

· 药剂与炮制 ·

## 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

李璐, 周建明, 杨一帆, 王永香, 吴云, 王振中, 萧伟\*

(江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

**[摘要]** 目的:比较复方南星止痛膏活性成分在不同介质中的透皮扩散行为。方法:采用改良的 Franz 扩散池,以离体裸鼠的皮肤作为透皮屏障,以生理盐水, pH 7.4 磷酸盐缓冲液和 30% 聚乙二醇 400 (PEG400) 生理盐水为接收介质,比较复方南星止痛膏活性成分的透皮扩散行为。采用 HPLC 测定样品中肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的含量,流动相乙腈(A)-0.1% 乙酸水溶液(B)梯度洗脱(0~8 min, 20%~40% A; 8~15 min, 40%~60% A; 15~20 min, 60%~80% A; 20~25 min, 80% A),检测波长 276 nm 和 320 nm。结果:生理盐水和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液作为透皮扩散介质时,丁香酚、丹皮酚的扩散规律符合零级动力学及一级动力学方程;水杨酸甲酯的扩散符合 Ritger-Peppas 方程;肉桂酸与桂皮醛在生理盐水接收液中存在相互转化,10 h 后,肉桂酸显著增加,桂皮醛大幅度下降;在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中,桂皮醛和肉桂酸释放 10 h 后趋于饱和,释放量不再增加。PEG400 组丹皮酚、丁香酚符合零级动力学及一级动力学方程;肉桂酸及桂皮醛的转化不明显,12 h 后,桂皮醛持续释放,肉桂酸释放完毕后即不再释放;水杨酸甲酯的透皮扩散更接近于 Higuchi 方程。结论:30% PEG400 生理盐水作为接收介质时,各成分的透皮扩散速率明显较优,且可抑制桂皮醛向肉桂酸的转化,可作为复方南星止痛膏后续透皮扩散研究的接收介质。

**[关键词]** 复方南星止痛膏;透皮扩散;肉桂酸;丹皮酚;丁香酚;桂皮醛;水杨酸甲酯

**[中图分类号]** R283.6;R944.2+1;R284;R945;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0001-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2018030001

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171114.1306.046.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-14 13:06

### Comparison of Transdermal Diffusion Behavior of Active Ingredients from Compound Nanxing Zhitong Plaster in Different Receiving Media

LI Lu, ZHOU Jian-ming, YANG Yi-fan, WANG Yong-xiang, WU Yun, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei\*

(State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine,  
Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on transdermal diffusion behavior of active ingredients from compound Nanxing Zhitong plaster in different media. **Method:** The improved Franz diffusing cell was adopted with skin of nude mice *in vitro* as transdermal barrier. The transdermal diffusion behavior of active ingredients in compound Nanxing Zhitong plaster was carried with physiological saline, pH 7.4 phosphate buffer solution or 30% polyethylene glycol (PEG) 400 normal saline as the receiving medium. The chromatographic condition was established to determine the contents of cinnamic acid, paeonol, eugenol, cinnamic aldehyde and methyl salicylate in the sample. HPLC separation was performed on detection wavelengths of 276 nm and 320 nm by using

**[收稿日期]** 20170711(006)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

**[第一作者]** 李璐, 硕士, 助理研究员, 从事中药新药研发, Tel:025-87181862, E-mail:lulu-xina@163.com

**[通信作者]** \* 萧伟, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中药新药的研究与开发, Tel:0518-81152337, E-mail:kanionlunwen@163.com

acetonitrile-0.1% acetic acid aqueous solution as the mobile phase for gradient elution. **Result:** With physiological saline and pH 7.4 phosphate buffer solution as the receiving media, the diffusion regulation of paeonol and eugenol accorded with zero order kinetics and the first-order kinetics equation, while the diffusion action of methyl salicylate accorded with Ritger-Peppas equation. Cinnamic acid and cinnamic aldehyde had reciprocal transformation in the physiological saline. After diffusion of 10 h, the release amount of cinnamic acid increased significantly, while cinnamic aldehyde had a big drop. Cinnamic acid and cinnamic aldehyde were no longer increased after 10 h with the saturation condition in pH 7.4 phosphate buffer solution. With 30% PEG400 normal saline as the receiving medium, the diffusion regulation of paeonol and eugenol also accorded with zero order kinetics and the first-order kinetics equation, while the diffusion action of methyl salicylate was closer to the Higuchi equation. The transformation of cinnamic acid and cinnamic aldehyde was not obvious in 30% PEG400 normal saline, after diffusion of 12 h, the release amount of cinnamic acid released continuously, while cinnamic aldehyde was no longer released after the release finished. **Conclusion:** When 30% PEG400 normal saline as receiving medium, transdermal diffusion rates of active ingredients in compound Nanxing Zhitong plaster are significantly better than the other two receiving media, and it can inhibit the conversion of cinnamic aldehyde to cinnamic acid.

