

## · 药物研究 ·

# 基于多组分含量测定评价氮酮对通络祛痛膏中挥发性药物体外透皮扩散的影响

王海波<sup>1</sup>, 李磊<sup>2\*</sup>, 郭立<sup>2</sup>, 贾永艳<sup>3</sup> (1. 河南省食品药品检验所, 郑州 450018; 2. 河南羚锐制药股份有限公司, 信阳 465550; 3. 河南中医药大学, 郑州 450046)

**摘要** 目的: 考察氮酮对通络祛痛膏中挥发性成分体外透皮扩散的影响。方法: 采用垂直式Franz扩散池, 以离体乳猪腹部皮肤为渗透屏障进行体外透皮扩散实验。使用含20%乙醇的生理盐水溶液作为接受液, 转速 $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 样品透过液处理方法为转速 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、离心5 min, 残留样品处理方法为加无水乙醇20 mL、超声40 min。以气相色谱仪测定樟脑、薄荷脑、冰片的累积渗透量、膏片残留量、皮肤滞留量, 比较氮酮对通络祛痛膏中挥发性药物的体外透皮影响。结果: 添加氮酮和不添加氮酮的通络祛痛膏体外透皮特性基本一致, 添加氮酮的通络祛痛膏, 24 h上述药物累积透过量高于不添加氮酮的通络祛痛膏; 皮肤中的滞留量相对升高, 膏片残留量相对下降。结论: 该试验证明氮酮可作为通络祛痛膏中挥发性药物的促渗剂, 为通络祛痛膏促渗剂的选择提供参考。

**关键词:** 氮酮; 通络祛痛膏; 体外透皮扩散

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2020)04-0445-09

doi:10.16153/j.1002-7777.2020.04.012

## Evaluation of the Effect of Azone on Transdermal Diffusion *in Vitro* of Volatile Drugs in Tongluo Qutong Plaster Based on Multiple Components Determination

Wang Haibo<sup>1</sup>, Li Lei<sup>2\*</sup>, Guo Li<sup>2</sup>, Jia Yongyan<sup>3</sup> (1. Henan Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450018, China; 2. Henan Lingrui Pharmaceutical Company Limited, Xinyang 465550, China; 3. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract Objective:** To study the Effect of Azone on Transdermal Diffusion *in Vitro* of Volatile Drugs in Tongluo Qutong Plaster. **Methods:** The modified vertical Franz diffusion cell was used to conduct a transdermal experiment *in vitro* taking the isolated abdominal skin of the Suckling pigs as the transdermal absorption barrier. 20% ethanol saline solution was used as the receiving solution at a speed of  $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ . The sample was treated with a speed of  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  and centrifugation of 5 min. The residual sample was treated with absolute ethanol (20 mL) and ultrasound (40 min). The cumulative permeability, sample residue and skin retention of camphor, menthol, and borneol were determined by GC to compare the effects of Azone on transdermal delivery *in vitro* of volatile drugs in Tongluo Qutong Plaster. **Results:** The *in vitro* transdermal properties of the two formulations of Tongluo Qutong Plaster were basically the same. The cumulative permeation of the above drugs was higher than that of the Tongluo Qutong Plaster without azone after 24 hours, and the retention of volatile drugs in skin was relatively increased. The residue in the plaster was relatively decreased. **Conclusion:** This experiment proves

作者简介: 王海波, 副主任药师, 主要从事药物分析工作; Tel: (0371) 65566151; E-mail: haibowang99@163.com

通信作者: 李磊, 主要从事外用制剂的研究与开发; Tel: (0376) 2788888; E-mail: lilei@lingrui.com

that azone can be used as a permeation enhancer of volatile drugs in Tongluo Qutong Plaster, which provides a reference for the selection of permeation enhancers in Tongluo Qutong Plaster.

**Keywords:** azone; Tongluo Qutong Plaster; percutaneous diffusion

通络祛痛膏, 是治疗腰部、膝部骨性关节炎和颈椎病(神经根型)的骨科外用贴膏剂, 该产品由大黄、川芎、红花、花椒、胡椒、丁香、肉桂等多味中药材经提取后, 与冰片、樟脑、薄荷脑三味挥发性药物配伍, 制成橡胶贴膏, 功能主治为活血通络, 散寒除湿, 消肿止痛<sup>[1]</sup>。在使用过程中, 贴敷于患病部位皮肤表面, 药物通过经皮吸收发挥作用, 然而, 作用于皮肤表面的药物, 往往不能全部被皮肤吸收, 不但降低了疗效, 而且造成一定程度的浪费。

