

## 中药研究

## 3 种不同基质对黄连素软膏体外透皮吸收的影响

时琳<sup>1</sup> 郭桂明<sup>1</sup> 王敏<sup>2</sup>

(1 首都医科大学附属北京中医医院,北京,100010; 2 首都医科大学中医药学院,北京,100069)

**摘要** 目的:为提高黄连素软膏中有效成分黄连素的透皮吸收的效果,通过测定3种不同基质(油脂型基质、乳剂基质、水溶性基质)制成的黄连素软膏中黄连素的体外透皮吸收情况,寻找适合于外用黄连素的软膏剂类型。方法:制备3种不同基质的黄连素软膏,以小鼠离体去毛皮肤为渗透膜,使用智能透皮试验仪进行体外透皮扩散实验,在相同条件下于各规定时间吸取吸收液,以分光光度法在344 nm处测量黄连素(以盐酸小檗碱计)的吸收度,并用回归方程计算黄连素的透皮吸收量。结果:3种基质的黄连素软膏在12 h内均有一定吸收,其中乳剂型黄连素软膏的吸收率最高,其次是水溶性,油脂型最差。结论:中药外用膏剂的基质类别对药物的透皮吸收有明显的影响,本实验中由于黄连素的疏水性,最适合其透皮吸收的软膏的基质类型为乳剂型。

**关键词** 黄连素软膏;基质;透皮吸收

## The In Vitro Percutaneous Absorption of Berberine Hydrochloride Ointments with Three Dissolvents

Shi Lin<sup>1</sup>, Guo Guiming<sup>1</sup>, Wang Min<sup>2</sup>

(1 Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China; 2 School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**Abstract Objective:** To compare the in vitro percutaneous absorption of the berberine hydrochloride ointments with oil, emulsion and water-soluble dissolvents. **Methods:** The above three kinds of ointments were applied to the equal areas of the in vitro dehaired epidermis of mice. Under the same condition, the absorbed liquid degree by epidermis was collected within various durations. The absorbance of liquid was measured with spectrophotometry at 344 nm. **Results:** Within 12 hours, all of the three ointments were absorbed by epidermis to a certain degree, where the percutaneous absorbance of emulsion ointment was the highest, followed by water-soluble ointment, and the oil-like ointment which had the lowest absorbance. **Conclusion:** Dissolvent type of TCM ointment has obvious influence on the percutaneous absorption of the drug.

**Key Words** Berberine Hydrochloride Ointment; Dissolvent; Percutaneous absorption

中图分类号:R284.1;R943 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.01.041

近年来随着中医药事业的蓬勃发展,以及“大健康时代”带来的市场需求,更多的患者选择中医外治的方法治疗疾病或保健。为了确保临床用药的安全有效,药学人员应进一步研究出更为理想的中药临床制剂。中药软膏剂的应用早已被人们认可,在临床上大多用于皮科和外科,主要用于保护皮肤、润滑皮肤和局部治疗,它利用药物经皮吸收而进入血液循环,这不仅避免了胃肠道对药物吸收的影响以及肝脏的“首过效应”,还避免了口服制剂不良反应的发生,能够缓释于患处,有效维持血药浓度的稳定,提高患者治疗的依从性。因此,引起越来越多的药学工作者的关注。有实验研究表明,软膏基质的种

类直接影响药物的渗透作用<sup>[1]</sup>。黄连素是清热解毒药黄连、黄柏的有效成分之一,临床常用于消化道感染。现代药学研究表明黄连素的外用制剂对皮肤疾病具有一定的疗效。刘春平<sup>[2]</sup>等人提出黄柏中盐酸小檗碱对常见皮肤癣菌具有抑菌作用。本实验就以黄连素为例,应用透皮试验仪进行试验,比较水溶性基质、油脂型基质和乳剂型基质中黄连素体外透皮的吸收性。

## 1 材料与方法

1.1 药物与试剂 黄连素(北京诚济制药有限公司,批号:150701),氯化钠(北京化工厂,批号:20021122),羊毛脂(国药集团化学试剂有限公司,批

基金项目:国家中医药管理局临床药学重点专科项目(编号:ZP0101YX001)

作者简介:时琳(1981.05—),女,大学本科,主管中药师,研究方向:临床中药学,E-mail:kenjin53@sina.cn

通信作者:王敏(1961.11—),女,大学本科,副主任技师,中医学实验教学中心党支部书记,研究方向:中药药剂,E-mail:tmshiyang@ccmu.edu.cn

