

· 药剂与炮制 ·

## 制川乌-白芍配伍对芍药苷经皮吸收的影响

吴璐<sup>1</sup>, 罗永明<sup>1</sup>, 梁秉文<sup>2</sup>, 黎晓丽<sup>1</sup>, 杨华生<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 解放军第454医院, 南京 210002)

**[摘要]** 目的:考察制川乌-白芍配伍后对白芍中芍药苷经皮吸收的影响,从经皮转运角度探讨该药对协同增效的配伍机制。方法:采用改良 Franz 扩散池,以离体小鼠皮为透皮屏障,通过 HPLC 测定接受液中芍药苷的含量,流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),检测波长 230 nm,计算白芍、制川乌-白芍、白芍-氮酮、白芍-油酸、白芍-丙二醇 5 组接受液中芍药苷的透皮速率、渗透系数及时滞。结果:5 组接受液中芍药苷的透皮速率分别为 0.818, 2.532, 3.974, 0.621, 0.430  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ; 表观渗透系数分别为  $2.538 \times 10^{-8}$ ,  $7.856 \times 10^{-8}$ ,  $12.328 \times 10^{-8}$ ,  $1.928 \times 10^{-8}$ ,  $1.335 \times 10^{-8} \text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ; 时滞分别为 6.168, 0.071, 10.462, 1.487, 11.827 h。结论:制川乌-白芍配伍可促进白芍中有效成分芍药苷的经皮吸收。

**[关键词]** 配伍; 经皮吸收; 白芍; 制川乌; 芍药苷

**[中图分类号]** R283.6; R284.1; R289.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0001-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130001

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150512.1112.001.html>

**[网络出版时间]** 2015-05-12 11:12

## Effect of Compatibility of *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta* on Transdermal Permeation Role of Paeoniflorin

WU Lu<sup>1</sup>, LUO Yong-ming<sup>1</sup>, LIANG Bing-wen<sup>2</sup>, LI Xiao-li<sup>1</sup>, YANG Hua-sheng<sup>1\*</sup>  
(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. The 454 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effect of compatibility of *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta* on transdermal permeation role of paeoniflorin. **Method:** Modified Franz diffusion cell was adopted with excised mice skin as transdermal barrier, through *in vitro* percutaneous absorption test, the content of paeoniflorin was determined by HPLC, then cumulative amount, permeation rate and lag time were calculated in order to obtain penetration curve equation. **Result:** Steady-state permeation rates of paeoniflorin according to groups of *Paeoniae Radix Alba*, *Paeoniae Radix Alba-Aconiti Radix Cocta*, *Paeoniae Radix Alba* + 1% azone, *Paeoniae Radix Alba* + 1% oleic acid and *Paeoniae Radix Alba* + 1% propylene glycol were 0.818, 2.532, 3.974, 0.621, 0.430  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ ; apparent permeability coefficients of them were  $2.538 \times 10^{-8}$ ,  $7.856 \times 10^{-8}$ ,  $12.328 \times 10^{-8}$ ,  $1.928 \times 10^{-8}$ ,  $1.335 \times 10^{-8} \text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ; lag times were 6.168, 0.071, 10.462, 1.487, 11.827 h, respectively. **Conclusion:** Compatibility of *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta* is benefit to transdermal permeation of paeoniflorin.

