

丁香挥发油对磷酸川芎嗪贴剂的经皮促渗作用

罗红梅¹, 马云淑^{1*}, 黄金娥¹, 张贵华¹, 康绍建²

(1. 云南中医学院药学院, 昆明 650500; 2. 云南省食品药品检验所, 昆明 650000)

[摘要] 目的:考察不同质量分数的丁香挥发油对磷酸川芎嗪贴剂的经皮促渗作用。方法:用改良 Franz 扩散池法,以氮酮为阳性对照,不含促渗剂的磷酸川芎嗪贴剂为阴性对照,考察含 3%、5%、7%、10% 的丁香挥发油对模型药磷酸川芎嗪经小鼠皮肤的促渗效果,采用 HPLC 测定磷酸川芎嗪的含量。结果:4 种质量分数的丁香油对磷酸川芎嗪 12 h 平均累积渗透量($\bar{Q}_{12}$)分别为 3.030、4.066、1.845、1.205 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$;其 12 h 时增渗倍数分别为 1.54、2.06、0.96、0.62。与阴性对照组的 $\bar{Q}_{12}$ 比较,5% 丁香油与 3% 丁香油促渗作用显著。结论:3%、5% 的丁香油能明显提高磷酸川芎嗪在贴剂中的渗透量,且促渗效果好。

[关键词] 丁香挥发油;磷酸川芎嗪贴剂;经皮渗透

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)11-0040-04

Percutaneous Enhancement Function of Volatile Oil
from *Eugenia caryophyllata* on Ligustrazine Phosphate Patch

LUO Hong-mei¹, MA Yun-shu^{1*}, HUANG Jin-e¹, ZHANG Gui-hua¹, KANG Shao-jian²

(1. College of Pharmacy, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China;
2. Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming 650000, China)

[Abstract] Objective: To investigate percutaneous penetration effect of different concentration of volatile oil from *Eugenia caryophyllata* on ligustrazine phosphate (LP). Method: Modified Franz diffusion cell method was used, with azone as positive control, LP without penetration enhancers as negative control, penetration effect of 3%, 5%, 7% and 10% volatile oil from *E. caryophyllata* on LP through mouse skin were investigated, the content of LP was determined by HPLC. Result: Average cumulative permeation volume ($\bar{Q}_{12}$) of the 4 concentrations of volatile oil from *E. caryophyllata* on LP in 12 h were 3.030, 4.066, 1.845 and 1.205 $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$, respectively; and enhancing rates (ER) in 12 h were 1.54, 2.06, 0.96 and 0.62, respectively. Compared with $\bar{Q}_{12}$ of negative control group, 5% and 3% volatile oil from *E. caryophyllata* had significantly enhancing effect. Conclusion: 3% and 5% volatile oil from *E. caryophyllata* could enhance permeation volume of LP through mouse skin obviously, and had great enhancing effect.

[Key words] volatile oil from *Eugenia caryophyllata*; ligustrazine phosphate patch; percutaneous penetration

川芎辛香行散,上行头颠,下走血海,功能活血

行气、祛风止痛,被前人誉为血中之气药。磷酸川芎嗪(TMPP)是川芎中主要活性生物碱。现代研究表明^[1]TMPP具有扩张血管、抑制血小板聚集、防止血栓形成等作用,临床上被广泛用于缺血性脑血管病的治疗,并取得较好疗效。目前市场上主要有片剂、注射剂、胶囊剂等剂型,已有报道研制磷酸川芎嗪透皮贴剂^[2]。透皮给药系统中,皮肤角质层的屏障作用是影响药物透过的最大障碍,故透皮促进剂的研究已成为目前透皮贴剂研究的热点。挥发油是一类

[收稿日期] 20120119(005)
[基金项目] 云南省科技计划项目(2008CD152);国家自然科学基金项目(30960517)
[第一作者] 罗红梅,硕士研究生,从事中药药剂学研究,Tel: 13987664185, E-mail: lhm19851010@163.com
[通讯作者] * 马云淑,博士,教授,从事药剂学研究,Tel: 0871-5918204, E-mail: yunshuma2@126.com

天然促渗剂,具有效果好、副作用小的特点,日益引起人们的重视。本研究在前期研究基础上^[3],选择有较好经皮促渗作用的丁香挥发油为经皮促渗剂,考察其对模型药磷酸川芎嗪的经皮促渗效果,并以3%氮酮为阳性对照,为研制磷酸川芎嗪的经皮给药制剂提供实验依据。

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent),DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),BT25S 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),TK-12B 型透皮扩散试验仪(上海铠凯科技贸易有限公司),充电式电推剪(宁波嘉美电器有限公司),FS812 型飞科电动剃须刀(浙江飞科电器有限公司)。

