

· 论著 ·

炎痛平透皮软膏的制备及活血作用的探讨

何爱明¹, 徐洁¹, 王艺辉¹, 林世明² (1. 福建师范大学福清分校生物与化学工程系, 福建 福清 350300; 2. 福建省福清卫生学校药理教研组, 福建 福清 350300)

【摘要】 目的 通过正交试验筛选出最佳配方及工艺, 制备炎痛平透皮软膏剂, 探讨其活血作用。方法 以60 min体外累积透皮速率为指标, 采用四因素三水平L₉(3⁴)正交试验, 通过研和法筛选出最佳配方及工艺, 并对其进行质量评定。将小鼠分为空白对照组与模型组, 各组再分为6组, 每组各6只, 组别分别为: 凡士林组, 凡士林+脂肪醇组, 小、中、大剂量炎痛平组和双氯芬酸二乙胺(扶他林)组。用微循环障碍法与显微测微法, 在不同时间测量各组动物造模前与造模后的微动、静脉管径的差值(ΔA、ΔV), 同时对微循环血液的流态进行评分, 作为观察指标, 比较各组药物活血作用的差异。结果 确定炎痛平透皮软膏剂最佳配比及工艺为A₂B₂C₃D₂, 即凡士林与中药的重量比例(A)为50%、脂肪醇与中药的重量比例(B)为25%、研和温度(C)为80℃, 加入顺序为: 脂肪醇、中药、凡士林。并通过了物理外观、酸碱度、熔点、稳定性与刺激性等5项质量评定。造模前, 测得小剂量炎痛平组在30 min时ΔA值大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.05); 中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段测得ΔA、ΔV值均大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.01); 小剂量炎痛平组在20、30 min时测得血流流态评分值均大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.05); 中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段测得血流流态评分值均大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.01)。造模后, 小剂量炎痛平组在20 min时测得ΔA值大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.05); 小剂量炎痛平组在30 min时, 中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段测得ΔA、ΔV值均大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.01); 小剂量、中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段测得血流流态评分值均大于凡士林+脂肪醇组, 其差异有统计学意义(P<0.01)。结论 以最佳配方与工艺制备的炎痛平透皮软膏剂具有较显著活血作用。

【关键词】 炎痛平透皮软膏剂; 正交试验; 活血作用

【中图分类号】 R283/R285 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1006-0111(2012)04-0269-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.04.007

Preparation and promoting blood circulation effect of Yantongping transdermal ointments

HE Ai-ming¹, XU Jie¹, WANG Yi-hui¹, LIN Shi-ming² (1. Department of Biology and Chemistry, Fuqing Branch of Fujian Normal University, Fuqing 350300, China; 2. Department of Pharmacology, Fuqing Health School of Fujian Province, Fuqing 350300, China)

【Abstract】 **Objective** To find out the best prescription method for Yantongping transdermal ointments through orthogonal design and research on the effect of promoting blood circulation. **Methods** With 60 minutes *in vitro* cumulative penetration rate, using L₉(3⁴) orthogonal experiment, the best formula and technology were found out through grinding method, and quality thereafter was evaluated. Mice was picked up as blank groups and model groups, each respectively was divided into six smaller groups as Vaseline, Vaseline and Fatty Alcohol, Yantongping transdermal ointments (low dosage), Yantongping transdermal ointments (medium dosage), Yantongping transdermal ointments (high dosage) and Voltaren Emulsions. ΔA and ΔV were measured before and after modeling by microcirculation method and microscopic micro-distance measuring method, while the blood circulation function of each medicine by the scoring of the blood of veinule was compared. **Results** The best prescription was confirmed by A₂B₂C₃D₂, that was with the weight of the traditional Chinese drugs (TCD) Vaseline ratios (A) to 50%, with the weight of TCD and Fatty Alcohol ratios (B) to 25%, the order of reagent was as follow: Fatty Alcohol, TCD, Vaseline. The grinding temperature was 80℃, and it passed five quality evaluation as physical appearance, melting point, water value, stability, irritation. Before modeling, in the ΔA level measured, Yantongping group (low dosage) had statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group in 30 min (P<0.05), while Yantongping group (medium dosage and high dosage) had obviously statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group in different time periods in the ΔA and ΔV level (P<0.01). In the blood flow quality evaluation measured, Yantongping group (low dosage)

had statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group in 20 min, 30 min ($P < 0.05$); while Yantongping group (medium and high dosage) had obviously significant statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group ($P < 0.01$). After modeling, in the ΔA level, Yantongping group (low dosage) had statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group in 20 min ($P < 0.05$); Yantongping group (low dosage) in 30 min, Yantongping group (medium and high dosage) had obviously significant statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group in the ΔA and ΔV level. In the blood flow quality evaluation measured, Yantongping group (low, medium and high dosage) had obviously significant statistical significance over Vaseline and Fatty Alcohol group ($P < 0.01$). **Conclusions** Yantongping transdermal ointments prepared by the best prescription had a good function of promoting blood circulation.

