

# 人参皂苷 Rb1 巴布剂对微血管舒缩活动振幅影响的研究

朱玉欣<sup>1</sup>, 张倩<sup>1</sup>, 张涛<sup>1</sup>, 朱雯宇<sup>1</sup>, 冯波<sup>1,2</sup>, 王建舫<sup>1</sup>, 董虹<sup>1</sup>, 穆祥<sup>1\*</sup> (1. 北京农学院动物科技学院, 北京农学院兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100083)

**摘要** **目的:** 探究人参皂苷 Rb1 巴布剂对微血管舒缩活动的影响。**方法:** 运用智能透皮仪进行人参皂苷 Rb1 巴布剂体外透皮, 收集接受液并用高效液相色谱分析。将巴布剂贴敷在志愿者的穴位区皮肤上, 利用激光多普勒血流仪测定, 并记录贴敷含药巴布剂前后穴位区皮内微血管的舒缩运动振幅。**结果:** 随着透皮时间的延长, 人参皂苷 Rb1 的累积透过率增多。人参皂苷 Rb1 巴布剂穴位贴敷引起微血管舒缩活动振幅均有显著提高 ( $P < 0.01$ )。**结论:** 人参皂苷 Rb1 巴布剂给药系统可释放药物进入穴位区, 提高穴位区皮内微血管舒缩运动振幅, 达到针灸的效果, 因此人参皂苷 Rb1 可以在临床上代替针灸, 治疗疾病。

**关键词:** 人参皂苷 Rb1; 巴布剂; 微血管; 舒缩运动; 振幅

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)03-0269-06  
doi:10.16153/j.1002-7777.2017.03.007

## On the Effect of Ginsenoside Rb1 Babu Agent on the Amplitude of Microvascular Vasomotion

Zhu Yuxin<sup>1</sup>, Zhang Qian<sup>1</sup>, Zhang Tao<sup>1</sup>, Zhu Wenyu<sup>1</sup>, Feng Bo<sup>1,2</sup>, Wang Jianfang<sup>1</sup>, Dong Hong<sup>1</sup>, Mu Xiang<sup>1\*</sup> (1. College of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, Beijing 102206, China; 2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract** **Objective:** To study the effect of ginsenoside Rb1 Babu agent on the amplitude of microvascular vasomotion. **Methods:** The transdermal permeation of ginsenoside Rb1 Babu agent in vitro was performed by using intelligent transdermal apparatus, and the percutaneous fluid was collected and analyzed by using high performance liquid chromatography (HPLC). The Babu agent was stuck on acupoint of volunteers, determined by Laser Doppler Flowmeter, and amplitude of microvascular vasomotion of acupoint was recorded. **Results:** With the extension of transdermal time, the cumulative transmittance of ginsenoside Rb1 increased. The amplitude of microvascular vasomotion could be significantly increased with the application of ginsenoside Rb1 Babu agent ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The drug delivery system of ginsenoside Rb1 Babu can release the drug into the acupoint, increase the amplitude of microvascular vasomotion, and achieve the effect of acupuncture. Therefore, ginsenoside Rb1 Babu agent can be used to treat disease and replace acupuncture clinically.

**Keywords:** ginsenoside Rb1; Babu agent; microvascular; vasomotion; amplitude

基金项目: 经穴效应循经特异性规律及影响因素基础研究(编号 2012CB518502)

作者简介: 朱玉欣, 硕士生; 研究方向: 针灸及中药防治疾病机理的研究; E-mail: 2453587612@qq.com

通信作者: 穆祥, 教授, 硕士; 研究方向: 中兽药防治疾病的现代科学原理研究; Tel: (010) 80799515; E-mail: muxiang1109@sina.com

