

- [4] 吕归宝. 藤黄中新藤黄酸的分离及其结构[J]. 药学学报, 1984, 19(8): 636.
- [5] 曲宝玺, 郝晓阁, 李德华. 藤黄 II 号抗癌作用的实验研究[J]. 中国肿瘤临床, 1991, 18(1): 50-52.
- [6] 杨莉, 王梅, 程卉, 等. 新藤黄酸诱导细胞凋亡抑制 A549 细胞裸鼠移植瘤增长的研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1217-1221.
- [7] 冯传平, 周娟, 黄鹏, 等. HPLC 测定新藤黄酸的含量[J]. 安徽中医学院学报, 2006, 25(5): 48-49.
- [8] 周安, 李庆林, 彭代银, 等. HPLC 法测定藤黄中藤黄酸和新藤黄酸的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(8): 53-54.
- (编辑: 梁进权)

不同基质和促渗剂对川芎嗪凝胶经皮吸收的影响

卢映¹, 涂星², 吴俊洪¹, 吕耿彬¹, 陈豆¹, 陈晓丹¹, 黄雨威¹, 王利胜¹(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 考察不同基质和促渗剂对川芎嗪凝胶经皮吸收的影响。方法 采用改良 Franz 扩散池, 以离体裸鼠皮肤为屏障, 用 HPLC 法测定不同基质(1 %卡波姆、5 %CMC-Na、5 %HPMC)和不同促渗剂(氮酮、油酸、冰片和冰片-薄荷脑低共融物)对川芎嗪凝胶的累积渗透量、渗透吸收速率、增渗倍数等参数的影响。结果 以 1 %卡波姆为基质时透皮吸收效果最好, 几种促渗剂均可较好的促进川芎嗪凝胶的经皮吸收, 尤以 5 %氮酮以及冰片-薄荷脑(3 % : 3 %)低共融物的促渗效果最佳。结论 1 %卡波姆为最佳的凝胶基质, 5 %氮酮或者冰片-薄荷脑(3 % : 3 %)低共融物为川芎嗪凝胶最佳的促渗剂。

关键词: 川芎嗪凝胶; 基质; 促渗剂; 经皮吸收, 高效液相色谱

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)02-0166-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.016

Effect of Different Matrices and Penetration Enhancers on Transdermal Absorption of Tetramethylpyrazine Gel
LU Ying¹, TU Xing², WU Junhong¹, LV Gengbin¹, CHEN Dou¹, CHEN Xiaodan¹, HUANG Yuwei¹, WANG Lisheng¹ (1. School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of different matrices and penetration enhancers on the transdermal absorption of the tetramethylpyrazine (TMP) gel. **Methods** Improved Franz diffusion cell was adopted as the apparatus for in-vitro nude mouse skin permeation. The kinetic parameters of percutaneous absorption, such as permeability amount, penetration rate and enhancing rate were determined by HPLC. Different matrices (1 % carbopol, 5 % CMC-Na, 5 % HPMC) and different penetration enhancers such as azone, oleic acid(OA) borneol and borneol-mentholum eutectic mixture were investigated in percutaneous absorption effects. **Results** The effect of the transdermal absorption of the TMP gel was the best when the matrix was 1 % carbopol. All the penetration enhancers increases the absorption of the TMP gel significantly, in particular 5 % azone and 6 % borneol-mentholum eutectic mixture(3 % : 3 %). **Conclusion** The optimal matrix is one percent of carbopol, and the optimal penetration enhancer is the five percent of azone or the six percent of borneol-mentholum eutectic mixture(3 % : 3 %).

Keywords: Tetramethylpyrazine gel; Matrices; Penetration enhancers; Percutaneous absorption; HPLC

川芎嗪(Tetramethylpyrazine, TMP)是从川芎中提取的主要有效成分, 具有扩张血管、抑制血小板聚集、防止血栓形成、改善脑缺血等多种作用, 疗效显著, 但其半衰期短, 需要频繁给药以维持有效

血药浓度^[1-2]。川芎嗪的分子量小, 熔点低且易挥发, 已证实有良好的透皮性能^[3], 将其制成适宜的外用制剂并添加适宜的促渗剂能够达到延长药物作用时间, 减少给药次数的目的^[4]。因此, 本文拟

