

不同动物皮肤对小儿腹泻脐贴膏体外经皮渗透的研究

蒋俊^{1,2}, 贾晓斌^{2,3}, 李平¹, 高成林², 王静静², 蔡宝昌³, 吴皓³

1. 镇江出入境检验检疫局 国家食品添加剂及调味品检测重点实验室, 江苏 镇江 212008

2. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室, 国家中医药管理局中药口服释药系统重点研究室, 江苏 南京 210028

3. 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210029

摘要: 目的 考察不同动物皮肤和透皮促进剂不同质量浓度对小儿腹泻脐贴膏的经皮渗透性的影响。方法 以小儿腹泻脐贴膏为模型药物, 采用 Franz 扩散池法, 以补骨脂素、异补骨脂素为指标成分, 比较大鼠腹部皮肤、家兔腹部皮肤、小鼠背部皮肤以及猪耳廓背面皮肤对小儿腹泻脐贴膏的经皮渗透性的差异, 同时比较 1%、3%、5% 氮酮对小儿腹泻脐贴膏的经皮渗透性的影响。结果 大鼠腹部皮肤对补骨脂素和异补骨脂素的 24 h 累积透过量均最大, 渗透速率最高; 氮酮质量浓度为 1% 时对补骨脂素和异补骨脂素的透皮促进作用最强。结论 选择 1% 的氮酮作为透皮促进剂, 且选用大鼠腹部皮肤作为透皮促进剂筛选的皮肤模型时, 小儿腹泻脐贴膏的透皮效果最好。

关键词: 小儿腹泻脐贴膏; 不同皮肤; 补骨脂素; 异补骨脂素; 经皮渗透

中图分类号: R284.2; R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)01-0061-04

In vitro transdermal permeability of Xiaoer Fuxie Navel Plaster investigated on different animals' skin

JIANG Jun^{1,2}, JIA Xiao-bin^{2,3}, LI Ping¹, GAO Cheng-lin², WANG Jing-jing², CAI Bao-chang³, WU Hao³

1. State Key Laboratory of Food Additive and Condiment Testing, Zhenjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhenjiang 212008, China

2. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Key Laboratory of Oral Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Key Laboratory of Processing of Chinese Materia Medica, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To investigate the effect of different animal's skin and different concentration of one penetration enhancer on the transdermal permeability of Xiaoer Fuxie Navel Plaster. **Methods** Using Franz diffusion cell and HPLC, and taking psoralen and isopsoralen as index components, the differences in transdermal permeability of abdominal skin of rats and rabbits, back skin of mice, and ear skin of pigs, and the effects of different concentration of 1%, 3%, and 5% of Azone on transdermal permeability of Xiaoer Fuxie Navel Plaster were compared and studied. **Results** Abdominal skin of rats profited to the transdermal penetration of psoralen and isopsoralen, the 24 h-accumulated permeation of both psoralen and isopsoralen reached the maximum and the penetration rate was the highest and the effect of penetration enhancers was the strongest at the concentration of 1% Azone. **Conclusion** The transdermal effect of Xiaoer Fuxie Navel Plaster could be best when choosing 1% Azone as the penetration enhancer and abdominal skin of rats as screening model of penetration enhancer.

Key words: Xiaoer Fuxie Navel Plaster; different skin; psoralen ; isopsoralen ; transdermal permeability

小儿腹泻脐贴膏由补骨脂、吴茱萸等 5 味中药组成, 具有芳香燥湿、温脾止泻、散寒止痛的功效, 临床上用于治疗小儿脾胃虚寒所致的泄泻、脘腹疼痛等病症, 疗效确切。原剂型为糊剂, 使用不便且影响疗效, 因此根据脐部特殊生理结构, 选用新的

辅料海藻酸钠等研制了可塑性脐贴膏, 该剂型具有可塑性好、载药量高, 且与脐部结合更加紧密等优点。为评价小儿腹泻脐贴膏体外经皮渗透性, 人体皮肤是最佳的皮肤模型, 但受到人体皮肤来源所限, 因而采用动物皮肤代替人体皮肤进行透皮吸收研究

