

· 药物动力学研究 ·

温通膏中补骨脂素、异补骨脂素皮肤在体微透析方法的建立

钟碧莲¹, 文桂卿², 黄晓冰¹, 钟兰英², 钟倪俊², 吴雪茹¹, 王利胜²(1. 广州中医药大学第三附属医院, 广东 广州 510378; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 建立温通膏中补骨脂素、异补骨脂素的皮肤在体微透析方法。**方法** 以补骨脂素、异补骨脂素回收率为指标, 采用增量法考察不同灌流液流速对补骨脂素、异补骨脂素探针体外回收率的影响, 确定补骨脂素、异补骨脂素灌流液的流速和取样间隔; 利用增量法和减量法观察灌流液流速、浓度对探针体外回收率和损失率的影响, 研究反透析法是否可应用于探针体内回收率的计算; 将探针植入大鼠皮下, 通过减量法考察探针在 12 h 内体内回收率的稳定性。**结果** 补骨脂素、异补骨脂素探针体外回收率随着灌流液流速的增加, 呈现下降的趋势, 结合实际操作的时间和采样体积, 选择灌流液流速为 $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 每次采样间隔为 20 min; 灌流液流速保持一定时, 不同浓度的补骨脂素、异补骨脂素下探针体外回收率变化不大, 且探针体外回收率与损失率近似相等, 表明反透析法可以应用于探针体内回收率的计算; 探针植入皮下在 12 h 内回收率保持相对稳定。**结论** 所建立的补骨脂素、异补骨脂素的皮肤微透析方法可用于温通膏给药后大鼠皮肤药动学研究。

关键词: 温通膏; 补骨脂素; 异补骨脂素; 皮肤微透析; 探针回收率; 皮肤药动学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)08-1173-05

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.08.015

Establishment of *in Vivo* Skin Microdialysis Method for Psoralen and Isopsoralen in Wentong Ointment

ZHONG Bilian¹, WEN Guiqing², HUANG Xiaobing¹, ZHONG Lanying², ZHONG Nijun², WU Xueru¹, WANG Lisheng² (1. The Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510378 Guangdong, China; 2. College of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To establish an *in vivo* skin microdialysis method for psoralen and isopsoralen in Wentong ointment. **Methods** Using the recovery rates(R) of psoralen and isopsoralen as indicators, the incremental method was used to investigate the effects of different perfusion fluid flow rates on the *in vivo* R of psoralen and isopsoralen probes, combined with specific experimental operations and relevant factors to determine the flow rate and sampling interval of psoralen and isopsoralen perfusate. The increment method and decrement method were used to explore the influence of perfusate flow rate and concentration on the recovery rate(R) and loss rate(L) of the probe *in vitro* to study whether the anti-dialysis method can be applied to the calculation of R in the probe. The probe was implanted beneath the skin of the rat, and the stability of the R in the body of the probe within 12 h was investigated by the decrement method. **Results** The *in vitro* R of psoralen and isopsoralen probes showed a downward trend with the increase of the flow rate of the perfusion fluid. Combined with the actual operation time and sampling volume, the perfusion fluid flow rate was determined to be $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ and the sampling interval was determined to be 20 min. When the flow rate of the perfusate remained constant, the external R of the probe under different concentrations of psoralen and isopsoralen did not change much, and the external R and L of the probe were approximately equal, indicating that the reverse dialysis method can be used for calculation of R in the probe. R remained relatively stable

收稿日期: 2021-01-15

作者简介: 钟碧莲, 女, 主管中药师, 研究方向: 医院中药学与中药制剂。Email: 554504542@qq.com。通信作者: 王利胜, 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 药物制剂新技术与新剂型。Email: wlis68@126.com。

基金项目: 广东省中医药局科研项目(20211212; 20201169; 20181076); 2015 年度中医药强省专项资金医院中药制剂建设项目(粤中医办函[2015]102 号)。

within 12 hours after the probe was implanted under the skin. **Conclusion** The established skin microdialysis method of psoralen and isopsoralen in *Wentong* ointment can be used to study the skin pharmacokinetics of rats after administration.

