

• 药剂与工艺 •

## 丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏体外释放及透皮特性比较研究

朱力阳, 马建, 涂禾

四川省骨科医院, 四川 成都 610041

**摘要:** 目的 比较丁桂活络膏与其改良剂型丁桂凝胶膏剂的体外释放及透皮特性。方法 分别采用微孔滤膜或 Strat-M 膜及改进的 Franz 扩散池进行体外释放及透皮试验, 用 HPLC 法定量分析制剂中君药羌活的有效成分羌活醇的量, 测定 2 种剂型的体外释放度、透皮量及透皮率。结果 丁桂凝胶膏剂的透皮方程为  $L_n = 9.208 t - 18.50$ ,  $r = 0.948$ , 体外累积释放度、透皮量、透皮率分别为 85.34%、0.661 8 mg/g、65.67%; 丁桂活络膏的透皮方程为  $L_n = 4.285 t - 6.704$ ,  $r = 0.977$ , 体外累积释放度、透皮量、透皮率分别为 67.87%、0.181 6 mg/g、31.35%。结论 丁桂凝胶膏剂的体外释放度、透皮量及透皮率均优于丁桂活络膏, 透皮特性明显优于原剂型, 且凝胶膏剂不易过敏, 贴敷方便。

**关键词:** 丁桂活络膏; 丁桂凝胶膏剂; 透皮试验; Strat-M 膜; 羌活醇

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)15-2223-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.15.008

## Comparison on release and transdermal behavior *in vitro* between Dinggui Gel Paste and Dinggui Huoluo Rubber Patch

ZHU Li-yang, MA Jian, TU He

Sichuan Provincial Orthopedic Hospital, Chengdu 610041, China

**Abstract: Objective** To compare the release and transdermal behavior *in vitro* between Dinggui Huoluo Rubber Patch (DHRP) and Dinggui Gel Paste (DGP) which is the improved form. **Methods** Microporous filter membrane or Strat-M membrane and advanced Franz diffusion cell were chosen in the release and transdermal experiment *in vitro*. The content of notopterol, the active component of the key herb *Notopterygium incisum* in the preparation, was quantitatively determined by HPLC method to determine the release rate, penetration quantity, and penetration rate of the two forms. **Results** The penetration formula of DGP was  $L_n = 9.208 t - 18.50$ ,  $r = 0.948$ . The *in vitro* cumulative release rate, penetration quantity, and penetration rate were respectively 85.34%, 0.661 8 mg/g, and 65.67%. The penetration formula of DHRP was  $L_n = 4.285 t - 6.704$ ,  $r = 0.977$ . The *in vitro* cumulative release rate, penetration quantity, and penetration rate were respectively 67.87%, 0.181 6 mg/g, and 31.35%. **Conclusion** The transdermal behavior of DGP is obviously better than that of DHRP while its quantity and the rate of penetration and release are all better than those of rubber patch. Meanwhile the gel paste is less sensitized and more convenient to use.

**Key words:** Dinggui Huoluo Rubber Patch; Dinggui Gel Paste; transdermal test; Strat-M membrane; notopterol

丁桂活络膏(批准文号: 川药制字 Z20080855) 原为橡胶膏剂, 主要含羌活、延胡索、独活、当归、没药、木香、丁香、肉桂、红花、川芎、续断、细辛等中药, 作为四川省骨科医院医院制剂治疗运动损伤、扭伤、关节疼痛、肌肉酸楚等病症疗效显著, 作为防治运动伤病的常用药在多个国家级运动队广

泛使用, 但橡胶膏剂易致过敏、透气性差, 笔者应用现代新技术, 将其制成凝胶膏剂<sup>[1]</sup>, 以改善不良反应, 提高疗效。本实验以方中君药羌活的有效成分羌活醇为评价指标, 采用 Strat-M 膜及改进的 Franz 扩散池进行体外透皮试验<sup>[2-3]</sup>, 比较了丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏透皮吸收特性的差异。

收稿日期: 2015-04-22

基金项目: 国家科技部科研院所技术开发研究专项资金(2012EG145135); 四川省科技支撑计划(2011SZ0306)

