

## 促渗剂对光甘草定体外经皮渗透效果的影响

王艳, 王丽峰, 席亚斌, 张佩雯, 贺浩珂, 李青, 张思培, 芦婕, 张艳军  
(天津中医药大学 中药学院, 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193)

**[摘要]** 目的:考察促渗剂对光甘草定体外经皮渗透性能的影响,为该化合物经皮给药系统的开发提供参考。方法:采用 HPLC 测定光甘草定含量,流动相乙腈-水-冰乙酸(55:44:1),检测波长 282 nm。选取小鼠背部皮肤,通过 Franz 垂直扩散池考察光甘草定的透皮性能,考察氮酮、冰片、丙二醇对光甘草定乳剂透皮吸收的影响。结果:光甘草定的透皮吸收率较低,促渗剂能有效使其透过皮肤。不同促渗剂对光甘草定促透作用顺序为 5% 氮酮组 > 5% 丙二醇组 > 5% 冰片组 > 单体组,稳态渗透速率分别为 4.938, 3.041, 2.950, 2.583  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ , 滞后时间依次为 0.056, 0.180, 0.059, 0.167 h。结论:不同促渗剂均能促进光甘草定的经皮渗透效果,以氮酮为最佳。

**[关键词]** 光甘草定; 光果甘草; 促渗剂; 透皮吸收试验; 稳态渗透速率; 滞后时间

**[中图分类号]** R283.6; R942; R944.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0014-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2015060014

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150127.1146.005.html>

**[网络出版时间]** 2015-01-27 11:46

**Influence of Permeation Enhancers on *in vitro* Transdermal Permeation of Glabridin** WANG Yan, WANG Li-feng, XI Ya-bin, ZHANG Pei-wen, HE Hao-ke, LI Qing, ZHANG Si-pei, LU Jie, ZHANG Yan-jun (Tianjin Key Laboratory of Chemistry and Analysis of Traditional Chinese Medicine (TCM), College of TCM, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effects of different permeation enhancer on *in vitro* transdermal permeation of glabridin through rat's skin and provide a reference for development of transdermal drug delivery system of this compound. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of glabridin with mobile phase of acetonitrile-water-glacial acetic acid (55:44:1) and wavelength at 282 nm. The back skin of rats was used, Franz vertical diffusion cell was adopted to investigate transdermal performance of glabridin, effects of azone, borneol and propylene glycol on transdermal permeation of glabridin were observed. **Result:** Glabridin was difficult to penetrate the skin by itself, but it could penetrate the skin effectively by adding permeation enhancer. Effect of enhancers on glabridin was ranked as follows: 5% azone > 5% propylene glycol > 5% borneol > monomer, permeation rates of steady state were 4.938, 3.041, 2.950 and 2.583  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ , the lag time were 0.056, 0.180, 0.059 and 0.167 h, respectively. **Conclusion:** Each penetration enhancers can promote transdermal effect of glabridin, and azone is the best one.

**[Key words]** glabridin; *Glycyrrhiza glabra*; penetration enhancers; transdermal absorption test; permeation rate of steady state; lag time

光甘草定是光果甘草中特有的脂溶性异黄酮类化合物,具有显著的抗炎和美白效果<sup>[1]</sup>,是公认最有效的天然美白剂之一。其既能抑制酪氨酸酶的活性,又能抑制多巴色素互变和二羟基吡啶羧酸氧化酶的活性,是一种快速、高效、绿色的美白祛斑化妆

品添加剂,具有与过氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)相似的清除氧自由基能力和与维生素 E 相近的抗氧自由基能力,还具有抗菌消炎、抗衰老、祛斑等作用<sup>[2-3]</sup>。光甘草定已被大量应用在化妆品行业,亦可作为治疗色素沉着性皮肤病候选药

**[收稿日期]** 20140618(005)

**[基金项目]** 天津市高等学校科技发展基金项目(20110206);天津市西青区科技型中小企业发展专项(XQKH2013-011);天津中医药大学大学生科技创新基金项目(CXJJ2013C14)

**[第一作者]** 王艳, 硕士, 讲师, 从事中药新药和中药化妆品研究, Tel: 022-59596235, E-mail: paozhijiaoxue@126.com

物<sup>[4]</sup>。经皮给药系统是在皮肤表面给药,具有起效快、效果好、不良作用小等优点,但会受到皮肤角质层的屏障作用和药物本身物理化学性质(相对分子质量、熔点、极性)的影响<sup>[5]</sup>。目前有关光甘草定的透皮吸收研究国内外鲜有报道,本实验以现代经皮给药理论为根据,选择光甘草定为透皮吸收模型,考察其透皮特性和促进剂对光甘草定透皮吸收的影响,为该化合物在美白、祛斑产品中的应用提供参考。

## 1 材料

LC-20 AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),FA 1004 型 1/1 万电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),TB-P6 型改良 Franz 透皮扩散试验仪(上海谱凯科技贸易有限公司)。光甘草定粗提物(质量分数 36%,自制),光甘草定对照品(纯度 > 98%,天津一方科技有限公司,批号 AZ71G001),硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、羟乙基纤维素(天津市光复精细化工研究所),水为娃哈哈纯净水,乙腈、冰乙酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