Keywords: *Wentong* ointment; psoralen; isopsoralen; skin microdialysis; probe recovery rate; skin pharmacokinetics

微透析技术是一种能够将灌流取样与透析技术结合起来,用于监测细胞外液中内源性 & 外源性成分的活体取样技术^[1]。微透析具有动态观察、定量分析、采样量小、组织损伤轻等特点,尤其在皮肤药动学研究中微透析技术能够较大幅度地保护皮肤完整性,可多位点采样而广泛用于评价经皮制剂的生物利用度^[2-3]。温通膏为广州中医药大学第三附属医院名老中医刘庆思教授的经验方,由补骨脂、川乌、续断、丁香等组成,1994 年已经批准注册为医院制剂,在我院临床应用已有 20 余年。处方重用补骨脂以驱寒逐湿、温经通络,常用于治疗肾虚腰痛、风湿肿痛、跌打损伤以及骨折创伤中后期的肿胀疼痛等,临床疗效较为显著^[4-5]。

补骨脂素、异补骨脂素是补骨脂中的主要活性成分。补骨脂素含药血清能够促进大鼠骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞,促进骨骼再生与重建,调节机体内雌激素受体,对骨质疏松症有防治作用^[6-9];异补骨脂素通过促进成骨细胞的增殖分化以治疗骨质疏松^[10-11];可以通过调控钙离子浓度发挥抗肿瘤作用^[12];补骨脂素与异补骨脂素既可缓解棕榈酸引起的肝细胞损伤,还可抑制核因子- κ B 的活性,从而减轻炎症反应^[13]。本研究建立补骨脂素、异补骨脂素皮肤在体微透析方法,通过考察灌流液流速、浓度等因素与探针体外回收率的关系,以及探针体内稳定性,以明确皮肤微透析实验中探针回收率的测定方法和微透析技术的可行性。

1 材料与仪器

1.1 药物和试剂 补骨脂素对照品(批号:CHB180521,纯度 $\geq 98\%$)、异补骨脂素对照品(批号:CHB180325,纯度 $\geq 98\%$),成都克洛玛生物科技有限公司;乙腈、甲醇,色谱纯,美国 MREDA 公司;乙醇(分析纯)、氯化钠,天津市大茂化学试剂厂;乌拉坦,国药集团化学试剂有限公司;超纯水(自制)。

1.2 实验动物 SPF 级 SD 大鼠,雄性,体质量 200~220 g,动物许可证号:SCXK(粤)2018-0034,广州中医药大学实验动物中心提供。

1.3 仪器 超高效液相色谱仪(包括 LC-30AD 输液

泵,SPD-M30A 检测器)、AUW120D 十万分之一电子分析天平(日本岛津公司);微透析系统:MD-1000B 流速控制器、MD-0100 灌注器、MD-1001 灌注器推进泵(美国 BAS 公司)及 CMA20 同心圆探针(截留相对分子质量 20 000,瑞典 CMA 公司);KQ5200DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法与结果

