

不同药物配伍与不同基质对甘石青黛膏经皮吸收的影响

姜颖娟 蔡玲玲 汤化琪 李元文 孙毅坤

【摘要】 目的 建立甘石青黛膏透皮实验中靛蓝及靛玉红的测定方法,考察甘石青黛膏全方与拆方,以及不同基质下靛蓝及靛玉红的体外经皮渗透行为,探讨不同药物配伍与不同基质对其透皮效果的影响。**方法** 采用 Franz 扩散池,以离体鼠皮为屏障,用高效液相色谱法测定接受液中靛蓝及靛玉红的量;考察全方与拆方、凡士林基质以及橄榄油基质下靛蓝及靛玉红的透皮特性。**结果** 全方组的透皮速率和累计渗透量均大于拆方组,且差异有统计学意义($P < 0.05$);橄榄油基质对软膏中靛蓝的渗透效果较凡士林基质明显,而二者对靛玉红的影响没用显著性差异。**结论** 不同药物配伍与不同基质对甘石青黛膏中靛蓝及靛玉红的透皮吸收均有影响。

【关键词】 甘石青黛膏; 靛蓝; 靛玉红; 透皮吸收

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.05.005

Effect of different compatibility and different matrices on transdermal absorption of Ganshi Qingdai ointment JIANG Yingjuan, CAI Lingling, TANG Huaqi, et al. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

Corresponding author: LI Yuanwen, E-mail: yuan-wen@sohu.com

【Abstract】 Objective To establish the determination method of indigo and indirubin in transdermal experiment in vitro, study the permeation behavior of indigo and indirubin in whole and disassembled prescription and in different matrices. To investigate the effects of different drugs and different matrices on the transdermal effect. **Methods** The permeation was studied on rat skin with Franz diffusing cell, the content of indigo and indirubin was detected by HPLC. The transdermal permeability of indigo and indirubin in whole and disassembled prescription and in different matrices were evaluated. **Results** Skin penetration rate and cumulative infiltration in whole prescription were higher than those in disassembled prescription; The penetration of indigo was better in olive oil than in petroleum jelly, while there was no significant difference of indirubin. **Conclusion** Different compatibility and different matrices of Ganshi Qingdai ointment has effect on the percutaneous absorption of indigo and indirubin.

【Key words】 Ganshi Qingdai ointment; Indigo; Indirubin; Percutaneous absorption.

甘石青黛膏由青黛、煅炉甘石、煅石膏、苦参、关黄柏、冰片组成,具有清热解毒,除湿止痒的功效,临床用于治疗神经性皮炎及湿疹。甘石青黛膏

为经皮吸收制剂,其有效成分的透皮吸收特性对其临床疗效有重要的影响。本实验以青黛中靛蓝与靛玉红为指标成分,考察了甘石青黛膏全方与拆方,以及不同基质下靛蓝与靛玉红的体外经皮渗透行为,以探讨不同药物配伍与不同基质对其透皮效果的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 靛蓝对照品(中国食品药品检定研

基金项目:北京市科委“十病十药”专项(Z131100002513013)

作者单位:100078 北京中医药大学东方医院皮肤科(姜颖娟、蔡玲玲、李元文);北京中医药大学中药学院[汤化琪(硕士研究生)、孙毅坤]

作者简介:姜颖娟(1981-),女,博士,主治医师。研究方向:中西医结合治疗皮肤病性病。E-mail:jiangyingjuan@163.com

通信作者:李元文(1962-),本科,主任医师,博士生导师。研究方向:中西医结合治疗皮肤病性病。E-mail:yuan-wen@sohu.com

究院,批号:110716-201111);靛玉红对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110717-200204);甘石青黛膏(批号:20140701)由北京中医药大学东方医院制剂室提供;甲醇为色谱纯,实验用水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 1100 型高效液相色谱仪(UV 检测器,美国 Aglient 公司);AE-240 型电子天平(瑞士 Mettler 公司);TK-6A 型透皮扩散试验仪(上海凯锶科技贸易有限公司)。

1.2 HPLC 分析方法的建立

1.2.1 色谱条件 采用 Waters Symmetry Shiled-RP18(150 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱,以甲醇-水(65:35)为流动相,流速 1.0 mL/min,检测波长 285 nm,柱温 25℃^[1]。

1.2.2 供试液及标准溶液的制备 取甘石青黛膏适量,均匀涂布于固定在 Franz 扩散池的鼠皮上,不同时间点取接受液适量,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,续滤液即为样品溶液。同法制得不含青黛的阴性样品溶液。精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的靛蓝与靛玉红对照品适量,分别加入甲醇-三氯甲烷(8:2, V/V)制成每 1 mL 含靛蓝 235 μg 与靛玉红 2.08 μg 的溶液,摇匀,即得对照品溶液^[1-2]。

