

# 氮酮对如意金黄乳膏体外透皮吸收的影响

朱倩云<sup>1</sup>, 李筱青<sup>2\*</sup>, 李成网<sup>2</sup>

(1. 安徽中医学院药学院, 合肥 230031; 2. 安徽省医学科学研究所, 合肥 230061)

**[摘要]** 目的: 研究氮酮对如意金黄乳膏体外透皮吸收的影响。方法: 采用改良 Franz 扩散池, 选择大鼠腹部皮肤为渗透屏障, 用 HPLC 测定样品中大黄酚含量, 比较氮酮质量浓度对如意金黄乳膏透皮吸收的影响, 得出不同时间段的累积渗透率, 计算渗透速率常数。结果: 氮酮质量浓度为 0, 1%, 2%, 3%, 4% 的如意金黄乳膏样品渗透速率常数分别为 0.006 06, 0.009 47, 0.018 74, 0.019 18, 0.015 05  $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。结论: 可选择氮酮作为如意金黄乳膏的促透剂, 最佳质量浓度为 3%。

**[关键词]** 大黄酚; 氮酮; 如意金黄乳膏; 透皮吸收

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0024-03

## Effect of Azone on Transdermal Absorption *in vitro* of Ruyijinhuang Cream

ZHU Qian-yun<sup>1</sup>, LI Xiao-qing<sup>2\*</sup>, LI Cheng-wang<sup>2</sup>

(1. College of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China;  
2. Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei 230061, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study effect of azone on transdermal absorption *in vitro* of Ruyijinhuang cream. **Method:** Modified Franz diffusion cell was used, selected rat abdominal skin as permeability barriers, the content of chrysophanol in samples was determined by HPLC, effect of concentrations of azone on transdermal absorption of Ruyijinhuang cream were compared. Cumulative percentage of permeation at different time period was attained, and calculated penetration rate constant. **Result:** Penetration rate constants of Ruyijinhuang cream samples were 0.006 06, 0.009 47, 0.018 74, 0.019 18, 0.015 05  $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$  respectively corresponding to the concentrations of azone at 0, 1%, 2%, 3%, 4%. **Conclusion:** Azone could be chosen as transdermal enhancer of Ruyijinhuang cream with the concentration of 3%.

**[Key words]** chrysophanol; azone; Ruyijinhuang cream; transdermal absorption

如意金黄乳膏是根据传统经方通过溶剂提取及现代药剂学制备而成的乳膏剂型。原方如意金黄散, 见于明·陈实功《外科正宗》, 治疗外科“一切顽恶肿毒, 随手用之, 无不生效, 为疮家良便方”。百余年来一直为中医外治箍围消法的基本代表方。方中的大黄具清热解毒、活血消肿之功效, 为君药, 其所含的蒽醌类化合物具有很强的抗菌、抗真菌和抗病

毒作用<sup>[1]</sup>。因此本研究选择其中的大黄酚含量作为经皮给药的评价指标, 研究促透剂氮酮对如意金黄乳膏体外渗透的影响, 旨在为如意金黄乳膏经皮给药提供实验依据。

### 1 材料

LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AVP 型紫外检测器(日本岛津), AD-2 型 1/100 万电子天平(美国 PE 公司), 改良 Franz 扩散池(中国科技大学), 78HW-1 型磁力搅拌器(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂)。

氮酮(北京师范大学化工实验厂), 大黄酚对照品(批号 110796-201017, 中国药品生物制品检定

**[收稿日期]** 20110623(002)

**[第一作者]** 朱倩云, 在读硕士, 从事药剂学研究, Tel: 13856019794, E-mail: zhuqianyun1988@163.com

**[通讯作者]** \* 李筱青, 主任医师, 硕士生导师, E-mail: lxqlxq2005@126.com

所),甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。

昆明种小鼠,体重(20±2.0)g,雌雄各半,安徽省医学科学研究所动物房提供,合格证号 SCXK(苏)2007-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品、供试品及对照品的制备

