

## 冰片和薄荷醇对伊维菌素体外透皮效果的研究

王佳, 孙静静, 陈俊红, 戴鼎震\* (金陵科技学院, 江苏南京 211169)

**摘要** [目的] 筛选出效果最好的促透剂比例。[方法] 试验采用两室扩散池试验装置, 选取鸽子皮肤, 比较 1%~5% 的冰片和薄荷醇对伊维菌素的透皮吸收的量效关系, 计算出 12 h 内累计的透过量 and 渗透系数。[结果] 冰片和薄荷醇对伊维菌素的最佳促透浓度均为 4%。其中, 4% 薄荷醇 12 h 的累积透过量高于 4% 的冰片, 同时 4% 薄荷醇单位时间内稳定透过量高于 4% 冰片。[结论] 体外透皮模拟试验表明薄荷醇的最佳促透比例为 4%。

**关键词** 冰片; 薄荷醇; 促透

中图分类号 S853 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)27-11061-03

### The Influence of Ivermectin by Transdermal after Using Borneol and Menthol

WANG Jia et al (Jingling Institute of Technology, Nanjing, Jiangsu 211169)

**Abstract** [Objective] To screen the best concentration for transdermal enhancers. [Method] Pigeon's skin was cut and a 2-chamber diffusion cell was adopted. Then work out the accumulated permeation and percolation coefficient within 12h through comparing the absorbed dose of ivermectin for borneol of 1%~5% with menthol. [Result] The results showed that the best concentration for borneol and menthol are 4%. The accumulated permeation of menthol of 4% is higher than that of borneol in 12h. The same conclusion could also draw from percolation coefficient. [Conclusion] So, it can be concluded from the test that the best concentration for menthol is 4%.

**Key words** Borneol; Menthol; Penetration

经皮给药是中兽医内病外治的一种方式, 其关键是如何增加药物经皮肤吸收进入体内以达到治病的目的。透皮剂作为一种新型药物制剂, 通过皮肤给药, 减少给药时对动物造成的应激, 同时药物经皮吸收可以避免肝脏的“首过效应”及胃肠道的刺激, 维持半衰期短药物在动物体内的血药浓度, 是一种理想的药物制剂。促透剂是一类能够促进透皮剂中药物吸收的物质, 目前常用的促透剂为氮酮, 但不足之处是价格较高, 且对脂溶性药物的促透效果较差。近年来, 关于中药促透剂的研究越来越多, 冰片和薄荷醇是常用的中药促透剂, 对许多药物都有显著的促透效果<sup>[1-2]</sup>。伊维菌素(Ivermectin)是一种新型的由阿维链霉菌发酵产生的半合成大环内酯抗生素类驱虫药, 由于该药物不溶于水, 临床上大多为注射给药, 对动物造成较大应激。笔者以冰片和薄荷醇作为促透剂, 通过研究 1%~5% 浓度的冰片和薄荷醇对伊维菌素 12 h 的累积透过量和渗透系数, 评价二者的促透效果, 以探讨驱虫透皮剂中最佳的促透剂方案。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验药品及试剂** 冰片, 购自南京天元大药房; 薄荷醇, 购自河南安宁科教仪器有限公司; 伊维菌素原药由江苏欧克药业提供。

**1.2 主要仪器** TP-6 智能透皮实验仪, 购自天津天光光学仪器有限公司; UV-765 紫外分光光度计, 购自上海精密科学仪器有限公司。

**1.3 实验动物** 2 月龄左右的美国白羽落地肉鸽, 购自南京某肉鸽养殖场。

## 1.4 试验方法

### 1.4.1 分析方法的建立。

**1.4.1.1 波长测定。** 取适量伊维菌素, 用无水乙醇配成一定浓度的溶液, 以无水乙醇为空白, 在 200~800 nm 波长范围内扫描得到紫外吸收光谱。结果表明, 伊维菌素最大吸收波长在 245 nm 处, 且在此波长下无水乙醇无吸收值, 因为选择 245 nm 作为伊维菌素含量测定的吸收波长。

**1.4.1.2 标准曲线的建立。** 称取一定量伊维菌素制成贮备液。然后, 分别取贮备液用无水乙醇稀释成 1、10、20、30、40 和 50  $\mu\text{g/ml}$  浓度梯度的伊维菌素溶液, 在紫外分光光度计上测定吸光度。以吸光度为纵坐标(Y), 伊维菌素含量为横坐标(X)进行回归分析, 计算线性回归方程。

