

# 红景天苷磷脂复合物的体外透皮试验

薛海萍<sup>1</sup>, 高婷婷<sup>1</sup>, 杨骏<sup>1,2</sup>, 张彤<sup>1\*</sup>

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海市卢湾区香山中医医院, 上海 200020)

**[摘要]** 目的: 考察红景天苷磷脂复合物的体外透皮特性, 为改善红景天苷的皮肤透过性能提供参考。方法: 以离体昆明种小鼠皮肤作渗透屏障, 采用改良直立式 Franz 扩散池法进行体外透皮特性研究。利用 HPLC 测定红景天苷含量, 流动相乙腈-水-磷酸(15:85:0.05), 检测波长 275 nm。结果: 红景天苷磷脂复合物和红景天苷醇溶液组的 8 h 累积渗透量分别为  $(14.8 \pm 0.42)$ ,  $(3.01 \pm 0.41) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 红景天苷磷脂复合物组的增透系数是红景天苷醇溶液组的 52 倍, 给药 8 h 后在小鼠离体皮肤中的滞留量分别为  $0.95, 0.02 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。结论: 红景天苷磷脂复合物溶液能明显提高红景天苷在小鼠皮肤中的滞留量和经皮透过量。

**[关键词]** 红景天苷; 磷脂复合物; 体外透皮试验; 皮肤滞留量

**[中图分类号]** R283.6; R945; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0009-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090009

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160314.1612.022.html>

**[网络出版时间]** 2016-03-14 16:12

## *In Vitro* Transdermal Permeation of Salidroside Phospholipid Complex

XUE Hai-ping<sup>1</sup>, GAO Ting-ting<sup>1</sup>, YANG Jun<sup>1,2</sup>, ZHANG Tong<sup>1\*</sup>

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shanghai 201203, China;  
2. Shanghai Xiangshan Hospital of TCM, Shanghai 200020, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate *in vitro* transdermal permeability of salidroside phospholipid complex. **Method:** Taking isolated mice skin as permeability barrier, *in vitro* permeation test was performed by modified Franz diffusion pool. HPLC was adopted to determine the content of salidroside with mobile phase of acetonitrile-water-phosphoric acid (15:85:0.05) and detection wavelength at 275 nm. **Result:** Cumulative permeation amounts of salidroside phospholipid complex and salidroside alcohol solution in 8 h were  $(14.8 \pm 0.42) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$  and  $(3.01 \pm 0.41) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , retention of salidroside in isolated mice skin were  $0.95 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$  and  $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , enhancement permeation coefficient of salidroside phospholipid complex was 52 times the amount of salidroside alcohol solution. **Conclusion:** Ability of permeation is strengthened after salidroside being formed into phospholipid complex.

**[Key words]** salidroside; phospholipid complex; *in vitro* penetration test; skin retention

红景天苷为红景天药材中水溶性有效成分, 具有抗缺氧、抗衰老、抗微波辐射等作用<sup>[1]</sup>。研究表明红景天苷可保护皮肤, 对皮肤成纤维细胞紫外光辐射损伤有保护功能<sup>[2]</sup>; 红景天苷对紫外线诱导的人角质细胞氧化损伤有修护作用, 对人皮肤黑色素

瘤也有一定抑制作用<sup>[3,4]</sup>。红景天苷具有很强的抗氧化作用<sup>[5]</sup>, 对黄褐斑等色素沉着性皮肤疾病及皮肤衰老有一定作用。说明红景天苷在皮肤疾病治疗方面有一定的应用前景。红景天苷作为含酚羟基的酚类化合物, 亲水性强, 亲脂性弱, 在体内吸收较差,