[ **Key words** ] compound Nanxing Zhitong plaster; transdermal diffusion; cinnamic acid; paeonol; eugenol; cinnamic aldehyde; methyl salicylate

复方南星止痛膏为已上市中药新药,由丁香、肉桂、白芷、川芎、徐长卿等共 12 味中药组成,具有散寒除湿、活血止痛的作用,临床用于寒湿瘀阻所致的关节疼痛、肿胀、活动不利等<sup>[1-3]</sup>。目前,关于该复方的研究主要集中在质量与临床药效方面,而对于其发挥作用的物质基础尚未进行深入研究。

复方南星止痛膏作为一种外用透皮制剂,具有可避免肝脏的首过效应、胃肠道中 pH 及酶类等因素引起的降解,减少耐药性,维持恒定平稳的血药浓度,减少给药次数等优点<sup>[4]</sup>。采用透皮扩散试验可以对其发挥作用的活性成分的吸收特性进行探索,前期已有学者<sup>[5]</sup>对该复方组成的凝胶剂中丁香酚的透皮扩散行为进行研究。在前期研究基础上,本实验拟采用 HPLC 同时测定肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的含量,考察复方南星止痛膏不同接收液中活性成分的体外透皮特性,为该制剂的处方优化、质量评价和临床合理用药提供参考。

## 1 材料

TPY-2 型药物透皮扩散试验仪(上海黄浦药检仪器有限公司),1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),T10 basic S25 型组织匀浆机(德国艾卡集团),DW-YL270 型 -20 °C 冰箱(中科美菱),AL204 型电子分析天平和 XS 205 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),JY10002 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

复方南星止痛膏(江苏康缘阳光药业有限公

司,批号 K161101),水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司),氯化钠注射液(江苏亚邦生缘药业有限公司,批号 160327005,规格 250 mL:2.25 g),氯化钠(南京化学试剂股份有限公司),聚乙二醇 400 (PEG400,国药集团化学试剂有限公司),肉桂酸、丹皮酚、桂皮醛、丁香酚和水杨酸甲酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110786-200503,110708-201407,110710-201619,725-200209,110707-201413,纯度分别为 100%,99.9%,98.9%,100%,99.7%),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性裸鼠,体重 15~25 g,购自常州市卡文斯实验动物有限公司,合格证号 SCXK(苏)2011-0003,动物实验符合实验动物福利和动物伦理学的要求。

## 2 方法与结果

**2.1 离体皮肤的制备** 取实验裸鼠 27 只,称重,用 4% 水合氯醛腹腔麻醉,10~15 min 后采用手术器械小心剥取裸鼠下腹皮(注意避开腹腔注射部位),取下的皮肤反面平铺,用干棉花将脂肪及黏液组织擦拭干净,经生理盐水数次洗涤后,置于干净的铝箔袋中,-20 °C 冰箱保存。临用前解冻,检查皮肤的完整性,并于 1 周内使用完毕。

**2.2 透皮扩散试验**<sup>[6]</sup> 取裸鼠下腹皮,自然解冻,用生理盐水洗至无浑浊,滤纸吸干,随机分为 6 组,分别为空白组 1( $n=3$ ),加入生理盐水作为接收液;

空白组 2 ( $n=3$ ), 加入 pH 7.4 磷酸盐缓冲液作为接收液; 空白组 3 ( $n=3$ ), 加入 30% PEG400 生理盐水溶液作为接收液; 生理盐水组 ( $n=6$ ), 加入生理盐水作为接收液; pH 7.4 磷酸盐缓冲液组 ( $n=6$ ), 加入 pH 7.4 磷酸盐缓冲液作为接收液; PEG400 组 ( $n=6$ ), 加入 30% PEG400 生理盐水溶液作为接收液。采用扩散试验仪中的 Franz 立式扩散池进行透皮扩散试验, 上室为接收室, 下室为扩散室, 扩散室容积 7 mL, 有效扩散面积 2.27 cm<sup>2</sup>。将鼠皮固定于接收室与扩散室之间, 角质层朝向接收室, 用弹簧夹固定。接收池中注满预温至 37 °C 的接收液 7 mL, 注意排除气泡, 使液体紧贴皮肤。试验开始前, 根据组别, 分别从接收室中加入裁剪的圆形复方南星止痛膏样品膜片 (0.22 g), 注意使样品紧贴于皮肤。空白组不加入样品, 其余组分别加入对应的膜片。透皮扩散仪保持恒温循环水浴温度 (37 ± 0.05) °C, 转速 (300 ± 0.6) r·min<sup>-1</sup>, 分别在设定的时间点 (1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h) 取出接收室中的接收液 1 mL, 并补加预温至 (37 ± 0.05) °C 的接收液 1 mL。按上述透皮扩散试验方法完成各组样品的收集。

