB (+) m/z 342 $\rightarrow$ 178。各成分典型 MRM 色谱图见图 1。

2.8 方法学考察

取空白皮肤接收液、对照品溶液与样品溶液进行 UPLC-MS/MS 检测, 考察方法的专属性; 混合对照品工作液重复进样 6 次, 以峰面积为指标计算 RSD ($n=6$), 以考察方法的精密度; 样品溶液间隔 0、1、2、4、8、12、24 h 进样, 以峰面积为指标计算 RSD 值 ($n=6$), 考察样品的日内稳定性; 在已知各成分质量浓度的样品溶液中加入混合对照品工作液, 考察方法的平均回收率 ($n=6$)。结果表明, 空白皮肤接收液中的内源性浸出物不干扰各成分的

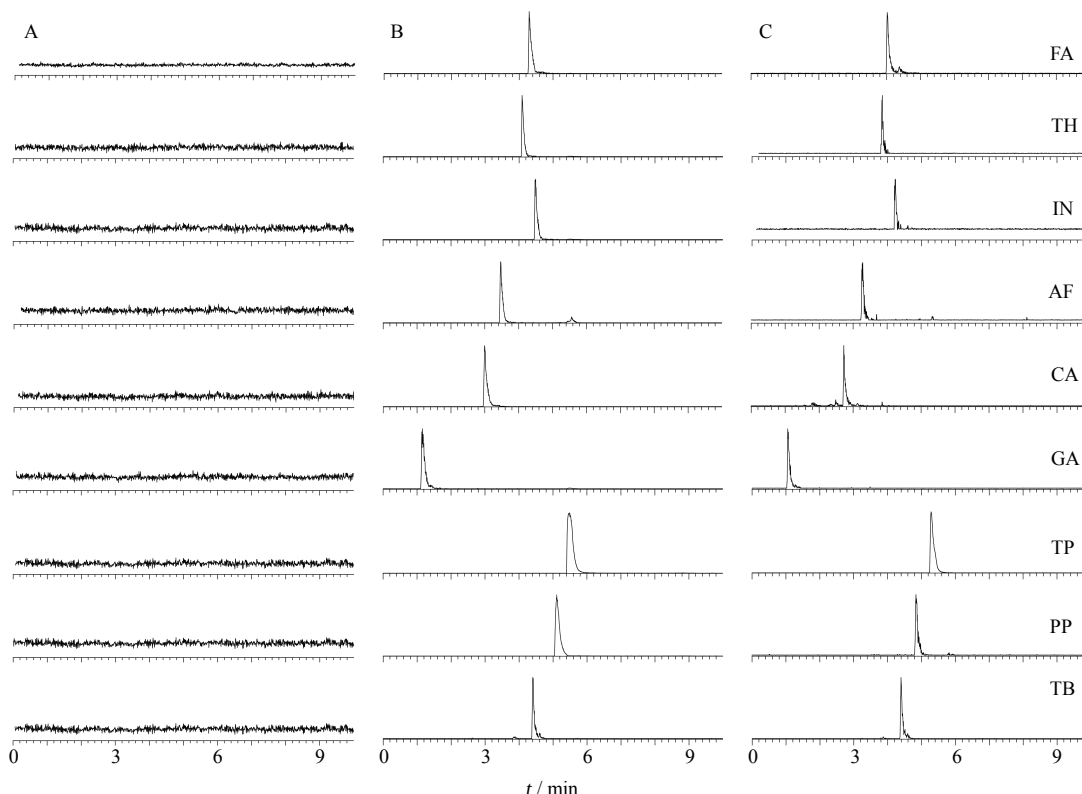


图 1 空白皮肤接收液 (A)、加对照品空白皮肤接收液 (B) 和样品接收液 (C) 中各成分典型 MRM 色谱图

Fig. 1 Representative MRM chromatograms of nine components in blank receptor solution (A), blank receptor solution spiked with reference substances (B), and sample solution (C)

测定,方法专属性良好;各成分精密度的RSD≤6.26%,日内稳定性的RSD≤5.91%,平均回收率为94.6%~106.3%,RSD≤6.19%,均符合分析要求。

