

乳剂对人参有效成分透皮吸收的影响

马东¹, 刘梦², 李超英^{2*}, 高雅言², 于慧超², 何蕊²

(1. 长春市人民医院, 长春 130051; 2. 长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] 目的: 考察人参提取液和人参乳膏中有效成分的体外透皮吸收能力。方法: 采用智能透皮吸收仪, 以人参总皂苷和总多糖为考察指标, 采用 UV 测定指标成分含量, 通过体外释药试验考察人参提取液制备成乳膏前后指标成分的透皮吸收能力变化。结果: 人参乳膏中总皂苷透皮吸收过程符合一级方程, 而人参乳膏中总多糖、人参提取液中总皂苷和总多糖的透皮吸收过程均符合 Higuchi 方程, 2 种成分的累积释药率分别为 82.30%、67.53%。结论: 人参乳膏具有良好的透皮能力, 可增加有效成分的透皮吸收, 为其他透皮给药剂型的研制提供科学依据。

[关键词] 人参; 乳膏; 提取液; 促透作用; 体外释药规律

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0050-04

[doi] 10.11653/syjf2013230050

Effects of Emulsion on *in vitro* Transdermal Absorption of Active Ingredients from *ginseng Radix et Rhizoma*

MA Dong¹, LIU Meng², LI Chao-ying^{2*}, GAO Ya-yan², YU Hui-chao², HE Rui²

(1. Changchun Municipal People's Hospital, Changchun 130051, China;

2. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate *in vitro* transdermal absorption ability of active ingredients from ginseng extract and ginseng creams. **Method:** Taking intelligent transdermal absorption instrument, with total saponins and total polysaccharides from ginseng Radix et Rhizoma as indexes, which were determined by UV; Before and after ginseng extract were prepared into ginseng creams, percutaneous absorption capacity changes of

[收稿日期] 20130511(006)

[基金项目] 吉林省科学技术厅项目(Y Y Z X201118)

[第一作者] 马东, 学士, 副主任药剂师, 从事药物调剂和制剂研究, Tel: 15948339360, E-mail:

[通讯作者] * 李超英, 博士, 教授, 从事药物新剂型与新制剂研究, Tel: 13504417829, E-mail: chaoying_li@126.com

- [2] Barker S A. Matrix solid phase dispersion (MSPD) [J]. J Biochem Bioph Methods, 2007, 70(2): 151.
- [3] Lagunas-Allué L, Sanz-Asensio J, Martinez-Soria M T. Response surface optimization for determination of pesticide residues in grapes using MSPD and GC-MS: assessment of global uncertainty [J]. Anal Bioanal Chem, 2010, 398(3): 1509.
- [4] 王丽霞, 寇立娟, 潘峰云, 等. 基质固相分散-液相色谱-质谱法测定蔬菜中的邻苯二甲酸酯 [J]. 分析化学, 2007, 35(11): 1559.
- [5] 张静, 宋宁慧, 李辉信, 等. 微型基质固相分散 GC-ECD 法测定鲫鱼中 18 种有机氯农药残留 [J]. 生态与农村环境学报, 2012, 28(6): 722.
- [6] 尹怡, 朱新平, 郑光明, 等. 基质固相分散法与固相萃取法在检测水产品中己烯雌酚残留中的应用 [J]. 分析测试技术与仪器, 2011, 17(4): 211.
- [7] 王荣艳, 王培龙, 余永新, 等. 分子印迹基质固相分散-液相色谱法测定牛奶中的氯霉素残留 [J]. 分析试验室, 2009, 28(8): 26.
- [8] 汪雪雁, 祁克宗, 陈珂珂, 等. 鸡组织中 3 种青霉素类药物残留检测的前处理方法比较研究 [J]. 分析测试学报, 2011, 30(8): 892.
- [9] 金永日, 时晓磊, 李绪文, 等. 基质固相分散提取桃儿七根中鬼臼毒苷和异鬼臼苦苷 [J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(5): 1054.

[责任编辑 全燕]

index components were investigated by *in vitro* release test. **Result:** Transdermal absorption process of total saponins from ginseng creams was in line with the first-order equation, but total polysaccharides from ginseng creams and total saponins and total polysaccharides from ginseng extract were in line with Higuchi release equation; After been prepared into ginseng creams, cumulative release rates of these two ingredients were 82.30% and 67.53%, respectively. **Conclusion:** ginseng creams had good transdermal ability, it could increase transdermal absorption of effective components and provide a scientific basis for research of other transdermal formulations.