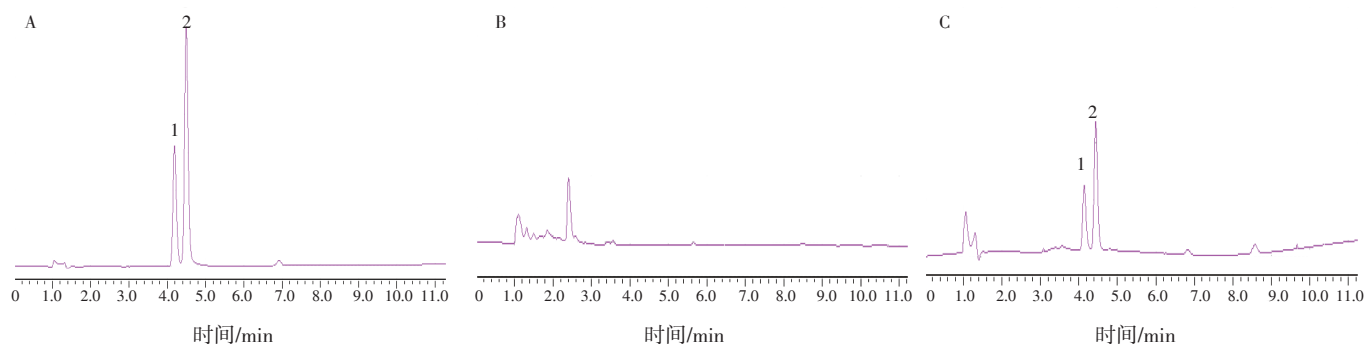
2.1 补骨脂素、异补骨脂素含量测定方法的建立

2.1.1 色谱条件与系统适应性 色谱柱为 Phenomenex Kinetex C₁₈ 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.6 μ m);流动相为乙腈-水(45:55);检测波长:254 nm;流速:0.167 0 mL $\cdot$ min⁻¹;柱温为室温;进样量:1 μ L;理论板数按补骨脂素峰计算应不低于 3 000。

2.1.2 对照品溶液的配制 分别精密称取补骨脂素 5.44 mg、异补骨脂素 8.98 mg,置于 100 mL 容量瓶中,用 30%乙醇生理氯化钠溶液溶解并稀释至刻度,配成含补骨脂素 54.4 μ g $\cdot$ mL⁻¹、异补骨脂素 89.8 μ g $\cdot$ mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.1.3 专属性实验 用 30%乙醇生理氯化钠溶液作为灌流液灌流微透析探针,所得透析液为空白透析液;取混合对照品溶液作为灌流液灌流微透析探针,所得透析液为体外透析液样品。取空白透析液、混合对照品溶液及体外透析液样品,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析。结果见图 1。补骨脂素、异补骨脂素的峰形较好,透析液中的其他成分对补骨脂素、异补骨脂素的测定无干扰。

2.1.4 线性关系考察 取混合对照品溶液,精密吸取 2、1、0.5、0.4、0.2、0.1、0.01 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 30%乙醇生理氯化钠溶液稀释定容,配成浓度为 10.88、5.44、2.72、2.176、1.088、0.544、0.054 4 μ g $\cdot$ mL⁻¹的补骨脂素对照品溶液和浓度为 17.96、8.98、4.49、3.592、1.796、0.898、0.089 8 μ g $\cdot$ mL⁻¹的异补骨脂素对照品溶液。按照“2.1.1”项下的色谱条件,过 0.22 μ m 微孔滤膜后进样分析,进样量为 1 μ L,每个样品重复进样 2 次。以平均峰面积(Y)为纵坐标,浓度为横坐标(X)获得对应的线性回归方程。补骨脂素: $Y=174\,444X+6\,111.9$, $r=0.999\,7$;异



注: A. 混合对照品溶液; B. 空白透析液; C. 体外透析液样品。1. 补骨脂素; 2. 异补骨脂素

图 1 补骨脂素和异补骨脂素的超高效液相色谱图

Figure 1 UPLC diagram of Psoralen and isopsoralen

补骨脂素: $Y=224\ 798X+789.12$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明补骨脂素在 $0.054\ 4\sim10.88\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内和异补骨脂素在 $0.089\ 8\sim17.96\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 分别精密吸取浓度为 2.72 、 $4.49\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的补骨脂素和异补骨脂素混合对照品溶液 $1\ \mu\text{L}$ 进样, 连续测定 6 次, 得补骨脂素与异补骨脂素峰面积的 RSD 分别为 1.07% 和 2.57% , 表明仪器的精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取微透析样品, 分别于 1、2、4、8、12、24 h 时间点进样测定, 计算得补骨脂素和异补骨脂素峰面积的 RSD 分别为 2.80% 和 1.87% , 表明补骨脂素与异补骨脂素在 24 h 内稳定。

2.2 微透析探针回收率和损失率的测定 增量法: 当探针外药物透过探针膜进入探针内, 并使得空白灌流液药物浓度升高, 这个过程叫做回收。回收率(R)= $C_{d1}/C_{p1}\times100\%$, 其中 C_{d1} 代表透析液中药物的浓度, C_{p1} 代表探针周围药物浓度。

