

液和血液均需较大程度浓缩后才能检出。口服积雪草苷后,能在尿液中检测到原形物、代谢产物 M1、代谢产物 M2、代谢产物 M3(苷元);在血液中检测到原形物、代谢产物 M1、M2。血液中未检测到苷元积雪草酸可能是由于得量太少,低于质谱检测限。实验结果表明,积雪草苷在大鼠体内经代谢后可生成 3 种代谢产物,部分原药和代谢产物吸收入血,经尿液排出。

4 讨论

国内文献中对天然药物的肠道细菌代谢研究多采用将药物直接加入肠细菌培养液中温孵,再经过有机相反复提取和处理后进行分析,但此法培养液中的杂质不易除去,对分析仪器和结果解释都造成很大影响。本实验采用肠菌粗酶与积雪草苷共孵育,克服了上述缺点,结合 TLC 和 LC-MS 法给出明确色谱和质谱图,阐明肠道菌群对积雪草苷的代谢转化行为,用药量小且重现性很好。

从本实验结果可知积雪草苷可以在肠道内被代谢,皂苷糖基应是由肠内菌分泌的苷键水解酶系水解。推测积雪草苷在肠道内的代谢呈阶梯式,糖基逐个被水解,直至全部转化为苷元。在本实验室另外的实验中,大鼠肝脏微粒体对积雪草苷及其苷元积雪

草酸不产生代谢转化,预测积雪草苷进入体内除糖基水解外无其他代谢作用,无首关效应,积雪草苷和其代谢产物进入血液循环,共同发挥药效作用。

综上所述,积雪草苷口服后会被肠道菌群所代谢。代谢产物随着端基糖的失去相对分子质量和极性逐渐减小,吸收可能会有所变化,但吸收入血的量和代谢产物对发挥药效的贡献大小还需进一步研究。

References:

- [1] Bonte F, Dumas M, Chaudagne, C, *et al.* Influence of asiatic acid, madecassic acid, and asiaticoside on human collagen I synthesis [J]. *Planta Med*, 1994, 60 (2): 133-135.
- [2] Viala A, Cano J P, Duranid A, *et al.* Study in animals of transcutaneous penetration of labeled active principles of the titrated extract of *Centella asiatica* applied on the skin in two topical forms [J]. *Therapie*, 1977, 32 (5): 573-584.
- [3] Babu T D, Kuttan G, Padikkala J. Cytotoxic and antitumour properties of certain taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica* (L.) [J]. *Urban J Ethnopharma-Col*, 1995, 48: 53-57.
- [4] Etrebi A, Ibrahim A, Zaki K. Treatment of ulcer bladder with asiaticoside [J]. *J Egypt Med Assoc*, 1975, 58 (5-6): 324-327.
- [5] Kyoichi K, Teruaki A. Relation of intestinal bacteria to pharmacological effects of glycosides [J]. *Bioscience Microflora*, 1997, 16 (1): 1-3.
- [6] Yang X W, Hao M R, Masao. *Metabolite Analysis for Chemical Constituents of Chinese Materia Medica* (中药成分代谢分析) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2003.

氮酮和油酸增强黄芩苷经皮渗透作用的研究

杨巧丽¹, 周雪琴^{1,2*}, 张志慧¹, 王雷³, 王学艳³, 刘东志², 姚康德¹

(1. 天津大学高分子材料研究所, 天津 300072; 2. 天津大学化工学院, 天津 300072;

3. 天津市长征医院 药剂科, 天津 300021)

摘要:目的 研究氮酮、油酸及两者配伍对黄芩苷透皮吸收的促进作用。方法 透皮吸收研究以改进型 Franz 扩散池为模型,采用 HPLC 法测定黄芩苷透过量,以均匀设计法考察氮酮、油酸及两者配伍对黄芩苷透皮吸收的影响。结果 氮酮体积分数为 10% 时,黄芩苷 24 h 累积透过量为 466.11 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,油酸体积分数为 14% 时,24 h 累积透过量为 77.34 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,氮酮与油酸以 10% : 0.5% 配伍后 24 h 累积透过量为 641.88 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,促渗性能为 146.69。结论 氮酮和油酸对黄芩苷的透皮吸收均有促进作用,两者配伍可产生协同促进作用,氮酮与油酸以 10% : 0.5% 配伍后促渗效果最好。

关键词:黄芩苷;氮酮;油酸;透皮吸收

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)07-1011-03

Enhancement of baicalin percutaneous penetration by azone and oleic acid

YANG Qiao-li¹, ZHOU Xue-qin^{1,2}, ZHANG Zhi-hui¹, WANG Lei³,

WANG Xue-yan³, LIU Dong-zhi², YAO Kang-de¹

收稿日期:2005-09-30

基金项目:天津市自然科学基金资助项目(033610411)

作者简介:杨巧丽(1981-),女,河北省石家庄市人,天津大学硕士研究生,研究方向为药物经皮渗透。

Tel: (022) 27400911 E-mail: xiaozhaoy@eyou.com

* 通讯作者 周雪琴

(1. Research Institute of Polymeric Materials, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 3. Department of Pharmacy, Tianjin Changzheng Hospital, Tianjin 300021, China)

