

丁桂儿脐贴体外透皮特性考察

杨晓宁, 禹玉洪*, 郝东方, 董蓉, 杨芮平
(亚宝药业集团股份有限公司北京药物研究院, 北京 101111)

[摘要] 目的:研究丁桂儿脐贴的体外透皮特性。方法:采用立式 Franz 扩散池进行经皮渗透试验。利用 HPLC 同时测定丁香酚、桂皮醛、胡椒碱的经皮累积透过量,流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0~25 min,50%~90% A),检测波长分别为290,280,343 nm。结果:丁香酚、桂皮醛及胡椒碱的线性范围分别为0.0144 6~2.892 5,0.001 1~0.226 2,0.002 0~0.403 2 μg,平均回收率分别为100.5%,98.6%,99.1%,透皮时滞分别为0.07,0.41,2.36 h,透皮速率依次为49.91,2.65,0.40 μg·cm⁻²·h⁻¹,24 h 累积透皮量($\bar{x} \pm s$)分别为(1204.28 ± 103.74),(63.01 ± 10.95),(8.82 ± 1.19) μg·cm⁻²。结论:丁桂儿脐贴的体外经皮渗透符合零级动力学过程。

[关键词] 丁桂儿脐贴;透皮吸收特性;丁香酚;桂皮醛;胡椒碱;高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6;R945 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)09-0009-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014090009

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000055.html>

[网络出版时间] 2014-02-25 13:35

Investigation of *in vitro* Transdermal Permeability
of Dingguier Umbilical Pastes

YANG Xiao-ning, YU Yu-hong*, HAO Dong-fang, DONG Rong, YANG Rui-ping
(Beijing Institute of DrugResearch, Yabao Pharmaceutical Group Co. Ltd, Beijing 101111, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate *in vitro* transdermal absorption properties of Dingguier umbilical pastes. **Method:** Vertical Franz diffusing cells and nude mice were adopted for percutaneous penetration test. HPLC was adopted to determine accumulative percutaneous permeation of eugenol, cinnamic aldehyde and piperine in certain time with mobile phase of methanol (A) -water (B) gradient elution (0-25 min, 50%-90% A) and detection wavelength of 290, 280, 343 nm, respectively. **Result:** Linear ranges of eugenol, cinnamic aldehyde and piperine were 0.0144 6-2.892 5, 0.001 1-0.226 2, 0.002 0-0.403 2 μg, average recoveries were 100.5%, 98.6%, 99.1%, transdermal time-lags were 0.07, 0.41, 2.36 h, penetration rates were 49.91, 2.65, 0.40 μg·cm⁻²·h⁻¹, accumulative penetration amounts in 24 h were (1 204.28 ± 103.74), (63.01 ± 10.95), (8.82 ± 1.19) μg·cm⁻², respectively. **Conclusion:** *In vitro* percutaneous penetration of Dingguier umbilical pastes complied with zero-order kinetics.

[Key words] Dingguier umbilical pastes; transdermal absorption characteristics; eugenol; cinnamic aldehyde; piperine; HPLC

丁桂儿脐贴(小儿腹泻贴)由丁香、肉桂、荜茇 儿秋季腹泻优势明显,安全有效且无副作用^[1-3]。
组成,具有健脾温中、散寒止泻之功效,临床治疗小 本品贴于神厥穴,属中医内病外治法范畴,现代研究

[收稿日期] 20131202(012)

[基金项目] 国家“重大新药创制”项目(2011ZX09201-201-35);山西省自然科学基金项目(2011011035-5)

[第一作者] 杨晓宁,硕士,工程师,从事中药新药研究,Tel:18911333510,E-mail:yn3528@126.com

[通讯作者] *禹玉洪,博士,高级工程师,从事中药新药研究,Tel:18601192188,E-mail:yyh100218@sohu.com

表明经皮给药系统具有避免药物的首过效应和肠道降解破坏、用药方便、维持有效药物浓度时间长等优点^[4]。本实验采用 HPLC 同时测定丁香酚、桂皮醛及胡椒碱含量,考察丁桂儿脐贴的体外透皮特性并分析其在皮肤内的渗透过程。

1 材料

1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), TP3A 型智能透皮试验仪(河南爱博科技发展有限公司), CP225D 型电子天平(德国赛多利斯集团), JY2002 和 JA2003 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。