昆明种清洁级小鼠,体重(20 ± 3) g,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2009-0004。将小鼠处死,刮去鼠毛,冲洗干净,剪下皮肤,小心剥离脂肪,选取完整的皮肤,用生理盐水冲洗干净,备用<sup>[6]</sup>。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Hypersil ODS 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-水-冰乙酸(55:44:1),检测波长 282 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL,柱温 30 °C。

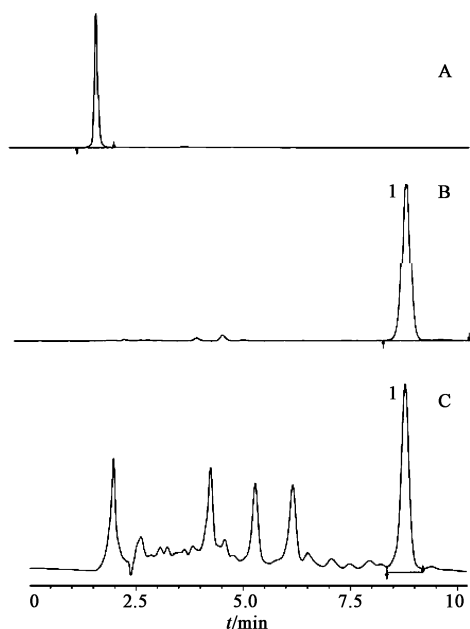
**2.2 标准曲线的制备** 精密称取光甘草定对照品 2.22 mg,置于 50 mL 量瓶中,用流动相溶解并定容至刻度,得 44.4 mg·L<sup>-1</sup> 母液。精密吸取该母液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加流动相定容至刻度线,摇匀,得系列对照品溶液。按 2.1 项下色谱条件进样,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y = 119\,675.16X - 14.49$  ( $r = 0.999\,9$ ),线性范围 4.44 ~ 44.4 ng。

**2.3 精密度考察** 取对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别于 24 h 内连续测定 6 次,计算光甘草定峰面积的日内精密度 0.1%;连续 6 d 测定,每天 1 次,计算日间精密度 1.6%。

**2.4 稳定性试验** 取同一透皮接收液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h 按 2.1 项下色谱条件测定,计算光甘草定含量的 RSD 0.9%,表明供试品溶液在 24 h

内稳定性良好。

**2.5 专属性试验** 将涂布不含光甘草定的空白乳剂的鼠皮作为空白组,涂布含光甘草定乳剂的鼠皮作为试验组,分别固定在 Franz 扩散池上,直接与接收室中的 30% 乙醇-生理盐水接收液接触,分别在 12 h 取接收液样品,按 2.1 项下色谱条件,记录色谱图,表面该方法无干扰,见图 1。



A. 空白样品; B. 对照品; C. 供试品; 1. 光甘草定

图 1 光甘草定乳剂透皮吸收液 HPLC

Fig. 1 HPLC of transdermal absorption solution of glabridin emulsions

**2.6 体外透皮吸收试验<sup>[6]</sup>** 将处理好的鼠皮角质层向上固定于 Franz 扩散池上,在接收池中加入 30% 乙醇-生理盐水,置于恒温水浴的智能透皮试验仪中,设定温度(37.0 ± 0.5) °C,转速 200 r·min<sup>-1</sup>。平衡 1 h,排尽接收池内的气泡后给药。扩散池供给面积上均匀涂上光甘草定乳剂 1 g,每组平行 3 次,分别在 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 h 时吸取接收液 1 mL,并补入同温同体积的接收液,吸取的接收液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1 项下色谱条件进样分析。

**2.7 不同促渗剂对透皮吸收的影响** 固定光甘草定提取物、单硬脂酸甘油酯、十八醇、万能乳化剂、二甲基硅油、挥发性硅油(D5)、辛酸癸酸三甘油酯(GTTC)、道达尔 G40 及 1,3-丁二醇质量分别为 0.1, 0.2, 0.3, 0.25, 0.6, 0.2, 0.2, 0.2, 0.5 g,单体乳剂不加促进剂,氮酮组、冰片组及丙二醇组分别加入相应促进剂 0.5 g,分别加水至 10 g,得不同处方的光甘草定乳剂。按 2.6 项下方法进行透皮吸收试

验,以单位面积累积透过量( $Q$ )为纵坐标,时间( $t$ )为横坐标,绘制光甘草定单位面积累积透过量-时间曲线,见图 2,结果显示 12 h 内光甘草定的累积渗透量为氮酮组 > 冰片组 > 丙二醇组 > 单体组,表明氮酮可提高光甘草定的透皮吸收率。对曲线中直线部分进行线性回归,稳态渗透速率( $F$ )和药物经皮渗透的滞后时间( $T$ )分别为该直线的斜率及其在横轴上的截距。

$$Q = (C_n \times V_r + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_i) / A$$

$$F = (C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V \times 100\%) / Q_{\text{总}}$$

