

· 研究报告 ·

自制复方特比萘酚软膏渗透促进剂的研究

刘琳琳, 严 佳, 周 欣 (中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院药剂科, 福建 福州 350025)

[摘要] 目的 筛选并确定自制复方特比萘酚软膏中的渗透促进剂。方法 采用体外经皮渗透试验, 使用立式 Franz 扩散池, 接收液为 60% 聚乙二醇 400-40% 生理盐水, 渗透膜为 SD 大鼠腹部皮肤, 筛选最适渗透促进剂。结果 10% 丙二醇对复方特比萘酚软膏的促渗作用明显大于 15% 丙二醇, 对比氮酮和丙二醇的促渗效果, 10% 丙二醇优于 3% 氮酮。结论 本研究通过对丙二醇和氮酮进行分析比较和筛选, 最终选择 10% 丙二醇作为自制复方特比萘酚软膏渗透促进剂, 大大提高了药物在皮肤中的溶解度。

[关键词] 复方特比萘酚软膏; 渗透促进剂; 丙二醇

[中图分类号] R943

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2021)01-0058-04

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202008062

Penetration enhancer for pharmacy prepared compound terbinafine ointment

LIU Linlin, YAN Jia, ZHOU Xin (Department of Pharmacy, No. 900 Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To screen and identify the penetration enhancer in pharmacy prepared compound terbinafine ointment. **Methods** In vitro percutaneous penetration test was conducted with vertical Franz diffusion pool. The SD rat's abdomen skin was used for permeable membrane and 60% polyethylene glycol 400-40% saline for receiving liquid to analyze different osmotic promoters. **Results** The permeability of compound terbinafine ointment was significantly higher with 10% propylene glycol than 15% propylene glycol. The compound terbinafine ointment with 10% propylene glycol was also better than 3% azone in permeability. **Conclusion** 10% propylene glycol was selected to be the penetration promoter for pharmacy prepared compound terbinafine ointment, which improved the solubility of the drug in the skin.

[Key words] compound terbinafine ointment; penetration enhancer; propylene glycol

真菌性皮肤病, 是指由病原菌真菌所引起的一大类感染性皮肤病^[1], 其中, 浅部真菌感染性皮肤病中, 足癣最为常见且发病率最高, 而趾间糜烂型和水疱型为最主要的发病类型^[2], 患者抓痒造成皮损继发细菌感染, 此时感染已不仅仅累及皮肤角质层, 而是进入真皮层, 甚至透过皮下组织, 危害深层组织, 甚至导致出现发热等全身症状。驻闽部队官兵长期穿着不透气的作战靴、胶鞋, 皮肤真菌感染率普遍较高, 且部队官兵训练任务重、居住环境艰苦, 往往因诊疗不及时等原因, 容易出现继发感染^[3-4]。

复方特比萘酚是在课题组前期研制的复方酮康唑软膏基础上, 选择抗真菌药盐酸特比萘酚和糖皮质激素药糠酸莫米松, 联合适宜的抗菌药物莫匹罗星, 作为处方的主药^[5]。解决了酮康唑不稳定、易变色的问题, 既可利用协同作用增强治疗效果, 又方便应用, 提高了患者使用的依从性, 改善了市售产品的有效性和安全性, 具有较高的军事利用价值。本实验主要研究在制剂过程考虑加入渗透促进剂, 增加药物透皮吸收速率和浓度, 达到根治此类疾病、杜绝反复发作的目的。

1 仪器与试药

1.1 仪器

DV215CD 型电子天平 (奥豪斯仪器上海有限公司); 安捷伦 1200 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); KQ-600DE 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); YSEI 型综合药品稳定性试验箱 (重庆市永生实验仪器厂), DF-101B 集热式恒温加

[基金项目] 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院临床应用研究专项院内课题 (2019L17)

[作者简介] 刘琳琳, 硕士, 药师, 研究方向: 药物新剂型与制剂新技术, Tel: (0591)22859963, Email: 1150826454@qq.com