1.2.3 专属性试验 分别吸取对照品溶液、样品溶液与阴性样品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件进行测定,结果表明样品中其他成分对靛蓝与靛玉红的测定无干扰。

1.2.4 线性关系考察 分别精密吸取靛蓝对照品溶液 4、6、8、10、12、14 μL,靛玉红对照品溶液 3、4、6、8、10、12 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积。以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标绘制标准曲线。靛蓝回归方程为:

$$Y = 42.535X - 8.9114, r = 0.9999 (n = 6)$$

靛玉红回归方程为:

$$Y = 7004.9X - 27.569, r = 0.9995 (n = 6)$$

结果表明,靛蓝进样量在 0.94 ~ 3.29 μg 范围内,靛玉红进样量在 0.00624 ~ 0.2496 μg 范围内线性关系良好。

1.2.5 精密度试验 分别吸取靛蓝与靛玉红对照品溶液各 10 μL,按“1.2.1”项下色谱条件进行分析,连续进样 6 针,测定峰面积,靛蓝与靛玉红的峰面积平均值分别为 64.8 和 134.5, RSD 分别为 1.2% 和 0.3%,表明仪器精密度良好。

1.2.6 稳定性试验 吸取样品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12、24 小时进样 10 μL,按“1.2.1”项下色谱条件进行分析,测得靛蓝与靛玉红峰面积的平均值分别为 88.69 和 57.79, RSD 分别为 1.4%、1.4%,结果表明样品溶液在 24 小时内稳定。

1.2.7 重复性试验 精密称取甘石青黛膏样品 6 份,按“1.2.2”项下方法制备样品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件进样 10 μL,测定峰面积,计算含量,结果靛蓝与靛玉红的平均含量分别为 1.555 mg/g 与 1.125 mg/g, RSD 分别为 1.1% 与 2.6%,表明方法重复性良好。

表 1 甘石青黛膏拆方软膏皮肤透过动力学方程拟合结果

| | 拆方 | $Q \sim t$ 方程 | r | $J_s(\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2})$ | $t_{lag}(\text{h})$ |
|-----|-------|------------------------|--------|---|---------------------|
| 靛蓝 | 全方 | $Y = 1.1197X + 2.2455$ | 0.9953 | 1.1197 | 2.005 |
| | 缺煅炉甘石 | $Y = 0.7519X + 2.4276$ | 0.9908 | 0.7519 | 3.229 |
| | 缺煅石膏 | $Y = 1.0279X + 2.1160$ | 0.9951 | 1.0279 | 2.059 |
| | 缺苦参 | $Y = 1.0572X + 2.4794$ | 0.9941 | 1.0572 | 2.345 |
| | 缺黄柏 | $Y = 0.9969X + 2.3532$ | 0.9944 | 0.9969 | 2.361 |
| | 缺冰片 | $Y = 0.8663X + 2.5922$ | 0.9923 | 0.8663 | 2.992 |
| 靛玉红 | 全方 | $Y = 0.006X + 0.0278$ | 0.9924 | 0.0060 | 4.633 |
| | 缺煅炉甘石 | $Y = 0.0056X + 0.0248$ | 0.9922 | 0.0056 | 4.429 |
| | 缺煅石膏 | $Y = 0.0061X + 0.0244$ | 0.9911 | 0.0061 | 4.000 |
| | 缺苦参 | $Y = 0.0059X + 0.0256$ | 0.9906 | 0.0059 | 4.339 |
| | 缺黄柏 | $Y = 0.0055X + 0.0272$ | 0.9904 | 0.0055 | 4.945 |
| | 缺冰片 | $Y = 0.0053X + 0.0274$ | 0.9917 | 0.0053 | 5.170 |

表 2 不同基质软膏皮肤透过动力学方程拟合结果

| | 基质 | $Q \sim t$ 方程 | r | $J_s(\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2})$ | $t_{\text{lag}}(\text{h})$ |
|-----|-----|------------------------|--------|---|----------------------------|
| 靛蓝 | 橄榄油 | $Y = 1.1197X + 2.2455$ | 0.9953 | 1.1197 | 2.005 |
| | 凡士林 | $Y = 0.8675X + 2.8946$ | 0.9907 | 0.8675 | 3.337 |
| 靛玉红 | 橄榄油 | $Y = 0.006X + 0.0278$ | 0.9924 | 0.0060 | 4.633 |
| | 凡士林 | $Y = 0.0058X + 0.0282$ | 0.9947 | 0.0058 | 4.862 |