收稿日期: 2010-05-07

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2008BAI53B072); 江苏省中医药领军人才项目(2006); 江苏省中医药局科研项目(HL07091)

*通讯作者 贾晓斌 Tel: (025)85637809 E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

具有一定的实际意义^[1]。因此本实验选择4种不同动物皮肤对小儿腹泻脐贴膏透过动物皮肤渗透的差异性进行了研究,以筛选出合适的动物皮肤模型来预测小儿腹泻脐贴膏的体外经皮渗透能力。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪:包括 DAD 检测器,四元泵;BP-211D 分析电子天平(德国 Sartorius 公司,十万分之一);TP-3 透皮扩散仪(南京新联电子有限公司);DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);DZF-6051 真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。SD 大鼠购于上海斯莱克实验动物有限责任公司;昆明种小鼠购于上海斯莱克实验动物有限责任公司;新西兰大耳白兔购于南京金陵种兔厂;猪耳购于南京晓庄屠宰场。

补骨脂素(批号 110739-20051)、异补骨脂素(批号 738-9907)对照品购于中国药品生物制品检定所;乙腈(TEDIA, 色谱纯);聚乙二醇 400(国药集团化学试剂有限公司);氮酮(福建寿宁美菲思生物化学制品厂);其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 小儿腹泻脐贴膏的制备

按比例将水、甘油和 PVP-K30, 80 °C 水浴加热至溶解,放冷至 60 °C 时,加入海藻酸钠,不断搅成胶状,加入氧化锌,不断搅拌均匀,加入补骨脂流浸膏、吴茱萸和复方水提液浸膏、挥发油、透皮促进剂,搅匀,涂抹于自制模具中,在 40 °C 的烘箱中固化 3.5 h,置于医用橡皮膏中,保存备用。

2.2 补骨脂素、异补骨脂素的测定

2.2.1 对照品的配制 精密称取补骨脂素对照品 2.06 mg,异补骨脂素对照品 2.01 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容(补骨脂素 0.206 mg/mL,异补骨脂素 0.201 mg/mL)作为储备液。

2.2.2 供试品溶液的配制 取 24 h 内透皮实验的接收液于 80 °C 水浴浓缩至一定质量浓度,甲醇定容至 2 mL,14 000 r/min 离心 15 min,即得。

2.2.3 标准曲线的绘制 精密移取补骨脂素和异补骨脂素储备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,分别配成 10.30、10.05 μg/mL 溶液。分别吸取 2、5、10、15、20、25、30 μL 进样,记录峰面积;以进样质量为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得补骨脂素的线性方程为 $Y=89.193 X-24.855$, $r=0.999 6$,表明补骨脂素在 2.06~30.90 μg 与色谱峰

面积呈良好的线性关系;异补骨脂素的线性方程为 $Y=94.939 X+6.106$, $r=0.999 7$,表明异补骨脂素在 2.01~30.15 μg 与色谱峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4 精密度试验 取质量浓度分别为 10.30、10.05 μg/mL 混合对照品溶液,连续进样 5 次,记录峰面积,计算 RSD 分别为 0.69%、0.23%。

2.2.5 稳定性试验 取同 1 份供试品溶液,分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 进样分析,记录峰面积,其 RSD 分别为 1.62%、1.69%,表明供试品溶液在室温放置至少 24 h 内稳定。

2.2.6 回收率试验 精密移取 24 h 透皮接收液 1 mL,接收液中补骨脂素和异补骨脂素质量浓度分别为 7.201 1、6.076 3 μg/mL,9 份,分别精密加入一定量的补骨脂素(5.645 0、7.198 0、8.770 0 μg)和异补骨脂素(5.085 0、6.068 0、7.620 0 μg)对照品,定容至 2 mL,制备供试品溶液,测定并计算加样回收率,结果分别为 99.08%、100.41%,RSD 分别为 2.1%、1.9%。

