

## 4 种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效评价

赵华<sup>1</sup>, 林婕<sup>1,2</sup>, 何聪芬<sup>1</sup>, 刘光荣<sup>3</sup>, 董银卯<sup>1\*</sup>

(1. 北京工商大学北京市植物资源研究开发重点实验室, 北京 100048;  
2. 中国化妆品杂志社, 北京 100045; 3. 无限极(中国)有限公司, 广州 510665)

**[摘要]** 目的: 研究 4 种中药当归、丁香、丹参、肉桂对不同结构类型物质透皮吸收的影响, 为化妆品促透剂的选择提供依据。方法: 以豚鼠腹部皮肤为皮肤模型, 分别以化妆品中常用的多糖(海藻糖)、多肽(燕麦多肽)、黄酮类(甘草黄酮)为被促物, 以氮酮为阳性参照, 通过 Franz 扩散池实验评价 4 种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效。结果: 4 种中药的促透功效: 当归 > 丁香 > 丹参 ≥ 氮酮 > 肉桂。随着促透剂的用量增加, 被促物的累积渗透量增加, 促透功效: 0.8% 当归提取物 ≥ 1% 氮酮。结论: 4 种中药促透剂与被促物之间不存在明显构效关系, 推测 4 种中药促透剂的促透机理为结构变化理论, 即通过改变角质层结构而达到促透目的, 而与被促物本身的结构无关。

**[关键词]** 促透剂; 中药; 化妆品

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0034-05

### Efficacy Evaluation of Transdermal Absorption Enhancement for Four Kinds of Traditional Chinese Medicine on Different Structure Substance

ZHAO Hua<sup>1</sup>, LIN Jie<sup>1,2</sup>, HE Cong-fen<sup>1</sup>, LIU Guang-rong<sup>3</sup>, DONG Yin-mao<sup>1\*</sup>

(1. Beijing Key Laboratory of Plant Resources Research and Development,  
Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. China Cosmetics Review, Beijing 100045, China; 3. Infinitus(China) Company Ltd., Guangzhou 510665, China)

**[Abstract]** **Objective:** The efficacy of transdermal absorbent enhancement for four kinds of Chinese traditional medicine *Angelica sinensis*, *Syringa oblata*, *Salvia miltiorrhiza*, *Cinnamomum cassia* on the different structure substance was evaluated, which will provide the theoretical basis for the selection of Chinese medicine of cosmetics. **Method:** The guinea pig abdominal skin was used as the skin model; the polysaccharide (seaweed polysaccharide), peptides (oat peptides) and flavonoids (Licorice flavonoids) were used as the objects to be promoted; azone was used as the positive reference. The experiment of Franz diffusion cell was used to evaluate the transdermal absorbent enhancement of four medicines to the different substance. **Result:** The efficacy of transdermal absorption enhancement was: *A. sinensis* > *S. oblata* > *S. miltiorrhiza* > azone > *C. cassia*. The quantity of the transdermal absorption enhancement was investigated, which showed that 0.8% *A. sinensis* ≥ 1% azone. **Conclusion:** There were no obvious structure-activity relationships between transdermal absorption enhancement and the targets. The mechanism is concluded to be the theory of stratum corneum structural changing.

