

祖师麻总香豆素体外透皮特性考察

王喃喃, 张超*, 林桂涛

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 考察祖师麻总香豆素有效部位的透皮吸收特性及促渗剂对其透皮行为的影响。方法: 采用 V-C 水平扩散池法, 以祖师麻甲素的平均渗透系数、累积渗透量和皮肤蓄积量为指标, 考察祖师麻总香豆素的透皮吸收动力学特性, 并考察不同促渗剂对其促透作用的影响。采用 HPLC 测定祖师麻甲素含量, 色谱条件为 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水 (22:78), 检测波长 327 nm, 进样量 20 μL, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 祖师麻甲素透皮吸收质量浓度与时间均表现为一级动力学模式。1%, 3%, 5% 冰片的吸收时滞分别为 2.3, 2.9, 3.3 h。氮酮、丙二醇、冰片及氮酮与丙二醇合用等促渗剂均能明显促进祖师麻甲素的透皮吸收, 总体促渗效果为氮酮 > 冰片 > 氮酮与丙二醇合用 > 丙二醇 > 无促渗剂。结论: 选用 3% 氮酮作为祖师麻总香豆素有效部位的促渗剂。

[关键词] 祖师麻; 总香豆素; 透皮特性; 促渗剂; 吸收时滞

[中图分类号] R283.6; R943; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0018-03

[doi] 10.11653/syfy2013200018

Investigation of *in vitro* Transdermal Permeability of Total Coumarins in *Daphne giraldii*

WANG Nan-nan, ZHANG Chao*, LIN Gui-tao

(School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate transdermal absorption characteristics of total coumarins in *Daphne giraldii* and influence of penetration enhancers on transdermal behavior of these ingredients. **Method:** Valia-Chien diffusion cell was adopted, with the average permeability coefficient, cumulative permeation amounts and skin accumulation amounts of daphnetin as indexes, transdermal absorption kinetics characteristics and effects of penetration enhancer on it were investigated. The content of daphnetin was determined by HPLC, chromatographic conditional were as follows: Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (22:78), detection wavelength 327 nm, injection volume 20 μL, flow rate 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** Transdermal concentration of daphnetin and time showed a kinetic mode. Absorption time-lag of 1% borneol, 3% borneol, 5% borneol were 2.3, 2.9, 3.3 h, respectively. Azone, 1, 2-propanediol and borneol could obviously promote transdermal absorption of daphnetin, order of the overall penetration effect was azone > borneol > azone and 1, 2-propanediol > 1, 2-propanediol > no penetration enhancer. **Conclusion:** 3% Azone was the best penetration enhancer for total coumarins in *D. giraldii*.

[Key words] *Daphne giraldii*; total coumarins; transdermal permeability; penetration enhancers; absorption time-lag

祖师麻收载于 1977 年版《中国药典》一部, 具有祛风湿、活血止痛的作用, 临床常用于治疗风湿痹

痛、关节炎、类风湿性关节炎, 主要成分为香豆素类化合物, 其中祖师麻甲素含量最高。祖师麻甲素在

[收稿日期] 20130324(007)

[基金项目] 济南市高校院所自主创新科技计划项目(201102017)

[第一作者] 王喃喃, 硕士, 从事中药新制剂新技术研究, Tel:0531-89628590, E-mail:wangnannancrazy@163.com

[通讯作者] * 张超, 讲师, 从事中药新制剂新技术和中药炮制研究, Tel:0531-89628590, E-mail:zhangchaotcm@126.com

小鼠热板法、电刺激法、醋酸扭体抑制法和热水刺激小鼠翘尾测痛法等试验模型中均显示明显的镇痛作用^[1-3],对大鼠蛋清和右旋糖酐所致的2种急性实验性“关节炎”均有明显抑制作用,且比同剂量水杨酸钠作用略强^[2]。但祖师麻甲素的药代动力学研究显示经静脉注射给药和灌胃给药后,在体内代谢较快,半衰期较短,对胃肠道有刺激性,用药次数及血药浓度波动均较大^[4-5]。经皮给药系统可避免口服给药可能发生的胃肠刺激性及肝脏首过效应等缺陷,具有血药浓度或药理效应恒定、作用时间延长等优点,但该给药系统的透皮吸收较差,常需加入适当的透皮促进剂以增加药物的经皮渗透。本实验以祖师麻甲素为指标,采用V-C水平扩散池法,考察祖师麻总香豆素的透皮吸收行为,探讨常用促渗剂对其透皮吸收的影响,为经皮给药制剂的成型性研究提供实验依据。

1 材料

501型超级恒温水浴(上海试验仪器总厂),JJ79-1型磁力搅拌器(鄞城市光明仪器有限公司),Valia-Chien型水平扩散池(自制,有效接触面积 1.76 cm^2),FA1100型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司)。

祖师麻饮片(购自济南建联中药有限公司,经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为瑞香科植物黄瑞香 *Daphne giraldii* Nitsche 的干燥茎皮和根皮),祖师麻甲素对照品(南昌贝塔生物科技有限公司,批号10587-201001),氮酮(浦和浦西化工厂),1,2-丙二醇(山东省化工研究院)。