[Key words] Yantongping transdermal ointments; orthogonal design; promoting blood circulation.

经皮给药系统(TDDS)是指药物以一定速率透过皮肤,经毛细血管进入体循环而产生药效的一类制剂。“经皮给药”技术的进步反映了将皮肤作为给药部位将药物输入体内的最新成就,它可以用于治疗全身性疾病和皮肤局部及其深部的疾病,具有安全、有效、稳定和患者依从性好等优点^[1]。这些独特的优势吸引着众多的国内外制剂学家从事其研究,目前已成为第三代药物制剂的研究热点之一。

中药经皮吸收制剂具有其它剂型无法比拟的优点,且中药资源易得,制备工艺简单,操作方便,成本较低,以中医经络理论为基础的经络穴位经皮给药系统在此领域具有很大的优势。常见的中药经皮吸收制剂分为3类。①中药复方制剂:正在研究的有复方骨质增生贴剂^[2]、止咳平喘膜剂^[3]、心安康贴剂^[4]等;②中药中提取的有效成分制成的制剂:如青藤碱、磷酸川芎嗪、丹参素、丹参酮、阿魏酸、雷公藤甲素、麝香酮、脂蟾毒配基、葛根素、全缘千里光碱、黄芩苷等^[5-7];③透皮促进剂:研究较多的为冰片、薄荷醇、桉叶油及其他从中药中提取的精油。冰片可以促进双氯芬酸、甲硝唑、氟尿嘧啶、水杨酸、川芎嗪、醋酸曲安奈德等药的透皮吸收^[8];薄荷醇可增加一些药物的经皮吸收,在离体裸鼠皮肤上,薄荷醇可明显增加水杨酸和5-氟尿嘧啶的吸收率;在正常人前臂内侧皮肤,薄荷醇能使氟轻松和氯氟舒松的经皮吸收增加,并存在明显的量效关系,还可促进水杨酸和对乙酰氨基酚的透皮吸收^[9];桉叶油对多种药物有良好的透皮促渗作用,起效时间短,皮肤刺激性小,制成贴剂后仍有很强的透皮吸收促进作用,而且它具有清凉香气,安全系数高,易为患者接受,能杀灭皮肤表面寄生虫、细菌、病毒等^[10]。

目前国外对中药制剂的TDDS的研究,笔者尚未见系统的资料。国内研究已如上述。杨宇杰等^[11]对炎痛平颗粒药效做了探讨,结果发现炎痛平颗粒具有较强的抗炎镇痛效果,但并未对活血方面做进一步的研究。曹春然等^[12]对炎痛平散的药理作用做了研究,结果显示炎痛平具有镇痛、抗炎和活血的药理作用。未见过国外对炎痛平制剂的相关报道。本课题

以炎痛平为研究对象,制备其透皮吸收剂型,进行了物理外观、酸碱性、熔点、稳定性、刺激性等质量评定,考察其活血作用,验证经皮肤给药而呈现全身作用的特性,为炎痛平透皮吸收剂型制备提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 昆明种小鼠,SPF级,雌雄各半,体重(19 ± 1)g,(福建医科大学实验动物中心提供,合格证号:闽实动质准第00205号)。

1.2 仪器 7200可见分光光度计(尤尼柯仪器有限公司),Frans扩散池(中国科学院上海有机化学研究所),海尔冰箱BCYD-215KANDZ(福建苏宁电器有限公司),DK-S24型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司),烘箱(上海阳光实验仪器有限公司),光学显微镜(上海精宏实验设备有限公司)。

1.3 药品与试剂 中药材:紫草、升麻、贯众、赤芍、荆芥、白芷、当归、防风、儿茶、草红花、川羌活、细辛、红曲、杜仲、血竭、冰片,购于福清宜又加医药超市,经福清卫校中药组郑国栋老师鉴定,药材均符合中华人民共和国药典标准。扶他林乳膏(北京诺华制药,20g/支,批号:090112)、凡士林、0.9%生理盐水、脂肪醇(辛醇)、1%戊巴比妥钠、葡聚糖溶液、8%硫化钠溶液、甲醛、无水乙醇、醋酸,均为分析纯。

1.4 炎痛平透皮软膏剂的配方及制备工艺 将凡士林加热熔融,趁热滤过,除去杂质,再加热到 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1h灭菌并除去水分。将中药各组粉碎过120目筛,具体重量份数如下^[15]:紫草7.5g,升麻15g,贯众3g,赤芍15g,荆芥15g,白芷45g,当归30g,防风7.5g,儿茶7.5g,草红花7.5g,川羌活7.5g,细辛7.5g,红曲7.5g,杜仲7.5g,血竭6g,冰片10g。

表1 研和法正交试验因素水平表

水 平	凡士林与中药的 重量比例(A)	脂肪醇与中药的 重量比例(B)	温度 (C)	加入顺序 (D)
1	25%	12.5%	70	凡士林、中药、脂肪醇
2	50%	25%	75	脂肪醇、中药、凡士林
3	80%	50%	80	凡士林、脂肪醇、中药