2.9 标准曲线与定量限

取对照品工作液,13 000 r/min离心10 min后取上清进行UPLC-MS/MS检测,以各成分的质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程和线性范围,同时按信噪比(S/N)=10计算各成分的定量限。结果FA: $Y=1.962\,0\,X-86.081$, $r=0.999\,8$,线性范围0.052~53.0 $\mu\text{g/mL}$,定量限12.9 ng/mL; TH: $Y=0.778\,1\,X-30.844$, $r=0.999\,3$,线性范围0.114~29.3 $\mu\text{g/mL}$,定量限28.6 ng/mL; IN: $Y=0.395\,2\,X-35.185$, $r=0.998\,0$,线性范围0.103~6.56 $\mu\text{g/mL}$,定量限12.8 ng/mL; AF: $Y=1.638\,5\,X+58.013$, $r=0.999\,8$,

线性范围0.030~7.69 $\mu\text{g/mL}$,定量限7.5 ng/mL; CA: $Y=4.331\,9\,X+54.662$, $r=0.999\,7$,线性范围0.036~2.34 $\mu\text{g/mL}$,定量限11.9 ng/mL; GA: $Y=0.390\,8\,X+107.67$, $r=0.997\,8$,线性范围0.036~9.31 $\mu\text{g/mL}$,定量限8.64 ng/mL; TP: $Y=533.76\,X+1\,376.2$, $r=0.997\,3$,线性范围0.014~3.68 $\mu\text{g/mL}$,定量限0.12 ng/mL; PP: $Y=59.944\,X+232.87$, $r=0.999\,8$,线性范围0.012~2.92 $\mu\text{g/mL}$,定量限1.32 ng/mL; TB: $Y=31.084\,X+315.14$, $r=0.998\,3$,线性范围0.014~3.56 $\mu\text{g/mL}$,定量限0.19 ng/mL。

2.10 样品中各成分测定结果

将峰面积代入上述标准曲线求得不同时间各成分的质量浓度,结果见表1。由表1数据可以看出,多组分系统原始数据量庞大,且由于各组分的量差异较大,促渗剂对不同成分促渗作用强弱不一,难

表1 各组不同时间点各成分的质量浓度 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Concentrations of each component at different time points in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

成分	组别	质量浓度 / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)						
		1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
FA	对照组	0.170±0.036	0.883±0.232	2.390±0.570	3.548±0.500	6.102±1.373	7.886±1.527	8.757±0.832
	组1	0.186±0.075	0.678±0.044	1.271±0.119	1.727±0.227	2.223±0.279	2.783±0.320	3.326±0.230
	组2	0.510±0.101	1.265±0.211	2.953±0.396	4.343±0.894	7.496±0.621	8.026±1.135	8.583±1.140
	组3	0.423±0.016	1.130±0.129	2.060±0.512	3.733±0.342	3.983±0.485	4.931±0.160	5.840±0.300
	组4	0.587±0.174	1.563±0.408	3.175±0.610	4.720±0.580	5.827±0.406	6.347±0.912	7.477±0.268
	组5	0.108±0.016	0.435±0.010	1.183±0.073	1.251±0.333	3.000±0.216	3.290±0.463	3.678±0.426
TH	对照组	0.042±0.002	0.072±0.008	0.123±0.012	0.087±0.025	0.201±0.043	0.229±0.054	0.239±0.080
	组1	0.577±0.080	1.272±0.176	2.397±0.385	3.556±0.483	4.593±0.773	6.062±0.621	6.184±0.638
	组2	0.070±0.018	0.128±0.005	0.423±0.166	0.737±0.206	1.156±0.183	1.463±0.075	1.506±0.079
	组3	0.179±0.047	0.564±0.002	1.917±0.171	2.736±0.591	3.734±0.504	4.533±0.581	4.787±0.775
	组4	0.177±0.021	0.702±0.006	1.491±0.196	2.535±0.158	3.095±0.313	3.945±0.194	4.291±0.217
	组5	0.071±0.010	0.144±0.029	0.354±0.066	0.558±0.095	0.706±0.139	0.798±0.032	1.027±0.077
IN	对照组	0.092±0.016	0.115±0.023	0.175±0.018	0.220±0.061	0.201±0.024	0.406±0.013	0.357±0.125
	组1	0.190±0.066	0.490±0.085	1.750±0.134	3.024±0.125	3.165±0.205	4.512±0.466	4.415±0.271
	组2	0.090±0.001	0.122±0.028	0.383±0.102	0.876±0.148	1.097±0.128	1.302±0.224	1.850±0.074
	组3	0.152±0.014	0.394±0.134	1.563±0.154	2.435±0.114	3.264±0.599	3.702±0.424	3.823±0.299
	组4	0.141±0.019	0.365±0.071	1.289±0.086	2.442±0.232	3.435±0.287	3.544±0.211	3.980±0.268
	组5	0.097±0.007	0.163±0.024	0.205±0.032	0.412±0.146	0.913±0.206	1.420±0.180	1.925±0.187
AF	对照组	0.000±0.000	0.000±0.000	0.009±0.008	0.041±0.008	0.116±0.002	0.113±0.049	0.186±0.064
	组1	0.046±0.317	0.704±0.087	1.228±0.119	1.432±0.094	2.276±0.353	3.010±0.143	3.745±0.274
	组2	0.028±0.005	0.052±0.002	0.182±0.040	0.522±0.060	0.681±0.081	0.976±0.075	1.029±0.140
	组3	0.186±0.017	0.450±0.129	1.371±0.072	1.479±0.158	2.118±0.344	2.884±0.107	3.016±0.407
	组4	0.111±0.013	0.503±0.066	1.002±0.123	1.841±0.057	1.953±0.201	2.061±0.132	2.281±0.076
	组5	0.005±0.005	0.039±0.014	0.224±0.057	0.176±0.108	0.354±0.109	0.514±0.231	0.832±0.071