[通信作者] 严 佳, 硕士, 主管药师, 研究方向: 药物新剂型与制剂新技术, Tel: (0591)22859963, Email: 25831145@qq.com; 周 欣, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 药物分析与药物临床试验, Tel: (0591)22859459, Email: fzyjg@163.com

热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司)。

1.2 试药

盐酸特比萘芬对照品(批号: 100563-201402, 含量 99.8%)、莫匹罗星对照品(批号: 130568-200501, 含量 94.2%)、糠酸莫米松对照品(批号: 100930-201201, 含量 99.9%)均购自中国食品药品检定研究院, 盐酸特比萘芬原料药(批号: 20150405)、莫匹罗星原料药(批号: 20150301)均购自武汉鑫佳灵生物科技有限公司, 糠酸莫米松原料药(批号: 20150228, 浙江仙琚制药股份有限公司), 聚乙二醇 400、聚乙二醇 3350(中国医药对外贸易公司), 甲醇为色谱纯, 水为超纯水; 氮酮(广州化学试剂厂), 1,2-丙二醇(国药集团化学试剂有限公司), 其余所用试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体重(170~230)g, 实验动物合格证号: SCXK 沪(2017-0001), 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 于联勤保障部队第九〇〇医院比较医学科实验动物房适应 7 d 后开始实验。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

色谱柱为 ZORBAX SB-C₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液(70:30), 检测波长 248 nm, 流速 1.0 ml/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μl。

经专属性考察发现, 盐酸特比萘芬、莫匹罗星、糠酸莫米松分离度良好, 所用辅料均不会对药物的测定产生干扰。以药物峰面积 A 为纵坐标, 药物浓度 C 为横坐标作线性回归曲线。实验结果表明, 盐酸特比萘芬线性回归方程为: $A=1.763 \times 10C+36.63$, $r=0.999\ 7$, 在 20~200 μg/ml 浓度范围内线性关系良好; 莫匹罗星线性回归方程为: $A=2.307C+6.777$, $r=0.999\ 8$, 在 40~400 μg/ml 浓度范围内线性关系良好; 糠酸莫米松线性回归方程为: $A=2.854 \times 10C+1.763$, $r=0.999\ 8$, 在 2~20 μg/ml 浓度范围内线性关系良好。对日内、日间精密性及方法的重复性进行考察, 其 RSD 值均小于 1%; 低、中、高 3 个水平浓度的平均回收率在 98%~101% 范围内, 且 RSD 值小于 1%; 供试品溶液在 24 h 内稳定, 且 RSD 值小于 1%。以上数据表明, 实验精密性、重复性、回收率、稳定性均符合要求。

制备复方特比萘酚软膏 3 批, 每批 3 份, 测定药物含量。实验结果表明, 供试品中的 3 种主药莫匹罗星、糠酸莫米松和盐酸特比萘芬的含量均为标

示量的 90.0%~110.0%, 符合规定。

2.2 体外经皮渗透性考察

2.2.1 装置

试验装置为立式 Franz 扩散池^[6-9], 药物透皮扩散试验仪, 透皮有效扩散面积是 3.14 cm², 接受室体积为 7.8 ml。

2.2.2 渗透膜的处理

断颈处死 SD 大鼠后, 用电剪刀剪除腹部的鼠毛, 硫化钠溶液去除绒毛, 取腹部处皮肤, 将皮下脂肪与筋膜剥离, 用 0.9% 的氯化钠注射液清洗干净后, 放于冰箱 4 °C 保存, 备用。

2.2.3 接受液的选择

通常体外经皮渗透试验的接受液选择 0.9% 氯化钠注射液, 但是由于复方特比萘芬软膏中 3 种主药在水中的溶解度不佳, 为了保持其漏槽条件, 考察 3 种主药在不同比例的聚乙二醇 400-生理盐水混合液中的溶解情况。实验结果表明, 3 种主药在 60% 聚乙二醇 400-40% 生理盐水中都可以保持漏槽条件并达到最大溶解度, 因此, 实验的接受液选择 60% 聚乙二醇 400-40% 生理盐水。