**[Key words]** transdermal absorption; Chinese medicine; cosmetics

**[收稿日期]** 20110114(004)

**[第一作者]** 赵华, 博士, 副教授, 研究方向为化工传递及化妆品品质评价, Tel: 010-68984949, E-mail: zhaoh@btbu.edu.cn

**[通讯作者]** \* 董银卯, 教授, 研究方向为植物活性成分提取, E-mail: ymdong2008@163.com

透皮传输效果的好与坏,对于中药作为化妆品使用而言是至关重要的。皮肤表面化妆品营养成分过剩,是造成“皮肤氧化”的重要原因之一。同样,如果化妆品的营养成分不能被皮肤完全吸收,那么它就会成为寄生细菌生长繁殖的温床,而大量的细菌还会导致皮肤感染<sup>[1]</sup>。透皮吸收促渗剂有助于功效成分克服皮肤角质层的障碍,可逆地改变皮肤角质层的屏障作用,且不损伤任何活性细胞,达到增加药物在皮肤的溶解度,使药物透皮吸收率增加的目的。化学渗透促进剂(如氮酮、有机酸、表面活性剂类等)应用范围较广,但是当用量较大或长时间使用会引起刺激,目前中药透皮促渗剂具有副作用小等优点而日益受到关注<sup>[2]</sup>。研究表明当归、丁香、丹参、肉桂中含有挥发油及酚酸类等促透成分,具有显著的促透效果<sup>[3-5]</sup>。发挥着促渗、治疗的双重功能,有望成为很有前途的具有中医治疗作用的新型促透剂。

本文以当归、丁香、丹参、肉桂4种常用中药为促透剂研究对象,以化妆品中的中药活性成分多糖(海藻糖)、多肽(燕麦多肽)及黄酮(甘草黄酮)为被促物,对4种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效进行评价,找出影响其透皮渗透的主要因素。

## 1 材料

**1.1 仪器** BP221S 电子天平(SARTORIUS),TT-6透皮吸收仪(天津市正通科技有限公司),4K15离心机(Sigma),UV2300 紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司),XW-80A 旋涡混合器(上海精科实业有限公司)。

**1.2 试药** 当归提取物、丁香提取物、丹参提取物、肉桂提取物(陕西森弗生物技术有限公司),氮酮(北京贝丽莱斯生物化学有限公司),海藻糖(日本岩濂科丝发公司),燕麦多肽(北京三友汇智生物技术有限公司),甘草黄酮(北京昂立达技术有限责任公司),福林酚(Solarbio公司),豚鼠[北京军事医学院动物中心,动物合格证号 SCXX(京)2006-0009]。无水葡萄糖(分析纯,批号 F20090526,国药集团化学试剂有限公司),牛血清蛋白对照品(纯度 > 95%,批号 0368B074,北京拜尔迪生物技术有限公司),芦丁对照品(纯度 > 95%,批号 F20070626,国药集团化学试剂有限公司)

## 2 方法与结果

**2.1 鼠皮的制备** 将豚鼠脱颈椎处死,迅速将其腹

部毛剃净,剥离腹部皮肤并除去皮下脂肪,血管,用蒸馏水反复冲洗至净,再用生理盐水冲洗数遍,置-80℃冰箱中冷藏备用(5 d内用完)。

**2.2 Franz 扩散池透皮吸收试验** 将制备好的鼠皮用铁夹子固定在两室扩散池之间,向垂直扩散池的接受池内加入 0.9% NaCl 溶液(生理盐水) 5 mL,搅拌速度为 400 r·min<sup>-1</sup>,水温(37±0.1)℃。向供给池内分别加入供给液,以保鲜膜封住。当样品渗透 1,2,4,6,8,10,12,24 h 时,分别取样置具塞离心管中,每次取样同时向接受池中补充等量的接受液并排除池中的气泡。根据被测物的不同,采用不同的检测法检测接受液中样品质量浓度<sup>[6]</sup>。根据公式计算出累积透过量  $Q$  (mg·cm<sup>-2</sup>)。做出累积量与时间的曲线图。

$$Q = \frac{V_1 \rho_n + \sum_{i=1}^{n-1} \rho_i \times V_2}{S}$$

$Q$  为累积透过量, $S$  为透皮扩散面积(扩散池  $R=0.6$  cm, $S=1.1304$  cm<sup>2</sup>), $V_1$  为 Franz 扩散池接受液体积( $V_1=5$  mL), $\rho_n$  为第  $n$  次取样时接受液的质量浓度(g·L<sup>-1</sup>), $\rho_i$  为第  $i$  次取样时接受液的质量浓度(g·L<sup>-1</sup>), $V_2$  为取样量。

## 2.3 含量测定

**2.3.1 多糖含量测定** 准确称取无水葡萄糖 100.0 mg,置于 100 mL 量瓶中用蒸馏水定容,得 1.0 g·L<sup>-1</sup> 葡萄糖贮备溶液。准确吸取 1.0 g·L<sup>-1</sup> L 葡萄糖贮备溶液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 置 500 mL 量瓶定容。准确吸取该系列溶液各 2.0 mL,分别置于具有刻度试管中,按样品含量测定项下步骤测定吸光度  $Y$ ,绘制标准曲线  $Y = 0.0101X - 0.0049$  ( $r = 0.9999$ ), $X$  为质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)。