为了促进药物的吸收利用, 本研究以氮酮为透皮吸收促进剂, 采用改良Franz透皮扩散池, 以离体小型乳猪腹部皮肤为模型, 以稳态渗透速率、24小时累积渗透量、皮肤滞留量、膏片残留量为指标, 评价通络祛痛膏在添加氮酮前后挥发性药物的体外透皮情况, 为通络祛痛膏促渗剂的选择提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

TK-60B型透皮扩散试验仪(上海锴凯贸易有限公司); GC-2010plus气相色谱仪(日本岛津); KQ-600VDE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); TGL-16C型台式离心机(上海安亭科学仪器厂); BSA3202S型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; 小型实验涂布机(石家庄奥斯派机械科技有限公司)。

### 1.2 材料与试剂

樟脑对照品(批号: 110747-201008, 纯度: 99.0%, 中国食品药品检定研究院); 薄荷脑对照品(批号: 110728-200506, 供含量测定用, 中国食品药品检定研究院); 冰片对照品(批号: 110743-200905, 纯度: 99.0%, 中国食品药品检定研究院); 萘(内标, 批号: 20151204, 国药集团化学试剂有限公司, 分析纯); 氯化钠(批号: 20160906, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司, 分析纯); 无水乙醇(批号: 20160818, 北京化工厂, 分析纯); 水为纯化水(自制); 通络祛痛浸膏(批号: 180201, 河南羚锐制药股份有

限公司); 樟脑(批号: 20180302, 江西思派思香料化工有限公司); 薄荷脑(批号: AY180501, 安徽丰乐香料有限责任公司); 冰片(批号: 1700223, 福建青松股份有限公司); 氮酮(批号: 20170104, 国药集团化学试剂有限公司); 橡胶(批号: 180206, 普洱天胶橡胶产业有限公司); 松香(批号: 180321004, 广西金秀松源林产有限公司); 液状石蜡(批号: 180205, 天津红山新材料科技有限公司), 弹性布(批号: 160213, 杭州萧山强生布厂), 防粘纸(批号: 180106, 湛江原佳彩印包装有限公司)。

### 1.3 药品

无氮酮型通络祛痛膏(规格: 7 cm × 10 cm, 自制, 樟脑、冰片、薄荷脑的含量分别为31.22 mg · g<sup>-1</sup>、20.85 mg · g<sup>-1</sup>、21.98 mg · g<sup>-1</sup>); 氮酮型通络祛痛膏(规格: 7 cm × 10 cm, 自制, 樟脑、冰片、薄荷脑的含量分别为31.08 mg · g<sup>-1</sup>、20.6 mg · g<sup>-1</sup>、21.82 mg · g<sup>-1</sup>)。经统计学处理, 两种类型通络祛痛膏中樟脑、冰片、薄荷脑的含量无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 1.4 动物

离体猪皮, 北京实创世纪小型猪养殖基地, 实验动物生产许可证号: SCXK(京)2018-0011, 实验动物使用许可证号: SYXK(京)2018-0040; 合格证号: 111014000000219。

## 2 方法与结果

### 2.1 气相色谱测定方法

#### 2.1.1 色谱条件

以聚乙二醇20000(PEG-20M)为固定相的毛细管柱(柱长为30 m, 柱内径为0.32 mm, 膜厚度为0.25 μm), 柱温为140 °C, 进样口温度180 °C, FID检测器温度230 °C。载气为氮气, 流速2 mL · min<sup>-1</sup>, 分流比20 : 1, 氢气流速35 mL · min<sup>-1</sup>, 空气流速400 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量1 μL, 理论塔板数按萘峰计算应不低于10000, 各峰与其相邻色谱峰的分离度均大于1.5, 各峰拖尾因子在0.95 ~ 1.05之间<sup>[2-4]</sup>。

#### 2.1.2 对照品储备液的制备

取樟脑对照品、薄荷脑对照品、冰片对照品适量,精密称定,分别加乙酸乙酯制成每1 mL含0.4 mg、0.2 mg、0.2 mg的溶液,作为混合对照品储备溶液。

### 2.1.3 内标溶液的制备

取萘适量,精密称定,加乙酸乙酯制成每1 mL含0.05 mg萘的溶液,作为内标溶液。

### 2.1.4 校正因子的测定

精密量取上述混合对照储备液5 mL和内标溶液20 mL置100 mL容量瓶中,加乙酸乙酯定容至刻度,摇匀,精密吸取1  $\mu$ L,注入气相色谱仪,测定。计算得出樟脑、薄荷脑、冰片校正因子*f*分别为1.03、1.06、1.11。

## 2.2 体外透皮扩散试验

### 2.2.1 通络祛痛膏样品的制备

称取处方量的橡胶、松香等制成的基质,加入上述通络祛痛浸膏、樟脑、冰片、薄荷脑、氮酮(不含氮酮的样品不再添加),混匀,制成涂料,涂于弹性布和防粘纸之间,切段,盖衬,切成7 cm  $\times$  10 cm的膏片,即得。

