

基于滚轮微针与电致孔联用的青藤碱透皮贴剂促渗效果研究

崔闻宇，杨曼玉，刘迪，王妍

哈尔滨商业大学 药学院，黑龙江 哈尔滨 150076

摘要：目的 探究滚轮微针联合电致孔对青藤碱(SIN)透皮贴剂的促渗作用。方法 制备SIN透皮贴剂，采用桨碟法考察其释药行为；通过Franz扩散池评估体外透皮性能；以SIN 24 h累积渗透量(Q_{24})为评价指标，结合单因素与正交实验优化电致孔参数；通过体内药动学研究验证其促渗效果。结果 所制备的SIN透皮贴剂符合一级释药特征；最优电致孔参数为：脉冲电压80 V、脉冲时间40 ms、脉冲个数300个、脉冲频率40 pulses·min⁻¹，此时 Q_{24} 达(1504.28±18.50) μg·cm⁻²，为对照组(无微针及电致孔预处理)的5.36倍。体内药动学结果显示，滚轮微针联合电致孔贴剂组的半衰期($t_{1/2}$)为(16.38±4.84) h，较ig组提高1.54倍；药时曲线下面积(AUC_{0-t})为(47.32±9.06) μg·h·mL⁻¹，较ig组和单纯贴剂组(无联合促渗处理)分别提高2.39倍和1.54倍，且该联合组相对ig组的生物利用度达(238.99±20.05)%。结论 滚轮微针联合电致孔促渗技术可延长SIN透皮贴剂的体内滞留时间，维持更稳定的血药浓度，为SIN透皮贴剂的高效促渗提供可行的策略。

关键词：青藤碱；透皮贴剂；经皮渗透；电致孔；滚轮微针

中图分类号：R943.4 文献标志码：A 文章编号：1674-6376(2025)12-3641-11

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.019

Study on promotion of transdermal penetration of sinomenine transdermal patch based on combination of roller microneedles and electroporation

CUI Wenyu, YANG Manyu, LIU Di, WANG Yan

College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: **Objective** To investigate the penetration promoting effect of roller microneedle combined with electroporation on sinomenine (SIN) transdermal patch. **Methods** The SIN transdermal patch was prepared and its drug release behavior was investigated using the paddle over disk method. *In vitro* transdermal performance was evaluated via the Franz diffusion cell. Using the 24-hour cumulative permeation amount of SIN (Q_{24}) as the evaluation index, the electroporation parameters were optimized by combining single-factor and orthogonal experiments. Its penetration enhancing effect was validated through *in vivo* pharmacokinetic studies. **Results** The formulated SIN transdermal patch exhibited a first-order drug release profile. The optimized electroporation parameters were as follows: Pulse voltage 80 V, pulse time 40 ms, pulse number 300, and pulse frequency 40 pulses·min⁻¹. Under these conditions, the Q_{24} reached (1504.28±18.50) μg·cm⁻², which was 5.36 times that of the control group (without microneedle or electroporation pretreatment). *In vivo* pharmacokinetic results demonstrated that the roller microneedle combined with electroporation patch group achieved the half-life ($t_{1/2}$) of (16.38±4.84) h, which was 1.54 times than that of the ig group. The area under the plasma concentration-time curve (AUC_{0-t}) was (47.32±9.06) μg·h·mL⁻¹, representing 2.39 times and 1.54 times increases compared to the ig group and the simple patch group (without combined penetration enhancement treatment), respectively. Moreover, the relative bioavailability of this combined group reached (238.99±20.05)% compared to the ig group. **Conclusion** The combination of roller microneedles and electroporation technology prolonged the *in vivo* residence time of the SIN transdermal patch and maintained a more stable plasma concentration, which provides a viable strategy for enhancing the permeation efficiency of SIN transdermal patches.

Key words: sinomenine; transdermal patch; transdermal delivery; electroporation; roller microneedle

青藤碱是从中药青风藤中提取的活性生物碱，具有抗炎、镇痛、免疫抑制及抗肿瘤等药理活性，临床广泛应用于类风湿关节炎等疾病的治疗^[1-4]。然而，其口服与注射给药方式存在生物利用度低、

收稿日期：2025-08-20

基金项目：黑龙江省自然科学基金资助项目（PL2024H195）

作者简介：崔闻宇（1981—），女，博士，副教授，主要从事经皮给药系统促渗方法的研究。E-mail: cuiwenyu0603@163.com

半衰期短及胃肠道刺激性强等缺陷，导致临床治疗中需大剂量长期给药，严重限制了其在临床上的广泛应用^[5-6]。

经皮给药系统(TDDS)是指药物分子通过皮肤给药进入体循环，进而实现局部或全身治疗效应的给药方式^[7]。与口服及 sc 给药相比，TDDS 可有效规避药物的胃肠道首关效应，最大程度降低胃肠道不良反应，提升生物利用度，减少给药频次，进而提高患者治疗依从性^[8-12]。但 TDDS 的核心瓶颈在于皮肤固有屏障角质层的存在，显著阻碍了药物的经皮吸收^[13-14]。为实现药物的高效递送，常采用物理与化学方法增强药物经皮渗透能力：物理方法主要通过提供外部能量驱动药物高效经皮渗透，包括微针、离子导入、电致孔及超声波等技术；化学方法则以选用适宜促渗剂为主^[15]。其中，微针是由大量微米级针状结构排列于基座上的微创设备，可穿透皮肤角质层并形成给药通道，药物经该通道直接扩散至真皮微循环，进而递送至局部或全身发挥治疗作用，具有无痛、微创、操作便捷等优势^[16]；电致孔技术则通过在皮肤表面施加瞬时高压脉冲，使角质层磷脂双分子层形成暂时性亲水性孔隙，进而提高细胞通透性^[17-18]。为进一步提升药物经皮渗透效果，研究人员尝试将多种促渗技术联合应用，如超声波与化学促渗剂联用^[19]、离子导入与微针协同作用^[20]等，均能显著提高药物渗透效率。

本研究制备青藤碱透皮贴剂，采用滚轮微针-电致孔联合促渗技术增强其经皮渗透性，通过考察并筛选电致孔最佳参数以实现药物最优促渗效果；借助体内、外经皮渗透实验，系统探究滚轮微针与电致孔联合作用下药物的释放行为。研究旨在改善青藤碱的经皮渗透性能、提高其生物利用度，为青藤碱 TDDS 的研发提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