**[收稿日期]** 20150727(007)

**[基金项目]** 上海市教委预算内教育教学项目(2013JW24); 上海高校教师产学研计划项目(N140239)

**[第一作者]** 薛海萍, 实验师, 硕士, 从事经皮给药系统研究, Tel:021-50323018, E-mail:xuehaiping198410@163.com

**[通讯作者]** \* 张彤, 教授, 博士, 从事中药制药与中药分析技术研究, Tel:021-51322318, E-mail:zhangtdmj@yahoo.com.cn

皮肤成为一道难以通透的屏障,使该成分不易透过皮肤角质层或滞留于皮肤发挥药效。

磷脂复合物系指在非质子传递体系溶剂中,药物与磷脂以一定配比关系结合而形成的复合物。磷脂广泛分布于自然界且无毒副作用,分子较简单且能增强药物活性,使活性成分在较低剂量下发挥效用。另外,磷脂复合物局部用药时,释放出的活性成分从真皮层到血液循环的转运过程较慢,因而可减轻药物本身的不良反应<sup>[6]</sup>。药物的磷脂复合物能改变原型药物的理化性质,增强药物的药理作用及疗效,延长作用时间,提高生物利用度<sup>[6]</sup>。本实验以离体昆明种小鼠皮肤作为渗透屏障,采用改良直立式 Franz 扩散池法进行红景天苷磷脂复合物的体外经皮渗透性研究,探讨该复合物的经皮渗透性能及皮肤滞留行为。

## 1 材料

SK5200H 型高频超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司),1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),CP225D 型电子天平(德国赛多利斯公司),2-16K 型冷冻离心机(德国 Sigma 公司),TT-6 型透皮扩散仪(天津正通科技有限公司),JB50-D 型增力搅拌机(上海标本模型厂),DC-12H 型氮吹仪(上海安普科学仪器公司)。红景天苷原料药(纯度 $\geq 98\%$ ,南京泽朗医药科技有限公司,批号 ZL20120506YY),红景天苷对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,中国食品药品检定研究院,批号 110818-201206),生理盐水(注射级,上海长征富民药业有限公司),水为自制蒸馏水,其他试剂均为分析纯。清洁级昆明种小鼠,雄性,体重 12~14 g,合格证号 SCXK(沪)2003-0003,由上海中医药大学实验动物中心提供。

## 2 方法与结果

**2.1 离体昆明种小鼠皮肤处理** 取昆明种小鼠,乙醚吸入麻醉后,用电动剃毛刀小心剃除腹部毛发,直至毛发 $< 2$  mm,脱颈椎处死,迅速剥离腹部皮肤,小心剔除皮下脂肪及黏连物,用生理盐水反复冲洗干净,立即使用。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称取红景天苷对照品 10.01 mg,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇定容,得贮备液。精密量取该贮备液适量,加甲醇稀释,得质量浓度分别为 5, 10, 50, 100, 250, 500  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.2.2 标准样品和质控样品溶液** 分别向空白接收介质(水,每份 400  $\mu\text{L}$ )中加入相应浓度的红景天

苷对照品溶液 20  $\mu\text{L}$ ,涡旋 3 min,得质量浓度分别为 0.25, 0.50, 2.50, 5.00, 12.50, 25.00  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准样品。将红景天苷质量浓度为 0.5, 5.0, 25.0  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  对照品溶液作为质控(QC)样品。

**2.2.3 供试品溶液** 精密量取红景天苷磷脂复合物 5 mg 置于 10 mL 量瓶中,加乙腈-水-磷酸(15:85:0.05)2 mL,超声 10 min,放冷至室温,加乙腈-水-磷酸(15:85:0.05)定容,即得。

**2.2.4 红景天苷醇溶液** 精密称量红景天苷,用 80% 乙醇配制含红景天苷 1.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液。

**2.2.5 红景天苷磷脂复合物溶液** 精密称取红景天苷磷脂复合物适量,用 80% 乙醇制成 1.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (按红景天苷计)的溶液,即得。

**2.3 皮肤样品的处理** 分别向皮肤滞留量试验样品(0.6 mL/份)加甲醇 2 mL,涡旋 60 s,离心(1 万  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 10 min,下同),取上清液 1.2 mL,  $\text{N}_2$  吹干,精密加入乙腈-水-磷酸(15:85:0.05)1.2 mL 复溶,涡旋 60 s,4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 2.4 小鼠皮肤透过量 and 滞留量的 HPLC 分析