用苯酚-硫酸法<sup>[7]</sup>检测促透实验中各原料的含糖量,精密称定各样品 100 mg 定容于 10 mL 量瓶,取待测样 2.0 mL,加 1.0 mL 5% 苯酚溶液混匀,加入 5.0 mL 浓硫酸,混匀 5 min 后,封管沸水浴 1 h。取出后冷却至室温,在 490 nm 处测吸光度,结果见表 1。从结果中看出,被促物海藻糖的含糖量远大于中药促透剂及阳性参照物。

**2.3.2 多肽含量测定** 准确称取牛血清白蛋白对照品 20 mg,置于 50 mL 量瓶中用蒸馏水定容,得浓度为 0.4 g·L<sup>-1</sup> 牛血清白蛋白对照品贮备溶液。准确吸取牛血清白蛋白对照品溶液 0.1,0.3,0.5,0.7,0.9 mL 加水定容至 1.0 mL,分别加入 5.0 mL 试剂

表 1 4 种中药及被促物中多糖、多肽及黄酮的质量分数

组分	mg·g <sup>-1</sup>		
	多糖	多肽	黄酮
当归提取物	0.639	0.130	0.029
丁香提取物	0.969	0.020	0.029
丹参提取物	0.606	0.090	1.372
肉桂提取物	1.035	0.060	0.029
1% 氮酮	0.276	0.020	0.029
海藻糖	8.807	-	-
燕麦多肽	-	3.200	-
甘草黄酮	-	-	12.030

甲,在旋涡混合器迅速混合放入 55 ℃ 水浴 10 min。逐管加入 0.5 mL 试剂乙,立即混匀,55 ℃ 水浴反应 30 min。在 700 nm 处测定吸光度 Y,绘制标准曲线  $Y = 0.0027X + 0.0415 (r = 0.9999)$ , X 为质量浓度 (mg·L<sup>-1</sup>)。

用福林酚法<sup>[8]</sup>检测促透实验中各原料的多肽含量,精密称定各样品 100 mg 定容于 10 mL 量瓶,取 1.0 mL 分别加入 5.0 mL 试剂甲,在旋涡混合器迅速混合放入 55 ℃ 水浴 10 min。逐管加入 0.5 mL 试剂乙,立即混匀,55 ℃ 水浴反应 30 min。在 700 nm 处测定吸光度值,结果见表 1。被促物燕麦多肽的多肽含量远大于中药促透剂及阳性参照物。

反应试剂配制 试剂甲:(A) 10g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 2g NaOH + 0.25g 酒石酸钾钠 (KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O) 溶于 500 mL 去离子水;(B) 0.5g 硫酸铜 (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 溶解于 100 mL 去离子水;每次使用将 50 份 (A) 与 1 份 (B) 混合,即为试剂甲。试剂乙:福林酚-去离子水 (1:1) 混合。

2.3.3 黄酮含量测定 准确称取芦丁对照品 20 mg,置于 50 mL 量瓶中用蒸馏水定容,得 0.4 g·L<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液。准确吸取芦丁对照品溶液 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 mL 加水定容至 10.0 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL,使混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 4% NaOH 溶液 10 mL。摇匀,放置 15 min。在 510 nm 处测定吸光度 Y,绘制标准曲线  $Y = 1.101X + 0.0029 (r = 0.9999)$ , X 为质量浓度 (mg·L<sup>-1</sup>)。

用亚硝酸钠-硝酸铝法<sup>[9]</sup>促透实验中各原料的黄酮含量。精密称定各样品 1.0 g,定容于 100 mL 量瓶,超声提取 30 min,取 1.0 mL 加蒸馏水定容至

10 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL,使混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 4% 氢氧化钠溶液 10 mL。摇匀,放置 15 min。在 510 nm 处测定吸光度,测定结果见表 1。被促物甘草黄酮的黄酮含量远大于中药促透剂及阳性参照物。