穆祥等研究表明,穴位区皮内的微血管群具有同步舒缩的现象,显著有别于非穴位区,在此基础上提出穴位的实质是穴位区皮内具有同步舒缩功能的微血管群<sup>[1]</sup>,且进一步研究证明,针灸能显著提高穴位区皮内微血管舒缩活动的振幅<sup>[2]</sup>,而提高病灶区微血管舒缩活动的振幅能显著提高针灸对犬椎间病的疗效<sup>[3]</sup>。但是,针灸需要了解穴位具体位置,掌握针灸的技能,临床上会遇到一些困难。而《黄帝内经》有记载“针药同源”,针灸中药,虽有外治、内治之分,但针药同源,治亦同理。穴位给药,更是将两种治疗手法有效结合,从古至今广泛应用于临床。穴位可作为给药窗口,吸收药物,产生治疗作用。本实验室前期研究证明,利用离子导入仪穴位导入人参皂苷Rb1,可有效提高穴位区微血管舒缩活动的振幅。因此,尝试制备人参皂苷Rb1巴布剂,探究其对穴位区微血管舒缩活动振幅的影响,以期研制出一种可代替针灸治疗的外用药物贴剂。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

人参皂苷Rb1(上海同田生物技术有限公司, CAS: 41753-43-9);聚丙烯酸钠(批号: S108369)、羧甲基纤维素钠(批号: C104986)、阿拉伯胶(批号: A108975)、明胶(批号: G108396)、高岭土(批号: 38120)、羊毛脂(批号: L116310)、甘油(批号: G116203)、氮酮(批号: A104374),均购自美国阿拉丁工业公司(Aladdin);无水乙醇(北京化工厂,批号: 20090601);生理盐水注射液(河北天成药业有限公司,批号: 090710116)。

### 1.2 仪器

智能透皮仪(天津市精拓仪器科技有限公司)、PeriFlux System 5000型激光多普勒血仪(瑞典Perimed公司)、PROBE407激光探头、PH07-4探头座、PF 105-3胶(瑞典Perimed公司)、WQ6-F30型针灸经络定位仪(北京海淀区东华电子仪器厂)、UT39系列新型数字万用表[优利德电子(上海)有限公司]、博宇BY3005S单路直流稳压电源(北京博宇讯铭科技有限公司)。

### 1.3 试验动物

体重为18~22 g的雄性昆明种小鼠(北京海淀区兴隆实验动物养殖场)。

### 1.4 受试对象

20~30岁健康志愿者8人。

## 2 巴布剂的制备

### 2.1 含药巴布剂的制备

准确称取0.75 g聚丙烯酸钠、0.3 g羧甲基纤维素钠、7.5 g阿拉伯胶、7.5 g明胶,混合均匀,分散于20 mL配方量的水中,溶胀3 h。同时,将3 g高岭土分散于19 mL甘油中,混合均匀。之后于沸水浴中,边搅拌溶胀后的聚丙烯酸钠等混合物,边向其中加入混合了高岭土的甘油及20 mL水、1 g羊毛脂,搅拌20 min。得到的透明胶体,即为所需的巴布剂基质。

经前期试验证明,5%氮酮作为促透剂时,本巴布剂中药物的透过情况最优。选择药物浓度为0.5%,即分别称取25 mg人参皂苷Rb1于1 mL乙醇和0.25 mL氮酮的混合液中,待充分溶解后,加入经水浴融化的5 g基质中,混合均匀后,涂布于穴位空白贴中,冷却后,4℃保存备用。

### 2.2 空白巴布剂的制备

空白基质5 g、1 mL乙醇和0.25 mL氮酮,操作方法同“2.1”节。

## 3 人参皂苷Rb1巴布剂体外透皮

### 3.1 离体鼠皮的制备

选取体重为18~22 g的雄性昆明种小鼠,用脱毛膏脱去腹部毛,脱毛后继续饲养1 d,于实验前颈椎脱臼处死、固定,取腹部皮肤,除去皮下脂肪、毛细血管及黏膜,选用无破损皮肤,用生理盐水反复洗涤干净后,置冰箱中低温保存备用。