2.2.4 透皮扩散试验方法

将“2.2.2”项下经过处理的大鼠皮在水平扩散池的两个半池之间固定, 加接收液 7.8 ml 于接受池中, 扩散池在 (32±1)°C 的水浴中预平衡 1 h 后, 分别加入 0.5 g 不同浓度和种类促进渗透剂的复方特比萘芬软膏于供体池中, 于 0.5、1、2、4、6、8、24 h 分别取样 2 ml, 过 0.22 μm 微孔滤膜后注入 HPLC 仪分析测定。同时, 在受体池中补加等量空白接收液。以累积渗透量为指标筛选最适宜的透皮促进剂及其用量。

2.2.5 数据处理公式

累积渗透量的计算公式:

$$Q_n = \frac{C_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V}{A} \quad (1)$$

式中, C_n 是在第 n 个取样点时所测得的药物浓度; V_0 是接受室的体积; C_i 是在第 i 个取样点时所测得的药物浓度; V 是取样体积; A 是渗透面积 (cm²)。

2.3 体外经皮渗透性比较试验

2.3.1 未加渗透促进剂的复方特比萘芬软膏的体外经皮渗透性

取未加渗透促进剂的复方特比萘芬软膏进行体外经皮渗透性试验, 计算累积渗透量。实验结果表明, 不加渗透促进剂时, 复方特比萘芬软膏中盐

酸特比萘芬 24 h 的累积渗透量为 $8.64 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 莫匹罗星 24 h 的累积渗透量为 $9.12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 而糠酸莫米松无渗透。

2.3.2 氮酮对复方特比萘芬软膏经皮渗透的影响

在复方特比萘芬软膏中分别加入 1%、3%、5% 氮酮, 进行体外经皮渗透性试验。以累积渗透量为纵坐标, 渗透时间为横坐标, 绘制累积渗透曲线。实验结果表明, 以氮酮为渗透促进剂时, 不同浓度氮酮对盐酸特比萘芬作用大小为 $3\% > 1\% > 5\%$, 不同浓度氮酮对莫匹罗星作用大小为 $3\% > 1\% > 5\%$, 不同浓度氮酮对糠酸莫米松无渗透作用。结果见表 1、表 2 和图 1、图 2。

表 1 盐酸特比萘芬在不同浓度氮酮作用下的累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

渗透时间(t/h)	氮酮溶液(%)		
	1	3	5
0.5	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
4	3.42	4.72	1.11
6	7.97	9.19	3.25
8	14.19	15.64	5.47
24	18.50	23.65	7.17

表 2 莫匹罗星在不同浓度氮酮作用下的累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

渗透时间(t/h)	氮酮溶液(%)		
	1	3	5
0.5	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
4	0	0	0
6	0	0	0
8	10.38	18.22	7.01
24	31.67	37.29	19.08

