

双氯芬酸钠明胶海绵经皮直流电离子导入的研究*

浙江医科大学药剂教研室 高建青 梁文权 冯 璇**

摘 要 目的: 筛选较佳的双氯芬酸钠 (DS) 离子导入明胶海绵。方法: 制备 4 种不同处方的含有双氯芬酸钠溶液的明胶海绵, 采用改良 Franz 扩散池进行药物明胶海绵体外离子导入实验。结果: 4 种不同处方的含药明胶海绵的透皮速率分别为 63.4 ± 8.02 56.0 ± 5.82 61.2 ± 6.14 和 $60.8 \pm 5.25 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ 。明胶海绵吸收 DS 溶液 20 min 后, 其电阻较不含药海绵显著下降, 采用较低电压即可维持所需电流强度。加入吸附剂的含药海绵在导入前、后明胶海绵的 pH 值几乎不发生改变。结论: 按处方 IV 制得的双氯芬酸钠明胶海绵的外观、柔韧性均较好, 并能明显减小由于电场所引起的 pH 改变。

关键词 双氯芬酸 给药和剂量; 明胶海绵, 吸收性; 给药, 皮肤; 离子透入法

Study of Transdermal Iontophoresis of Diclofenac Sodium Gelatin

Gao Jianqing, Liang Wenquan, Feng Xuan. (Department of Pharmaceutics, Zhejiang Medical University)

Abstract Objective To select the satisfactory formula of diclofenac sodium gel. **Methods** Four formulae of gelatin were prepared and the modified Franz diffusion cells were employed in the transdermal iontophoretic experiments of these gelatins. **Results** The fluxes of these four formulae were 63.4 ± 8.02 56.0 ± 5.82 61.2 ± 6.14 and $60.8 \pm 5.25 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ respectively. There were no significant differences among them. The resistance of gelatin was reduced significantly after the gelatin absorbed the drug solution in 10 minutes. The study also demonstrated that if the adsorbent was added to the gelatin, there were no marked pH changes in gelatin before and after iontophoretic experiment. **Conclusion** Formula IV is the best of all gelatins selected which has a good appearance and flexibility, and this gel can reduce the change of pH value caused by the electrical field.

Key words Diclofenac/adminix Gelatin sponge, absorbable; Administration, cutaneous; Iontophoresis

双氯芬酸钠 (diclofenac sodium, DS) 为非甾体抗炎药, 具有显著的镇痛、抗炎及消肿作用, 但口服对胃肠道有刺激性, 经皮给药可克服其胃肠道副作用, 并产生局部治疗作用。目前理疗科作导入治疗时常采用药物溶液, 为避免对病人皮肤产生刺激性, 需使用衬垫, 不甚方便。若利用明胶海绵的吸水性, 制成海绵剂, 使 DS 吸附在明胶海绵上, 并加入能缩小导入前、后 pH 变化的成份, 这样加电场后, 不但使 DS 能较快地通过皮肤, 而且没有刺激性, 便于医院理疗科的应用。本实验制备了吸附 DS 溶液的明胶海绵, 考察含药明胶海绵离子导入的透皮速率, 以及导入前、后明

胶海绵的 pH 值变化情况, 为理疗药物选择一种较合适的剂型

1 材料与方 法

1.1 仪器和试药 改良 Franz 扩散池 (自制); Ag/AgCl 电极 (自制); 78-1 磁力加热搅拌器 (杭州仪器电机厂); THL-80 恒温振荡仪 (上海跃进医疗器械厂); PHS-10B 数字酸度计 (萧山市科学仪器厂); DU-65 分光光度计 (Beckman 公司); 月桂氮卓酮 (Azone, 广

* 国家自然科学基金及浙江省卫生厅基金资助项目

** 本校 96 届药系毕业生

州助剂化工厂); 双氯酚酸钠 (DS, 江苏常州卜弋生化制药厂); 动物: 雄性 SD大鼠 (浙江医科大学实验动物中心)