### 3.2 经皮渗透试验

采用Franz扩散装置(接受室体积为15 mL,有效接触面积为0.785 cm<sup>2</sup>),在接受室加入预温37℃的生理盐水,以皮肤表皮层朝内,角质层朝外,巴布剂贴于角质层外,固定装置,以恒温37℃,搅拌速度300 r·min<sup>-1</sup>进行试验,于0.5、1、2、3、4 h进行取样,每次取2 mL,补充相同体积生理盐水。将所取样品经0.22 μm微孔滤膜过滤,经HPLC分析,检测药物透过皮肤的情况。

### 3.3 接受液HPLC分析

人参皂苷Rb1检测的色谱条件:色谱柱(Waters C18, 150 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温25℃,流速1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量为100 μL。流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(34:66),检测波长

203 nm。

#### 4 微血管舒缩活动振幅的检测

本实验征集了8名健康大学生作为实验对象，每位志愿者分别贴敷含人参皂苷Rb1巴布剂、空白贴，记录为药物组、对照组。

##### 4.1 待测穴位的选取、定位

因为实验过程中，人参皂苷Rb1巴布剂要一直贴敷在穴位处，因此，选用了同经络的2个穴位，曲池穴和手三里穴，曲池穴用来贴敷，手三里穴用做检测。

##### 4.1.1 穴位显色剂的配制

100 mL蒸馏水煮沸，加9 g甲基纤维素，边加边搅拌均匀，加0.8 g酚酞试剂，充分搅拌，再加15%尼泊金甲酯、2.5%尼泊金乙酯的乙醇溶液各1 mL，10%新洁尔灭2 mL，冷却后即可使用。

##### 4.1.2 穴位低电阻点显色方法

根据解剖部位大体确定待测穴位的位置，用清水擦洗干净并晾干。穴位电极（直径20 mm的铜片，厚度0.5 mm）轻轻安放在待测穴位，连接博宇BY3005S单路直流稳压电源负极，参考电极（40 mm×20 mm的2片不锈钢片，厚度0.2 mm）垫着沾湿生理盐水的纱布夹在受试者耳根部，连接电源正极，中间串联UT39系列新型数字万用表，万用表用2 mA档。接通电源，观察数字万用表的读数，电流读数将随时间的延长而逐渐增加，随时控制电源的输出电压以控制电流强度。当电流达到0.3 mA时，开始计时60 s，切断电源，在穴位电极作用部位涂上显色剂，即可显出玫瑰红色小圆点。

此玫瑰红色小圆点的位置就是穴位点。

##### 4.2 微血管舒缩活动振幅的测定

受试者为8名健康大学生，受试者试验前应避免任何影响皮肤血流灌注量的活动，并于测定前在室温25℃安静的房间内适应环境20 min。为避免由于测量目标/身体运动导致的伪迹干扰，试验过程中，受试者应尽量保持安静。

试验前启动激光多普勒血流仪，连接探头，预热20 min。将激光多普勒血流仪的PROBE 407探头固定于穴位点，注意探头应与测试部位垂直。当图形运动变化趋于稳定后，开始记录。第一次测试结束3 d后，再进行下一次测试。

#### 5 图像处理及数据分析

从每张微血管舒缩活动振幅图像中，分别选取5段数据计算穴区振幅变化。振幅的变化= $PU_{\max}-PU_{\min}$ 。

用prism统计学软件处理数据，计量资料用均值±标准差（s）表示，组间比较用t检验，以 $P<0.05$ 为统计学差异显著， $P<0.01$ 为统计学差异极显著。

#### 6 实验结果

##### 6.1 人参皂苷Rb1巴布剂体外透皮的结果

人参皂苷Rb1标准品经液相分析，如图1所示，在4.3 min左右出现该成分。未含人参皂苷Rb1巴布剂体外透皮经液相分析，如图2所示，其表明巴布剂成分对人参皂苷Rb1的测定不产生干扰。人参皂苷Rb1巴布剂体外透皮经液相分析，0.5 h时药物已经透过皮肤，如图3、4所示。