**[Key words]** compatibility; transdermal absorption; *Paeoniae Radix Alba*; *Aconiti Radix Cocta*; paeoniflorin

制川乌-白芍药对最早见于张仲景创制的乌头汤<sup>[1]</sup>。制川乌主要含有双酯型生物碱及单酯型生

物碱,白芍主要含有芍药苷等成分。临床上二者常配伍应用,具有抗炎、增强镇痛、免疫调节等作用,常

**[收稿日期]** 20141009(013)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360647)

**[第一作者]** 吴璐, 硕士, 讲师, 从事中药新剂型研究, Tel:0791-87118802, E-mail:1033147985@qq.com

**[通讯作者]** \* 杨华生, 博士, 副教授, 从事中药新剂型研究与制剂关键技术研究, Tel:0791-87118645, E-mail:yanghuasheng456@126.com

用于治疗类风湿性关节炎、腰椎间盘突出、坐骨神经痛、膝关节积液等<sup>[2]</sup>,是中医治疗风湿痹证的常用传统药对,《中医方剂大辞典》记载有制川乌-白芍配伍的方剂达 208 首之多<sup>[3-4]</sup>。目前,制川乌-白芍配伍增效机制的研究主要从体外、体内 2 个方面进行,体外从化学成分溶出量探讨增效的物质基础,体内多采用口服等非外用给药途径研究配伍对药效的影响<sup>[5-6]</sup>。研究已证实经皮给药等中医外治法是治疗疼痛、炎症等风湿痹证最常用、最有效的给药方式之一。本实验采用改良 Franz 扩散池法,从现代经皮渗透动力学角度探讨白芍-制川乌配伍协同增效的配伍机制,为诠释传统外用中药配伍的合理性提供参考。

### 1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), YB-P6 型智能透皮试验仪(天津药典标准仪器厂), BS 110S 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。制川乌(江油恒源药业集团有限公司,产地四川)、白芍(亳州市长生中药饮片有限公司,产地安徽)经江西中医药大学付小梅副教授鉴定分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 母根的炮制加工品和毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根;白芍提取物(以芍药苷计 263.49 mg·g<sup>-1</sup>,以芍药总苷计 506.7 mg·g<sup>-1</sup>),制川乌提取物(以单酯型生物碱计 23.90 mg·g<sup>-1</sup>,以双酯型生物碱计 10.15 mg·g<sup>-1</sup>)均为自制,芍药苷、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110736-201337, 111795-201102, 111794-201102, 111796-201002, 110799-201106, 110798-201307, 101720-201111),乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

清洁级小鼠,体重 18~22 g,由江西中医学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(赣)2011-0001。

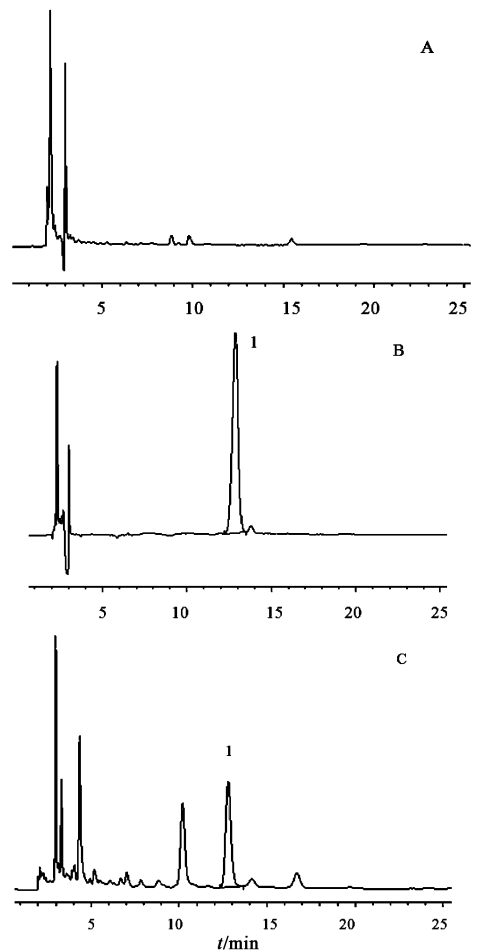
### 2 方法与结果

#### 2.1 芍药苷的含量测定

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成 62.72 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取透皮接收液适量,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.1.3 色谱条件** Kromasil 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),检测波长 230 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25 ℃。理论塔板数按芍药苷计算不低于 2 000,见图 1。



A. 空白透皮液;B. 对照品;C. 供试品;1. 芍药苷

图 1 制川乌-白芍药对透皮接收液 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of transdermal receiving fluid of couplet medicines with *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta*

