

· 工艺与制剂 ·

草果挥发油对罗通定贴剂的经皮促渗作用

黄金娥, 马云淑*, 张贵华, 罗红梅
(云南中医学院中药学院, 昆明 650500)

[摘要] 目的: 考察草果挥发油对罗通定贴剂经皮渗透作用的影响。方法: 采用改良 Franz 扩散池进行小鼠体外经皮渗透试验。HPLC 测定罗通定累计渗透量, 考察不同质量分数草果挥发油对贴剂中罗通定的促渗作用。结果: 质量分数 5%, 7%, 10% 的草果挥发油对贴剂中罗通定有一定促渗作用, 罗通定 12 h 累计渗透量依次为 3.848, 4.329, 4.914 $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$, 增渗倍数分别为 1.014, 1.127, 1.282 倍。结论: 草果油可促进贴剂中罗通定的渗透作用。在一定范围内, 随其质量浓度的增大促渗作用增强。

[关键词] 罗通定; 草果; 挥发油; 经皮渗透

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)13-0007-04

Enhancing Effect of Volatile Oil from *Amomum tsaoko* on Percutaneous Penetration of Rotundine Patch

HUANG Jin-e, MA Yun-shu*, ZHANG Gui-hua, LUO Hong-mei

(College of Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

[Abstract] **Objective:** To study on effect of volatile oil from *Amomum tsaoko* on percutaneous penetration of Rotundine patch. **Method:** *In vitro* percutaneous penetration test in rat was conducted by using a modified Franz diffusion cell. Accumulative penetration volume of rotundine was determined by HPLC, enhancing effect of different concentrations of volatile oil from *A. tsaoko* on percutaneous permeation of rotundine in the patch was investigated. **Result:** The concentration of 5%, 7% and 10% of volatile oil from *A. tsaoko* had a certain enhancing effect on permeation of rotundine in the patch, average cumulative penetration volume of rotundine in 12 h of 5%, 7%, 10% volatile oil were 3.848, 4.329, 4.914 $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$, multiples of enhancing permeation in 12 hours were 1.014, 1.127, 1.282. **Conclusion:** Volatile oil from *A. tsaoko* could enhance percutaneous penetration of rotundine in the patch. With a certain range, percutaneous penetration was enhancing with increasing the concentration of volatile oil from *A. tsaoko*.

[Key words] rotundine; *Amomum tsaoko*; volatile oil; percutaneous penetration

罗通定主要从千金藤属部分植物中提取, 是一种具有良好镇痛作用的生物碱。其镇痛作用弱于哌替啶, 强于一般镇痛药, 且在治疗剂量下无呼吸抑制

作用, 不引起胃肠道平滑肌痉挛, 对急、慢性持续性疼痛及内脏钝痛均有一定效果^[1]。罗通定的药理学与药动学性质提示其适宜制备成经皮给药制剂。本课题组前期研究表明莘澄茄、干姜挥发油^[2]对罗通定有一定的体外经皮促渗透作用, 在促渗剂作用下, 罗通定能较好地贴剂基质中扩散并透过皮肤。

草果来源丰富, 挥发油含量较高, 适合作为经皮促渗剂原料。沈留英等^[3]研究发现草果油对罗通定(颅通定)溶液等的体外促渗作用较好。为进一步考察草果油对罗通定贴剂的渗透作用, 本试验以

[收稿日期] 20120209(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960517)

[第一作者] 黄金娥, 硕士研究生, 从事中药药剂学研究, Tel: 15969448103, E-mail: hxe_508@126.com

[通讯作者] * 马云淑, 教授, Tel: 0871-5918204, E-mail: yunshuma2@126.com

罗通定为模型药,草果油为促进剂制备透皮贴剂,并筛选草果油最佳促进浓度。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦),TK-12B 型透皮吸收仪(上海谐凯科技有限公司),BT25S 型分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司),DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂)。罗通定原料药(四川什邡康源植物原料公司,20080411),罗通定对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100452-200301),氮酮(福建寿宁枚菲思生物化学品厂),草果挥发油(姜科植物 *Amomum tsaoko* Crevost et Lemaire 的干燥果实中提取),聚乙烯醇(PVA,天津博迪化工股份有限公司),西黄耆胶(国药集团化学试剂有限公司),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津福辰化学试剂厂),甘油(天津申泰化学试剂有限公司),甲醇、乙腈为色谱纯,水为市售娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。昆明种小白鼠,雄性,20~25 g,由四川省医学科学院实验动物研究所提供,许可证号 Xxkm2010-24。