### 2.2.2 猪皮处理

取透皮扩散试验用离体猪腹部皮肤,小心除去皮下脂肪,用生理盐水洗净,切割成试验用小块皮肤,立即进行透皮试验,其余离体皮肤真空密封包装后,-70  $^{\circ}$ C冰箱保存,备用<sup>[5-11]</sup>。

### 2.2.3 溶解度考察

分别向1 mL 20%无水乙醇生理盐水溶液加入过量樟脑对照品、薄荷脑对照品、冰片对照品,平行制备3份,32  $^{\circ}$ C水浴振荡20 min,离心5 min(转速6000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>),取上清液进行测定。测得樟脑、薄荷脑、冰片在20%无水乙醇生理盐水溶液中的溶解度分别为501.02  $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>、452.23  $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>、230.11  $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>,用含有氮酮的通络祛痛膏透皮试验24 h,供给池内樟脑、薄荷脑、冰片药物量分别为905.87  $\mu$ g、553.68  $\mu$ g、674.50  $\mu$ g,接受液体积为18 mL,满足是饱和溶液体积5~10倍的“漏槽”条件<sup>[12]</sup>。

### 2.2.4 体外透皮吸收试验

采用垂直式Franz扩散池为透皮扩散装置,接受液为20%无水乙醇生理盐水溶液,转速300 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,扩散面积为3.14 cm<sup>2</sup>,接收池总体积为18 mL,32  $\pm$  0.5  $^{\circ}$ C水浴循环。每次试验取12片皮肤,

将皮肤固定在扩散池上,角质层朝向供给室,将受试制剂紧密贴敷在猪皮角质层上,上面覆盖一层铝箔纸,盖上吸收池盖,用夹子夹紧。接收室注满接受液,排尽皮肤下的空气,使液面恰与猪皮接触。于设定的时间点4、6、8、12、24 h量取接受液5 mL,同时立即补加同体积同温度的新鲜接受液,24 h后终止试验。

### 2.2.5 药物透过量的测定

取各时间点接受液5 mL置离心管中,精密加入乙酸乙酯4 mL和内标溶液1 mL,摇匀,离心5 min(转速6000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>),取上清液,即得透皮接受液。按“2.1.1”节下色谱条件进行含量测定,计算各个时间点单位面积的累积透过量( $Q_n$ )<sup>[13-25]</sup>。

### 2.2.6 皮肤滞留量的测定

将透皮试验后的皮肤剪碎,置具塞瓶中,精密加入无水乙醇20 mL,超声(频率:40 kHz;功率:600 W)40 min,放冷至室温,补足重量,精密量取4 mL,精密加入内标溶液1 mL,摇匀,即得皮肤滞留液。按“2.1.1”节下色谱条件测定并计算单位面积皮肤中各组分的滞留量。

### 2.2.7 膏片残留量的测定

将透皮试验后的残留膏连同铝箔纸剪碎,置具塞瓶中,精密加入无水乙醇20 mL,超声(频率:40 kHz;功率:600 W)40 min,放冷至室温,补足重量,精密量取4 mL,精密加入内标溶液1 mL,摇匀,即得膏片残留液。按“2.1.1”节下色谱条件测定并计算单位面积膏片中各组分的残留量。

## 2.3 方法学验证

### 2.3.1 线性及检测限、定量限的考察

精密量取“2.1.2”节下对照品储备液1 mL,置20 mL量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,精密吸取1 mL,置10 mL量瓶中,精密加入“2.1.3”节下内标溶液1 mL,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀;再分别精密量取“2.1.2”节下对照品储备液0.2、0.5、0.8、1.0、2.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,分别精密加入“2.1.3”节下内标溶液1 mL,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,制成系列对照品溶液。按“2.1.1”节下色谱条件,分别吸取1  $\mu$ L注入气相色谱仪中,以对照品浓度为横坐标( $X$ ),对照品峰面积与内标峰面积比值为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,计算得樟脑、薄荷脑、冰片的回归方程,

见表1。樟脑、薄荷脑、冰片的检测限分别为 $0.16 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ （信噪比3:1）；樟脑、薄荷脑、冰片的定量限分别为 $0.91 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.65 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.86 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ （信噪比10:1）。