**2.1.4 线性关系考察** 精密量取芍药苷对照品溶液 0.05,0.1,0.2,0.5,1,2,4,10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取各溶液 10 μL 按 2.1.3 项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 1.120X + 1.817$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 3.136~627.2 ng。

**2.1.5 最低检测限考察** 精密吸取芍药苷对照品 1 mL 置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,按 2.1.3 项下条件测定,逐步减少进样量,至色谱图中芍药苷峰高为噪音的 3 倍(信噪比  $S/N \geq 3$ ),结果最低检测限 0.625 ng。

**2.1.6 精密度试验** 精密吸取 6.272 mg·L<sup>-1</sup>芍药苷对照品溶液按 2.1.3 项下条件测定连续进样 6 次,每次 10 μL,结果峰面积的 RSD 0.4%,表明仪器精密度良好。

**2.1.7 重复性试验** 平行制备 6 份供试品溶液,分

别按 2.1.3 项下条件进样, 计算芍药苷峰面积的 RSD 1.3%, 说明该方法重复性良好。

**2.1.8 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 h 按 2.1.3 项下条件测定, 计算芍药苷峰面积的 RSD 0.5%, 表明供试品溶液在 20 h 内稳定性良好。

**2.1.9 加样回收率试验** 精密量取 6 份已知芍药苷含量的供试品, 分别置于 10 mL 量瓶中, 按 1:1 加入芍药苷对照品, 混匀, 用接收液定容, 平行进行 6 次试验, 按 2.1.3 项下条件测定, 计算平均回收率 97.91%, RSD 0.5%。

**2.2 离体透皮吸收试验** 制川乌-白芍常见配伍比例有 1:1, 1:2, 2:1, 2:3, 其中 1:1 配伍占比 > 59.96%, 故选择制川乌-白芍(1:1)<sup>[7]</sup>, 按浸膏得率配成制川乌-白芍配伍组溶液。取清洁级小鼠, 处死后用电动剃须刀剃毛, 剥离腹部皮肤, 仔细剔除皮下脂肪和粘连物, -20℃ 保存, 使用前自然解冻, 皮肤在 30 d 内用完。试验共设计 5 组, 分别为白芍组(称取白芍提取物适量, 加水配成芍药苷质量浓度 8.594 g·L<sup>-1</sup> 的溶液)、制川乌-白芍组(芍药苷质量浓度同白芍组, 以单酯型生物碱和双酯型生物碱分别计为 651.688, 276.726 mg·L<sup>-1</sup>)、制川乌-氮酮组(芍药苷质量浓度同白芍组, 氮酮质量分数 1%)、制川乌-油酸组(芍药苷质量浓度同白芍组, 油酸质量分数 1%)、制川乌-丙二醇组(芍药苷质量浓度同白芍组, 丙二醇质量分数 1%)。

采用智能透皮试验仪, 水浴温度(37±0.5)℃, 搅拌速度 200 r·min<sup>-1</sup>, 有效透过面积 1.76 cm<sup>2</sup>, 接收池体积 15 mL, 接受液为生理盐水。将皮肤平整铺于供给池和接收池中间, 表皮层面向供给池, 真皮层面向接收池。在供给池、接收池分别加入供给液及接受液, 分别于 2, 5, 10, 24, 48 h 时从接收池取出全部接受液(同时补加同温的新鲜接收液), 按 2.1.3 项下方法测定, 按  $Q = (C_n \cdot V_n + \sum C_i \cdot V_i) / A$  计算单位面积累计透过量(Q)。以 Q 对 t 作曲线, 曲线中直线部分进行回归, 直线斜率即为药物的稳态渗透速率, 式中 C<sub>n</sub> 为第 n 个取样点接受池药物的浓度, C<sub>i</sub> 是第 i 个取样点测得药物浓度, V<sub>n</sub> 和 V<sub>i</sub> 分别为接收池体积和取样体积, A 为扩散池的扩散面积(1.76 cm<sup>2</sup>)。按公式  $P_{app} = (dQ/dt) / C_0$  计算表观渗透系数(P<sub>app</sub>), 式中 C<sub>0</sub> 为扩散池中药物的浓度。利用 t 检验进行差异显著性比较, 见图 2 和表 1。

