

生长速率常数), 不同的药物对大肠杆菌的生长抑制率 I 见表 1。

表 1 大肠杆菌在黄连不同炮制品作用下的热力学参数

Table 1 Biothermokinetic parameters of <i>E. coli</i> affected in different preparations of CR						
样 品	$C/(mg \cdot mL)^{-1}$	k / min	tG / min	H / J	$I / \%$	P_{max} / mW
参比	0	0.016 5	42.01	3.177 2	0	0.817 0
盐酸小檗碱	3.5	0.010 6	65.39	3.379 2	35.76	0.780 0
生黄连总生物碱	3.5	0.005 0	138.63	3.841 3	69.70	0.336 6
姜制黄连总生物碱	3.5	0.003 1	223.60	3.334 8	81.21	0.293 6
醋制黄连总生物碱	3.5	0.005 5	126.03	3.496 2	66.67	0.408 4
胆汁黄连总生物碱	3.5	0.012 4	55.90	3.315 4	24.85	0.596 0
吴茱萸黄连总生物碱	3.5	0.002 0	346.57	3.978 5	87.88	0.399 8
酒制黄连总生物碱	3.5	0.003 5	198.04	4.004 2	78.79	0.313 0

3 讨论

由大肠杆菌的生长热谱曲线可以看到, 盐酸小檗碱、生黄连、姜制黄连、醋制黄连、胆汁黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连都对大肠杆菌有不同程度的抑制作用。姜制黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连对大肠杆菌抑制相对强, 其指数生长期生长速率常数降低幅度大, 传代时间延长多, 产热量较大; 盐酸小檗碱、生黄连、醋制黄连、胆汁黄连对大肠杆菌抑制相对弱, 其指数生长期生长速率常数降低幅度小, 传代时间延长少, 产热量较少^[7]。黄连性寒凉, 经不同炮制后, 药性改变不同, 即所谓的反制——以热制寒、从制——寒者益寒。姜制黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连药性偏温, 而醋制黄连、胆汁黄连药性偏寒, 微量热法测定结果与本草

文献一致。

另外, 因黄连是典型的清热消炎抗菌药, 据生长抑制率的大小不同, 可以作为评价黄连不同炮制品药效的一种有效方法, 即吴茱萸黄连、姜制黄连、酒制黄连抗菌活性强于醋制黄连与生黄连^[8,9]。

References:

[1] Gao X S. *Theory of Properties of Traditional Chinese Medicine* (中药药性论) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1992.

[2] Gao X M. *The Chinese Materia Medica* (中药学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

[3] Ye D J. *Preparation of Traditional Chinese Medicine* (中药炮制学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

[4] Xie C L, Tang H K, Qu S S, *et al.* Microcalorimetric study of bacterial growth [J]. *Thermochim Acta*, 1988, (123): 33.

[5] Liu Y, Liang H G, Qu S S, *et al.* Kinetics of the action of Na_2SeO_3 on bacillus subtilis growth as studied by microcalorimetry [J]. *Chin J Chem*, 2002, 20: 117.

[6] Zhao R M, Liu Y, Qu S S, *et al.* Microcalorimetric study of the action of $Ce()$ Ions on the Growth of *E. coli* [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2002, 86: 167.

[7] Shen X S, Liu Y, Zhou C P, *et al.* Thermochemical studies on the metabolism of microorganism [J]. *J Wuhan Univ — Nat Sci* (武汉大学学报·自然科学版), 2000, 46(4): 429-432.

[8] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, *et al.* Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine — Comparison of properties of qin-seng and gen-seng by microcalorimetry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(10): 910.

[9] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, *et al.* Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine — Comparison of properties of Shengshaishen and Hongshen by microcalorimetry [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(5): 393.

