

## 以经皮微渗析技术研究芍药苷大鼠经皮吸收

蔡郁\*, 刘新颜, 梁文革  
(北京老年医院, 北京 100095)

**[摘要]** 目的:研究芍药苷的经皮渗透性,并考察透皮渗透促进剂氮酮(azone)对经皮渗透性的影响。方法:以 Wistar 大鼠为实验动物,采用经皮微渗析技术进行经皮渗透性研究。以浓差法测定探针的体外回收率,以反向渗析法测定探针的在体回收率。结果:氮酮可以显著提高药物透过性,1%,3%,5% azone 经皮传递率分别为 0.906 9,1.887 8,1.272 8  $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ 。结论:azone 是芍药苷经皮吸收优良的渗透促进剂,且促渗效果与浓度不成线性。经皮微渗析技术是在体研究药物经皮渗透性的有效手段。

**[关键词]** 芍药苷;氮酮;微渗析;经皮渗透

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0116-03

## Study on Transdermal Delivery of Paeoniflorin by Cutaneous Microdialysis in Rat

CAI Yu\*, LIU Xin-yan, LIANG Wen-ge  
(Beijing Geriatric Hospital, Beijing 100095, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the permeability of paeoniflorin with enhancer azone. **Method:** Wistar rats as experimental animal models, cutaneous microdialysis technique was used in penetration studies. The in vitro recovery of the probe was assessed by concentration difference method and in vivo recovery was estimated by retrodialysis method. **Result:** Azone could significantly increase drug permeability, with 1%, 3% and 5% azone transdermal delivery was 0.906 9, 1.887 8 and 1.272 8  $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ . **Conclusion:** Azone is an excellent enhancers for cutaneous absorption of paeoniflorin, and the penetration effect and the concentration will not be linear. The cutaneous microdialysis is a effective method for in vivo cutaneous penetration study.

**[Key words]** paeoniflorin; cutaneous microdialysis; azone; transdermal delivery

白芍为毛茛科植物芍药的干燥根。白芍总苷是从白芍中提取的有效部位。芍药苷(paeoniflorin)是白芍总苷中的主要药理活性有效单体,占总苷量的90%以上。微渗析(microdialysis)是一种以透析原理为基础,在组织细胞间隙测定内源性或外源性物质的在体连续取样技术,与传统的取样技术相比,微渗析在体取样具有强大的优势。经皮微渗析可以对实验动物皮肤组织进行在体、连续的药物浓度监测,使在体研究药物经皮吸收和局部用药物的生物等效

性评价成为了可能<sup>[1-13]</sup>。

### 1 材料

**1.1 仪器** 恒温磁力搅拌器(浙江乐清仪器厂);微渗析针管泵(沈阳药科大学);微渗析线性探针(吉林大学中日联谊医院);微渗析针管(上海光正医疗仪器有限公司);SPD-10A VP 高效液相检测器、LC-10AT VP 高效液相色谱泵(日本岛津株式会社)。  
**1.2 药物** 芍药苷(含量98%,南京择朗医药科技有限公司);乙腈(色谱纯,山东禹王集团试剂厂);氮酮(药用,广州市助剂化工厂);生理盐水(沈阳市志鹰制药厂);其余试剂均为分析纯。

**1.3 动物** Wistar 大鼠,(200 ± 20)g,雄性,合格证号 SCXK(辽)2010,沈阳药科大学实验动物中心。

**[收稿日期]** 2011-01-14

**[通讯作者]** \*蔡郁,副主任医师, Tel: 62482620, E-mail: xinpenguo@163.com

## 2 方法

**2.1 色谱条件** 色谱柱 CEC C<sub>18</sub> (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相 乙腈-0.1% 磷酸 21:79; 柱温 30 °C; 检测波长 230 nm; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量 20 μL。

**2.2 探针的体外回收率测定** 用浓差法测定探针的回收率表征介质中的药物浓度对半透膜传递速率的影响。在安瓿中加入 8.0 μg·mL<sup>-1</sup> 芍药苷生理盐水溶液, 瓶中加搅拌子搅拌。将有效渗析窗浸入到溶液中, 保持其长度为 1 cm, 药物质量浓度为 2.0, 4.0, 8.0, 24.0, 40.0 μg·mL<sup>-1</sup> 的系列生理盐水溶液作为灌注液, 每次改变灌注液的浓度时, 用相同浓度的灌注液冲洗 30 min。

**2.3 在体微渗析实验** 微渗析是利用半透膜制成的微渗析管对组织间液进行采样分析的技术。一个微渗析泵以 1 μL·min<sup>-1</sup> 的流速对探针输送生理盐水作为灌注液, 当探针植入到真皮之下, 组织液中的物质(浓度以 C<sub>p</sub> 表示)将通过半透膜, 扩散到灌注介质中, 并在灌注液中形成一定浓度(以 C<sub>d</sub> 表示), 采集样品并分析。每更换灌注液需平衡 30 min 以上。