号:20141117),冰片(合成龙脑,株洲松本林化有限公司,批号:20130126)、硬脂酸(北京世纪红星化工有限责任公司,批号:011223)、单硬脂酸甘油酯(国药集团化学试剂有限公司,批号:20141117)、蓖麻油(国药集团化学试剂有限公司,批号:20120321)、甘油(北京现代东方精细化学品有限公司,批号:20101220)、三乙醇胺(天津市福晨化学试剂厂,批号:20150111)、尼泊金乙酯(北京化学试剂公司,批号:011115)、甲基纤维素(天津市福晨化学试剂厂,批号:20140110)、苯甲酸钠(广东汕头市西陇化工厂,批号:0508302)、凡士林(南昌白云药业有限公司,批号:20140805)、羊毛脂(国药集团化学试剂有限公司,批号:20141117)、蒸馏水。

1.2 实验仪器 智能透皮试验仪(YB-P6,天津弗兰斯电子科贸有限公司),电子天平(CPA22025,Sartorius),紫外可见分光光度计(UV-1800PC,上海美普达仪器有限公司),数控恒温水浴锅(XMTD-6000,北京长风仪器仪表公司),容量瓶、手术器械、剃须刀、称量纸、小烧杯、药匙等。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 软膏的制备

1.3.1.1 乳剂型基质软膏的制备 处方:黄连素0.5 g、冰片0.02 g、硬脂酸1.2 g、单硬脂酸甘油酯0.4 g、蓖麻油2.0 g、甘油1.0 g、三乙醇胺0.15 mL、尼泊金乙酯0.005 g、蒸馏水5 mL;制法:将硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、蓖麻油、尼泊金乙酯共置于干燥烧杯中,水浴加热至70℃使其全部熔化,并搅拌混匀。将甘油、蒸馏水置于另一烧杯中,加热至70℃,边搅拌边加入三乙醇胺,混合均匀后加入黄连素并搅拌至全部溶解。将冰片加入油相溶解后,立即将油相逐渐加入水相中,边加边搅拌,至冷凝,即得。

1.3.1.2 水溶性基质软膏的制备 处方:黄连素0.7 g、甲基纤维素1.5 g、甘油2.5 g、苯甲酸钠0.1 g、蒸馏水10 mL;制法:将黄连素、甘油、苯甲酸钠置于烧杯中,加入蒸馏水。水浴加热使其溶解,室温冷却至30℃左右,加入甲基纤维素,边加边搅拌均匀,放置至凝胶状。

1.3.1.3 油脂型基质软膏的制备 处方:黄连素0.27 g、凡士林5 g、羊毛脂0.5 g;制法:将凡士林、羊毛脂置于烧杯中,于70℃水浴中加热至熔融状态。边搅拌边加入黄连素至全量,混合均匀后从水浴锅取出。搅拌至冷却。

1.3.2 鼠皮的制备 将6只健康雄性ICR小鼠(30±2)g,处死,立即剪下背部皮肤,将角质层向上平铺

固定于解剖板上,用自动脱毛器、剃须刀除毛,当充分暴露出粉白色皮肤后将角质层朝下平铺固定,仔细剥离皮下脂肪、筋膜、血管及黏液组织,选取没有任何明显损伤的完整皮肤,用蒸馏水洗净,再用生理盐水浸洗两次,将处理好的鼠皮浸于生理盐水中,冰箱冷冻保存,备用。

1.3.3 标准曲线的绘制 准确称量黄连素1.0 mg,用0.9%氯化钠溶液溶解至100 mL容量瓶内,定容,摇匀,配制浓度为0.01 mg/mL的黄连素对照母液,备用,吸取不同剂量母液5 mL、2.5 mL、1 mL、0.5 mL、0.1 mL分别置于10 mL容量瓶中,分别配制为浓度依次为0.005,0.0025,0.001,0.0005,0.0001 mg/mL的标准品溶液。使用紫外分光光度计于344 nm波长处分别测定以上6个浓度的吸光度,得到标准曲线方程 $y = 17.062x + 0.0159$ ,拟合系数为0.9992。

