

含量的变化及 TMP的影响:大鼠浸水应激后胃粘膜 NOS活力和 NO<sup>2</sup> /NO<sup>3</sup> 含量均明显降低,而 ip TMP (20 mg/kg)可抑制浸水应激导致的 NOS活力和 NO<sup>2</sup> /NO<sup>3</sup> 含量的降低(表 4)

表 4 TMP对浸水应激大鼠胃粘膜 NOS活力和 NO<sup>2</sup> /NO<sup>3</sup> 含量的影响

组别	动物数	NOS活力 (U/mg蛋白)	NO <sup>2</sup> /NO <sup>3</sup> 含量 (nmol/mg蛋白)
I	5	0.52±0.02	9.98±2.39
II	6	0.47±0.03*	3.24±1.79**
III	6	0.60±0.07#	9.46±3.46#

与空白组(I)比较:\*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001

与对照组(II)比较:## P < 0.01

### 3 讨论

曾有报道<sup>[1,2]</sup>川芎嗪具有抗大鼠中枢神经系统损伤和失血性休克导致的胃溃疡的作用。本研究结果表明,川芎嗪具有抗大鼠浸水应激性胃溃疡的作用。

吴佐泉等<sup>[1]</sup>报道口服川芎煎剂对中枢损伤应激大鼠胃酸分泌无影响。本实验显示 ip川芎嗪虽能促进胃液的分泌,但对胃酸的分泌无影响。提示 TMP抗应激性溃疡不是通过抑制胃酸分泌途径来实验的。

胃运动亢进是导致应激性溃疡的重要原因<sup>[8,9]</sup>。本研究表明 TMP能抑制第 1~4小时胃运动的频率和第 1~3小时胃运动的幅度,而第 5小时胃运动的频率和后 2h胃运动幅度也低于对照组,但差异不显著,这可能是由于药物在体内排泄而药效逐渐丧失的缘故。因此,抑制胃运动可能是 TMP抗溃疡的机制之一。

Masuda 等<sup>[10]</sup>报道, N<sup>G</sup>硝基-L-精氨酸(L-NNA,一种 NOS的抑制剂)可加重酒精导致的胃粘膜损伤,提出胃粘膜 NO含量的下降与胃溃疡的发生有直接的关系。我们也观察到 L-NNA可加重浸水应激性胃溃疡的发生,而 L-精氨酸(L-Arg)可翻转这一作用(待发表)。近年来的研究表明,NO具有抑制消化道平滑运动的功能<sup>[11]</sup>。本研究结果表明,浸水应激后大鼠胃粘膜 NOS活力和 NO<sup>2</sup> /NO<sup>3</sup> 含量均明显降低,说明 NOS活力降低,使 NO合成减少与浸水应激性溃疡的发生有直接的关系,NO合成减少也可部分解释浸水应激后胃运动的亢进。TMP能抑制浸水应激引起的胃粘膜 NOS活力和 NO含量的下降,表明 TMP的抗溃疡作用与其恢复 NOS活力,提高 NO含量,进而抑制了应激导致的胃运动的亢进有关。但浸水应激引起 NOS活力降低及 TMP使 NOS活力恢复的原因还不清楚,仍有待深入研究。

### 参考文献

- 1 吴佐泉,等.中国病理生理杂志,1989,5:307
- 2 李和泉,等.中国病理生理杂志,1991,7:294
- 3 Wan J L, et al. Dig Dis Sci, 1998, 43:1652
- 4 Wan J L. Exp Clin Gastroenterol, 1993, 3:154
- 5 Guth P H, et al. Gastroenterology, 1979, 76:88
- 6 Murakami M, et al. Dig Dis Sci, 1985, 30:346
- 7 Takeuchi K, et al. Dig Dis Sci, 1985, 30:1181
- 8 艾洪滨,等.生理学报,1990,42:496
- 9 Garrick T, et al. Am J Physiol, 1986, 250:G191
- 10 Masuda E, et al. Gastroenterology, 1995, 108:58
- 11 Whittle BJR. Physiology of the Gastrointestinal Tract. 3rd ed, New York: Raven Press, 1994:267