2 方法与结果

2.1 罗通定储备液的制备 精密称取处方量的罗通定 0.21 g,加入适量 10% 稀硫酸溶解。分别加入处方量的挥发油和聚山梨醇酯-20,加 70% 乙醇定容至 2 mL,超声混合乳化,即得。

2.2 贴剂的制备 分别称取处方量预处理的 PVA^[4]-西黄耆胶-甘油-CMC-Na 11:2:7:5, PVA 于 90 °C 水浴搅匀,依次加入西黄耆胶、甘油、CMC-Na,搅匀,加入已溶好的储备液中,以流涎工艺均匀涂布在 30 cm² 的模具上,放入冰箱干燥备用。

2.3 离体鼠皮的制备 用电动剃须刀剃去小鼠腹部毛,处死,取下腹部皮肤,除去皮下脂肪、组织及血管,用蒸馏水和生理盐水冲洗干净,将取好的皮肤浸于生理盐水中置冰箱中保存备用,试验前自然解冻(1 周内用完)。

2.4 透皮吸收试验

2.4.1 试验装置 透皮扩散仪改良 Franz 散仪池有效面积 2.92 cm²。接收池容积 8 mL,搅拌子长 1.0 cm,透皮扩散仪温度(37 ± 0.5) °C,磁搅拌子转速(250 ± 5) r · min⁻¹,接收液为 20% 乙醇的生理盐水。

2.4.2 罗通定贴剂体外透皮试验^[3] 取出备用鼠皮,将皮肤固定于扩散池上,角质层面向上,将制备好的贴剂紧密贴于小鼠皮肤上,然后将供药池用夹子固定在接收池上,打开磁力搅拌器,接收室加入接

收液,以 37 °C 水浴保温,分别于 0.5,1,2,4,6,8,10,12 h 取出接收室中全部接收液,立即补加 37 °C 预热好等量的新鲜扩散介质,排净气泡。接收液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,收集续滤液 1 mL,样品用 HPLC 测定。根据下列公式计算累积渗透量(Q_n)^[3]。试验数据采用 SPSS 16.0 软件及 Excel 程序进行统计学分析。

$$Q_n = \frac{(C_n \times 8 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 8)}{2.92}$$

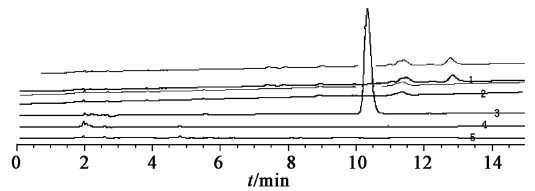
式中 C_n 为第 n 个取样点测到的药物浓度;C_i 为第 i 个取样点测到的药物浓度。以 Q 对时间 t 作图,当药物渗透达到稳态后,其中直线部分的斜率作为药物的透皮速率,即稳态渗透速率(J_{ss})。

药物的渗透系数(K_p) = J_{ss}/C(C 为供药池的药物浓度)

增渗倍数(enhancement ratio, ER) = K_p/K_{p0}(K_p 为加促进剂后药物的渗透系数,K_{p0} 为药物固有的渗透系数)。

2.5 方法学考察

2.5.1 色谱条件 Lichrospher C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-磷酸盐缓冲液[pH 6.8,按 2010 年版《中国药典》二部附录 XVD 项下方法配制(0.2 mol · L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液 250 mL,加 0.2 mol · L⁻¹ NaOH 溶液 118 mL,用水稀释至 1 000 mL)],流速 1 mL · min⁻¹,检测波长 281 nm,柱温 30 °C,进样 5 μL,理论塔板数 > 4 000。样品分离较好,挥发油对其无干扰。见图 1。



1. 草果挥发油;2. 氮酮;3. 对照品;4. 小鼠皮肤;5. 空白基质

图 1 罗通定贴剂 HPLC

2.5.2 标准曲线的绘制 精密吸取罗通定对照品溶液 30.10 mg 于 25 mL 量瓶中加 50 μL 稀硫酸,用 20% 乙醇生理盐水定容,配制成 1.204 g · L⁻¹ 的对照品溶液,精密吸取 0.1,0.3,1.5,3.0,2.5 mL 对照品溶液,定容至 25,25,10,10,5 mL 量瓶中,分别配制成 0.004 8,0.014 4,0.18,0.36,0.6,1.2 g · L⁻¹ 的系列对照品溶液,分别进样 5 μL,注入液相色谱仪,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得线性回归方程 Y = 3 978.8X - 4.311 (R² = 1),罗通定在