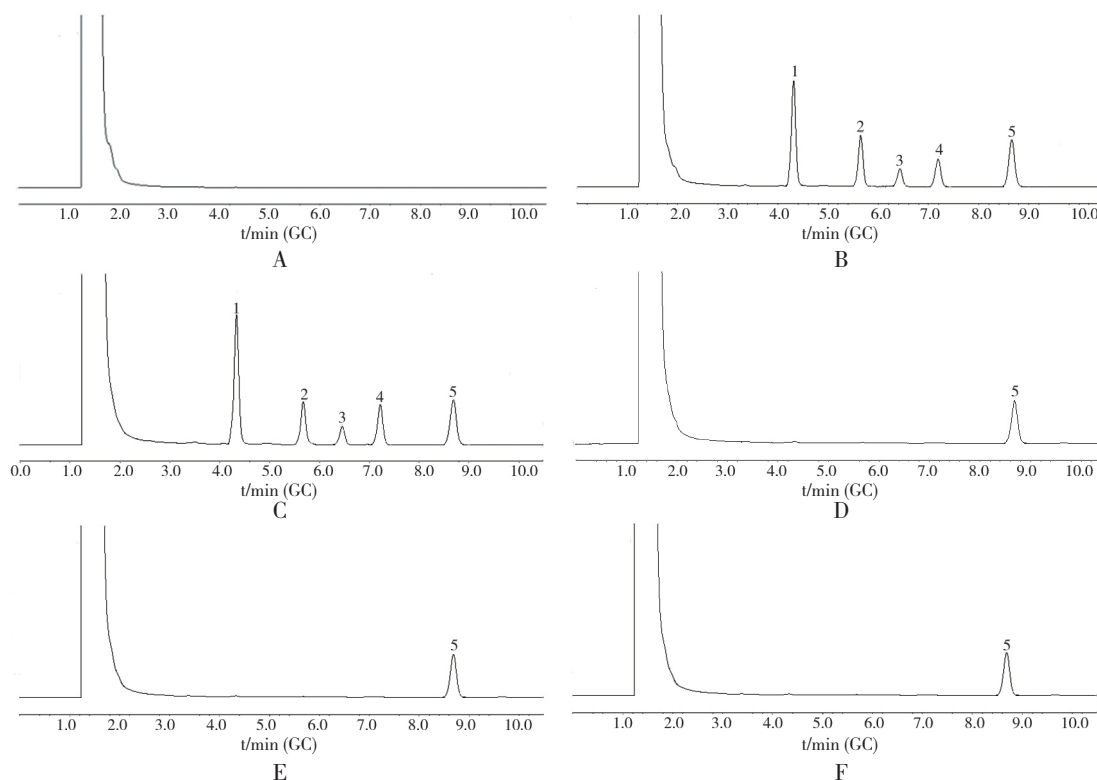
表1 樟脑、薄荷脑、冰片的回归方程和线性范围

对照品名称	回归方程	线性范围 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	<i>r</i>
樟脑	$Y=0.0783X+0.0167$	2.054 ~ 82.16	0.9999
薄荷脑	$Y=0.0798X+0.0038$	1.048 ~ 41.92	0.9999
冰片	$Y=0.0777X+0.0031$	1.038 ~ 41.52	0.9999

### 2.3.2 专属性

取不含樟脑、薄荷脑、冰片的空白贴片，按“2.2.4”节下方法试验24 h后，按照“2.2.5”节下方法制备接受液阴性对照溶液a；取下皮肤，按照“2.2.6”节下方法，制备皮肤滞留的阴性对照溶液b；取下试验后空白贴片，按“2.2.7”节下方法制备膏片残留液的阴性对照溶液c；精密量取“2.1.2”节下对照品贮备液5 mL，置100 mL容量瓶中，精密加入“2.1.3”节下内标溶液1 mL，加乙酸

乙酯定容至刻度，摇匀，作为对照品溶液；精密吸取乙酸乙酯空白溶剂、对照品溶液、24 h的样品透过液、阴性对照溶液a、阴性对照溶液b、阴性对照溶液c，各1  $\mu\text{L}$ ，注入气相色谱仪，结果，在同一色谱条件下，供试品溶液主峰的保留时间与对照品主峰保留时间一致，接受液的阴性对照溶液a和皮肤滞留的阴性对照溶液b以及膏片残留的阴性对照溶液c对测定无干扰，详见图1。



A. 空白溶剂；B. 混合对照品；C. 24 h供试品；D. 阴性对照溶液a；E. 阴性对照溶液b；F. 阴性对照溶液c；1. 樟脑；2. 薄荷脑；3. 异龙脑；4. 龙脑；5. 萘。

图1 专属性GC色谱图



### 2.3.3 精密度

取“2.3.1”节下对照品溶液,按“2.1.1”节下色谱条件重复进样6次,测定峰面积,分别以樟脑、薄荷脑、冰片与内标峰面积的比值计算RSD值,RSD( $n=6$ )分别为0.22%、0.39%、0.23%,结果表明仪器精密度良好。