SR-3000 Solvent Rack 型高效液相色谱仪，美国 Dionex 公司；TG20KR 型高速台式冷冻离心机，盐城市凯特实验仪器有限公司；Balance X PR106DUH/AC 电子天平，瑞士梅特勒-托利多公司；LHJ-IX 型电致孔仪，迈胜医疗设备有限公司；配置正负电极，淮安煜奕电子科技有限公司；滚轮微针（规格 0.75 mm×28.05 mm），苏州美沃斯医疗科技有限公司；DF-101S 型水浴磁力搅拌器，常州金坛良友仪器有限公司；AS3120A 型超声波清洗

机，苏州纳森超声科技有限公司。

1.2 材料

对照品青藤碱（质量分数 98%，批号 2204180250），南京都莱生物技术有限公司；青藤碱原料药（质量分数 98%，批号 JH20224-4），西安嘉和生物技术有限公司；乙酰苯胺（质量分数 99%，批号 21120277），中国食品药品检定研究院；三乙胺、甲醇（色谱纯），Merck 公司；乙醚（分析纯），天津市津东天正精细化学试剂厂；丙酮（分析纯），天津市科密欧化学试剂有限公司；异丙醇，苏州新华东化工有限公司。

1.3 动物

健康雄性 SD 大鼠，体质量 230~250 g，购自辽宁长生生物技术有限公司，生产许可证号 SCXK(辽) 2020-0001。所有动物实验遵循哈尔滨商业大学伦理委员会有关实验动物管理和使用的规定，实验动物伦理号 HSDYXY-2023056。

2 方法与结果

2.1 青藤碱透皮贴剂的制备

青藤碱透皮贴剂的处方组成如下：压敏胶（聚丙烯酸树脂IV）：2 g；增塑剂（邻苯二甲酸二乙酯）：1.5 mL；化学促渗剂（薄荷醇）：处方总质量的 8%；载药量（青藤碱）：处方总质量的 2%。

制备工艺如下：取 2 g 聚丙烯酸树脂IV，溶于适量复合溶媒（丙酮：异丙醇=1:1）中，搅拌至完全溶解后静置 12 h，使体系平衡；随后依次加入 1.5 mL 邻苯二甲酸二乙酯、处方总质量 8% 的薄荷醇，以及含处方总质量 2% 青藤碱的甲醇溶液，持续搅拌至混合液澄清透明；经超声（200 W、80 Hz）15 min 脱气除泡后，将药液均匀涂布于规格为 2 cm×4 cm 的防黏层表面；室温放置至溶媒完全挥发固化，再覆盖背衬层，即得青藤碱透皮贴剂，其制备工艺流程见图 1。

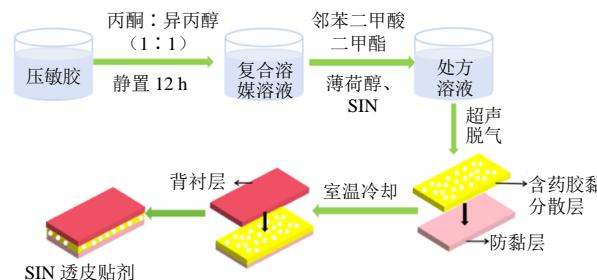


图 1 青藤碱透皮贴制备工艺

Fig. 1 Sinomenine transdermal patch fabrication process

2.2 青藤碱含量测定

2.2.1 色谱条件 采用 Welchrom C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；流动相为 0.5%三乙胺水溶液-甲醇(1:1)等度洗脱；检测波长 265 nm；体积流量 1.0 mL·min⁻¹；柱温 40 °C；进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备：精密称取青藤碱对照品 5.00 mg，置于 10 mL 量瓶中，用甲醇：水(1:1)定容至刻度，得青藤碱对照品母液。再用甲醇：水(1:1)稀释得到质量浓度为 1.00、2.50、12.50、25.00、50.00、100.00、125.00 μg·mL⁻¹ 的青藤碱对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 于 Franz 扩散池接收池中精密吸取体外经皮释放实验样品溶液，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

阴性对照溶液制备：精密吸取适量 30%乙醇：0.9%氯化钠溶液(3:7)溶液，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得阴性对照品溶液。

2.2.4 专属性考察 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件分别进样分析，记录色谱图。结果如图 2 所示，青藤碱供试品和青藤碱对照品保留时间一致，且阴性对照品不对测定结果造成干扰，表明方法专属性良好。

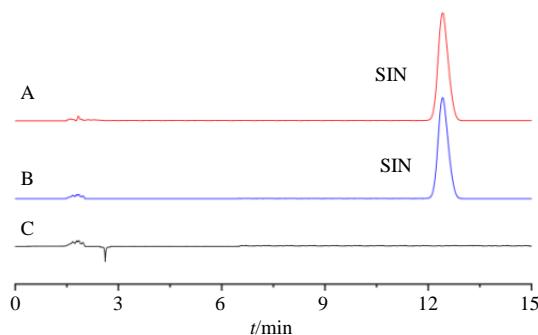


图 2 青藤碱对照品溶液(A)、供试品溶液(B)、阴性对照品溶液(C)的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of sinomenine reference substance solution (A), test solution (B), and negative control solution (C)

2.2.5 线性关系考察 分别取质量浓度为 1.00、2.50、12.50、25.00、50.00、100.00、125.00 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件进样，测定峰面积，以对照品溶液质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，拟合线性方程为 $Y=0.3252X+0.1911$, $R^2=0.9999$ ，线性范围 1.00~125.00 μg·mL⁻¹。

2.2.6 精密度考察 取质量浓度分别为 2.50、25.00、50.00 μg·mL⁻¹ 的青藤碱对照品溶液，1 d 内连续进样测定 5 次，连续测定 3 d，记录峰面积，考察日内精密度和日间精密度。计算得 3 个质量浓度的日内精密度 RSD 值分别为 1.15%、0.36%、0.38%，日间精密度的 RSD 值分别为 0.89%、0.47%、0.31%，表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性考察 于同一供试品溶液中精密吸取 6 份样品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.1”项下方法分析，计算峰面积的 RSD 值为 0.65%，表明该方法重复性良好。

2.2.8 稳定性考察 精密吸取供试品溶液，分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样测定峰面积，计算得 RSD 值为 0.44%，表明青藤碱供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.9 加样回收率考察 精密量取 9 份青藤碱对照品母液(每份 1 mL)，每 3 份为一组，分别定容至 10 mL(青藤碱质量浓度 50 μg·mL⁻¹)、50 mL(青藤碱质量浓度 10 μg·mL⁻¹)、100 mL(青藤碱质量浓度 5 μg·mL⁻¹)，各组均精密加入一定体积的青藤碱标准溶液(质量浓度 10 μg·mL⁻¹)，按“2.2.1”项下方法进样分析，结果表明，3 种质量浓度的平均加样回收率为 99.55%，RSD 为 0.72%，表明该含量测定方法准确度良好，符合方法学验证要求。