收稿日期: 2012-07-15

作者简介: 卢映, 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物新剂型与新技术。Email: 626418922@qq.com。通讯作者: 王利胜, 教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 药物新剂型与新技术。Email: 541718797@qq.com。

以川芎嗪为模型药物,以离体裸鼠皮肤为透皮屏障,考察不同基质和不同促渗剂对川芎嗪凝胶经皮吸收的影响。

1 材料

1.1 药品及试剂 川芎嗪对照品,中国药品生物制品检验所,供含量测定用,批号:20040112;川芎嗪原料药,质量分数 $\geq 98.5\%$,江苏南京泽朗医药科技有限公司;乙腈,色谱纯,迪马公司;氮酮(Azone),天津市北联精细化学品开发有限公司;油酸(OA),广州化学试剂厂;薄荷脑,纯度 $\geq 98.5\%$,上海开拓生物科技有限公司;冰片,纯度 $\geq 98.5\%$,江西吉安市林科天然冰片厂;其他试剂均为分析纯。

1.2 动物 健康雄性裸鼠,6~7 周龄,体质量(30 ± 10) g,广州中医药大学实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)2008-0020,粤监证字号:2008A002。

1.3 仪器 TK-12A 型透皮扩散试验仪(7 mL 立式玻璃扩散池,接口面积 2.92 cm^2),上海锴凯科技贸易有限公司;KQ5200DE 型数控超声清洗器,江苏省昆山市超声仪器有限公司;Waters 高效液相色谱仪(515 泵,2487 紫外检测器),美国 Waters 公司;N 3000 色谱工作站,浙江大学。

2 方法与结果

2.1 川芎嗪凝胶及空白基质的制备 取 0.1 g 卡波姆、甘油 0.5 g 与蒸馏水 5 mL 混合;将川芎嗪原料药 0.5 g 用适量热水溶解加入上液,加蒸馏水至 10 mL,搅匀。放置溶胀 24 h,即得 1%卡波姆为基质的川芎嗪凝胶。同法制备 5%CMC-Na、5%HPMC 为基质的川芎嗪凝胶,并制备 1%卡波姆、5%CMC-Na、5%HPMC 空白基质。

2.2 分析方法的建立

2.2.1 供试液及标准溶液制备 精密称取川芎嗪凝胶 2 g,置烧杯中,加乙醇-生理盐水(3:7)溶解,定容至 100 mL 棕色容量瓶中,即为样品溶液。同法制备空白基质溶液。精密称取干燥至恒重的川芎嗪对照品 20 mg,以乙醇-生理盐水(3:7)溶解并定容至 100 mL,即得 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的川芎嗪对照品溶液储备液。

2.2.2 色谱条件 C_{18} 色谱柱(Diamonsil™ 钻石 250 mm $\times$ 4.6 mm, $5\text{ }\mu\text{m}$);流动相:乙腈-0.5%醋酸水溶液(36:64);流速: $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长:295 nm;进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$,柱温: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。理论塔板数按川芎嗪峰计应不低于 5000。色谱图见图 1。

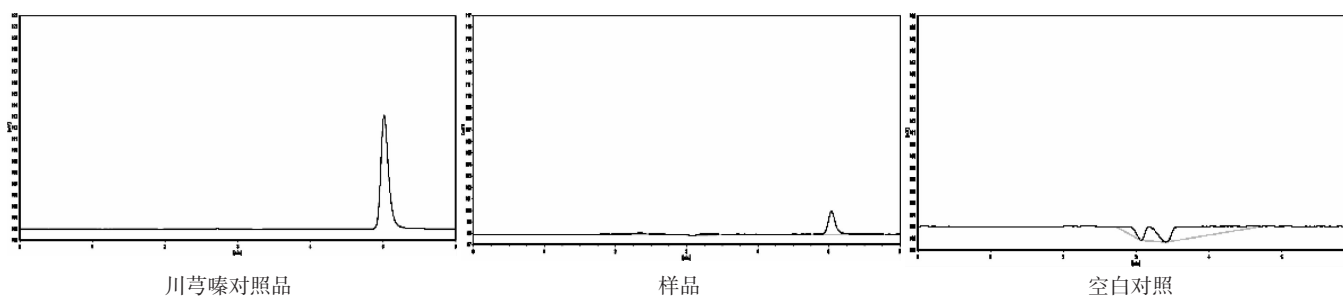


图 1 川芎嗪凝胶 HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC result for of the TMP gel