昆明种小鼠体重(20 ± 2) g,SD大鼠体重(200 ± 20) g,家兔体重(2.0 ± 0.5) kg,均购自山东中医药大学实验动物中心,动物合格证号SCXK(鲁)20110003。

2 方法与结果

2.1 供给液的制备^[6] 将氮酮、丙二醇、冰片(1.0 g冰片用0.5 mL乙醇溶解)与水配制成相应浓度的促渗剂溶液。精密称取祖师麻总香豆素40 mg,加相应促渗剂溶液超声分散制成10 mL混悬液,即得。

2.2 皮肤的处理 取动物背部皮肤,去除附毛后,剔除皮下组织和脂肪,用水反复冲洗至净,用生理盐水冲洗数遍,置生理盐水中冷藏备用,3 d内使用。

2.3 体外透皮试验^[7-8] 取完整皮肤固定于水平扩散池中间,角质层面向供给池,在供给池中加入供给

液6 mL,在接受池中加入生理盐水6 mL作为接受介质。供给池和接受池的水浴外套与恒温水浴相连,以维持整个系统温度恒温 $37\text{ }^\circ\text{C}$,恒速磁力搅拌,加样平衡15 min开始计时,分别于2,4,6,8,10,12 h取出全部接受液,同时立即补充同体积预温 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 的生理盐水,接受液用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,收集续滤液,测定祖师麻甲素质量浓度,计算校正质量浓度和渗透系数。

$$C_{\text{校}} = C_{\text{测}} + \Sigma C_n; C_{\text{校}} = PACdt/V + \text{截距}$$

其中 $C_{\text{测}}$ 为实测药物质量浓度, $C_{\text{校}}$ 为校正后药物质量浓度, ΣC_n 为该取样点前的测量质量浓度之和, P 为渗透系数, A 为扩散池有效接触面积, C 为供给池中供给液药物质量浓度, V 为接受液体积。

2.4 祖师麻甲素经皮渗透量测定 色谱条件为Kromasil C_{18} 色谱柱($4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$),流动相乙腈-0.1%磷酸水(22:78),检测波长327 nm,进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$,流速 $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。分别精密量取祖师麻甲素对照品溶液($38.40\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)0.1,0.5,1.0,2.0,5.0 mL置10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程为 $Y = 36.772X + 0.0913$ ($r = 0.9996$),表明祖师麻甲素在 $0.384 \sim 19.20\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 供试皮肤中祖师麻甲素的含量测定 透皮试验结束后,取下有效扩散皮肤,用生理盐水反复冲洗,以吸水纸吸干,称定质量,用剪刀剪碎,置100 mL具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称重,超声处理30 min,放冷,称重,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液25 mL,蒸干,用甲醇溶解并定容至5 mL,按2.4项下方法测定。

2.6 试验皮肤的选择 取一定量供给液,按2.3项下方法进行体外透皮试验,以祖师麻甲素为定量指标,按2.4项下分析,分别考察祖师麻总香豆素穿透小鼠、大鼠、家兔皮肤的特性,结果释药方程分别为 $C_{\text{校}} = 1.0255t - 0.7358$ ($R^2 = 0.9734$), $C_{\text{校}} = 0.1629t + 0.2318$ ($R^2 = 0.9973$), $C_{\text{校}} = 1.7964t - 0.0927$ ($R^2 = 0.9950$),平均渗透系数分别为 13.8465×10^{-3} , 2.3203×10^{-3} , $26.5247 \times 10^{-3}\text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$,表明大鼠皮肤的透皮效果最差,皮肤为药物透皮吸收的最大障碍,故选择大鼠皮肤为试验材料。

2.7 促渗剂考察 选择不同促渗剂制备供试液,按2.3项下方法进行体外透皮试验,考察祖师麻甲素校正质量浓度与时间关系的释药方程、平均渗透系数、累积渗透量及皮肤蓄积量,结果见表1。

表 1 不同促渗剂对祖师麻总香豆素透皮吸收的影响 ($n=3$)