磷酸川芎嗪(中国药品生物制品检定所,含量93.3%,批号 100845-200501),磷酸川芎嗪原料药(上海诺泰化工有限公司,含量为95%,批号 20090325),甲基丙烯酸氨烷基酯共聚物 E 型(Eudragit E100,德国罗姆公司),柠檬酸三乙酯(Alfa Aesar a Johnson Matthey Company),甲醇为色谱纯,水为哇哈哈纯净水,丁香(云南省绿生药业有限公司,经云南中医学院生药教研室杨树德教授鉴定为桃金娘科番樱桃属植物丁香 *Eugenia caryophyllata* Thunb 的干燥花蕾)。

昆明种小鼠,雌雄兼用,体重 18 ~ 22 g,成都达所生物科技有限公司,许可证号 SCSK(川)2008-24,合格证号 0000717。

2 方法与结果

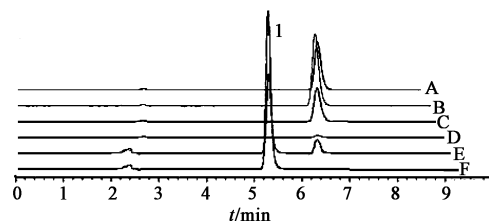
2.1 挥发油提取 采用水蒸气蒸馏法提取,通过 GC-MS 鉴别其成分并测定含量。结果表明丁香挥发油为淡黄色油状液体,收率为 8.4%,其中含有 12 种主要成分,以丁香酚(66.10%), β -石竹烯(25.02%)等含量较高。

2.2 磷酸川芎嗪贴剂的制备^[4-6] 精密称取磷酸川芎嗪、Eudragit E100 等一定量,加乙醇搅拌溶解,静置 10 min,加入柠檬酸三乙酯,搅拌并混合均匀,加入一定质量分数挥发油,混合均匀,超声(频率 45 Hz,功率 300 W)10 min,涂布,于 40 ~ 50 °C 烘箱干燥 2 h,取出贴上保护膜,即得。

2.3 色谱条件^[7] Lichrospeher™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μ m),流动相甲醇-水(60:40),检测波长 295 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 5 μ L。

2.4 系统适应性试验及专属性考察 分别吸取磷

酸川芎嗪对照品溶液、样品透过液、空白基质透过液、鼠皮透过液、含 5% 丁香油样品透过液、含 5% 氮酮样品透过液各 20 μ L 进样,记录色谱图,结果见图 1。空白基质透过液、鼠皮透过液及挥发油在磷酸川芎嗪峰位置处无吸收峰,磷酸川芎嗪峰形良好,无杂质及挥发油干扰峰。



A. 5% 氮酮样品;B. 5% 丁香油样品;C. 空白基质;
D. 鼠皮透过液;E. 样品透过液;F. 对照品;1. 磷酸川芎嗪

图 1 磷酸川芎嗪贴剂 HPLC

2.5 线性关系的考察 精密称取磷酸川芎嗪对照品 10.21 mg 置于 25 mL 量瓶中,加 0.9% 生理盐水稀释至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液至量瓶中,用 0.9% 生理盐水稀释至刻度,摇匀,配成质量浓度为 0.02,0.06,0.12,0.24,0.40,1.10 g·L⁻¹ 系列溶液,分别进样 5 μ L,记录色谱图,以质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标作线性回归,得回归方程为 $Y = 1\,558X + 4.038$ ($r = 1.000\,0$),结果表明磷酸川芎嗪在 0.02 ~ 1.10 g·L⁻¹ 与峰面积呈良好线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取质量浓度为 0.12 g·L⁻¹ 的磷酸川芎嗪对照品溶液,连续进样 6 次,每次进样 5 μ L,测量峰面积,RSD 0.17%,说明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批磷酸川芎嗪透皮贴剂(批号 20110402)进行体外透皮试验,平行制备 6 份 4 h 时的样品透过液,分别进样 5 μ L 测定含量,RSD 0.44%,说明该方法重复性好。

2.8 稳定性试验 精密吸取磷酸川芎嗪贴剂(批号 20110402)0.5 h 的透过液 1 mL,分别于 0,2,4,6,8,10,12,24 h 进样测定峰面积,进样量为 5 μ L,记录峰面积,结果 RSD 0.54%,说明供试品在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验 分别取磷酸川芎嗪贴剂(批号 20110402)0.5,4,8 h 的样品透过液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,分别加入质量浓度为 0.24,1.10,0.12 g·L⁻¹ 对照品溶液 1.0,0.5,1.0 mL,用 0.9% 生理盐水稀释至刻度,摇匀,制备成低、中、高 3 个不同质量浓度溶液,每个质量浓度平行制备 3 份,分别