作者简介: 朱力阳(1984—), 男, 主管中药师, 研究方向为药物新制剂、新剂型。Tel: (028)87050716 E-mail: zhuliyang0813@126.com

## 1 仪器与材料

Waters 1525 高效液相色谱仪, Empower III 色谱工作站, 2707 自动进样器, 2487 紫外检测器, 美国 Waters 公司; TT-6D 透皮扩散仪, 天津市正通科技有限公司; BS110S 分析天平, Sartorius 公司; 超纯水机, 美国艾科浦公司。

羌活醇对照品, 中国食品药品检定研究院, 质量分数 99.8%, 批号 111820-201303; 部分被中和的聚丙烯酸钠 (NP700), 批号 350170A, 日本昭和电工株式会社; 丁桂凝胶膏剂, 自制, 批号 20140709; 丁桂活络膏, 四川省骨科医院生产, 批号 140503; Strat-M 膜, 批号 K4BA1004, 美国 Merck Millipore 公司; 乙腈 (批号 135189)、甲醇 (批号 137467), 色谱纯, Fisher 公司; 其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 丁桂凝胶膏剂制备工艺

将 NP700 加入甘油中搅拌均匀, 为 A 相; 将卡波姆 941 分散于水中充分溶胀, 随后加入酒石酸, 再加入甘羟铝, 为 B 相; 将处方药物用 8 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 浓缩成相对密度为 1.18 的浸膏, 将浸膏加入 A 相中, 再将 B 相缓慢加入 A 相, 并滴加三乙醇胺至中性, 混合搅拌均匀, 涂布后盖上防粘层, 保存。以制剂中羌活醇的量为质控指标。另称取不含羌活的处方药物按上述方法制成阴性丁桂凝胶膏剂样品。

### 2.2 定量测定

**2.2.1 色谱条件与系统适用性试验<sup>[4]</sup>** 色谱柱为 Waters SymmetryShield RP18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (60:40); 检测波长为 310 nm, 体积流量为 1.0 mL/min。理论板数按羌活醇峰计算应不低于 5 000。

**2.2.2 对照品溶液的制备及线性关系考察** 精密称取-4 °C 保存的羌活醇对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 60 μg/mL 的储备液, 备用。精密量取该储备液, 加甲醇分别稀释成质量浓度分别为 0.029 3、0.117 2、0.468 8、1.875、7.5、30、60 μg/mL 的系列对照品溶液, 取 20 μL 进样, 测定峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 羌活醇进样量为横坐标 (X), 绘制标准曲线并计算得回归方程为  $Y=48\,973.3 X-7\,831.2$ ,  $r=0.999\,8$ , 表明羌活醇在 0.586~1 200 ng 与峰面积成良好线性关系。

**2.2.3 供试品溶液及阴性样品溶液的制备** 取丁桂凝胶膏剂或丁桂活络膏 1.0 g, 精密称定, 放入 250

mL 圆底烧瓶中, 精密加入 50%乙醇 50 mL, 称定质量, 热回流提取 60 min, 冷却至室温, 再称定质量, 用 50%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 吸取上清液, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 得供试品溶液。取阴性丁桂凝胶膏剂 1.0 g, 精密称定, 同法制得阴性样品溶液。

**2.2.4 专属性试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定。结果供试品色谱中羌活醇峰分离度良好, 柱效高, 且阴性样品色谱中在与羌活醇峰相同保留时间处无干扰色谱峰。见图 1。

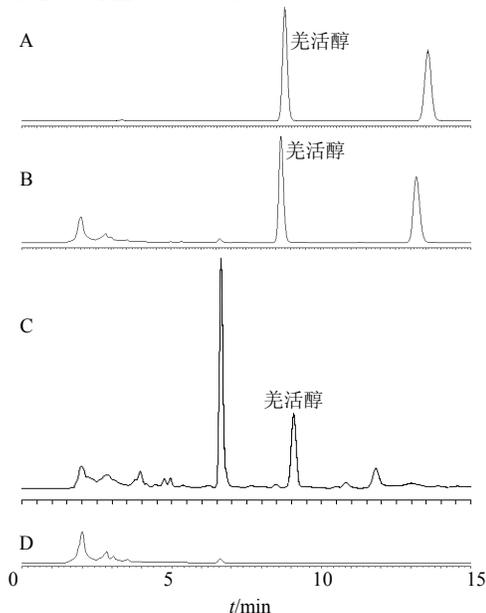


图 1 羌活醇对照品 (A)、丁桂凝胶膏剂 (B)、丁桂活络膏 (C) 和阴性丁桂凝胶膏剂 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of notopterol reference substance (A), DGP (B), DHRP (C), and negative sample of DGP (D)