1.2 DS溶液的配制 将丙二醇 (PG) 10 ml 月桂氮卓酮适量和乙醇 90 ml 混和均匀, 加入 DS 10 g, 恒温振荡一定时间即可。

1.3 明胶海绵的制备 将明胶置于适量蒸馏水中浸泡 1 h, 于 50°C 左右水浴溶解, 搅拌下加入吸附剂, 将明胶液维持在 40°C 左右, 随搅拌随加入甲醛溶液, 待其冷却至 20~22°C (使溶液呈粘稠状), 然后用搅拌机高速搅拌使之发泡, 待形成的泡沫均匀细腻后, 放入 -18°C 冷冻 48 h, 将已冰冻的明胶海绵取出, 置于鼓风室内解冻 24 h, 排出水分后, 于 36°C 左右干燥, 吸收适量 DS 溶液即得 DS 明胶海绵处方见表 1

表 1 DS 明胶海绵处方

处方	明胶 (g)	3% 甲醛 (ml)	吸附剂 (g)	蒸馏水加至 (ml)
I	4.8	8.0		100.0
II	4.8	8.0	1.0	100.0
III	6.0	8.0		100.0
IV	6.0	8.0	1.0	100.0

1.4 皮肤的处理 取 200 g 左右的雄性 SD 大鼠, 以颈椎脱臼法处死, 剪去腹部鼠毛, 取下该部位皮肤, 去除皮下组织, 使用前将皮肤在生理盐水中浸洗 0.5 h

1.5 离子导入经皮渗透 将经过处理的皮肤置于改良 Franz 扩散池上, 扩散池夹层用 37±0.5°C 水浴恒温。皮肤真皮层面向接受室, 接受室内置 pH7.4 磷酸盐缓冲液^[1]作为接受介质。皮肤角质层上放置含药明胶海绵, 上置铅板, 接电源负极, 接受室内缓冲液中插入 Ag/AgCl 电极, 接电源正极, 串联可调直流稳压电源和电流计, 保持恒定电流强度 0.1 mA/cm², 每隔一定时间取出全部接受液, 测定吸收度, 并补充等量的 pH7.4 磷酸盐缓冲液

1.6 DS 标准曲线的制备 精密称取 DS

100 mg, 用 pH 7.4 磷酸盐缓冲液溶解, 并稀释至 1000 ml, 分别移取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 ml 于 50 ml 量瓶中, 用磷酸盐缓冲液稀释至刻度, 在 276 nm 处测定吸收度, 得标准曲线为:

$$C (t \text{ g/ml}) = 32.4224 A - 0.6949, \\ r = 0.9993$$

1.7 测定方法和结果处理 采用双波长法, 于 276 nm 处测得吸收度 A (276 nm 处 DS 有最大吸收), 再在 350 nm 处测得消除皮肤浸出液影响的吸收度 A, 求两者的差值 ΔA , 根据 DS 溶液的标准曲线求得其浓度, 并根据扩散池接受室的体积, 可求得各时刻的药物累积透过量 (Q), 用 Q 除以有效扩散面积 (S), 可得单位面积的累积透过量 (Q/S), 以 Q/S 对 t 作图, 达稳态后呈直线关系, 此直线斜率即为药物单位面积的透皮速率

2 结果

2.1 含药明胶海绵透皮速率 用 1.5 离子导入经皮渗透实验方法, 测得 4 种不同处方明胶海绵的稳态透皮速率, 如表 2 所示

表 2 四种不同处方明胶海绵离子导入的透皮速率 ($\bar{x} \pm s$)

处方	实验次数	电流强度 (mA)	透皮速率 ($t \text{ g/cm}^2/\text{h}$)
I	4	0.45	63.40±8.02
II	4	0.45	56.00±5.82
III	4	0.45	61.20±6.14
IV	4	0.45	60.80±5.25

方差检验 $P > 0.05$

2.2 离子导入经皮渗透前、后明胶海绵的 pH 变化 由于电场的作用, 使得近铅板处发生电解反应, 使用阴极导入时, 将使阴极处的 pH 值增加, 从而引起病人皮肤的刺激。在本研究中为考察吸附剂对 pH 值的影响, 将导入结束后的明胶海绵用棉球蘸水擦其近铅板侧 10 次, 而后将明胶海绵用水浸泡 10 min, 再用数字酸度计测其 pH 值, 以观察加吸附剂与不加吸附剂的明胶海绵导入前、后