续表 1

成分	组别	质量浓度 / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)						
		1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
CA	对照组	0.011±0.011	0.054±0.021	0.273±0.086	0.401±0.065	0.673±0.185	0.924±0.215	1.053±0.303
	组 1	0.040±0.013	0.082±0.020	0.199±0.043	0.315±0.047	0.741±0.132	0.575±0.092	0.507±0.161
	组 2	0.072±0.017	0.181±0.061	0.403±0.120	0.832±0.085	0.907±0.182	1.250±0.152	1.275±0.306
	组 3	0.051±0.011	0.171±0.049	0.427±0.070	0.703±0.037	0.747±0.098	1.064±0.210	1.195±0.146
	组 4	0.097±0.027	0.241±0.090	0.669±0.121	0.910±0.177	1.325±0.116	1.434±0.115	1.450±0.158
	组 5	0.000±0.000	0.022±0.015	0.117±0.018	0.150±0.023	0.467±0.101	0.551±0.126	0.655±0.103
GA	对照组	0.000±0.000	0.804±0.218	3.094±0.767	4.258±0.712	8.468±0.911	10.181±1.508	10.325±1.482
	组 1	2.941±0.754	7.383±1.000	12.394±1.770	15.859±1.808	20.249±2.516	22.945±3.289	23.121±1.467
	组 2	1.269±0.265	2.777±0.258	7.794±0.738	10.369±2.968	12.263±2.415	14.163±2.950	15.370±2.429
	组 3	2.921±0.674	7.286±0.943	12.156±3.443	17.206±1.671	20.295±3.204	25.396±2.665	25.771±19.19
	组 4	2.523±0.585	7.112±1.002	11.072±3.955	18.324±1.023	20.564±2.057	21.131±2.683	20.703±2.439
	组 5	0.109±0.007	1.438±0.361	4.338±0.808	6.342±0.971	11.298±1.716	13.663±2.083	15.919±2.457
TP	对照组	0.000±0.000	0.000±0.000	0.004±0.001	0.009±0.001	0.022±0.006	0.031±0.006	0.041±0.005
	组 1	0.002±0.001	0.012±0.003	0.030±0.004	0.046±0.011	0.073±0.004	0.078±0.013	0.085±0.010
	组 2	0.000±0.000	0.002±0.001	0.008±0.002	0.019±0.003	0.029±0.003	0.033±0.008	0.040±0.008
	组 3	0.000±0.000	0.005±0.000	0.022±0.003	0.036±0.004	0.046±0.009	0.061±0.006	0.073±0.005
	组 4	0.000±0.000	0.006±0.001	0.020±0.001	0.027±0.009	0.042±0.008	0.051±0.006	0.056±0.005
	组 5	0.000±0.000	0.000±0.000	0.006±0.000	0.010±0.003	0.025±0.002	0.033±0.002	0.043±0.001
PP	对照组	0.000±0.000	0.000±0.000	0.008±0.002	0.013±0.003	0.025±0.005	0.040±0.007	0.046±0.007
	组 1	0.015±0.002	0.047±0.008	0.123±0.015	0.145±0.033	0.159±0.015	0.306±0.034	0.315±0.032
	组 2	0.001±0.000	0.004±0.002	0.024±0.004	0.041±0.006	0.054±0.010	0.073±0.012	0.082±0.015
	组 3	0.004±0.001	0.044±0.006	0.187±0.013	0.275±0.033	0.370±0.099	0.473±0.089	0.580±0.039
	组 4	0.004±0.003	0.018±0.004	0.061±0.004	0.128±0.016	0.164±0.015	0.162±0.016	0.220±0.030
	组 5	0.001±0.000	0.003±0.001	0.018±0.001	0.025±0.007	0.062±0.002	0.085±0.010	0.107±0.009
TB	对照组	0.000±0.000	0.000±0.000	0.023±0.009	0.060±0.005	0.177±0.026	0.263±0.030	0.322±0.026
	组 1	0.012±0.005	0.095±0.009	0.200±0.039	0.346±0.050	0.469±0.079	0.596±0.084	0.668±0.078
	组 2	0.000±0.000	0.008±0.001	0.062±0.008	0.119±0.028	0.204±0.040	0.317±0.037	0.308±0.059
	组 3	0.004±0.001	0.044±0.006	0.187±0.013	0.275±0.033	0.370±0.099	0.473±0.089	0.580±0.039
	组 4	0.002±0.002	0.052±0.010	0.190±0.017	0.282±0.051	0.397±0.042	0.417±0.031	0.458±0.066
	组 5	0.000±0.000	0.002±0.000	0.044±0.004	0.093±0.012	0.190±0.022	0.258±0.016	0.314±0.020