Abstract: Objective To study the effect of azone, oleic acid, and their combination on the transdermal absorption of baicalin. **Methods** Improved Franz-cells and HPLC were used for the transdermal study. The effect of azone, oleic acid, and their combination on the transdermal absorption of baicalin was studied using uniform design. **Results** The 24 h penetration amount of baicalin was obtained as 466.11 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and 77.34 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ when the azone concentration was 10% or the oleic acid concentration was 14%, respectively. When using a combination of azone and oleic acid in the ratio of 10% : 0.5%, the 24 h penetration amount of baicalin was 641.88 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and the enhancement ratio of penetration was 146.69. **Conclusion** Both azone and oleic acid could improve the skin penetration amount of baicalin. Combined application of azone and oleic acid could further enhance baicalin transdermal delivery rate. The maximum penetration amount of baicalin is obtained by using a combination of azone and oleic acid in the ratio of 10% : 0.5%.

Key words: baicalin; azone; oleic acid; transdermal absorption

黄芩苷(baicalin)为黄酮类化合物,具有抗菌、抗病毒、抗炎和抗过敏等药理作用^[1]。目前其给药剂型有片剂、滴丸剂等,都属于口服给药,而黄芩苷的半衰期很短且利用度低,要求用药剂量大及频繁给药。现代经皮给药系统能够克服这些缺点,因此开发黄芩苷经皮给药剂型有重大意义。经皮给药实现的最大障碍就是皮肤对药物渗透的屏障作用,为促进药物的透皮吸收,往往要借助各种化学促进剂,氮酮和油酸是最常用的两种化学促进剂,化学促进剂的配伍通常能起到协同增强作用^[2]。本实验以离体小鼠皮肤为皮肤模型,考察氮酮和油酸对黄芩苷经皮渗透的促进作用,并通过均匀设计研究两者配伍对黄芩苷透皮吸收的促进作用。

1 仪器与试药

Beckman Gold 166 Detector 高效液相色谱仪, AR1140 电子分析天平, Ohaus Corp Pine Brook; HKCB—3 恒控磁力搅拌器(温州市医疗电器厂); TP—3 体外渗透扩散装置(中国药科大学药剂教研室); KQ—100E 超声仪(医用超声波清洗器厂)。

黄芩苷原料(针剂级,西安交大保赛生物制品有限公司,质量分数>95%);黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110715—200212);甲醇(色谱纯,天津市运盛化学试剂科技有限公司);磷酸(色谱纯,天津光复精细化工研究所);聚乙二醇 400(分析纯,天津市津宇精细化工厂);氮酮(药用级,北京师范大学化工实验厂促渗剂室);油酸(分析纯,天津市百世化工有限公司);其他试剂均为分析纯。雄性昆明种小鼠,20~25 g,天津市药品检验所提供。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷分析方法的建立

2.1.1 色谱条件^[3]:色谱柱:Beckman C₁₈ ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2);体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温;检测波长:280 nm。黄芩苷保留时间为 10.11 min。

2.1.2 线性关系考察:黄芩苷质量浓度(C)在 0.1~100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与峰面积(A)呈线性关系,回归方程为 $A = -0.3955 + 0.98547C$, $r = 0.99986$ 。

2.2 体外透皮吸收试验

2.2.1 皮肤的制备:取健康小鼠断颈处死,用电剃刀除去腹部鼠毛,剥离腹部鼠皮备用。

2.2.2 Franz 改进型扩散池的设置:透皮吸收扩散装置由上下两只筒状玻璃管对合而成,夹于玻璃管间的皮肤将其分成上下两室。上室为扩散室,下室为接收室,在接收室的底部连有一个取样管,供取样、补充接收液和排气泡用,渗透面积为 2.01 cm^2 ,实验中以潜水式多功能电磁搅拌器维持接受室动态环境,实验维持 37 $^{\circ}\text{C}$ 经皮渗透条件。

2.2.3 体外透皮吸收:将鼠皮固定在渗透扩散装置的扩散室与接收室之间,角质层面面向扩散室。在接收室中注入接收液 16.5 mL(含 40%聚乙二醇 400 的生理盐水),液面恰与皮肤内层接触,扩散室中注入 1.5 mL 加入促进剂的黄芩苷溶液,开动电磁搅拌器和恒温水浴,保持恒速搅拌(400 r/s)和恒温。在设定时间取样 0.5 mL 置具塞离心管中,每次取样后均补加相同体积的新鲜接收液并排除接受室中的气泡,样液进行 HPLC 检测,代入标准曲线求出相应的药物质量浓度,按下式计算累积透过量(Q)。

$$Q = VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 0.5/S$$

式中 Q 为累积透过量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$);V 为接收室中接收液的体

积(mL); C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度($\mu\text{g/mL}$); C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度($\mu\text{g/mL}$); S 为渗透面积(cm^2)。

2.3 不同体积分数氮酮、油酸对黄芩苷经皮渗透促进作用的研究:按透皮吸收试验方法,分别考察以不同体积分数的氮酮、油酸作为促进剂时黄芩苷的累积透过量。分别在1、2、4、6、8、10、12、24 h时取样检测黄芩苷质量浓度,计算 Q 值。