2.3 不同动物皮肤制备

用脱毛剂将动物皮肤上的毛发小心脱去,24 h 后处死动物,剪下大鼠腹部、家兔腹部、小鼠背部皮肤,小心剔除脂肪及黏液组织,选取完整皮肤,用生理盐水反复冲洗干净,-20 °C 冰箱保存待用;猪在屠杀后,立即取其耳朵,剃除廓背面的毛,剥离皮肤,刮去皮下脂肪组织,选取完整皮肤,用生理盐水反复冲洗干净,-20 °C 冰箱保存待用^[2]。

2.4 体外透皮试验方法

分别以质量浓度为 1%、3%、5% 的氮酮作为透皮促进剂,以小鼠背部、大鼠腹部、家兔腹部以及猪耳皮肤作为皮肤模型,分别取贴膏 1/5 (约 0.50 g),将其制成面积为 2.00 cm²、厚度为 2 cm 的药膏粘于不同皮肤上,排除贴膏与皮肤之间的气泡,固定在垂直式 Franz 扩散池上,开动磁力搅拌器和恒温水浴,磁力搅拌转速设定为 300 r/min,水浴温度(32±0.5) °C;接收液为 20% PEG400 的生理盐水,在 1、2、4、6、8、10、12、24 h 分别取出接收液 10 mL,同时立即补加同样体积的新鲜接收液。将接收液水浴浓缩后用甲醇定容,14 000 r/min 离心 15 min,HPLC 测定补骨脂素和异补骨脂素的质量浓度,计算累积透过量(Q_s)和稳态渗透速率常数(J_s)^[3-4]。

$$Q_s = \frac{C_n \times V_o + \sum_{i=1}^n (C_i \times V_i)}{A}$$

其中 C_n 为 t 时间浓度的测量值, C_i 为 t 时间以

前浓度的测量值, V_0 为接收液的总体积, V_i 为每次取样的体积, A 为扩散池面积, Q_s 为单位面积累积透过量, 以扩散平衡后的 Q_s 对渗透时间 t 进行回归, 所得的直线斜率即为稳态渗透速率常数 (J_s)。

2.5 透皮实验结果

2.5.1 补骨脂素体外经皮渗透性结果 补骨脂素以大鼠腹部皮肤为皮肤模型时, 未加透皮促进剂时的稳态渗透速率为 $(3.779 \pm 0.38) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, 以未加透皮促进剂的给药组累积透皮量作为对照, 氮酮质量浓度为 1% 时对补骨脂素的促透作用最强, 可达到 1.68 倍; 以 1% 氮酮为透皮促进剂, 不同皮肤对补骨脂素的透过顺序为大鼠腹部皮肤 > 家兔腹部皮肤 >

小鼠背部皮肤 > 猪耳皮肤, 结果见表 1。

2.5.2 异补骨脂素体外经皮渗透性结果 补骨脂素以大鼠腹部皮肤为皮肤模型时, 未加透皮促进剂时的稳态渗透速率为 $(2.910 \pm 0.57) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, 以未加透皮促进剂的给药组累积透皮量作为对照, 氮酮质量浓度为 1% 时对异补骨脂素的促透作用最强, 可达到 1.63 倍; 以 1% 氮酮为透皮促进剂为对照, 可见不同皮肤对异补骨脂素的透过顺序为: 大鼠腹部皮肤 > 家兔腹部皮肤 > 小鼠背部皮肤 > 猪耳皮肤, 结果见表 2。

3 讨论

实验中采用的均是完整皮肤, 各种动物皮肤对

表 1 补骨脂素在不同动物皮肤中的经皮渗透性参数 ($n=3$)

Table 1 Transdermal permeability parameters of psoralen in different animal's skin ($n=3$)