2.2.3 标准曲线的制备 取川芎嗪对照品储备液加乙醇-生理盐水(3:7)稀释成含川芎嗪 5, 10, 20, 50, 100, $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列溶液,按 2.2.2 项下色谱条件测定,以峰面积(Y)对川芎嗪质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程为 $Y=53.72X+219.64$, $r=0.9992$ 。结果表明,川芎嗪浓度在 $5\sim 200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,线性关系良好。

2.2.4 精密度试验 分别取低、中、高 3 个浓度的川芎嗪对照品溶液,1 d 内重复测定 3 次,计算日内精密度;隔天测定 1 次,连续测定 3 次,计算日间精密度。结果日内 RSD 小于 1.12%,日间 RSD 小于 2.45%,表明仪器的精密度良好。

2.2.5 方法回收率 取浓度为 20, 50, $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的低、中、高 3 个浓度的川芎嗪溶液,各 5 份,经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,按上述色谱条件,测定其吸收峰面积,用标准曲线计算浓度。低、中、高 3 个浓度的平均回收率分别为 101.54%、99.62% 和 100.38%,RSD 分别为 2.18%、1.75% 和 1.43%,符合分析要求。

2.2.6 稳定性考察 取 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的川芎嗪溶液,置 $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中,并于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 h 测定溶液中的川芎嗪含量。结果 RSD 为 2.34%,川芎嗪在 36 h 内未发生明显变化,表明川芎嗪在实验过程中具有较好的稳定性。

2.3 透皮吸收实验^[5]

2.3.1 离体皮肤的制备与保存 取 6~7 周龄的裸鼠，处死后小心剥离腹部和背部皮肤，剔除皮下脂肪组织及粘连物，用生理盐水反复冲洗干净，置于 -20 ℃ 冰箱中保存备用。实验前自然解冻，每次实验前检查皮肤的完整性，不能有任何破损。

2.3.2 实验方法的建立 将处理好的裸鼠皮肤固定于扩散池的供给池与接受池之间，角质层面面向供给池。供给池中加入川芎嗪凝胶及相应的促渗剂，接受池中加入 7 mL 乙醇 - 生理盐水(3 : 7)作为接受介质，排出气泡使液面恰与皮肤内层接触。调节扩散池温度至(32 ± 1)℃，恒速搅拌 (约 200 r·min⁻¹)，分别于实验开始后 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 从样品接受池中吸取 1 mL 接受液，同时各补加同温度同体积接受液。将所吸取的接受液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，按 2.2.2 项下进样分析，并按下式计算累积渗透量(*Q*)、渗透速率常数(*J*)和增渗倍数(*ER*)。

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

$J = dQ/dt$ (即 $Q-t$ 方程斜率)

$ER = J/J_0$

式中， Q : t 时间药物的面积透过量(μg·cm⁻²)； C_n : 第 n 个取样点测得的药物浓度(μg·mL⁻¹)； V : 接受液总体积(mL)； A : 渗透面积(cm²)； C_i : 第 i 个取样点测得的药物浓度 (μg·mL⁻¹)； J 为透皮速率常数 (μg·cm⁻²·h⁻¹)； J_0 为未加促渗剂的透皮速率常数 (μg·cm⁻²·h⁻¹)。

2.3.3 不同基质对川芎嗪凝胶的透皮吸收的影响 按照 2.1 项下处方分别配制以 1 %卡波姆、5 % CMC-Na、5 %HPMC 为基质的凝胶剂，按 2.3.2 项下方法进行试验，见表 1。

表 1 不同基质的川芎嗪凝胶的透皮吸收结果($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 The effects of different matrices on the transdermal penetration of the TMP gel

基质	$Q-t$ 方程	r	$J/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$
1 %卡波姆	$Q=68.06t-45.21$	0.9980	68.06 ± 2.93
5 %CMC-Na	$Q=39.35t-29.15$	0.9978	39.35 ± 3.24
5 %HPMC	$Q=49.34t-35.27$	0.9988	49.34 ± 1.92