根据表1加入各组分研和,以凡士林与中药的重量比例(A)、脂肪醇与中药的重量比例(B)、温度(C)、加入顺序(D)为因素,选择三种不同水平,采用四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交试验筛选炎痛平透皮软膏剂制备的最佳配方及工艺。

1.5 正交试验的考察指标 药物体外累积透过率测定用于衡量其透皮吸收的效果,药物体外累积透过率越高,说明其透皮吸收的效果越好,因而作为主要考察指标。

1.5.1 检测波长的确定 分别取炎痛平透皮软膏剂、凡士林和脂肪醇适量,配制浓度分别为20、50和150 $\mu\text{g}/\text{ml}$,紫外扫描。结果表明,凡士林在405 nm处有最大吸收,脂肪醇基本无干扰,炎痛平软膏剂在560 nm处有最大吸收,因此选择560 nm为检测波长。

1.5.2 标准曲线制作和精密度测定 精密称取炎痛平透皮软膏剂10 mg,加适量乙醇溶解后置100 ml量瓶中,用去离子水定容。分别精密量取上述溶液5、10、15和20 ml,各置50 ml量瓶中,用去离子水定容。精密量取各对照品溶液适量,以去离子水为对照,于560 nm处测定吸收度(A),以浓度(C)对A线性回归,得到标准曲线回归方程。将炎痛平软膏剂加至乙醇溶液中,使浓度分别为0、10、20、30、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$,混匀。同上操作,分别于1 d和7 d内测定其精密度(RSD)。

1.5.3 离体鼠皮的制备 小鼠(19 \pm 1) g,共6只,雌雄兼半。固定鼠腿,剃去腹部毛,剥离去毛部位皮肤,除去脂肪和残留组织,用生理盐水反复冲洗干净,再用甘油液处理后,置-20 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中贮存,7 d内使用。

1.5.4 体外透皮试验 采用Frans扩散池,扩散池容积12 ml,有效扩散面积3.14 cm^2 ,加入生理盐水12 ml为扩散介质,温度(37 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$,搅拌速度200 r/min。用滤纸吸干鼠皮表面液体,固定,均匀涂布炎痛平软膏剂,进行透皮试验,分别于10、20、30、40、50、60 min定时取样5 ml,同时往扩散池补加等量同温生理盐水。样品按“1.5.2”项下测定吸收度,由标准曲线计算浓度,计算60 min累积透过率。

1.6 质量评定^[14]

1.6.1 物理外观 观察色泽是否均匀一致,质地细腻、无粗糙感,无污物。

1.6.2 酸碱性 取样品加适量乙醇振摇,所得的溶液再用pH计测定。

1.6.3 熔点 一般软膏以接近凡士林的熔点较适宜,测定炎痛平软膏剂加热至滴出时的温度。

1.6.4 稳定性 软膏剂对温度变化的稳定性。将软膏剂装入锡管,分别放在冰箱(5 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 和烘箱

(37 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下各一个月,观察(5 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 试品应能自由挤出,(37 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 试品应不漏油。

1.6.5 刺激性 取正常小白鼠5只,分别于背部2处剃去1 cm^2 的毛。24 h后待剃毛产生的刺激痊愈后,将炎痛平软膏及凡士林分别涂于剃毛部位,24 h后观察记录。每日涂药一次,连续1周。观察涂药部位皮肤表面,应正常,无发红、发疹、水泡等现象。小鼠试验正常,即可转入人体实验,即取药适量涂布于上手臂内侧,观察24 h是否出现异常反应。

1.7 活血试验 取体重为(19 \pm 1) g小鼠,共72只,雌雄各半。试验共分2组,空白对照组与模型组。各组用药分别为:0.1 g/cm^2 凡士林,0.1 g/cm^2 凡士林+脂肪醇,0.1 g/cm^2 扶他林乳剂,0.1 g/cm^2 小剂量、0.3 $\text{g}/2 \text{cm}^2$ 中剂量、0.5 $\text{g}/3 \text{cm}^2$ 大剂量炎痛平软膏剂。将受试小鼠编号并剃去背部体毛,分别涂抹等厚度的受试品和对照品于去毛皮肤,给药30 min后,用1%戊巴比妥钠溶液0.05 ml/10 g体重腹腔注射麻醉。给药35 min时,使用显微镜测微尺方法观察并记录小鼠耳廓选定部位的微小动、静脉的管径大小,此测定值为造模前微小动静脉管径大小的基础值,并选择血液流态相似的微小静脉,用于观察造模后血液流态的改变。给药40 min时,除空白对照组动物外,均按0.3 ml/20 g的剂量从尾静脉注射25 mg/ml葡聚糖溶液,空白对照组给予同体积生理盐水注射液。分别在测定基础值后10、20、30 min时,连续观察小鼠耳部选定的同一位置,记录微动、静脉管径及血液流态的变化。以各组动物造模前与造模后的微动、静脉管径的差值(ΔA 、 ΔV)为观察指标,同时对微静脉血液的流态进行评分,并作为观察指标,见表2。