[**Key words**] ginseng Radix et Rhizoma; creams; extract; transdermal penetration effect; *in vitro* release characteristics

人参富含人参皂苷、人参多糖和人参多肽类等成分^[1]。其中人参皂苷具有促进蛋白质生化合成、流通末梢血管、促进角质层降解、使角质层变薄、促进发生层细胞和胶原纤维的增殖代谢等功效;人参多糖可以提高机体免疫力,增强皮肤抵抗力,增加皮肤营养,起到抗氧化^[2]和抗衰老^[3]的作用。俞媛等^[4]研究表明将难溶性药物制成乳剂,可促进大分子药物在体内的吸收,提高其生物利用度,从而增强药物稳定性。乳剂的优点主要为使液滴的分散度增大,使被包容的药物分散度提高,显著提高透皮速率,进而促进药物的透皮吸收。本实验以人参皂苷和人参多糖含量为考察指标,采用智能透皮吸收仪对人参提取液和人参乳膏的体外透皮吸收进行比较^[5],进一步验证乳剂具有增加药物有效成分透皮吸收的作用。

1 材料

TU-1810型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),Al204型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),YB-P6型智能透皮吸收仪(天津富兰斯电子科贸有限公司),GKC-11-CR2型电热恒温水浴箱(上海科技试验仪器厂)。人参皂苷 Rg₁对照品(中国食品药品检定研究院,批号110703-201027),人参乳膏剂(实验室自制),所用试剂均为分析纯。

ICR小鼠,体重18~20g,雌雄不限,购自吉林大学实验动物中心,许可证号SCXK-(吉)2007-0003。

2 方法与结果

2.1 人参总皂苷的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁对照品9.89mg,加甲醇溶解并定容至10mL,得0.989g·L⁻¹的对照品母液;取该母液适量,加甲醇制成0.0989g·L⁻¹的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

2.1.2.1 乳膏 精密称取乳膏2g,加水1mL稀释

后,加入三氯甲烷10mL,混匀,超声处理30min,静止分层,吸取上层溶液于另一具塞试管中,加入水饱和正丁醇适量,混匀,超声2次,每次30min,合并正丁醇层,挥干,用甲醇溶解残渣并定容至5mL,即得。

2.1.2.2 透皮吸收液 经扩散池收取的一定体积扩散液,加入水饱和正丁醇萃取2次,每次5mL,收集上层萃取液,合并,挥干,用甲醇洗涤并定容至1mL,即得。

2.1.3 标准曲线的制备 分别取制备的人参皂苷 Rg₁对照品溶液0.1,0.2,0.4,0.6,0.8mL于具塞试管中,水浴蒸干,加入5%香草醛冰醋酸溶液0.2mL和高氯酸0.8mL,混合均匀,于60℃水浴加热15min,流水冷却,加入冰醋酸5mL,摇匀,于542nm处测定吸光度(A),以人参皂苷 Rg₁质量为横坐标,A为纵坐标,得回归方程 $Y = 11.317X + 0.0151$ ($r = 0.9997$),线性范围9.92~79.36μg。

2.1.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液适量,于542nm处连续测定5次,计算A的RSD0.24%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一供试品溶液6份,分别于542nm处测定A,计算RSD1.2%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于0,10,20,30,40,50,60min测定A,计算RSD2.55%,说明样品在60min内基本稳定。

2.1.7 加样回收率试验 取同一批乳膏6份,分别加入等量对照品,按2.1.2.1项下方法制备供试品溶液,于542nm处测定A,计算平均加样回收率100.12%,RSD1.92%。

2.2 总多糖的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称定葡萄糖对照品10.06mg,加水溶解并定容至50mL,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备

2.2.2.1 乳膏 同2.1.2.1项。

2.2.2.2 透皮吸收液 经扩散池收取的一定体积扩散液,加入水饱和正丁醇萃取 2 次,每次 5 mL,收集下层萃取液,合并,挥干,用生理盐水定容至 5 mL,即得。

2.2.3 标准曲线的制备 分别精密量取葡萄糖对照品溶液 0.0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mL 于具塞试管中,分别加水定容至 1 mL,各加入 6% 苯酚溶液 1.4 mL 和硫酸 7 mL,沸水浴 30 min,冰浴 10 min,于 485 nm 处测定 A,以葡萄糖质量为横坐标, A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 7.5568X + 0.0049$ ($r = 0.9998$),线性范围 0.0201 ~ 0.1602 mg。

