

白藜芦醇包合物的制备及其乳膏渗透性能考察

王丽峰^{1,2}, 刘照胜¹, 黄艳萍^{1*}

(1. 天津医科大学药学院, 天津 300070; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] **目的:** 制备白藜芦醇的羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)分子包合物,并考察不同促渗剂对该包合物乳膏渗透性能的影响。**方法:** 采用冷冻干燥法制备白藜芦醇的 HP- β -CD 分子包合物,通过 HPLC 测定包合率。采用改良的 Franz 扩散装置,通过动物离体透皮吸收试验筛选最佳透皮吸收促渗剂。**结果:** 白藜芦醇 HP- β -CD 包合物的包封率良好。促渗剂种类不同、加入量不同均能影响乳膏的渗透效果,最佳促渗剂为 1% 氮酮。**结论:** 白藜芦醇制成包合物后稳定性良好,1% 氮酮为促渗剂制成的白藜芦醇包合物乳膏具有良好的渗透能力,在美容方面具有较大的开发前景。

[关键词] 白藜芦醇; 包合物; 透皮吸收; 促渗剂; 乳膏

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0004-04

[doi] 10.11653/syfy2013130004

Preparation and Permeability Investigation of Resveratrol Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Compound

WANG Li-feng^{1,2}, LIU Zhao-sheng¹, HUANG Yan-ping^{1*}

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare resveratrol hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) inclusion compound and investigate effect of 4 kinds of penetration enhancers on percutaneous absorption of this inclusion cream. **Method:** Resveratrol HP- β -CD inclusion compound was prepared with lyophilization technique, entrapment efficiency of this inclusion compound was investigated by HPLC. Modified Franz diffusion cell was applied to investigate *in vitro* transdermal absorption behavior of resveratrol HP- β -CD inclusion compound cream with isolated mouse skin as barrier and chose the best penetration enhancer. **Result:** Prepared resveratrol HP- β -CD inclusion compound was in high entrapment efficiency. There was large difference when different transdermal enhancers or different concentrations of enhancers were used, 1% azone was optimum penetration enhancers. **Conclusion:** Resveratrol HP- β -CD inclusion compound had high stability, prepared cream with 1% azone as penetration enhancers had the best transdermal permeation behavior, resveratrol HP- β -CD inclusion compound cream had a great development prospect in the beauty.

[Key words] resveratrol; inclusion compound; transdermal absorption; penetration enhancer; cream

白藜芦醇为虎杖中主要有效成分之一,被称为植物雌激素,具有调节血脂、延缓衰老、免疫调节的功能,可用于医药、保健品、食品添加剂、化妆品等领域,具有广泛的开发价值。但白藜芦醇在水中溶解度较小^[1],紫外照射下发生异构化^[2],使其应用受到严重限制。因此,本实验拟将其制成包合物,研制成白藜芦醇新型美容美白(特别是祛斑、祛皱和保持皮肤水分)乳膏产品^[3],考察白藜芦醇包合物制

[收稿日期] 20130205(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(21075090)

[第一作者] 王丽峰, 硕士, 实验师, 从事药物制剂分析研究, Tel: 022-59596293, E-mail: wangli930@163.com

[通讯作者] * 黄艳萍, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事药物分析的相关教学与科学研究, Tel: 022-23536746, E-mail: huangyp100@163.com

备成乳膏后的渗透性,研究不同促渗剂对该乳膏促渗作用的影响,为白藜芦醇的美容产品开发提供实验依据。

1 材料

LGJ-12 型冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司),84-II 型磁力恒温搅拌器(山东省甄城永兴仪器厂),UV-6100 PCS 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),Thermo UltiMate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公司),FA1004 型电子天平(上海精科天平),TK-20B 型改良 Franz 透皮扩散试验池(上海谐凯科技贸易有限公司)。

白藜芦醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111535-200502),羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD,山东省滨州智源生物科技有限公司),白藜芦醇样品(西安小草植物科技有限公司),十八醇(天津市江天化工技术有限公司),白凡士林(上海现代哈森药业有限公司),十二烷基硫酸钠(天津市江天化工技术有限公司),尼泊金乙酯(天津市江天化工技术有限公司),甘油(上海运佳黄浦制药有限公司),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。昆明种小鼠,体质量(20 \pm 1)g,由天津市山川红实验动物科技有限公司提供,许可证号 SCXK(津)2009-0001。

2 方法与结果

2.1 白藜芦醇的含量测定

2.1.1 检测波长的选择 分别称取适量的白藜芦醇和 HP- β -CD 于量瓶中,用 40% 甲醇溶解并定容,于 200~900 nm 扫描,结果发现 HP- β -CD 无吸收,而白藜芦醇在 306 nm 处有最大吸收。