减量法: 当探针内药物透过探针膜流出探针外, 并使得含药灌流液药物浓度降低, 这个过程叫做损失, 也叫传递或释放。损失率(L)= $(C_{p2}-C_{d2})/C_{p2}\times100\%$, 其中 C_{d2} 代表透析液中药物的浓度, C_{p2} 代表灌流液中药物的浓度。

2.3 灌流液流速与取样间隔的确定 将微透析探针浸入盛有“2.1.4”项下混合对照品溶液的烧瓶中(补骨脂素、异补骨脂素的浓度分别为 5.44 、 $8.98\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 瓶上覆盖保鲜膜, 利用 30% 乙醇生理氯化钠溶液在不同流速(0.5 、 1 、 2 、 3 、 $4\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)下灌注探针。控制温度在 $37\ ^\circ\text{C}$ 左右, 开泵运行 1 h 以上开始收集透析液。每个流速收集 3 个样品, 每个样品 $20\ \mu\text{L}$, 按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 并利用“2.2”项下公式计算探针体外回收率。

再将微透析微透析探针浸入盛有 30% 乙醇生理氯化钠溶液的烧瓶中, 瓶上覆盖保鲜膜, 利用“2.1.4”项下混合对照品溶液(补骨脂素、异补骨脂素的浓度分别为 5.44 、 $8.98\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)在不同流速(0.5 、 1 、 2 、 3 、 $4\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)下灌注探针。控制温度在 $37\ ^\circ\text{C}$ 左右, 开泵运行 1 h 以上开始收集透析液, 每个流速收集 3 个样品, 每个样品 $20\ \mu\text{L}$ 。按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 并利用“2.2”项下公式计算探针体外损失率。结果见图 2。

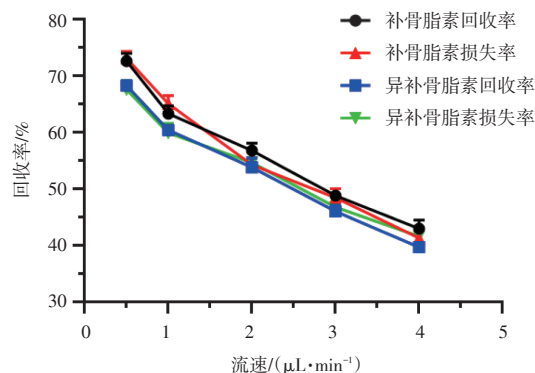


图 2 不同灌流液速度对探针体外回收率和损失率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Figure 2 The effect of different perfusion speeds on the *in vitro* R and L of the probe($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

结果表明, 随着流速的增加, 补骨脂素、异补骨脂素的探针体外回收率都逐渐降低, 当流速为 $0.5\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 时探针体外回收率最大, 但取样间隔长, 降低了实验的效率。随着动物麻醉时间的延长可能会使透析液中的药物浓度误差增大, 影响实验结果^[14]。综合考虑探针体外回收率和取样间隔, 选择 $1\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的灌流速度, 采样间隔为 $20\ \text{min}$ 。此时补骨脂素和异补骨脂素的探针体外回收率分别为 $(63.30\pm1.34)\%$ 和 $(60.38\pm0.41)\%$ 。在同一流速下补骨脂素、

异补骨脂素各自的探针体外回收率与损失率大致相等,表明反透析法可以应用于探针体内回收率的计算。

2.4 灌流液浓度对探针体外回收率的影响 将微透析探针依次置于盛有“2.1.4”项下不同浓度的混合对照品溶液的烧瓶中(补骨脂素、异补骨脂素浓度分别为 10.88、17.96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 5.44、8.98 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2.72、4.49 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2.176、3.592 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),瓶上覆盖保鲜膜,以 30%乙醇生理氯化钠溶液为灌注液,以 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速进行灌注,控制温度在 37 $^{\circ}\text{C}$ 左右,开泵运行 1 h 以上开始收集透析液。每个浓度收集 3 个样品,每个样品 20 μL ,按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定,并利用“2.2”项下

