min，静置 48 h，滤过，即得。HPLC 法测得栀子苷的保留率依次为原液组＞絮凝组＞75％乙醇醇沉组＞50％乙醇醇沉组，通过氯化钠-明胶试验及双缩脲反应检识，絮凝组中鞣质和蛋白质已除杂完全，而醇沉组仍为阳性；TLC 显示，絮凝组、醇沉组与原液组相比，相同 Rf 处斑点颜色一致，大小略有不同，表明各种除杂的保留成分基本一致。但在辛夷的 TLC 谱中，醇沉组与絮沉组斑点要较原液组斑点为少，说明除杂工艺对脂溶性成分有一定的影响。

5.2 絮凝除杂过程，药物浓度过大，溶液黏稠，加入澄清剂后，不利于大分子分散，使得电中和、吸附架桥、卷扫及网捕作用不完全，故出现带状及细小颗粒状絮体；而浓度过低时，又会使胶体颗粒稀稠，吸附架桥几率变小，故颗粒较小，沉淀量少。抗流感滴鼻剂药液的 pH 值在弱碱性时，对于山东药圣 1＋1 澄清剂吸附架桥作用可能更完全，同时，pH 8.0 时，也有利于栀子苷的溶出，从而有利于有效成分的留存。随着澄清剂加入量的增加，体系中胶体粒子与澄清剂分子的接触机率增大，架桥吸附、电中和、卷扫和网捕作用更充分，澄清效果较佳，但澄清剂加入量过大，就使得体系的胶体颗粒被完全包裹，失去与其他大分子架桥的机会，且因澄清分子链间静电排斥作用，反而起到分散作用，故颗粒较小，絮体量少。随着体系的温度升高，颗粒的布朗运动加快，与高分子的碰撞机率增强，架桥吸附作用较充分，澄清效果较好。但当温度达到 100 ℃时，可能使得分子老化[1]或灭活，从而影响澄清效果。搅拌速度过慢，会使絮凝分子分散较慢，易自身缠绕成团，形成带状絮体；同时分散的少量大分子又因剂量不足而使絮体颗粒细小，絮凝不足，澄清效果较差。同时，试验还考察了絮凝恒温保存时间和温度对澄清效果的影响，发现本实验采用的温度和时间较适合絮体的生成，增强澄清效果；并通过活性成分保留率的比较，最后确定的澄清工艺较醇沉工艺除杂更充分，工艺更稳定，成本更低廉，是较理想的除杂方法之一。

**References**:

[1] Dong F Y. *Modern Practical New Preparation and Technology of Chinese Materia Medica* (现代实用中药新剂型新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.

[2] Zhou D X. Studies on anti-slow reaction substance and antiallergic effect of volatile oil from *Flos Magnoliae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(2): 81.

[3] Wei Y P. Studies on evaluation index of extracting process of *Radix Angelicae Dahuricae* used in headache treatment [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(4): 318.

# 促透剂对青藤碱凝胶经皮渗透作用的研究

张先洲[1]，周 健[1]，何 文[1]，吴 峰[2]

(1. 武汉大学人民医院，湖北 武汉 430060；2. 武汉市医学会，湖北 武汉 430014)

**摘 要：目的** 考察不同促透剂对青藤碱凝胶经皮渗透作用的影响。**方法** 采用改良 Franz 扩散池，以离体大鼠皮肤为透皮屏障，采用 HPLC 法测定青藤碱的经皮渗透量，分别考察含氮酮、薄荷脑、油酸的青藤碱凝胶的渗透情况。**结果** 几种促透剂对青藤碱凝胶透皮速率均有明显作用，其促渗强度依次为氮酮＞薄荷脑＞油酸，其中以 2％氮酮和 10％油酸混合物的促透作用最强。**结论** 2％氮酮和 10％油酸混合物为青藤碱凝胶的最佳促透剂。

**关键词**：青藤碱凝胶；经皮渗透；氮酮；薄荷脑；油酸；青藤碱；高效液相色谱

**中图分类号**：R286.02 **文献标识码**：A **文章编号**：0253－2670(2004)10－1115－03

## Penetration of transdermal enhancers on percutaneous permeation of Sinomenine Gels *in vitro*

ZHANG Xian-zhou[1], ZHOU Jian[1], HE Wen[1], WU Feng[2]