2.1.2 色谱条件^[4] 流动相甲醇-水(45:55),流速 1 mL \cdot min⁻¹,波长 306 nm,依利特 C₁₈ ODS₂ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm \times 5 μ m),柱温 25 $^{\circ}$ C,进样量 5 μ L。

2.1.3 标准曲线的绘制 精密称取白藜芦醇对照品 6.28 mg 于 10 mL 棕色量瓶内,用甲醇定容,得母液,备用。精密量取该母液适量,用甲醇稀释成质量浓度分别为 10,20,50,100,300 mg \cdot L⁻¹ 的对照品溶液,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得标准曲线 $Y = 0.6422X - 5.9514$ ($r = 0.9998$),表明白藜芦醇在 10~628 mg \cdot L⁻¹ 线性关系良好。

2.1.4 精密度试验 精密量取上述母液连续进样 6 次,结果峰面积的 RSD 0.55%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 精密称量白藜芦醇对照品适

量于棕色量瓶内,用 40% 甲醇定容,在常温光照下,每隔 1 h 测定峰面积,结果峰面积在 5 h 内的 RSD 0.68%,表明对照品溶液在 5 h 内基本稳定。

2.1.6 加样回收率试验 称取 9 份已知质量浓度的同一批包合物 2 mg 于 5 mL 量瓶内,精密称量,分别精密加入适量的白藜芦醇对照品溶液,用甲醇定容,超声 30 min,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,进样 5 μ L,测定白藜芦醇含量,计算平均回收率 97.12%,RSD 2.85%,表明该方法稳定可靠。

2.2 白藜芦醇包合物的制备 称取 HP- β -CD(HP- β -CD 与白藜芦醇的质量比 15:1)适量,加水 20 mL,置于磁力搅拌器于 40 $^{\circ}$ C 搅拌使溶解;待溶解完全后,称取白藜芦醇适量,用无水乙醇溶解,滴加至上述环糊精溶液中,避光继续搅拌 90 min^[5]。待包合结束后,将包合物溶液放入冰箱中静置 1 h,抽滤,将滤液倒入培养皿中,用打好孔的保鲜膜包上,放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中冷冻,24 h 后取出,冷冻真空干燥,待包合物成白色蓬松的块状物时,即得^[6]。

2.3 包合率的测定 精密称取包合物 2 mg 于 5 mL 棕色量瓶内,用甲醇定容至刻度,超声 30 min,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,测定峰面积,计算白藜芦醇包合物的包合率 77.41%。

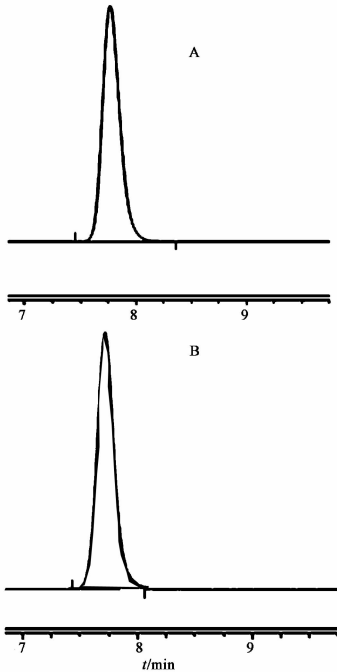
2.4 白藜芦醇包合物乳膏促渗剂的选择

2.4.1 离体鼠皮的制备及装置^[7] 取试验用小白鼠,处死,分离腹部皮肤,将取下的腹部皮肤平铺于干净玻璃板上。用刀片及镊子小心剔除鼠毛和皮下的脂肪组织及黏连物,用 0.9% 生理盐水反复冲洗干净,置于干净培养皿中,加生理盐水浸润鼠皮,密闭贮于低温冰箱中保存,备用。试验前仔细检查鼠皮的完整性,保证无任何破损,采用 Franz 扩散室,体积 8 mL,面积 3.1416 cm²。

2.4.2 白藜芦醇包合物乳膏的制备^[8] 白藜芦醇包合物乳膏的处方为白藜芦醇包合物 0.05 g,十八醇 2.2 g,白凡士林 2.5 g,十二烷基硫酸钠 0.15 g,尼泊金乙酯 0.01 g,甘油 1.2 g,水适量。共制备 12 份,每份 10 g,编号,其中 1,2,3 号分别为含 1%,2%,4% 氮酮;4,5,6 号分别含 2.5%,5%,10% 丙二醇;7,8,9 号分别含 1%,5%,9% 冰片;10,11,12 号分别含 1%,3%,5% 薄荷油。