丁香酚、桂皮醛、胡椒碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 725-200209, 110710-200714, 0775-200203), 丁桂儿脐贴(亚宝药业集团股份有限公司,批号 090203), 甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

裸鼠,雄性,SPF 级,体重(20±2)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2006-2009。

2 方法与结果

2.1 离体皮肤的制备 取裸鼠处死,取皮肤,去除皮下脂肪层,置聚乙烯袋中于-20℃保存备用。临用前取皮肤放置至室温并用水洗净^[5]。

2.2 丁香酚、桂皮醛及胡椒碱的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取桂皮醛、丁香酚、胡椒碱对照品适量,加甲醇依次制成 22.62, 289.25, 40.32 mg·L⁻¹ 的混合溶液,即得。

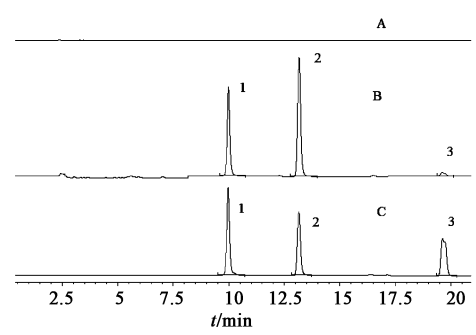
2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取接受杯内溶液 0.8 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照液的制备 取空白透皮接收液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 色谱条件^[6] Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0~25 min, 50%~90% A),丁香酚、桂皮醛、胡椒碱检测波长分别为 290, 280, 343 nm。理论板数按丁香酚峰计算应不低于 1 500,见图 1。

2.2.5 方法学考察

2.2.5.1 线性关系考察 精密量取对照品溶液 0.05, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 5.0, 10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。精密量取各溶液 10 μL,按 2.2.4 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得丁香酚、桂皮醛、胡椒碱回归方程依次为 $Y = 768.46X + 0.5967$



A. 空白接受液;B. 透皮接收液;C. 对照品;
1. 桂皮醛;2. 丁香酚;3. 胡椒碱

图 1 丁桂儿脐贴 HPLC

($r = 0.9999$), $Y = 9451.7X + 20.2069$ ($r = 0.9996$), $Y = 3979.7X + 4.4393$ ($r = 0.9998$), 线性范围分别为 0.01446~2.8925, 0.0011~0.2262, 0.0020~0.4032 μg。

2.2.5.2 最低检测限考察 将对照品溶液稀释至适宜浓度,按 2.2.4 项下色谱条件测定,将低质量浓度供试品溶液测出的信号与空白信号进行比较,以信噪比(S/N)1:3时的响应质量浓度为检测限,结果丁香酚、桂皮醛、胡椒碱分别为 1.03, 0.28, 0.20 ng。

2.2.5.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL,连续重复进样 6 次,计算丁香酚、桂皮醛和胡椒碱峰面积的 RSD 分别为 1.2%, 1.1%, 1.6%,表明仪器精密度良好。

2.2.5.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样,按 2.2.4 项下色谱条件测定,结果丁香酚、桂皮醛及胡椒碱峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 1.9%, 2.2%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.2.5.5 回收率试验 取同样的空白透皮接收液配置低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液($n = 3$),按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.4 项下色谱条件测定,计算丁香酚、桂皮醛、胡椒碱的平均回收率分别为 100.5%, 98.6%, 99.1%, RSD 分别为 1.8%, 2.2%, 2.5%。

2.3 体外透皮吸收试验^[7] 采用 TP3A 型扩散仪(立式 Franz 扩散池),水浴温度 37℃,搅拌速度 200 r·min⁻¹,透皮面积 3.40 cm²,接受池体积 17 mL,接受液为 40% 聚乙二醇 400 溶液。将皮肤固定于接受池上,取贴剂样品(0.67 g, 面积 3.40 cm²)共 6 份,分别置皮肤上,分别于 1, 2, 4, 8, 18, 20, 24 h 各取样 0.8 mL(同时补充等量同温介质)接受液,滤过,精密吸取 10 μL 按 2.2.4 项下色谱条件测定,计算累积透皮量(Q)。根据 Fick's 扩散定律,以累积