2.2.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液,连续测定 5 次,计算 A 的 RSD 0.14%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 精密量取同一供试品溶液 6 份,测定 A,计算 RSD 1.1%,表明该方法重复性较好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别在 0, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240 min 测定 A,计算 RSD 1.07%,说明供试品溶液在 240 min 内稳定。

2.2.7 加样回收率试验 取同一批乳膏 6 份,分别加入等质量对照品溶液,按 2.1.2.1 项下方法制备供试品溶液,测定 A,计算平均加样回收率 99.82%, RSD 1.22%。

2.3 动物皮肤的制备 将健康小鼠用硫化钠法脱毛后处死,取腹部皮肤,将其剥离脂肪层,用 0.9% NaCl 水溶液冲洗浸泡,置冰箱中冷藏 24 h,备用。

2.4 体外释药试验 取备用皮肤,剪合适大小置于透皮吸收扩散池上,使皮肤角质层朝向接收池内,接收液为生理盐水,接收池体积 15 mL,排净气泡后,同时供给池和接受池需用夹子夹紧,置于 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 水浴上,转速 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。称取 3 份同批号人参乳膏各 5 g 和 3 份同批号的处方各提取液 2 mL,涂抹在小白鼠皮肤上,置于扩散池中,分别于 10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 720 min 时取样 5.0 mL,同时补加同温度同体积接收液,分别按 2.1.2 项下方法和 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,计算累积透过量及累计透过率^[6],结果见表 1。以累积透过率为纵坐标,时间为横坐标,绘制人参总皂苷和总多糖的累积透过率-时间曲线,见图 1, 2。根据试验数据进行模型拟合,总皂苷和总多糖的体外透皮率-时间拟合方程见表 2。

式中 C_n 为第 n 个取样点药物的校正质量浓度, C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度, V_n 和 V_i 分别为接收池的体积 (15 mL) 和取样体积 (5 mL), S 为扩散池的扩散面积 (1.77 cm^2)。

表 1 人参乳膏中人参多糖和人参总皂苷的释药测定 ($n = 3$)

t/min	样品中质量		累积释药量		累积释药率/%	
	总皂苷/ μg	总多糖/mg	总皂苷/ μg	总多糖/mg	总皂苷/ μg	总多糖/%
10	15.163	18.144	37.908	45.360	4.68	5.60
20	44.112	25.078	125.442	80.838	15.49	9.98
30	50.277	42.911	169.803	132.354	20.96	16.34
60	68.687	55.541	221.994	181.764	27.41	22.44
120	112.806	78.774	350.703	252.477	43.30	31.17
180	138.261	97.118	458.460	321.570	56.60	39.70
240	163.493	121.792	546.993	401.598	67.53	49.58
360	181.459	135.542	617.139	460.647	76.19	56.87
480	194.079	164.580	666.657	546.993	82.30	67.53
600	214.217	187.341	729.621	632.934	90.08	78.14
720	213.916	219.320	749.007	735.642	92.47	90.82

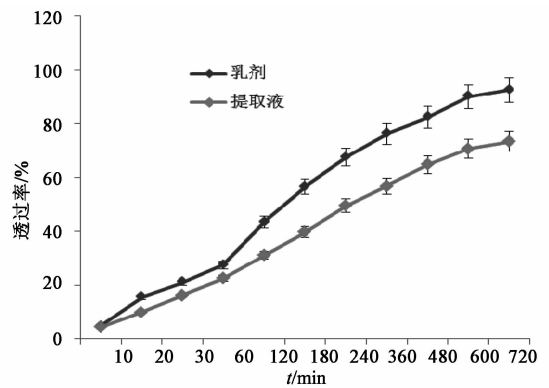


图 1 人参总皂苷累积透过率曲线 ($n = 3$)

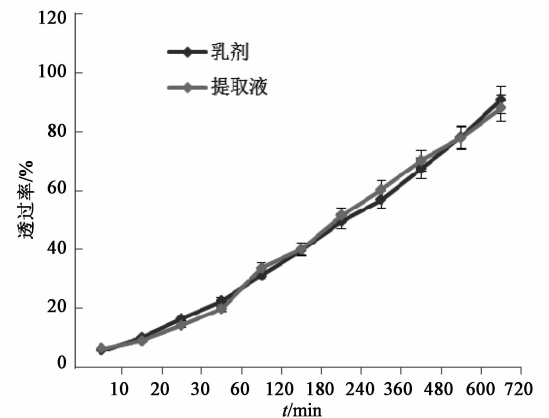


图 2 人参总多糖累积透过率曲线 ($n = 3$)