2.3 体外渗透实验

2.3.1 离体鼠皮制备 将 SD 雄性大鼠用 10%水合氯醛麻醉，剃除腹部鼠毛，随后处死，迅速剪取腹部皮肤，剥离皮下组织，裁剪适宜大小，封装于 0.9% 氯化钠溶液的密封袋中，冻存备用。

2.3.2 体外释放度考察 参照《中国药典》2025 年版溶出度与释放度测定法第四法桨碟法进行测定，将青藤碱透皮贴剂的含药面朝上，固定于溶出杯内碟片中央^[21]。以 900 mL 经超声脱气处理的乙醇-0.9%氯化钠溶液(3:7)为释放介质，溶出杯内的温度为 (32.0±0.5) °C，搅拌桨转速为 50 r·min⁻¹。分别于各时间点平行取样 5 mL ($n=6$)，并及时补充等温等体积的释放介质，样品经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后在“2.2.1”色谱条件下进样分析。计算体外累积释放度 Q (%)，释放曲线分别用零级方程、一级方程、Higuchi 方程进行拟合。

$$Q=(VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i)/m$$

V 为释放介质体积 (mL); V_i 为取样体积 (mL); m 为透

皮贴剂中的药物总含量 (μg)； C_n 为第 n 个取样点的样品质量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)； C_i 为该取样点前各取样点的质量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

图 3 为青藤碱透皮贴剂释放曲线，3 批青藤碱透皮贴剂 12 h 的 Q 分别为 $(81.58 \pm 0.51)\%$ 、 $(80.96 \pm 0.81)\%$ 、 $(82.63 \pm 0.77)\%$ ，表明体外释放一致性良好。释放曲线拟合结果见表 1，青藤碱透皮贴剂释药行为与一级方程拟合度最高 ($R^2=0.9939$)。

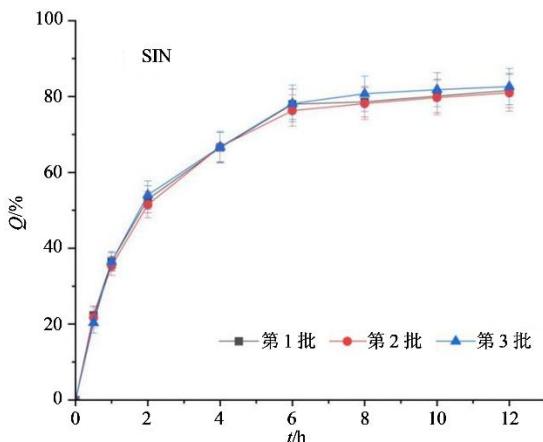


图 3 青藤碱贴剂释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Release curve of sinomenine patches ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 1 青藤碱贴剂释放曲线拟合结果

Table 1 Results of sinomenine patch release curve fitting

释放模型	拟合方程	R^2
零级方程	$Q=4.75 t+33.66$	0.8458
一级方程	$Q=80.38(1-e^{-0.56t})$	0.9939
Higuchi 方程	$Q=20.96 t^{1/2}+15.82$	0.9297

2.3.3 累积渗透量 (Q_n) 的测定 将“2.3.1”项下处理的鼠皮角质层朝上平铺于绝缘板上，依次用滚轮微针和电致孔处理鼠皮。将处理好的鼠皮固定在 Franz 扩散池中，角质层面向供给池，接收池中加入 (32 ± 1) °C 超声脱气的接收液（乙醇：0.9% 氯化钠溶液 = 3 : 7），排除皮肤与接收池溶液之间的气泡。

表 2 不同脉冲电压对 Q_{24} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Influence of different pulse voltages on Q_{24} ($\bar{x} \pm s, n=6$)

脉冲电压/V	$Q_{24}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	累积渗透曲线方程	$J/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	ER
0	280.62 ± 6.46	$Q=11.71 t+2.58$ ($r=0.9974$)	11.71 ± 1.22	—
30	618.48 ± 11.16	$Q=26.08 t+1.56$ ($r=0.9927$)	26.08 ± 0.59	2.22
50	1180.57 ± 20.02	$Q=48.99 t+5.81$ ($r=0.9892$)	48.99 ± 0.34	4.18
80	1497.15 ± 25.84	$Q=62.46 t-1.89$ ($r=0.9990$)	62.46 ± 0.98	5.33
100	1336.75 ± 24.15	$Q=55.69 t+5.19$ ($r=0.9986$)	55.69 ± 0.78	4.76
120	1030.61 ± 17.29	$Q=42.93 t+7.29$ ($r=0.9891$)	42.93 ± 0.68	3.67

供给池中加入青藤碱药液 2.0 mL， (32 ± 1) °C 条件下， $500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒速搅拌。分别于 1、2、4、6、8、12、24 h 平行取样 1 mL ($n=6$)，并立即补充等量接收液，样品经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过，按“2.2.1”色谱条件下进样分析。计算 Q_n 和透皮吸收效率 (ER)。 Q_n 对时间进行线性回归，其斜率为稳态透皮速率 (J)。

$$Q_n=(VC_n+\sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i)/A$$

$$\text{ER}=J_{\text{SS+}}/J_{\text{SS-}}$$

C_n 为第 n 次取样测定浓度， V 为扩散池体积， V_i 为每次取样体积 (mL)； C_i 分别为第 i 次取样时接收液的浓度； A 为有效皮肤渗透面积 (cm^2)； $J_{\text{SS+}}$ 为促渗条件下 J ， $J_{\text{SS-}}$ 为被动扩散条件下 J 。

2.4 单因素实验考察电致孔参数

2.4.1 脉冲电压考察 设定脉冲时间 40 ms，脉冲个数 300 个，脉冲频率 $40 \text{ pulses}\cdot\text{min}^{-1}$ ，考察不同脉冲电压 (30、50、80、100、120 V) 对青藤碱 24 h 累积渗透量 (Q_{24}) 的影响。由图 4、表 2 可知，滚轮微针电致孔联合作用下， Q_{24} 高于无促渗作用的对照组 (0 V)；且随着脉冲电压的升高， Q_{24} 与 J