**2.2.5 精密度试验** 精密吸取“2.2.2”项下的对照品储备液 20 μL, 重复进样 6 次, 以羌活醇的峰面积计算 RSD, 其值为 0.90%, 表明在此条件下仪器精密度良好。

**2.2.6 重复性试验** 取批号 20140709 样品 6 份, 按“2.2.3”项下方法制成供试品溶液, 进行定量测定, 测得羌活醇的平均质量分数为 1.041 mg/g, RSD 值为 2.68%, 表明样品重复性良好。

**2.2.7 稳定性试验** 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取新制备的供试品溶液, 分别于配制后 0、1、2、4、6、12、24、48 h 进样, 测得羌活醇峰面积的 RSD 值为 1.84%, 表明样品在 48 h 内稳定。

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取 4.50 mg 的羌活醇对照品，至 25 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度。取丁桂凝胶膏剂 0.5 g，精密称定，放入 250 mL 圆底烧瓶中，精密加入羌活醇对照品溶液 2.5 mL，按照“2.2.3”项方法制备供试品溶液，平行制备 6 份，测定样品中羌活醇的量，结果表明羌活醇的平均回收率为 102.49%，RSD 为 2.43%，表明本方法加样回收率能满足要求。

**2.3 体外释放度试验**

参考《中国药典》2010 年版附录 XD 第三法浆碟法及文献方法<sup>[5]</sup>进行体外释放度实验，将凝胶膏剂剪成圆片，大小与供给池平面相同，贴于 0.8 μm 的微孔滤膜上，然后将微孔滤膜贴于供给池与接收池之间，加入接收液至刻度线，注意排除气泡。接收液为 12 mL 30%乙醇的生理盐水溶液，磁力搅拌速率为 600 r/min，水浴温度为 (37.0±0.1) °C。分别于 1、2、4、6、8、12、24、48 h 取样，每次取样 2 mL，同时补加 2 mL 接收液。样品溶液用 0.45 μm 滤膜滤过，HPLC 法测定其中羌活醇的量，并按下面的公式计算累积释放度 (L<sub>n</sub>')。

$$L_n' = (C_n' \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i' \times V_0) / W \times 100$$

其中 C<sub>n</sub>' 为第 n 个时间点样品的质量浓度，V 为接收池体积，C<sub>i</sub>' 为第 i 个时间点样品的质量浓度，V<sub>0</sub> 为每次取样的体积，W 为所取凝胶膏剂样品中羌活醇的质量 (1.007 8 mg)

丁桂活络膏实验方法与凝胶膏剂相同，丁桂活络膏中 W 为 0.579 2 mg。结果见表 1 和图 2。由图 2 可知，丁桂凝胶膏剂的释放速率由快至慢，再变

表 1 L<sub>n</sub>' 结果 (x̄ ± s, n = 6)

Table 1 Results of cumulative release rate *in vitro* (x̄ ± s, n = 6)

t/h	丁桂凝胶膏剂		丁桂活络膏	
	L <sub>n</sub> '/%	RSD/%	L <sub>n</sub> '/%	RSD/%
1	4.61 ± 0.059 <sup>a</sup>	1.288	2.24 ± 0.022	0.967
2	10.64 ± 0.150	1.415	8.36 ± 0.099	1.183
4	18.97 ± 0.240 <sup>a</sup>	1.266	10.22 ± 0.195	1.907
6	24.82 ± 0.359 <sup>a</sup>	1.445	14.14 ± 0.205	1.447
8	26.90 ± 0.394 <sup>a</sup>	1.466	20.21 ± 0.435	2.155
12	39.04 ± 0.696 <sup>a</sup>	1.783	32.54 ± 0.945	2.903
24	54.82 ± 1.425	2.599	50.39 ± 1.126	2.234
48	85.34 ± 1.819 <sup>a</sup>	2.131	67.87 ± 1.988	2.930