### 2.3 样品的制备

**2.3.1 接收液样品** 取各个时间点的接收液样品 1 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3.2 皮肤样品的制备** 取透皮扩散后裸鼠皮, 剪下扩散面积部分的皮肤, 剪碎, 加入甲醇 1 mL, 匀浆, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 即得。

**2.3.3 残留膜片样品** 取透皮扩散 24 h 的样品, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇 20 mL 超声提取 30 min, 放置至室温后加甲醇定容至 25 mL, 即得。

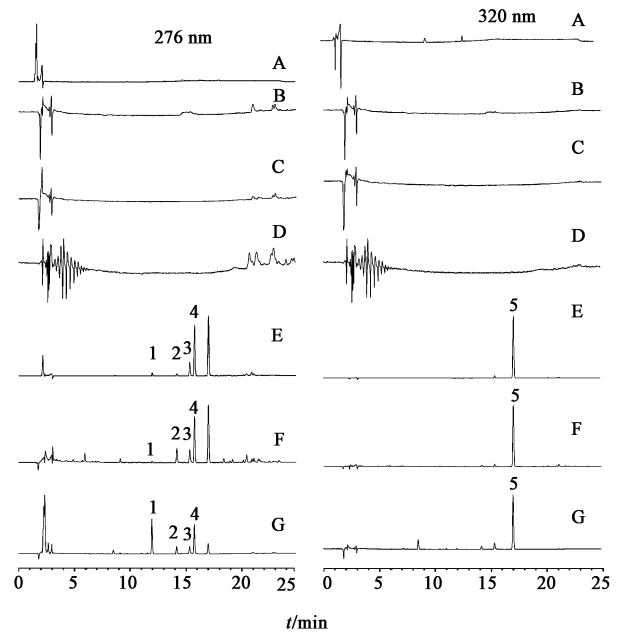
**2.3.4 复方南星止痛膏样品** 剪取复方南星止痛膏松香组膜片 0.22 g, 置于 20 mL 量瓶中, 加入甲醇 20 mL, 超声提取 30 min, 放置至室温, 加甲醇定容至 25 mL, 即得。

### 2.4 指标成分的含量测定

**2.4.1 色谱条件** Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-0.1% 乙酸水溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 8 min, 20% ~ 40% A; 8 ~ 15 min, 40% ~ 60% A; 15 ~ 20 min, 60% ~ 80% A; 20 ~ 25 min, 80% A), 检测波长选择 276 nm 和 320 nm, 柱温 30 °C, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。

**2.4.2 专属性考察** 24 h 后, 空白组及生理盐水组接收液、皮肤样品溶液、复方南星止痛膏样品溶液按 2.4.1 项下色谱条件检测, 结果表明 24 h 空白接收

液, 生理盐水, pH 7.4 磷酸盐缓冲液, 30% PEG400 生理盐水溶液, 空白皮肤液均不干扰实验组接收液、皮肤样品溶液及复方南星止痛膏样品溶液的测定, 且肉桂酸、桂皮醛、丁香酚、丹皮酚、水杨酸甲酯各成分均能得到较好的分离, 见图 1。



A. 空白组皮肤液; B. 空白组 1 的 24 h 接收液; C. 空白组 2 的 24 h 接收液; D. 空白组 3 的 24 h 接收液; E. 生理盐水组皮肤液; F. 供试品; G. 生理盐水组 24 h 接收液; 1. 肉桂酸; 2. 桂皮醛; 3. 丹皮酚; 4. 丁香酚; 5. 水杨酸甲酯

图 1 复方南星止痛膏专属性考察的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of specific inspection of compound Nanxing Zhitong plaster

**2.4.3 线性关系考察** 精密称取肉桂酸 9.01 mg, 桂皮醛 8.61 mg, 丹皮酚 17.74 mg, 丁香酚 362.24 mg 和水杨酸甲酯 1 119.23 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 即得混合对照品储备液。精密量取该储备液 5 mL, 加甲醇稀释至 50 mL, 得混合对照品溶液-1。分别取混合对照品溶液-1 适量, 加甲醇稀释 5/3, 2, 4, 10, 125, 200, 700, 1 600 倍, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的回归方程分别为  $Y = 79.538 1 X + 1.143 4$  ( $r = 0.999 9$ ),  $Y = 73.563 X + 3.046 1$  ( $r = 0.999 8$ ),  $Y = 47.853 X + 2.275 1$  ( $r = 0.999 9$ ),  $Y = 8.480 1 X + 7.439$  ( $r = 0.999 9$ ),  $Y = 8.040 7 X - 7.212 4$  ( $r = 0.999 9$ ), 线性范围依次为 0.045 1 ~ 9.01, 0.068 8 ~ 8.61, 0.088 7 ~ 17.74, 0.517 5 ~ 362.24, 0.699 5 ~ 1 119.23 mg·L<sup>-1</sup>。