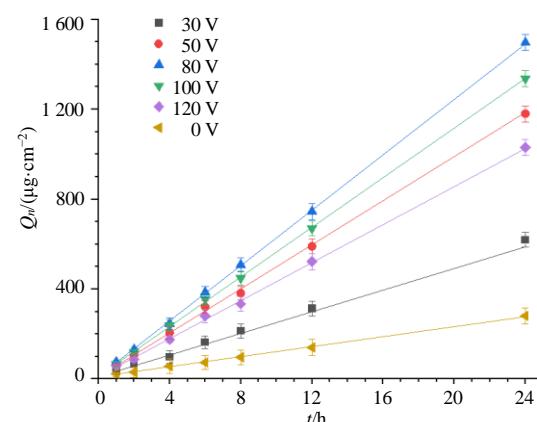


图 4 不同脉冲电压下青藤碱累积渗透曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Sinomenine cumulative penetration curves under different pulse voltages ($\bar{x} \pm s, n=6$)

均呈现先增大后减小的趋势。脉冲电压为80 V时 Q_{24} 最大，据此选择50、80、100 V作为后续正交实验的电致孔脉冲电压条件。

2.4.2 脉冲时间考察 设定脉冲电压为80 V，脉冲个数300个，脉冲频率40 pulses·min⁻¹，考察不同脉冲时间(20、40、60、80、100 ms)对 Q_{24} 的影响。由图5、表3可知，滚轮微针电致孔联合作用下，随着脉冲时间增加， Q_{24} 和 J 先增大后减小，这可能是因为皮肤角质层随着脉冲时间的进一步增加而达到极化状态，细胞膜等脂质双分子层上由促渗作用而产生的无序孔道被破坏，导致药物渗透量降低^[22]。脉冲时间为40 ms时 Q_{24} 最大，据此选择20、40、60 ms进行后续正交试验。

2.4.3 脉冲个数考察 设定脉冲电压80 V，脉冲时间40 ms，脉冲频率40 pulses·min⁻¹，考察不同脉冲

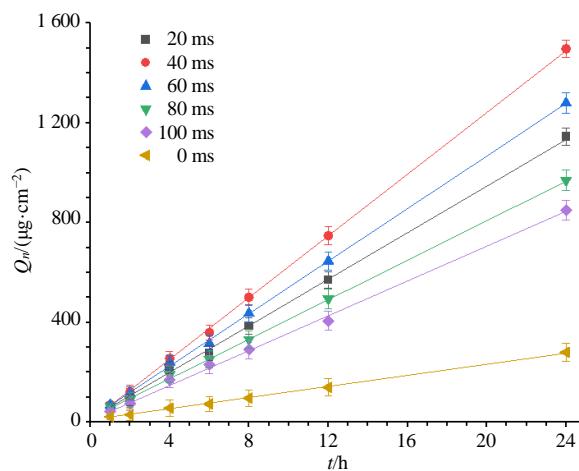


图5 不同脉冲时间下青藤碱累积渗透曲线($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 5 Cumulative permeability curves of sinomenine under different pulse times ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表3 不同脉冲时间对 Q_{24} 的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Influence of different pulse times on Q_{24} ($\bar{x} \pm s, n=6$)

脉冲时间/ms	$Q_{24}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	累积渗透曲线方程	$J/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	ER
0	280.62±6.46	$Q=11.71 t+2.58$ ($r=0.9974$)	11.71±1.22	—
20	1145.07±25.59	$Q=47.32 t+10.29$ ($r=0.9914$)	47.32±0.50	3.96
40	1497.15±25.84	$Q=62.46 t-1.89$ ($r=0.9990$)	62.46±0.98	5.33
60	1280.19±19.52	$Q=53.18 t+7.87$ ($r=0.9961$)	53.18±0.73	4.54
80	970.22±10.87	$Q=39.76 t+17.98$ ($r=0.9928$)	39.76±0.81	3.40
100	850.51±28.37	$Q=35.87 t+6.63$ ($r=0.9933$)	35.87±0.51	3.06

个数(100、200、300、400、500)对 Q_{24} 的影响。由图6、表4可知，在滚轮微针电致孔联合作用下， Q_{24} 明显高于无促渗作用的对照组(0个)，随着脉冲个数的增加， Q_n 先增加后减小，脉冲个数为200个时 Q_{24} 最大，据此选择脉冲个数为100、200、300个进行后续的正交实验。

2.4.4 脉冲频率考察 设定脉冲电压80 V，脉冲时间40 ms，脉冲个数300个，考察不同脉冲频率(20、40、60、80、100 pulses·min⁻¹)对 Q_{24} 的影响。由图7、表5可知，脉冲频率为60 pulses·min⁻¹时，青藤碱的 Q_{24} 达到最大值，据此选择脉冲频率为40、60、80 pulses·min⁻¹进行后续的正交实验。

2.5 正交试验优化电致孔参数

综合上述单因素考察实验结果，以 Q_{24} 为评价指标，脉冲电压(A)、脉冲时间(B)、脉冲个数(C)、脉冲频率(D)为实验因素，进行4因素3水平的正交实验对电致孔促渗参数进行优化，正交实验因素设计及结果见表6，方差结果见表7。极差

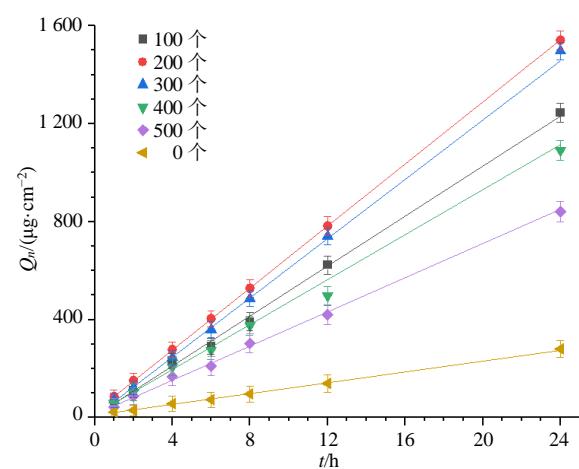


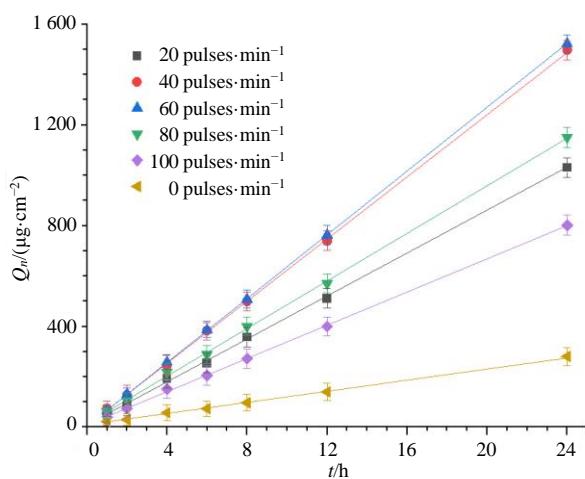
图6 不同脉冲个数下青藤碱累积渗透曲线($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 6 Cumulative permeability curves of sinomenine under different pulse numbers ($\bar{x} \pm s, n=6$)