**1.4.1.3 精密度试验。** 称取一定量伊维菌素制成贮备液。然后, 分别取贮备液用无水乙醇稀释成 5、10、25 和 50  $\mu\text{g/ml}$  浓度梯度的伊维菌素溶液, 在紫外分光光度计上测定吸光度, 计算日内精密度和日间精密度。

**1.4.2 离体皮肤的制备。** 将鸽子处死后剥去胸腹部表面目测无破损的皮肤, 去除皮下组织, 用生理盐水反复冲洗, 漂洗至洗液无浑浊为止, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用。

**1.4.3 释放液和接受液的制备。** 将伊维菌素配成一定浓度的溶液分别加入不同浓度的促透剂(薄荷醇浓度为 1%、2%、3%、4% 和 5%; 冰片浓度为 1%、2%、3%、4% 和 5%), 作为释放液。接受液为空白溶剂。

**1.4.4 体外透皮试验。** 常温下解冻皮肤, 使用透皮仪进行体外透皮试验, 释放液用量为 2 ml, 接收液为 7 ml, 试验温度为  $(37.0 \pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ , 振速为 150 r/min。在 1、2、4、6、8、10、12 h 分别取 5.0 ml, 同时补加等量的接收液。测定吸光度, 并代入标准曲线中, 计算各个时间点的累积透过量, 并按照以下公式计算累积透透量(Q):  $Q = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$  (1) 式中, Q 为单位时间累积透透量, A 为透皮扩散面积, V 为接受池体积,  $C_n$  为第 n 次取样时接受液的浓度,  $C_i$  为第 i 次取

**基金项目** 江苏省产学研前瞻性项目(BY201114); 南京市科技发展项目(201201026); 南京市科技计划项目(2012ZD006)。

**作者简介** 王佳(1987-), 男, 江苏常州人, 助理研究员, 硕士, 从事中兽医与动物疾病防治, E-mail: dirkwang@126.com。\* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事中兽药药理和中西医结合研究, E-mail: dzdai@163.com。

**收稿日期** 2013-08-12

样时接受液的浓度,  $V_i$  为取样量。以单位时间累积渗透量  $Q$  对时间  $t$  进行线性回归, 所得方程的斜率 ( $K$ ) 为渗透系数 [单位为  $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ], 该系数反映了药物的透皮速率。

**1.4.5 数据统计与分析。**所有试验结果均以  $\bar{x} \pm SD$  表示, 并采用 SPSS20 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

## 2 结果与分析

**2.1 伊维菌素的标准曲线** 测定在  $1 \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$  浓度范围内吸光度, 得到药物浓度与吸光度符合线性回归方程:  $y = 0.0345x + 0.0131$  ( $R^2 = 0.9983$ )。

**2.2 伊维菌素的精密度** 由表 1 可知, 在  $5 \sim 50 \mu\text{g}/\text{ml}$  浓度范围内, 伊维菌素的日内精密度范围为  $1.21\% \sim 1.69\%$ , 日间精密度范围为  $1.39\% \sim 4.92\%$ 。

**2.3 各浓度的薄荷醇和冰片 12 h 累积透过量** 由表 2 可知, 各浓度的薄荷醇和冰片对伊维菌素都有促透效果。在  $1\% \sim 4\%$  的浓度范围内随着薄荷醇浓度的增加, 累积透过量增加,  $4\%$  薄荷醇的促透效果最好,  $12 \text{ h}$  伊维菌素的累积透过量为  $(646.5 \pm 34.91) \mu\text{g}$ ,  $5\%$  的薄荷醇累积量出现下降。冰

表 1 精密度试验 ( $n=5$ )

加样浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$	日内精密度		日间精密度	
	$\bar{x} \pm SD$	RSD//%	$\bar{x} \pm SD$	RSD//%
5	4.85 ± 0.06	1.30	4.98 ± 0.25	4.92
10	9.99 ± 0.17	1.69	9.90 ± 0.25	2.53
25	26.10 ± 0.32	1.21	26.24 ± 0.36	1.39
50	50.67 ± 0.64	1.26	50.75 ± 0.70	1.39