**2.4.4 精密度试验** 取混合对照品溶液-1, 按

**2.4.1** 项下色谱条件重复进样 6 次,结果肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯峰面积的 RSD 分别为 1.7%, 1.5%, 1.2%, 0.5%, 0.2%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.5** 重复性试验 按 2.3.4 项下方法制备复方南星止痛膏样品溶液,平行制备 6 份,按 2.4.1 项下色谱条件测定,结果肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的平均质量分数分别为 0.013 3, 0.310 0, 0.180 8, 7.064 3, 30.150 4  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 依次为 1.8%, 2.7%, 1.1%, 2.8% 和 2.8%, 说明该方法重复性良好。

**2.4.6** 稳定性试验 取实验组皮肤样品及接收液样品分别进样,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定,结果肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯在皮肤样品中的峰面积 RSD 均 < 2.0%, 在接收液样品中的峰面积 RSD 均 < 3.0%, 说明待测样品在制备后 24 h 内稳定。

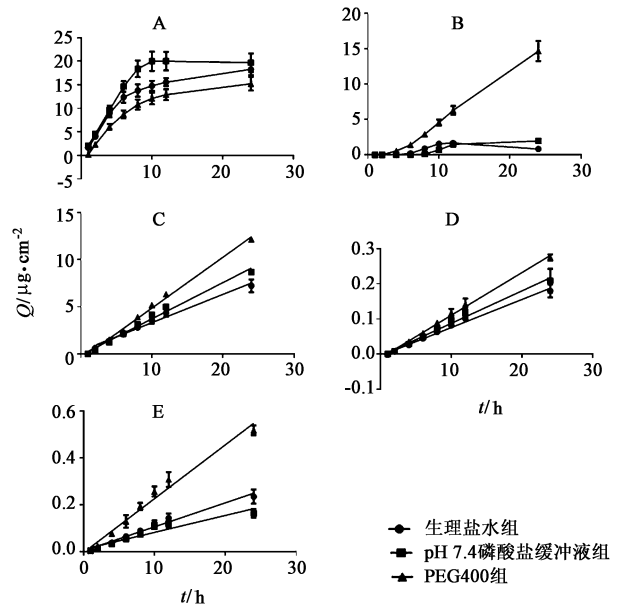
**2.4.7** 加样回收率试验 取透皮扩散 24 h 的接收液样品 ( $n = 6$ ), 按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液,测定已知供试品溶液中各成分的含量。取供试品溶液 5 mL 加入 10 mL 量瓶中,按各成分含量约 1:1 的比例向供试品溶液中加入对照品,其中加入 53.12  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  肉桂酸对照品溶液 0.32 mL, 质量浓度 4.307  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  桂皮醛对照品溶液 0.11 mL, 59.14  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  丹皮酚对照品溶液 0.15 mL, 丁香酚对照品溶液 (452.8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.5 mL, 559.62  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸甲酯对照品溶液 0.52 mL, 混匀,加甲醇定容至 10 mL。按 2.4.1 项下色谱条件测定,结果肉桂酸、桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的加样回收率分别为 106.2%, 95.2%, 100.8%, 98.6% 和 97.3%, RSD 分别为 2.1%, 1.7%, 0.6%, 1.4% 和 2.1%。

## 2.5 数据分析

**2.5.1** 透皮扩散曲线比较 按下列公式计算累积透过量 ( $Q_n$ ), 绘制体外经皮曲线。式中  $V$  为接收室中接收液的体积,  $V_i$  为  $i$  时间段接收室中取出接收液的体积,  $C_n$  为第  $n$  个取样时间点测得的接收液中药物浓度,  $A$  为药物有效扩散面积,  $C_i$  为第  $i$  个取样时间点测得的接收液中药物浓度。采用 GraphPad Prism 6.01 软件,以累积透过量为  $Y$  轴,时间  $t$  为  $X$  轴,绘制不同成分的透皮扩散曲线,见图 2。结果发现在 0 ~ 24 h 时,丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯的透皮扩散随着时间的增加逐步增加,初步判定遵循零级方程。肉桂酸的透皮扩散为 1 ~ 6 h 内显著增加, 6 ~ 24 h 内缓慢增加,直至趋于平稳。桂皮醛的透