0.004 8 ~ 1.2 g·L⁻¹线性关系良好。

2.5.3 精密度试验 精密吸取罗通定对照品溶液(0.18 g·L⁻¹)5 μL,重复进样6次,测定峰面积,RSD 0.074%,说明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性试验 精密吸取同一样品液于0,1,2,4,6,8,12,24 h进样,测定峰面积 RSD 0.447%,说明样品溶液在24 h内稳定。

2.5.5 重复性试验 取同一批样品,配制6份样品溶液,进样6次,测定峰面积 RSD 0.675%。

2.5.6 加样回收率试验 进行高、中、低3个质量浓度(0.213,0.424,0.521 g·L⁻¹)的回收率试验,分别向已知含量的样品液中加入一定量罗通定对照品

(0.201,0.402,0.502 mg),测定峰面积,计算回收率,回收率为(102.09 ± 1.52)%,RSD 1.486%。

2.6 经皮促透考察 经过前期对氮酮用量的筛选,选用7%氮酮为阳性对照,同时按2.2项下制备含阳性对照、空白对照(不含促渗剂)及质量分数为3%,5%,7%,10%的草果挥发油的罗通定贴剂,按2.4.2项下的方法进行试验,平行5次,结果见表1,2。

由表1可知,草果挥发油及氮酮对罗通定贴剂12 h累计渗透量由高到低依次为阳性对照 > 10%草果油 > 7%草果油 > 5%草果油 > 阴性对照 > 3%草果油,即10%草果油为最佳促渗剂。

表1 草果挥发油对贴剂中罗通定12 h的累计渗透量($\bar{x} \pm s, n=5$)

t/h	累计渗透量 $Q_{12}/\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$					
	3% 草果	5% 草果	7% 草果	10% 草果	阳性对照	阴性对照
0.5	0.100 ± 0.092	0.093 ± 0.051	0.139 ± 0.097	0.150 ± 0.039	0.135 ± 0.036	0.078 ± 0.054
1	0.208 ± 0.177	0.201 ± 0.100	0.286 ± 0.181	0.346 ± 0.081	0.303 ± 0.065	0.169 ± 0.106
2	0.460 ± 0.349	0.457 ± 0.207	0.620 ± 0.361	0.711 ± 0.140	0.705 ± 0.134	0.394 ± 0.202
4	1.067 ± 0.641	1.099 ± 0.470	1.371 ± 0.648	1.554 ± 0.241	1.659 ± 0.225	0.967 ± 0.352
6	1.748 ± 0.898	1.748 ± 0.744	2.152 ± 0.879	2.428 ± 0.324	2.716 ± 0.365	1.655 ± 0.484
8	2.437 ± 1.096	2.521 ± 0.997	2.913 ± 1.059	3.331 ± 0.372	3.745 ± 0.529	2.379 ± 0.598
10	3.122 ± 0.247	3.210 ± 0.204	3.646 ± 0.180	4.469 ± 0.410	4.712 ± 0.688	3.108 ± 0.682
12	3.781 ± 0.347	3.848 ± 0.365	4.329 ± 1.265	4.914 ± 0.471	5.577 ± 0.787	3.812 ± 0.752

表2 不同质量分数草果油对罗通定贴剂12 h的透皮速率及增渗倍数($n=5$)

组别	$Q_{12}/\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$	$Q-t$ 方程	r	$J_{ss}/\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}$	ER
阴性对照	3.812	$Q=0.329t-0.218$	0.997 9	0.329 ± 0.062	-
阳性对照	5.577	$Q=0.485t-0.192$	0.999 5	0.485 ± 0.073 ²⁾	1.474 9
3% 草果油	3.781	$Q=0.324t-0.148$	0.999 2	0.324 ± 0.113	0.986 9
5% 草果油	3.848	$Q=0.333t-0.163$	0.999 1	0.333 ± 0.119	1.013 5
7% 草果油	4.329	$Q=0.370t-0.081$	0.999 8	0.370 ± 0.105	1.126 5
10% 草果油	4.914	$Q=0.421t-0.090$	0.999 7	0.421 ± 0.043 ²⁾	1.281 6

注:²⁾ $P < 0.05$ 。

由表2可知,10%草果油对罗通定的12 h累计渗透量、增渗倍数及透皮速率均高于其他浓度而低于阳性对照,对罗通定有一定的促渗透作用。经t检验,与阴性组透皮速率比较,阳性差异有显著性意义,10%草果挥发油差异有显著性意义。