1.2.8 回收率试验 精密称取空白基质 6 份,分别精密加入适量靛蓝对照品溶液与靛玉红对照品溶液,按处方制备工艺制备含靛蓝与靛玉红分别为 1.645 mg/g 与 0.01040 mg/g 的软膏,按“1.2.2”项下方法平行制备 6 份加样样品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件进行分析,测定峰面积,计算得到靛蓝与靛玉红的平均回收率分别为 96.97% 与 96.79%, RSD 分别为 1.1% 与 2.2%。

1.3 体外透皮吸收实验

1.3.1 离体皮肤的制备 将雄性 SD 大鼠处死,取腹部皮肤剃毛后用生理盐水反复冲洗干净,仔细剥去皮下脂肪层,即得离体皮肤,立即进行透皮试验。

1.3.2 实验装置 采用改进 Franz 双室渗透扩散装置(扩散面积 1.77 cm^2 ,扩散池容积 7 mL)。恒速电磁搅拌 300 r/min,扩散池夹层水浴温度保持在 $(37 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 。

1.3.3 实验方法 将处理好的离体大鼠皮肤置于水平扩散池结合处,角质层面朝向供给池,并用弹簧夹固定。接受池中加入 2% 氮酮-70% 乙醇生理盐水溶液^[3],并倾斜将气泡排尽,供给池中加入 1.0 g 软膏,涂抹均匀,分别于 1、2、4、6、8、10、12 小时从接受池取样 2 mL,并随即补充等量接受液,样品液经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,按“1.2.1”项下色谱条件进行分析。

计算单位面积累积透过量(Q):

$$Q_n = \frac{VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_s}{S}$$

其中 Q_n 为第 n 个时间点的累积透过量(μg), V 为接受池中接受液的体积(7 mL), V_s 为取样体积(2 mL), C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度, C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度, S 为扩散池有效渗透面积(1.77 cm^2)。以 Q 对渗透时间 t 进行线性回归,所得方程即为渗透动力学方程,所得斜率即为透皮速率常数 $J_s(\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2})$,直线与 X 轴的交点为滞后时间 $t_{\text{lag}}(\text{h})$ 。