#### 1.3.4 透皮吸收实验

1.3.4.1 设定仪器参数 智能透皮渗透仪条件设定:水浴恒温,温度为37℃<sup>[3]</sup>,转速为500 r/min(小转子)。

1.3.4.2 吸收池的准备 采用改良扩散池<sup>[4]</sup>,在每个吸收池中放置一个小电磁搅拌子,暴露皮肤面积为1.668 cm<sup>2</sup>,量取吸收池的容积为16.8 mL,将吸收池注满生理盐水,排尽气泡。将鼠皮放置在扩散池与接收池中间,用夹子固定,角质层面向上,真皮层一侧与接收液相贴。标号为1~3号备用。

1.3.4.3 透皮吸收实验 分别称取3种软膏各0.5 g,用棉签和玻璃棒涂布与皮肤上。从1~3号依次为乳剂型、水溶型和油脂型。将吸收池放于透皮吸收仪中,开始实验。分别在0.5 h,1 h,2 h,4 h,6 h,12 h后从吸收池精密量取2.0 mL释放液,并立即补充等量恒温生理盐水。

1.3.5 含量测定方法 用生理盐水做空白对照,将以上6种对照品用紫外可见分光光度计在344 nm处测定吸光度。记录实验数据。超出紫外量程的浓度,进行稀释后测定。平行操作3次。根据回归方程计算出所测样品中黄连素(以盐酸小檗碱计)的浓度C,然后按公式计算累积透过量Q(mg)。 $Q_n = C_n \times V + V_r \times \sum_{i=1}^{n-1} C_i$ 。其中,C<sub>n</sub>为第n个取样点的测得的接收液药物浓度(mg/mL),V为接收池容积(V=16.8 mL),V<sub>r</sub>为取样体积(V<sub>r</sub>=2 mL),C<sub>i</sub>为第i个取样点的接收液药物浓度(mg·mL<sup>-1</sup>),i=n-1。

## 2 结果

观察3种基质软膏剂外观、稠度等,发现所得软膏混合均匀,稠度适中。3种不同基质配制的黄连素软膏,接收液经测定后,在344 nm波长处可见最大吸收,证明在不同时间内3种基质配制的黄连素软膏的有效成分均能透过皮肤。

2.1 标准曲线 各浓度黄连素标准品吸光度见表1,标准曲线绘制如图1。所得标准曲线为  $Y = 17.062X + 0.0159$ ,拟合系数  $R^2 = 0.9992$ ,说明黄连素在  $0.0001 \sim 0.005 \text{ mg/mL}$  范围内线性关系良好。

表1 不同浓度黄连素标准品溶液的吸光度

浓度 mg/mL	0.005	0.0025	0.001	0.0005	0.0001
吸光度(A)	0.102	0.057	0.033	0.025	0.018

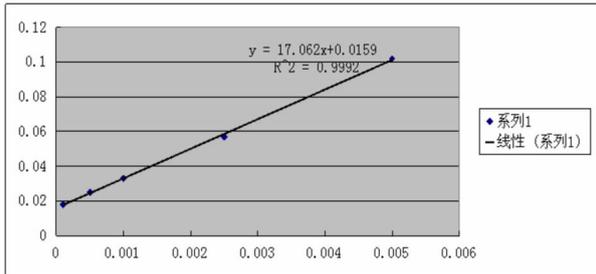


图1 黄连素标准曲线

2.2 不同基质软膏透皮吸收的比较 各组在不同时刻吸收液的吸光度值见表2。换算成浓度与时间的情况见表3。药物累计渗透量情况见表4。对药物累计渗透量做统计图如图2。

表2 透皮吸收实验各时间点吸收样品吸光度值(A)

基质种类	吸收样品的吸光度					
	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h
乳剂型	0.061	0.067	0.075	0.085	0.106	0.571
水溶性	0.029	0.032	0.041	0.074	0.077	0.438
油脂性	0.031	0.040	0.042	0.055	0.070	0.396

表3 透皮吸收实验各时间点吸收液中的黄连素的浓度值(mg/mL)

基质种类	吸收样品中黄连素的浓度值					
	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h
乳剂型	2.643 3	2.995 0	3.463 8	4.049 9	5.280 7	32.534 3
水溶性	0.767 8	0.943 6	1.471 1	3.405 2	3.581 1	24.739 2
油脂性	0.885 0	1.412 5	1.529 7	2.291 6	3.170 8	22.278 0

