

氮酮对 6-姜酚透皮吸收的影响

孙 权, 李 冰, 王 星, 祝 妍, 王星皓, 陈再兴*
(中国医科大学药学院, 辽宁 沈阳 110122)

摘要: **目的** 研究氮酮对 6-姜酚透皮吸收的影响。**方法** 采用 TP-6 卧式扩散池进行体外透皮扩散试验。选择离体大鼠皮肤作为渗透屏障, 考察不同体积分数乙醇、氮酮对 6-姜酚渗透性能的影响。**结果** 30% 乙醇、3% 氮酮对 6-姜酚均有显著促渗透作用。**结论** 本研究可为含 6-姜酚经皮给药系统的制备提供依据。

关键词: 氮酮; 6-姜酚; 透皮吸收

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)03-0583-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.014

Effect of azone on transdermal absorption of 6-gingerol

SUN Quan, LI Bing, WANG Xing, ZHU Yan, WANG Xing-hao, CHEN Zai-xing*
(School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110122, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effect of azone on transdermal absorption of 6-gingerol. **METHODS** *In vitro* transdermal diffusion test was performed by TP-6 horizontal diffusion pool. *In vitro* rat skins were selected as permeation barrier, the effects of different concentrations of ethanol and azone on permeation performance of 6-gingerol were investigated. **RESULTS** Both 30% ethanol and 3% azone contributed to the significant permeation enhancement of 6-gingerol. **CONCLUSION** This research can provide reference for the preparation of transdermal drug delivery systems containing 6-gingerol.

KEY WORDS: azone; 6-gingerol; transdermal absorption

姜为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的根茎, 是常用中药, 药用品种有生姜和干姜^[1], 其中生姜为新鲜根茎, 是我国传统的药食兼用植物, 为历代“医家止呕圣药”^[2], 民间亦有用生姜片穴位贴敷来发挥抗运动病作用的报道。干姜温中散寒, 回阳通脉; 生姜温中散寒, 温经止血^[3], 两者主要成分为姜酚, 是姜中的辣味物质, 也是其主要生物活性成分, 包括 6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚、12-姜酚等十余种成分^[4], 其中 6-姜酚含有量最高, 具有强心、镇吐、降脂、化痰止咳、抗溃疡、抗肿瘤、抗菌、抗血小板凝聚等多种药理活性^[5-6], 这些作用与姜的临床疗效具有相关性。现代研究表明^[7], 6-姜酚能有效防止由于晕车、妊娠、化疗等原因引起的恶心、呕吐, 其止吐的作用机制主要与调整胃肠功能、抑

制胃运动因素有关^[8], 目前已有关于干姜凝胶贴剂的报道^[9], 本实验将研究氮酮对 6-姜酚透皮吸收的影响, 以期对相关经皮给药剂型的制备提供实验依据。

1 仪器与试剂

BSA124S 电子天平 (赛利多斯科学仪器北京有限公司); KH2200B 型超声波清洗器; Waters 600 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); HC-2602 高速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); TP-6 智能透皮扩散仪 (天津市精拓仪器科技有限公司)。6-姜酚 (上海纯优生物技术有限公司, 批号 P0621); 氮酮 (国药集团化学试剂有限公司)。乙腈、甲醇均为色谱纯; 水为重蒸水。雄性 SD 大鼠, 体质量 (200 ± 20) g, 由中国医科大学实验动物中心提供。

收稿日期: 2017-05-26

作者简介: 孙 权, 男, 硕士, 从事中药药效物质基础研究。Tel: 15712451311, E-mail: sunquan92@163.com

* 通信作者: 陈再兴, 男, 副教授, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: 1053330439@qq.com

2 6-姜酚含有量测定

2.1 色谱条件及方法学考察

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈-甲醇-水 (40 : 5 : 55); 检测波长 280 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。

2.1.2 系统适应性考察 对照品溶液在“2.1.1”项色谱条件下进样, 根据色谱参数计算系统适用性。结果, 6-姜酚色谱峰的理论塔板数不应低于 2 000, 供试品主峰与杂质的 R_s 为 1.7, 符合相关要求 ($R_s > 1.5$)。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取 6-姜酚 10 mg, 甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 作为贮备液, 精密量取适量加甲醇稀释, 得到 10、25、50、100、150、200 μg/mL 对照品溶液, 冰箱中保存备用。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系考察 以对照品溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得回归方程为 $Y = 6\,326.4X - 24\,354 (r = 0.998\,0)$, 在 10 ~ 150 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.2 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定, 测得 6-姜酚峰面积 RSD 为 2.1%, 表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 精密吸取供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下于 0、2、4、6、8、10 h 进样测定, 测得 6-姜酚峰面积 RSD 为 1.4%, 表明溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.2.4 加样回收率试验^[10] 精密量取 1 个扩散池的 6 个时间点样品各 1 mL, 分别加入对照品溶液 (0.5 mg/mL) 0.5 mL, 甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取 10 μL 滤液进样测定, 测得 6-姜酚平均加样回收率为 99.4%, RSD 为 2.02%。