皮肤来源	透皮促进剂	渗透方程	渗透速率 $/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$	24 h 累积透过量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	促渗倍数
大鼠	无透皮促进剂	$Y=3.779 \ 3 \ X-3.911 \ 9$	$3.779 \ 3 \pm 0.38$	86.70 ± 1.58	—
	1% 氮酮	$Y=6.648 \ 7 \ X-4.642 \ 7$	$6.648 \ 7 \pm 0.98$	145.93 ± 2.72	1.68
	3% 氮酮	$Y=6.175 \ 6 \ X-5.082 \ 6$	$6.175 \ 6 \pm 1.22$	138.57 ± 2.28	1.60
	5% 氮酮	$Y=6.175 \ 6 \ X-5.082 \ 6$	$6.175 \ 6 \pm 1.45$	136.83 ± 2.83	1.58
小鼠	1% 氮酮	$Y=3.453 \ 2 \ X+2.946 \ 7$	$3.453 \ 2 \pm 1.54$	82.26 ± 2.93	0.95
	3% 氮酮	$Y=3.227 \ 0 \ X+0.276 \ 8$	$3.227 \ 0 \pm 0.97$	75.43 ± 2.19	0.87
	5% 氮酮	$Y=3.372 \ 9 \ X-0.794 \ 1$	$3.372 \ 9 \pm 1.07$	76.22 ± 2.36	0.88
家兔	1% 氮酮	$Y=4.350 \ 7 \ X-3.773 \ 4$	$4.350 \ 7 \pm 1.02$	97.59 ± 2.47	1.13
	3% 氮酮	$Y=3.445 \ 9 \ X-5.533 \ 5$	$3.445 \ 9 \pm 1.21$	77.40 ± 2.66	0.89
	5% 氮酮	$Y=3.958 \ 8 \ X-1.587 \ 2$	$3.995 \ 9 \pm 1.05$	90.96 ± 2.36	1.05
猪	1% 氮酮	$Y=2.368 \ 8 \ X-1.326 \ 2$	$2.368 \ 8 \pm 0.97$	54.84 ± 2.38	0.63
	3% 氮酮	$Y=1.970 \ 1 \ X-2.454 \ 1$	$1.970 \ 1 \pm 0.78$	43.67 ± 1.87	0.50
	5% 氮酮	$Y=2.005 \ 0 \ X-0.576 \ 8$	$2.005 \ 0 \pm 0.59$	44.94 ± 1.08	0.52

表 2 异补骨脂素在不同皮肤中的经皮渗透性参数 ($n=3$)

Table 2 Transdermal permeability parameters of isopsoralen in different animal's skin ($n=3$)

皮肤来源	透皮促进剂	渗透方程	渗透速率 $/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$	24 h 累积透过量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	促渗倍数
大鼠	无透皮促进剂	$Y=2.624 \ 8 \ X-3.3802$	$2.910 \ 6 \pm 0.57$	63.33 ± 1.72	—
	1% 氮酮	$Y=4.608 \ 4 \ X-4.3144$	$4.608 \ 4 \pm 0.94$	103.68 ± 3.36	1.63
	3% 氮酮	$Y=4.354 \ 1 \ X-5.6318$	$4.354 \ 1 \pm 1.18$	97.39 ± 2.13	1.54
	5% 氮酮	$Y=3.898 \ 9 \ X-4.0269$	$3.898 \ 9 \pm 0.89$	88.84 ± 2.75	1.40
小鼠	1% 氮酮	$Y=3.048 \ 7 \ X+1.4423$	$3.048 \ 7 \pm 0.56$	71.70 ± 1.49	1.13
	3% 氮酮	$Y=2.721 \ 5 \ X-0.5963$	$2.721 \ 5 \pm 0.88$	62.95 ± 2.36	0.99
	5% 氮酮	$Y=2.755 \ 7 \ X+0.0400$	$2.755 \ 7 \pm 0.54$	63.66 ± 1.53	1.01
家兔	1% 氮酮	$Y=3.886 \ 5 \ X-4.4649$	$3.886 \ 5 \pm 0.57$	86.96 ± 1.47	1.37
	3% 氮酮	$Y=2.874 \ 2 \ X-5.0966$	$2.874 \ 2 \pm 0.68$	64.47 ± 1.85	1.02
	5% 氮酮	$Y=3.549 \ 0 \ X-2.2007$	$3.549 \ 0 \pm 0.98$	81.39 ± 2.56	1.29
猪	1% 氮酮	$Y=2.063 \ 9 \ X-1.4329$	$2.063 \ 9 \pm 0.72$	47.80 ± 1.59	0.75
	3% 氮酮	$Y=1.247 \ 4 \ X-2.6049$	$1.247 \ 4 \pm 0.69$	28.72 ± 1.34	0.45
	5% 氮酮	$Y=1.610 \ 6 \ X-1.7234$	$1.610 \ 6 \pm 1.03$	34.45 ± 2.98	0.54