β -细辛醚体外皮肤渗透动力学研究

方永奇, 陈振权, 吴启端*

(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘 要: 目的 考察 β -细辛醚在不同溶剂体系中的体外皮肤渗透情况。方法 采用大鼠离体皮肤作为屏障进行体外透皮试验, 采用 HPLC 法测定在不同冰片、水性氮酮的溶剂中 β -细辛醚的含量, 计算 24 h 累积渗透量和稳态渗透速率。结果 0.1% 冰片对 β -细辛醚没有促透皮作用; 水性氮酮有降低 β -细辛醚透皮的作用; β -细辛醚在 20% 乙醇中, 24 h 累积渗透量和稳态渗透速率分别为 $(352.624 \pm 87.049) \mu g/cm^2$ 、 $(18.902 \pm 4.840) \mu g/(cm^2 \cdot h)$ 。结论 不加促渗剂的 β -细辛醚溶剂体系, 透皮吸收情况最好。

关键词: β -细辛醚; 透皮吸收; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)11-1232-04

* 收稿日期: 2004-02-19

基金项目: 广东省教育厅基金资助项目(K2020037)

作者简介: 方永奇(1957—), 男, 广东省惠来县人, 研究员, 博士研究生导师, 实验中心主任, 主要从事中药新药开发研究。

Tel: (020) 36591450 E-mail: fangyq2@163.com

Percutaneous absorption dynamics of β -asarone *in vitro*

FANG Yong-qi, CHEN Zhen-quan, WU Qi-duan

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Object To research the percutaneous absorption of β -asarone in various solvents *in vitro*.**Methods** To measure the concentration of β -asarone passed through rat skin in various solvents which contained borneol and azote-ketone by HPLC, count the penetration of accumulation within 24 h and steady velocity. **Results** 0.1% Borneol could not promote the penetration of β -asarone; azote-ketone could decrease the penetration of β -asarone. The penetration of accumulation within 24 h and steady velocity of β -asarone in 20% ethanol were (352.624 ± 87.049) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, (18.902 ± 4.840) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, respectively. **Conclusion** The percutaneous absorption of β -asarone is the best when the solvents contain no promoter.**Key words:** β -asarone; percutaneous absorption; HPLC

β -细辛醚(β -asarone)是天南科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 挥发油中主要成分,在挥发油中的体积分数达 68.74% ~ 78.02%^[1]。 β -细辛醚有镇静、催眠、抗惊厥作用^[2];对大鼠缺血再灌注脑损伤有保护作用,能改善脑水肿,提高耐缺氧能力,抑制神经细胞凋亡^[3]。由于 β -细辛醚在体内吸收、分布、代谢迅速,故必须考虑采用控释的给药方法。本实验研究了 β -细辛醚在 5 种溶剂体系中的体外皮肤渗透动力学特征,以期开发 β -细辛醚透皮给药新剂型。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂: RYJ—6A 型药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器厂), HP—1050 型高效液相色谱仪, 水溶性氮酮 982(广州精细化学工业公司广州试剂化工厂, 批号: 200210801), β -细辛醚(本中心精提, 纯度为 99.32%), 冰片(广州市黄埔化工厂, 批号: 020176)。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件: 色谱柱为 Hypersil ODS 2 (200 mm $\times$ 4.0 mm, 5 μm); 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 甲醇-水 (600 : 400, 每 1 000 mL 含十二烷基磺酸钠 0.8 g, 磷酸二氢钾 1.4 g); 检测波长: 257 nm; 体积流量: 0.8 mL/min。

1.3 标准曲线的制备: 精密称取 β -细辛醚对照品 4.4 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 配制储备液 (88 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。精密吸取 2、1、0.2、0.05 mL 储备液于 10 mL 量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 配成 17.6、8.8、1.76、0.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ β -细辛醚对照品溶液, 进样测量。以峰面积积分值(X)对 β -细辛醚质量浓度(Y)进行回归, 得标准曲线 $Y = 3.86 \times 10^{-4} X + 6.38 \times 10^{-3}$, $r = 0.9995$ 。表明 β -细辛醚在 4.4 ~ 1 320 ng 与峰面积具有良好线性关系。

1.4 精密度试验: 精密吸取 10 μL 8.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ β -细

辛醚对照品溶液, 连续测定 5 次, 结果峰面积的 RSD = 3.29%。

1.5 稳定性试验: 精密吸取 10 μL 8.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ β -细辛醚对照品, 分别在 1、2、3 d, 每天进样 2 次, 结果峰面积 RSD = 2.83%。

1.6 透皮实验

1.6.1 大鼠离体皮肤制备和处理: 取成年雄性 SD 大鼠, 体重 300 ~ 350 g, 用 10% 水合氯醛 0.3 mL/100 g 麻醉。背部皮肤剃去毛后剥取皮肤, 除去皮下脂肪, 用冰生理盐水冲洗 3 次。将皮肤置 -4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 第 2 天取出, 自然解冻, 用生理盐水冲洗干净。将处理好的皮肤固定在供药池和接受池之间, 角质层面向供药池, 真皮层面向接受池与接受液接触。