## 2.4 对多糖类成分的促透功效

2.4.1 最优促透剂的确定 通过 Franz 扩散池透皮吸收实验,检测 1% 的中药促透剂对海藻糖的促透功效,用苯酚-硫酸法检测透皮浓度,以 1% 氮酮作为阳性对照。结果如图 1 所示。所选 4 种中药促透剂 24 h 海藻糖累积渗透量分别为:当归 10.448 mg·cm<sup>-2</sup>,丁香 8.368 mg·cm<sup>-2</sup>,丹参 8.459 mg·cm<sup>-2</sup>,肉桂 7.369 mg·cm<sup>-2</sup>。其中,当归对海藻糖的促透效果最佳,其 24h 的累积渗量约为空白对照 (5.047 mg·cm<sup>-2</sup>) 的 2 倍,且高于阳性参照物氮酮 (7.089 mg·cm<sup>-2</sup>)。不同促透剂对海藻糖的促透功效为:1% 当归 > 1% 丹参 ≈ 1% 丁香 > 1% 氮酮 ≈ 1% 肉桂。累积渗透量随着时间的增加而增长,但在 12 h 后趋于平缓。

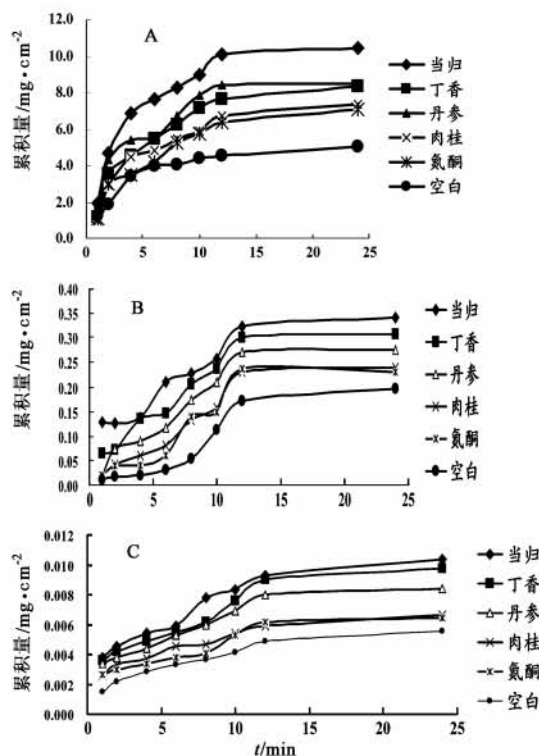


图 1 不同促透剂对海藻糖 (A), 燕麦多肽 (B), 甘草黄酮 (C) 的促透功效

2.4.2 最佳质量浓度的确定 检测不同质量浓度的最佳促透剂当归提取物 (0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0%) 对海藻糖的促透功效,阳性对照物为