表4 透皮吸收实验各时间点黄连素的累计渗透量(Q,mg)

基质种类	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h
乳剂型	66.082 5	80.161 6	97.871 6	119.451 7	158.321 5	850.222 9
水溶性	19.195	25.125 6	40.200 3	91.495	102.702 9	638.817 6
油脂性	22.125	37.082 5	42.837 5	64.944 4	91.507 6	575.529 2

的透皮吸收效果最好,水溶性膏剂次之,油脂型膏剂最差。前6 h,各膏剂的透皮吸收量相差不大,6~12 h,吸收量变化明显。所以从透皮吸收率来判断,使用3种不同基质配制的黄连素软膏,乳剂型基质最高,水溶性基质次之,油脂性基质最低。

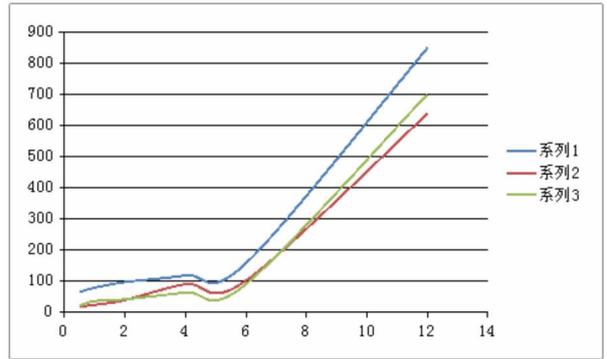


图2 透皮吸收实验各时间点黄连素的累计渗透量曲线

注:系列1——乳剂型,系列2——水溶性,系列3——油脂性。

## 3 讨论

黄连素在水中溶解度较小,为1:500,而且会受温度变化的影响。因此这类药物在进行的体外渗透性实验时,对于选择的接收液是要满足药物吸收槽条件要求的。为了满足这一条件,曾爱国<sup>[5]</sup>等人在研究几种促透剂对盐酸小檗碱体外经大鼠腹部皮肤渗透影响的实验中,发现可以通过添加一些非生理性成分(如乙醇、丙二醇、聚乙二醇等)来扰乱药物的分子晶型,从而增加药物的溶解度。

中药软膏剂合理选用基质与药物本身性质有关,本实验说明不同基质的黄连素软膏对透皮吸收有较大影响。基质的选择可直接影响到药物在基质中的理化性质与贴敷处皮肤的生理功能,从而影响药效。由于每种基质各自的性质不同,对药物的亲和力就有所不同。如使用不同类型基质制备黄芩苷软膏的药物透皮吸收度的研究中得出结论为乳剂型基质最好,油脂性基质次之,水溶性基质最差<sup>[6]</sup>。也有实验研究表明,基质类型的不同对主药的经皮渗透,规律与经皮渗透速率有明显的影<sup>[7]</sup>,因此不同的药物配制的外用制剂选择的基质须进行相应的临床前实验来判定,从而确认新处方的安全有效性,满足临床的需要。

中药膏剂的pH值也可能对渗透效果造成影响。当软膏的pH值为7.0时,黄连素的溶解度最大,pH越低,溶解度就降低很多,pH值为2时的溶解度只有pH值为7时的1/6,因此要根据药物的pka值来调节经皮给药递质的pH值,提高药物的渗

从以上图表中可分析得到,12 h内乳剂型膏剂

透效果。本实验所制备的水溶性膏剂中添加了苯甲酸钠,因此三个膏剂的pH值不完全相同,该因素未予考虑,但可能对结果有影响。

皮肤对软膏中药物的透皮吸收率,除与选择的基质相关,还与药物性质有关,如药物的浓度,扩散度和溶解度。黄连素较易溶于沸水,当软膏中含蒸馏水时,角质层利于基质对皮肤的水和作用,增加黄连素软膏的穿透吸收,然而蒸馏水虽然能增加黄连素的扩散度和溶解度,但软膏久置于室中,由于室温、相对湿度等外界因素的影响,偶见水珠析出。有经验表明<sup>[8]</sup>加入无水羊毛脂吸收软膏中的多余水分,可防止水珠析出,但会给本品的配制带来不便。有研究<sup>[9]</sup>表明挥发油作用后对皮肤角质层具有显著影响,从而降低了角质层的通透屏障作用。乳剂型基质中含有冰片,也有文献<sup>[10]</sup>指出冰片对黄芩苷透过离体角膜具有显著的促进作用,0.1%冰片渗透效果最佳。本实验中的冰片很可能对实验结果有促进作用。

