

醋调敷吴茱萸粉末的体外透皮吸收考察

王森,雷小娟,朱卫丰*,黄招光

(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004)

[摘要] 目的:考察吴茱萸粉末醋调敷豚鼠的体外透皮渗透特性。方法:采用改良 Franz 扩散池,以离体豚鼠皮肤为透皮屏障,通过体外透皮吸收试验,用 HPLC 检测接收液中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的质量浓度,计算累积透过量、渗透速率,建立渗透曲线方程。结果:茱萸碱和吴茱萸次碱的透皮吸收速率分别为 $0.34, 0.19 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, 24 h 累积透过量分别为 $7.78, 4.42 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。结论:醋调吴茱萸粉末中吴茱萸碱和吴茱萸次碱具有良好的体外透皮释放性能,为吴茱萸经皮吸收制剂的研究提供参考。

[关键词] 吴茱萸;透皮吸收;吴茱萸碱;吴茱萸次碱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0031-04

[doi] 10.11653/syfy2013100031

Investigation of *in vitro* Percutaneous Absorption of *Evodia rutaecarpa* Powder Dressing with Vinegar

WANG Sen, LEI Xiao-juan, ZHU Wei-feng*, HUANG Zhao-guang

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate *in vitro* transdermal permeability of *Evodia rutaecarpa* powder vinegar dressing in guinea pigs. **Method:** Modified Franz diffusion cell was adopted, with isolated guinea pig skin as transdermal barrier, through *in vitro* percutaneous absorption test, the content of evodiamine and rutaecarpine was determined by HPLC, then cumulative amount and permeation rate, in order to obtain penetration curve equation. **Result:** Transdermal absorption rate of evodiamine and rutaecarpine were $0.34, 0.19 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, the cumulative amount of them in 24 h were $7.78, 4.42 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. **Conclusion:** Evodiamine and rutaecarpine from *E. rutaecarpa* powder dressing vinegar had good *in vitro* transdermal absorption characteristics, it could provide a reference for study on percutaneous absorption preparation of *E. rutaecarpa*.

[Key words] *Evodia rutaecarpa*; percutaneous absorption; evodiamine; rutaecarpine

吴茱萸粉末醋调外敷足心涌泉穴,取其滋阴降火、引热下行,发挥药物和穴位的双重作用,临床用于治疗口疮、咽炎、腮腺炎、高血压病^[1]等,疗效确切^[2]。吴茱萸中主要有效成分吴茱萸碱和吴茱萸次碱具有扩张血管、降血压、抗肿瘤、抗炎等药理作用^[3];据文献报道及预试验表明,吴茱萸碱和吴茱

萸次碱具有一定的经皮渗透性^[4-7],故本实验选取吴茱萸碱和吴茱萸次碱为指标成分,考察吴茱萸药材粉末醋调敷豚鼠体外透皮吸收特性,为吴茱萸经皮吸收制剂的研究提供参考。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限

[收稿日期] 20121202(012)

[基金项目] 江西省科技支撑计划项目(2010JX00095);南昌市科技支撑计划项目(2010-KJZCJH-YYYYLQX-108);江西省研究生创新专项资金项目(YC2011-S111)。

[第一作者] 王森,博士,讲师,从事中药外用制剂研究,Tel:0791-87118614, E-mail:wangsen912912@126.com

[通讯作者] *朱卫丰,教授,硕士生导师,从事中药经皮给药新剂型新技术研究,Tel:0791-87118614, E-mail:zwf0322@126.com

公司), HypersiL ODS2 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 大连依利特), TT-6B 型透皮吸收试验仪(配套改良 Franz 扩散池, S = 1.766 3 cm², V = 12 mL, 天津市正通科技有限公司), BP211D 型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司), YS-04 型小型粉碎机(北京燕山正德机械设备有限公司)。

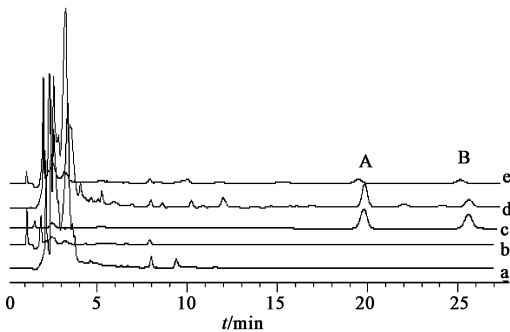
吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 11802-200606, 11801-201006), 吴茱萸(产地江西, 购于樟树天齐堂中药饮片有限公司, 批号 1105004, 经江西中医学院药学院张寿文副教授鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实), 食醋(山西陈世家酿造业有限责任公司), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为自制双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