促渗剂	释药方程	R^2	平均渗透系数 / $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$	12 h 累积渗透量 / $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	皮肤蓄积量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
无促渗剂	$C_{\text{校}} = 0.1629t + 0.2318$	0.9909	2.42×10^{-3}	12.97	13.82
1% 氮酮	$C_{\text{校}} = 0.3317t - 1.1408$	0.7598	3.72×10^{-3}	22.79	97.22
3% 氮酮	$C_{\text{校}} = 0.8925t + 2.0203$	0.9812	9.65×10^{-3}	80.42	108.45
5% 氮酮	$C_{\text{校}} = 0.6493t + 0.7637$	0.9796	15.53×10^{-3}	53.58	107.81
2% 丙二醇	$C_{\text{校}} = 0.0496t + 0.0777$	0.9960	0.59×10^{-3}	3.99	16.21
5% 丙二醇	$C_{\text{校}} = 0.5936t - 0.0656$	0.9142	6.90×10^{-3}	39.48	16.75
8% 丙二醇	$C_{\text{校}} = 0.2152t + 0.3438$	0.9832	2.65×10^{-3}	17.23	22.94
1% 氮酮 + 5% 丙二醇	$C_{\text{校}} = 0.1757t + 0.5235$	0.9778	2.88×10^{-3}	15.74	63.54
3% 氮酮 + 5% 丙二醇	$C_{\text{校}} = 0.7818t - 2.2424$	0.9354	13.23×10^{-3}	48.24	89.60
1% 冰片	$C_{\text{校}} = 0.4212t - 0.9693$	0.8807	5.92×10^{-3}	26.60	121.61
3% 冰片	$C_{\text{校}} = 0.6384t - 1.8700$	0.9390	7.94×10^{-3}	38.54	66.99
5% 冰片	$C_{\text{校}} = 1.0251t - 3.4053$	0.9047	12.45×10^{-3}	61.36	52.30

注:蓄积量单位为每克皮肤中所含祖师麻甲素的质量。

由表 1 可知,与无促渗剂组相比,选择氮酮、丙二醇、冰片为促渗剂均能显著增加祖师麻香豆素的透皮吸收效果,总体促渗效果为氮酮 > 冰片 > 氮酮与丙二醇合用 > 丙二醇 > 无促渗剂,祖师麻甲素透皮吸收质量浓度与时间均表现为一级动力学模式。以氮酮为促渗剂,氮酮含量越高祖师麻甲素的渗透系数越大,但 3% 氮酮渗透量最大;以丙二醇为促渗剂,5% 丙二醇的渗透系数和累积渗透量最大;1% 氮酮与 5% 丙二醇联用的促渗效果弱于两者单用效果,但 3% 氮酮与 5% 丙二醇联用的促渗效果强于两者单用效果;以冰片为促渗剂,5% 冰片的渗透系数和累积渗透量最大。时滞程度顺序为冰片 > 氮酮 > 丙二醇,氮酮在低用量(1%)时,时滞明显,随用量增加时滞消失;3% 氮酮与 5% 丙二醇合用的促渗效果虽好,但吸收时滞较长(2.9 h);随冰片用量的增加,吸收时滞亦随之增长(1% 冰片时滞 2.3 h,3% 冰片时滞 2.9 h,5% 冰片时滞 3.3 h)。从皮肤蓄积量分析,总体蓄积量氮酮 > 冰片 > 氮酮与丙二醇合用 > 丙二醇 > 无促渗剂,与总体促渗效果一致。

3 讨论

预试验考察了祖师麻甲素的稳定性,取含祖师麻甲素($8.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的生理盐水溶液考察其于 37℃ 保温 4 h 的稳定性,每隔 1 h 取样测定 1 次,结果祖师麻甲素峰面积依次为 309.9(0 h),306.4(1 h),301.5(2 h),287.6(3 h),275.2(4 h),故确定透皮试验中接受液每隔 2 h 取 1 次,且全部取走进行测定,以避免祖师麻甲素降解带来的误差。但供给

液为祖师麻甲素的过饱和溶液,经测定未发现供给液质量浓度的显著变化。

选择透皮效果最差的 SD 大鼠皮肤为试验材料,以祖师麻甲素的平均渗透系数、累积渗透量和皮肤蓄积量为考察指标,结果证明氮酮、丙二醇、冰片及氮酮与丙二醇合用等促渗剂均能明显促进祖师麻甲素的透皮吸收,综合考虑各指标与时滞情况拟选用氮酮为祖师麻香豆素的促渗剂,用量以 3% 为佳。

[参考文献]

- [1] 甘肃省药品检验所,解放军第十医院. 祖师麻有效成分的药理研究[J]. 中草药通讯,1978,9(2):25.
- [2] 刘国卿,王秋娟,杨思新,等. 祖师麻甲素的药理研究[J]. 中草药通讯,1977,8(3):21.
- [3] 姜秀莲,曲淑岩,潘光,等. 瑞香素对中枢神经系统的抑制作用[J]. 中药通报,1986,11(3):封二.
- [4] 刘嘉,狄留庆,单进军,等. 瑞香素不同给药途径在大鼠体内的药动学研究[J]. 中草药,2009,40(1):106.
- [5] 曲淑岩,毋英杰,王一华,等. 瑞香素的代谢及药代动力学[J]. 药学学报,1983,18(7):496.
- [6] 王远国. 祖师麻有效部位的研究[D]. 济南:山东中医药大学,2009.
- [7] 卢闻,贺浪冲. 白芷香豆素类有效部位体外透皮特性研究[J]. 中国药学杂志,2003,38(12):939.
- [8] 李玲,李祖伦,何宇新. 不同促渗剂对川白芷中欧前胡素透皮吸收的影响[J]. 中成药,2009,31(4):627.

[责任编辑 全燕]