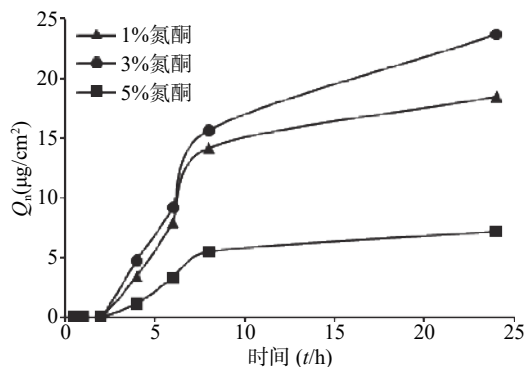


图 1 盐酸特比萘芬在不同浓度氮酮作用下的累积渗透曲线

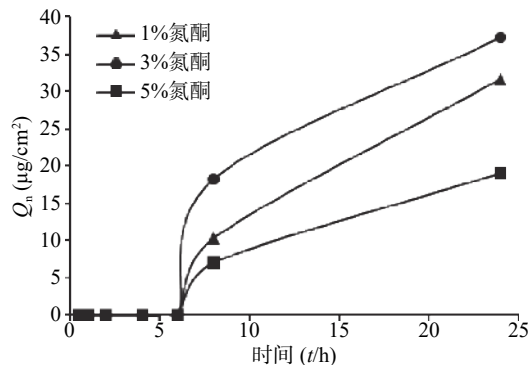


图 2 莫匹罗星在不同浓度氮酮作用下的累积渗透曲线

2.3.3 丙二醇对复方特比萘芬软膏经皮渗透的影响

在复方特比萘芬软膏中分别加入 5%、10%、15% 丙二醇, 进行体外经皮渗透性试验。以渗透时间为横坐标, 累积渗透量为纵坐标, 绘制累积渗透曲线。实验结果表明, 10% 丙二醇对复方特比萘芬软膏的促渗作用明显大于 15% 丙二醇, 且 10% 丙二醇渗透量又大于 3% 氮酮, 故本实验选择 10% 丙二醇作为渗透促进剂。结果见表 3 ~ 5 和图 3 ~ 5。

表 3 盐酸特比萘芬在不同浓度丙二醇作用下的累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

渗透时间(t/h)	丙二醇溶液(%)		
	5	10	15
0.5	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
4	1.69	3.84	1.30
6	4.69	12.57	3.63
8	8.37	21.58	6.71
24	9.67	31.05	9.76

表 4 莫匹罗星在不同浓度丙二醇作用下的累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

渗透时间(t/h)	丙二醇溶液(%)		
	5	10	15
0.5	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
4	3.04	4.63	5.84
6	5.92	10.29	11.57
8	11.18	15.58	19.03
24	22.44	31.41	31.73

表 5 糠酸莫米松在不同浓度丙二醇作用下的
累积渗透量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

渗透时间(t/h)	丙二醇溶液(%)		
	5	10	15
0.5	0	0	0
1	0	0	0
2	0	0	0
4	0	0	0
6	0	3.59	4.15
8	0	5.35	6.24
24	4.02	9.73	10.64