1%的氮酮。从图2中可以看出,随着当归质量浓度的增加,透皮累积量增加,12 h后趋于平缓。且1%当归>0.8%当归≈1%氮酮。

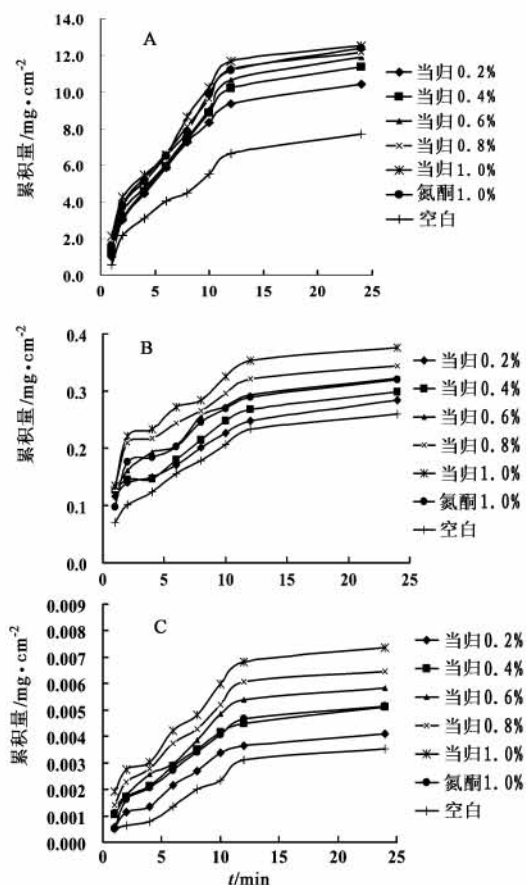


图2 不同质量浓度当归提取物对海藻糖(A), 燕麦多肽(B),甘草黄酮(C)的促透功效

## 2.5 对多肽的促透功效

**2.5.1 最优促透剂的确定** 通过 Franz 扩散池透皮吸收实验,检测1%的中药促透剂对燕麦多肽的促透功效,用福林酚法检测透皮浓度,以1%氮酮作为阳性对照。结果如图1所示。4种中药促透剂24 h燕麦多肽累积渗透量分别为当归 $0.341 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,丁香 $0.306 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,丹参 $0.277 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,肉桂 $0.219 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。其中,当归对燕麦多肽的促透效果最佳,其24 h的累积渗透量接近空白对照( $0.197 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )

的2倍,且高于阳性对照物氮酮( $0.222 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )。不同促透剂对燕麦多肽的促透功效为1%当归>1%丁香>1%丹参>1%肉桂≈1%氮酮。并且,累积渗透量随着时间的增加而增长,但在12 h后趋于平缓。

**2.5.2 最佳浓度的确定** 检测不同浓度的燕麦多肽最佳促透剂当归提取物(0.2%,0.4%,0.6%,0.8%,1.0%)的促透功效,阳性参照物选用1%的氮酮。从图2中可以看出,随着促透剂当归质量浓度的增加,透皮累积量增加,12 h后趋于平缓,1%当归>0.8%当归>0.6%当归≈1%氮酮。

## 2.6 对黄酮的促透功效

**2.6.1 最优促透剂的确定** 通过 Franz 扩散池透皮吸收实验,检测1%的中药促透剂对甘草黄酮的促透功效,用亚硝酸钠-硝酸铝法检测透皮质量浓度,以1%氮酮作为阳性对照。结果如图1所示。4种中药促透剂24 h甘草黄酮累积渗透量分别为当归 $0.010 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,丁香 $0.009 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,丹参 $0.008 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,肉桂 $0.007 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。其中,当归对甘草黄酮的促透效果最佳,其24 h的累积渗透量为空白对照( $0.005 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )的2倍,且高于阳性参照物氮酮( $0.006 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )。不同促透剂对甘草黄酮的促透功效为1%当归>1%丁香>1%丹参>1%肉桂>≈1%氮酮。并且,累积渗透量随着时间的增加而增长,但在12 h后趋于平缓。

**2.6.2 最佳浓度的确定** 检测不同质量浓度的甘草黄酮的最佳促透剂当归(0.2%,0.4%,0.6%,0.8%,1.0%)对甘草黄酮的促透功效,阳性参照物选用1%的氮酮。从图2中可以看出,随着促透剂当归质量浓度的增加,透皮累积量增加,12 h后趋于平缓,1%当归>0.8%当归>0.6%当归>0.4%当归≈1%氮酮。

**2.7 3种被促物的促透率对比** 将3种被促物的分子量,Franz扩散池实验中未加促透剂的被促物24 h空白渗透率,以及氮酮、当归、丁香、丹参、肉桂对4种被促物的24 h促透率列表进行对比,结果见表2。

表2 不同结构物质的促透率对比

样品	相对分子质量	24 h 空白渗透率	24 h 氮酮促透率	24 h 当归促透率	24 h 丁香促透率	24 h 丹参促透率	24 h 肉桂促透率
海藻糖	342.3	12.98	40	107	66	68	46
甘草黄酮	418.0	10.4	16	86	64	51	20
燕麦多肽	4 000	1.4	13	73	56	41	12

$$\text{渗透率 } N = \frac{Q \times S}{C \times V} \times 100\%$$

$$\text{促透率 } W = \frac{Q_{\text{促}} - Q_{\text{空}}}{Q_{\text{空}}} \times 100\%$$