**2.4 探针植入** 雄性 Wistar 大鼠, 用乌拉坦(1.2 g·kg<sup>-1</sup>, ip)麻醉, 剃腹部毛, 固定于鼠板上, 皮下插入一根注射针头用以引导微渗析管, 当微渗析管植入到皮下之后, 抽出针头, 调节有效渗析窗的长度为 1 cm, 用红外灯控制环境温度为 (37 ± 1) °C。

**2.5 探针在体回收率的测定** 用反向渗析法, 其原理是假定半透膜的两个方向的扩散速率是相等的。据此原理, 芍药苷溶液作为灌注液, 消除速率就是体内回收率。在体内实验中, 当探针植入之后, 空白生理盐水作为灌注液冲洗探针 1 h 后, 依次用系列质量浓度 2, 4, 8, 24, 40 μg·mL<sup>-1</sup> 的药物生理盐水溶液作为灌注液, 流速 1 μL·min<sup>-1</sup>。

**2.6 芍药苷的透皮吸收实验** 微渗析探针植入大鼠体内后, 在大鼠腹部剪毛区放置一圆形给药池(Φ18 mm), 以 502 胶固定, 使渗析窗刚好位于给药池的开口下面。首先用 1 μL·min<sup>-1</sup> 生理盐水为灌注液, 冲洗 1.5 h 后, 在给药池中加入含 5% 丙二醇的芍药苷凝胶, azone (1%, 3%, 5%) 作为渗透促进剂, 不含 azone 的 5% 丙二醇的芍药苷凝胶做对照。于 0~1, 1~2, 2~3, 3~4, 4~5, 5~6, 6~7 和 7~8 h 间收集渗析液样品。

## 3 结果与讨论

**3.1 探针的体外回收率** 用浓差法测得的体外回

收率见图 1, 渗析液与灌注液的质量浓度差 (C<sub>d</sub> - C<sub>p</sub>) 同灌注液的质量浓度 (C<sub>p</sub>) 之间在体外存在线性关系。直线与横轴的交点 7.699 μg·mL<sup>-1</sup> 表示周围介质的质量浓度, 与所配制的质量浓度 (8.0 μg·mL<sup>-1</sup>) 大致相等, 探针的回收率为 66.44%。据此说明, 在一定的浓度范围内, 芍药苷和渗析膜之间无相互作用, 药物从组织到灌注液的回收率等于药物从灌注液中到组织中的消除速率, 所以可以应用反向渗析法测定探针的在体回收率。

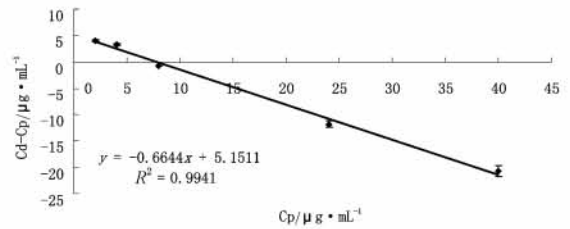


图 1 微渗析探针实验的体外回收率曲线 (n = 3)

**3.2 在体回收率** 微渗析探针中灌注液的连续流动导致了药物在组织液和灌注液之间的扩散不能完全达到平衡, 药物在渗析液中的浓度和在组织液中的浓度并不相等。相对回收率是指药物在渗析液中的浓度 (C<sub>d</sub>) 和在组织液中的浓度 (C<sub>p</sub>) 的比值, 其定义式为<sup>[11]</sup>:

$$R = \frac{C_d - C_p}{C_m - C_p}$$

如果组织液中药物的浓度相对灌注液中的浓度很低, 则可以认为 C<sub>m</sub> 为零, 传递率可由下式表示:

$$R = \frac{C_d - C_p}{C_p}$$

以渗析液与灌注液中芍药苷的浓度差 (C<sub>d</sub> - C<sub>p</sub>) 对灌注液中的药物浓度 (C<sub>p</sub>) 作图, 得到线性方程: C<sub>d</sub> - C<sub>p</sub> = -0.3892 C<sub>p</sub> - 0.2369 (r<sup>2</sup> = 0.9933), 计算得到回收率为 38.92%, 见图 2。体内回收率将在药物透过实验中用于计算药物浓度。

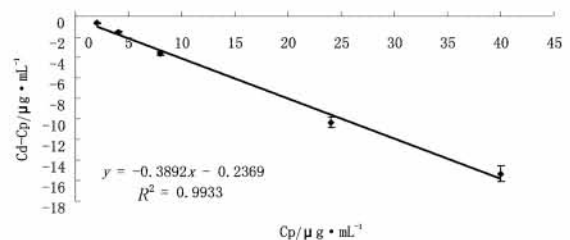


图 2 微渗析探针实验的在体回收率曲线 (n = 3)

**3.3 芍药苷透皮吸收实验** 局部给药后真皮下药物质量浓度对时间的曲线见图 3。从图中可以看出

azone 可以大大提高药物在渗析液中的浓度。渗析液中药物的累积量对时间的曲线见图 4。对图线中的直线部分进行回归,其直线部分的斜率为经皮传递率。0%,1%,3%,5% azone 的经皮传递率分别为 0.047 9,0.906 9,1.887 8,1.272 8  $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ 。由此可见 azone 是芍药苷在大鼠中经皮吸收的良好的渗透促进剂,3% azone 促渗效果最佳,提示促渗结果与 azone 浓度不成线性。