皮扩散为 1 ~ 10 h 内显著增加,生理盐水组和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液组 10 ~ 24 h 趋势暂缓,趋于平稳。PEG400 组 1 ~ 24 h 累积释放量随着  $t$  的增加而增加。总体分析可知,PEG400 组在桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯透皮释放方面均具有显著的优势。说明 PEG400 可作为复方南星止痛膏透皮扩散进一步研究的介质。

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



A. 肉桂酸; B. 桂皮醛; C. 丹皮酚; D. 丁香酚; E. 水杨酸甲酯  
图 2 复方南星止痛膏中指标成分的透皮扩散曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Fig. 2 Transdermal diffusion curves of index components in compound Nanxing Zhitong plaster ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

**2.5.2** 透皮扩散模型拟合 根据上述分析,分别将  $Q$  对  $t$  进行模型拟合,见表 1。结果发现肉桂酸、桂皮醛的模型拟合较差,结合透皮扩散曲线分析发现,10 h 后, pH 7.4 磷酸盐缓冲液组的桂皮醛和肉桂酸释放均趋于饱和,释放量不再增加,生理盐水组桂皮醛含量下降,而肉桂酸含量显著增加,分析可能出现了桂皮醛向肉桂酸的转化现象<sup>[7-8]</sup>。而加入 PEG400 后,明显抑制了该转化的发生,桂皮醛持续释放,肉桂酸释放完毕后即不再释放。丹皮酚、丁香酚均适宜零级方程和一级方程,生理盐水组丹皮酚更接近于 Ritger-Peppas 方程,进一步由 Ritger-Peppas 模型分析可知,释放参数即方程拟合系数均 > 0.89, 药物释放为骨架溶蚀作用<sup>[9]</sup>。水杨酸甲酯的透皮扩散,生理盐水组和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液组更接近于 Ritger-Peppas 方程,且 Ritger-Peppas 方程拟合系数均 > 0.89, 说明药物的释放以骨架溶蚀

作用<sup>[9]</sup>, 而 PEG400 组更接近于 Higuchi 方程。说明丹皮酚、桂皮醛、水杨酸甲酯 3 种成分透皮扩散主要

是由骨架溶蚀作用造成的, 而非 Fick 扩散机作用, 均可达到控释和缓释的目的。

表 1 复方南星止痛膏中指标成分的累积透过量-时间模型的拟合方程

Table 1 Model fitting equation of cumulative penetration quantities-time model of index components in compound Nanxing Zhitong plaster