(R)的大小代表因素的主次顺序，R越大的因素往往主要性越明显，根据极差结果显示，4个因素中影响程度的大小为：A>D>B>C，均值K的大小

表 4 不同脉冲个数对 Q_{24} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 4 Influence of different pulse numbers on Q_{24} ($\bar{x} \pm s, n=6$)

脉冲个数/个	$Q_{24}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	累积渗透曲线方程	$J/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	ER
0	280.62±6.46	$Q=11.71 t+2.58 (r=0.9974)$	11.71±1.22	—
100	1 245.83±20.63	$Q=51.90 t+9.23 (r=0.9924)$	51.90±0.64	4.43
200	1 541.25±16.84	$Q=63.16 t+25.41 (r=0.9915)$	63.16±0.55	5.41
300	1 497.15±20.64	$Q=62.46 t-1.89 (r=0.9990)$	62.46±0.98	5.33
400	1 090.72±18.71	$Q=45.12 t+13.84 (r=0.9950)$	45.12±0.76	3.85
500	840.83±8.37	$Q=35.05 t+6.63 (r=0.9867)$	35.05±0.49	2.99

图 7 不同脉冲频率下青藤碱累积渗透曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 7 Cumulative penetration curves of sinomenine under different pulse frequencies ($\bar{x} \pm s, n=6$)

说明一个因素下不同水平对 Q_{24} 影响的优先顺序, 即电致孔最佳的实验参数为: $A_2B_2C_3D_1$, 即脉冲电压 80 V、脉冲时间 40 ms、脉冲个数 300 个、脉冲频率 40 pulses·min⁻¹。由表 7 可知, A 和 D 对 Q_{24} 更为显著 ($P>0.05$)。

2.6 最佳电致孔参数验证

在正交实验筛选的最优电致孔参数条件下, 平行测定 3 次的 Q_{24} 均值为 $(1 504.28 \pm 18.50) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; 较无促渗处理的对照组 $(280.62 \pm 6.46) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($\text{RSD}=2.18\%$), 提升 5.36 倍。结果表明, 优化后的电致孔参数合理、可行, 且促渗效果稳定、可靠。

2.7 青藤碱在大鼠体内的药动学研究

2.7.1 色谱条件 同“2.2.1”项。

2.7.2 实验方案 18 只健康雄性大鼠随机分为 ig 组、贴剂组、滚轮微针-电致孔联合贴剂组, 每组 6

表 5 不同脉冲频率对 Q_{24} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 5 Influence of different pulse frequencies on Q_{24} ($\bar{x} \pm s, n=6$)

脉冲频率/(pulses·min ⁻¹)	$Q_{24}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	累积渗透曲线方程	$J/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	ER
0	280.62±6.46	$Q=11.71 t+2.56 (r=0.9974)$	11.71±1.22	—
20	1 030.50±25.82	$Q=43.30 t+0.30 (r=0.9928)$	43.30±0.47	3.70
40	1 497.15±28.84	$Q=62.46 t-1.89 (r=0.9990)$	62.46±0.98	5.33
60	1 522.31±23.25	$Q=63.21 t+5.43 (r=0.9961)$	63.21±0.53	5.54
80	1 150.80±20.12	$Q=47.65 t+7.20 (r=0.9942)$	47.65±0.78	4.07
100	801.51±14.24	$Q=33.12 t+6.63 (r=0.9952)$	33.12±0.64	2.83

只, 实验前 12 h 禁食, 期间自由饮水。3 组给药剂量均为 $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以青藤碱计)^[23], 透皮贴剂处方各成分用量根据该剂量换算调整。ig 组直接 ig 给予青藤碱原料药溶液; 贴剂组剃除大鼠腹部毛发后, 将青藤碱透皮贴剂直接贴敷于腹部皮肤; 滚轮微针-电致孔联合贴剂组先采用长度 0.75 mm 的滚轮微针在大鼠腹部皮肤滚动 5 次, 再经电致孔优化参数预处理皮肤, 随后贴敷青藤碱贴剂。分别在给

药前 (0 h) 及给药后 1、2、4、6、8、10、12、24、48 h, 经大鼠眼眶静脉丛采血 0.3 mL, 采血后立即置于肝素抗凝管中, 4°C 、3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清血浆转移至空白离心管, 密封后于 -20°C 冷冻保存备用。

2.7.3 内标溶液的配制及血浆样品溶液的制备 精密称取乙酰苯胺适量, 用甲醇:水 (1:1) 配制成质量浓度为 $125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标溶液。精密吸取

表6 正交实验设计及结果

Table 6 Orthogonal design and results

序号	A/V	B/ms	C/个	D/(pulses·min ⁻¹)	Q_{24} 平均值/(μg·cm ⁻²)
1	50 (1)	20 (1)	100 (1)	40 (1)	1 265.41
2	50	40 (2)	200 (2)	60 (2)	1 373.61
3	50	60 (3)	300 (3)	80 (3)	1 275.43
4	80 (2)	20	200	80	1 315.27
5	80	40	300	40	1 493.65
6	80	60	100	60	1 435.29
7	100 (3)	20	300	60	1 389.93
8	100	40	100	80	1 328.67
9	100	60	200	40	1 450.03
K_1	3 914.45	3 970.61	4 029.37	4 209.09	
K_2	4 244.21	4 195.93	4 138.91	4 198.83	
K_3	4 168.63	4 160.75	4 159.01	3 919.37	
R	109.92	75.11	43.21	96.57	

表7 方差分析结果

Table 7 Analysis of variance results

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
A	19 895.72	2	9 947.86	30.7	$P < 0.05$
B	9 795.55	2	4 897.77	15.12	$P > 0.05$
C	3 245.51	2	1 622.75	5.01	$P > 0.05$
D	18 015.65	2	9 007.82	27.80	$P < 0.05$
误差	18.67	18			