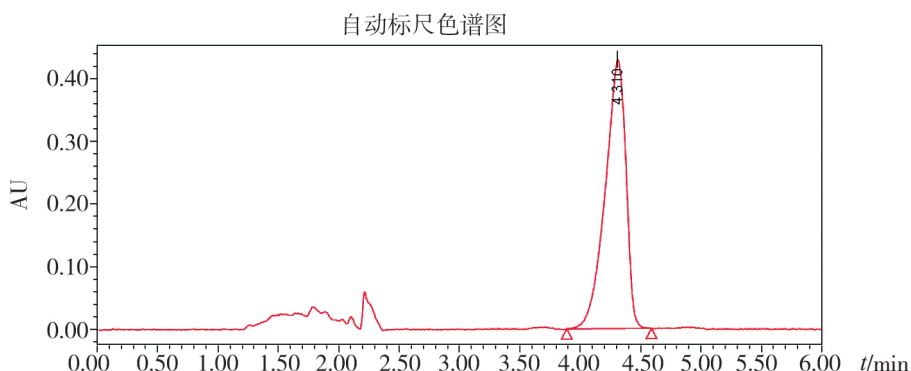


图1 人参皂苷Rb1标准品

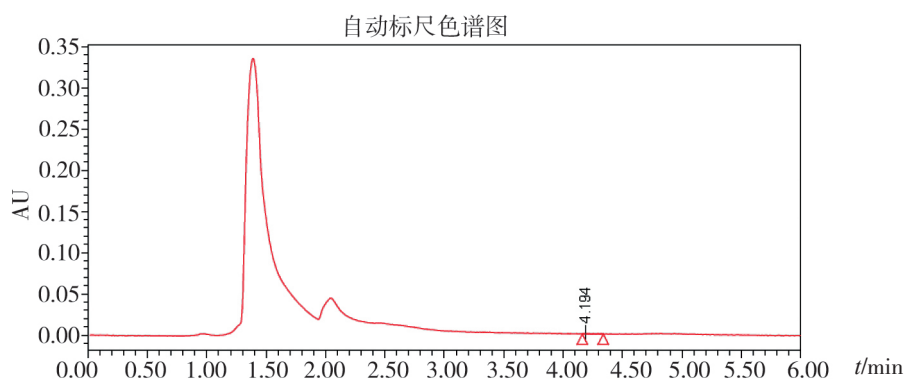


图2 未含人参皂苷Rb1巴布剂色谱图

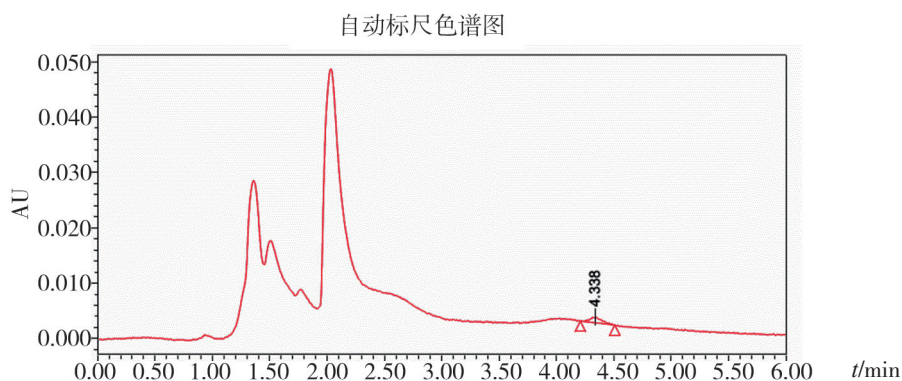


图3 人参皂苷Rb1透皮0.5 h

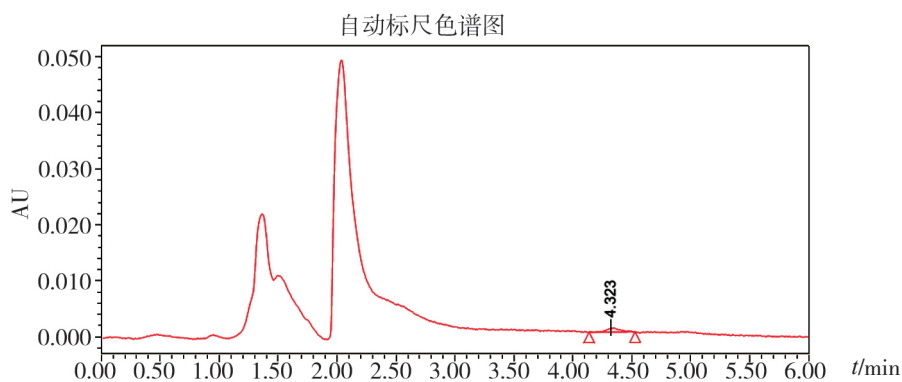


图4 人参皂苷Rb1透皮1 h

## 6.2 人参皂苷Rb1的皮肤累积透过率

不同时间药物累计透过率的计算公式:

$$R = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i}{m} \times 100\%$$

式中,  $R$ 为累积渗透率(%);  $C_n$ 、 $C_i$ 分别为 $n$ 、 $i$ 个