片组的促透效果则没有出现类似量效关系, 其中  $2\%$  冰片的促透效果最低,  $4\%$  冰片的促透效果最好,  $12 \text{ h}$  的累积透过量为  $(508.52 \pm 35.17) \mu\text{g}$ , 其他 3 组的促透效果较为相似, 无显著差异。  $4\%$  薄荷醇的  $12 \text{ h}$  累积透过量高于  $4\%$  冰片, 且差异显著。

**2.4 各浓度促透剂的 12 h 渗透系数** 由表 3 可知, 薄荷醇组的渗透系数在  $1\% \sim 4\%$  的范围内, 随着浓度的增加, 渗透系数增加, 其中  $4\%$  薄荷醇的渗透系数显著高于其他组, 说明在对伊维菌素的渗透速度方面,  $4\%$  薄荷醇最佳。  $4\%$  的冰片的渗透系数最高。

表 2 不同时间伊维菌素的累计透过量

促透剂种类	促透剂浓度 %	时间//h							
		1	2	4	6	8	10	12	
冰片	0	44.05 ± 12.91	59.09 ± 12.93	80.04 ± 12.42	96.92 ± 16.21	132.59 ± 16.31	166.43 ± 9.53	195.00 ± 12.17a	
	1	70.72 ± 3.96	99.66 ± 7.44	145.59 ± 8.18	193.29 ± 10.95	264.03 ± 14.62	341.42 ± 31.53	393.56 ± 22.46e	
	2	44.13 ± 9.64	60.34 ± 13.53	101.69 ± 23.88	151.18 ± 23.10	205.68 ± 27.30	255.78 ± 25.24	302.57 ± 26.88bc	
	3	48.87 ± 15.86	75.04 ± 19.20	119.62 ± 28.40	176.23 ± 30.99	248.00 ± 25.00	297.78 ± 10.88	361.75 ± 25.41de	
	4	80.44 ± 18.20	158.03 ± 19.23	227.62 ± 31.28	318.69 ± 27.01	383.41 ± 20.35	452.33 ± 25.34	508.52 ± 35.17f	
薄荷醇	5	59.86 ± 22.21	108.95 ± 20.39	157.23 ± 27.65	190.51 ± 23.83	249.85 ± 19.25	315.44 ± 32.70	357.60 ± 31.37de	
	1	61.04 ± 2.40	93.54 ± 12.86	125.98 ± 20.28	156.8 ± 26.26	200.18 ± 23.19	234.15 ± 23.65	270.29 ± 14.23b	
	2	59.39 ± 16.56	103.77 ± 25.89	137.54 ± 27.48	180.10 ± 23.90	226.49 ± 17.94	259.63 ± 15.09	289.76 ± 10.71bc	
	3	54.39 ± 2.92	103.98 ± 10.54	149.79 ± 7.00	191.73 ± 19.83	226.02 ± 20.93	284.64 ± 24.16	321.43 ± 16.93cd	
	4	82.36 ± 9.89	135.58 ± 6.14	241.43 ± 17.97	299.92 ± 14.17	410.99 ± 30.76	523.84 ± 43.50	646.50 ± 34.91h	
5	90.82 ± 17.84	161.38 ± 13.57	228.01 ± 18.95	285.36 ± 25.55	373.80 ± 11.73	435.33 ± 32.14	554.58 ± 19.50g		

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

表 3 不同浓度促透剂的渗透系数

促透剂种类	促透剂浓度//%	渗透系数// $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$
空白	0	13.62 ± 0.06a
冰片	1	27.92 ± 6.00de
	2	24.04 ± 3.27bcde
	3	30.67 ± 5.32e
	4	38.01 ± 3.34f
	5	26.29 ± 5.72cde
薄荷醇	1	18.48 ± 1.21ab
	2	20.46 ± 1.17bc
	3	23.22 ± 2.29bcd
	4	49.82 ± 3.73g
	5	39.23 ± 2.88f

注: 同列数据不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

**3.1 冰片和薄荷对药物促透的影响** 笔者选用 2 月龄美国白羽落地王鸽皮肤, 试验温度设定在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , 接近透皮剂实际使用条件, 试验结果可以较准确反映药物在实际应用中的透