式中  $Q_{\text{总}}$  为供给池总质量浓度,  $Q$  为单位面积累积透过量,  $C_n$  为第  $n$  个时间点吸取液的质量浓度,  $C_i$  为第  $n-i$  个时间点吸取液的质量浓度,  $V_r$  为接收液总体积,  $V_i$  为每次吸取的液体体积,  $A$  为接收池的体积。

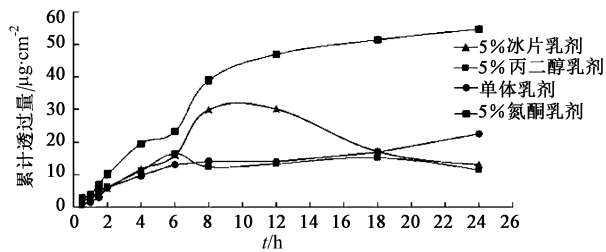


图 2 不同促渗剂光甘草定乳剂的体外渗透曲线  
Fig. 2 *In vitro* penetration curves of glabridin emulsions using various penetration enhancers

**2.8 动态方程的拟合** 利用 Higuchi 动力学方程拟合不同乳剂的  $Q$  和  $t$  关系,计算  $F$  和  $T$ ,结果见表 1,表明 5% 冰片组的体外渗透最接近 Higuchi 方程,说明此时光甘草定乳剂能以稳定速率释放;5% 氮酮组的  $F$  最大,约为不添加促渗剂单体组的 4 倍,说明此时光甘草定渗透速度最快;单体组乳剂的  $F$  最小。提示任一促渗剂对光甘草定的促渗作用均符合一级动力学方程。

表 1 不同促渗剂光甘草定乳剂的回归方程及相关参数  
Table 1 Transdermal dynamic equations and related permeability parameters of glabridin emulsions using different penetration enhancers

组别	回归方程	回归系数	稳态渗透速率 $/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	滞后时间 $/\text{h}$
单体	$Q = 2.5827t - 0.4306$	0.9506	2.583	0.167
5% 氮酮	$Q = 4.9378t - 0.2778$	0.9929	4.938	0.056
5% 冰片	$Q = 2.9501t - 0.1743$	0.9978	2.950	0.059
5% 丙二醇	$Q = 3.0409t - 0.5485$	0.9687	3.041	0.180

### 3 讨论

光甘草定为中等极性的异黄酮类化合物,水溶性较差。分别选择 15% 乙醇-生理盐水,30% 乙醇-生理盐水,50% 乙醇-生理盐水,生理盐水, pH 6.8 磷酸缓冲溶液(PBS),15% 乙醇-PBS 和 30% 乙醇-PBS 为接受液,结果发现 50% 乙醇-生理盐水透皮效果最好,其次为 30% 乙醇-生理盐水,15% 乙醇-生理盐水和 30% 乙醇-PBS,其他各组均不透过,但试验过程中发现 50% 乙醇-生理盐水的反渗效果明显,不利于操作。将不同溶解介质的光甘草定溶液置于  $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  水浴锅中,隔水加热 24 h,观察不同溶液的颜色变化及分层现象等,结果除了生理盐水组合 PBS 组颜色有淡黄色加深和少许浑浊外,其他均无明显变化,故选择 30% 乙醇-生理盐水为接收液。

光甘草定作为美白原料在化妆品中的添加较为随意,生产厂家往往根据生产成本的因素决定光甘草定用量,缺乏理论依据。光甘草定对酪氨酸酶具有较高的抑制效果,其半抑制率  $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [7],综合生产成本和美白效果考虑,需对光甘草定的透皮吸收行为进行系统研究,为该化合物在真皮层和皮下组织等部位的透皮情况研究提供参考。

#### [参考文献]

[1] Yokota T, Nishio H, Kubota Y, et al. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation [J]. *Pigment Cell Res*, 1998, 11 (6): 355-361.

[2] Fuhrman B, Volkova N, Kaplan M, et al. Antiatherosclerotic effects of licorice extract supplementation on hypercholesterolemic patients: increased resistance of LDL to atherogenic modifications, reduced plasma lipid levels, and decreased systolic blood pressure [J]. *Nutrition*, 2002, 18 (3): 268-273.

[3] 木合布力·阿布力孜, 热娜·卡斯木, 马淑燕, 等. 甘草中光甘草定的提取和抗氧化活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19(4): 675-677, 682.

[4] Kim Y J, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62 (15): 1707-1723.

[5] 努尔拉江·帕合尔丁, 吐鲁洪·卡地尔, 沈腾, 等. 白花蛇舌草中熊果酸的透皮吸收试验 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(12): 49-52.

[6] 李西林, 栾晶, 王慧, 等. 高乌甲素微乳体外透皮吸收 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(10): 52-54.

[7] 骆从艳, 慕春海, 王园姬, 等. 光甘草定的制备及其对蘑菇酪氨酸酶的抑制作用 [J]. *石河子大学学报: 自然科学版*, 2010, 28(4): 478-482.

[责任编辑 刘德文]