豚鼠, 雌性, 体重(200 ± 15) g, 购自河南康达实验动物有限公司, 动物许可证号 SCXX(豫) 2011-0001。

2 方法与结果

2.1 吴茱萸和吴茱萸次碱 HPLC 测定

2.1.1 色谱条件 HypersiL ODS2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相水-甲醇-乙腈(51:20:29), 检测波长 225 nm, 柱温 25 °C, 流速 1 mL · min⁻¹, 进样量 20 μL。理论塔板数按吴茱萸碱峰计算不低于 4 000, 见图 1。



a. 空白皮肤接收液; b. 空白皮肤滞留; c. 混合对照品;
d. 透皮接收液样品; e. 皮肤滞留样品; A. 吴茱萸碱; B. 吴茱萸次碱

图 1 吴茱萸 HPLC

2.1.2 对照品溶液的配制^[8] 取干燥 24 h 的吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品, 精密称定, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 制得含吴茱萸碱、吴茱萸次碱质量浓度分别为 33.77, 44.11 mg · L⁻¹ 的混合对照品母液, 贮存于冰箱中备用。

2.1.3 标准曲线的绘制

2.1.3.1 绝对线性 精密量取对照品母液适量, 用甲醇稀释至吴茱萸碱质量浓度分别为 13.508, 6.754, 3.377, 1.689, 0.844, 0.422, 0.084 mg · L⁻¹;

吴茱萸次碱质量浓度分别为 17.644, 8.822, 4.411, 2.206, 1.103, 0.551, 0.110 mg · L⁻¹ 的系列对照品溶液。

2.1.3.2 相对线性 将空白透皮接收液样品(空白皮肤 + 醋调淀粉) 1 mL 与系列对照品溶液 1 mL 配制成系列混合溶液。

分别精密吸取上述溶液 20 μL, 按 2.1.1 项下色谱条件测定吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量, 以峰面积为纵坐标, 相应质量浓度为横坐标, 结果各成分线性关系良好, 见表 1。

表 1 醋调吴茱萸粉末中指标成分线性关系考察

组分	回归方程	r	线性范围/μg
绝对线性 吴茱萸碱	Y = 193.60X + 26.597	0.999 5	0.001 7 ~ 0.270 2
吴茱萸次碱	Y = 120.96X + 14.042	0.999 6	0.002 2 ~ 0.352 9
相对线性 吴茱萸碱	Y = 198.30X + 5.054	0.999 9	0.000 4 ~ 0.205 0
吴茱萸次碱	Y = 120.44X + 3.041	0.999 9	0.000 6 ~ 0.176 4

2.1.4 检测限与定量限 用相对线性的对照品溶液逐级稀释后进样, 信噪比为 3 时对照品的质量浓度表示检测限, 信噪比为 10 时对照品的质量浓度表示定量限。结果吴茱萸碱的最低检测质量浓度 0.008 mg · L⁻¹, 最低定量质量浓度 0.042 mg · L⁻¹; 吴茱萸次碱的最低检测质量浓度 0.011 mg · L⁻¹, 最低定量质量浓度 0.055 mg · L⁻¹。

2.1.5 精密度和稳定性试验 取 2.1.3.2 项下混合溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 每次 20 μL, 测定峰面积, 结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱的 RSD 分别为 0.37%, 1.00%; 表明仪器精密度高。取同一透皮接收液样品分别在 0, 8, 24, 32, 48, 80, 96 h 进样测定, 记录峰面积, 结果吴茱萸碱、吴茱萸次碱 RSD 分别为 1.71%, 1.23%; 说明样品溶液在 96 h 内较为稳定。

2.1.6 回收率试验 精密取 24 h 的透皮样品溶液 0.5 mL, 分别加入高、中、低 3 个质量浓度的对照品溶液 0.5 mL, 混合均匀后用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 按 2.1.1 项下色谱条件精密量取 20 μL 进样, 测定吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量, 计算回收率。结果吴茱萸碱和吴茱萸次碱的回收率 90% ~ 130%, 各组 RSD 均 < 5% (表 2), 说明本方法的回收率符合生物样品的分析要求。

2.2 离体鼠皮的制备 取体重约 200 g 的雌性健康豚鼠, 将腹部毛小心剪去, 处死后剪下腹部皮肤, 小心剥离脂肪及皮下组织, 选取完整皮肤, 用生理盐水反复冲洗干净, -20 °C 冰箱贮存备用^[4,9]。