100 μL 血浆样品加入 20 μL 乙酰苯胺(内标)溶液, 再加入 1 mL 乙醚, 涡旋振荡 5 min 后离心(4 °C、12 000 r·min⁻¹) 10 min, 取上清液, 37 °C 氮气吹干, 用 100 μL 甲醇复溶, 涡旋振荡 5 min 后离心(4 °C、12 000 r·min⁻¹) 10 min, 取上清液 20 μL 进样分析。

2.7.4 线性关系考察 采用空白血浆配制青藤碱质量浓度为 0.10、0.20、0.40、0.80、2.00、4.00 μg·mL⁻¹ 血浆对照品, 分别取 100 μL, 按照“2.7.3”项下制成 0.10、0.20、0.40、0.80、2.00、4.00 μg·mL⁻¹ 血浆对照品溶液(含乙酰苯胺质量浓度均为 125 μg·mL⁻¹), 按“2.2.1”项下方法进样分析, 记录青藤碱(A_1)及乙酰苯胺(A_2)峰面积。以血浆样品中青藤碱质量浓度为横坐标(X), A_1/A_2 为纵坐标(Y)进行线性回归, 回归方程为 $Y=0.454\ 6 X+0.061\ 6$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 0.10~4.00 μg·mL⁻¹。

2.7.5 专属性考察 对空白血浆样品、血浆对照品溶液(青藤碱质量浓度为 0.4 μg·mL⁻¹)样品血浆(滚轮微针电致孔组给药 12 h 的样品)按照“2.7.3”项下方法处理后进样测定, 记录色谱图。结果如图 8

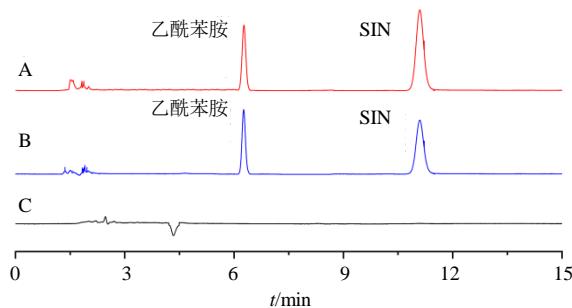


图8 血浆样品溶液(含内标,A)、血浆对照品溶液(含内标,B)、空白血浆(C)的HPLC图

Fig. 8 HPLC chromatograms of plasma sample solution (including internal standard, A), plasma reference solution (including internal standard, B) and blank plasma (C)

所示, 青藤碱与内标无相互影响, 且血浆中内源性物质对青藤碱及内标的检测无干扰。

2.7.6 精密度考察 取青藤碱质量浓度为 0.20(低)、0.80(中)、2.00 μg·mL⁻¹(高) 血浆对照品溶液(均含质量浓度为 125 μg·mL⁻¹ 乙酰苯胺), 1 d 内连续进样测定 5 次, 连续进样 3 d。各质量浓度的日内精密度 RSD 值分别为 0.89%、1.09%、1.72%, 日间精密度 RSD 值分别为 1.11%、1.40%、1.38%, 表明仪器精密度良好。

2.7.7 稳定性考察 精密量取 5 份质量浓度为 0.40 μg·mL⁻¹ 的青藤碱血浆样品溶液, 按“2.7.3”项下方法处理, 按“2.2.1”项下方法进样分析, 分别置于室温下静置 5 h, 4 °C 保存 5、24 h, -20 °C

反复冻融 3 次、 -20°C 保存 10 d，考察不同储存条件下样品的稳定性，结果表明，不同储存条件下，青藤碱质量浓度的 RSD 值均小于 2.47%，表明血浆样品稳定性良好。

2.7.8 提取回收率和基质效应考察 取青藤碱质量浓度为 0.20 (低)、0.80 (中)、2.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (高) 的血浆样品 (均含质量浓度为 125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 乙酰苯胺)，按“2.7.3”项下处理后测定青藤碱和乙酰苯胺的峰面积 (A_1)；另取空白血浆 100 μL ，除不加乙酰苯胺内标溶液外，其余按照“2.7.3”项下处理，氮吹前加入乙酰苯胺和青藤碱对照品溶液，使青藤碱最终质量浓度为 0.20、0.40、2.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，乙酰苯胺质量浓度为 125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，测定峰面积 (A_2)，采用 A_1/A_2 计算提取回收率，结果显示低、中、高质量浓度青藤碱及内标提取回收率分别为 98.46%、99.17%、102.82% 和 97.92%。取质量浓度为 0.20、0.40、2.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的青藤碱对照品溶液 (均含质量浓度为 125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 乙酰苯胺)，直接进样测定峰面积 (A_3)，采用公式 A_2/A_3 计算基质效应。结果显示，低、中、高质量浓度青藤碱及内标的基质效应分别为 96.56%、97.31%、96.85% 和 96.74%。表明该方法青藤碱和乙酰苯胺的提取回收率高，且基质效应较小。

表 8 青藤碱给药后大鼠体内药动学结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 8 Pharmacokinetic dates after administration of sinomenine ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	ig	贴剂	滚轮微针-电致孔联用
AUC _{0-t}	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	19.80 ± 5.20	$30.66 \pm 5.85^*$	$47.32 \pm 9.06^{**\#}$
MRT	h	21.49 ± 5.31	$27.07 \pm 4.92^*$	$24.85 \pm 5.85^{**\#}$
$t_{1/2}$	h	10.58 ± 2.06	17.28 ± 5.03	16.38 ± 4.84
C_{\max}	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	2.47 ± 0.57	$1.37 \pm 0.49^*$	$2.05 \pm 0.68^{**\#}$
t_{\max}	h	2.07 ± 0.32	10.15 ± 2.16	8.12 ± 1.31
F	%	—	154.85 ± 16.37	$238.99 \pm 20.05^{\#}$

与 ig 组比较：* $P<0.05$ ** $P<0.01$ ；与贴剂组比较：# $P<0.05$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs ig group; # $P<0.05$ vs patch group.