(1. Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2. Wuhan Medical Association, Wuhan 430014, China)

**Abstract: Object** To observe the effects of several transdermal enhancers on the permeation of sinomenine in Sinomenine Gels (SG). **Methods** The transdermal penetration in Franz diffusion cell for isolated rat skin of SG by different content enhancers with Azone, mentha camphor, and oleic acid, respetively was studied. The content of sinomenine was determined by HPLC. **Results** The above-

**收稿日期**：2003-12-15

**作者简介**：张先洲(1966—)，男，湖北仙桃人，副主任药师，硕士，主要从事药物新剂型研究。Tel：(027) 88041919-8380 E-mail：zhangxianzhou663@sina.com

mentioned transdermal enhancers showed the significant effect on sinomenine in SG *in vitro* with the density sequence as Azone＞mentha camphor＞oleic acid, and 2% Azone plus 10% oleic acid had the strongest effect in all. **Conclusion** 2% Azone plus 10% oleic acid as the enhancer of SG is the best.

**Key words**: Sinomenine Gels (SG); percutaneous permeation; Azone; mentha camphor; oleic acid; sinomenine; HPLC

青藤碱(sinomenine)是从青风藤 *Sinomenium scutum* Rehd et Wils 中提取的生物碱单体。现已有正清风痛宁片、盐酸青藤碱注射液、毛青藤总碱片等制剂，临床上用来治疗风湿、类风湿性关节炎及心律失常等[1]。青藤碱口服生物利用度低，半衰期短，不良反应多，且需长期给药。经皮给药系统(transdermal drug delivery)可绕过肝脏，避免首效应，维持恒定血药浓度和生理效应，改善患者顺应性，同时减少对胃肠道的刺激，降低不良反应。使用透皮促进剂可改善药物透皮吸收的效率，增强药物的疗效。经皮给药系统对药物的理化性质有较严格的要求。如适宜的分配系统及 pH 值等。因此促透剂的研究几乎成为所有经皮给药系统制剂研究的重要内容，本实验探讨薄荷脑、氮酮、油酸及混合物对青藤碱凝胶中青藤碱的经皮渗透情况。

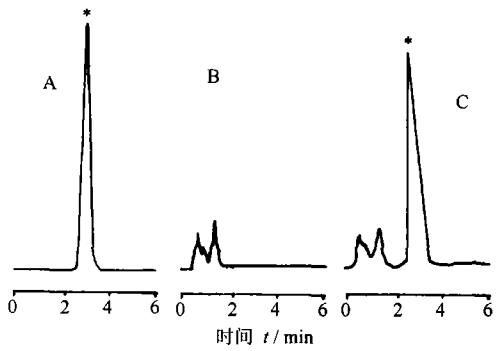
## 1 仪器与材料

338 型高效液相色谱仪(美国 Beckman 公司)，改善 Fanz 扩散池(自制)，青藤碱(99.8%，湖南正清药业有限责任公司提供)，青藤碱凝胶(本院制)，油酸(上海化学试剂站分装厂)，氮酮(新乡高金化学有限公司)，薄荷脑(江苏南通医药站分装厂)，大鼠(武汉大学医学院实验动物中心提供)，其他试剂均为 AR。

## 2 方法与结果

2.1 色谱条件：色谱柱：$C_{18}$不锈钢柱(250 mm × 4.6 mm，10 μm)(中国科学院大连化学物理研究所)；流动相：甲醇-0.01 mol/L $NaH_2PO_4$(45 ∶ 55)；测定波长：264 nm；灵敏度：0.02 AUFS；体积流量：1.00 mL/min；纸速：0.25 cm/min。

2.2 标准曲线制备：精密称取 105 ℃干燥至恒重的青藤碱对照品 20.9 mg 于 100 mL 量瓶中，以 pH 6.8 磷酸缓冲液溶解并稀释至刻度，得 209 μg/mL 青藤碱对照品溶液。精密量取青藤碱对照品溶液 0.2、0.4、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 于 10 mL 量瓶中，加磷酸缓冲液稀释至刻度，摇匀，取 10 μL 进样，记录峰面积。以青藤碱峰面积($A$)对质量浓度($C$)回归，得标准曲线方程 $A=8\ 571+71\ 428\ C$，$r=0.999\ 3$，线性范围为 4.18～83.6 μg/mL。色谱图见图 1。