表2 血液流态评分标准

分值	流态	评定标准
4分	线粒流	血流快速,成直线,但有沙粒感
3分	粒线流	血流较快,成直线,但明显有沙粒感
2分	粒流	血流快,成直线,可区分细胞
1分	粒缓流	血流缓慢,明显区分细胞,可见细胞团

1.8 统计方法 计量资料数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,统计分析采用SPSS 11.5统计软件。体外累积透过率采用正交设计资料的方差分析;血液流态评分值、 ΔA 、 ΔV 的各组比较采用LSD检验;以 $P < 0.05$ 为小概率, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标准曲线 炎痛平透皮软膏剂的标准曲线回归方程为 $A = 0.0092C + 0.0129$ ($r = 0.9998$, $n =$

5),标准曲线见图1所示。日内RSD为0.52%,日间RSD为0.68%。

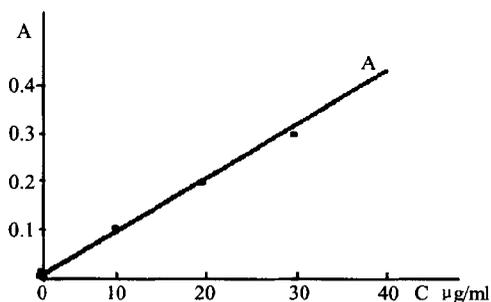


图1 炎痛平软膏剂标准曲线

2.2 药物透皮累积透过率 按照正交试验号测得炎痛平软膏60 min累积透过率,结果见表3,直观可见第5实验号累积透过率最高。

表3 炎痛平软膏剂透皮试验结果($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

实验号	60分累积透过率%
1	28.31 ± 0.41
2	43.23 ± 0.49
3	45.12 ± 0.23
4	32.14 ± 0.22
5	59.60 ± 0.29
6	39.41 ± 0.35
7	47.41 ± 0.41
8	29.20 ± 0.14
9	21.51 ± 0.23

2.3 炎痛平透皮软膏剂最佳配方及工艺确定 四因素三水平 $L_9(3^4)$ 的正交试验结果如表4所示。

表4 研和法 $L_9(3^4)$ 正交试验表

实验号	A	B	C	D	60分平均累积透过率(%)
1	1	1	1	1	28.31
2	1	2	2	2	43.23
3	1	3	3	3	45.12
4	2	1	2	3	32.14
5	2	2	3	1	52.60
6	2	3	1	2	39.41
7	3	1	3	2	47.41
8	3	2	1	3	29.20
9	3	3	2	1	21.51
K_1	116.66	107.86	96.92	102.42	
K_2	124.16	125.03	96.88	130.05	
K_3	98.12	106.04	145.13	106.46	
R_j	26.04	18.99	48.31	27.63	
SS	1 094.333	843.253	4 070.093	660.213	

因为四个因素A、B、C、D的 $P < 0.01$,故对结果均有极显著影响,见表5所示。

表5 研和法方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P值
A	1 094.333	2	547.167	357.158	<0.01
B	843.253	2	421.627	275.213	<0.01
C	4 070.093	2	2 035.047	1 328.359	<0.01
D	660.213	2	330.107	215.474	<0.01
误差	68.940	45	1.532		

$$F_{0.05(2,45)} = 3.20, F_{0.01(2,45)} = 5.11$$

综上所述,正交试验结果,确定最佳配比与工艺为 $A_2B_2C_3D_2$,即凡士林与中药的重量比例(A)为50%,脂肪醇与中药的重量比例(B)为25%,研和温度为80℃,加入顺序为:脂肪醇、中药、凡士林。

2.4 质量评定 炎痛平透皮软膏剂有关质量评价指标及结果见表6。

表6 炎痛平透皮软膏剂质量评定表

项目	评价指标	结果
物理外观	色泽均匀一致、质地细腻、无粗糙感、无污物	符合要求
酸碱度	样品加适当乙醇振摇,逐渐溶解,测定 $pH \leq 8.5$	pH 值5.5,符合要求
熔点	一般软膏剂以接近凡士林的熔点较适宜,凡士林的熔点为(38~60)℃	熔点47.2℃,符合要求
稳定性	24 h: $5 \pm 2^\circ C$ 可自由挤出; $37 \pm 1^\circ C$ 没出现漏油现象 1个月: $5 \pm 2^\circ C$ 可自由挤出; $37 \pm 1^\circ C$ 没出现漏油现象	符合要求
刺激性	动物实验:1周中,小鼠涂药部位皮肤表面正常、无发红、发疹、水泡等现象 人体实验:24 h未出现不良反应	符合要求