### 2.3.4 重复性

取添加氮酮的通络祛痛膏样品12 h透皮接受液样品平行6份,按“2.2.5”节下方法处理,另取“2.2.6”节下皮肤滞留液、“2.2.7”节下膏片残留液各平行6份,按“2.1.1”节下色谱条件进样分析,樟脑含量的RSD分别为0.71%、1.03%、0.98%,薄荷脑含量的RSD为0.85%、0.96%、1.12%,冰片含量的RSD为0.38%、1.16%、0.97%,结果表明重复性良好。

### 2.3.5 稳定性

取“2.3.4”节下的第1份接受液制备的供试品溶液,另取“2.2.6”节下皮肤滞留样品溶液、“2.2.7”节下膏片残留样品溶液,分别于0、2、4、6、8、12、24 h注入气相色谱仪,记录色谱图。结果表明透皮接受液中樟脑、薄荷脑、冰片的含量RSD( $n=6$ )分别为0.43%、0.41%、0.55%;皮肤滞留样品溶液中樟脑、薄荷脑、冰片的含量RSD( $n=6$ )分别为0.96%、1.03%、1.24%;膏片残留样品溶液中樟脑、薄荷脑、冰片的含量RSD( $n=6$ )分别为1.01%、0.99%、0.95%,各供试品溶液在24 h内稳定。

### 2.3.6 加样回收率

精密量取添加氮酮的通络祛痛膏样品24 h透皮接受液(樟脑的含量 $50.33 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、薄荷脑的含量 $30.76 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、冰片的含量 $37.45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),皮肤滞留液(樟脑的含量 $3.93 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、薄荷脑的含量 $3.97 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、冰片的含量 $3.67 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、膏片残留液(樟脑的含量 $36.70 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、薄荷脑的含量 $26.94 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、冰片的含量 $23.42 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )各1 mL平行9份,分成3组,每组3份,再分别加入0.8、1.0、1.2倍的对照品,分别置10 mL容量瓶中,精密加“2.1.3”节下内标溶液1 mL,加乙酸乙酯定容至刻度,摇匀。按“2.1.1”节下色谱条件测定含量,计算樟

脑、薄荷脑、冰片的平均回收率并计算RSD值。透皮接受液中樟脑、薄荷脑、冰片的平均回收率分别为100.00%、99.96%、100.17%,RSD分别为0.57%、0.94%、0.73%;皮肤滞留液中樟脑、薄荷脑、冰片的平均回收率分别为99.69%、101.02%、99.34%,RSD分别为1.02%、0.89%、0.96%;膏片残留液中樟脑、薄荷脑、冰片的平均回收率分别为101.69%、101.33%、99.89%,RSD分别为0.99%、1.03%、1.11%。