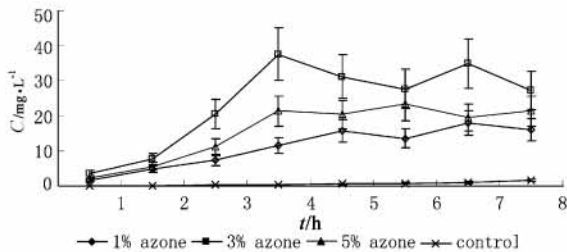


图 3 局部给药后真皮下药物浓度对时间曲线 (n = 3)

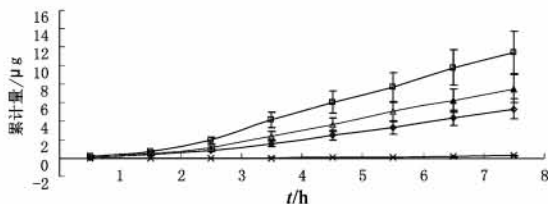


图 4 渗析液中药物的累积量对时间曲线

在药物的经皮吸收中,除了药物在渗析液中的质量浓度,作者更关心的是药物在组织液中的质量浓度,即本实验中为小鼠皮肤中的质量浓度。药物在皮肤中的游离质量浓度以下式计算<sup>[12]</sup>:

$$C_{\text{皮肤}} = C_d \cdot R^{-1} \times 100\%$$

芍药苷在皮肤中的浓度对时间的曲线见图 5。其形状与图 3 基本一致。可见对渗析液中药物质量浓度的监测可较好地反映皮肤中药物质量浓度随时间变化的情况。

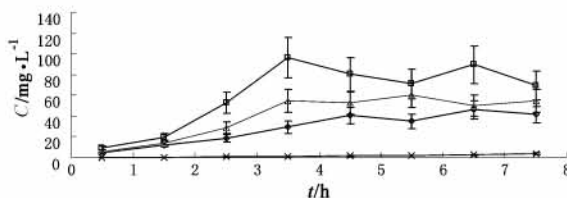


图 5 芍药苷在皮肤中的浓度对时间曲线

不论是渗析液中还是皮肤中的药物浓度-时间曲线图,都是真实地记录了药物浓度在整个监测时间区间内的连续变化情况,为评价药物疗效提供了十分重要的实验数据。也证实了微渗析技术是在体研究药物经皮渗透性的有效手段。

### [参考文献]

- [1] 朱全刚,奚炜,胡晋红. 微渗析技术及在经皮吸收研究中的应用[J]. 中国临床药理学杂志. 2003, 19(5):384.
- [2] Bungay P M, Morrison P F, Dedrick R L. Steady state theorfor quantitative microdialysis of solutes and water *in vivo* an *in vitro* [J]. Life Sci, 1990, 46(2):105.
- [3] Chu J, Gallo J M. Application of microdialysis to characterize drug disposition in tumors [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2000, 45(2/3):243.
- [4] Evrard P E, Deridder G, Verbeeck R K. Intravenous microdialysis in the mouse and the rat [J]. Pharm Res, 1996, 13(1):12.
- [5] Evrard P E, Ragusi C, Boschi G, et al. Simultaneous in brain and blood and the mouse; extra cellular and the intracellular brain colchicine disposition [J]. Brain Res, 1998, 786(1):122.
- [6] Man J, Scherrmann B J M, Bhargava H N. Relationship between morphine an algesia and cortical extra cellular fluid level of morphine and its metabolites in rat; A microdialysis study [J]. Br J Pharmacol, 1995, 116(8):3205.
- [7] Scott D O, Sorensen L R, Lunte C E. *In vivo* microdialysis sampling coupled to liquid chromatography for the study of acetaminophen metabolism [J]. J Chromatogr, 1990, 506(2):461.
- [8] Müller M, Schmid R, Wagner O, et al. *In vivo* characterization of transdermal drug transport by microdialysis[J]. J Control Release, 1995, 37:49.
- [9] Fang J Y, Hsu L R, Huang Y B, et al. Evaluation of transdermal iontophoresis of enoxacin from polymer formulations; *in vitro* skin permeation and *in vivo* microdialysis using Wistar rat as an animal model [J]. Int J Pharm, 1999, 180:137.
- [10] Ding P, Xu H, Wei G, et al. Microdialysis sampling coupled to HPLC for transdermal delivery study of ondansetron hydrochloride in rats [J]. Biomed Chromatogr, 2000, 14:141.
- [11] 丁平田,魏刚,李虹,等. 浓差法用于微渗析回收率的测定[J]. 中国药学杂志. 2001, 36:690.
- [12] 丁平田,徐晖,卞生杰,等. 以经皮微渗析技术研究奥旦西酮的大鼠在体经皮吸收[J]. 药学报, 2000, 35(4):305.
- [13] 郜琪臻,杨丽英,丁平田,等. 应用微渗析技术在大鼠中考察 2 种促渗剂对美洛昔康的渗透促进作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 125(3):178.

[责任编辑 何伟]