2.4.3 透皮扩散试验^[9] 将处理好的鼠皮从冰箱中取出,用生理盐水泡至室温,固定在扩散池上。真皮一侧与接收液接触,角质层面向供给池,用夹子固定,加入生理盐水,并倾斜将气泡排尽,平行 3 组。供给池供给面上均匀涂抹供试乳膏 1 g,磁力搅拌速

度 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 水浴温度 $(37 \pm 0.5) \text{ }^\circ\text{C}$, 分别于 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 h 从接受池中取出适量接受液, 同时向接受池中补加等体积接收液, 注意排尽气泡。取出接收液后用 $0.45 \text{ } \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, HPLC 进样分析, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 白藜芦醇

图 1 白藜芦醇包合物软膏渗透液 HPLC

通过以下公式求出累计渗透率 (F) 及累计透过量 (Q)^[10]。

$$Q = (C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V)$$

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

式中 C_n 为 t 时间白藜芦醇质量浓度, V 为每次取样体积, C_i 为 t 时间以前质量浓度, A 为扩散面积, $Q_{\text{总}}$ 为供给池总透过量。

结果 1, 2, 3 号软膏中以 1 号软膏渗透效果最好; 4, 5, 6 号软膏中以 4 号软膏渗透效果最好; 7, 8, 9 号软膏中以 9 号软膏渗透效果最好; 10, 11, 12 号软膏中以 11 号软膏渗透效果最好。将渗透效果最好的几组软膏进行透皮吸收试验, 以取样时间为横坐标, 累积透皮率为纵坐标, 绘制取样时间-累积透皮率曲线^[11], 见图 2。结果表明 1% 氮酮和 9% 冰片作为促渗剂对乳膏渗透作用效果较好, 9% 冰片在早期渗透效果最佳, 但后期不如 1% 氮酮。

2.4.4 动力学方程的拟合^[12] 对不同种类、不同质量分数的促渗剂对白藜芦醇包合物软膏的 Q 与 t 进行动力学 Higuchi 方程拟合, 动力学参数见表 1,

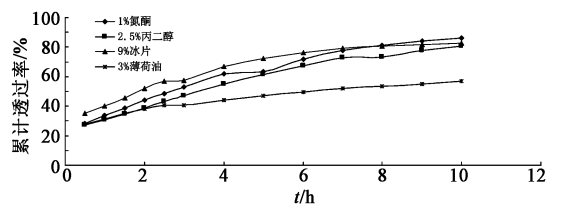


图 2 比较不同促渗剂对白藜芦醇包合物软膏的影响

结果表明 1% 氮酮的体外渗透的透皮速率常数最大, 所有促渗剂对乳膏的促渗作用均符合动力学方程。

表 1 白藜芦醇包合物乳膏透皮释药方程

No.	回归方程	$Q_{\text{总}}$ /g	r	P /cm·h ⁻²
1	$Y = 25.77X + 9.5878$	323.089	0.997 1	0.079 76
2	$Y = 13.013X + 16.623$	323.734	0.994 7	0.040 27
3	$Y = 13.653X + 17.168$	324.379	0.991 5	0.042 25
4	$Y = 24.377X + 7.474$	323.089	0.995 5	0.075 44
5	$Y = 21.139X + 13.535$	322.444	0.999 1	0.065 42
6	$Y = 13.316X + 15.004$	321.154	0.996 9	0.041 21
7	$Y = 25.563X + 7.8575$	322.444	0.995 4	0.079 12
8	$Y = 20.546X + 20.379$	322.444	0.961 6	0.063 59
9	$Y = 21.564X + 22.774$	325.668	0.986 1	0.066 74
10	$Y = 5.3844X + 22.974$	322.444	0.994 9	0.016 66
11	$Y = 12.035X + 21.211$	323.734	0.996 4	0.037 24
12	$Y = 8.1498X + 22.709$	326.313	0.995 0	0.025 22

注: P 为渗透系数。

3 讨论

由于白藜芦醇水溶性差且在高温及光照条件下不稳定, 本实验采用冷冻干燥法避光制备白藜芦醇 HP- β -CD 包合物, 方法简便, 且条件易控制。HP- β -CD 为 β -CD 的衍生物, 前者具有更好的水溶性和稳定性^[13], 在人体内基本不被分解代谢, 也不累积, 非肠道给药时全部随尿液排出体外。HP- β -CD 在生物体内可促使被包物质迅速释放, 比其他环糊精的表面活性低、溶血活性低, 使用更安全, 本实验制备的包合物水溶性及稳定性均良好。