## 2.4 数据分析

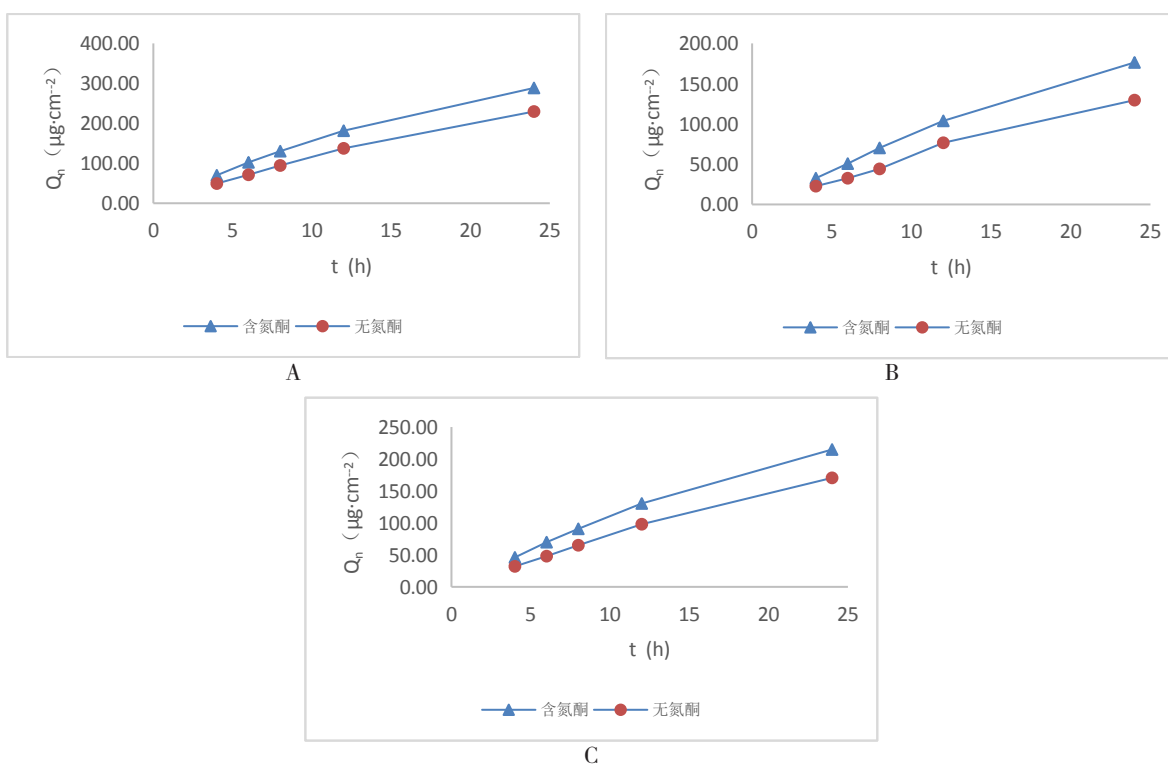
### 2.4.1 药物透过量的测定

取“2.2.5”节下接受液样品,按“2.1.1”节下色谱条件进行含量测定,计算各个时间点单位面积的累积透过量( $Q_n$ )。

$$Q_n = \frac{C_n V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i}{A}$$

式中,“ $C_n$ ”为第 $n$ 次取样点测得的药物浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );“ $C_i$ ”为第 $i$ ( $1 \leq i \leq n-1$ )个取样点测得的药物浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );“ $V_0$ ”为接收池中溶液的体积(18 mL),“ $V_i$ ”为取样体积(5 mL),“ $A$ ”为透皮面积( $3.14 \text{ cm}^2$ ),“ $Q_n$ ”为单位面积累积透过量( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )。

通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片在离体乳猪皮肤上的累积渗透量结果,以各时间点单位面积累积透过量( $Q_n$ )对时间( $t$ )作图,得体外经皮渗透曲线,并进行比较,由图2结果可知,添加氮酮与不添加氮酮的通络祛痛膏中樟脑 $Q_{24h}$ 分别为 $288.49 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、 $229.51 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,累积透过率分别为42.73%、33.99%,RSD依次为0.93%、1.02%( $n=12$ );薄荷脑 $Q_{24h}$ 分别为 $176.33 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、 $129.54 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,累积透过率分别为38.45%、28.25%,RSD依次为1.11%、1.32%( $n=12$ );冰片 $Q_{24h}$ 分别为 $214.81 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 、 $170.47 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,累积透过率分别为46.84%、37.17%,RSD依次为0.79%、0.95%( $n=12$ )。可见,添加氮酮的通络祛痛膏的透皮性能高于未添加氮酮的通络祛痛膏。



A. 樟脑; B. 薄荷脑; C. 冰片。

图2 3种指标成分在不同类型贴膏中的 $Q_n-t$ 曲线 ( $n=12$ )

将两种类型通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片各时间点的单位面积累积释药量 $Q_n$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )与时间( $t$ )的关系,分别采用零级动力学、一级动力学、Higuchi方程3种数学模型进

行拟合,分析其体外渗透性。结果,经皮渗透曲线均以Higuchi方程拟合效果较好。直线的斜率即为药物稳态经皮渗透速率 $J_s$  ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ),结果见表2。

表2 不同类型贴膏中3种指标成分的经皮透皮参数 ( $n=12$ )

药物	类型	$Q-t$ 方程	拟合度 $R^2$	稳态经皮渗透速率 $J_s/$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ )	
樟脑	含氮酮	零级	$Q=0.0050t+0.0186$	0.9854	0.0050
		一级	$L_n(1-Q)=0.0055t-0.0168$	0.9890	0.0055
		Higuchi	$Q=0.0368t^{1/2}-0.0390$	0.9998	0.0368
	无氮酮	零级	$Q=0.0042t+0.0095$	0.9910	0.0042
		一级	$L_n(1-Q)=0.0045t-0.0082$	0.9932	0.0045
		Higuchi	$Q=0.0298t^{1/2}-0.0383$	0.9984	0.0298
薄荷脑	含氮酮	零级	$Q=0.0049t+0.0071$	0.9891	0.0049
		一级	$L_n(1-Q)=0.0053t-0.003$	0.9920	0.0053
		Higuchi	$Q=0.0348t^{1/2}-0.0488$	0.9990	0.0348
	无氮酮	零级	$Q=0.0037t+0.0019$	0.9864	0.0037
		一级	$L_n(1-Q)=0.0040t-0.0008$	0.9882	0.0040
		Higuchi	$Q=0.0265t^{1/2}-0.0406$	0.9911	0.0265