在进行透皮吸收的实验性研究中,实验皮肤的选择对于检测药物透皮率有重要意义,制取离体皮肤过程中需注意提取部位应根据药物作用部位选择,以求接近真实用药环境<sup>[11]</sup>。邱波<sup>[12]</sup>等人在对实验动物的研究中认为小猪、猴和蛇蜕等与人皮肤较为相似,但由于皮肤来源的问题,一般情况仍使用大鼠、小鼠和兔皮用作透皮吸收的实验皮肤,也有少数报道中使用的是豚鼠皮<sup>[13]</sup>。张丰英等<sup>[14]</sup>人经过多次实验证明,小鼠背部的毛较腹部丰富,且背部皮肤略厚,皮下脂肪层和结缔组织致密,不宜清除完全。而王敏等人的研究认为蛇蜕更适于观察药物处方组成对角质层的影响。本实验中鼠皮表面残余部分绒毛,可能对实验结果造成影响。但在人体的实验结果可能与该实验不同,因实验选择的用药部位、选择对象的年龄、性别、种族等多种因素的差异对药物的透皮吸收率均会产生影响,还要进一步实验验证。

#### 4 结论

中药软膏剂合理选用基质与药物本身性质有关,以乳剂型、水溶性、油脂性为基质的黄连素软膏

对透皮吸收有明显的影 响。本实验说明不同基质的黄连素软膏对透皮吸收有较大影响。乳剂型软膏具有延展性好,易涂布,吸收速率高等优点,为临床使用提供参考。近年来中药外用剂型对使用新型渗透促进剂的研究取得较大的发展,多元渗透促进剂和中药渗透促进剂的应用日益增多,我们还应将现代化的透皮促进手段引入中药外用剂型中,增加药物的透皮吸收率,提高生物利用度。

#### 参考文献

- [1] 蒋革,冯宝民,高明,等.紫苏子油软膏剂配方的筛选[J].大连大学学报,2006,27(6):59-61.
- [2] Liu CP,Zhao SX,Chen Q. Experimental observation on antifungal activity of berberine against 5 kinds of dermatophytes[J]. J Clin Dermatol,2005,34(1):29.
- [3] 陆斌.药物新剂型与新技术[M].2版.北京:人民卫生出版社,2005:548-553.
- [4] 田璐,张蜀,林华庆,等.经皮给药制剂体外透皮扩散试验方法的研究进展[J].中国药房,2012,23(29):2761-2764.
- [5] 曾爱国,程秀云,王云彩,等.促渗剂对盐酸小檗碱体外经皮渗透的影响[J].西安交通大学学报:医学版,2004,25(4):359-361,365.
- [6] 管英,李永冥.不同类型基质的黄芩苷软膏透皮吸收的研究[J].中国药业,2003,12(1):37.
- [7] 朱红林.不同类型基质的水杨酸软膏体外释放性研究[J].临床医药实践,2011,11(20):843-845.
- [8] 范玉敏,张万山,李秀明.黄连素软膏配制方法的改进[J].张家口医学院学报,1995,12(1):180.
- [9] 兰颀.挥发油对中药成分经皮促透规律及其作用机制的初步研究[D].北京:北京中医药大学,2015.
- [10] 欧阳丽影,毕开顺,张肖宁,等.冰片对黄芩苷角膜透过性的影响[J].沈阳药科大学学报,2013,30(5):388-391,398.
- [11] 潘林梅,周静,徐小燕,等.中药经皮给药制剂促渗透研究策略与应用[J].中国药房,2012,11(23):1039-1041.
- [12] 邱波,王艳,胡建廷,等.SD大鼠与巴马小型猪的皮肤组织学比较[J].中国比较医学杂志,2012,22(6):14-15,20.
- [13] 张星一.透皮吸收促进剂在经皮给药系统中的质控和评价方法[J].中国新药杂志,2010,19(4):273-276.
- [14] 张丰英,汪小根,周莉玲.大鼠皮肤角质层对青藤碱脂质体贴剂透皮吸收的影响[J].中草药,2006,37(9):1322-1324.

(2016-03-27 收稿 责任编辑:张文婷)