1.6.2 β -细辛醚溶剂体系和接收液的配制: 取 0.2 mL β -细辛醚溶于 20 mL 乙醇, 用水稀释至 100 mL, 作为溶剂体系; 取 0.2 mL β -细辛醚和 0.1 g 冰片溶于 20 mL 乙醇, 用水稀释至 100 mL, 作为溶剂体系; 取 0.2 mL β -细辛醚、0.1 g 冰片和 1 mL 水性氮酮溶于 20 mL 乙醇, 用水稀释至 100 mL, 作为溶剂体系; 取 0.2 mL β -细辛醚、0.1 g 冰片和 3 mL 水性氮酮溶于 20 mL 乙醇, 用水稀释至 100 mL, 作为溶剂体系; 取 0.2 mL β -细辛醚、0.1 g 冰片和 5 mL 水性氮酮溶于 20 mL 乙醇, 用水稀释至 100 mL, 作为溶剂体系; 称取 0.9 g 氯化钠溶于 100 g 20% 乙醇中, 即得接收液。

1.6.3 透皮吸收试验: 垂直式扩散池由供药池和接受池组成, 接受池体积为 6.5 mL, 池口有效扩散面积为 2.8 cm^2 。扩散池置于恒温水浴循环箱中保持 37 $^{\circ}\text{C}$, 接受池中置磁力搅拌子, 以 250 r/min 不断搅拌。将接受液加进接受池中并与真皮层密切接触, 并注意从取样口排尽气泡。开动渗透扩散试验仪 30 min 稳定后, 将含 β -细辛醚的不同溶剂体系加入供

药池中。在 0.5、1、2、3、5、7、10、13、23、24 h 分别吸取接受液 1、1、1、1、2、2、2、5、3、1 mL,同时补充等量等温的空白接受液。吸取的接受液过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液测定。

1.6.4 药物通过皮肤累积渗透量(*M*)计算:由于每次取接受液后,同时添加等量空白接受液,因此测得浓度比真实浓度要低,故不同取样点 *M* 值按下式校正。

$$M = C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i$$
式中 *C_n* 为不同取样点时接受液实测浓度, *V* 为接受池体积 (6.5 mL), *V_i* 为不同时间点的取样体积, *A* 为有效扩散面积 (2.8 cm²)。

以累积透过量对时间进行线性回归,所得方程的斜

率即为渗透速率 *P*。

2 结果

2.1 不同溶剂体系中 β-细辛醚累积渗透量: β-细辛醚在溶剂体系 中 24 h 累积渗透量最大,达 (352.624 ± 87.049) μg/cm²。与溶剂体系 比较, β-细辛醚在溶剂体系 中 24 h 累积渗透量没有明显变化,但在溶剂体系 、 中 10 h 后累积渗透量明显降低;在 13 h 后与溶剂体系 比较也有明显差别,结果见表 1。β-细辛醚在 5 种溶剂体系中,在前 2 h 累积渗透量一直保持在 2~3 μg/cm² 的稳定水平,在 3 h 后才逐步上升,渗透速率约在 7 h 后达稳态。

2.2 不同溶剂体系中 β-细辛醚的渗透速率: β-细辛

表 1 β-细辛醚在 5 种溶剂体系中 24 h 累积渗透量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Accumulation penetration of β-asarone within 24 h in five solvents ($\bar{x} \pm s, n=6$)