公式计算探针体外回收率。

再将微透析探针置于盛有 30%乙醇生理氯化钠溶液的烧瓶中,瓶上覆盖保鲜膜,依次以“2.1.4”项下不同浓度的混合对照品溶液为灌注液(补骨脂素、异补骨脂素浓度分别为 10.88、17.96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 5.44、8.98 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2.72、4.49 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 2.176、3.592 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),以 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速进行灌注,控制温度在 37 $^{\circ}\text{C}$ 左右,开泵运行 1 h 以上开始收集透析液。每个浓度收集 3 个样品,每个样品 20 μL ,按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定,并利用“2.2”项下公式计算探针体外损失率。结果见图 3。

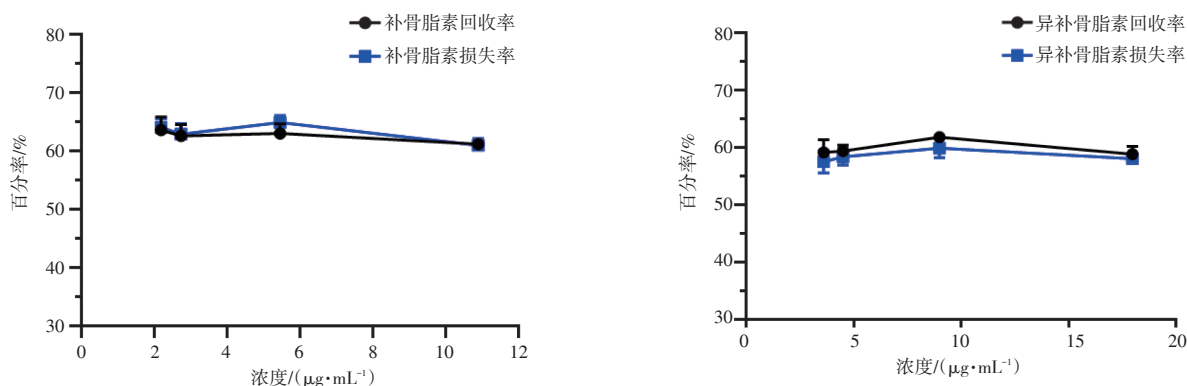


图3 不同灌流液浓度对探针体外回收率和损失率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 3 The effect of different perfusion speeds on the *in vitro* R and L of the probe($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

结果表明,在一定范围内,不同药物浓度下补骨脂素、异补骨脂素各自的探针体外回收率基本一致,说明药物浓度对探针体外回收率无明显影响。并且从图中可以发现同一浓度下补骨脂素、异补骨脂素各自的探针体外回收率与损失率大致相等,进一步表明反透析法可以应用于探针体内回收率的计算。

2.5 微透析探针体内回收率稳定性考察

2.5.1 探针前处理 探针在使用前应浸于含 1 000 U $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的肝素钠溶液中^[15],并以 30%乙醇生理氯化钠溶液进行灌注,使得探针膜内外肝素钠浓度饱和,防止探针植入皮肤后探针表面发生凝血而使实验结果产生较大误差。

2.5.2 动物处理与探针植入 取 SD 大鼠,用 25%乌拉坦(5 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,剃除大鼠腹部皮毛,剃除时注意不要损伤大鼠皮肤角质层。然后用 8% Na_2S 进行彻底脱毛,脱毛结束后将大鼠仰卧位固定于加热垫上,用记号笔在腹部皮肤的探针植入点进行标记。用穿刺针头套上撕裂管平行植入皮下后,将穿刺针头抽回而让撕裂管留在皮下,再将探针小心地插入撕裂管内,把撕裂管沿两端向外撕开使探针膜管留在皮下(尽量保持植入的深度一致)。最后用组织胶固定探针植入点防止大鼠摆动损坏探