2.5 炎痛平透皮软膏剂的活血作用

2.5.1 造模前的微动、静脉管径的差值及血流流态的比较 测得 ΔA 值中,小剂量炎痛平组在30 min时大于凡士林+脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.05$);中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林+脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在各时间段均大于扶他林组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),见表7所示。测得 ΔV 值中,中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林+脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在各时间段均大于扶他林组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),见表8所示。测得血流流态评分中,小剂量炎痛平组在20 min、30 min时均大于凡士林+脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.05$);中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林+脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在20 min、30 min时均大于

扶他林组,其差异无统计学意义($P < 0.01$),见表9所示。说明炎痛平透皮软膏剂有扩张正常的微动脉、微

静脉作用,大剂量扩张微血管与加快血流作用均比扶他林乳剂强。

表7 各药物组对生理盐水致小鼠耳廓微动脉管径差值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6, \mu\text{m}$)

组别	基础值	微动脉管径的差值(ΔA)		
		10 min	20 min	30 min
凡士林	5.76 ± 1.35	0.08 ± 0.17	0.08 ± 0.19	-0.04 ± 0.19
凡士林 + 脂肪醇	6.17 ± 1.11	0.00 ± 0.22	-0.04 ± 0.29	0.08 ± 0.19
扶他林	4.08 ± 1.09	0.29 ± 0.14 ²⁾	0.54 ± 0.19 ²⁾	0.58 ± 0.13 ²⁾
炎痛平(小)	6.96 ± 0.79	0.09 ± 0.07	0.10 ± 0.87	0.11 ± 0.29 ¹⁾
炎痛平(中)	5.83 ± 1.24	0.75 ± 0.16 ²⁾	0.96 ± 0.19 ²⁾	1.08 ± 0.20 ²⁾
炎痛平(大)	6.71 ± 1.24	1.08 ± 0.13 ²⁾³⁾	1.63 ± 0.26 ²⁾³⁾	1.96 ± 0.37 ²⁾³⁾

注:¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,与凡士林 + 脂肪醇组比较;³⁾ $P < 0.01$,炎痛平(大)与扶他林组比较。

表8 各药物组对生理盐水致小鼠耳廓微静脉管径差值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6, \mu\text{m}$)

组别	基础值	微静脉管径的差值(ΔV)		
		10 min	20 min	30 min
凡士林	15.88 ± 2.88	0.12 ± 0.14	0.17 ± 0.13	0.12 ± 0.02
凡士林 + 脂肪醇	13.79 ± 2.67	-0.08 ± 0.20	0.125 ± 0.30	0.08 ± 0.19
扶他林	10.96 ± 2.38	0.79 ± 0.10 ¹⁾	1.13 ± 0.14 ¹⁾	1.38 ± 0.21 ¹⁾
炎痛平(小)	9.88 ± 0.61	0.13 ± 0.10	0.19 ± 0.16	0.17 ± 0.30
炎痛平(中)	16.29 ± 0.43	1.17 ± 0.08 ¹⁾	1.28 ± 0.20 ¹⁾	1.75 ± 0.74 ¹⁾
炎痛平(大)	16.25 ± 0.87	2.38 ± 0.26 ¹⁾²⁾	3.08 ± 0.44 ¹⁾²⁾	3.54 ± 0.51 ¹⁾²⁾

注:¹⁾ $P < 0.01$,与凡士林 + 脂肪醇组比较;²⁾ $P < 0.01$,炎痛平(大)与扶他林组比较。

表9 各药物组对生理盐水致小鼠微静脉血流速的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	流态评分		
	10 min	20 min	30 min
凡士林	3.02 ± 0.04	3.02 ± 0.04	3.04 ± 0.05
凡士林 + 脂肪醇	3.04 ± 0.05	3.00 ± 0	3.06 ± 0.05
扶他林	3.62 ± 0.07 ²⁾	3.70 ± 0.12 ²⁾	3.75 ± 0.08 ²⁾
炎痛平(小)	3.10 ± 0.08	3.44 ± 0.05 ¹⁾	3.51 ± 0.05 ¹⁾
炎痛平(中)	3.57 ± 0.08 ²⁾	3.75 ± 0.08 ²⁾	3.83 ± 0.10 ²⁾
炎痛平(大)	3.83 ± 0.05 ²⁾	3.93 ± 0.05 ²⁾³⁾	3.95 ± 0.05 ²⁾³⁾

注:¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,与凡士林 + 脂肪醇组比较;³⁾ $P < 0.01$,炎痛平(大)与扶他林组比较。

2.5.2 造模后的微动、静脉管径的差值及血流流态的比较 测得 ΔA 值,小剂量炎痛平组在20 min时大于凡士林 + 脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.05$);小剂量炎痛平组在30 min时,中剂量和大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林 + 脂肪醇

组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在各时间段均大于扶他林组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),见表10所示。测得 ΔV 值,小剂量炎痛平组在30 min、中剂量与大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林 + 脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在各时间段均大于扶他林组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),见表11所示。测得血流流态评分中,小剂量,中剂量和大剂量炎痛平组在各个时间段均大于凡士林 + 脂肪醇组,其差异有统计学意义($P < 0.01$),大剂量炎痛平组在各个时间段与扶他林组比较其差异无统计学意义($P > 0.05$),见表12所示。说明炎痛平透皮软膏剂对微循环障碍后的微动脉、微静脉有扩张作用,且大剂量扩张微血管作用比扶他林乳剂更强,加快血流作用与扶他林乳剂相当。