时间/h	累积渗透量/(μg·cm ⁻²)					
0.5	2.203 ± 0.296	2.838 ± 0.776	2.226 ± 0.387	2.154 ± 0.293	2.357 ± 0.738	
1	2.499 ± 0.219	2.769 ± 0.960	2.319 ± 0.389	2.292 ± 0.275	2.491 ± 0.431	
2	3.038 ± 0.330	3.147 ± 0.931	2.938 ± 0.228	2.947 ± 0.333	2.92 ± 0.542	
3	5.155 ± 1.877	3.571 ± 1.142	3.713 ± 0.561	3.812 ± 0.260	3.326 ± 0.652	
5	11.685 ± 5.423	6.816 ± 3.230	7.040 ± 2.574	7.259 ± 1.512	5.308 ± 1.549*	
7	29.998 ± 16.195	15.578 ± 9.699	14.116 ± 6.316	11.553 ± 2.289	8.728 ± 3.591*	
10	76.274 ± 32.015	30.757 ± 18.529	29.364 ± 13.258*	21.810 ± 5.016*	14.251 ± 5.846*	
13	118.434 ± 30.645	67.293 ± 38.005	47.741 ± 19.232* *	31.957 ± 6.964* * *	22.617 ± 8.015* * *	
23	315.683 ± 86.967	218.245 ± 76.401	126.941 ± 38.395* * *	78.109 ± 11.433* * *	65.709 ± 17.890* * *	
24	352.624 ± 87.049	231.117 ± 77.072	146.635 ± 46.512* *	96.238 ± 14.926* * *	69.361 ± 18.639* * *	

与溶剂体系 相比: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01; 与溶剂体系 相比: # *P* < 0.05 ## *P* < 0.01; 与溶剂体系 相比: *P* < 0.05

* *P* < 0.05 * * *P* < 0.01 *vs solvent* ; # *P* < 0.05 ## *P* < 0.01 *vs solvent* ; *P* < 0.05 *vs solvent*

醚在溶剂体系 和溶剂体系 中稳态渗透速率没有明显差别,表明 0.1% 冰片对 β-细辛醚无促透皮作用。但在溶剂体系 、 、 中 β-细辛醚稳态渗透速率明显下降,与溶剂体系 、 比较均有明显差别,表明水性氮酮加冰片对 β-细辛醚不仅无促透皮作用,反而明显影响 β-细辛醚的透皮。而且,溶剂体系 、 的稳态渗透速率明显低于溶剂体系 ,更加说明随着水性氮酮的增加而阻碍了 β-细辛醚的透皮吸收。结果见表 2。

表 2 β-细辛醚在 5 种溶剂体系中的 *M-t* 方程和渗透速率 *P*

Table 2 *M-t* equation and penetration velocity *P* of β-asarone in five solvents

溶剂体系	<i>M-t</i> 方程	<i>r</i>	<i>P</i> /(μg·cm ⁻² ·h ⁻¹)
	<i>M</i> = 18.902 <i>t</i> - 112.49	0.994 2	18.902 ± 4.840
	<i>M</i> = 14.558 <i>t</i> - 117.91	0.999 1	14.558 ± 3.727
	<i>M</i> = 8.164 <i>t</i> - 55.18	0.991 5	8.164 ± 2.308* * *
	<i>M</i> = 4.218 <i>t</i> - 20.03	0.994 7	4.218 ± 0.618* * * *
	<i>M</i> = 4.051 <i>t</i> - 27.91	0.996 9	4.051 ± 1.026* * * *

表注同表 1

Notes are same to Table 1

3 讨论

自从 1981 年东莨菪碱透皮吸收剂问世以来,越来越多的药物研发其透皮吸收新剂型。经皮给药可使药物以一定的速率缓慢透过皮肤,经毛细血管吸收入血而起治疗作用。其可以减少给药次数,维持较稳定的血药浓度,特别对某些给药量少,半衰期短的药物更加体现出其优越性。由于 β-细辛醚在体内吸收分布迅速、半衰期短,若以口服、肌注或静脉途径给药,给药次数多,且易产生峰谷现象,难以维持较稳定的血药浓度。β-细辛醚相对分子质量小(208),且脂溶性较好,具有易经皮肤吸收的基本理化特点,故研究 β-细辛醚透皮给药方法是必要和可行的。本实验研究了 β-细辛醚的体外皮肤渗透情况,结果表明 β-细辛醚透皮给药方法是必要和可行的。本实验研究了 β-细辛醚的体外皮肤渗透情况,结果表明 β-细辛醚在 20% 乙醇溶液中 24 h 累积渗透量达 (352.624 ± 87.049) μg/cm², β-细辛醚在 7 h 后恒速透过皮肤,渗透速率达 (18.902 ± 4.840) μg/(cm²·h),说明 β-细辛醚很容易透过皮肤,为进一步开发 β-细辛醚透皮给药新剂型提供了依据。