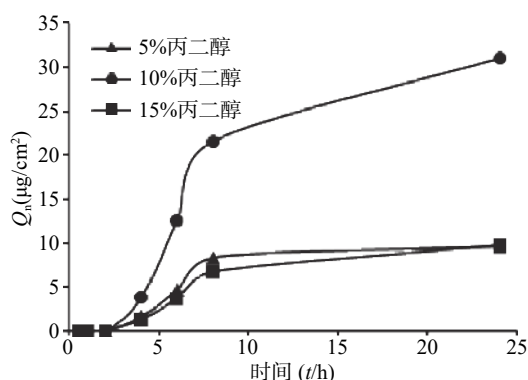


图 3 盐酸特比萘芬在不同浓度丙二醇作用下的累积渗透曲线

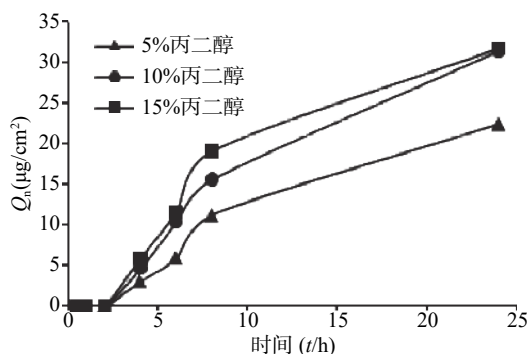


图 4 莫匹罗星在不同浓度丙二醇作用下的累积渗透曲线

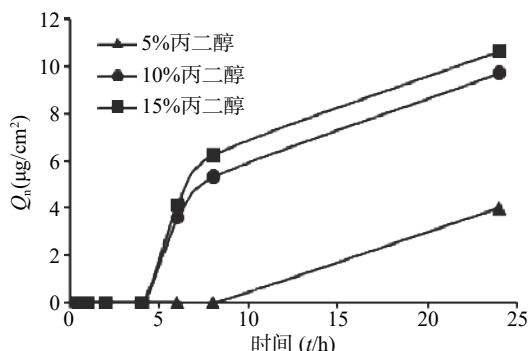


图 5 糠酸莫米松在不同浓度丙二醇作用下的累积渗透曲线

3 讨论

3.1 渗透促进剂的种类

渗透促进剂能够提高或加速药物透过皮肤且对皮肤没有损伤和刺激。渗透促进剂有很多种,包括二甲亚砜及其类似物、醇类化合物、氮酮类化合物、表面活性剂等,其中,氮酮与丙二醇最为常用。丙二醇为无色黏稠液体,近乎无味,毒性和刺激性都非常小。氮酮为无色澄明的液体,无刺激性且副作用小,润滑效果好,理化性质稳定,作为新型渗透促进剂近几年来应用广泛^[10-11]。

3.2 渗透促进剂的作用

促渗剂的选择实验结果显示,以氮酮和丙二醇为渗透剂的累积渗透量均明显高于无渗透促进剂者。作为研究治疗浅部真菌皮肤病合并细菌感染的外用制剂,治疗时要求药物不仅作用于角质层,还需穿透皮肤,提高药物在皮肤中的溶解度,因此有必要在处方中加入渗透促进剂,达到治标又治本的目的。

3.3 不同浓度丙二醇的促渗作用对比

以丙二醇为渗透促进剂的实验结果表明,虽然 15% 丙二醇对莫匹罗星和糠酸莫米松的促渗作用最大,但与 10% 丙二醇相比,累积渗透量相差不大,而在对盐酸特比萘芬的促渗作用中,10% 丙二醇明显优于 15% 丙二醇。

3.4 氮酮和丙二醇的促渗作用对比

以氮酮为渗透促进剂的实验表明,3% 氮酮对复方特比萘芬软膏促渗作用最好,但对糠酸莫米松无渗透作用,氮酮未能增加糠酸莫米松透皮量和透皮速度,是否糠酸莫米松仍滞留在皮肤层中或皮肤表面,在今后实验中拟通过皮肤滞留量实验,进一步分析可能原因。对比氮酮和丙二醇的促渗效果,10% 丙二醇优于 3% 氮酮,因此,研究以累积渗透量为指标选择 10% 丙二醇作为渗透促进剂加入处方。

综上所述,本实验采用 60% 聚乙二醇 400-40% 生理盐水为接受液,10% 丙二醇作为渗透促进剂加入处方中,大大提高了药物在皮肤中的溶解度。本研究结果为临床治疗浅部真菌皮肤病并申报一种安全有效的院内制剂特比萘酚软膏提供了实验数据,在为部队官兵提供更优质便捷的临床服务方面具有重要的军事意义。

【参考文献】

- [1] 胡楠. 真菌性皮肤病66例行盐酸特比萘芬片治疗的疗效分析[J]. 中国医疗美容, 2014, 4(6): 95.

(下转第 72 页)

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$, mg/ml)

样品批号	羟苯乙酯	五味子醇甲
160903	0.437 1	0.102 6
170112	0.531 9	0.106 1
170328	0.468 8	0.115 6

检测波长,操作更加简单、普适性更强^[12]。

试验中考察了水、甲醇、乙醇、稀乙醇和 50% 甲醇作为提取溶剂,结果显示 50% 甲醇作溶剂时,指标成分无干扰,提取率高。

本研究曾尝试测定红参中有效成分的含量,将样品采用直接过滤法、蒸干后甲醇超声法、正丁醇萃取法等均无法有效检测出红参中的有效成分,故最终放弃对红参的含量测定。

3.3 羟苯乙酯含量测定的意义

《中国药典》(2015 年版)四部通则 0181【合剂】项下规定羟苯酯类防腐剂的用量不得超过 0.05%,但所有抑菌剂都有一定的毒性,添加到制剂中的抑菌剂应是在抑菌效力测试试验基础上的最低有效量^[13]。样品处方中羟苯乙酯的用量为 0.05%,但 3 批样品的测定结果显示羟苯乙酯的含量差异较大,因而把羟苯乙酯含量也作为质量控制项符合制剂的安全性要求。

【参考文献】

[1] 刘清源,冯志祥,张正臣,等.健心乐口服液对心力衰竭的疗

效观察[J].河南医药信息,1999(5):46-47.