* -青藤碱

* -sinomenine

**图 1 青藤碱对照品(A)、空白基质(B)和青藤碱凝胶(C)的 HPLC 图谱**

**Fig. 1 HPLC chromatograms of sinomenine reference substance (A), blank (B), and SG (C)**

2.3 精密度试验：精密量取青藤碱对照品溶液 0.2、1.0、3.0 mL 于 10 mL 量瓶，加缓冲液稀释至刻度，每个样品进样 5 次，测定峰面积，计算得 RSD 分别为 1.2%、1.6%、2.1%。

2.4 回收率测定：按处方比例配成空白基质，然后精密加入不同量青藤碱配成凝胶，精密称取适量于 100 mL 量瓶中，用甲醇溶解，超声 30 min，加甲醇至刻度，微孔滤膜滤过。取续滤液 10 μL 进样，记录峰面积，计算平均回收率为 99.8%，RSD 为 1.3%。

2.5 测定：精密称取 1 g 青藤碱凝胶，在 100 mL 量瓶中用甲醇超声溶解，并加至刻度，滤纸滤过后，取 2 mL 于 10 mL 量瓶，加甲醇至刻度，微孔滤膜滤过，取续滤液 10 μL，进样，测定青藤碱的含量。

2.6 透皮吸收试验

2.6.1 离体皮肤制备[2]：取(200±20) g 大鼠，在背部去毛后，正常饲养 1 d，断颈处死，取背部皮肤，去除皮下脂肪，用生理盐水冲洗干净，并浸泡在生理盐水中，冰冻保存。

2.6.2 渗透试验：将大鼠皮肤置于 Franz 扩散池上下两室之间，角质层朝上。精密称取凝胶 0.5 g 均匀涂于皮肤表面，接收池中盛 pH 6.8 磷酸盐缓冲液，内置搅拌器，保持温度 32 ℃，启动磁力搅拌器，分别于 2、4、6、8、10 h 倒出全部接收液，并迅速补充等体积接收液(注意保持大鼠皮肤下层与液面紧密接触

并排除所有气泡)，并将倒出的接收液用缓冲液稀释至 25 mL，测定，计算累积渗透量 $Q$，结果见表 1，按照 $Q=Kt$($K$ 为渗透速率，$t$ 为时间)计算，拟合结果见表 2。

**表 1 不同促透剂对青藤碱的累积渗透量 ($n=4$)**

**Table 1 Accumulate permeation amount of sinomenine in different transdermal enhancers ($n=4$)**

| 促透剂 | | 累积渗透量/($\mu g \cdot cm^{-2}$) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 10 h |
| 薄荷脑 | 1% | 212± 18 | 305± 67 | 511±101 | 601± 62 | 669± 25 |
| | 3% | 219± 25 | 495±106 | 730± 96 | 904±206 | 1 063±333 |
| | 5% | 307± 76 | 518± 43 | 829±204 | 1 015± 36 | 1 248±244 |
| 氮酮 | 1% | 204± 83 | 396± 95 | 525± 62 | 693±125 | 807± 57 |
| | 2% | 865±125 | 1 226±225 | 1 601±287 | 1 829±369 | 2 055±691 |
| | 3% | 164± 64 | 380±129 | 506± 59 | 612± 63 | 715± 28 |
| | 5% | 104± 38 | 223± 33 | 320±112 | 434± 49 | 526±132 |
| 油酸 | 1% | 114± 52 | 239± 57 | 332± 35 | 424± 77 | 519± 65 |
| | 5% | 136± 19 | 249± 99 | 412± 65 | 556±248 | 679±158 |
| | 10% | 223± 80 | 316± 63 | 524± 43 | 779± 33 | 915± 67 |
| 5%薄荷脑+2%氮酮 | | 824±123 | 1 345±246 | 1 724±359 | 2 003±482 | 2 225±633 |
| 5%薄荷脑+10%油酸 | | 142± 6 | 329± 68 | 487±156 | 636± 93 | 750± 51 |
| 2%氮酮+10%油酸 | | 776±121 | 1 379±398 | 1 768±623 | 2 106±556 | 2 439±278 |
| 无 | | 80± 31 | 166± 48 | 238± 11 | 294± 30 | 331± 28 |