3 体外透皮扩散试验

3.1 离体皮肤制备和处理 大鼠断颈处死后, 将其腹部毛发用电动剃须刀剃净, 立即取腹部皮肤, 小心剥离皮下脂肪层和结缔组织, 生理盐水冲洗后浸润 30 ~ 60 min, 再用生理盐水冲洗干净, 置 -80 ℃ 冰箱中保存备用。实验前取出, 于 37 ℃ 生理盐水中自然解冻, 浸泡 30 min, 并用生理盐水冲洗干净。

3.2 试验方法 本实验采用 TP-6 智能透皮扩散仪、卧式扩散池, 扩散池面积 2.27 cm², 供给池和接收室容量 8 mL。选择生理盐水作为接收介质,

分别用 10%、20%、30% 乙醇将 250 μg/mL 6-姜酚母液稀释 10 倍作为供给液, 用于考察不同体积分数乙醇对 6-姜酚透皮吸收的影响。

然后, 剪取“3.1”项下合适大小的离体皮肤, 固定在扩散池上, 离体皮肤角质层面向供给室, 真皮层面向接收室, 磁力搅拌速度为 350 r/min, 水浴温度保持 (37 ± 0.5) ℃, 每 30 min 更换一次生理盐水, 2 h 后接收室取样 2 mL 作阴性液待测 (图 1B)。接收室再改用接收介质, 在供给室中加入事先制备的供给液, 密封, 于设定时间点取样 2 mL, 并立即补充等量同温接收介质, 不同时间点样品液均经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液置于进样瓶中冷藏待测, 24 h 后停止实验, 进样 20 μL, HPLC 法测定接收液中药物的含有量 (图 1C)。

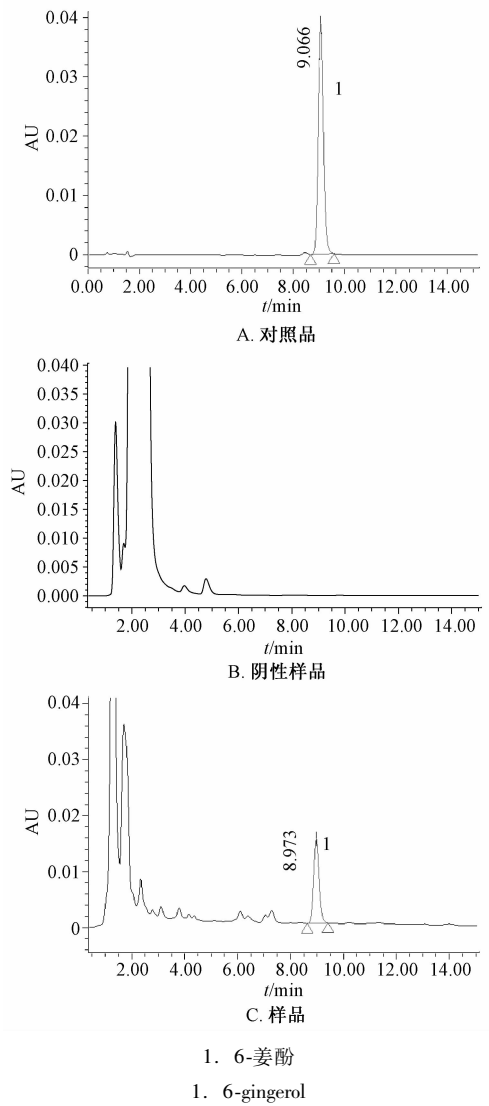


图 1 6-姜酚 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of 6-gingerol

3.3 数据处理^[11]和测定 药物透皮累积渗透量 Q 按下式计算（其中 V 为接收室体积， V_i 为每次取样体积， C_i 为第 i 次取样时接收液中的药物浓度）。

$$Q_i = C_i V + \sum_{i=1}^{i-1} C_{i-1} \times V_i$$

以 Q 为纵坐标，时间 t 为横坐标作图，得到药物累积渗透曲线。再对其稳态部分作切线，求出斜率，即为稳态渗透速率 J ，按下式计算药物渗透系数 P ，直线部分在横坐标上的截距即为药物经皮渗透的时滞 T_{lag} ，有效扩散面积为 2.27 cm^2 。