皮吸收过程。

《本草纲目》记载冰片具有“通诸窍, 散郁火”之功效, 中医对薄荷醇的描述“最善透窍”, 可见冰片和薄荷醇都具有促进透皮的效果。该试验中各浓度冰片和薄荷醇对伊维菌素的促透效果都显著好于空白组, 其中  $4\%$  冰片的促透效果高出空白组  $161\%$ ,  $4\%$  薄荷醇的促透效果高出空白组  $231\%$ , 促透效果显著 ( $P < 0.05$ )。这也为中医理论提供了佐证。戴鼎震等<sup>[3]</sup>研究了复方蛇床子涂膜剂中冰片和氮酮对蛇床子素经皮渗透的促透作用, 通过高效液相色谱法测定蛇床子素在皮肤和肌肉中的含量并进行比较分析和评价, 研究发现  $5\%$  的冰片促透效果最好。王晖等<sup>[4]</sup>采用离体鼠皮作为屏障采用单用和合用方法比较薄荷醇和氮酮对水杨酸的促透作用, 研究发现薄荷醇对水杨酸的促透效果优于氮酮, 其中  $3\%$  的薄荷醇是水杨酸的最佳促透浓度。该试验中冰片和薄荷醇对伊维菌素促透效果最好的浓度均为  $4\%$ 。模型药物不同, 促透剂的浓度也会不同。该试验中采用的药物屏障为本体动物肉鸽皮肤, 与一般文献中的小鼠、家兔皮肤不同, 禽类皮

肤中不含有汗腺和皮脂腺,所以药物在转运过程中也不存在皮肤附属器官的通道,这也会对促透剂浓度产生影响,其机制可以进一步探讨。

薄荷醇是薄荷的一种重要成分,气味浓郁,有穿透性。《张锡纯医学全书》记载,“薄荷气味近于冰片,最善透窍,其力内至脏腑筋骨,外至腠理皮毛,皆能透达”。该试验结果也佐证了传统中兽医关于这一中医学观点。

**3.2 冰片、薄荷醇与渗透积累量的量效关系** 郭源源<sup>[5]</sup>研究表明,薄荷醇一般在 1%~5% 的浓度范围对药物的促透效果成量效关系,促透积累量会随着浓度的增加而增加,在达到一定浓度后,累积透过量则不会继续增加,但是此界限浓度会随着药物的不同而不同。该试验中薄荷醇对伊维菌素的促透效果与该研究类似,在 1%~4% 的浓度范围中薄荷醇对伊维菌素的促透作用随着薄荷醇浓度的增加而增加,4% 则是浓度的界限,5% 的薄荷醇对伊维菌素的促透效果低于 4%。冰片对伊维菌素的促透效果并没有此量效关系,但是 1%、4% 和 5% 浓度组高于其他 2 个浓度组,说明伊维菌素的促透效果与浓度存在一定的关系,其机理有待进一步研究。

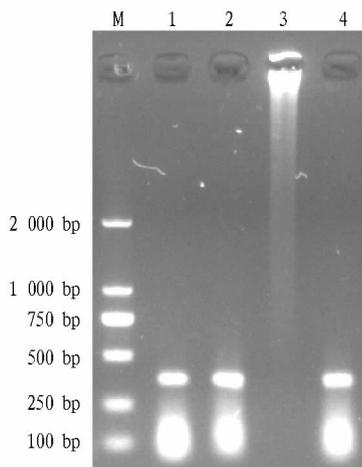
薄荷醇能够对多种药物成分具有促透作用。祁静<sup>[6]</sup>将 2% 薄荷醇作为巴布剂中促透剂研究了其对双氯芬酸钾的促透作用,研究发现 12 h 的双氯芬酸钾的累积透过量相对于空白组增加了 2 倍左右。朱建平<sup>[7]</sup>研究薄荷醇对酮康唑的促

透作用,结果发现酮康唑的最佳促透剂为 3% 薄荷醇,3% 薄荷醇可使酮康唑 24 h 透皮速率增加 216%。据报道,薄荷醇是促透效果最佳的中药促透剂<sup>[8]</sup>。王晖等<sup>[9]</sup>研究薄荷醇和冰片对双氯灭痛的经皮透过作用,发现 3% 薄荷醇 48 h 的累积透过量高于 3% 冰片。该试验中 4% 薄荷醇 12 h 的累积透过量高于 4% 的冰片,渗透系数同时也说明 4% 薄荷醇单位时间内稳定透过量高于 4% 冰片。体外透皮模拟试验表明,4% 薄荷醇为最佳促透比例。