$Q$  为 24 h 累积渗透量 ( $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ );  $S$  为透皮扩散面积 (扩散池  $R=0.6 \text{ cm}$ ,  $S=1.1304 \text{ cm}^2$ );  $C$  为供给液质量浓度 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $V$  为供给池体积 ( $V=2 \text{ mL}$ )。

对比样品的相对分子量和 24 h 空白渗透率可以看出, 相对分子质量越小, 自身渗透效果越好。对比样品加入促透剂后的促透率, 结果表明样品本身相对分子质量越小, 加入促透剂后, 促透效果越显著。综合对比几种促透剂的促透功效, 可以得出其促透功效: 当归 > 丁香 > 丹参  $\geq$  阳性参照物 (氮酮) > 肉桂。

### 3 讨论

以豚鼠腹部皮肤为皮肤模型, 分别以化妆品中常用的多糖 (海藻糖)、多肽 (燕麦多肽)、黄酮类 (甘草黄酮) 为被促物, 以氮酮为阳性参照, 通过 Franz 扩散池实验证明, 4 种中药的促透功效: 当归 > 丁香 > 丹参  $\geq$  阳性参照物 (氮酮) > 肉桂。随着促透剂的用量增加, 被促物的累积渗透量增加, 促透功效: 0.8% 当归提取物  $\geq$  1% 氮酮。

以豚鼠腹部皮肤为皮肤模型, 通过 Franz 扩散池实验证明, 海藻糖、燕麦多肽、甘草黄酮的渗透量随时间推移而增加, 但 12 h 后增速缓慢, 物质自身分子量越大, 渗透率越低。

中药促透剂与被促物之间不存在明显构效关系, 推测中药促透剂的透皮机理为结构变化理论, 即通过改变角质层结构而达到促透目的, 而与促物本身的结构无关。当角质层结构被打开后, 被促物本身的分子量越小, 越易被促透。因此, 活性物分子量的大小是影响其透皮渗透的主要因素。

近年来, 合成化合物因其毒副作用大, 使化妆品行业的开发目标逐渐转向天然植物, 促透剂的开发也是如此。许多化妆品公司用巨额的投资从天然中草药植物中觅寻透皮促进剂。中国作为透皮药物起源国, 又有着挥发性成分的巨大植物资源, 这方面有非常巨大的开发潜力。

### [参考文献]

- [1] Meyer R Rosen. Delivery system handbook for personal care and cosmetic products [M]. East Norwich, N Y: William Andrew Pub, 2005:4.
- [2] 林婕, 何聪芬, 董银卯. 化妆品中的透皮传输 [J]. 中国美容医学, 2009, 18 (8):1197.
- [3] 沈琦, 胡晋红, 徐莲英. 肉桂等三种挥发油对苯甲酸透皮吸收的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21 (4): 197.
- [4] 沈琦, 蔡贞贞, 徐莲英. 中药丁香促进 5-氟尿嘧啶透皮吸收的作用研究 [J]. 中草药, 1999, 30 (8): 601.
- [5] 徐道娟, 王丽侠, 田友美. 挥发油对当归中阿魏酸透皮吸收的实验研究 [J]. 山东医药工业, 2002, 21 (3): 46.
- [6] OECD. Test Guideline 428: Skin absorption; in vitro Method [J/OL]. OECD guideline for the testing of chemicals, 2004. <http://www.oecd.org/document>.
- [7] 王华付. 黄芪中黄芪多糖含量的测定 b [J]. 安徽农业科学, 2007, 35 (34):10948,11021.
- [8] 高英, 俞玉忠. 福林酚法测定脑蛋白水解物溶液中的多肽含量 [J]. 海峡药学, 2004, 16 (6):57.
- [9] 萨楚拉图, 牛雪平, 王玲霞. 紫外分光光度法测定蒙药漏芦花中总黄酮含量 [J]. 分析试验室, 2008 (27):119.

[责任编辑 全燕]