续表2

药物	类型	$Q-t$ 方程	拟合度 $R^2$	稳态经皮渗透速率 $J_s / (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$	
冰片	含氮酮	零级	$Q = 0.0057t + 0.0146$	0.9884	0.0057
		一级	$L_n(1-Q) = 0.0063t - 0.0122$	0.9919	0.0063
	无氮酮	Higuchi	$Q = 0.0406t^{1/2} - 0.0507$	0.9995	0.0406
		零级	$Q = 0.0048t + 0.0059$	0.9934	0.0048
		一级	$L_n(1-Q) = 0.0051t - 0.0042$	0.9955	0.0051
		Higuchi	$Q = 0.0336t^{1/2} - 0.0480$	0.9972	0.0336

由表2可得, 通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片的体外经皮渗透动力学以Higuchi方程拟合效果最好, 相关系数( $r$ )均大于0.99, 即 $Q_n$ 与 $t^{1/2}$ 呈良好线性关系。在24 h的体外透皮过程中, 在相同的透皮条件下, 含氮酮的通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片的体外经皮渗透速率均大于各成分在不含氮酮的通络祛痛膏中的透皮速率。说明添加氮酮,

通络祛痛膏中挥发性药物透皮速率更快, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

#### 2.4.2 皮肤滞留量的测定

取“2.2.6”节下皮肤滞留样品, 按“2.1.1”节下色谱条件测定并计算单位面积皮肤中各组分的滞留量, 见表3。

表3 不同类型贴膏中3种指标成分的单位皮肤滞留量比较 ( $n=12$ )

剂型	樟脑 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	薄荷脑 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	冰片 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )
含氮酮	31.87	31.64	29.25
无氮酮	23.86	18.9	15.84

由表3可知, 经皮渗透后, 含氮酮的通络祛痛膏中上述各成分在皮肤中的滞留量较高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

#### 2.4.3 膏片残留量的测定

取“2.2.7”节下膏片残留样品, 按“2.1.1”节下色谱条件测定并计算单位面积膏片中各组分的残留量, 见表4。

表4 不同类型贴膏中3种指标成分的单位膏片残留量比较 ( $n=12$ )

剂型	樟脑 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	薄荷脑 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	冰片 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ )
含氮酮	290.32	214.02	186.48
无氮酮	355.98	286.56	247.96

由表4可知, 上述药物经皮渗透后, 含氮酮的通络祛痛膏中上述各成分在膏片中的残留量较低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

氮酮是目前公认的一种优良的穿透促进剂, 氮酮能渗入皮肤角质层, 与角质层细胞间隙脂质相

互作用, 降低细胞间脂质排列的有序性, 并脱去脂质, 形成孔道, 降低了药物阻力; 同时, 氮酮能增加角质层含水量, 使角质层蓬松胀大, 细胞间隙扩大, 药物在角质层/基质间的分配系数变大, 有利于药物在角质层形成贮库<sup>[26-30]</sup>。

通络祛痛膏作为外用中成药橡胶贴膏, 药物

成分复杂,在治疗疾病过程中,药物透过皮肤才能发挥作用,贴敷时间越长,药物可能透过的越多,但是,贴敷之后,膏片中仍然残留有药物,同时,过长的贴敷时间,有可能会影响贴敷部位皮肤正常的新陈代谢,从而引起不良反应。透皮吸收促进剂的添加,可以加快药物的渗透,促进药物的利用。

本研究选用通络祛痛膏中的樟脑、薄荷脑、冰片三种化合物,以氮酮为透皮吸收促进剂,初步考察氮酮的透皮吸收促进作用,在透皮试验方法的选择中,考察了如下试验条件:1)接受液A:20%无水乙醇生理盐水溶液;B:20%无水乙醇-生理盐水(1:4)溶液;C:20%无水乙醇PBS(pH7.4)溶液,其他条件不变,以12 h取样的透过液中药物成分含量最高为判断依据,结果显示,接受液A、B、C中樟脑含量分别为183.6、149.5、161.1  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,薄荷脑的含量分别为90.6、74.0、73.2  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,冰片的含量分别为124.4、102.8、109.2  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,筛选较优的接收介质为20%无水乙醇生理盐水溶液;2)搅拌转速:200  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、250  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、300  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,其他条件不变,以12 h取样的透过液中药物成分含量最高为判断依据,转速分别为300  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、350  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,12 h取样接受液中药物成分的含量基本一致,经统计学处理,含量数据之间无显著性差异( $P>0.05$ ),且均高于250  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速条件下的含量,说明300  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速已经能够满足试验要求,因此,选择转速条件为300  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

体外经皮渗透结果显示:添加透皮吸收促进剂氮酮之后,通络祛痛膏中樟脑、冰片、薄荷脑的体外经皮渗透速率加快,累积透过量增加,同时,皮肤中的药物滞留量增加,而膏片中药物的残留量降低。这有利于樟脑、冰片、薄荷脑的透皮吸收,提高药物利用率。

氮酮对通络祛痛膏中其它药物成分的透皮吸收的影响,及提高药物促透效果之后对贴敷部位皮肤的影响,有待进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 中国药典:一部[S]. 2015: 1456-1457.

