

荜澄茄挥发油对罗通定的经皮促渗作用*

崔利利, 马云淑[△], 汉会勋

(云南中医学院中药学院, 云南昆明 650500)

[摘要] 目的: 研究荜澄茄挥发油对罗通定的经皮促渗作用。方法: 采用改良的 Franz 扩散池进行小鼠体外经皮渗透实验。以 HPLC 测定罗通定的累积渗透量, 考察 1%, 3%, 5%, 7% 荜澄茄挥发油对罗通定的促渗作用。结果: 5%, 7% 荜澄茄挥发油对罗通定具有促渗作用, 5%, 7% 荜澄茄油对罗通定的 8h 累积渗透量 (Q_8 , mg/cm²) 依次是 5.7839, 6.3837, 4h 的增渗倍数是 1.10, 1.20 倍。结论: 7% 荜澄茄油对罗通定的促渗效果最好。

[关键词] 罗通定; 荜澄茄油; 累积渗透量

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2011)02—0018—04

罗通定是由植物中提取的一种生物碱, 其镇痛效果和曲马多相当, 但无成瘾性。此药在镇痛的同时不仅没有曲马多的恶心、呕吐的副作用, 且具有催眠、安神作用, 对各种急慢性疼痛均有效果^[1], 适合制备经皮给药制剂。已有研究考察过一些挥发油对罗通定的体外促透皮作用, 实验结果表明罗通定具有一定的经皮渗透性。为了提高其经皮渗透量, 保证其治疗效果, 本研究以罗通定作为模型药, 通过与适宜的中药挥发油促渗剂配伍, 筛选出对罗通定具有最佳促渗作用的挥发油浓度。

荜澄茄挥发油含量较高, 前期研究已证明对雪上一枝蒿总碱、雪上一枝蒿甲素和乌头碱的促透作用较好^[2-3], 本实验进一步考察其对罗通定的促渗作用, 以期对罗通定最佳促渗剂筛选及经皮给药制剂的开发提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

昆明种小白鼠, 雌性, (20 ± 2) g (四川省医学科学院实验动物研究所提供, 许可证号: Xxkm2010-24)

1.2 药品与试剂

药品: 罗通定样品 (自制, 含量为 96%)、罗

痛定标准品 (中国药品生物制品检定所 100452-200301)、荜澄茄油 (樟科植物山鸡椒 *Litsea cubeba* (Lour) Pers. 的干燥成熟果实中提取)、氮酮 (福建寿宁美菲思生物化学制品厂)。

试剂: 玛贝拉净白脱毛膏 (广州市元美圣化妆品有限公司, 批号: LOT070EAO)、生理盐水、乙醇、硫酸、氢氧化钠、磷酸二氢钾均为分析纯; 甲醇、乙腈均为色谱纯; 娃哈哈纯净水。

1.3 仪器

TK-12B 透皮扩散试验仪 (上海锴凯科技贸易有限公司)、高效液相色谱仪 (四元泵, 德国 Agilent1100Series, 二极管阵列检测器)、KUDOS-SK250HP 超声仪 (上海科导超声仪器有限公司)、HH-s 数显恒温水浴锅 (金坛市正基仪器有限公司)、电子分析天平 (Xs125A 瑞士普利赛斯仪器公司 d=0.0001g)。

2 方法

2.1 离体皮肤的制备

实验前将裸鼠脱白处死, 取腹部皮肤去除皮下脂肪层及粘膜和脂肪组织, 用生理盐水冲洗干净于冰箱 (-20℃) 保存备用。

2.2 供试液的配制

* 基金项目: 云南省科技计划项目 (NO: 2008CD152); 国家自然科学基金项目 (NO: 30960517)

收稿日期: 2010—08—31 修回日期: 2010—12—02

作者简介: 崔利利 (1985~), 女, 陕西咸阳人。硕士研究生在读, 主要从事中药药剂学的研究。△通讯作者: 马云淑, Tel: (0871) 5918204, E-mail: yunshuma2@126.com

取 16.7mg/mL 罗通定储备液配制成含 1%, 3%, 5%, 7% 挥发油的罗通定样品溶液 (15mg/mL)。实验时, 将上述罗通定样品液超声混匀后, 各取 1mL 放入供给池进行透皮扩散实验。

2.3 透皮吸收实验^[2]

透皮扩散仪改良 Franz 扩散池容积为 7.0mL, 扩散面积为 2.92cm², 搅拌子长 1.0cm, 透皮扩散仪的温度为 (37 ± 0.5)℃, 磁搅拌子转速 (250 ± 5) r/min。将配好的各种供试液 1mL 倒入供药池内密封。打开磁力搅拌器, 定速搅拌并开始计时, 分别在开始后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8h 从取样管抽取接受液 7mL, 同时补加 7mL 已 37℃ 预热好的生理盐水, 排净气泡。