药物的渗透性与皮肤的厚度有一定关系。在选用的4种动物不同部位的皮肤中,大鼠腹部皮肤最薄,对补骨脂素和异补骨脂素的通透量最大。虽然文献报道猪的皮肤与人的皮肤组织结构相似^[5],但是其毛囊比人的皮肤毛囊粗,真皮厚度大,皮肤处理比较困难,同时其来源不如大鼠方便,价格相对较高,因此大鼠腹部皮肤可作为小儿腹泻脐贴膏透皮促进剂筛选的合适皮肤模型。

实验中选择了氮酮作为透皮促进剂,它是第一个专门作为皮肤通透促进剂使用而开发的化合物,对亲水性和亲脂性化合物均有良好的促透效果^[6]。氮酮的常用质量浓度为0.1%~5%,再增加氮酮质量浓度并不能增强其效果^[7]。本实验4种动物皮肤均考察了不同质量浓度的氮酮的促进作用,结果均显示1%氮酮对补骨脂素和异补骨脂素的通透效果最佳。

药物的体外经皮渗透性评价常需要采用一定的皮肤模型,人的皮肤是最理想的皮肤模型,但是受其来源的限制,许多研究均采用的是动物皮肤。本实验对常见的4种动物皮肤进行了比较,为药物制剂的体外经皮渗透性评价中皮肤的选择提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 罗世英,陈华萍.透皮吸收常用的几种实验动物[J].中国药业,2004,13(4):74-75.
- [2] Sintov A C, Botner S. Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: Influence of skin storage conditions on the *in vitro* permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems [J]. *Int J Pharm*, 2006, 311: 55-62.
- [3] 杨巧丽,周雪琴,张志慧,等.氮酮和油酸增强黄芩苷经皮渗透作用的研究[J].中草药,2006,37(7):1011-1013.
- [4] 甄小龙,刘婷,杨文婧,等.青藤碱水凝胶贴剂的微针经皮给药的研究[J].中草药,2010,41(6):892-896.
- [5] Andega S, Kanikkannan N, Singh M. Comparison of the effect of fatty alcohols on the permeation of melatonin between porcine and human skin [J]. *J Controlled Release*, 2001,77:17-25.
- [6] 王乃婕,邱琳,杜丰.青蒿素贴剂的制备研究[J].现代药物与临床,2009,24(3):163-166..
- [7] 郑俊民.经皮给药新剂型[M].北京:人民卫生出版社,2006.

版权合作声明

中国药学会于2009年与中国学术期刊(光盘版)电子杂志社签订数字出版独家合作协议,在协议期间,中国药学会主办的19本科技期刊(包括天津中草药杂志社出版的3本期刊《中草药》、《现代药物与临床》、《药物评价研究》杂志)的网络版由中国学术期刊(光盘版)电子杂志社(其出版和信息服务网站为“中国知网”)独家出版发行,读者可登陆“中国知网”(www.cnki.net)查阅浏览全文。