**表 2 含不同促透剂的青藤碱凝胶的渗透率**

**Table 2 Permeation rate of SG containing various enhancers**

| 促透剂 | | 回归方程 | $r$ | $K$ |
|---|---|---|---|---|
| 薄荷脑 | 1% | $Q=97.1+60.35t$ | 0.982 3 | 60.35 |
| | 3% | $Q=52.6+104.9t$ | 0.992 9 | 104.9 |
| | 5% | $Q=69.7+118.9t$ | 0.997 3 | 118.9 |
| 氮酮 | 1% | $Q=74.5+75.05t$ | 0.996 5 | 75.05 |
| | 2% | $Q=619.5+149.2t$ | 0.992 3 | 149.2 |
| | 3% | $Q=75.2+66.7t$ | 0.985 9 | 66.7 |
| | 5% | $Q=5.8+52.5t$ | 0.999 0 | 52.5 |
| 油酸 | 1% | $Q=27.5+49.65t$ | 0.997 9 | 49.65 |
| | 5% | $Q=-11.5+69.65t$ | 0.998 5 | 69.65 |
| | 10% | $Q=-2.7+92.35t$ | 0.990 1 | 92.35 |
| 5%薄荷脑+2%氮酮 | | $Q=586.2+173t$ | 0.985 5 | 173 |
| 5%薄荷脑+10%油酸 | | $Q=11.9+76.15t$ | 0.996 2 | 76.15 |
| 2%氮酮+10%油酸 | | $Q=477.7+202.7t$ | 0.991 1 | 202.7 |
| 无 | | $Q=32.8+31.5t$ | 0.988 5 | 31.5 |

## 3 讨论

3.1 在透皮试验中，采用 HPLC 法测定时，可消除杂质的干扰，提高结果的准确度。

3.2 薄荷脑是萜类促进剂，它是通过打乱皮肤中类脂的有序排列，增加药物在皮肤中的分配而发挥作用。油酸主要影响非极性通道，且能渗入角质层细胞脂质，由于它的不饱和疏水链的顺式结构，形成不对称的空间构型，增加了膜的运动自由度和流动性。油酸体积分数<20%时对皮肤无刺激性。氮酮是近年来国内外使用较多的促渗剂，其性质稳定、无毒、无味、无刺激性，它是直接分配介入角质层的双分子脂质中，从而破坏其有序叠集排列，导致结构松散，流动性增加，使药物分子易于转运。

3.3 由表 1 可见，凡含薄荷脑、氮酮、油酸的青藤碱的渗透率 $K$ 均比不含促透剂的青藤碱凝胶高，它们的促渗作用由强到弱依次为 2%氮酮>5%薄荷脑>10%油酸。1%、3%、5%薄荷脑对青藤碱凝胶都有很强的促渗作用，与对照组相比，渗透速率 $K$ 分别提高 1.9 倍、3.3 倍、3.8 倍，5%薄荷脑的渗透效果最好。1%、2%、3%、5%氮酮对青藤碱凝胶都有较强促渗作用，它们的渗透率 $K$ 分别提高了 2.4 倍、4.7 倍、2.1 倍、1.7 倍，2%氮酮的促渗作用最强。1%、5%、10%油酸有一定的促渗作用，它们的渗透率 $K$ 分别提高了 1.6 倍、2.2 倍、2.9 倍，混合促透剂 5%薄荷脑+2%氮酮，2%氮酮+10%油酸具有协同作用，其渗透率 $K$ 分别提高 5.5 倍和 6.4 倍，5%薄荷脑和 10%氮酮有相互抑制作用，比单用时促渗效果明显降低，因而最佳促渗剂为 2%氮酮加 10%油酸。

**References:**

[1] Liu Q, Zhou L L, Li R. General development of sinomenine in chemistry, pharmacology, and clinics [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (4): 247-249.

[2] Liu H, Kuang C C, Tang R, *et al*. Study on percutaneous effect of transdermal enhancers on transdermal absorption of oxaprozin through mice skin [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2001, 21(7): 405-407.