以直接从某个成分的参数或各成分参数之和判断整体渗透效果的优劣。因此,运用统计学方法简化数据,进行主成分分析(PCA),以客观评价整体促渗效果。

2.11 各组促渗剂经皮渗透效果评价

通过 3 个步骤完成中药多组分经皮渗透研究的评价:(1)通过体外透皮实验采用 UPLC-MS/MS 法测得各组中 9 种成分在不同时间点的质量浓度;(2)采用 PCA 对数据进行降维处理,获取能反映原始变量的主成分及其贡献率,并计算不同时间的总

因子得分(F);(3)以 F 代替质量浓度,按下式计算单位面积累积渗透量(Q):

$$Q=(VF_n+V_0\sum_{i=1}^{n-1}F_i)/A$$

F_n 、 F_i 为第 n 个和第 i 个时间点的 F , V 为扩散池体积(7.5 mL), V_0 为每次取样体积(0.25 mL), A 为扩散渗透面积(2.92 cm²)

将 Q 对时间(t)作图,并进行线性拟合,计算稳态透皮速率(J_s),并以 J_s 的大小来判断促渗剂的优劣。

2.11.1 主成分提取及贡献率计算^[9] 为了寻求不同组各成分经皮渗透的规律,对各组中 9 种成分不同时间点的质量浓度进行 PCA,结果见表 2。由表 2 可知,第 1 个因子的贡献率为 80.26%,第 2 个因子的贡献率为 14.59%,前 2 个因子的累积贡献率达到了 94.84%,说明前 2 个因子对指标的影响均起着主导作用,且保留了原始变量的绝大部分信息,能够比较客观地反映和代表指标的总体特征和趋势,因此选取这 2 个因子作为分析所用的主成分。

表 2 主成分特征值与贡献率
Table 2 Eigenvalues and contribution rate of main components

主成分	初始特征值		
	特征值	方差贡献率 / %	累积方差贡献率 / %
1	7.22	80.26	80.26
2	1.31	14.59	94.84
3	0.22	2.42	97.27
4	0.13	1.48	98.74
5	0.05	0.57	99.31
6	0.03	0.30	99.61
7	0.02	0.21	99.82
8	0.012	0.13	99.95
9	0.00	0.05	100.00