成分	组别	零级方程	一级方程	Higuchi 方程	Weibull 方程	Ritger-Peppas 方程
肉桂酸	生理盐水	$Q = 0.672 8t + 5.546 4$ ( $r = 0.847 4$ )	$\ln(100 - Q) = -0.003 3t + 1.975 2$ ( $r = 0.859 4$ )	$Q = 4.456 2t_{1/2} - 0.637 9$ ( $r = 0.943 2$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.063 \ln t + 0.004 7$ ( $r = 0.992 3$ )	$\ln(Q/100) = 0.779 \ln t - 1.635 4$ ( $r = 0.950 8$ )
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$Q = 0.748 9t + 7.365 0$ ( $r = 0.755 2$ )	$\ln(100 - Q) = -0.003 7t + 1.966 1$ ( $r = 0.930 8$ )	$Q = 5.183 7t_{1/2} - 0.110 8$ ( $r = 0.878 5$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.077 2 \ln t + 0.006 7$ ( $r = 0.950 7$ )	$\ln(Q/100) = 0.775 8 \ln t - 1.549 6$ ( $r = 0.942 2$ )
	PEG400	$Q = 0.623 3t + 3.333 9$ ( $r = 0.867 6$ )	$\ln(100 - Q) = -0.003 3t + 1.985 4$ ( $r = 0.877 2$ )	$Q = 4.087 3t_{1/2} - 2.286 1$ ( $r = 0.956 0$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.055 7 \ln t - 0.002 6$ ( $r = 0.992 1$ )	$\ln(Q/100) = 1.290 7 \ln t - 2.249 5$ ( $r = 0.907 2$ )
桂皮醛	生理盐水	$Q = 0.010 2t + 0.909 7$ ( $r = 0.121 7$ )	$\ln(100 - Q) = -0.000 2t + 1.999 6$ ( $r = 0.922 9$ )	$Q = 0.135 1t_{1/2} + 0.578 3$ ( $r = 0.213 8$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.003 6 \ln t + 0.000 8$ ( $r = 0.314 6$ )	$\ln(Q/100) = 0.738 1 \ln t - 2.835 8$ ( $r = 0.467 2$ )
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$Q = 0.099t - 0.276 3$ ( $r = 0.865 4$ )	$\ln(100 - Q) = -0.000 4t + 2.001 2$ ( $r = 0.866 4$ )	$Q = 0.805 8t_{1/2} - 1.831 3$ ( $r = 0.893 1$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.016 1 \ln t - 0.013$ ( $r = 0.921 3$ )	$\ln(Q/100) = 2.223 9 \ln t - 4.591 7$ ( $r = 0.776 5$ )
	PEG400	$Q = 0.693t - 2.200 0$ ( $r = 0.995 9$ )	$\ln(100 - Q) = -0.003 3t + 2.010 9$ ( $r = 0.994 8$ )	$Q = 4.341 7t_{1/2} - 8.205 5$ ( $r = 0.965 5$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.060 3 \ln t - 0.032 2$ ( $r = 0.880 7$ )	$\ln(Q/100) = 3.129 7 \ln t - 4.616 2$ ( $r = 0.925 7$ )
丹皮酚	生理盐水	$Q = 0.299 8t + 0.306 7$ ( $r = 0.992 3$ )	$\ln(100 - Q) = -0.001 4t + 1.998 9$ ( $r = 0.993 5$ )	$Q = 1.943 6t_{1/2} - 2.479 9$ ( $r = 0.995 4$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.027 2 \ln t - 0.009 6$ ( $r = 0.952 2$ )	$\ln(Q/100) = 1.008 9 \ln t - 2.481 4$ ( $r = 0.995 8$ )
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$Q = 0.384 9t - 0.109 3$ ( $r = 0.992 0$ )	$\ln(100 - Q) = -0.001 7t + 2.000 7$ ( $r = 0.993 6$ )	$Q = 2.284 3t_{1/2} - 2.943 9$ ( $r = 0.989 2$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.026 9 \ln t - 0.006 4$ ( $r = 0.919 1$ )	$\ln(Q/100) = 1.709 4 \ln t - 3.130 9$ ( $r = 0.960 3$ )
	PEG400	$Q = 0.539t - 0.521 2$ ( $r = 0.997 4$ )	$\ln(100 - Q) = -0.002 5t + 2.003$ ( $r = 0.998 4$ )	$Q = 3.453 3t_{1/2} - 5.413 5$ ( $r = 0.988 9$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.048 8 \ln t - 0.021 6$ ( $r = 0.930 1$ )	$\ln(Q/100) = 1.374 8 \ln t - 2.706 7$ ( $r = 0.988 3$ )
丁香酚	生理盐水	$Q = 0.007 9t - 0.003 6$ ( $r = 0.995 3$ )	$\ln(100 - Q) = -3.46 \times 10^{-5}t + 2.000$ ( $r = 0.995 3$ )	$Q = 0.050 6t_{1/2} - 0.074 1$ ( $r = 0.994 4$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.000 5 \ln t - 0.000 1$ ( $r = 0.919 8$ )	$\ln(Q/100) = 1.278 3 \ln t - 4.401 6$ ( $r = 0.986 4$ )
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$Q = 0.009 2t - 0.004 4$ ( $r = 0.995 7$ )	$\ln(100 - Q) = -4.01 \times 10^{-5}t + 2.000$ ( $r = 0.995 7$ )	$Q = 0.071 2t_{1/2} - 0.098 2$ ( $r = 0.983 0$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.000 6 \ln t - 0.000 1$ ( $r = 0.914 9$ )	$\ln(Q/100) = 1.593 2 \ln t - 4.650 1$ ( $r = 0.973 9$ )
	PEG400	$Q = 0.012 1t - 0.009 5$ ( $r = 0.998 3$ )	$\ln(100 - Q) = -0.000 1t + 2.000$ ( $r = 0.998 3$ )	$Q = 0.077 4t_{1/2} - 0.119 2$ ( $r = 0.990 1$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.001 \ln t - 0.000 4$ ( $r = 0.938 5$ )	$\ln(Q/100) = 1.342 7 \ln t - 4.311 6$ ( $r = 0.987 6$ )
水杨酸甲酯	生理盐水	$Q = 0.010 2t + 0.004 5$ ( $r = 0.988 7$ )	$\ln(100 - Q) = 4.44 \times 10^{-5}t + 2.000$ ( $r = 0.988 8$ )	$Q = 0.060 9t_{1/2} - 0.071 5$ ( $r = 0.990 8$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.000 7 \ln t - 0.000 1$ ( $r = 0.929 8$ )	$\ln(Q/100) = 1.167 6 \ln t - 4.129 3$ ( $r = 0.994 1$ )
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$Q = 0.007 2t - 0.011 1$ ( $r = 0.956 4$ )	$\ln(100 - Q) = -3.13 \times 10^{-5}t + 2.000$ ( $r = 0.956 5$ )	$Q = 0.044 2t_{1/2} - 0.045 9$ ( $r = 0.985 9$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.000 5 \ln t - 0.000 1$ ( $r = 0.951 0$ )	$\ln(Q/100) = 1.121 3 \ln t - 4.118 2$ ( $r = 0.992 1$ )
	PEG400	$Q = 0.180t + 0.001 1$ ( $r = 0.989 0$ )	$\ln(100 - Q) = -0.000 8t + 2.000 1$ ( $r = 0.989 8$ )	$Q = 1.170 7t_{1/2} - 1.683 1$ ( $r = 0.995 3$ )	$\ln[100/(100 - Q)] = 0.016 2 \ln t - 0.006 5$ ( $r = 0.956 3$ )	$\ln(Q/100) = 1.278 6 \ln t - 3.029$ ( $r = 0.985 3$ )