针。整个过程用 30%乙醇生理氯化钠溶液进行灌注,以维持探针膜的湿润状态。

2.5.3 探针在体内回收率的稳定性考察 探针植入皮下后,以 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速灌注 30%乙醇生理氯化钠溶液平衡 1 h,然后换成混合对照品溶液(补骨脂素、异补骨脂素的浓度分别为 2.72、4.49 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),以 1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 灌注探针,平衡 1 h 以上开始收集样品。每隔 20 min 收集 1 次样品,按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定,并利用“2.2”项下公式计算各个时间点的探针体内损失率,结合回收率与损失率的关系,考察探针在 12 h 内体内回收率的稳定性。结果见图 4。

结果表明,补骨脂素、异补骨脂素探针体内回收率在 12 h 内保持稳定,测得补骨脂素、异补骨脂素的探针体内回收率分别为(51.99 $\pm$ 3.60)%、(54.25 $\pm$ 3.01)%,表明在体内微透析过程中,一段时间内任意一个时间点的探针体内回收率可以代表整个过程中的探针体内回收率。再用回收率对测得的透析液药物浓度进行校正,便可得到探针外细胞外液中药物的大致浓度,表明所建立的微透析方法可以用于补骨脂素、异补骨脂素的皮肤在体微透析的研究。

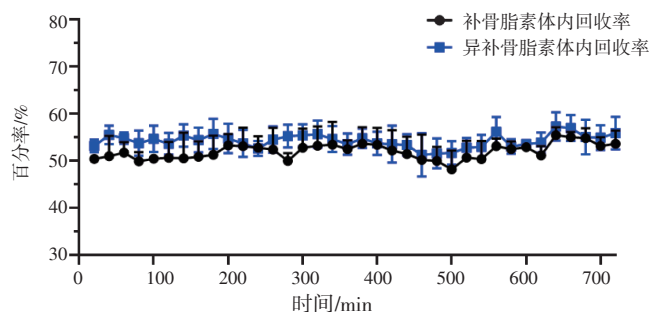


图 4 补骨脂素、异补骨脂素探针体内回收率的稳定性($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 4 Stability of R for psoralen and isopsoralen probes in vivo($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

本实验首次建立了温通膏中补骨脂素、异补骨脂素皮肤在体微透析的方法,考察了灌流液流速、浓度对于探针体外回收率的影响,发现探针体外回收率随着灌流液流速的增加而降低,结合实际实验需要,确定灌流液流速为 $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,取样间隔为 20 min。此时补骨脂素、异补骨脂素探针体外回收率分别为 $(63.30 \pm 1.34)\%$ 、 $(60.38 \pm 0.41)\%$ 。同时,灌流液药物浓度在一定范围内,探针体外回收率变化不大,表明补骨脂素、异补骨脂素微透析方法的可行性。相同条件下,探针体外回收率和损失率基本相等,肯定了反透析法可用于补骨脂素、异补骨脂素在体微透析实验中回收率的测定,从而确定了补骨脂素、异补骨脂素皮肤在体微透析的方法。

CMA20 同心圆探针在微透析实验中多用于血液、关节腔液^[16-17],为了提高 CMA20 探针的适用性和准确性,实验前要注意灌流液的过膜处理,探针植入前需浸泡于肝素钠溶液中并以空白灌流液灌注,尽可能地避免探针发生堵塞。同时,在探针植入的过程中要避免损坏大鼠皮肤的角质层和探针顶端,探针植入后要平衡一段时间后再采样以减少探针周围组织液与血管反应。从本实验结果来看,CMA20 探针体外回收率与对应的损失率基本相等,体内 12 h 内探针回收率也保持稳定,这说明 CMA20 探针用于皮肤在体微透析是可行的。

实验中空白灌流液的选择要综合考虑灌流液的成分、渗透压、离子强度等相关因素,选择的灌流液与组织中细胞外液的相关因素尽可能相近,以减少灌流液对动物体内环境的影响,提高实验结果的准确性。补骨脂素、异补骨脂素是亲脂性成分,为了提高灌流液与药物的亲和力,本研究据有关报道^[17-18]选择了 30%乙醇生理氯化钠溶液作为空白灌流液。实际实验中由于探针周围细胞外液的药物浓度(C_{pi})