由图 9、表 8 可知，ig 组虽 t_{\max} 最短、 C_{\max} 最高，但 MRT 最小，与贴剂组和滚轮微针-电致孔贴剂组相比，ig 组血浆中青藤碱浓度下降迅速，说明透皮贴剂可有效延长青藤碱在体内的作用时间，起到了一定的缓释作用。相较于贴剂组，在滚轮微针电致孔联合作用下，大鼠体内青藤碱的 t_{\max} 由 (10.15 ± 2.16) h 缩短至 (8.12 ± 1.31) h，并且 C_{\max} 由 (1.37 ± 0.49) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 显著增加至 (2.05 ± 0.68) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P<0.05$)，说明滚轮微针电致孔联合可以有效促进药物的经皮

2.7.9 药动学结果 大鼠体内血药浓度-时间曲线见图 9，采用 DSA3.3 软件分析药动学参数见表 8，以梯形法计算血药浓度-时间曲线下面积 (AUC)，并采用 t 检验进行统计学处理， $P<0.05$ 表示具有统计学差异。以 AUC_{0-t} 为依据，通过计算贴剂组、滚轮微针-电致孔联合贴剂组与 ig 组的 AUC_{0-t} 比值，得出两组的相对生物利用度 (F)。

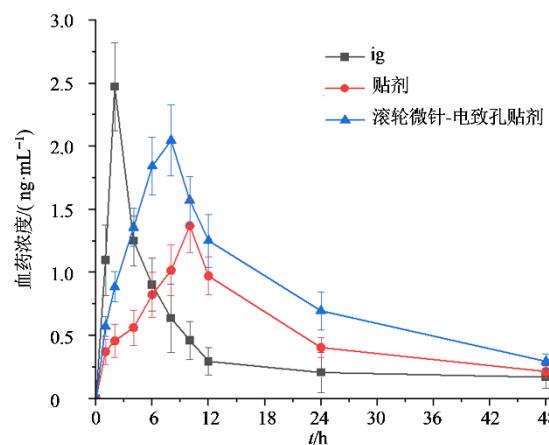


图 9 大鼠体内血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 9 Blood drug concentration time curve in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

渗透。此外，滚轮微针电致孔联合贴剂组的 AUC_{0-t} 分别是 ig 组和贴剂组的 2.39 倍 ($P<0.05$)、1.54 倍 ($P<0.01$)。滚轮微针-电致孔联合贴剂组的 F 亦显著高于贴剂组 ($P<0.05$)。

为解决青藤碱在体内消除迅速、口服 F 较低、用药剂量偏大等问题，研究人员已开发多种青藤碱透皮给药的促渗策略，例如：鄢森^[24]采用超声法促进青藤碱经皮渗透，结果显示青藤碱经大鼠皮肤的 J 为 $(14.57 \pm 5.69) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ，3 h 累积渗透量 (Q_3)

为 $(39.86 \pm 18.95) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 但其达到有效治疗浓度仍需较长时间; 李凡等^[25]采用电致孔法对青藤碱巴布剂进行透皮促渗, 与被动扩散组相比, 电致孔组家兔AUC_{0~∞}增加1.32倍, C_{max}为被动扩散组

的1.31倍, t_{max}缩短4 h。本研究制备了青藤碱透皮贴剂, 采用滚轮微针与电致孔两种物理方法联合促渗, 旨在提高其经皮渗透效果, 与其他研究的关键渗透参数对比见表9。

表9 不同促渗方法对青藤碱经皮渗透关键参数的比较

Table 9 Comparison of key parameters of transdermal permeation of sinomenine by different penetration enhancement methods

方法	关键参数				
	J/(μg·cm ⁻² ·h ⁻¹)	Q ₃ /(μg·cm ⁻²)	AUC/(μg·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)	C _{max} /(μg·mL ⁻¹)	MRT/h
超声法	14.57±5.69	39.86±18.95	—	—	—
电致孔法	—	—	43.396	1.825	20.025
滚轮微针-电致孔联用	63.21±0.53	195.16±5.34	47.32±9.06	2.05±0.68	24.85±5.85

2.8 统计学分析

采用SPSS 27.0软件进行统计分析, 数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较使用独立样本t检验, P<0.05时判定组间存在显著差异。

3 讨论

Franz扩散池体外经皮渗透实验结果显示, 经滚轮微针与电致孔联合促渗后, 青藤碱透皮贴剂的体外释放度超80%, 且释药行为与一级动力学方程拟合度最佳。体内药动学参数表明, 将青藤碱制备为透皮贴剂可延长其体内作用时间, 实现一定的缓释效果。

电致孔技术通过施加50~1000V的高强度电场脉冲, 能在毫秒级时间内于皮肤中形成瞬时孔道。在脉冲波形、电压、速率及次数等参数中, 脉冲电压和频率对青藤碱累积渗透量的影响最为显著。脉冲电压需达到特定阈值方可诱发微孔道形成, 且促渗效果随电压升高呈线性增强, 当电压达到临界值后, 透皮速率趋于稳态。脉冲频率则通过调控孔道动态稳定性实现“再开放”, 进而优化药物递送的累积效应^[26-27]。

滚轮微针与电致孔两种物理方法联用, 可协同突破药物透皮递送的主要屏障——皮肤角质层^[28]。本研究先以滚轮微针作用于皮肤, 在角质层形成物理通道以降低皮肤高电阻^[29]; 再联用电致孔技术, 仅需较低电压即可高效构建暂时性亲水性孔隙。该联合策略不仅降低电刺激带来的不适感, 还缩短药物穿透皮肤的滞留时间, 能有效促进青藤碱经皮渗透, 进一步提高其F。其有望以较小剂量实现无痛、靶向性作用于皮内组织, 充分发挥青藤碱的抗炎、

镇痛等药理功效。

滚轮微针-电致孔联合促渗技术在透皮贴剂给药领域极具发展潜力, 尤其在大分子药物无创递送方面有望带来突破。但该技术的规模化工业生产与临床转化仍面临挑战, 未来研究需聚焦于开发可编程调控的电辅助药物递送系统, 通过精准控制药物释放行为, 实现低剂量、高安全性的个体化给药, 满足不同患者的治疗需求。此外, 随着智能技术的深度融合, 微型化、可穿戴式给药设备的研发将成为重要方向。同时, 需系统评估该技术长期应用的皮肤生物相容性及患者依从性, 推动其从实验研究向临床实践的有效转化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张游, 唐旖雯, 彭玉婷, 等. 青藤碱治疗类风湿关节炎的作用机制研究进展 [J]. 广西中医药大学学报, 2025, 28(3): 59-63.
Zhang Y, Tang Y W, Peng Y T, et al. Progress on the mechanism research of sinomenine treating rheumatoid arthritis [J]. J Guangxi Univ Chin Med, 2025, 28(3): 59-63.
- [2] Wang W Y, Wang Z H, Ling A X, et al. Research progress in treatment of rheumatoid arthritis with sinomenine and related formulations based on different administration routes [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1613679.
- [3] 姜宇懋, 王丹巧. 青藤碱抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(11): 1866-1870.
Jiang Y M, Wang D Q. Research progress on antitumor mechanisms of sinomenine [J]. Drugs Clin, 2016, 31(11): 1866-1870.
- [4] 黄红, 胡明月, 徐丽, 等. 青藤碱免疫抑制作用机制的