主成分	旋转后特征值		
	特征值	方差贡献率 / %	累积方差贡献率 / %
1'	5.96	66.22	66.22
2'	2.58	28.62	94.84

2.11.2 F 计算 F 能较全面地反映原始变量的相关关系,以主成分因子得分与其方差贡献率乘积之和相加,得出各组样品的 F ,是构造综合评价函数的常用方法,可对样品进行综合评判,其计算公式为 $F=0.662 2 F_1+0.286 2 F_2$,按公式计算出的各组样品不同时间的 F ,具体结果见表 3。

2.11.3 经皮渗透参数计算及方程拟合 将表 3 中各组不同时间点的 F 代入上述方程求得 Q ,并将 Q 与 t 进行拟合,求得回归方程,所得方程的斜率即为 J_s ,具体结果见表 4。从表 4 可知,与对照组相比,其余各组 J_s 均明显增大,说明促渗剂促渗效果明显,其中以组 1 和组 3 促渗效果最明显(分别为对照组的 2.6 倍和 2.7 倍),而组 3 为联合使用促渗剂可发挥协同促渗作用,从而减少促渗剂的用量,降低毒性反应,又可使主药发挥最佳效能,且氮酮、

表 3 各组总因子得分
Table 3 Scores of total factors in each group

组别	F						
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
对照组	-0.82	-0.79	-0.68	-0.59	-0.35	-0.18	-0.07
组 1	-0.71	-0.41	0.07	0.46	0.91	1.38	1.53
组 2	-0.79	-0.72	-0.50	-0.23	-0.02	0.20	0.30
组 3	-0.74	-0.52	0.08	0.48	0.86	1.32	1.56
组 4	-0.74	-0.51	-0.08	0.41	0.76	0.90	1.06
组 5	-0.81	-0.78	-0.63	-0.53	-0.22	-0.03	0.18

表 4 不同组经皮渗透参数
Table 4 Permeation parameters of samples with different penetration enhancers

组别	渗透方程	r^2	J_s
对照组	$Y=0.389 5 X-2.912 4$	0.984 2	0.389 5
组 1	$Y=1.019 2 X-2.815 7$	0.988 0	1.019 2
组 2	$Y=0.541 9 X-2.856 2$	0.989 3	0.541 9
组 3	$Y=1.043 3 X-2.990 1$	0.987 3	1.043 3
组 5	$Y=0.826 3 X-2.648 9$	0.981 1	0.826 3
组 5	$Y=0.485 1 X-3.012 0$	0.991 6	0.485 1

丙二醇是常见的促渗剂组合,氮酮具有相当的亲脂性,与极性溶剂丙二醇合用,丙二醇能够增加氮酮在皮肤角质层的溶解度,从而提高氮酮对皮肤角质层的作用时间和作用强度,并可有效地缩短时滞^[10],因此,优选 2.5%氮酮+2.5%丙二醇作为适宜的促渗剂。

3 讨论

3.1 促渗剂的选择

提高药物的透皮速率是开发经皮给药系统的关键,一般多采用促渗剂的方式达到促进透皮吸收效果。因此,适宜的促渗剂种类、浓度等对药物促渗透作用是非常重要的。氮酮是目前常用的化学促渗剂之一^[11],其可破坏角质层脂质,增加角质层间细胞的流动性,降低药物的扩散阻力,且氮酮可作用于细胞内脂质,使扩散阻力减少。丙二醇属于脂肪醇类促渗剂,可增加药物的溶解度,与氮酮合用可延长氮酮在角质层中的滞留时间,从而延长促渗时间。

前期研究发现氮酮与丙二醇在低浓度($\leq 5\%$)促渗效果较好,随着浓度升高促渗效果逐渐减弱,甚至对某些成分产生一定的抑制作用。因此,本实验选择的促渗剂浓度为 5%。研究结果表明,5%氮