2.4 结果的处理^[2]

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浓度; C_i 为第 i 个取样点测得的药物浓度。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): K_p = J_{ss}/C (C 为供给池的药物浓度)

增渗倍数 (enhancement ratio, ER): ER = K_p/K_{p0} (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)。

2.5 统计学方法用 Excel、SPSS 进行统计计算

2.6 HPLC 方法学考察

2.6.1 色谱条件

经过预实验确定色谱条件为: 色谱柱: LichrospherC₁₈ (4.6 * 250mm, 5μm); 流动相: KH₂PO₄ - CH₃NH (48:52); 流速: 1mL/min; 检测波长: 281nm; 柱温: 30℃, 进样量: 5μL。在此条件下, 考察挥发油对样品是否有干扰。结果见图 1。

2.6.2 标准曲线绘制

精密称取颅痛定标准品 2mg, 加少量稀硫酸, 并用生理盐水定容至 10mL 超声溶解。配成浓度为 0.2mg/mL 的溶液, 分别进样 1, 3, 7, 10, 20, 30μL, 进行测定。以峰面积为横坐标, 进样量 (μg) 为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线方程

为 y = 600.26x + 2.5949 (r = 1), 颅痛定在 0.2 ~ 6ug 范围内线性关系良好。

2.6.3 精密度

取上述浓度为 0.2mg/mL 的标准品溶液, 按 HPLC 条件, 进样 5μL, 连续测定 6 次, 其 RSD = 0.07%。

2.6.4 稳定性

取浓度为 0.2mg/mL 的标准品溶液室温下放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12h 测定其日内稳定性, RSD = 0.19%, 于 1, 2, 3, 4, 5, 6d 测定其日间稳定性, 其 RSD = 1.7%, 说明样品溶液基本稳定。

2.6.5 加样回收率

取皮肤样品透过液 6 份, 每份精密移取 0.5mL, 另取浓度为 0.26mg/mL 的标准品溶液 0.5mL 分别加入混匀。在 HPLC 条件下分别测得透过液与加样样品液的峰面积, 得颅痛定的平均加样回收率为 96.43%, RSD = 4.67%。

3 结果

在 HPLC 条件下, 样品峰分离较好, 挥发油对其无干扰。结果见图 1。

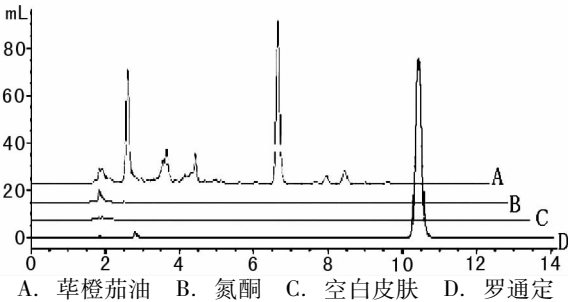


图1 罗通定的 HPLC 色谱图

经过前期实验, 选择 5% 氮酮为阳性对照。将 5% 氮酮、空白对照 (不含促渗剂) 及不同浓度的苳橙茄挥发油按 2.2 项下的方法配制 1mL, 按 2.3 项下所述的方法进行实验, 平行 3 次实验, 结果见表 1。前 4h 的趋势图见图 2。

由表 1 可知, 苳橙茄挥发油及氮酮对罗通定的 8h 累积渗透由高到低依次为 7% 苳橙茄油 > 5% 苳橙茄油 > 5% 氮酮 > 1% 苳橙茄油 > 空白对照 > 3% 苳橙茄油, 7% 苳橙茄油为最佳促透剂。

表 1 苳澄茄挥发油对罗通定 8h 的累积渗透量 (n=3)

t	累积渗透量 (Q ₈ , mg/cm ²)					
	1% 苳澄茄油	3% 苳澄茄油	5% 苳澄茄油	7% 苳澄茄油	空白对照	5% 氮酮
0.5	0.8283	0.8899	1.0939	1.1352	0.7110	0.9946
1	1.5448	1.6310	1.8577	2.0141	1.3609	1.7489
2	2.6072	2.7084	3.0470	3.2647	2.3788	2.8561
4	3.9792	4.0587	4.6020	4.9798	3.8919	4.3176
6	5.1225	4.8994	5.4431	5.9563	4.8999	5.2565
8	5.7085	5.3641	5.7839	6.3837	5.4554	5.7544