(1999-07-08收稿)

## 磷酸川芎嗪的体外透皮吸收

广东医学院药理学教研室(湛江 524023) 王 晖\* 高莉莉\*\* 许卫铭 刘 刚

摘要 对磷酸川芎嗪透皮吸收的规律及释药机制进行探讨。采用离体透皮实验装置,通过改变药物浓度、pH值、促透剂及皮肤状态,研究磷酸川芎嗪的透皮吸收。结果发现随着磷酸川芎嗪浓度增加,渗透系数明显增加;pH增大,渗透系数随之增加;氮酮在 1%时可显著增加磷酸川芎嗪的透皮吸收;当去除角质层后,渗透系数比完整皮肤增加近一半;完整皮肤的贮库效应大于去角质层皮肤。提示磷酸川芎嗪可透皮吸收,吸收的主要屏障是角质层,且存在着贮库效应。

关键词 磷酸川芎嗪 透皮吸收 贮库效应 渗透系数

### Transdermal Absorption of Ligustrazine Phosphate *in vitro*

Section of Pharmacology, Guangdong Medical College (Zhanjiang 524023) Wang Hui, Gao Lili, Xu Weiming and Liu

\* Address: Wang Hui, Department of Pharmacology, Guangdong Medical College, Zhanjiang

\*\* 本院中心实验室

Gang

**Abstract** Factors influencing the transdermal penetration of ligustrazine phosphate (LP) through rabbit skin were studied *in vitro*. Results showed that the permeation coefficient was increased when the concentration of LP and pH increased; 1 percent azone could significantly enhanced LP transdermal absorption; the permeation coefficient of stripped stratum corneum skin was higher than that of whole skin; and the deposit function of whole skin was larger than that of stripped stratum corneum skin. It was concluded that LP could be absorbed through skin, the main barrier of absorption was the stratum corneum, and LP had the deposit function also in the stratum corneum.

**Key words** ligustrazine phosphate transdermal absorption deposit function permeation coefficient

川芎嗪是伞形科植物川芎的一种主要生物碱,临床上用于多种心脑血管病等的治疗<sup>[1]</sup>。药物动力学研究发现该药的半衰期较短<sup>[2,3]</sup>,如需长时期维持疗效需持续用药,给临床用药带来不便。为克服此缺点,国内已有厂家开始着手进行透皮制剂的研制<sup>[4]</sup>,但迄今为止,尚未见到有关磷酸川芎嗪透皮吸收规律的研究。我们对此进行初步的探讨。

## 1 材料

1.1 动物:家兔,雌雄兼用,体重 2.1~2.3 kg,由本院动物中心提供。

1.2 药品和试剂:磷酸川芎嗪由广东利民制药厂提供,含量 99.2%。水溶性氮酮,新乡高金化学有限公司产品。

1.3 仪器:ZD-85型气浴振荡器,常州国华仪器厂产品;UV-3010PC型紫外可见分光光度计,由惠普公司制造

## 2 方法和结果

2.1 标准曲线的制定:用生理盐水将磷酸川芎嗪配成 50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 3.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  溶液,在紫外可见分光光度计上扫描样品后,确定在 276.3 nm 处有最大吸收峰,在此波长处测定吸收度。在浓度 ( $X$ ) 为横坐标,吸光度 ( $Y$ ) 为纵坐标,在 Casio fx-3800 计算器上算得回归方程为  $Y = 0.006186 + 0.03014X$ ,  $r = 0.9998$

### 2.2 离体兔皮的制备

2.2.1 全皮的制备:用电动剃须刀除去家兔背部的毛,用戊巴比妥钠麻醉后,剥取皮肤,小心去除皮下脂肪等组织,用生理盐水反复冲洗,直至洗液澄清为止。

2.2.2 去角质层皮肤的制备:取上述方法制备的全皮,用市售胶粘带反复撕贴 20 次,即可。

上述两种皮肤样本均置于  $-10^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存,2 周内用完。

2.3 干扰试验:按 2.6 的透皮试验方法,取 36 h 时

间点的透皮接收液适量,在 200~350 nm 波长范围内扫描,结果表明透皮液中的其它成分不干扰磷酸川芎嗪的测定。

2.4 精密度试验:取 3 种浓度的溶液 (50.00, 12.50 和 3.12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),分别测定日内误差和日间误差,结果日内误差为 3.12%,日间误差为 4.42% ( $n = 6$ )。