凝胶膏剂与橡胶膏剂比较: <sup>a</sup>P < 0.01

Comparison on gel paste and rubber patch <sup>a</sup>P < 0.01

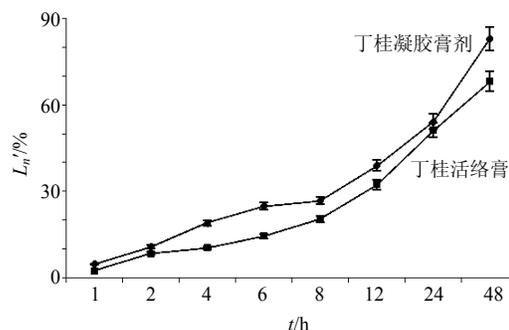


图 2 丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏 L<sub>n</sub>' 对比曲线图

Fig. 2 Comparison on curves of release rate between gel paste and rubber patch

快，总体上比橡胶膏剂稍快，至 48 h 两种剂型的 L<sub>n</sub>' 分别为 85.34%、67.87%，凝胶膏剂基质的释药性能比橡胶膏剂稍好，推测可能是橡胶膏剂基质中橡胶、松香等物质对有效成分的吸附较强所致。

**2.4 体外透皮实验**

将凝胶膏剂剪成圆片，大小与供给池平面相同，贴于 Strat-M 膜上，然后将 Strat-M 膜装在供给池与接收池之间，加入接收液至刻度线，注意排除气泡。接收液为 12 mL 30%乙醇的生理盐水溶液，磁力搅拌速度为 600 r/min，水浴温度为 (37.0±0.1) °C。分别于 1、2、4、6、8、12、24、48 h 取样，每次取样 2 mL，同时补加 2 mL 接收液。样品溶液用 0.45 μm 滤膜过滤，HPLC 法测定其中羌活醇的量，并按下面的公式计算累积透皮量 (Q<sub>n</sub>)、累积透皮率 (L<sub>n</sub>)。

$$Q_n = C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_0$$

$$L_n = Q_n / W \times 100$$

其中 C<sub>n</sub> 为第 n 个时间点样品的质量浓度，V 为接收池体积，C<sub>i</sub> 为第 i 个时间点样品的质量浓度，V<sub>0</sub> 为每次取样的体积，W 为所取凝胶膏剂样品中羌活醇的量 (1.007 8 mg)

以 L<sub>n</sub> 对时间 t 作线性回归，所得直线斜率即为透皮速率常数 (J)。丁桂活络膏实验方法与凝胶膏剂相同，丁桂活络膏中 W 为 0.579 2 mg。结果见表 2、3 和图 3、4。

通过 SPSS 17.0 软件进行 t 检验，根据表 2、3 可知，自 4 h 后的每个时间点，丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏两者的累积透皮量和累积透皮率相比较，P 值均小于 0.01，具有显著性差异。

以透皮率 L<sub>n</sub> 对时间 t 对作图，丁桂凝胶膏剂的透皮曲线方程为 L<sub>n</sub> = 9.208 t - 18.50, r = 0.948, J = 0.092 08 h<sup>-1</sup>，丁桂活络膏的透皮曲线方程为 L<sub>n</sub> = 4.285 t - 6.704, r = 0.977, J = 0.042 85 h<sup>-1</sup>。由图 3

表 2  $Q_n$  结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 2 Results of  $Q_n$  ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

t/h	丁桂凝胶膏剂		丁桂活络膏	
	$Q_n/\mu\text{g}$	RSD/%	$Q_n/\mu\text{g}$	RSD/%
1	—	—	—	—
2	15.3 ± 0.1	0.751	16.8 ± 0.1	0.944
4	65.7 ± 0.4*	0.664	31.8 ± 0.3	1.023
6	129.6 ± 1.3*	0.969	49.9 ± 0.6	1.361
8	180.9 ± 2.3*	1.282	68.0 ± 1.1	1.550
12	292.9 ± 3.5*	1.210	97.6 ± 1.9	1.993
24	505.8 ± 7.2*	1.415	137.1 ± 2.9	2.097
48	661.8 ± 11.1*	1.677	181.6 ± 4.2	2.289