无法直接测得,只能通过先测定探针体内损失率,并利用损失率与回收率(R)的关系^[19],求得 C_{pi} 。 $C_{pi} = C_{di}/R$,其中 C_{di} 表示透析液中补骨脂素、异补骨脂素的浓度。本研究证实反透析法可对补骨脂素、异补骨脂素在体微透析实验中回收率进行校正,进而得到探针周围细胞外液的药物浓度(C_{pi}),以探究温通膏经皮给药后补骨脂素、异补骨脂素在皮肤给药后的局部药动学过程。

参考文献:

- [1] 孟英姣,余健姝,郑华珠,等. 芒柄花素、芍药苷血液和脑在体微透析方法的建立[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(4): 369-373.
- [2] 周开,廖丰蕴,王利胜,等. 微透析采样进行蛇床子软膏的皮肤局部药动学研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(12): 21-24, 38.
- [3] 张艳,李周,巴文强,等. 微透析法联用HPLC法研究复方雷公藤微乳凝胶皮肤药动学[J]. 今日药学, 2015, 25(9): 620-623.
- [4] 黄晓冰,吴雪茹,吴涵,等. 新工艺温通膏主要药效学研究[J]. 药学实践杂志, 2018, 36(6): 507-511.
- [5] 郭雪霞,吴雪茹,黄晓冰,等. 温通膏治疗风寒湿证膝关节骨性关节炎的临床观察[J]. 中药材, 2017, 40(10): 2466-2468.
- [6] 韩宇,郭晏华,于艳. 补骨脂素介导Hedgehog信号通路促进骨髓 MSC成骨分化作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(6): 1133-1137.
- [7] 周姗姗,鄢素琪,熊小丽,等. 补骨脂素和异补骨脂素下调NF- κ B活性改善LO2细胞脂代谢紊乱的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(10): 2118-2123.
- [8] 李虎斌,宋忠臣. 补骨脂素的植物雌激素样作用研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2019, 39(2): 203-206.
- [9] AN J, YANG H, ZHANG Q, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: the effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation[J]. Life Sci, 2016, 15, 147: 46-58.
- [10] GE L, CUI Y, CHENG K, et al. Isopsoralen enhanced osteogenesis by targeting AhR/ER α [J]. Molecules, 2018, 11, 23(10): 2600.
- [11] 柴丽娟,樊娜,王虹,等. 补骨脂单体成分对体外培养成骨细胞和破骨细胞分化的影响[J]. 天津中医药, 2015, 32(5): 299-303.
- [12] 袁小芬,孙亚梅,张之勇,等. 异补骨脂素对HL-60细胞增殖和凋亡影响及其机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(21): 1675-1679, 1687.
- [13] 周姗姗,鄢素琪,熊小丽,等. 补骨脂素和异补骨脂素下调NF- κ B活性改善LO2细胞脂代谢紊乱的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(10): 2118-2123.
- [14] 李周,王利胜,巴文强,等. 青藤碱、雷公藤甲素皮肤和血液在体微透析方法的建立[J]. 中草药, 2015, 46(14): 2076-2081.
- [15] 巴文强. 双藤凝胶剂的制备、质量评价及皮肤药动学研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
- [16] 刘加瑶,贺怡,田金洁,等. 四逆汤活性成分在血液和心脏部位微透析方法的建立[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(9): 1086-1091.
- [17] 管咏梅,刘佳,余雅婷,等. 基于HPLC-MS/MS检测雷公藤甲素在体微透析方法的建立[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3576-3581.
- [18] 杜清,罗晶,管咏梅,等. 基于微透析技术的雷公藤白芍微乳凝胶皮肤和血液药物动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3569-3575.
- [19] ZHOU W, HE S, YANG Y, et al. Formulation, characterization and clinical evaluation of propranolol hydrochloride gel for transdermal treatment of superficial infantile hemangioma[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2015, 41(7): 1109-1119.

(编辑: 梁进权)