

伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg₁ 体外透皮吸收研究

吕佳, 程岚, 袁子民*, 李学涛

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的: 研究伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg₁ 的透皮吸收特性。方法: 采用 SD 大鼠腹部离体皮肤为渗透屏障, 体外透皮吸收, 采用 Franz 扩散池进行体外扩散实验, HPLC 法检测测定 Rg₁ 的含量。结果: 伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg₁ 可以透过大鼠腹部皮肤, 稳态渗透速率 J 为 $0.161 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 时滞 (T_{lag}) 为 0.368 h。结论: 本实验为伤科喷雾剂的剂型选择、制备工艺及处方的优化研究提供科学的依据。

[关键词] 伤科喷雾剂; 人参皂苷 Rg₁; 透皮吸收

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0018-03

Study of Percutaneous Absorption of Ginsenoside Rg₁ in Shangke Spray *in vitro*

LU Jia, CHENG Lan, YUAN Zi-min*, LI Xue-tao

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To study the percutaneous absorption of ginsenoside Rg₁ in Shangke spray *in vitro*. **Method:** The transdermal permeation tests of ginsenoside Rg₁ in Shangke Spray were performed through excised rat skin in Franz diffusion cells. Ginsenoside Rg₁ concentration was determined by HPLC. **Result:** Ginsenoside Rg₁ could penetrate through rat skin. The permeation rate and the lag time were $0.161 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ and 0.368 h respectively. **Conclusion:** The research provides experimental data for the design of shangke Spray.

[Key words] Shangke spray; ginsenoside Rg₁; percutaneous absorption

伤科喷雾剂由三七、制马钱子、骨碎补等十味中药组成的复方中药制剂, 具有活血化瘀, 消肿止痛, 续筋接骨之功。用于伤筋动骨, 瘀血肿痛。急慢性挫伤、扭伤、关节痛、神经痛、跌打损伤等。伤科喷雾剂不含抛射剂, 给药方便, 便于携带, 在局部治疗方面疗效显著, 方中三七为君药, 主要含有人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 及三七皂苷 R₁ 等皂苷类有效成

分, 具有扩张冠状动脉、增加冠状血流量、降低血小板表面活性、抑制血小板活化、黏附和聚集、降低血黏度、抗血栓形成等, 其中人参皂苷 Rg₁ 在三七总皂苷中含量较高, 为三七活血化瘀作用的主要有效成分, 因此本实验研究伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg₁ 主要成分的透皮吸收特性^[1-3], 为其剂型的选择、制备工艺及处方的优化、有效成分的含量测定、药理作用研究提供科学的依据。

1 材料

SD 大鼠, 180 ~220 g, 雄性, 大连医科大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(辽) 2004 - 0017。

TT-6 透皮吸收仪(天津正通科技有限公司, Franz 池内径 9.00 mm; Franz 池体积 5 mL; 有效扩散面积 0.64 cm^2); Agilent1100 高效液相色谱仪(chemstation system 工作站); 电子分析天平(METTLER AE200); 人参皂苷 Rg₁ 对照品(中国药品生物

[收稿日期] 20100808(002)

[基金项目] 辽宁省教育厅青年基金计划 A 课题(05L257)

[第一作者] 吕佳, 副教授, 从事中药制药技术研究与新药研究开发, E-mail: lvjiaemail@163.com, Tel: 0411-87586010

[通讯作者] * 袁子民, 讲师, 主要从事药物新剂型研究, E-mail: yuanzmin@163.com, Tel: 0411-87586010

制品检定所,批号 110703-200424);乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯;伤科喷雾剂,辽宁中医药大学药物制剂教研室自制。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 Rg₁ 的含量测定

2.1.1 色谱条件 Diamonsil™(钻石) C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(22:78),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 203 nm,柱温室温。

2.1.2 对照品溶液制备及线性关系考察 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品适量,用甲醇制成 1 mL 含人参皂苷 Rg₁ 0.198 4 mg 的储备液,分别精密吸取上述储备液 0.25, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 10

μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,对照品浓度为横坐标,绘制标准曲线。其回归方程为 $Y = 2\,643.4 X + 4.906\,3$, $r = 0.999\,3$ 。最低定量限为 8 ng(S/N 3)。结果表明,人参皂苷 Rg₁ 在质量浓度 1.984 ~ 198.4 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.1.3 阴性干扰试验 取去除三七以外的其他药材,按喷雾剂制法制成阴性样品,按透皮实验方法,同法操作,制成透皮 12 h 阴性液。精密吸取透皮吸收供试品溶液、阴性液、对照品溶液各 10 μL,按上述色谱条件测定,结果阴性液在与人参皂苷 Rg₁ 相同保留时间处无色谱峰出现(见图 1~3),阴性液对本品含量测定无干扰。

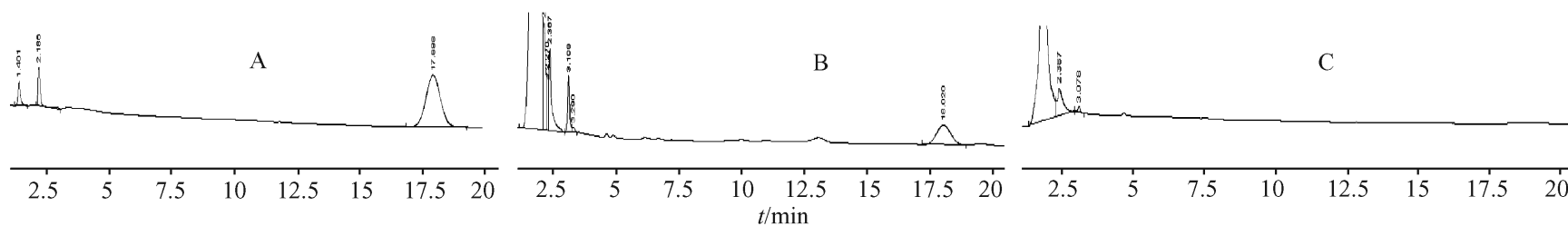


图 1 人参皂苷 Rg₁ 的含量测定 HPLC

A. 人参皂苷 Rg₁ 对照品; B. 透皮吸收供试品; C. 阴性液

2.1.4 精密度试验 精密吸取同一透皮吸收供试品溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,连续进样 5 次,分别测定色谱峰峰面积,结果表明,精密度良好,为 1.65% (n=5)。

2.1.5 稳定性试验 精密吸取同一透皮吸收供试品溶液,按 0, 2, 4, 6, 8 h 时间间隔,分别进样,测定色谱峰面积,结果表明,样品溶液在 8 h 内保持稳定, RSD 1.59% (n=5)。

2.1.6 方法回收率 在空白透皮吸收样品液中,分别加入人参皂苷 Rg₁ 对照品各 3 份,使成浓度为 10, 90, 180 mg·L⁻¹,按上法测定,求得平均回收率分别为 96.2%, 98.6%, 101.5%, RSD 分别为 1.2%, 1.1%, 0.93% (n=3)。

2.2 体外透皮实验

2.2.1 离体皮肤的制备 取 SD 大鼠,以 200 g·L⁻¹ 乌拉坦麻醉大鼠后,用电动剃毛器(model 900, TGC, Japan)剃除鼠毛,再用剃须刀仔细剃刮大鼠腹部皮肤,至肉眼见皮肤表面光洁,断颈处死大鼠,剥离约 5 cm² 的大鼠全层腹部皮肤,小心地去除所黏附的皮下脂肪,用生理盐水漂洗干净,滤纸吸干水分,用铝箔平展包好,置于 -20 °C 冰箱中保存备用,保存时间不超过一周。试验前将皮肤取出,于生理盐水中

解冻,用滤纸吸干后立即使用。

2.2.2 离体皮肤渗透实验 取自然解冻的离体鼠皮固定于 Franz 扩散池中间,使角质层朝向供给池。接受池体积为 5 mL,有效扩散面积 0.64 cm²,接通仪器电源,打开开关,池内循环水温度设为 (32 ± 0.5) °C,转速 300 r·min⁻¹;温度平衡后,接受池精密加入预热至 32 °C 的 30% 乙醇的生理盐水接受液 5 mL,排除空气,并放入加转子,于供给池中精密加入伤科喷雾剂 1.0 mL(人参皂苷 Rg₁ 含量为 1.047 5 g·L⁻¹),平衡 30 min 后,于 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 间隔时间定时取样 1 mL (n=5),同时补加 1 mL 等温的接受液于接受池中保持原体积。