结果显示制川乌配伍白芍后, 芍药苷透皮速率

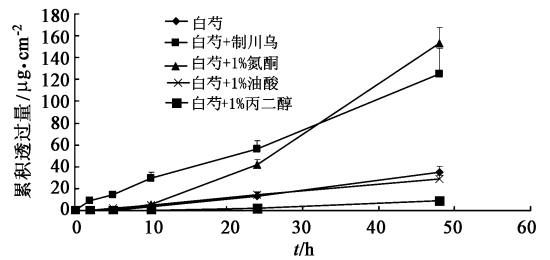


图 2 制川乌-白芍配伍对芍药苷透皮效果的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 2 Effect of compatibility of *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta* on *in vitro* penetration of paeoniflorin ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

表 1 白芍-制川乌配伍对芍药苷透皮参数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effect of compatibility of *Paeoniae Radix Alba* and *Aconiti Radix Cocta* on permeability parameters of paeoniflorin ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	稳态渗透速率 / $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$	时滞 /h	$P_{app} \times 10^{-8}$ / $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$
白芍	0.818 ± 0.106	6.168 ± 2.129	2.538 ± 0.328
白芍-制川乌	2.532 ± 0.479	0.071 ± 0.123	7.856 ± 1.486
白芍+1%氮酮	3.974 ± 0.383	10.462 ± 0.196	12.328 ± 1.189
白芍+1%油酸	0.621 ± 0.065	1.487 ± 0.516	1.928 ± 0.201
白芍+1%丙二醇	0.430 ± 0.051	11.827 ± 1.230	1.335 ± 0.159

增大了 3.10 倍; 时滞明显缩短, 表明药物通过角质层、活性表皮、真皮的速度明显加快, 有利于药物快速到达靶组织、器官而发挥速效作用。白芍水溶液中加入氮酮后, 芍药苷透皮速率增大了 4.86 倍, 表明氮酮可增加药物的透皮速率, 但时滞显著延长。氮酮由亲脂链和环状内酰胺基团组成, 其促透机制为内酰胺基团与角质层的脂质双分子层的极性端相互作用, 而烷基链插入了脂质链中亲脂性更强的区域, 使其致密性改变, 增加脂质的流动性, 从而改善皮肤角质层的通透性, 降低药物扩散阻力, 提高透皮速率<sup>[8]</sup>。氮酮还能增加皮肤角质层含水量, 使角质层细胞膨胀, 药物在该层形成储库, 促进水溶性物质经水性通道渗透吸收, 但时滞相对延长。

白芍水溶液中加入油酸后, 芍药苷透皮速率变化不明显, 但时滞明显缩短。油酸与皮肤中脂肪酸有相似的结构, 当油酸分子插入角质层的脂质双分子层疏水结构时, 可形成细小的易于渗透的流动性通道, 降低了扩散阻力, 亲水性药物就可从油酸作用的薄弱部位渗入皮肤。另一方面, 在药物水溶液加入油酸可降低溶剂的极性, 通过提高脂溶性药物的溶解度而提高透皮吸收速率<sup>[9]</sup>; 但油酸对芍药苷的促进作用并不明显, 一方面可能是因为油酸的质量分数低而不能降低角质层的屏障作用, 另一方面可