“—”为羌活醇的量过低未检出；凝胶膏剂与橡胶膏剂比较：\* $P < 0.01$   
“—” means notopterol is too low to determine; Comparison on gel paste and rubber patch \* $P < 0.01$

表 3  $L_n$  结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 3 Results of  $L_n$  ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

t/h	丁桂凝胶膏剂		丁桂活络膏	
	$L_n/\%$	RSD/%	$L_n/\%$	RSD/%
1	—	—	—	—
2	1.52 ± 0.011	0.751	2.89 ± 0.027	0.944
4	6.51 ± 0.043*	0.664	5.50 ± 0.056	1.023
6	12.86 ± 0.125*	0.969	8.61 ± 0.117	1.361
8	17.95 ± 0.230*	1.282	11.74 ± 0.182	1.550
12	29.06 ± 0.352*	1.210	16.86 ± 0.336	1.993
24	50.19 ± 0.710*	1.415	23.67 ± 0.496	2.097
48	65.67 ± 1.101*	1.677	31.35 ± 0.718	2.289

“—”为羌活醇的量过低未检出；凝胶膏剂与橡胶膏剂比较：\* $P < 0.01$   
“—” means notopterol is too low to determine; Comparison on gel paste and rubber patch \* $P < 0.01$

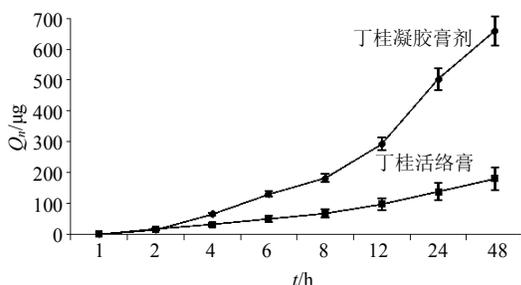


图 3 丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏  $Q_n$  对比曲线图  
Fig. 3 Comparison on curves of  $Q_n$  between gel paste and rubber patch

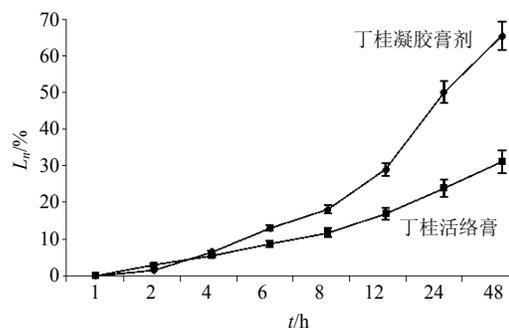


图 4 丁桂凝胶膏剂与丁桂活络膏  $L_n$  对比曲线图  
Fig. 4 Comparison on curves of  $L_n$  between gel paste and rubber patch

可知，丁桂凝胶膏剂的透皮量较丁桂活络膏更高，其中，1~12 h 阶段，橡胶膏剂的  $Q_n$  增加缓慢，12~48 h 阶段稍有加快，而凝胶膏剂自 2 h 起的  $Q_n$  一直快速增加，至 48 h 已达橡胶膏剂的 3.6 倍。由图 4 可知，在第 4、6、8、12、24 小时，凝胶膏剂的  $L_n$  分别为橡胶膏剂的 1.2、1.5、1.5、1.7、2.1 倍，48 h 的  $L_n$  为橡胶膏剂的 2.1 倍。

### 3 讨论

由实验结果可知，丁桂凝胶膏剂的透皮率及透皮量均优于丁桂活络膏，且与其他外用制剂相比，凝胶膏剂具有透气性好、过敏率低、使用方便、患者依从性高等特点，该剂型已展现出较高的临床应用价值<sup>[5-6]</sup>。