取样点所测的药物浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $V$ 、 $V_i$ 分别为扩散池体积(mL)和第 $i$ 次取样体积(mL);  $m$ 为总药物质量( $\mu\text{g}$ )。以累计渗透率 $R$ 为纵坐标, 时间 $t$ 为横坐标作图, 得到累计渗透量—时间曲线, 结果见图5。随着透皮时间的延长, 人参皂苷Rb1的累积透过率增多。



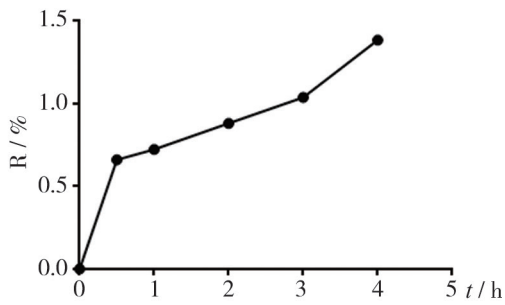


图5 人参皂苷Rb1的累积透过率与时间关系

### 6.3 微血管舒缩活动振幅的检测结果

研究发现,受试者在贴敷人参皂苷Rb1巴布剂后,微血管舒缩活动振幅均有显著提高( $P<0.01$ )。但是对照组中,有的受试者在贴敷巴布贴后,微血管舒缩活动振幅较之前也可能出现显著升高的现象( $P<0.01$ ),但升高的幅度不如贴敷加药巴布剂明显。部分受试者的微血管舒缩活动振幅变化统计图见图6。