表10 各药物组对葡聚糖致小鼠耳廓微动脉管径差值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6, \mu\text{m}$)

组别	基础值	微动脉管径的差值(ΔA)		
		10 min	20 min	30 min
凡士林	5.96 ± 1.29	0.09 ± 0.14	0.07 ± 0.18	0.06 ± 0.18
凡士林 + 脂肪醇	6.23 ± 1.34	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.10	0.07 ± 0.16
扶他林	6.03 ± 0.09	0.39 ± 0.17 ²⁾	0.49 ± 0.21 ²⁾	0.60 ± 0.17 ²⁾
炎痛平(小)	6.09 ± 0.09	0.10 ± 0.08	0.19 ± 0.13 ¹⁾	0.32 ± 0.21 ²⁾
炎痛平(中)	5.63 ± 0.79	0.85 ± 0.16 ²⁾	0.97 ± 0.16 ²⁾	1.09 ± 0.21 ²⁾
炎痛平(大)	5.48 ± 1.05	1.12 ± 0.45 ²⁾³⁾	1.67 ± 0.33 ²⁾³⁾	1.98 ± 0.46 ²⁾³⁾

注:¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,与凡士林 + 脂肪醇组比较;³⁾ $P < 0.01$,炎痛平(大)与扶他林组比较。

表 11 各药物组对葡聚糖致小鼠耳廓微静脉管径差值的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6, \mu\text{m}$)

组别	基础值	微静脉管径的差值(ΔV)		
		10 min	20 min	30 min
凡士林	17.45 ± 2.71	0.13 ± 0.33	0.16 ± 0.46	0.09 ± 0.05
凡士林 + 脂肪醇	14.58 ± 2.35	0.09 ± 0.27	0.17 ± 0.38	0.11 ± 0.21
扶他林	11.47 ± 2.25	0.98 ± 0.1 ¹⁾	1.25 ± 0.71 ¹⁾	1.58 ± 0.41 ¹⁾
炎痛平(小)	10.23 ± 0.67	0.15 ± 0.10	0.17 ± 0.16	0.18 ± 0.30 ¹⁾
炎痛平(中)	15.92 ± 0.34	1.20 ± 0.04 ¹⁾	1.26 ± 0.35 ¹⁾	1.81 ± 0.63 ¹⁾
炎痛平(大)	16.33 ± 0.56	2.42 ± 0.21 ¹⁾²⁾	2.98 ± 0.71 ¹⁾²⁾	3.41 ± 0.32 ¹⁾²⁾

注: ¹⁾ $P < 0.01$, 与凡士林 + 脂肪醇组比较; ²⁾ $P < 0.01$, 炎痛平(大)与扶他林组比较。

表 12 各药物组对葡聚糖致小鼠微静脉血液流速的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	流态评分		
	10 min	20 min	30 min
凡士林	1.47 ± 0.25	1.48 ± 0.25	1.48 ± 0.21
凡士林 + 脂肪醇	1.50 ± 0.12	1.57 ± 0.14	1.56 ± 0.11
扶他林	3.18 ± 0.12 ¹⁾	3.23 ± 0.15 ¹⁾	3.28 ± 0.08 ¹⁾
炎痛平(小)	2.05 ± 0.14 ¹⁾	2.28 ± 0.17 ¹⁾	2.40 ± 0.15 ¹⁾
炎痛平(中)	2.45 ± 0.10 ¹⁾	2.78 ± 0.17 ¹⁾	3.00 ± 0.13 ¹⁾
炎痛平(大)	3.08 ± 0.19 ¹⁾	3.22 ± 0.21 ¹⁾	3.22 ± 0.25 ¹⁾

注: ¹⁾ $P < 0.01$, 与凡士林 + 脂肪醇组比较。

3 讨论

皮肤屏障效应导致一些药物难以透皮吸收达到治疗效果。以纳洛酮为模型药对促渗剂的系统筛选中发现^[14], 对饱和碳链而言, $C_{10} \sim C_{12}$ 且拥有极性基团的促渗剂, 表现出良好的促渗能力; 而不饱和碳链中, C_{18} 是最优的选择。同时, 长链脂肪醇也会引起皮肤的刺激性, 研究认为癸醇、十一醇、月桂醇的透皮速率较高, 但对皮肤刺激性也较大; 十三烷醇和肉豆蔻醇不仅对皮肤刺激性强, 且透皮速率也低; 辛醇和壬醇则表现出较小的刺激性和相当不错的促渗作用, 最具实用价值。Narayanasamy Kanikkannan等^[15]以褪黑激素为模型药物研究了饱和脂肪醇在无毛小鼠皮肤中的促渗作用及致炎反应, 研究结果表明, 脂肪醇的促渗效果与其碳链的长度呈正相关, 其中辛醇有高的促渗作用和低的致炎反应。因此, 本研究选择辛醇作为透皮促进剂。