进样 5 μL, 测定其峰面积, 计算平均回收率 100.43%, RSD 1.79%。

2.10 离体鼠皮的制备 将小白鼠处死, 迅速剥取腹部皮肤, 去除皮下脂肪等组织, 用 0.9% 生理盐水反复冲洗, 直至洗液澄清为止剪成适当大小, 置于加入适量 0.9% 生理盐水的烧杯中, 放入 -20℃ 冰箱中冷冻保存, 1 周内使用。

2.11 体外透皮试验^[8] 取出备用鼠皮, 用生理盐水反复淋洗至洗液澄清, 滤纸吸干, 固定于 TK-12B 型透皮扩散试验仪的扩散池上, 使角质层面向上, 将透皮贴剂贴于鼠皮上接受室, 加满扩散介质, 以 (37±0.2)℃ 水浴保温磁力搅拌子, 以 (250±5) r·min⁻¹ 速度搅拌, 分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 时取出接收室中全部接收液, 立即补加等量新鲜扩散介质, 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, 进样, 测定其峰面积。根据下式求得累积渗透量。

$$Q_n = \frac{(C_n \times 7 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 7)}{2.92}$$

式中 C_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度; C_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度。

以累积渗透量 Q 对时间 t 作图, 药物渗透达到稳态后, 其中直线部分的斜率为药物的透皮速率, 即稳态渗透速率 (J_{ss})。药物的渗透系数 (K_p) 用公式 $K_p = J_{ss}/C$ 计算, C 为供给池的药物质量浓度。增渗倍数 (enhancement ratio, ER) 可由公式 $ER = K_p/K_{p0}$ 得到, K_p 为加促渗剂后药物的渗透系数, K_{p0} 为药物固有的渗透系数。

按 2.2 项下方法制备含质量分数分别为 3%, 5%, 7%, 10% 的丁香挥发油磷酸川芎嗪贴剂。按 2.11 项下方法进行试验。结果见表 1, 以时间 t 为横坐标, 以 12 h 的平均累积渗透量 $\bar{Q}$ 为纵坐标绘制含不同质量分数丁香挥发油的经皮渗透曲线 (图 2)。

表 1 不同质量分数丁香油及氮酮对磷酸川芎嗪贴剂的经皮促渗影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

促渗剂	$\bar{Q}_{12}/g \cdot L^{-1}$	$Q-t$ 方程	r	$J_{ss}/mg \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$	ER
阴性对照	1.993 9 ± 0.223 4	$Q = 0.159 9t + 0.218 4$	0.989 0	0.159 7 ± 0.021 9	—
3% 氮酮	2.909 0 ± 0.156 4	$Q = 0.240 9t + 0.175 1$	0.995 0	0.240 9 ± 0.035 6	1.51
3% 丁香油	3.030 0 ± 0.178 9 ¹⁾	$Q = 0.245 9t + 0.432 1$	0.973 6	0.245 9 ± 0.028 5 ¹⁾	1.54
5% 丁香油	4.066 4 ± 0.310 5 ²⁾	$Q = 0.330 0t + 0.540 6$	0.982 5	0.330 0 ± 0.084 5 ²⁾	2.06
7% 丁香油	1.845 5 ± 0.227 8	$Q = 0.154 1t + 0.129 8$	0.989 9	0.153 0 ± 0.034 4	0.96
10% 丁香油	1.204 8 ± 0.411 0	$Q = 0.098 8t + 0.147 8$	0.980 1	0.098 8 ± 0.028 6	0.62

注: 经 t 检验, 与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

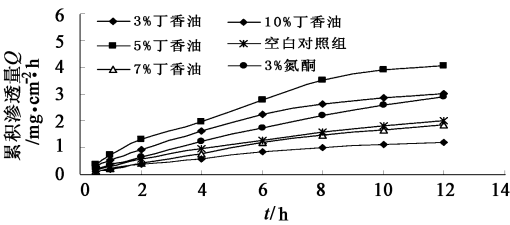


图 2 不同质量分数丁香油及氮酮对磷酸川芎嗪贴剂的经皮渗透曲线

由表 1 可知, 对磷酸川芎嗪 12 h 的累积渗透量依次为 5% 丁香油 > 3% 丁香油 > 3% 氮酮 > 阴性对照组 > 7% 丁香油 > 10% 丁香油。经 t 检验, 与阴性对照组比较, 5% 丁香油差异具有非常显著性意义, 3% 丁香油差异具有显著性意义。由图 2 可知, 12 h 累积渗透量增加趋于平缓, 故选择 12 h 的数据进行透皮速率常数与增渗倍数的求算。5% 丁香油促渗剂 12 h 的增渗倍数和透皮速率常数均明显高于阴性对照组和阳性对照组氮酮促渗剂, 故选取 5% 丁香油为该贴剂的最佳促渗剂。