$$P = \frac{J}{C_d} \times \frac{1}{3\ 600}$$

一般用促渗倍数 ER 来衡量促渗剂对药物经皮渗透促进作用的大小，计算公式如下（ J_E 为用了促渗剂时药物的稳态渗透速率， J_0 为不用促渗剂时药物的稳态渗透速率）。

$$ER = \frac{J_E}{J_0}$$

然后，将 6-姜酚的单位面积渗透量及溶解度代入上述相关方程，计算不同体积分数乙醇溶解 6-姜酚时的 P 、 J 、 T_{lag} ，结果见表 1 和图 2。

表 1 不同体积分数乙醇对 6-姜酚渗透性的影响

Tab. 1 Effects of different concentrations of ethanol on 6-gingerol permeability

乙醇/%	方程	R^2	$J/[\mu\text{g}\cdot(\text{cm}^2\cdot\text{h})^{-1}]$	SD	$P/(\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	T_{lag}/h
10	$Q = 4.8t - 3.2$	0.985 3	4.8	0.03	1.78×10^{-5}	0.66
20	$Q = 5.6t - 6.2$	0.986 4	5.6	0.02	2.07×10^{-5}	1.11
30	$Q = 6.1t - 5.0$	0.984 6	6.1	0.03	2.26×10^{-5}	0.82

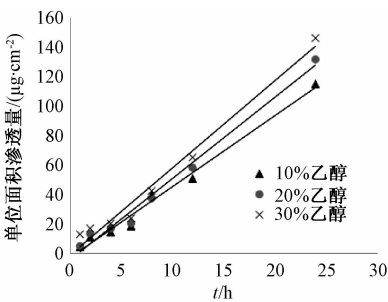


图 2 不同体积分数乙醇对 6-姜酚渗透性的影响
Fig. 2 Effects of different concentrations of ethanol on 6-gingerol permeability

3.4 促渗剂对 6-姜酚渗透性的影响 氮酮具有良好的促渗作用，可以作为促渗剂^[12]。根据上述结

果可知，30% 乙醇促进 6-姜酚透皮吸收的作用最佳，故本实验选择其溶解 6-姜酚作为供给液，在此基础上考察不同浓度氮酮对 6-姜酚透皮吸收的影响^[13]。

选择生理盐水作为接收介质，30% 乙醇将 250 $\mu\text{g/mL}$ 6-姜酚母液稀释 10 倍，加入含 1%、2%、3% 氮酮的 6-姜酚溶液 8 mL，分为 3 组，未添加氮酮组作为空白组，其他样品处理和测定方法同“3.2”项。再将 6-姜酚的单位面积渗透量及溶解度代入“3.3”项下相关方程，计算不同体积分数乙醇溶解 6-姜酚时的稳态渗透速率（ P ）、透皮系数（ J ）及时滞（ T_{lag} ），结果见表 2 和图 3。

表 2 不同浓度氮酮对 6-姜酚渗透性的影响

Tab. 2 Effects of different concentrations of azone on 6-gingerol permeability

氮酮/%	方程	R^2	$J/[\mu\text{g}\cdot(\text{cm}^2\cdot\text{h})^{-1}]$	SD	$P/(\text{cm}\cdot\text{s}^{-1})$	T_{lag}/h
-	$Q = 6.1t - 5.0$	0.984 6	6.1	0.03	2.26×10^{-5}	0.82
1	$Q = 6.6t - 6.2$	0.984 9	6.6	0.01	2.45×10^{-5}	0.93
2	$Q = 6.8t - 4.0$	0.988 3	6.8	0.02	2.37×10^{-5}	0.59
3	$Q = 7.0t - 2.0$	0.985 0	7.0	0.02	2.60×10^{-5}	0.29

4 讨论与结论

6-姜酚微溶于水^[14]，而本实验接收液为生理盐水。初步实验发现，6-姜酚在生理盐水中的饱和溶解度为 130.52 $\mu\text{g/mL}$ ，并且在该接受液中的浓度远低于饱和溶解度，故以生理盐水为接收液不会影响实验结果。

实验结果显示，不同体积分数乙醇对 6-姜酚的渗透速率有显著影响，其中 30% 乙醇效果最佳，而且由于高体积分数乙醇对皮肤有一定损伤作用，故选择其作为供给液。然后，供给液中分别添加 1 mL 1%、2%、3% 氮酮作为促渗剂，考察其对 6-姜酚渗透速率的影响，经 SPSS 22.0 软件检验发现