的 pH 变化,结果如表 3 所示。

表 3 离子导入前后明胶海绵的 pH 值变化

处方	实验前 pH 值*	实验后 pH 值	△ pH	pH% **
I	6.8 ± 0.07	9.28 ± 0.60	2.47	36.20
II	6.8 ± 0.07	7.64 ± 1.19	0.83	12.20
III	6.8 ± 0.07	8.8 ± 0.94	2.00	29.40
IV	6.8 ± 0.07	7.23 ± 0.43	0.42	6.17

* 离子导入前采用 DS 溶液测定 pH 值

** pH% = (导入后 pH 值 - 导入前 pH 值) / 导入前 pH 值

2.3 明胶海绵吸收 DS 溶液前、后电阻变化

测定 4 个处方的明胶海绵吸收 DS 溶液前及吸收 DS 溶液后 1, 5, 10, 20, 30 min 的电阻变化,结果见表 4

表 4 明胶海绵在吸收 DS 溶液前后不同时间 (min) 的电阻 (KΩ)

处方	吸收前	吸收后				
		1	5	10	20	30
I	200	100	40	30	30	30
II	100	60	40	30	30	30
III	100	60	40	30	30	30
IV	100	60	40	30	30	30

3 讨论

在明胶海绵的制备处方中,明胶与甲醛溶液的比例约为 3:5^[2],由于成品中明胶成分较少,而水份含量相对较多,在鼓风室中解冻及干燥时,制成品易脱水、缩小、变形。若采用明胶:甲醛溶液为 3:4^[2,3]的制成品,则在解冻和干燥后,能较好地保持原来的厚度,所以 III、IV 处方的制成品不易变形,外观较好。据报道制备海绵剂时,明胶溶液要冷至 20~22℃^[2]或 25~28℃^[3,4],再用搅拌机高速搅拌使其发泡。作者实验中发现,一般冷却至 20~22℃,使溶液呈粘稠状,此时再搅拌发泡,得到的泡沫均匀细腻,并且成品下层不会有明胶层沉出。若温度过高,在溶液流动性较好时打泡,易有明胶层沉出。反之,则会由于溶液过粘、流动性差,近似凝胶状,就不易搅拌成泡沫,并且倒入冰冻容器后不易控制其成形,影响成品质量。

本研究结果表明,不同处方制备的明胶

海绵对 DS 在电场下的透皮速率无显著影响(表 2);同时表明在处方中加入吸附剂对 DS 在电场下的透皮速率也不产生影响。我们以前的研究表明^[5,6],促渗剂如月桂氮卓酮和乙醇等与离子导入合用能产生协同促渗作用,所以在处方中采用复合促渗剂与离子导入合用。在研究中发现,不含药的明胶海绵的电阻达到 100~200 KΩ,不同处方的明胶海绵吸收 DS 饱和溶液后 10 min,其电阻均为 30 KΩ,且其电阻不随浸泡时间的延长而下降(表 4),因此实验中只需在导入前浸泡 10 min 制得含药明胶海绵,在导入时加 20 V 左右的电压,即可达到所需的电流强度,在采用离子导入时,也就不会因为电阻过大,需要较大的电压而导致皮肤的不可逆损伤。

如表 3 所示,处方 II 和 IV 中加入吸附剂,导入实验后所测得的 pH 变化较小,其 pH 改变率仅为 12.20% 和 6.17%,而未加吸附剂的处方 I 和 III 的 pH 值变化率则分别为 36.2% 和 29.4%。所以在处方中加入吸附剂,可以减小阴极导入后由于电解反应而引起的明胶海绵的 pH 显著升高,从而减少对皮肤的刺激性,在临床理疗时可以无需使用衬垫。

根据明胶海绵的外观、强度、吸收 DS 溶液前后的电阻变化、导入药物的透皮速率以及导入后其 pH 值的变化等方面作综合考察,处方 I、II 的制成品较薄,干燥后易卷曲,不易控制其外观;处方 I、III 制成的明胶海绵导入后其 pH 值变化较大,易对皮肤产生刺激性等不良反应;而处方 IV 制成的明胶海绵,从上述各个方面来考查均符合要求,故为较佳处方,适合临床理疗科应用,目前临床试验正在进行中。