透皮给药首先需要克服皮肤屏障,目前主要采用加入促渗剂的方法来增加药物的皮肤渗透速率。冰片是一种有效的透皮促进剂^[4],其促渗的作用部位可能是在角质层^[5]。氮酮是目前使用较多的促渗剂,常用体积分数 1%~10%,它主要作用于细胞类脂双分子层,增加双分子层流动性而促进药物通过细胞间扩散^[6]。氮酮为不溶性水的强亲脂性化合物,水性氮酮是由氮酮与一定的乳化剂配制而成。本实验观察冰片和水性氮酮对 β -细辛醚 24 h 累积渗透量和稳态渗透速率的影响。结果表明 0.1% 冰片对 β -细辛醚没有促透皮效果;1%、3%、5% 水性氮酮加 0.1% 冰片对 β -细辛醚不仅无促渗作用,反而明显降低了 β -细辛醚的渗透速率,分别降低了 56.8%、77.7%、78.6%,影响十分明显。这两种促渗剂对 β -细辛醚都未能产生促透皮效果,可能与 β -细辛醚特殊理化性质有密切关系。

References:

- [1] Wei G, Fang Y Q, Wu Q D, *et al.* Research on establishing the quality standard of middle production of Xingnao Dibiye by GC-MS [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(9): 638-641.
- [2] Hu J G, Gu J, Wang Z W. Observation of *Acorus tatarinowii* Schott and its validity composition on CNS [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1999, 15(3): 19-20.
- [3] Fang Y Q, Li L, Wu Q D, *et al.* Effects of β -asarone and borneol on protecting rat from ischemia/reperfusion cerebral injury [J]. *Mod Geriatr Health Care* (现代老年医学与保健), 2002, 11(2): 15-18.
- [4] Zhu J P, Wang Z R, Wu S X. Research on promoting penetrate skin of drug by borneol [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1999, 34(2): 104-106.
- [5] Xu B L, Wang H, Xu W M. Research on promoting penetrate of ligustrazine [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(12): 864-866.
- [6] Lu B. *New Techniques and New Dosage Forms of Drugs* (药物新剂型与新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.

二苯乙烯苷的稳定性研究

班 翊, 刘其礼, 金 悠, 王嘉陵*

(华中科技大学同济医学院 药理系植物化学室, 湖北 武汉 430030)

摘要:目的 考察影响二苯乙烯苷(THSG)溶液稳定性的因素,并计算室温下其晶体粉末的 $t_{0.9}$ 值。方法 采用 HPLC 法和 HPLC-MS 联用法。结果 以 Lichrospher 5-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 为固定相, 甲醇-水(4:6) 为流动相, 检测波长为 310 nm。THSG 进样量在 0.14~2.80 μ g 与峰面积线性关系良好, 自制 THSG 纯度高达 99.94%, pH 5.8 时, THSG 与水分子发生加成反应。强酸促使 THSG 水解为葡萄糖和苷元, 并进一步降解为酚类化合物。强碱性条件下, THSG 氧化为醌类化合物。在中性及弱碱性水溶液中较稳定, 30 d 内含量无明显变化。THSG 晶体粉末室温下放置 240 d 含量无明显变化, $t_{0.9}$ 值为 1 098 d。结论 二苯乙烯苷在一定条件下是稳定的。
关键词: 二苯乙烯苷; 稳定性; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)11-1235-03

Determination of stilbene-glucoside and investigation on its stability

BAN Yi, LIU Qi-li, JIN You, WANG Jia-ling

(Phytochemistry Laboratory, Department of Pharmacology, Tongji Medical College,

Huazhong Scientific and Technological University, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Object** To study the factors which influenced the stability of stilbene glucoside (tetrahydroxystilbene-glucoside, THSG) solution, investigate and calculate the value of $t_{0.9}$ of THSG crystal powder at room temperature. **Methods** HPLC and HPLC-MS methods were used. **Results** The best chromatographic conditions were to employ Lichrospher 5-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) as the stable phase, methanol-water (4:6) as mobile phase, 310 nm as the detective wavelength. Within the range from 0.14 to 2.80 μ g, there was a good linearity. The content of self-prepared THSG was up to 99.94%. Stability test showed that when pH was 5.8, an additional reaction occurred between THSG and H₂O. Strong acids precipitated the hydrolyzation of THSG into glucose and aglycone, which then degraded into phenol compound. When strong bases existed, THSG was easily oxidized into quinine compound. Whereas it was sta-

* 收稿日期: 2004-01-07

* 通讯作者