$$Q_n = (C_n V_n + \sum C_i V_i) / S$$

由表2可知,人参乳膏中总皂苷透皮吸收过程符合一级方程,而人参乳膏中总多糖、人参提取液中总皂苷和总多糖的透皮吸收过程均符合 Higuchi 方程,表明人参乳膏具有缓释作用。由图1~2可知,人参提取液及人参乳膏均具有透皮作用,人参总多糖成分制备乳膏前后释放量基本相同;人参总皂苷成分制备乳膏后释放量明显大于提取液,表明将人参提取液制备成乳膏剂型后能明显提高有效成分的释放速率,乳膏中添加的基质具有促透作用。

表2 总皂苷和总多糖的体外透皮率-时间拟合方程

成分	样品	释放模型	模型拟合方程	r
总皂苷	人参乳膏	零级方程	$Y=0.0012X+0.2222$	0.9315
		一级方程	$Y=0.0035X-0.1293$	0.9960
		Higuchi 方程	$Y=0.0375X+0.0032$	0.9859
	人参提取液	零级方程	$Y=0.0009X+0.1568$	0.9518
		一级方程	$Y=0.009X+0.8432$	0.9517
		Higuchi 方程	$Y=0.0926X-0.0129$	0.9938
总多糖	人参乳膏	零级方程	$Y=0.0011X+0.138$	0.9823
		一级方程	$Y=0.0028X-0.0172$	0.9742
		Higuchi 方程	$Y=0.0341X-0.049$	0.9972
	人参提取液	零级方程	$Y=0.0011X+0.14$	0.9742
		一级方程	$Y=0.0026X-0.0472$	0.9924
		Higuchi 方程	$Y=0.0346X+0.0526$	0.9988

3 讨论

研究表明人参中皂苷类和多糖类成分均会对人体皮肤产生抗氧化、抗衰老作用^[8],但相关研究中多以人参皂苷作单一指标考察^[7]。本实验选用人参总皂苷和人参总多糖2个考察指标,建立了相关含量测定方法,在人参有效成分人参总皂苷和总多糖的处理过程中,采用“一样多用”,即一个样品通过不同的处理得到两种测试样品,使实验过程简化,并节省试药。

通过比较人参提取液与人参乳膏剂的体外释药

情况,发现人参提取液制备成乳膏剂后,人参总皂苷和总多糖的有效释放均得以提高,且人参皂苷成分透皮效果优于人参提取液,说明制备成乳膏剂型能改善其渗透效果,增强难溶性有效成分的溶解度。乳膏剂适合皮肤给药^[9],是治疗局部皮肤疾病的良好剂型,可将人参中有效成分根据分配系数不同进入不同水相或油相,具有改善生物利用度、促进吸附渗入皮肤的优势,且方便使用。通过揭示人参乳膏的透皮释药规律,揭示乳剂剂型对药物透皮吸收的呈正相关,且可以提高难溶性成分的透皮吸收速率,为其他药物透皮给药剂型的选择和研究思路等提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 郭秀丽,高淑莲.人参化学成分和药理研究进展[J]. 中医临床研究,2012,4(14):26.
- [2] 张秋华,孙文静,鞠宝兆.人参茎叶皂苷对小鼠脑老化的实验研究[J]. 中成药,2003,25(3):216.
- [3] 王红丽,吴铁,吴志华,等.人参皂苷抗皮肤衰老作用实验研究[J]. 广东药学院学报,2003,19(1):25.
- [4] 俞媛,高申.促进药物透皮吸收方法的研究进展[J]. 中国医药工业杂志,2005,36(2):115.
- [5] 何百寅,谢友良,刘常青,等.三七提取液中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的透皮规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(21):130.
- [6] 王晓辉,李丽,申去非,等.不同剂型扑热息痛离体透皮吸收效果研究[J]. 中国药房,2008,19(28):2189.
- [7] 何百寅,刘常青,谢友良,等.三七总皂苷中人参皂苷 R_{g1} 对完整皮肤透皮吸收研究[J]. 广东药学院学报,2010,26(6):565.
- [8] 高伟博,米钧,秦秋杰,等.人参及其炮制品抗疲劳作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):210.
- [9] 刘亚明.微乳在中药领域研发中的应用概况[J]. 山西中医学院学报,2012,13(3):163.

[责任编辑 仝燕]