3 讨论

结果表明,质量分数为7%,10%的草果挥发油对罗通定具有一定的促透皮作用,其增渗倍数分别为1.13,1.28倍。在体外透皮试验中,接收液在试验前用生理盐水、5%乙醇、10%乙醇、15%乙醇、

20%乙醇生理盐水5种溶液进行考察,前4种供给室均有罗通定结晶析出,表明接收液的溶解度小,不能达到漏槽条件。故最后选用20%乙醇生理盐水作为接收液。加挥发油促渗剂时,为增溶加入的聚山梨醇酯量很少(贴剂中占0.6%),经预实验对照研究(仅含罗通定的阴性样品与加入0.6%聚山梨醇酯的罗通定样品比较)发现,0.6%聚山梨醇酯对罗通定的渗透无明显影响。

贴剂在解冻时时采用自然解冻,因此受外界因素影响比较大,故在体外透皮试验采用同一天所做

蚊子草抗氧化物提取工艺优选及抗氧化活性考察

闫向竹, 严铭铭*, 邵帅, 田雨, 孙永嘉, 周媛, 赵大庆
(长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] 目的: 优选蚊子草抗氧化物的提取工艺并测定抗氧化提取物及其纯化物的抗氧化活性。方法: 以总黄酮和总酚酸含量为指标, 采用正交试验法优选蚊子草抗氧化物的提取工艺; 采用 DPPH 法研究抗氧化提取物及其纯化物的体外抗氧化活性。结果: 最佳提取工艺为 10 倍量 65% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2.0 h; 抗氧化提取物及其纯化物的 DPPH 自由基清除率分别约为 70%, 90%。结论: 优选的提取工艺稳定、可靠; 蚊子草抗氧化物及其纯化物具有较强的体外抗氧化活性。

[关键词] 蚊子草; 正交试验; 提取工艺; 抗氧化活性; 总黄酮; 总酚酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0010-04

Optimization of Extraction Technology for Antioxidants from *Filipendula palmate* and Investigation of Its Antioxidant Activity

YAN Xiang-zhu, YAN Ming-ming*, SHAO Shuai, TIAN Yu,
SUN Yong-jia, ZHOU Yuan, ZHAO Da-qing

(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process for antioxidants from *Filipendula palmate*, and to determine antioxidant activity of antioxidant extract and its purified. **Method:** With the content of total flavonoids and total phenolic acid as indexes, extraction process of antioxidants from *F. palmate* was to optimized by orthogonal test; *In vitro* antioxidant activity of antioxidant extract and its purified was investigated by DPPH method. **Result:** Optimum extraction technology was selected as follow: reflux extracted 3 times with 10 folds the amount of 65% ethanol, 2.0 h each time; DPPH clearance rate of antioxidant extract and its purified were 70%, 90%. **Conclusion:** Optimized extraction process was stable, reliable; And antioxidant extract and its purified

[收稿日期] 20120228(029)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑项目(2007BAI38B05)

[第一作者] 闫向竹, 硕士, 从事中药有效成分提取及应用研究, Tel: 13514492487, E-mail: yanxiangzhu@163.com

[通讯作者] * 严铭铭, 博士, 教授, 从事中药有效成分提取及应用研究, Tel: 13578990277, E-mail: yanmm595@yahoo.com.cn

的贴剂, 以此减少误差。体外透皮结果为 7% 氮酮对罗通定的促渗效果优于 10% 草果油, 经过查阅资料^[5] 草果挥发油具有镇痛、解热、抗菌、抗病毒等作用, 选用 10% 草果油作为罗通定贴剂的促渗剂, 可起到药辅合一的作用。

[参考文献]

- [1] 赵巧玲. 罗通定缓释片的研究[M]. 北京: 军事医学科学院. 2005, 16(3): 1.
- [2] 崔利利, 马云淑, 汉会勋, 等. 3 种挥发油对罗通定贴剂

的经皮促渗作用考察[J]. 中华中医药杂志, 2011, 27(1): 193.

- [3] 沈留英. 草豆蔻、草果和白豆蔻挥发油体外促透皮作用研究[D]. 云南: 云南中医学院, 2009.
- [4] 刘继勇, 顾清, 胡晋红, 等. 痹痛宁贴剂的制备及体外释放、透皮吸收研究[J]. 中成药, 2004, 26(6): 437.
- [5] 彭建明, 马杰, 张爱霞. 近年来草果的研究进展概况[J]. 中成药, 2006, 28(7): 1036.

[责任编辑 全燕]