酮促渗效果优于 5%丙二醇,与文献报道相符^[12];而不同配比的氮酮与丙二醇合用则表现出一定的协同作用,其中以 2.5%氮酮+2.5%丙二醇促渗效果最为显著。

3.2 数据分析方法的选择

从表 2 数据分析结果可知,多组分系统原始数据量庞大,且由于各成分的量差异较大,促渗剂对不同成分促渗作用强弱不一,难以直接从某个成分参数或各成分参数之和判断整体渗透效果的优劣。而运用统计学方法可简化数据,PCA 是从多个变量之间的相互关系入手,利用降维的思想将多个变量化为少数几个互不相关的综合变量的统计学方法,并使这些综合变量尽可能保留原有信息。因此,近年来已有不少学者尝试将 PCA 方法应用于中药质量控制^[13-14]、原料药物物理特性^[15]以及配伍机制^[16]、中药复方贴剂制备工艺优化^[17]等方面。

本实验运用 PCA 方法对 SZTP 效应部位中多组分经皮渗透效果进行了整体分析与评价。经 PCA 后,原有 9 个成分可转换为 2 个主成分即可保留 94.84%的原始信息。药物经皮渗透性在很大程度上受到物理化学性质诸如相对分子质量、熔点、脂/水分配系数及热力学活度等的影响^[10],而 PCA 方法可探索并归纳出其中的潜在特征,通过求得 F 将原有多组数据转化为 1 组数据,既对原始数据进行了综合归一,亦简化了后续计算。进而采用各主成分的贡献率作为权重进行 F 的计算亦避免了在进行综合评价时采用主观定权的诸多弊端。

参考文献

- [1] 宿树兰, 华永庆, 段金廛, 等. 少腹逐瘀方对小鼠离体子宫收缩模型的生物效应及物质基础评价 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(6): 544-548.
- [2] 乐江, 程军, 汪晖, 等. 少腹逐瘀方分煎与合煎药理作用对比研究 [J]. 中成药, 2002, 24(11): 888-890.
- [3] 宿树兰, 段金廛, 王团结, 等. 少腹逐瘀方对寒凝血瘀大鼠模型血液流变性及卵巢功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 14-34.
- [4] Su S L, Duan J A, Wang P J, *et al.* Metabolomic study of biochemical changes in the plasma and urine of primary dysmenorrhea patients using UPLC-MS coupled with a pattern recognition approach [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(2): 852-865.
- [5] 刘继勇, 韩盈, 胡晋红, 等. 基于微乳凝胶新载体的丹皮酚经皮给药系统的构建及药代动力学研究 [J]. 药学学报, 2012, 47(2): 244-249.
- [6] Gu S Y, Gao J, Hou X M, *et al.* Effects of penetration enhancers on Shuangwu traumatic formula: *In vitro* percutaneous absorption and *in vivo* pharmacodynamic evaluation of an herb medicine [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 73(3): 385-390.
- [7] 童华, 胡晋红, 朱全刚. 6 种促进剂对西替利嗪体外经皮渗透的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24: 5-7.
- [8] Gomaa Y A, El-Khordagui L K, Garland M J, *et al.* Effect of microneedle treatment on the skin permeation of a nanoencapsulated dye [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(11): 1592-1602.
- [9] 程翼宇, 瞿海斌. 医药分析信息学及分析数据处理技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [10] 梁秉文, 叶祖光. 中药经皮给药制剂技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [11] 侯雪梅, 李国栋, 李卫华. 化学促渗剂及机制的探讨 [J]. 上海医药, 2008, 29(5): 231-235.
- [12] Purdon C H, Azzi C G, Zhang J, *et al.* Penetration enhancement of transdermal delivery — current permutations and limitations [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2004, 21(2): 97-132.
- [13] 宿树兰, 蒋海峰, 严辉, 等. 没药的质量分析与评价 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 364-371.
- [14] 严辉, 段金廛, 钱大玮, 等. 我国不同产地当归药材质量的分析与评价 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1988-1992.
- [15] 赵立杰, 冯怡, 徐德生, 等. 基于多元数据分析研究中药制剂原料吸湿性与其他物理特性的相关性 [J]. 药学学报, 2012, 47(4): 517-521.
- [16] 马增春, 周思思, 梁乾德, 等. 基于 UPLC-TOF/MS 分析人参附子配伍减毒的物质基础 [J]. 药学学报, 2011, 46(12): 1488-1492.
- [17] 李振皓, 刘培, 钱大玮, 等. 主成分分析用于香附四物方效应部位体外经皮渗透的研究 [J]. 药学学报, 2013, 48(6): 933-939.