

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01096

• 研究快报 •

电致孔条件下巴布剂中青藤碱透皮吸收的药动学研究

李 凡¹, 郝保华^{1*}, 李伟泽², 刘 森¹, 唐斌斌¹, 杜书君¹

1. 西北大学生命科学学院中药学教研室, 西安 710069

2. 中国药科大学药学院药剂学教研室, 南京 210009

[摘要] 目的: 将巴布剂结合电致孔透皮给药, 与被动扩散透皮给药进行比较, 初步考察在电致孔条件下巴布剂中青藤碱透皮吸收的药动学特点。方法: 以青风藤为模型药物, 以活体兔分别进行被动扩散给药(PD)和电致孔透皮给药(EP), 高效液相色谱仪测定不同时间的血药浓度, 采用统计矩分析法处理分析血药浓度数据。结果: 电致孔技术透皮给药的 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 为 43.396, 是被动扩散的 1.32 倍, 体内平均滞留时间为 20.025, 是被动扩散的 86%, $c_{\max}$ 为 1.825, 是被动扩散的 1.31 倍, $t_{\max}$ 减小, 比被动扩散提前 4 h; 消除速率常数 λ 二者一致; 电致孔技术透皮给药的药-时曲线比被动扩散的药-时曲线平滑且下降较慢。结论: 将电致孔技术与巴布剂结合能够提高药物透皮吸收的速度和程度, 从而提高生物利用度。

[关键词] 电致孔; 巴布剂; 透皮吸收; 青藤碱; 药代动力学

[中图分类号] R 943.43 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)09-1096-03

Pharmacokinetics of transdermal absorption of Sinomenine in patch under electroporation condition

LI Fan¹, HAO Bao-hua^{1*}, LI Wei-ze², LIU Sen¹, TANG Bin-bin¹, DU Shu-jun¹

1. Department of Traditional Chinese Medicine, College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China

2. Department of Pharmaceutics, College of Pharmaceutical Sciences, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

[ABSTRACT] **Objective:** To study the pharmacokinetics of the transdermal absorption of Sinomenine in patch under electroporation condition by comparing with the transdermal absorption of passive diffusion. **Methods:** Sinomenine was taken as a model drug and was given to rabbits by passive diffusion (PD group) or by electroporation (EP group). The plasma drug concentration was determined by HPLC. The statistical moment theory was used for analyzing the values of plasma drug concentration. **Results:** The $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ was 43.396 in the EP group, which was 1.32 folds that of the PD group. The mean residence time (MRT) was 20.025 in the EP group, which was 86% of the PD group. The $c_{\max}$ was 1.825 in the EP group, which was 1.31 folds that of the PD group. The decrease of $t_{\max}$ in the EP group was 4 hours earlier than that in the PD group. Their elimination rate constants λ were the same. The drug-time curve of EP group was more smooth and slow when declining compared with that of the PD group. **Conclusion:** The combination of electroporation and the patch can improve the speed and extent of transdermal absorption of sinomenine, and thus enhance the bioavailability.

[KEY WORDS] electroporation; patch; transdermal absorption; sinomenine; pharmacokinetics

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(9):1096-1098]

电致孔是在瞬间脉冲电场作用下, 改变皮肤角质层脂质双分子层的定向排列, 使脂质双分子层的无序结构增加形成暂时性的、可逆的、亲水性孔道^[1-2], 亲水性孔道可以在角质层细胞间脂质中形成, 也可在角质化细胞膜上形成。在电致孔脉冲过程中的电泳和脉冲之后的通过结构疏松的皮肤角质层的扩散也是电致孔促进药物透过皮肤的原因^[3]。

与传统的被动扩散透皮给药相比较, 电致孔技术可极大增加药物透皮给药的速率与累积渗透量^[4]。国内外的研究大多为体外透皮研究^[5-7], 最近国内胡巧红等^[8]应用活体兔进行电致孔的透皮给药实验, 但没有与透皮给药制剂结合进行。本实验将进行青风藤巴布剂电致孔透皮给药与被动扩散透皮给药的动物药动学研究。

[收稿日期] 2008-03-22 **[接受日期]** 2008-06-11

[作者简介] 李 凡, 硕士, E-mail: lixiaofan1979@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 029-81970519, E-mail: baohuah@nwu.edu.cn

1 仪器和材料

TGL-16 台式离心机(上海安亭科学仪器厂);电致孔药物导入仪(西北大学电子科学系制);高效液相色谱仪(Waters:1525 型泵,2487 型检测器)。青风藤电离巴布剂(自制);新西兰大白兔(第四军医大学实验动物中心);青藤碱标准品(纯度≥99%,陕西赛德高科生物公司);肝素钠(药用级);氯仿、甲醇、乙二胺(色谱纯)。色谱条件为:色谱柱为 Hypersil C₁₈(10 μm,250 mm×4.6 mm),流动相为甲醇:(水:乙二胺=300:1)=52:48,检测波长 262 nm,流速 1.5 ml/min。