3 讨论

在透皮给药系统中, 皮肤角质层的屏障作用是影响药物透过的最大障碍, 寻找能促进药物透过皮肤的促渗剂成为了目前透皮贴剂研究热点。从表 1 和图 2 可知质量分数为 3%, 5% 的丁香挥发油能使磷酸川芎嗪贴剂的渗透系数和增渗倍数明显增大, 其促渗效果优于氮酮, 以期为挥发油促渗剂的研究及开发提供参考。

目前文献报道的鼠皮的处理方法最常用的是脱毛膏处理, 此方法方便、快捷。但脱毛膏对鼠皮有一定化学刺激性, 经过预试验, 最终试验人员选择用推剪及剃须刀处理鼠皮。

[参考文献]

[1] 周昌奎, 吴晓华. 川芎嗪临床应用及研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 16(6): 3.
[2] 宁玉明, 刘晓昱, 梁文权. 白头翁素贴片的制备与体外经皮渗透试验[J]. 医药导报, 2006, 25(11): 1121.

冠心凝胶膏剂的体外释放和透皮吸收评价

杜茂波¹, 吴志成^{1,2}, 刘淑芝^{1*}, 李曼玲¹, 康琛¹, 常琳¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 南昌 330004)

〔摘要〕 目的:评价冠心凝胶膏剂体外释放和透皮吸收行为。方法:采用改良 Franz 扩散池法,以离体小鼠皮肤为屏障进行试验,HPLC 测定丹酚酸 B 含量,考察冠心凝胶膏剂体外透皮吸收行为。结果:24 h 内丹酚酸 B 累积释药率为 92.7%,丹酚酸 B 累积透过率为 21.97%,透过速率为 71.90 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}$ 。结论:冠心凝胶膏剂体外释放和透皮行为均满足中药凝胶膏剂的体外释放和透皮规律。

〔关键词〕 透皮吸收; 丹酚酸 B; 高效液相色谱法; 凝胶膏剂

〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)11-0043-03

Evaluation of *in vitro* Release and Percutaneous Absorption for Guanxin Gel Ointment

DU Mao-bo¹, WU Zhi-cheng^{1,2}, LIU Shu-zhi^{1*}, LI Man-ling¹, KANG Chen¹, CHANG Lin¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Jiangxi University of Tradational Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To evaluate *in vitro* release and transdermal absorption behavior of Guanxin gel ointment. **Method:** The content of salvianolic acid B was determined by HPLC, modified Franz diffusion cell method was applied to investigate *in vitro* transdermal absorption behavior of Guanxin gel ointment with isolated mouse skin as barrier. **Result:** In 24 hours, accumulative release rate of salvianolic acid B was 92.7%, accumulated transdermal rate of salvianolic acid B was 21.97%, transmission rate was 71.9 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}$. **Conclusion:** *In vitro* release and transdermal behavior of Guanxin gel ointment were all satisfied with the law of *in vitro* release and transdermal of Chinese medicine gel ointment.

〔Key words〕 transdermal absorption; salvianolic acid B; HPLC; gel ointment

〔收稿日期〕 20111219(008)
〔基金项目〕 “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-010,2009ZX0930-005)
〔第一作者〕 杜茂波,硕士,从事中药制剂研究,E-mail:dumaobo@ icmm. ac. cn
〔通讯作者〕 *刘淑芝,研究员,博士生导师,从事中药巴布剂等制剂研究,Tel:010-84043227,E-mail:liushuzhi2004@ sina. com

[3] 张毅. 醇质体与丁香、八角茴香挥发油的促透皮作用比较研究[D]. 昆明:云南中医学院,2009.

[4] 张蜀,林华庆,邓红. 磷酸川芎嗪缓释透皮贴剂的制备及体外释放度测定[J]. 药品评价,2005,2(4):292.

[5] 苏玉珂. 阿魏化痔膏贴膏剂的制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,20(7):114.

[6] 刘淑芝,费虹,郭春燕,等. 均匀设计法优选中药巴布剂基质配方[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,11(12):47.

[7] 兰顺. 高效液相色谱法测定复方川芎胶囊中川芎嗪的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(5):1.

[8] 黄冬,吴铁,林坚涛,等. 丁香挥发油与氮酮对双氯芬酸钠促透作用的比较研究[J]. 中国药房,2008,19(21):1623.

[责任编辑 仝燕]