2.5 结果处理:采用  $t$  检验进行数据统计处理

2.6 透皮试验:在本室过去建立的透皮试验装置上<sup>[5]</sup>进行实验,试验温度为  $32^{\circ}\text{C}$ ,振速为 120 r/min,扩散面积 0.502  $\text{cm}^2$ ,释放液 0.5 mL,接收液 5 mL,在不同时间点取样 4 mL,同时补加等量的生理盐水,测定吸光度,代入回归方程,按下式计算累积透过量 ( $Q$ ):

$$Q = CV + V^{\sum_{i=1}^{n-1} C}$$

其中  $C$  为接收液的药物浓度,  $V$  为接收液容积,  $V^{\sum_{i=1}^{n-1} C}$  为所取药物量。

将累积透过量对时间进行线性拟合,得回归方程,方程的斜率即为渗透系数。

2.6.1 不同浓度磷酸川芎嗪的透皮吸收:磷酸川芎嗪用生理盐水配成下列浓度 ( $\text{mg}/\text{mL}$ ) 溶液: 5.0, 2.5, 1.0, 0.5 作为释放液,生理盐水作为接收液,在下列时间点分别取样 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48 h, 测定吸光度,计算浓度和累积透过量,并求得渗透系数。结果如表 1 随着释放液中磷酸川芎嗪浓度增加,磷酸川芎嗪的透皮吸收呈剂量依赖性增加。

表 1 不同浓度磷酸川芎嗪的透皮吸收 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

药物浓度 ( $\text{mg}/\text{mL}$ )	渗透系数 ( $\mu\text{g}/\text{h}$ )
0.5	5.92 $\pm$ 0.58
1.0	8.80 $\pm$ 2.03 *
2.5	16.84 $\pm$ 4.36 *
5.0	22.38 $\pm$ 6.49 *

与 0.5  $\text{mg}/\text{mL}$  组比较: \*\*  $P < 0.01$

2.6.2 不同 pH 条件下磷酸川芎嗪的透皮吸收:按一九九五年版《中华人民共和国药典》方法配制 pH

为 5.0 的磷酸盐缓冲液,用 0.2 mol/L 浓度的 NaOH 调节 pH 为 6.0, 7.0, 8.0, 分别配制成含 1.0 mg/mL 溶液作为释放液,相应的 pH 液作为接收液,取样时间为 2, 5, 8, 12, 24, 48 h 结果见表 2

由表 2 可看出,随着释放液 pH 的增加,磷酸川芎嗪的透皮渗透系数逐渐增加,增加呈线性关系(由溶液的 pH 对渗透系数进行回归,得回归方程为  $Y = -3.546 - 2.159X, r = 0.992$ ).

表 2 不同 pH 条件下磷酸川芎嗪的透皮吸收 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

溶液 pH	渗透系数 ( $\mu\text{g/h}$ )
5.0	7.43 ± 0.51
6.0	8.97 ± 1.23*
7.0	11.90 ± 2.03**
8.0	13.65 ± 0.84*

与 pH5 组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

2.6.3 角质层对磷酸川芎嗪透皮吸收的阻滞作用: 以生理盐水配制 1.0 mg/mL 浓度的磷酸川芎嗪溶液作为释放液,以全皮和去角质层的皮肤作为透皮材料,进行透皮试验 结果如表 3

表 3 角质层对磷酸川芎嗪的透皮吸收的阻滞作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

皮肤	渗透系数 ( $\mu\text{g/h}$ )
全皮	7.7 ± 2.21
去角质层皮肤	11.44 ± 1.23*

与全皮组比较: \*\*  $P < 0.01$

从表 3 知,去角质层后,磷酸川芎嗪的透皮渗透系数增加了 48.4%,提示角质层对磷酸川芎嗪透皮吸收具有阻滞作用。

2.6.4 水溶性氮酮对磷酸川芎嗪透皮吸收的影响: 在以生理盐水配制的磷酸川芎嗪溶液中加入不同量水溶性氮酮作为释放液,使磷酸川芎嗪的浓度为 1.0 mg/mL,水溶性氮酮的浓度分别为 0, 1%, 2%, 3%, 进行透皮试验,结果如表 4