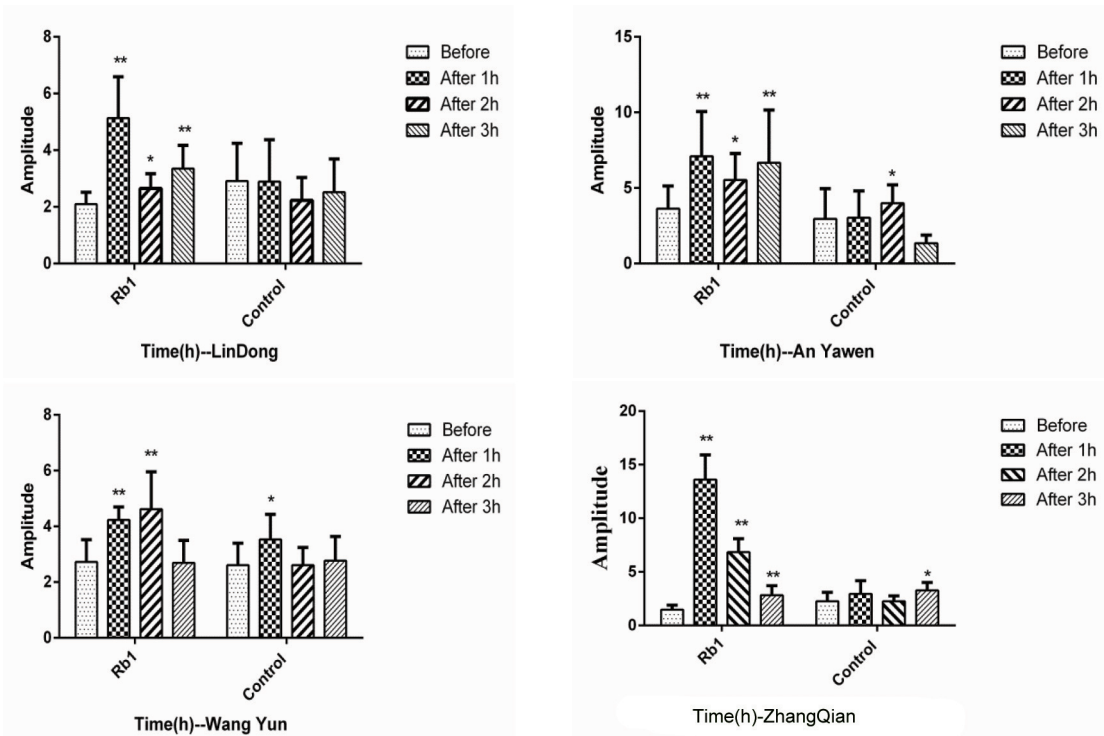


图6 受试者微血管舒缩活动振幅变化

## 7 讨论

微血管的自律运动是一种具有独特的振幅和频率的复杂的似周期性的生物波<sup>[4]</sup>。众多疾病状态下微血管自律性舒缩活动减弱,如糖尿病、高血压和肥胖患者等。实验室前期研究,利用针刺方法刺激穴位,能显著提高受刺激穴位区皮肤内微血管群自律性舒缩活动的振幅,表明提高微血管自律运动幅度对治疗疾病具有潜在的意义。但是,因针灸疗法的施用需要专业的人员和专用的工具,这给患者的治疗带来了诸多不便。且患者通常会对针刺治疗有一定恐惧,甚至有的患者会出现晕针的现象。根据中医针药同源的理论,中药施治与针灸施治的机理理应相同。穴位可作为给药部位,吸收药物,产生治疗作用。穴位给药,更是将2种治疗手法有效

结合,从古至今广泛应用于临床<sup>[5-7]</sup>。

人参皂苷Rb1对中枢神经系统、心血管系统、免疫系统以及抗肿瘤、抗肝脏热缺血再灌注损伤、降血糖等方面均有较好的治疗作用<sup>[8]</sup>。前期研究发现,穴位导入人参皂苷Rb1可提高穴位区皮肤内微血管群自律性舒缩活动的振幅<sup>[9]</sup>,即穴位给药人参皂苷Rb1可以达到针灸效应。因此,本实验尝试开发人参皂苷Rb1穴位贴敷剂,利用穴位贴敷代替针刺治疗,从而使患者更方便、更轻松地接受治疗,达到同针灸相同的治疗效果。

巴布剂是以亲水性高分子材料为基质,配以不同药方来发挥临床治疗效果的一种剂型。它与皮肤的亲和性较好,无过敏性,载药量大,特别适合作为剂量大、成分复杂的中药外用剂型,并且可以

满足患者对贴敷舒适、使用方便、过敏性和刺激性小、安全有效的要求<sup>[10]</sup>。因此,选择巴布剂作为体外透皮给药的药物载体。

作为巴布剂研制的第一步,基质的处方设计是极为关键的。基质处方设计是否科学、合理,将直接关系到巴布剂的性能。制约巴布剂的最大屏障是药物能否透皮<sup>[11]</sup>,因此,采用Franz扩散装置进行体外透皮性能的研究。结果显示,本巴布剂可以使人参皂苷Rb1透过皮肤,而且随着透皮时间的延长,人参皂苷Rb1的累积透过量越多,累计透过率越大。