表2 醋调吴茱萸粉末中吴茱萸碱和吴茱萸次碱加样回收率试验($n=6$)

成分	样品中含量	加入量	实测量	平均回收率	RSD
	/μg	/μg	/μg	/%	/%
吴茱萸碱	0.438	0.211	0.636	94.1 ± 0.046	4.94
		0.844	1.295	101.6 ± 0.010	1.03
		3.377	3.885	102.1 ± 0.008	0.80
吴茱萸次碱	0.275	0.276	0.632	129.4 ± 0.027	2.10
		1.103	1.489	110.1 ± 0.016	1.47
		4.411	4.815	102.9 ± 0.005	0.49

2.3 醋调吴茱萸糊的制备 吴茱萸药材用粉碎机粉碎后过120目筛(粉末粒度约120 μm,吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量分别为1.075,0.477 mg·g⁻¹),准确称取该粉末1.0 g置小烧杯中,加入食醋3 mL,搅拌均匀调成糊状,即得^[1]。

2.4 体外透皮渗透试验 采用改良Franz扩散仪,上、下室均为筒状扩散室,两室对合,中间夹皮肤并固定。接收液为PEG400-95%乙醇-水(1:3:6)^[4]。将处理好的豚鼠腹部皮肤按照扩散面积剪成6份,其中5份贴敷醋调吴茱萸粉末,1份贴醋调淀粉作为对照。在接收室中加入搅拌子,注满接收液,把皮肤真皮面向接收室固定于扩散装置的扩散室和接收室之间,排尽气泡。磁力搅拌器转速设定350 r·min⁻¹,水浴温度(37 ± 0.25) °C,扩散池容积12 mL,有效扩散面积1.766 3 cm²。平衡0.5 h后,将上述吴茱萸糊紧密贴于皮肤表面,于2,4,6,8,10,12,24 h取样,同时补充等量新鲜接收液。每次取样全部倒出,经0.22 μm微孔滤膜滤过,即得透皮吸收液样品。透皮试验结束后,取下皮肤,用新鲜接收液清洗表面残留物,滤纸吸干,剪碎后加入甲醇5 mL超声提取2次,每次30 min,取上清液用0.22 μm微孔滤膜滤过,得皮肤滞留样品。所得样品按2.1.1项下色谱条件精密吸取20 μL进样,测定吴茱萸碱、吴茱萸次碱含量。计算药物的累积透皮量(Q_n)^[10]。

$$Q_n = \frac{VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i}{A} \quad (1)$$

其中A为有效扩散面积,V为接受液总体积, C_n

为第n次取样时接受液中药物质量浓度, C_i 为第i次取样时接受液中药物质量浓度, V_i 为取样体积。以药物的 Q_n 对取样时间作曲线,并对曲线中直线部分进行线性回归,求出直线斜率,即为稳态透皮速率 J_s ,直线与横轴的交点为时滞 t_{lag} 。按式3计算药物的皮肤滞留量(Q_s)。见表3和图2。结果表明吴茱萸碱和吴茱萸次碱的单位面积累积透皮量与时间呈良好线性关系,具有良好的体外透皮释放性能,且吴茱萸碱透皮速率>吴茱萸次碱。

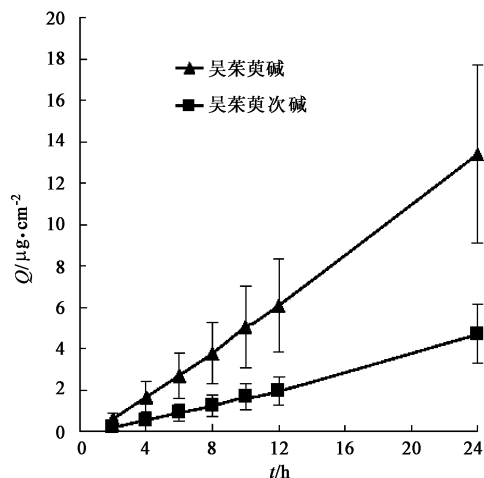


图2 醋调吴茱萸粉末中吴茱萸碱和吴茱萸次碱体外透皮吸收曲线

$$J_s = \frac{1}{3600} \times \frac{dQ}{dt} \quad (2)$$

$$Q_s = VC/A \quad (3)$$

其中A为有效扩散面积,V为皮肤提取液总体积,C为皮肤提取液中药物质量浓度。

3 讨论

吴茱萸碱、吴茱萸次碱透皮过程的线性规律明显,透皮速率恒定,符合零级模型。而吴茱萸碱和吴茱萸次碱的透皮吸收速率较小,24 h累计透过率分别为1.28%,1.64%,说明需要筛选合适的促渗剂或采用其他促透方法,以有效提高透皮吸收效果,从而提高吴茱萸透皮制剂的临床疗效。