**2.5.3 累积透过率、皮肤蓄积率和膏中残留率的测定** 根据峰面积计算复方南星止痛膏样品、皮肤样品和残留膜片中各成分的含量,进而计算皮肤蓄积率及膏中残留率。24 h 累积透过率根据 24 h 累积透过量计算,公式为  $Q = Q_{24h} \times A/W \times 100\%$ ,式中  $Q_{24h}$  为 24 h 累积透过量,A 为药物有效扩散面积,W 为复方南星止痛膏中所含药物的质量,见表 2。

**表 2 复方南星止痛膏中指标成分的透皮扩散分布情况比较**  
**Table 2 Comparison of transdermal diffusion distribution of index components in compound Nanxing Zhitong plaster** %

成分	组别	24 h 累积透过率	皮肤蓄积率	膏中残留率	损失率
肉桂酸	生理盐水	1 543.67	22.08	89.06	-1 554.81
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	1 471.08	11.57	65.42	-1 148.07
	PEG400	1 137.82	7.78	81.92	-1 127.52
桂皮醛	生理盐水	1.77	0.71	31.63	65.89
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	4.17	0.64	21.55	73.64
	PEG400	31.15	1.04	30.49	37.32
丹皮酚	生理盐水	21.71	7.31	61.48	9.50
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	26.04	8.13	61.26	4.57
	PEG400	36.47	3.36	61.03	-0.86
丁香酚	生理盐水	27.51	8.34	61.24	2.91
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	31.93	8.59	56.94	2.54
	PEG400	42.01	2.45	56.48	-0.94
水杨酸甲酯	生理盐水	8.40	8.08	55.49	28.03
	pH 7.4 磷酸盐缓冲液	5.85	7.46	57.46	29.23
	PEG400	18.47	4.23	55.00	22.3

结果发现肉桂酸透过量,皮肤残留量和膏中剩余量三者加起来远远超过复方南星止痛膏总量,而桂皮醛恰恰相反,存在较高的损失率,进一步表明透皮扩散过程中,桂皮醛在透皮液中有可能转化成了肉桂酸;丹皮酚、丁香酚在生理盐水组和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液组 24 h 透皮扩散后,大部分仍在膏中残留,并有少量的损失,考虑损失为少量挥发或转移所致,PEG400 组这 2 个成分的 24 h 累积透过率相比前两组有所增加。水杨酸甲酯 24 h 累积透过率较低,考虑为透皮液为水液,水杨酸甲酯在水液中溶解度较低,随着水液中水杨酸甲酯浓度的增加,扩散速率逐步降低。而且水杨酸甲酯作为一种挥发性成分,在处方中用量达到 3.6%,作为辅料最后成型时外加入,37 ℃ 水浴条件下放置长时间存在较多的挥发。桂皮醛、丹皮酚、丁香酚、水杨酸甲酯这 4 种指

标性成分的透过,PEG400 组明显优于其他 2 组,说明其可作为透皮扩散考察的接收介质。

### 3 讨论

复方南星止痛膏作为独家品种,上市 20 余年,累计销售额达 10 亿,因其疗效确切、见效迅速,深受广大患者好评。以往研究主要集中在已知指标成分丁香酚的透皮扩散方面,研究该成分在凝胶膏剂、乳液型压敏胶贴剂和溶剂型压敏胶贴剂<sup>[5,10]</sup>的透皮扩散规律,为剂型优化提供了依据。但复方南星止痛膏作为外用制剂透皮扩散发挥药效的成分并未进行系统研究,本研究在现有剂型基础上,经过前期对透皮扩散发挥药效的成分进行摸索,确定能够发挥作用的成分为丁香中具有抗菌镇痛作用的丁香酚<sup>[11]</sup>,肉桂中具有抗炎解热镇痛、抗氧化杀菌作用的肉桂酸和桂皮醛<sup>[12-13]</sup>,徐长卿中具有消炎止痒作用的丹皮酚<sup>[14]</sup>及辅料水杨酸甲酯。