能是因为芍药苷本身为水溶性强的药物,故油酸不能通过提高药物的溶解度而使其透皮速率增加。

### 3 讨论

制川乌中双酯型生物碱遇热不稳定,回流提取收率很低,本文采用95%乙醇冷浸提取,经大孔树脂纯化后,低温烘干乙醇得制川乌提取物。制川乌-白芍配伍促进了白芍中芍药苷的吸收,这种促进作用可能与乌头类生物碱和芍药苷结合形成的离子对有关。理论上分析,芍药苷的理化性质不利于经皮吸收<sup>[10]</sup>。本文也证实单独使用白芍提取物作为给药溶液时,芍药苷的渗透速率较低,但当白芍与制川乌配伍使用或联用氮酮时,透皮速率均显著增加,说明制川乌-氮酮对芍药苷的作用在经皮吸收方面存在一定相似性。

芍药苷属于双环单萜的结构类型的化合物,呈弱酸性<sup>[11]</sup>。乌头类生物碱属于二萜类生物碱,含有叔胺N原子,呈碱性。从酸碱性、荷电性分析,制川乌-白芍配伍存在形成离子对的物质基础。离子对为带有相反电荷的2个离子依靠库仑引力结合成的一对离子,故白芍、制川乌水溶液混合时可能会形成离子对。离子对在电导率、动力学、渗透性等方面的行为犹如一个整体,形成离子对一方面可能屏蔽化合物的极性基团,使整个离子对趋于电中性使得极性变小脂溶性变大;另一方面离子对的形成可能改变极性基团分布的平衡,因而提高极性和水溶性。由于芍药苷为亲水性药物,通过提高芍药苷的溶解度来提高透皮速率并不是制川乌配伍白芍促进芍药苷吸收的主要因素,同时,如果是由于形成离子对而提高芍药苷的极性,其结果应该是角质层对芍药苷的屏障作用更强,透皮速率降低,时滞延长,但试验结果恰恰相反。故推测白芍配伍制川乌后透皮速率增加的机制应为形成离子对后芍药苷的极性下降,脂溶性增加,角质层对其屏障作用下降。这与氮酮

作用皮肤后降低角质层对水溶性药物的屏障作用相似。

### [参考文献]

- [1] 李克光. 金匱要略译释[M]. 上海:上海科学技术出版社,2010:119.
- [2] 王绍海. 乌头汤加味治疗类风湿性关节炎[J]. 天津中医学院学报,2000,19(1):26-27.
- [3] 李晋奇,彭成. 制川乌配伍白芍的增效作用及其作用机理[J]. 华西药学杂志,2007,22(2):144-148.
- [4] 钱邦平. 加味乌头汤内服配合牵引治疗腰椎间盘突出症[J]. 新疆中医药,2000,18(2):25.
- [5] 余成浩,彭成,余葱葱,等. 制川乌配伍白芍不同配伍比例对酯型生物碱含量的影响[J]. 成都中医药大学学报,2007,30(4):43-45.
- [6] 何伟,王宁,秦林,等. 制川乌与白芍配伍前后乌头碱和芍药苷煎出量的测定[J]. 中国药学杂志,2002,37(9):680-683.
- [7] 彭成,李晋奇. 制川乌配伍白芍的增效作用及其作用机理[J]. 华西药学杂志,2007,22(2):144-148.
- [8] Pilgram G S K, Gooris G S, Koerten H K, et al. The influence of two azones and sebaceous lipids on the lateral organization of lipids isolated from human stratum corneum [J]. BBA-Biomembranes, 2001, 1511(2): 244-254.
- [9] Tanojo H, Geest A B, Bouwstra J A, et al. *In vitro* human skin barrier perturbation by oleic acid: thermal analysis and freeze fracture electron microscopy studies [J]. Thermochim Acta, 1997, 293(1): 77-85.
- [10] 李东芬,尹蓉莉,吕懿平,等. 芍药苷油水分分配系数的测定及pH对其的影响[J]. 中药与临床,2011,2(4): 21-23.
- [11] 谷满仓,钱亚芳,吕圭源. 白芍的化学成分及质量控制方法研究进展[J]. 科技通报,2006,22(3): 338-340.

[责任编辑 刘德文]