参 考 文 献

1. 中华人民共和国卫生部药典委员会编.《中华人民共和国药典》(二部),1995年版,附录 177

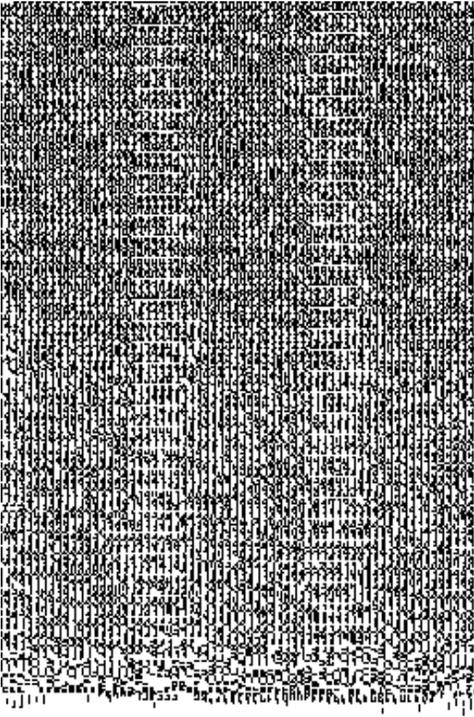


图 4 大量胶原沉积与细胞排列紧密 ($\times 20\ 000$)

3 讨论

Gabbiani^[2] 1973年首先确认肌成纤维细胞。关于它的来源众说纷云,由于该细胞多数存在于纤维收缩性病理组织中,细胞浆内含有可收缩的 α 平滑肌肌动蛋白,故多数学者认为,它是导致病理收缩的主要细胞。在成纤

维细胞三维培养中,我们发现存在肌成纤维细胞,类似于增生性疤痕和疤痕疙瘩组织。

Heta等^[1]的成纤维细胞三维培养物是在塑料培养皿上生长的,虽有肌成纤维细胞,但较少且位于中层,另外作为电镜观察取材也不方便。我们改用Koken公司生产的有可渗透性胶原膜铺底的培养小皿Cellgen进行成纤维细胞的三维培养,电镜发现在培养物底层也有较多的肌成纤维细胞,说明我们所用的这种胶原膜更趋近于生理状态,同样适应于肌成纤维细胞的生长或定居。该培养物不但有多层的组织样结构,而且还有较多的肌成纤维细胞,故我们认为该三维培养可作为研究增生性疤痕和疤痕疙瘩的模型。当然该培养物的组化成份仍有待于进一步揭示。

参 考 文 献

1. Hata R, Senoo H. L-ascorbic acid 2-phosphate stimulates collagen accumulation, cell proliferation and formation of a three-dimensional tissue-like substance by skin fibroblasts. *J Cell Physiol*, 1989, 138: 8
2. Gabbiani G, Ryan GB, Lamelin JP. Human smooth muscle autoantibody. Its identification as antiactin antibody and a study of its binding to "non-muscular" cells. *Am J Pathol*, 1973, 72: 473
(1997年 10月 27日收稿, 1998年 3月 21日修回)

(上接第 58页)

2. 南京药学院药剂学教研组编著《药剂学》. 人民卫生出版社, 1960: 673
3. 刘旭, 潘灏白. 冷冻干燥法制备明胶海绵止血剂. *中国医院药学杂志*, 1990, 10(5): 226
4. 魏雪纹, 赵广云, 王波. 洗必泰阴道海绵剂的研制. *中国*

药学杂志, 1989, 24(5): 289

5. 高建青, 梁文权, 林绍利. 乙醇对双氯芬酸钠经皮离子导入的影响. *中国医药工业杂志*, 1996, 27(10): 453
6. 李新平, 高建青, 梁文权. 月桂氮卓酮对氟脲嘧啶直流电导入的促进作用. *中华理疗杂志*, 1996, 19(3): 144
(1997年 8月 25日收稿, 1998年 3月 4日修回)