表 4 水溶性氮酮对磷酸川芎嗪的透皮吸收的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

水溶性氮酮浓度 (%)	渗透系数 ( $\mu\text{g/h}$ )
0	8.17 ± 2.55
1	17.28 ± 2.12*
2	13.68 ± 2.47*
3	14.16 ± 2.53*

与不含氮酮组比较: \*\*  $P < 0.01$

在表 4 中可看出随着水溶液氮酮浓度的增加,磷酸川芎嗪透皮吸收并不随之增加,1% 的浓度促透作用最强

2.6.5 角质层的贮库效应: 以生理盐水配制 1.0 mg/mL 浓度的磷酸川芎嗪溶液作为释放液,以全皮

和去角质层的皮肤作为透皮材料,扩散 10 h,去除释放液,用生理盐水反复冲洗,用滤纸吸干水分,按前法进行透皮试验,取样时间仍在 48 h 内。结果如表 5

表 5 角质层对磷酸川芎嗪的贮库效应 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

皮肤	渗透系数 ( $\mu\text{g/h}$ )
全皮	12.68 ± 3.37
去角质层皮肤	5.4 ± 1.89*

与全皮组比较: \*\*  $P < 0.01$

表 5 显示,去角质层的皮肤与全皮相比,去除释放液后,磷酸川芎嗪的透皮吸收显著减少,提示角质层具贮库作用,如临床上磷酸川芎嗪经皮给药撤除后,仍能较长时间发挥作用

### 3 讨论

在整个皮肤结构中,角质层作为药物透皮吸收的限速层,使一些药物的透皮吸收发生困难 实验发现,在去除角质层后,磷酸川芎嗪的透皮作用明显增强,提示角质层是磷酸川芎嗪透皮吸收的主要屏障。角质层中含有 40% 的角蛋白,与血浆蛋白具有较高结合率的药物均有可能与角蛋白结合<sup>[8]</sup>,使药物滞留在角质层中,形成贮库<sup>[9]</sup>,故去除释放液后,仍有药物释放,且可维持较长的时间

本实验结果表明,在不同的 pH 条件下,随着溶液 pH 的升高,磷酸川芎嗪逐渐被中和为游离碱,使其脂溶性逐渐增加,使药物容易透过角质层类脂的双分子层结构<sup>[6]</sup>。提示在透皮制剂的制备时应考虑 pH 对磷酸川芎嗪透皮吸收的影响

对透皮吸收促进剂氮酮的研究发现,氮酮可促进许多药物的透皮吸收 本研究利用不同浓度的氮酮对磷酸川芎嗪的透皮吸收进行考察,发现 1% 浓度的氮酮促透作用最强,这可能与氮酮促透作用具有极限这一特点有关<sup>[7]</sup>。

考察释放液中磷酸川芎嗪的剂量对透皮吸收的影响,发现其有剂量依赖性,随着剂量增加,透皮吸收量也随之增加。

### 参考文献

- 1 黄慕哲,等.实用心脑血管病杂志,1997,5(1): 28
- 2 黄志力,等.中国药理学通报,1989,(4): 240
- 3 蔡伟,等.药学报,1989,24(12): 881
- 4 龙向志.中成药,1994,16(12): 3
- 5 许卫铭,等.中国药理学通报,1997,13(2): 185
- 6 Vlasant V. J Clin Pharmacol, 1991,31: 401
- 7 王晓波,等.中国药理学杂志,1990,25(3): 151
- 8 Chandrasekaran S K, et al. Polym Eng Sci, 1980, 20: 36
- 9 Kakuji Tojo, et al. Drug Dev Ind Pharm, 1988, 14(4): 561

(1999-07-17 收稿)