微循环是指微动脉和微静脉之间的血液循环, 是血液与组织细胞进行物质交换的场所, 是机体新陈代谢、血液循环的形态结构及生理功能的基础, 微循环的功能状态是机体体质的重要指标。它与机体器官的代谢功能状态、病理变化都有密切关系, 特别是现代中西医结合研究中, 发现微循环与中医的活血化瘀理论关系密切, 活血化瘀能改善微循环的功能^[16]。本实验在活血作用研究中, 在小鼠给药前后比较, 从宏观上看, 小鼠耳廓微血管颜色变深、肉眼可见的血管数增多, 这些是血管扩张血流量加大的

表现。从微观上看, 小鼠耳廓微动、静脉的血管直径随着时间的增加有明显的增大, 微静脉的血液流速加快, 尤其是中剂量炎痛平与大剂量炎痛平作用更著, 于造模后, 小剂量炎痛平微静脉血液流速加快亦是说明炎痛平对微循环障碍的血管作用更明显, 此结果将为临床治疗微循环障碍及治疗血瘀症提供了实验依据。从本文的处方分析中, 赤芍、当归、草红花、细辛、杜仲均有活血化瘀之功效, 通过加快血液流速, 改善血液流变学以及扩张微血管来改善微循环。本课题研究中, 排除了凡士林与脂肪醇的活血作用, 优选自制的炎痛平透皮软膏剂的时效作用, 可根据本实验的数据做进一步的探索研究, 其抗炎镇痛方面的药理作用亦有待于进一步探索。

TDDS是为一些长期性疾病和慢性疾病的诊断及预防创造了一种简单、方便的给药方式。笔者认为, 中药透皮给药系统的发展, 主要应从三方面着手。首先应大力开发新剂型, 其次, 应深入研究透皮促进方法, 最后应大力开发中药穴位敷贴透皮给药系统, 加快开发国产辅料, 并制订严格统一的透皮给药体内外评价指标, 如合理选择动物皮肤模型, 统一的扩散装置, 有统计学意义的实验样本数以及科学的体内评价标准等。中药复方中有效成分的研究、中药在皮肤内酶解动力学研究、经络理论与透皮吸收的研究均有待进一步完善。

【参考文献】

- [1] Howard C, Ansel, Loyd V, et al. 药物剂型和给药体系[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003, 1.
- [2] 许英爱, 戈延茹, 李凤龙. 复方骨质增生贴剂的工艺研究[J]. 华西药理学杂志, 2000, 15(2): 99.
- [3] 刘建平, 李运曼, 张灵霞, 等. 止咳平喘膜剂的研制与穴位作用机理初步探讨[J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(6): 426.
- [4] 黄绳武, 宋育宏. 中药复方制剂心安康贴剂的吸收促进剂选择研究[J]. 中国药师, 2003, 6(7): 193.
- [5] 吕定刚. 天然药物活性成分体外经皮渗透研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(1): 67.
- [6] 徐月红, 徐莲英, 蔡定国, 等. 不同基质对全缘千里光碱凝胶剂体外释放和特性的影响[J]. 中成药, 2004, 26(6): 444.

(下转第 278 页)

NMR (100 MHz, pyridine- d_5): δ_{ppm} : 161.6 (C-2), 112.5 (C-3), 144.2 (C-4), 109.7 (C-5), 151.2 (C-6), 146.4 (C-7), 104.2 (C-8), 153.1 (C-9), 111.3 (C-10)。以上光谱数据与文献报道^[11] 莨菪亭的数据基本一致,故鉴定化合物 10 为莨菪亭。

2.11 化合物 11 无色油状物(甲醇), Molish 反应呈阳性。ESI-MS (m/z): 201 [M + Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_{ppm} : 4.86 (1H, s, H-1), 1.20 (3H, t, $J = 5$ Hz, H-7)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_{ppm} : 109.5 (C-1), 85.5 (C-2), 83.8 (C-3), 78.9 (C-4), 64.5 (C-5), 63.3 (C-6), 15.7 (C-7)。以上光谱数据与文献报道^[12] 乙基 α -D-呋喃阿拉伯糖苷的数据基本一致,故鉴定化合物 11 为乙基 α -D-呋喃阿拉伯糖苷。

2.12 化合物 12 无色方晶(甲醇), mp: 106 ~ 108 °C, Molish 反应呈阳性。ESI-MS (m/z): 217 [M + Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO): δ_{ppm} : 4.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1), 3.37 (OMe)。¹³C-NMR (125 MHz, DMSO): δ_{ppm} : 103.9 (C-1), 73.4 (C-2), 76.7 (C-3), 70.1 (C-4), 76.8 (C-5), 61.1 (C-6), 56.0 (OMe)。以上光谱数据与文献报道^[13] 甲基-O- β -D-葡萄糖苷的数据基本一致,故鉴定化合物 12 为甲基-O- β -D-葡萄糖苷。