2.2.3 供试品溶液的制备及测定 将各时间点的透皮接受液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液,分别精密吸取 10 μL,注入高效液相色谱仪,按 2.1.1 色谱条件测定浓度。

2.2.4 数据处理 根据下列公式计算各时间点的伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg₁ 累积透过量:

$$Q = \frac{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_i}{A}$$

式中, Q 为单位面积累积透过量(mg·cm⁻²); A 为有效经皮吸收面积(0.64 cm²); V 为接受液体积

(5 mL); V_i 为取样体积 (1 mL); C_n 为第 n 次取样测得的接受液中药物的质量浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); C_i 为第 i ($i = n-1$) 个取样点测得的接受液中药物浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); $C_i V_i$ 为取样时带走的药物累积和。以单位面积累积透过量 Q 对时间 t (h) 作图进行线性拟合, 得透皮曲线, 直线部分的斜率即为稳态渗透速率 J ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$), 直线与 X 轴的交点为时滞 (T_{lag})。

2.2.5 结果

2.2.5.1 累积透过量 Q 及 12 h 累积透过率计算结果 根据 HPLC 含量测定结果及累积透过量计算公式, 不同时间点伤科喷雾剂中累积透过量 Q 计算结果见表 1。经计算, 12 h 累积透过率为 72.8%。

表 1 累积透过量计算 ($n=5$)

取样时间 / h	累积透过量 / $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$
1	0.052 1
2	0.243 7
4	0.605 2
6	0.928 0
8	1.339 8
12	1.788 2

2.2.5.2 稳态渗透速率 J 及时滞 (T_{lag}) 将 Q 对 t 进行线性拟合, 得回归方程为: $Q = 0.161t - 0.059 2$, $r = 0.994 6$; 由方程可知, 伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg_1 大鼠离体皮肤的稳态渗透速率 J 为 $0.161 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 时滞 (T_{lag}) 为 0.368 h, 透皮吸收曲线见图 2。

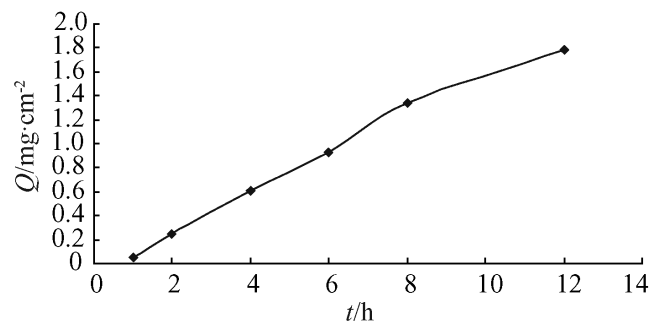


图 2 伤科喷雾剂中人参皂苷 Rg_1 透皮吸收曲线

3 讨论

透皮接受液的选择 本实验分别用生理盐水、pH7.4 磷酸盐缓冲液、30% 乙醇的生理盐水为接受液, 以 12 h 的人参皂苷 Rg_1 渗透量为考察指标。结果表明, 以 30% 乙醇的生理盐水人参皂苷 Rg_1 透过量较大, 故选择 30% 的乙醇生理盐水为接受液。

中药复方制剂, 药味较多, 所含成分复杂, 体外透皮试验只能选用有代表性的指标成分进行研究分析, 因此试验结果的真实性和试验结论的可靠性有待研究。此外, 体外透皮试验失去了机体完整统一的内环境和体液调节, 研究结果与整体药效的相关性, 也需要进一步考察。

[参考文献]

- [1] 孙亦群, 周莉玲, 陈孝银. 九分喷雾剂透皮吸收接收液的筛选 [J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(1): 45.
- [2] 白志华, 方晓玲. 三七总皂苷中人参皂苷 Rg_1 体外透皮吸收的实验研究 [J]. 中成药, 2006, 28(5): 639.
- [3] 周敏, 顾宜, 张三奇, 等. 氮酮对人参皂苷 Rg_1 和米诺地尔透皮吸收的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(10): 958.

[责任编辑 仝燕]