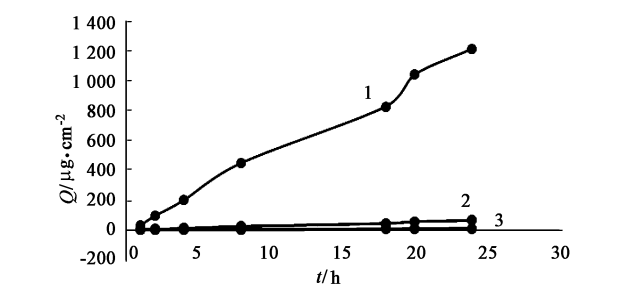
透皮量(Q)对时间(t)进行回归,得体外透皮动力学方程及透皮速率,直线部分延伸与时间轴相交得截距为时滞,结果见表1和图2。显示丁香酚的单位面积累积透皮量及透皮速率最大,桂皮醛次之,胡椒碱最小;胡椒碱的透皮时滞最长(2.36 h),丁香酚、桂皮醛几乎近于零时释放,时滞很短;丁桂儿脐贴中

丁香酚、桂皮醛及胡椒碱的24 h体外经皮渗透 Q 与 t 相关性较好,二者呈线性关系,体外经皮渗透均符合零级动力学过程。

$$Q = \frac{C_n \times 17 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 1}{A}$$

表1 丁桂儿脐贴体外透皮试验

化合物	动力学方程	r	透皮速率/ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	时滞/h	24 h 累积透皮量($\bar{x}\pm s$)/ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
丁香酚	$Q = 49.91t - 3.4807$	0.996	49.91	0.07	$1\,204.28 \pm 103.74$
桂皮醛	$Q = 2.654\,5t - 1.100\,3$	0.996	2.65	0.41	63.01 ± 10.95
胡椒碱	$Q = 0.400\,3t - 0.945\,1$	0.995	0.40	2.36	8.82 ± 1.19



1. 丁香酚;2. 桂皮醛;3. 胡椒碱

图2 丁桂儿脐贴中各指标成分的24 h体外经皮渗透曲线

3 讨论

丁香酚、桂皮醛及胡椒碱3种成分的透皮速率各不相同,主要与药物的性质有关,丁香酚、桂皮醛、胡椒碱的相对分子质量分别为164,132,285,熔点分别为-9.2~-9.1,-7.5,130~133℃,说明小分子、低熔点成分更易透过皮肤。丁香酚和桂皮醛透皮时滞很短,几乎立即透过皮肤,说明挥发性成分具有很好的皮肤穿透作用,与研究报告一致^[8]。

预试验选择生理盐水、10%乙醇及40%聚乙二醇400溶液等作为接受液,结果发现累积透过量排序为40%聚乙二醇400>10%乙醇>生理盐水;且40%聚乙二醇400具有抑制微生物生长作用^[7],故选择40%聚乙二醇400为接收液。采用HPLC测定接收液中丁香酚、桂皮醛和胡椒碱含量,可不经富集直接检测,具有操作简便快速、分离效果好的优点,适合于中药制剂的体外透皮试验研究。

丁桂儿脐贴临床主要用于治疗儿童腹泻、腹痛,因处方中丁香、肉桂和荜茇均含有大量挥发性有效组分,代表性成分为桂皮醛、丁香酚和胡椒碱,具有芳香走串、温经散寒的作用,虽口感不佳,但透皮效果极好,制成外用贴剂非常适宜。

[参考文献]

[1] 白小春. 丁桂儿脐贴联合喜炎平治疗小儿秋季腹泻疗效观察[J]. 江西医药,2011,46(12):1113.
[2] 邹华,付琼芳. 丁桂儿脐贴联合炎琥宁治疗小儿秋季腹泻60例[J]. 中国药业,2010,19(12):79.
[3] 褚美珍,姜理宗. 蒙脱石散联合丁桂儿脐贴治疗婴幼儿腹泻68例[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(18):2294.
[4] 平其能. 现代药剂学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2001:543.
[5] 李玲,李祖伦,何宇新. 不同促渗剂对川白芷中欧前胡素透皮吸收的影响[J]. 中成药,2009,31(4):627.
[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:219.
[7] 梁秉文. 中药经皮给药制剂技术[M]. 北京:化学工业出版社,2006:34.
[8] 沈琦,胡晋红,徐莲英. 肉桂等3种挥发油对苯甲酸透皮吸收的影响[J]. 中国医院药学杂志,2001,21(4):197.

[责任编辑 刘德文]