[2] 刘清源,冯志祥,张正臣.健心乐口服液强心作用的实验研究[J].河南中医药学刊,2001,16(2):27-28.

[3] 郑夺,张婷,陈冠,等.多指标正交试验优选养心颗粒制备工艺[J].药物分析杂志,2015,35(7):1218-1222.

[4] 王发英,吴查青,陈张金,等.复方鱼腥草合剂中3个有效成分及防腐剂的含量测定[J].中国现代应用药学,2018,35(3):399-403.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(2015年版):一部,四部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:66,155,302,通则0502.

[6] 申琳,曲佳,孙永跃.脉康合剂的质量标准研究[J].中国药房,2016,27(21):3000-3003.

[7] 于春艳,邱世鑫,包晗,等.延胡索与常见伪品的快速鉴别方法[J].甘肃医药,2018,37(10):932-933.

[8] 刘莉,李婷婷,王欣,等.安神补心片的薄层色谱鉴别[J].中国药业,2019,28(19):43-45.

[9] 周亚萍,谈瑄忠,毛春芹,等.芪术益气润肠颗粒质量控制方法[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(3):67-71.

[10] 王艳,胡娟妮,赵勇,等.补中益气丸中黄芪甲苷转移率异常干扰因素研究[J].中国药师,2013,16(8):1156-1159.

[11] 韩宵,闫春风,朱磊,等.HPLC-ELSD测定益心舒分散片中人参皂苷R_{g1},Re,Rb₁,Rd和黄芪甲苷[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):68-71.

[12] 叶隽,陈斌,余岳林,等.高效液相色谱法同时测定清肺抑火片中8个成分的含量[J].药物分析杂志,2017,37(6):968-974.

[13] 沈秋莲,杨育儒,王庆芬,等.枸橼酸钾溶液中抑菌剂的抑菌效果观察[J].安徽医药,2017,21(4):623-626.

[收稿日期] 2020-03-29 [修回日期] 2020-05-14

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 61 页)

[2] 王星,张秀丽.皮肤癣菌的感染与炎症因子的相关性研究[J].医学美容美容(中旬刊),2014,23(5):135-135.

[3] 于国平,王萍,陈俭宏,等.驻闽某部队官兵浅部真菌病调查[J].华南国防医学杂志,2015,29(8):642-643.

[4] 岳喜昂,柳君如,孙晓静,等.驻黄海北部某地部队浅部真菌病调查分析[J].中国真菌学杂志,2014,9(5):293-295.

[5] 吴博.复方酮康唑软膏的制备与评价[D].福州:福建医科大学,2016.

[6] 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.

[7] 刘秀洁,刘泽莹,余伟民,等.几种促渗剂对巴布剂中双氯芬酸钠体外透皮的影响[J].中国医药工业杂志,2011,42(8):604-606.

[8] XU D H, ZHANG Q, FENG X, et al. Synergistic effects of ethosomes and chemical enhancers on enhancement of naloxone permeation through human skin[J]. Pharmazie, 2007, 62(4): 316-318.

[9] HU L S, SILVA S M C, DAMAJ B B, et al. Transdermal and transbuccal drug delivery systems: Enhancement using iontophoretic and chemical approaches[J]. Int J Pharm, 2011, 421(1): 53-62.

[10] LANE M E. Skin penetration enhancers[J]. Int J Pharm, 2013, 447(1-2): 12-21.

[11] 夏林虹,邱纪达.月桂氮草酮和薄荷醇对复方积雪草苷凝胶体外透皮吸收的影响[J].中国医院药学杂志,2010,30(18):1538-1541.

[收稿日期] 2020-08-15 [修回日期] 2020-11-19

[本文编辑] 李睿旻