本文采用不同透皮扩散介质(生理盐水,pH 7.4 磷酸盐缓冲液和 30% PEG400 生理盐水)对上述几种成分的透皮扩散规律进行摸索,以判断其是否可透皮发挥药效。结果发现每种成分均能够透过皮肤,24 h 内缓慢释放药物,进而发挥药效。其中,生理盐水和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液作为透皮扩散介质时,丁香酚、丹皮酚的扩散规律符合零级动力学及一级动力学方程;水杨酸甲酯的扩散符合 Ritger-Peppas 方程;肉桂酸与桂皮醛的透皮扩散表现为 10 h 后,生理盐水中肉桂酸显著增加,桂皮醛大幅度下降;pH 7.4 磷酸盐缓冲液中,二者的释放趋于饱和,释放量均不再增加。PEG400 组丹皮酚、丁香酚的扩散与前 2 组一致,符合零级动力学及一级动力学方程;而肉桂酸及桂皮醛的释放差异较大,12 h 后,桂皮醛持续释放,肉桂酸释放完毕后即不再释放;水杨酸甲酯的透扩散更接近于 Higuchi 方程。3 种透皮接收液中,复方南星止痛膏中丁香酚、丹皮酚、水杨酸甲酯均按照一定的规律进行释放,释放规律均具有缓控释作用,符合药物应用 24 h 的临床应用特点。关于肉桂酸和桂皮醛的异常现象,笔者推测在较为稀薄的水液中,桂皮醛不稳定,转化成了肉桂酸,故在生理盐水和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中,出现在此消彼长的明显趋势,而 PEG400 的加入,增加了溶液的粘稠度,可在一定程度上抑制两者的转化,故 PEG400 组该趋势不明显。

本实验在一定程度上解释了复方南星止痛膏发挥药效的物质基础,并为 24 h 临床用药提供了理论依据,在制剂的处方优化、质量评价方面具有一定的

参考价值,但肉桂酸与桂皮醛转化这一猜想并未得到证实,且对于毒性生物碱——乌头碱类成分尚未进行系统的透皮扩散研究。因30% PEG400生理盐水作为接收介质时,多数指标成分的透皮扩散速率明显较优,且可抑制桂皮醛向肉桂酸的转化,可作为后续研究的介质。

[参考文献]

[1] 胡晨,陈荣明,殷书梅,等. 复方南星止痛膏的镇痛作用观察及机理探讨[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(2):140-142.

[2] 陈永强,吴军豪,姚宏明,等. 复方南星止痛膏治疗寒湿瘀阻型骨关节炎249例临床研究[J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(12):59-61.

[3] 殷书梅,林新艳,徐超,等. 复方南星止痛膏治疗寒湿瘀阻证336例随机对照研究[J]. 中国药业, 2014, 23(12):48-49.

[4] 杨飞,李芳,焦海胜,等. 秋水仙碱醇质体的制备及体外经皮渗透研究[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(5):349-352.

[5] 黎迎,杜守颖,陆洋,等. 复方南星止痛凝胶膏剂的透皮特性及水杨酸甲酯在其处方中的作用研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(16):2601-2604.

[6] 张忠伟,陈丹妮,范孟雪,等. 五妙水仙膏凝胶剂基质

处方优选及体外透皮性能考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22):12-17.

[7] Smith C K, Moore C A. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde, and cinnamic alcohol [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 168(3):189-199.

[8] 何平均,李凯鹏,杨洁,等. 桂皮醛在大鼠肠中的体外代谢转化研究[J]. 中草药, 2010, 41(12):2014-2018.

[9] 刘阳. 纳曲酮植入剂体外释放度与体内吸收的相关性研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2012.

[10] 黎迎,杜守颖,刑煜舒,等. 不同基质制备复方南星止痛贴膏剂的过程中指标成分损失对比[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7):17-19.

[11] 朱金段,袁德俊,林新颖. 丁香的药理研究现状及临床应用[J]. 中国药物经济学, 2013, 40(1):32-35.

[12] 刘蓉,武志强,何敏,等. 桂枝挥发油与桂皮醛对病毒性肺炎小鼠细胞因子及T细胞亚群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18):139-143.

[13] 杨阳. 肉桂酸和香豆素类衍生物的合成及其抗氧化性能的研究[D]. 长春:吉林大学, 2014.

[14] 胡云飞,徐国兵. 牡丹皮及其主要成分丹皮酚的药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(4):589-592.

[责任编辑 刘德文]