透皮接收液样品中吴茱萸生物碱成分性质不稳定,易被破坏,导致含量测定时不易被检出,不能长期保存,与文献报道一致^[11]。吴茱萸粉末醋调敷临床可用于治疗多种疾病,疗效确切,但制成现代经皮吸收制剂,需了解其主要有效成分的经皮吸收特性。

表3 醋调吴茱萸粉末中有效成分体外透皮吸收试验($\bar{x} \pm s, n=5$)

成分	Q-t 方程	r	$Q_{24}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$	$J_s/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	$Q_s/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
吴茱萸碱	$Q=0.336 1t-0.304 3$	0.999 9	7.78 ± 2.49	0.34	0.89 ± 0.30
吴茱萸次碱	$Q=0.191 1t-0.231 1$	0.998 6	4.42 ± 1.35	0.19	0.63 ± 0.29

党参的亚临界水提取工艺优选

张锐*, 张旭, 刘建群, 舒积成, 刘红, 陈泣
(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 优选党参的亚临界水提取工艺。方法: 以党参炔苷和党参多糖提取率的综合评分为指标, 采用单因素试验和正交试验考察料液比、提取时间和温度对党参亚临界水提取工艺的影响, 并与传统提取工艺进行比较。结果: 最佳亚临界水提取工艺为提取温度 150 ℃, 提取时间 45 min, 料液比 12 mL·g⁻¹; 党参炔苷和党参多糖的提取率分别达 0.110 2, 195.1 mg·g⁻¹。结论: 与传统水煎煮工艺相比, 优选的工艺可明显降低提取时间, 并显著提高党参炔苷和党参多糖的提取率。

[关键词] 党参; 亚临界水提取; 党参炔苷; 党参多糖; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0034-04

[doi] 10.11653/syjf2013100034

Optimization of Subcritical Water Extraction Technology of *Codonopsis tangshen*

ZHANG Rui*, ZHANG Xu, LIU Jian-qun, SHU Ji-cheng, LIU Hong, CHEN Qi
(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize subcritical water extraction technology of *Codonopsis tangshen*.
Method: With composite score of yield of lobetyolin and polysaccharides from *C. tangshen* as index, effects of

[收稿日期] 20121127(029)

[基金项目] 江西省教育厅青年科学基金项目(GJJ11186)

[通讯作者] *张锐, 硕士, 副研究员, 从事中药制剂研究, Tel:13870071355, E-mail:work037@sohu.com

本实验证明, 吴茱萸中吴茱萸碱、吴茱萸次碱能较好地透过豚鼠皮肤, 单位面积累积透皮量与时间呈良好线性关系, 具有制成经皮吸收制剂的可行性。

[参考文献]

- [1] 冯松杰, 陶兴, 韦政瑛. 吴茱萸粉外敷涌泉穴治疗肾性高血压 44 例[J]. 中医外治杂志, 2001, 10(1): 44.
- [2] 崔瑛, 纪彬, 苗明三. 吴茱萸外用功效的探讨[J]. 北方药学, 2009, 6(4): 11.
- [3] 严春临, 张季, 薛贵平. 中药吴茱萸药理作用研究概况[J]. 河北北方学院学报, 2009, 26(1): 77.
- [4] 彭丽华, 刘淑芝, 郭春燕, 等. 两种巴布剂基质的体外经皮渗透性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 1.
- [5] 杜茂波, 刘淑芝, 李曼玲, 等. 黄连巴布剂体外释放和透皮行为的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(8): 969.

- [6] 张蓓, 王东凯, 高红, 等. 正交试验法优化吴茱萸巴布剂的基质配方[J]. 中国药剂学杂志, 2005, 3(3): 144.
- [7] 梅莹, 冯伟红, 刘淑芝, 等. 不同微乳配方对药物经皮渗透的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 1.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 160.
- [9] 程建明, 陈新民, 彭稳稳, 等. 丹黄凝胶体外释放和经皮渗透特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 24.
- [10] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 282.
- [11] 甄攀, 杨风珍. 吴茱萸总生物碱提取条件的考察[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(8): 504.

[责任编辑 仝燕]