## 参考文献

- [1] 王璐,何伟,李勇. 薄荷醇促透皮吸收作用的研究进展[J]. 食品与药品, 2007,9(6):44-46.
- [2] 付丽红,徐建国. 中药透皮吸收促进剂的研究应用[J]. 新疆医学,2003,33(4):77-80.
- [3] 戴鼎盛,杜改梅,王晶,等. 氮酮和冰片对蛇床子素的促进透皮效果比较[J]. 金陵科技学院学报,2008,24(3):90-93.
- [4] 王晖,许卫铭,王宗锐. 薄荷醇和氮酮体外透皮吸收的促进作用[J]. 中国临床药理学和治疗学杂志,1996,1(1):26-28.
- [5] 郭源源. 薄荷醇的促透皮吸收作用及其对角质形成细胞的影响[D]. 广州:广东医学院,2007:11.
- [6] 祁静. 中药萜烯类对双氯芬酸钾巴布剂的皮肤促透实验研究[J]. 实用药物与临床,2005,8(S1):24-25.
- [7] 朱建平,杨燕,王宗锐,等. 薄荷醇促进酮康唑透皮吸收的研究[J]. 华西药学杂志,2000,15(1):36-37.
- [8] 齐红艺,李莉,吴纯洁. 薄荷醇促透作用的研究进展[J]. 时珍国医国药,2006,17(9):1776-1778.
- [9] 王晖,许卫铭,王宗锐. 薄荷醇与冰片的促透作用[J]. 中草药,1997,28(2):93-95.

(上接第 11052 页)



注:M. Marker DL2000;1. 病料接种鸡胚尿囊液 RT-PCR 结果;2. 鸭病料 RT-PCR 结果;3. 阴性鸡胚尿囊液对照;4. 阳性鸡胚尿囊液对照。

图 1 RT-PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果

(2) 鸭坦布苏病毒感染种鸭和蛋鸭时主要表现为产蛋量大幅下降<sup>[2-3]</sup>,剖检病变可见卵巢发育不良,卵泡变性、充血、出血;而感染雏鸭时剖检病变不明显,无神经症状,仅表现为跛行,诊断需进行病毒分离或 RT-PCR 检测,为诊断增加了一定的难度。

(3) 在鸭坦布苏病毒病的防治上,目前还没有预防的疫苗和有效的治疗药物,控制此病主要依靠综合性防控措施<sup>[9]</sup>,加强饲养管理,做好其他疫苗的免疫和卫生消毒工作,隔离发病鸭群,配合使用抗病毒中草药和广谱抗菌素,提高机体的抵抗力和预防继发感染,从而达到促进病鸭康复的目的。

## 参考文献

- [1] 胡奇林,孙敏华. 鸭坦布苏病毒病的研究进展[J]. 养禽与禽病防治, 2012(10):6-8.
- [2] 滕巧泱,颜丕照,张旭,等. 一种新的黄病毒导致蛋鸭产蛋下降及死亡[J]. 中国动物传染病学报,2010,18(6):1-4.
- [3] 曹贞贞,张存,黄瑜,等. 鸭出血性卵巢炎的初步研究[J]. 中国兽医杂志,2010,46(12):3-6.
- [4] 万春和,施少华,程龙飞,等. 一种引引起种(蛋)鸭产蛋骤降新病毒的分离与初步鉴定[J]. 福建农业学报,2010,25(6):663-666.
- [5] YAN P, ZHAO Y, ZHANG X, et al. An infectious disease of ducks caused by a newly emerged Tembusu virus strain in mainland China[J]. Virology, 2011,417(1):1-8.
- [6] TANG Y, DIAO Y, GAO X, et al. Analysis of the Complete Genome of Tembusu Virus, a Flavivirus Isolated from Ducks in China[J]. Virology, 2011,14(9):1-8.
- [7] 范根成,刘东,栾栋祖,等. 一种新发鸭病的流行病学调查报告[J]. 中国动物检疫,2011,28(1):68-69.
- [8] 殷震,刘景华. 动物病毒学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,1997:204-209,343-353.
- [9] 赵瑞宏,侯宏艳,张丹俊,等. 鸭黄病毒 AH01 株的分离与鉴定[J]. 中国兽医科学,2012,42(5):733-737.