2 方法和结果

2.1 血浆中药物浓度与峰面积的线性方程 将青藤碱标准品用蒸馏水配制成 0.5、1.0、2.0、8.0、12.0 μg/ml 的标准液,精密量取空白兔血清 0.25 ml,分别置于 5 ml 带塞肝素化的离心管中,分别精密加入不同浓度的青藤碱标准液 50 μl,混合均匀;再加入 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液 0.2 ml,混匀;加入 5 ml 氯仿,提取 15 min,分离出氯仿层,再加入 5 ml 氯仿,提取 15 min;合并氯仿液,水浴上蒸干氯仿,用 100 μl 甲醇溶解残渣,取 30 μl 进样测定。血浆中青藤碱的峰面积与浓度在 0.5~12.0 μg/ml 范围内线性良好, $A=0.051\ 1C+1.886\ 3,r=0.999\ 2$ 。

2.2 方法学考察

2.2.1 回收率 配制低、中、高 3 个浓度的样品,分别为 0.5、5.0、10.0 μg/ml,按 2.1 项下方法进行测定,计算含量,每个浓度测定 5 次。结果平均回收率分别为 98.6%、98.9%、95.2%,符合血浆样品含量测定要求。

2.2.2 精密度 配制低、中、高 3 个浓度的样品,分别为 0.5、5.0、10.0 μg/ml,按 2.1 项下方法进行测定,计算含量。日内精密度:1 d 内重复测定 5 次,RSD%分别为 5.4%、5.7%、4.9%。日间精密度:每天测定 1 次,共测定 5 d,结果 RSD%分别为 9.6%、8.7%、5.2%。

2.3 被动扩散(PD)实验 大白兔在实验前 24 h 禁食不禁水,剪去并剃净兔背部脊柱两侧的毛。将兔固定,然后贴上青风藤电离巴布剂(3 cm×7 cm;开始计时,并在 0、1、2、4、6、8、10、12、16、20、24、28 h

从兔耳缘静脉(当耳缘静脉无法抽血时则从耳缘动脉或划割兔耳)取血 1.0 ml,置于 5 ml 带塞肝素化的离心管中,离心力 $999\times g$ 离心 20 min,抽取 0.5 ml 血清并加入 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液 0.2 ml,混匀;加入 5 ml 氯仿提取 15 min,分离出氯仿层,再加入 5 ml 氯仿,提取 15 min;合并氯仿液,水浴上蒸干氯仿,用 100 μl 甲醇溶解,取 30 μl 进样,用标准曲线法计算含量。每个样品重复测定 3 次。

2.4 电致孔透皮(EP)实验 青风藤电离巴布剂(3 cm×7 cm 从中间剪开为大小相等的两部分,分别接在电致孔仪的正负电极上,然后贴于兔背部(两半巴布剂间隔 1.0 cm);开始电致孔给药,电致孔条件是脉冲电压 100 V、脉冲时间 1.2 ms、波形 SW-TW、脉冲频率 120 个/min、脉冲数 240 个。电致孔完毕后开始计时,并在 0、1、2、4、6、8、10、12、16、20、24、28 h 从兔耳缘静脉(当耳缘静脉无法抽血时则从耳缘动脉或划割兔耳)取血 1.0 ml,血样处理方法同 2.3 项。每个样品重复测定 3 次。

PD 与 EP 在大白兔体内的血药浓度与时间的关系见图 1,EP 在相同时间的血药浓度均高于 PD 的血药浓度。

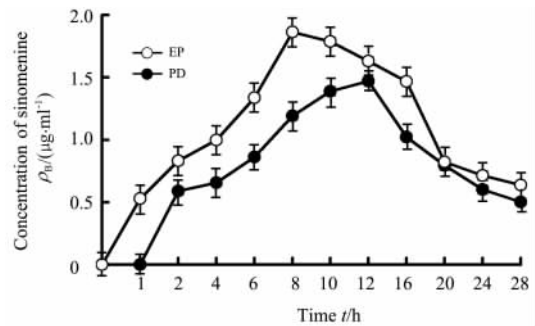


图 1 被动扩散给药(PD)与电致孔透皮给药(EP)的血药浓度-时间曲线
Fig 1 Plasma drug concentration-time curve for passive diffusion(PD) and electroporation diffusion(EP)
 $n=3,\bar{x}\pm s$

2.5 血药浓度数据的统计矩分析 统计矩分析所得的相关药动力学参数如表 1。由实验结果可知电致孔技术透皮给药的 $AUC_{0\rightarrow\infty}$ 为被动扩散的 1.32 倍,体内平均滞留时间为被动扩散的 86%, c_{max} 为被动扩散的 1.31 倍, t_{max} 减小比被动扩散提前 4 h;消除速率常数 λ 二者一致。

表 1 被动扩散给药(PD)与电致孔透皮给药(EP)的相关药动力学参数

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of passive diffusion(PD) and electroporation diffusion(EP)