- 研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 261-269.
- Huang H, Hu M Y, Xu L, et al. Research progress on immunosuppressive mechanism of sinomenine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(1): 261-269.
- [5] Hou W, Huang L J, Huang H, et al. Bioactivities and mechanisms of action of sinomenine and its derivatives: A comprehensive review [J]. Molecules, 2024, 29(2): 540.
- [6] Feng Y J, Tang Y, Hu J W, et al. *Phaseolus lunatus* L. polysaccharide microneedles loaded with sinomenine hydrochloride for synergistic rheumatoid arthritis management and analgesia [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 306(Pt 3): 141511.
- [7] Phatale V, Vaiphei K K, Jha S, et al. Overcoming skin barriers through advanced transdermal drug delivery approaches [J]. J Control Release, 2022, 351: 361-380.
- [8] 裴辰辰, 刘彦. 经皮给药系统研究进展及申报上市概况综述 [J]. 药学研究, 2025, 44(6): 566-571.
- Xi C C, Liu Y. Review on research progress and marketing application of percutaneous drug delivery systems [J]. J Pharm Res, 2025, 44(6): 566-571.
- [9] 甘怀欣, 李利. 皮肤给药的经皮吸收与测量技术研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2457-2466.
- Gan H X, Li L. Development of transdermal drug delivery and measurement on skin [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(11): 2457-2466.
- [10] 崔闻宇, 刘迪, 张乔, 等. 聚合物微针制备材料及其应用研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2025, 56(8): 984-991.
- Cui W Y, Liu D, Zhang Q, et al. Research progression of preparation materials and application of polymer microneedles [J]. Chin J Pharm, 2025, 56(8): 984-991.
- [11] Panda P, Mohanty T, Mohapatra R. Advancements in transdermal drug delivery systems: Harnessing the potential of macromolecular assisted permeation enhancement and novel techniques [J]. AAPS PharmSciTech, 2025, 26(1): 29.
- [12] 杨宏博, 张柏娥, 杨雪松, 等. 家兔经皮给药安全性评价研究方法的探讨 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(5): 962-966.
- Yang H B, Zhang B E; Yang X S, et al. Discussion of research methods based on transdermal administration safety evaluation in rabbits [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(5): 962-966.
- [13] 陈瑶, 麻忆静, 曾露露, 等. 微针介导的纳米递送系统在经皮给药中的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(12): 2169-2178.
- Chen Y, Ma Y J, Zeng L L, et al. Research progress of microneedle-mediated nanodelivery systems in transdermal drug delivery [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2025, 42(12): 2169-2178.
- [14] 曹凤媚, 胡等慧. 丹酚酸 B-丹参酮 IIa-甘草次酸微乳凝胶微针透皮给药的评价 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(10): 2039-2048.
- Cao F M, Hu D H. Evaluation of microneedle transdermal administration of salvianolic acid B tanshinone IIa-glycyrrhetic acid microemulsion gel [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(10): 2039-2048.
- [15] 韩佳琦, 刘哲鹏. 经皮给药系统的研究进展 [J]. 生物医学工程学进展, 2022, 43(1): 24-28.
- Han J Q, Liu Z P. Research progress of transdermal drug delivery system [J]. Prog Biomed Eng, 2022, 43(1): 24-28.
- [16] Chen K Q, Sun X Y, Liu Y, et al. Advances in clinical applications of microneedle [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1607210.
- [17] Shiwan T, Singh Dhesi S, Wah T M. Reversible electroporation for cancer therapy [J]. Br J Radiol, 2025, 98(1167): 313-320.
- [18] Emon S, Amin A, Hossain M, et al. Optimizing electroporation via pulse modulation: A molecular dynamics study [J]. Eur Biophys J, 2025. DOI:10.1007/s00249-025-01793-5.
- [19] Marathe D, Bhuvanashree V S, Mehta C H, et al. Low-frequency sonophoresis: A promising strategy for enhanced transdermal delivery [J]. Adv Pharmacol Pharm Sci, 2024, 2024: 1247450.
- [20] Abbasi M, Heath B. Iontophoresis and electroporation-assisted microneedles: Advancements and therapeutic potentials in transdermal drug delivery [J]. Drug Deliv Transl Res, 2025, 15(6): 1962-1984.
- [21] 中国药典 [S]. 四部. 2025.
- Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume IV. 2025.
- [22] 穆爽. 电致孔条件下苦参经皮给药的探究 [J]. 智慧健康, 2019, 5(12): 57-58.
- Mu S. Study on transdermal administration of sophora flavescens under electroporous conditions [J]. Smart Healthc, 2019, 5(12): 57-58.
- [23] Zhang M F, Zhao Y, Jiang K Y, et al. Comparative pharmacokinetics study of sinomenine in rats after oral administration of sinomenine monomer and *Sinomenium acutum* extract [J]. Molecules, 2014, 19(8): 12065-12077.
- [24] 鄢森. 物理方法促进盐酸青藤碱的经皮渗透研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2021.
- Yan S. Research on percutaneous permeation enhancement of sinomenine hydrochloride by physical method [D].

- Dalian: Dalian University of Technology, 2021.
- [25] 李凡, 郝保华, 李伟泽, 等. 电致孔条件下巴布剂中青藤碱透皮吸收的药动学研究 [J]. 第二军医大学学报, 2008, 29(9): 1096-1098.
Li F, Hao B H, Li W Z, et al. Pharmacokinetics of transdermal absorption of Sinomenine in patch under electroporation condition [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2008, 29(9): 1096-1098.
- [26] 冯顺. 盐酸青藤碱电致孔经皮给药机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
Feng S. Study on electroporation enhancing the transdermal drug delivery of sinomenine hydrochloride
- [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2017.
- [27] Singh M, Mazaheri-Tehrani G, Martin-Fabiani I, et al. Electroporation induced changes in extracellular vesicle profile [J]. Drug Deliv, 2025, 32(1): 2562224.
- [28] Wu P F, Yang T R, Huang D, et al. Protocol for *in vivo* nucleic acid delivery utilizing the rolling microneedle electrode array [J]. STAR Protoc, 2024, 5(3): 103261.
- [29] Huang D, Huang Y Y, Li Z H. *Transdermal delivery of Nucleic Acid Mediated by Punching and Electroporation* [M]. Electroporation Protocols. New York: Springer US, 2019: 101-112.

【责任编辑 孙英杰】