研究结果发现,受试者在贴敷人参皂苷Rb1巴布剂后,微血管舒缩活动振幅均有显著提高( $P<0.01$ )。同针灸后的效果相同,微血管舒缩活动振幅的提高,会对机体产生有益的影响,有助于血液的流动,并且适宜的振动可促进细胞释放各种因子,有利于细胞的新陈代谢和细胞结构的维持,这些振动可以通过细胞和细胞间质进行传递,对组织液中微粒的融合反应及细胞之间的物质交换起到调节作用<sup>[12]</sup>。但是对照组中,有的受试者在贴敷巴布贴后的某个时间段,微血管舒缩活动振幅较之前也可能出现显著升高的现象( $P<0.01$ ),只是升高的幅度不如贴敷含药巴布剂明显。这主要是由于促透剂对微血管舒缩活动振幅有一定的作用,但是其效果不如人参皂苷Rb1明显。含药巴布剂对每个人微血管舒缩振幅的影响均有显著差异,但因个体差异其影响程度也会有所不同。

选择人进行试验,主要是由于人有控制力,可不受外界干扰,在一段时间内可以保持平静、稳定的姿态,这是其他动物难以达到的。采用麻醉的方法虽然可以使动物达到安稳的状态,但是麻醉对微血管舒缩活动的振幅会产生抑制作用<sup>[13-15]</sup>。穴位巴布剂成分无毒,体外用药且量少,对人体无毒害。同时,Rb1巴布剂将来主要用于人原发性高血压的治疗。综合考虑,本试验选择人作为受试对象。

试验结果表明:人参皂苷Rb1巴布剂给药系统可释放药物进入穴位区,提高穴位区皮肤内微血管舒缩运动的振幅,从而为利用穴位贴敷人参皂苷Rb1巴布剂代替针灸治疗疾病的临床应用奠定了基础。

#### 参考文献:

[1] 穆祥,段惠琴,陈武,等. 膈穴实质与微血管相关

的生理学研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(12): 47-52.

[2] 穆祥,段惠琴,张涛,等. 经线区皮内微血管网络自律运动有序性的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(1): 55-60.

[3] 陈武,姜威,张玉忠,等. 椎间盘脱(突)出犬相关穴位微循环变化及电针效应初探[J]. 中国兽医杂志, 2004, 40(11): 34-36.

[4] 修瑞娟. 微血管自律运动的研究-II: 骨骼肌的微血管自律运动及其与血流速度及血流量的关系(简报)[J]. 中国医学科学院学报, 1985, 7(2): 116-118.

[5] 王康锋,杨军. 中药透皮给药结合康复促通技术治疗卒中后肩痛疗效观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(9): 68-69.

[6] 张葆花,于文宇,李建设. 中药穴位贴敷治疗类风湿性关节炎38例[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(4): 445-448.

[7] 郭彩霞,刘霞,徐月红,等. 白芥子涂方穴位与非穴位给药皮肤渗透特性的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 1034-1038.

[8] 杨秋娅,李晓宇,刘皋林. 人参皂苷Rb1的药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(15): 1233-1237.

[9] 卢爱军,庞爱军. 用穴位给药法治疗心律失常的研究现状与展望[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1278-1280.

[10] 周智慧,张涛,穆祥,等. 人参与其主要活性成分对穴位区皮内微血管舒缩活动振幅的影响[J]. 北京农学院学报, 2010, 25(4): 24-25, 36.

[11] 王艳艳,徐希明,余江南. 中外巴布剂研究现状分析[J]. 中国药事, 2009, 23(6): 603-605.

[12] 王雪,高建德. 中药巴布剂的研究进展[J]. 中医儿科杂志, 2007, 3(2): 54-57.

[13] 穆祥,张维波. 论细胞与细胞物理环境[N]. 科技导报, 2000, 18(7): 7-10.

[14] Hershey SA, Zweifach BM, Rovenstine EA. Effects of Depth of Anesthesia on Behavior of Peripheral Capillary Bed[J]. Anesthesiology, 1972, 37: 423-426.

[15] Salerud EG, Tenlard T, Nilsson GE, et al. Rhythmical Variations in Human Skin Blood Flows [J]. Int J Microcirc: Clin Exp, 1983, (2): 91-93.

(收稿日期 2016年9月28日 编辑 王雅雯)