**2.4.1 色谱条件** Ultimate XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-水-磷酸(15:85:0.05),流速 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,柱温 35  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 20  $\mu\text{L}$ ,检测波长 275 nm。

**2.4.2 皮肤透过量方法学考察** 按 2.4.1 项下色谱条件操作,结果显示空白接收液在红景天苷出峰处无杂质峰干扰,说明皮肤中的内源性物质不干扰红景天苷的测定,专属性较好。经方法学验证,红景天苷质量浓度在 1.00~250  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与峰面积呈良好线性关系,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐,得回归方程  $Y = 2.515X - 2.687$  ( $r = 0.9995$ )。低、中、高质量浓度(0.5, 5, 25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) QC 样品的日内和日间精密密度均 $< 3.0\%$ ,提取回收率 90%~100%,符合生物样品测定的要求。

**2.4.3 皮肤滞留量方法学考察** 按 2.4.1 项下色谱条件操作,空白皮肤匀浆液在红景天苷出峰处无杂质峰干扰,说明皮肤中的内源性物质不干扰红景天苷的测定,专属性较好。经方法学验证,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐,得回归方程  $Y = 12.858X - 5.514$  ( $r = 0.9995$ ),线性范围 0.25~25.25  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。低、中、高质量浓度(0.5, 5, 25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) QC 样品的日内和日间精密密度均 $< 3.0\%$ ,提取回收率 85%~100%,符合生物样品测定的要求。

**2.5 体外透皮试验** 采用改良立式 Franz 透皮扩散池(有效给药面积约 0.95  $\text{cm}^2$ ,接收池体积约

5 mL), 将昆明种小鼠腹部皮肤紧密固定于扩散池上, 角质层朝上, 精密移取溶液(红景天苷醇溶液和红景天苷磷脂复合物溶液) 1 mL, 以水为接收液, 设定转速  $350 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴循环。分别于 1, 2, 3, 4, 6, 8 h 从取样管抽取接受液 2 mL, 同时立即补充等体积等温度的空白接受液, 并排除接收池中的气泡。按 2.4.1 项下色谱条件进样分析, 计算单位面积皮肤药物累积渗透量(Q)。

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

式中  $C_n$  为第  $n$  个取样点测得的药物质量浓度,  $C_i$  为第  $i$  ( $i \leq n - 1$ ) 个取样点测得的药物质量浓度,  $V$  为扩散池体积,  $V_i$  为第  $i$  次取样的体积,  $A$  为有效透皮面积。每个时间点平行 3 份。以累积渗透量  $Q$  对时间  $t$  作图, 药物渗透达到稳态后, 其中直线部分的斜率为药物的透皮速率, 即稳态渗透速率( $J_{ss}$ )。按  $K_p = J_{ss} / C_0$  计算渗透系数( $K_p$ ), 式中  $C_0$  为供给池的药物浓度 ( $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 按  $K_{p\text{促渗组}} / K_{p\text{对照组}}$  计算增透系数(ER)。结果红景天苷磷脂复合物溶液组和红景天苷醇溶液组的透皮速率分别为  $1.04, 0.02 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $J_{ss}$  分别为  $1.5562, 0.0404 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 红景天苷磷脂复合物溶液组 ER 是红景天苷醇溶液组 52 倍, 差异均有极显著意义。原因可能是因为红景天苷磷脂复合物的脂溶性增加, 改善了红景天苷溶解性能和膜透过性能, 从而增加了皮肤透过性能, 具有明显的促渗作用。见表 1。