3 讨论

金樱子叶作为一种治疗烧烫伤的草药,在民间广泛应用。但迄今为止,对金樱子叶的化学成分研究报道较少。作者对金樱子叶 70% 乙醇提取物进行了化学成分的分离,鉴定了 12 个化合物。化合物 11 为首次从蔷薇属植物中分离得到,化合物 3, 5 ~ 9 为首次从金樱子叶中分离得到。化合物 1 ~ 9 为多酚类化合物,文献报道^[14] 植物多酚对多种细菌、真菌、酵母菌都有明显的抑制作用,这可能为金樱子叶治疗烧烫伤提供了作用依据。

【参考文献】

- [1] Zeng N, Shen Y, Li LZ, et al. The anti-inflammatory triterpenes from the leaves of *Rosa laevigata* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74:732.
- [2] Tanaka T, Nonaka G, Nishioka I. 7-O-galloyl-(+)-catechin and 3-O-galloyl p-rocyanin in B-3 from *Sanguisorba officinalis* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(11): 2575.
- [3] Ternai B, Markham KR. Carbon-13 NMR studies of flavonoids-I flavones and flavonols [J]. *Tetrahedron*, 1976, 32(5): 565.
- [4] 廖矛川, 刘永灏, 肖培根. 蒙古香蒲、宽叶香蒲和长苞香蒲花粉的黄酮类化合物的研究 [J]. *植物学报*, 1989, 31(12): 939.
- [5] Okuyama T, Hosoyama K, Hiraga Y, et al. The constituents of *Osmunda* spp. II¹) A new flavonol glycoside of *Osmunda asiatica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1978, 26(10): 3071.
- [6] Xu ZH, Liu XK, Xu GS. Study on chemical constituents of *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv [J]. *China J Chin Mater Med*, 1995, 20(8): 484.
- [7] 李增亮, 张琳, 田景奎, 等. 乌饭树叶的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(18): 2087.
- [8] Achenbach H, Stocker M, Constenla MA. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27: 1835.
- [9] Xue Z, Li S, Wang SJ, et al. Studies on chemical constituents from the corn of *Cremastra appendiculata* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2005, 30(7): 511.
- [10] Duan JA, Zhou RH, Zhao SX, et al. The chemical constituents of flavonoids and phenolic acid compounds of leaves from *Nitraria tangutorum* Bor. in China [J]. *J Plant Res Environ*, 1999, 8(1): 6.
- [11] 张卫东, 孔德云, 秦路平, 等. 灯笼花的化学成分研究 (I) [J]. *中国医药工业杂志*, 1998, 29(11): 498.
- [12] Lonnberg H, Kulonpaa A. Mechanisms for the acidcatalyzed hydrolysis of some alkyl aldofuranosides with the *trans*-1, 2-configuration [J]. *Acta Chem Scand Ser A*, 1977, A31(4): 306.
- [13] 于德泉. 分析化学手册. 第七分册 [M]. 第 2 版. 北京: 化工出版社, 1999: 901.
- [14] 贾淑平, 曾睿, 但卫华, 等. 植物多酚药理作用的研究及应用 [J]. *中国药房杂志*, 2009, 20(12): 953.

[收稿日期] 2012-03-15

[修回日期] 2012-06-10

(上接第 274 页)

- [7] 刘强, 吕志平, 朱虹霞. 黄芩苷渗透不同动物皮肤的吸收研究 [J]. *中草药*, 2004, 35(5): 315.
- [8] 刘养凤, 张伯礼. 冰片的药理学研究进展 [J]. *中医药学报*, 2003, 31(6): 55.
- [9] 王晖, 吴铁. 薄荷及其有效成分药理作用的研究概况 [J]. *中草药*, 1998, 29(6): 423.
- [10] 毛庆祥, 常文军, 蔡全才. 桉叶油吸收促进剂研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 2003, 21(4): 205.
- [11] 杨宇杰, 王春民. 炎痛平颗粒的抗炎镇痛作用实验研究 [J]. *中草药*, 2001, 32(6): 90.
- [12] 曹春然, 周建平, 王志斌. 痛平膏主要药理作用实验研究. 中

华实用医药杂志 [J]. 2006, 5(2): 92.

- [13] 顾家富. 一种炎痛平膏及其制备方法 [P]. 中国专利, 98101780.0. 1998-11-04.
- [14] 张苏, 高永良. 吸收促进剂的研究进展 [J]. *科学技术与工程*, 2004, 4(8): 732.
- [15] Narayanasamy Kanikkannan, Mandip Singh. Skin permeation enhancement effect and skin irritation of saturated fatty alcohols [J]. *Int J Pharm*, 2002, 248(1-2): 219.
- [16] 仇微红, 郭世宁, 石达友. 活血祛瘀类中药研究进展 [J]. *中兽医医药杂志*, 2008, (1): 71.

[收稿日期] 2011-12-08

[修回日期] 2012-03-31