[2] 李彦超,李宜鲜,姚另文,等. GC法同时测定通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑和冰片的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(4): 672-675.

- [3] 王海波,宋汉敏,李振国. 气相色谱法同时测定关节止痛膏中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 77-80.
- [4] 姜家书,谢其亮,李敦明,等. 气相色谱法测定通络祛痛膏中樟脑、薄荷脑和冰片含量[J]. 中国药业, 2014, 23(7): 31-32.
- [5] 邵琪臻,刘慧,丁平田,等. 联苯苄唑乳膏体外透过评价试验[J]. 使用药物与临床, 2011, 14(1): 30-34.
- [6] 陈军,舒祥,余南才. 山萘祛斑凝胶与软膏透皮特性比较研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(2): 136-139.
- [7] 李璐,周建明,杨一帆,等. 复方南星止痛膏活性成分在不同接收介质中的透皮扩散行为比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(3): 1-7.
- [8] 姚俊宏,蒋秋冬,陈军,等. 21种辛味中药挥发油透皮促渗效果的药性规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 1-7.
- [9] 王艳,王丽峰,席亚斌,等. 促渗剂对光甘草定体外经皮渗透效果的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 14-16.
- [10] 孙权,李冰,王星,等. 氮酮对6-姜酚透皮吸收的影响[J]. 中成药, 2018, 40(3): 583-586.
- [11] 曾明辉,熊静悦,朱九群,等. 析因设计优化塞来昔布凝胶中透皮促渗剂用量研究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(4): 293-297.
- [12] 吴叶鸣,陈军,刘培,等. 羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物对当归挥发油透皮吸收的影响[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2636-2641.
- [13] 夏爱晓,周鹏,林忠,等. 伊曲康唑凝胶的制备及体外透皮性考察[J]. 医药导报, 2019, 38(7): 933-936.
- [14] 赵胜星. 复方白芍巴布剂的研制[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.
- [15] 王森,欧水平,涂高,等. 吴茱萸次碱透皮贴剂的处方优化[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(6): 439-444.
- [16] 吴素香,闫冉,石森林,等. 桂枝茯苓透皮贴剂的制备[J]. 中成药, 2018, 40(3): 571-577.
- [17] 赵妹. 活血凝胶贴膏的制备工艺及质量标准研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [18] 郭香琴. 盐酸氨基葡萄糖巴布剂的制备与质量研究[D]. 重庆师范大学, 2017.
- [19] 王洪宽,张华. 布洛芬贴剂中促渗剂筛选[J]. 沈阳: 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(11): 83-84.



- [20] 林桂涛, 盛华刚, 张超, 等. 复方蟾酥镇痛巴布膏剂体外透皮吸收研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 1-3.
- [21] 李晓松, 叶锐彬, 阳秀平, 等. 伤科止痛膏中透皮促进剂的选择[J]. 中成药, 2010, 32(8): 1348-1351.
- [22] 李艳. 痛风清凝胶贴膏的研制及其体外经皮渗透研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2018.
- [23] 梁军, 武慧超, 杜守颖, 等. 白脉软膏主要成分体外经皮透过性的研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2486-2492.
- [24] 陶敏, 彭龙, 王琦, 等. 盐酸丁卡因凝胶的制备及评价研究[J]. 药物评价研究, 2019, 42(8): 1551-1556.
- [25] 梁静娴, 吕邵娃, 朱婷, 等. 基于相同载体体系的中药成分自乳化制剂的制备及其体外透皮吸收特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 121-126.
- [26] 郑俊民, 丁平田, 方亮, 等. 经皮给药新制剂[M]. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 79-80.
- [27] 朱倩云, 李筱青, 李成网. 氮酮对如意金黄乳膏体外透皮吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 24-26.
- [28] 刘晓昱, 赖瑛. 白芷香豆素储库型贴剂的研制及其体外评价[J]. 中草药, 2018, 49(2): 313-317.
- [29] 张超. 氮酮对骨平巴布膏中延胡索乙素在体经皮吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 14-15.
- [30] 张超. 氮酮对骨平巴布膏中葛根素体外透皮吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 1-3.

(收稿日期 2019年12月19日 编辑 邹宇玲)