Group	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$	$AUMC_{0 \rightarrow \infty}$	MRT	C_{max}	t_{max}	λ
PD	32.978	733.232	22.234	1.471	12	0.057
EP	43.396	869.011	20.025	1.825	8	0.056

AUC :Area under the curve of time and blood drug concentration; $AUMC$:Area under the first moment curve of time and blood drug concentration; MRT:Mean residence time;PD:Passive diffusion; EP:Electroporation diffusion

3 讨 论

初步的动物药动力学实验结果表明电致孔技术能够显著提高药物透皮吸收的速度和程度,电致孔技术透皮给药的药-时曲线下面积 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 比被动扩散的 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 大,体内平均滞留时间有所减小,峰浓度 C_{max} 增加,达峰时间 t_{max} 减小;由曲线末端拟合的单指数衰减方程中的消除速率常数 λ 二者一致;电致孔技术透皮给药的药-时曲线比被动扩散的药-时曲线平滑且下降较慢,说明电致孔技术能够使药物在皮肤中形成药物储备而维持血药浓度。实验结果表明电致孔技术能够有效提高药物透皮吸收的速度和程度,从而提高生物利用度。

[参 考 文 献]

[1] Medi B M, Singh J. Electronically facilitated transdermal delivery of human parathyroid hormone (1-34)[J]. Int J Pharm, 2003, 263(1-2):25-33.
[2] Dujardin N, Staes E, Kalia Y, Clarys P, Guy R, Pr  at V. In vivo

assessment of skin electroporation using square wave pulses [J]. J Control Release, 2002, 79(1-3):219-227.
[3] Jadoul A, Bouwstra J, Pr  at V V. Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum. Review of the biophysical studies[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 35:89-105.
[4] Riviere J E, Monteiro-Riviere N A, Rogers R A, Bommannan D, Tamada J A, Potts R O. Pulsatile transdermal delivery of LHRH using electroporation: Drug delivery and skin toxicology[J]. J Contr Rel, 1995, 36:229-233.
[5] 刘洪卓,王永军,杨婷媛,李红菊,李三鸣. 化学促渗剂预处理与电致孔联用促进大鼠皮肤滞留环孢素 A[J]. 中国新药杂志, 2007, 16:1015-1018.
[6] Jiang G, Zhu D, Zan J, Ding F. Transdermal drug delivery by electroporstion: the effects of surfactants on pathway lifetime and drug transport[J]. Chin J Chem Eng, 2007, 15:397-402.
[7] 蒋国强,朱德权,咎 佳,戚 明,丁富新. 电致孔经皮传输胰岛素:胰岛素在电脉冲下的稳定性研究[J]. 高校化学工程学报, 2005, 19:786-791.
[8] 胡巧红,应美芳,李晓芳,郭波红. 电穿孔技术促进甲硝唑家兔在体经皮吸收的研究[J]. 广东药学院学报, 2006, 22:115-120.

[本文编辑] 尹 茶

• 论文摘要 •

锌指蛋白 ZBTB20 是调控肝脏甲胎蛋白基因转录的关键抑制因子

谢志芳,张 海, Wenwei Tsai,张 晔,杜 宇,钟纪根, Claude Szpirer, 朱明华,曹雪涛, Michelle Craig Barton, Michael J. Grushby, 章卫平

[摘要] 甲胎蛋白(AFP)在胎肝中高表达,出生后不久就快速下调至很低水平。有关肝脏 AFP 基因出生后的转录抑制机制一直是未解之谜。AFP 基因的增强子、抑制区域和启动子等顺式调控元件可能参与其转录抑制的调节,但有关的关键性转录抑制因子尚不明确。我们发现了一种新型锌指蛋白 ZBTB20,为研究其体内的生理功能,我们利用条件打靶技术,建立了 ZBTB20 的组织特异性基因敲除小鼠模型,发现肝细胞特异性 ZBTB20 基因敲除小鼠出生后的肝脏 AFP 基因一直维持近乎胎肝的高水平表达,而其肝细胞处于正常的静息状态。生化分析显示, ZBTB20 具有转录抑制活性,体外可有效抑制 AFP 启动子的转录活性;染色质免疫沉淀和 EMSA 实验结果显示 ZBTB20 体内和体外能直接结合 AFP 启动子。在小鼠肝脏的发育过程中, ZBTB20 基因被渐进激活,与 AFP 基因的表达水平呈负相关,提示激活的 ZBTB20 参与了 AFP 基因的转录抑制。上述结果表明 ZBTB20 是调控 AFP 基因表达的关键转录因子,由此我们认为肝脏 ZBTB20 基因出生后的表达上调及其发挥的转录抑制作用是导致 AFP 基因出生后快速下调的主要原因。(本课题受国家自然科学基金、科技部“863”和“973”项目资助)

[PNAS, 2008, 105(31):10859-10864]