1.4 统计学处理

采用 SAS 9.3 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

甘石青黛膏拆方体外透皮试验结果见表 1,累计渗透量-时间曲线见图 1、图 2,不同基质体外透皮试验结果见表 2,累计渗透量-时间曲线见图 3、图 4。

结果显示不同甘石青黛膏拆方软膏中靛蓝与靛玉红体外透皮行为符合零级动力学方程,靛蓝与靛玉红在 12 小时内体外透皮速率接近恒速,作用时间较长。

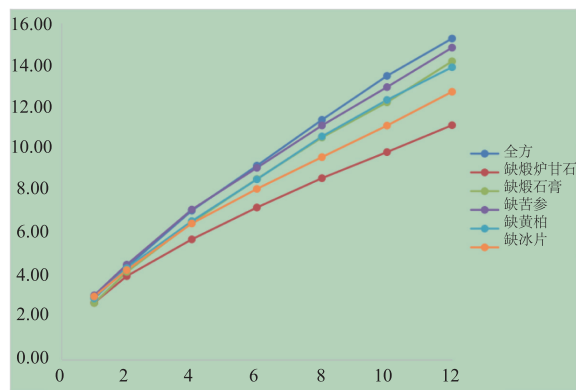


图 1 甘石青黛膏拆方软膏中靛蓝累计渗透量-时间曲线

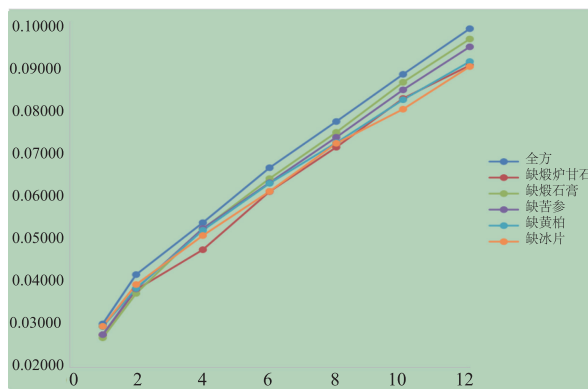


图 2 甘石青黛膏拆方软膏中靛玉红累计渗透量-时间曲线

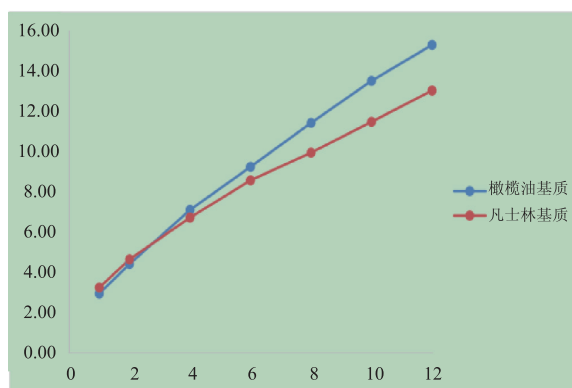


图 3 不同基质软膏中靛蓝累计渗透量-时间曲线

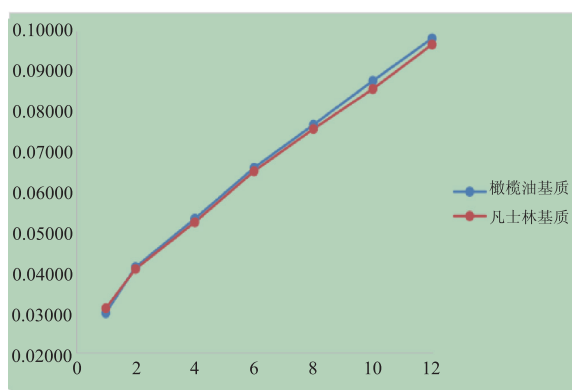


图 4 不同基质软膏中靛玉红累计渗透量-时间曲线

3 讨论

经皮渗透性研究的目的是了解药物经皮肤渗透的过程,寻找影响药物经皮肤渗透的因素以及筛选经皮肤给药制剂的处方组成。角质层是药物透皮吸收的限速层,是主要渗透障碍,对药物渗透的影响很大,所以克服皮肤的屏障功能,促进药物在一定时间内透过皮肤达到治疗量是药物透皮给药系统研究的关键问题之一。不同个体间的皮肤情况存在差异,所以在鼠皮的选择方面应尽量选择体

重相同的大鼠,同时取皮位置尽量相同,在处理鼠皮时应注意尽量保证角质层完好;试验过程中温度不宜过高,时间不宜过长,以防止鼠皮变质影响结果。同时应保证接受液与鼠皮的充分接触,防止气泡的产生,减少实验误差。

甘石青黛膏由青黛、煅炉甘石、煅石膏、苦参、关黄柏、冰片组成,其中青黛为本方君药,具有清热解毒,凉血消斑,清肝泻火,定惊的功效,外用解毒除湿,消肿止痛,故本实验对其主要成分靛蓝及靛玉红进行考察。本实验中,全方组的透皮速率和累计渗透量均大于拆方组,且差异有统计学意义,透皮速率比较 $P=0.014$,渗透量比较 $P=0.016$,其中靛蓝的累积渗透量由大至小依次为:全方>缺苦参>缺煅石膏>缺黄柏>缺冰片>缺煅炉甘石,靛玉红的累积渗透量由大至小依次为:全方>缺煅石膏>缺苦参>缺黄柏>缺煅炉甘石>缺冰片,说明配伍对靛蓝与靛玉红的体外渗透率有影响。另外,本实验对两种基质中的靛蓝及靛玉红进行了体外经皮渗透研究,结果显示橄榄油基质对软膏中靛蓝的渗透效果较凡士林基质明显,而二者对靛玉红的影响没有显著性差异,说明不同基质对药物的透皮吸收亦有影响。

参 考 文 献

- [1] 马莉,孙琴,李友,等. HPLC 法测定板蓝根药材及制剂中靛蓝和靛玉红含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1642-1645.
- [2] 王金鹏,孙翠萍,林海霞,等. HPLC 测定复方南板蓝根颗粒中靛蓝和靛玉红的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 128-130.
- [3] 兰颐,王琼,安静,等. 不同接受液对药物体外透皮试验的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 7-10.

(收稿日期: 2016-05-25)

(本文编辑: 禹佳)

· 启 事 ·

本刊“综述”栏目征稿

《环球中医药》杂志一贯重视综述文章,辟有“综述”栏目。综述是作者通过广泛的查阅文献吸收经验、教训,为自己的课题研究进行充分的准备的过程。可以帮助读者较短时间内了解掌握相关研究课题的研究现状、争论焦点、已解决和尚未解决的问题、前景展望,寻找科研课题的研究线索。

本刊“综述”栏目文章格式要求:(1)须有中、英文摘要;(2)正文不少于4000汉字;(3)近5年文献不少于65%;(4)须综中有述,有作者的见解和评议;(5)可以有西医内容,但主体必须是中医药相关研究。

海外学者十分看重综述的写作,本刊既欢迎某领域有一定造诣的专家撰写述评、综述,同样欢迎年轻学子把课题开题资料认真整理,写作综述投稿。对于观点新颖、写作优秀的综述,本刊会先于其他栏目文章,优先安排刊期。