氮酮即 1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮, 是油溶性氮酮经改性成为高效水溶性产品, 其能使皮肤角质层与脂质相互作用, 降低有效物质向角质层间隙中脂质的相转移温度, 使药物或活性添加剂在角质层中的扩散阻力减少, 对亲油、亲水性药物和活性成分均有明显的透皮助渗作用。通过测定不同种类、不同浓度的透皮吸收促渗剂对白藜芦醇包合物乳膏体

不同接受液对药物体外透皮试验的影响

兰颐, 王琼, 安静, 陈岩岩, 王文平, 吴清*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 考察不同接受液对药物体外透皮试验的影响。方法: 以 5-氟尿嘧啶为模型药物, 用生理盐水配制一定浓度牛血清白蛋白(BSA)、苜蓿 98(Brij98)、泊洛沙姆 188、聚山梨酯 80(tween-80)、乙醇、 γ -环糊精及十二烷基硫酸钠溶液(SDS)作透皮试验接受液, 正常操作条件处理大鼠皮肤 12 h 后, 换以生理盐水并加入药物后测定模型药物的透皮吸收参数; 利用扫描电镜观察上述接受液对大鼠皮肤角质层的影响。结果: 3% BSA, 6% Brij98, 低浓度泊洛沙姆 188、tween-80、乙醇、 γ -环糊精对药物透皮吸收参数均无明显影响, 但后四者在高浓度条件下表现出一定影响, 离子型表面活性剂 SDS 对大鼠皮肤影响较为严重。结论: 体外透皮试验接受液可加入 3% BSA, 6% Brij98, 低浓度的泊洛沙姆 188, tween-80, 乙醇及 γ -环糊精以增加药物溶解度, 但浓度不宜过大; 离子型表面活性剂可能对药物透皮吸收有一定影响, 应慎重添加。

[关键词] 接受液; 接受液添加剂; 体外透皮试验; 经皮渗透

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0007-04

[doi] 10.11653/syfy2013130007

Effect of Different Receiving Solution on *in vitro* Drug Transdermal Test

LAN Yi, WANG Qiong, AN Jing, CHEN Yan-yan, WANG Wen-ping, WU Qing*

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[收稿时间] 20121223(014)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划项目(2012CB724001); 北京中医药大学自主选题项目(2011-JYBZZ-XS049); 北京中医药大学创新团队发展计划资助项目(2011-CXTD-13); 北京市自然科学基金项目(7132127)

[第一作者] 兰颐, 在读博士, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel: 010-84738645, E-mail: lanyifly@126.com

[通讯作者] * 吴清, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel: 010-84738611, E-mail: qwu@vip.sina.com

外透皮吸收的效果, 发现白藜芦醇包合物乳膏的最佳促渗剂为 1% 氮酮。

[参考文献]

- [1] 高守红, 杨少麟, 范国荣. 虎杖的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2005, 23(3): 145.
- [2] Goldberg D M, Ng E, Karumanchiri A, et al. Assay of resveratrol glucosides and isomers in wine by direct injection high performance liquid chromatography[J]. J of Chromatogr A, 1995, 708: 89.
- [3] 孙娟. 虎杖中白藜芦醇和挥发油的分离分析研究[D]. 长沙: 中南大学, 2007.
- [4] 梁辉, 邹盛勤. RP-HPLC 同时测定不同根龄虎杖根中虎杖苷和白藜芦醇[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 62.
- [5] 郭丽蓉, 周莉玲. 冰片 β -环糊精、羟丙基- β -环糊精包合物的制备及稳定性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 7.
- [6] 夏威. 白藜芦醇分子包合物的制备及其性能研究

[D]. 石家庄: 河北农业大学, 2012.

- [7] 周蕾, 陈彦, 张振海, 等. 不同促渗剂对芍药苷透皮吸收的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 2100.
- [8] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 263.
- [9] 张岭, 严子平, 张莉, 等. 不同透皮吸收促进剂对左旋肉碱透皮特性的影响[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(5): 559.
- [10] 方睿, 张海鸣, 王成芳, 等. 不同透皮吸收促进剂对灯盏花素凝胶剂透皮吸收的影响[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1174.
- [11] 张超. 氮酮对骨平巴布膏中葛根素体外透皮吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 1.
- [12] 杜茂波, 吴志成, 刘淑芝. 冠心凝胶膏剂的体外释放和透皮吸收评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 43.
- [13] 朱纛, 俞迪佳. 蛇床子挥发油羟丙基- β -环糊精包合工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 28.

[责任编辑 仝燕]