由表 1 可以看出，当以 1 %卡波姆作为川芎嗪凝胶的基质时，其透皮吸收速率常数 J 最大，说明 1 %卡波姆作为基质更有利于川芎嗪凝胶的经皮吸收。

2.3.4 不同促渗剂对川芎嗪凝胶的透皮吸收的影响

以 1 %卡波姆为基质，分别在供给池中加入不同用量的氮酮、油酸、冰片和冰片 - 薄荷脑低共融物为透皮促进剂，按 2.3.2 项下方法进行试验，考察不同促渗剂及其用量对川芎嗪凝胶的透皮吸收的影响，见表 2。

表 2 不同促渗剂对川芎嗪凝胶的透皮吸收的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 2 The effects of different penetration enhancers on the transdermal penetration of the TMP gel

种类	用量 / %	$Q-t$ 方程	r	J	ER
空白	0	$Q=68.06t-45.21$	0.9980	68.06 ± 2.93	1.00
氮酮	1	$Q=106.42t-49.36$	0.9942	106.42 ± 5.03	1.56
	3	$Q=118.96t-53.88$	0.9936	118.96 ± 5.18	1.75
	5	$Q=136.14t-42.66$	0.9964	136.14 ± 2.24	2.00
油酸	1	$Q=79.12t-46.36$	0.9972	79.12 ± 3.12	1.16
	3	$Q=82.56t-39.63$	0.9991	82.56 ± 6.63	1.21
	5	$Q=91.44t-63.72$	0.9966	91.44 ± 5.36	1.34
冰片	1	$Q=72.35t-88.59$	0.9868	72.35 ± 7.16	1.06
	3	$Q=79.96t-101.35$	0.9859	79.96 ± 6.26	1.17
	5	$Q=80.64t-120.08$	0.9901	80.64 ± 3.89	1.18
冰片 - 薄荷脑	1	$Q=98.87t-88.69$	0.9924	98.87 ± 3.61	1.45
	3	$Q=109.42t-68.94$	0.9857	109.42 ± 4.02	1.61
(1 : 1)	6	$Q=132.26t-81.36$	0.9948	132.26 ± 3.77	1.94

由表 2 可见，不同用量的促渗剂对川芎嗪凝胶的透皮吸收均有一定的促进作用。其中 5 %氮酮和冰片 - 薄荷脑 (3 % : 3 %) 低共融物的促渗效果最佳，增渗倍数高达 2.00 和 1.94。此外，研究结果还表明，冰片和薄荷脑联合使用比单用冰片时经皮吸收促进效果更明显，但是单用冰片作为促渗剂时，其透皮时滞较其他促渗剂延长($T_{lag} > 1$ h)，提示冰片单用时可能与川芎嗪凝胶存在竞争性透过。

3 讨论

在经皮给药系统中，药物经皮渗透受药物理化性质、载体、促渗剂类型及浓度等多种因素的影响，其中载体和促渗剂的影响较为显著^[6]。本文以 3 种不同凝胶基质制备川芎嗪凝胶，并进行经皮吸收实验，发现以 1 %卡波姆作为凝胶基质时，其渗透速率常数和总渗透率显著高于 5 %CMC-Na 组和 5 %HPMC 组，故可选用 1 %卡波姆为川芎嗪凝胶的基质。

本文对 4 种不同促渗剂和同一促渗剂的不同浓度进行考察，发现 4 种促渗剂在不同浓度时对川芎嗪凝胶均有促渗作用，其中以 5 %氮酮和冰片 - 薄荷脑(3 % : 3 %)低共融物作为促渗剂时，川芎嗪凝胶的经皮吸收速率较大，增渗倍数几乎可以达到 2.0。氮酮的作用机制主要是破坏角质层皮肤，增加角质层间细胞的流动性，降低药物的扩散阻力，并可作

用于细胞内脂质, 增加角质细胞的含水量, 从而达到促进水溶性药物的经皮吸收效果^[6-7]。因此, 本实验的结果提示, 川芎嗪凝胶经皮吸收的影响可能与皮肤角质层有较大的相关性, 有待进一步研究。

研究中发现冰片和薄荷脑联用比单用冰片效果更佳, 但单用冰片的滞后时间较长, 可能是因为冰片与川芎嗪凝胶存在竞争性渗透有关, 尚需要做进一步的深入探讨。

此外, 在实验中, 要保证接受液液面充分接触到离体皮肤, 需防止气泡的产生; 取样后补充的接受液与接受池中的接受液温度要保持一致, 以免影响透皮效果而产生误差。

参考文献:

[1] 阮琴. 川芎挥发油、川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用

[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(9): 642-643.