目前报道的国内离体透皮试验中多采用各种自制的动物皮肤<sup>[7-9]</sup>，由实验者在临用前自己动手制备，其质量稳定性难以保证，此外，不论剔除还是化学试剂脱毛都可能对皮肤造成影响，还未见报道既能很好地模拟人的皮肤又具有很高的数据重现性的透皮屏障。本研究采用的 Strat-M 膜为美国 Merck Millipore 公司开发的人造膜，与各种动物皮肤相比，它的透皮性能都更接近人的皮肤，实验数据重现性也更好，国外已有研究者使用<sup>[10-12]</sup>。

羌活醇为香豆素类化合物，为了使羌活醇在接收液中充分溶解，在预试验中分别以蒸馏水、生理盐水、30%乙醇生理盐水溶液、30% PEG 400 生理盐水溶液为接收介质进行体外透皮试验，比较不同接收介质的差异，结果发现以 30% 乙醇生理盐水溶液为接收液时，羌活醇的溶解性最好。由于凝胶膏剂以高分子化合物作为基质，且与金属离子交联后呈网状结构，故其释药较难<sup>[13]</sup>，本实验加入了由氮酮、丙二醇、薄荷脑等组成的复合透皮吸收促进剂<sup>[14-15]</sup>，透皮效果较好。

结合释放度与体外透皮试验可以发现, 凝胶膏剂的释放度为 85.34%, 透皮率为 65.67%, 其释放的有效成分中 76.95%能被吸收; 而橡胶膏剂的释放度为 67.87%, 透皮率为 31.35%, 其释放的有效成分中仅有 46.19%能被吸收, 说明在复合促透剂的作用下, 凝胶膏剂中有效成分透过皮肤屏障的能力更优。综上, 丁桂凝胶膏剂无论在释放还是透皮方面的性能均明显优于丁桂活络膏, 且不易过敏, 应用前景广阔。

#### 参考文献

- [1] 朱力阳, 马建, 涂禾, 等. 丁桂凝胶基质的配方优化筛选 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(12): 931-933.
- [2] 黄晓晨, 宿树兰, 钱大玮, 等. 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 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3074-3080.
- [3] 徐晓勇, 马凤森, 楼芳芳, 等. 去甲泽拉木醛醇质体凝胶的制备及其体外透皮研究 [J]. 中草药, 2014, 45(12): 1693-1697.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [5] 徐月红, 叶卉, 官素桃, 等. 白芥子涂方凝胶膏剂的体外释放及透皮特性研究 [J]. 中成药, 2011, 33(12): 2068-2072.
- [6] 董礼, 徐希明, 余江南, 等. 中药凝胶膏剂研究概述 [J]. 中国药师, 2011, 14(1): 129-132.
- [7] 沈成英, 申宝德, 徐平华, 等. 灵芝三萜纳米混悬凝胶剂的制备及其体外透皮研究 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2770-2775.
- [8] 夏晓静, 包汝泼, 黄悦, 等. 经去氧胆酸钠修饰的白桦脂酸醇质体的制备及其体外透皮效果研究 [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1407-1411.
- [9] 周蕾, 陈彦, 张振海, 等. 不同促渗剂对芍药苷透皮吸收的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 2100-2103.
- [10] Karadzovska D, Riviere J E. Assessing vehicle effects on skin absorption using artificial membrane assays [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(5): 569-576.
- [11] Pan T L, Wang P W, Aljuffali I A. Dermal toxicity elicited by phthalates: evaluation of skin absorption, immunohistology, and functional proteomics [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65(3): 105-114.
- [12] Uchida T, Kadhum W R, Kanai S. Prediction of skin permeation by chemical compounds using the artificial membrane, Strat-M [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, 25(67): 113-118.
- [13] 林媛媛, 刘静, 王冬梅, 等. Box-Behnken 试验设计法优化宝泻灵凝胶膏剂处方及其体外透皮特性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(9): 1238-1244.
- [14] 李雨辰, 曹岩, 王悦, 等. 盐酸利多卡因纳米高分子脂质体的制备与体外透皮实验研究 [J]. 天津医药, 2013, 41(4): 341-344.
- [15] 丁水生, 肖学成, 李金, 等. 丙酸氟替卡松乳膏体外透皮吸收量测定 [J]. 医药导报, 2012, 31(12): 1613-1615.