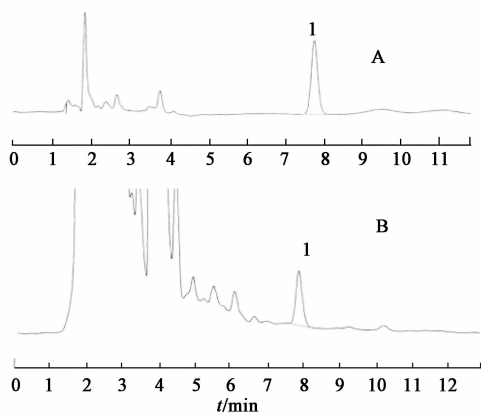
**2.1.1 如意金黄乳膏的制备**<sup>[2]</sup> 按原处方量,姜黄 160 g,大黄 160 g,黄柏 160 g,苍术 64 g,厚朴 64 g,陈皮 64 g,甘草 64 g,生天南星 64 g,白芷 160 g,天花粉 320 g,分 2 组提取(姜黄、苍术、厚朴、陈皮和白芷渗漉法提取为 A 组;大黄、黄柏、甘草、生天南星、天花粉以乙醇回流提取为 B 组。)后于羊毛酯、硬脂酸、十六醇、单硬脂酸甘油酯、十二烷基硫酸钠等基质混合,得 O/W 型乳膏 1 000 g。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取设定时间取样的 10 mL 样品液,水浴蒸干,残渣加甲醇分次溶解定量转移到 1 mL 量瓶,定容,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液为供试品溶液。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 精密称取大黄酚对照品 2.115 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀即得 0.846 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

### 2.2 分析方法的建立与考察

**2.2.1 色谱条件的选择** shim-pack ODS 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(85:15),检测波长 254 nm,柱温 40 ℃,流量 1 mL·min<sup>-1</sup>。此条件下大黄酚与其它组分均能达到基线分离。结果见图 1。



A. 对照品;B. 样品;1. 大黄酚

图 1 如意金黄乳膏 HPLC

**2.2.2 系统适应性试验** 取供试品 20 μL,依上述

色谱条件测定。理论塔板数 9187。分离度 5.87,拖尾因子 1.05,符合药典规定。

**2.2.3 标准曲线绘制** 精密吸取 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 的对照品溶液,分别置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取 10 μL,依次注入色谱仪中,按上述色谱条件测定,以大黄酚的进样量为横坐标,相应的峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,经直线回归得方程为  $A = 184.99 + 23\,278.46C$  ( $r = 0.999\,2$ ),进样量在  $0.423 \times 10^{-3} \sim 4.23 \times 10^{-3} \mu\text{g}$  呈良好线性关系。

**2.2.4 稳定性试验** 取同一供试品溶液,进样 20 μL,测定峰面积积分值,每隔 6 h 测定 1 次,连续进样 24 h。计算 RSD 2.80% ( $n = 5$ ),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.2.5 精密度试验** 取同一供试品溶液,进样 20 μL,连续进样 5 次,计算 RSD 1.76%,表明本法精密度良好。

**2.2.6 样品测定** 精密吸取大黄酚对照品溶液 2 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。吸取此大黄酚对照品溶液 10 μL,供试品溶液 20 μL,分别注入液相色谱仪,依法测定峰面积。

### 2.3 透皮吸收试验

**2.3.1 实验皮肤的制备** 取昆明种小鼠,刮去其腹部毛,24 h 后断颈处死,迅速剪取其腹部皮肤,除净皮下脂肪,用蒸馏水反复冲洗干净,再用生理盐水冲洗,放入冰箱低温(-20 ℃)冷冻保存。

**2.3.2 不同氮酮质量浓度乳膏的制备** 按 2.1.1 项法制备氮酮质量浓度分别为 0,1%,2%,3%,4% 的乳膏,分别记为 1,2,3,4,5 号。

**2.3.3 透皮吸收试验** 将预处理皮肤置于扩散室与接收室之间,角质层朝向扩散室,固定好,接收室由进样口加 17 mL 接收液,排出气泡,使液面与皮肤内层接触。扩散室加入乳膏样品 3.0 g,开动磁力搅拌器(100 r·min<sup>-1</sup>),恒温水浴,维持接受室温度(37±0.5) ℃,在设定的时间点及同一取样点取样,10 mL/次,同时补充新鲜接受液 10 mL,排气泡。每隔 2 h 取样 1 次,如此取样 6 次,再于透皮 12 h 后取样 1 次。按 2.2.6 项下测定样品峰面积,并计算质量浓度,按下列公式计算累计渗透量  $Q$ 。