[2] 郭琦, 王利胜, 石宗丰, 等. 芎冰微乳抗脑缺血再灌注损伤保护作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(5): 477-480.

[3] Shi J, Cong W, Wang Y, et al. Microemulsion-based patch for transdermal delivery of huperzine A and ligustrazine phosphate in treatment of Alzheimer's disease[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2012, 8(6): 752-761.

[4] Zhang CF, Yang ZL, Luo JB, et al. Effects of cinnamene enhancers on transdermal delivery of ligustrazine hydrochloride[J]. 2007, 67(3): 413-419.

[5] 王利胜, 张升, 刘丽萍, 等. 青藤碱微乳凝胶的制备及体外透皮吸收特性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(1): 21-24.

[6] 付丽红, 于鲁海. 不同浓度促渗剂和接收液对驱虫斑菊软膏体外渗透的影响[J]. 中国药房, 2007, 18(22): 1703-1705.

[7] 王栋, 韩国柱, 陈兆军. 促渗剂对茶多酚搽剂体外经皮渗透的影响[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(13): 1171-1174.

(编辑: 梁进权)

LC-MS/MS 同时测定大鼠血浆中红景天苷和酪醇及其药物动力学研究

吴趋凡, 李 耿, 符 崖(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 建立大鼠血浆中红景天苷及其苷元酪醇的测定方法, 并研究其药物动力学。**方法** 取大鼠 10 只灌胃给予红景天苷 100 mg·kg⁻¹, 检测给药前和给药后 24 h 内红景天苷及酪醇的血浆浓度, 并计算其药动学参数。采用液相色谱-串联质谱法, 以水杨苷为内标, 色谱柱为 Alltima C₁₈, 流动相: 甲醇-水(80:20), 等度洗脱, 流速为 0.3 mL·min⁻¹, 柱温为 40 ℃, 电喷雾负离子源, 红景天苷、酪醇和水杨苷的选择检测离子质荷比(*m/z*) 分别为 299.2→119.6, 137.1→119.0 和 285.1→122.9。**结果** 红景天苷和酪醇检测浓度的线性范围分别为 50~5000(*r*=0.9991)、5~500(*r*=0.9994) ng·mL⁻¹, 最低检测限分别为 6.25, 2.5 ng·mL⁻¹; 药动学参数: 红景天苷的 *t*_{1/2β} 为(5.67±0.84) h, *C*_{max} 为(3914.7±915.8), AUC_{0-24 h} 为(8434.2±213.8) ng·h·mL⁻¹; 酪醇的 *t*_{1/2β} 为(6.24±0.91) h, *C*_{max} 为(289.3±44.6) ng·mL⁻¹, AUC_{0-24 h} 为(1236.7±73.4) ng·h·mL⁻¹。**结论** 本方法专属性强、灵敏度高、准确性好, 可用于红景天苷和酪醇的血药浓度测定, 红景天苷和酪醇在大鼠体内的药动学符合二室模型特征。

关键词: 红景天苷; 酪醇; 大鼠; 液相色谱-串联质谱法; 药物动力学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0169-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.017

Simultaneous Determination of Salidroside and Tyrosol in Rat Plasma by LC-MS/MS and Application to Their Pharmacokinetic Study

WU Qufan, LI Geng, FU Ya (School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a method to determine the plasma concentration of salidroside and its aglycone metabolite tyrosol in rat by using LC-MS/MS, and to calculate the pharmacokinetic parameters of salidroside and its aglycone metabolite tyrosol in rat after oral administration of 100 mg·kg⁻¹ salidroside. **Methods** Ten rats were given in-

收稿日期: 2012-08-26

作者简介: 吴趋凡, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药药代动力学。Email: xiaowudd@163.com。