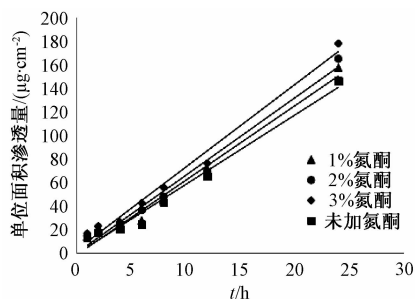


图3 不同浓度氮酮对6-姜酚渗透性的影响
Fig. 3 Effects of different concentrations of azone on 6-gingerol permeability

三者作用有显著性差异 ($P<0.05$), 其中3% 氮酮促渗效果最佳。

6-姜酚具有强心、镇吐、降脂、化痰止咳、抗溃疡、抗肿瘤、抗菌、抗血小板凝聚等多种药理作用^[15], 故对其透皮吸收的研究很有必要, 本实验将为相关经皮给药制剂的开发提供实验依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 14-15.
[2] 李计萍, 王跃生, 马 华, 等. 干姜与生姜主要化学成分的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(11): 26-29.
[3] 郑少英. 论仲景用生姜与现代药理及应用之比较研究[J]. 海峡药学, 2002, 14(5): 94-95.

[4] 杨 明, 余德顺, 田弋夫, 等. 超临界 CO₂ 萃取与水蒸气蒸馏提取姜油的 GC-MS 分析[J]. 贵州化工, 2011, 36(3): 34-37.
[5] 张科卫, 马彩霞, 缪六舒. 干姜、炮姜中成分的比较[J]. 中成药, 2014, 36(6): 1254-1260.
[6] 龙全江, 徐雪琴. 干姜化学成分、药理作用及加工炮制研究文献分析[J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(1): 82-83.
[7] 王少鹏, 杨 光. 姜酚生物活性研究进展[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(10): 1549-1552.
[8] 朱 路, 王贵林. 姜的药理作用研究进展[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2006, 3(3): 321-324.
[9] 苏小妹, 王 芳, 汪国华, 等. 生姜凝胶贴剂的制备及其体外透皮吸收的研究[J]. 江西中医药, 2009, 40(1): 61-63.
[10] 朱卫丰, 张亚红, 刘红宁, 等. 肉桂酸透皮吸收的实验研究[J]. 中成药, 2003, 25(6): 13-15.
[11] 丁宝月. 药物在不同皮肤中的渗透速率研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
[12] 李理宇, 张东娜, 窦媛媛, 等. 不同促渗剂对氯诺昔康体外经皮吸收的影响[J]. 解放军药理学学报, 2011, 27(1): 20-22.
[13] 朱雯宇, 张 倩, 朱玉欣, 等. 不同浓度促透剂对绿原酸体外透皮吸收的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(1): 5-8.
[14] 韩 菊, 魏福祥, 王改珍, 等. 生姜中姜酚的性能研究[J]. 食品科技, 2004(4): 63-65.
[15] 王文心. 干姜的化学、药理及临床应用特点分析[J]. 中医临床研究, 2016, 8(6): 146-148.

麻黄-五味子药对提取物制备工艺的优化

王小花, 张建军, 李 伟, 王玉杰, 汤如莹, 王林元*
(北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: 目的 优化麻黄-五味子药对提取物制备工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 以麻黄碱、伪麻黄碱总转移率, 五味子醇甲转移率为指标, 加醇量、回流次数、回流时间为影响因素, 正交试验优化提取工艺。**结果** 最佳条件为8、6 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 提取液减压浓缩干燥 (真空度 ≤ -0.07 MPa), 麻黄碱、伪麻黄碱总转移率 71.03%, 五味子醇甲转移率 74.81%。**结论** 该制备工艺有效成分转移率高, 稳定可行。麻黄-五味子药对采用 70% 乙醇提取时, 既有利于提取五味子木脂素, 又可减少麻黄生物碱在浓缩干燥过程中的损失。

关键词: 麻黄-五味子药对; 制备; 正交试验

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2018)03-0586-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.03.015

收稿日期: 2017-08-28

作者简介: 王小花 (1992—), 女, 硕士生, 从事中药新技术与新制剂的研究与应用。Tel: 15911125389, E-mail: 15911125389@163.com

* 通信作者: 王林元 (1961—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新技术与新制剂的研究与应用。Tel: (010) 68286099, E-mail: 13381002202@vip.163.com