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

其中,  $A$  为释放面积,  $V$  为接收液总体积,  $C_n$

为第  $n$  次取样时接收液中指标溶液质量浓度,  $C_i$  为第  $i$  次取样时接收液中指标溶液的质量浓度,  $V_i$  为取样体积。

不同质量浓度氮酮的如意金黄乳膏的累积渗透试验结果, 见图 2。以  $Q_n$  对取样时间  $t$  做曲线, 并对曲线中的直线部分进行回归分析。所得方程即为  $Q_n-t$  方程, 其斜率为透皮速率常数  $J(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$ , 结果见表 1。

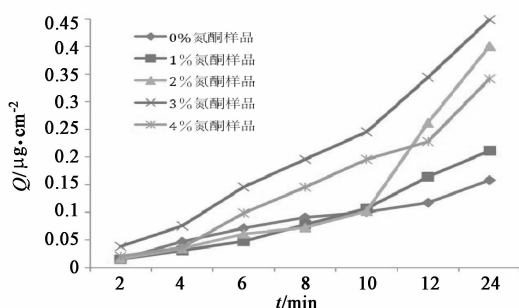


图 2 不同质量浓度的氮酮对大黄酚透皮率的影响

表 1 不同质量浓度氮酮的如意金黄乳膏的透皮释药

$Q-t$  方程及透皮速率常数 ( $J$ )

氮酮质量 浓度/%	$Q-t$ 方程	$r$	$J$
0	$Q = 0.02871 + 0.00606t$	0.940	0.00606
1	$Q = 0.00388 + 0.00949t$	0.951	0.00949
2	$Q = -0.04126 + 0.01874t$	0.958	0.01874
3	$Q = 0.03261 + 0.01918t$	0.955	0.01918
4	$Q = 0.01043 + 0.01505t$	0.965	0.01505

试验结果可见, 3%, 4% 氮酮的透皮促进作用明显强于 0, 1%, 2% 氮酮, 表明氮酮对大黄酚的透皮促进作用与其体积分数相关。在 10 h 前 1%, 2% 氮酮的累积渗透量略小于未加氮酮的样品, 考虑可能是人为因素等影响。含 3% 氮酮透皮促进作用强于 4% 等氮酮, 3% 氮酮促透效果最好。

### 3 讨论

参考指标未采用 2010 年版《中国药典》一部中的姜黄素<sup>[3]</sup>而是大黄酚, 主要考虑参考大量处方解

析, 方中姜黄、白芷为臣药而大黄、黄柏为君药, 为提高所得新制剂后期临床试验的疗效故透皮促进试验拟选择大黄中的大黄素或大黄酚或黄柏中的盐酸小檗碱含量作为评价指标。但由于样品中杂质和辅料过多而对盐酸小檗碱的测定造成很大的干扰, 选择了多种流动相和试验条件都不能使其达到基线分离, 从而不能对盐酸小檗碱进行准确定量, 因此未予采用。同时对样品大黄素和大黄酚的含量进行测定, 经过多次试验摸索, 结果样品中大黄素受干扰较大, 而大黄酚不受干扰, 且由于大黄酚在样品中的含量高于大黄素, 因此将透皮吸收试验评价指标选定为大黄酚。在图 1 大黄酚对照品色谱图中出现杂质峰, 考虑可能为溶剂峰, 且又与主峰分离度良好, 故不予处理。

氮酮对皮肤的毒性、刺激性都很低, 是目前公认的优良促透剂, 其最佳促透质量浓度为 0.1% ~ 5%, 再提高并不能增强其效果, 甚至产生降低作用<sup>[4]</sup>, 所以本试验选取 1% ~ 5% 氮酮。试验筛选过 3 种接受液生理盐水、pH 7.4 磷酸盐缓冲剂、生理盐水-95% 乙醇(6:4)。预试验, 以生理盐水-95% 乙醇(6:4)接受液的接受量较显著, 便于测定。同时, 人的正常皮肤温度为 32 ℃, 在透皮扩散试验中, 通过保持接受液的温度在 37 ℃, 以获得 32 ℃ 的皮肤温度。

### [参考文献]

- [1] 侯巍, 高金波, 张云杰, 等. 透皮吸收促进剂对大黄中蒽醌类有效成分透皮吸收的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3019.
- [2] 刘芳, 刘小平. 增效如意金黄散软膏制备工艺的研究[J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(6): 52.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010: 720.
- [4] 符棘玉, 周本宏, 陈明, 等. 氮酮对布洛芬乳膏体外透皮吸收的影响[J]. 湖北中医学院学报, 2010, 12(4): 45.

[责任编辑 全燕]