黄芩苷溶液 24 h Q 与氮酮的关系见图 1。可以看出,氮酮的加入对透皮扩散有明显的促进作用,随氮酮体积分数的增加,促渗作用逐渐增强,体积分数为 10% 时促渗效果最好,体积分数进一步提高后,促渗作用开始减弱;黄芩苷溶液 24 h 累积透过量与油酸体积分数的关系见图 2。结果表明油酸对黄芩苷的透皮扩散也有促进作用,相同体积分数的油酸促渗效果低于氮酮,比较 24 h 累积透过量,油酸体积分数为 14% 时最大,但最大扩散速率则在油酸体积分数为 10% 时最大。

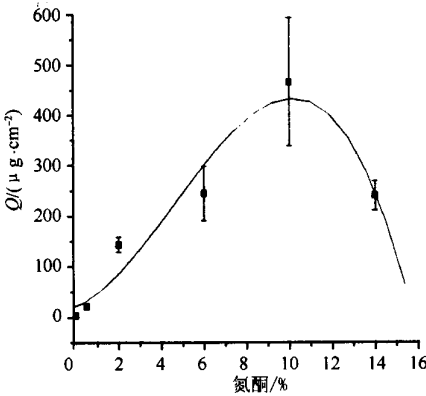


图 1 氮酮体积分数与黄芩苷溶液 24 h 累积透过量的关系
Fig. 1 Relationship between azone concentration and 24 h penetration amount of baicalin solution

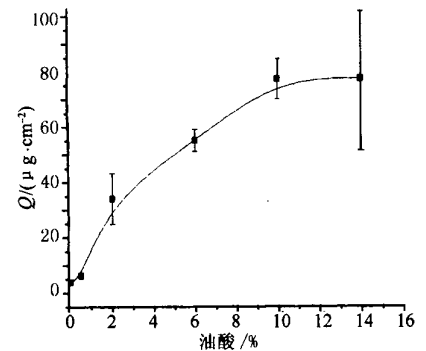


图 2 油酸体积分数与黄芩苷溶液 24 h 累积透过量的关系
Fig. 2 Relationship between oleic acid concentration and 24 h penetration amount of baicalin solution

2.4 氮酮与油酸配伍对黄芩苷经皮渗透促进作用的研究:采用均匀设计,研究两者配伍后对黄芩苷透皮扩散的影响。以氮酮(X_1)和油酸(X_2)的 5 种体积分数进行试验,以 24 h 累积透过量 and 促渗性能(促渗性能=促进剂最大扩散速率/空白最大扩散速率)为指标,试验方案及 24 h 累积透过量见表 1。

表 1 试验的 24 h 累积透过量及促渗性能
Table 1 24 h Penetration amount and enhancement ratio of penetration in test

试验组	$X_1/\%$	$X_2/\%$	24 h 累积透过量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	促渗性能
1	2	0.7	90.39	17.88
2	4	1.1	215.93	38.00
3	6	0.5	417.09	82.06
4	8	0.9	227.79	48.75
5	10	2.0	520.00	108.25

将数据经均匀设计软件处理,并进行优化,得优化条件为 $X_1=10\%$, $X_2=0.5\%$ 。通过实验对此优化条件进行验证,结果见图 3,此时黄芩苷 24 h 累积透过量为 $641.88\text{ }\mu\text{g/cm}^2$,是单独使用 10% 氮酮时的 1.38 倍,与空白溶液透皮性能相比,促渗性能高达 146.69。

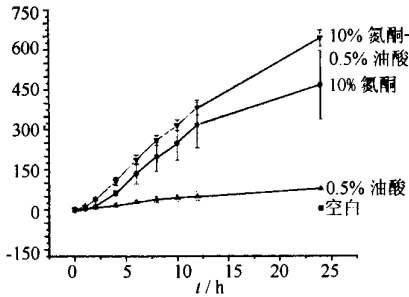


图 3 黄芩苷在不同化学促进剂及其配伍作用下经鼠皮渗透透过量与时间关系
Fig. 3 Q - t Relationship of baicalin penetration using various enhancers and their combinations

3 讨论

氮酮和油酸能够增强黄芩苷的经皮渗透。氮酮体积分数为 10% 时达最大促渗性能;油酸的促渗性能则随其体积分数的增加一直呈现增强的趋势,当体积分数达 14% 后其体积分数对促渗性能影响很小。而氮酮与油酸配伍使用出现了促渗性能协同增强作用。运用均匀设计方法处理,结果表明当氮酮与油酸以 10% : 0.5% 的比例配伍使用时对黄芩苷经皮渗透可达到最佳促渗效果。

References:

[1] Yu B T, Zhang Z R, Liu W S, et al. Studies on stability of baicalin [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2002, 33 (3): 218-220.
[2] Lu Z P, Liu Q, Zhu H X. Study on the effects of compound transdermal enhancers on the transdermal kinetics of baicalin [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2003, 25 (2): 104-106.
[3] Li F M. The HPLC Technology in Medicine (医药高效液相色谱技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999.