表 1 红景天苷磷脂复合物和红景天苷醇溶液在小鼠离体皮肤中 8 h 内的累积渗透量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Cumulative penetration amounts of salidroside phospholipid complex and salidroside alcohol solution in 8 h ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

t/h	红景天苷	红景天苷磷脂复合物
1	1.09 ± 0.35	3.5 ± 0.24
2	1.21 ± 0.08	4.17 ± 1.22
3	1.85 ± 0.90	4.25 ± 1.88
4	1.95 ± 0.01	4.61 ± 1.49
6	2.14 ± 0.26	9.11 ± 1.22
8	3.01 ± 0.41	14.8 ± 0.42

2.6 皮肤滞留量试验 取给药后 8 h 的皮肤, 用温热 ( $45 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 的空白接收液快速漂洗皮肤表面, 用滤纸轻轻吸干表面水分, 固定剪取皮肤面积  $1 \text{ cm}^2$ , 充分剪碎, 加生理盐水 ( $0.5 \text{ mL} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) 匀浆 2 min, 离心后取上清液, 按 2.2.5 项下方法处理, 按 2.4.1 项下色谱条件分析, 计算红景天苷的单位面积皮肤滞留量 ( $n = 3$ )。结果红景天苷磷脂复合物溶液组给药

8 h 后在小鼠离体皮肤中的滞留量 ( $0.95 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) 高于红景天苷醇溶液组 ( $0.02 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ), 差异极显著, 说明红景天苷磷脂复合物能明显提高红景天苷在小鼠皮肤中的滞留量。

### 3 讨论

红景天苷水溶性极好, 不易透过皮肤角质层, 不能起到皮肤局部给药的作用, 以大豆磷脂为载体, 制备生物相容性好、脂溶性强、利于透过皮肤角质层的红景天苷磷脂复合物。将药物磷脂复合物皮肤局部应用, 能提高其皮肤渗透率, 并因其具有较强亲脂性而可暂时贮存于真皮之中, 复合物结构中的药物则逐渐被释放, 从真皮层进入血循环, 作用较持久<sup>[7-8]</sup>, 可为磷脂复合物运用于皮肤治疗系统提供参考。

本实验结果显示红景天苷磷脂复合物在皮肤中的含量明显高于红景天苷, 且渗透进入释放液中的含量也明显增大。推测造成这种现象的原因是与磷脂形成复合物后使药物的油水分配系数增加, 从而提高了药物的脂溶性, 促进药物透过角质层从而进入皮肤。而红景天苷溶液由于极性大难以渗透进入皮肤深处。以磷脂复合物为载体可增强红景天苷的透过皮肤角质层, 到达皮肤组织发挥作用, 扩大了红景天苷的使用范围, 说明磷脂复合物作为透皮给药的载体有较好的开发前景。

### [参考文献]

- [1] 陈辉, 崔颖, 李灵芝. 红景天苷及其类似物合成研究进展[J]. 天津药学, 2011, 23(5): 28-33.
- [2] 史飞, 李铀, 王毅侠, 等. 红景天甙对经 UVA/UVB 辐射的成纤维细胞生长形态的影响[J]. 北京中医药, 2010, 29(8): 627-631.
- [3] 沈干, 金玉, 陈德监, 等. 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 与红景天苷对抗皮肤光老化作用的研究[J]. 东南大学学报: 医学版, 2010, 29(3): 336-339.
- [4] 杨爱荣. 红景天苷对人皮肤黑色素瘤细胞 A<sub>375</sub> 侵袭的影响[J]. 青海医学院学报, 2012, 33(1): 336-339.
- [5] 马赵进, 来吉祥, 何聪芬, 等. 红景天活性成分的提取工艺及其美容功效研究[J]. 日用化学工业, 2009, 12(6): 402-404.
- [6] 吴建梅, 陈大为, 孙波, 等. 天然活性成分磷脂复合物药理学研究概述[J]. 中国药理学杂志, 1998, 33(4): 9-11.
- [7] 陈小新, 肖日平, 周晓丽, 等. 灯盏花素磷脂复合物自微乳在 Beagle 犬体内药代动力学及生物利用度[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 132-135.
- [8] 廉洁, 王伯初. 药物磷脂复合物工艺评价标准及应用研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(5): 830-833.

[责任编辑 刘德文]