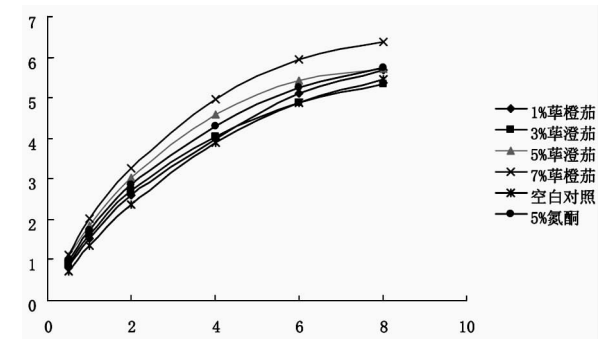


图 2 苳澄茄挥发油对罗通定 8h 的累积渗透量趋势图

由 Q-t 曲线及表 1 可知, 4h 后累积渗透量增加缓慢, 因此选择了 Q-t 曲线的直线部分即前 4h 的数据进行透皮速率常数与增渗倍数的求算, 结果见表 2。

表 2 苳澄茄挥发油对罗通定 4h 的透皮速率及增渗倍数 (n=3)

组别	Q ₄ / (mg/cm ²)	Q-t	r	Jss/ (mg/cm ² ·h)	Er
空白对照	3.8919	Q = 0.8903t + 0.4163	0.9942	0.8903	
5% 氮酮	4.3176	Q = 0.923t + 0.7487	0.9891	0.9230	1.04
1% 苳澄茄	3.9792	Q = 0.8753t + 0.5987	0.9884	0.8753	0.98
3% 苳澄茄	4.0587	Q = 0.8783t + 0.6752	0.9868	0.8783	0.99
5% 苳澄茄	4.6020	Q = 0.9782t + 0.8161	0.9899	0.9782	1.10
7% 苳澄茄	4.9798	Q = 1.0667t + 0.8483	0.9875	1.0667	1.20

由表 2 可知, 7% 苳澄茄油对罗通定的 4h 累积渗透量、增渗倍数及透皮速率常数均高于其它促渗剂, 对罗通定有一定的促透作用。经 t 检验, 6 组之间没有显著性差异, 但从数据上观察可知, 挥发油对罗通定有促透皮作用。

4 小结与讨论

实验结果提示, 5%、7% 苳澄茄挥发油对罗通定具有一定的促透皮作用, 5%、7% 苳澄茄挥发油 8h 累积渗透量 (Q₈, mg/cm²) 依次是 5.7839、6.3837, 其 4h 的增渗倍数是 1.10、1.20 倍。1% 苳澄茄油的透皮速率常数接近空白对照, 但 Q₈ 明显高于空白对照; 3% 苳澄茄挥发油 8h 的 Q₈ 虽低于空白对照, 但前 4h 的 Q₄ 高于空白对照, 提示其

促渗作用可能出现在开始阶段。
在实验过程中发现, 不同批次动物皮肤厚薄的差异, 处理皮肤方法的不同, 操作的差异等原因均会对实验结果带来一定的影响。因此, 在实验中, 为了尽可能的减小实验中的误差, 同组实验采用同一批次的小鼠。
在数据处理过程中, 罗通定在 8h 累积透过量一直有增加, 但在 4h 后增加趋于平缓, 因此在进行透皮速率常数与增渗倍数求算时, 选择了 Q-t 曲线的直线部分即前 4h 的数据。
表 2 中 1% 及 3% 的苳澄茄挥发油透皮速率常数比空白组小, 但其 8h 的累积渗透量高于空白组, 说明其对罗通定的促透皮作用有但较小, 但也考虑

可能是实验中误差所造成。从几种不同浓度的荜澄茄促渗结果来分析, 说明高浓度的荜澄茄对罗通定有促渗作用。

[参考文献]

[1] 赵巧玲. 罗通定缓释片的研究 [M]. 军事医学科学院学报, 2005, 16 (3): 1-2.

[2] 李艳杰. 荜澄茄、干姜、辛夷挥发油对雪上一枝蒿总碱体外经皮渗透的影响 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17 (4): 310-313.
[3] 李艳杰. 荜澄茄等 3 种挥发油对乌头碱经皮渗透的影响 [J]. 新型给药系统的研究与应用, 335-342.

(编辑: 岳胜难)

Enhancing Effect of Volatile Oil of Fructus Litseae on Permeation of Rotundine in Vitro

CUI Li-li, MA Yun-shu, HAN Hui-xun

(1. College of Chinese Traditional Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan, 650200 China)

[ABSTRACT] Objective: To study the effect of volatile oil of Fructus Litseae (FL) on the permeation of Rotundine *in vitro*. Methods: A test of penetration through rat skin was conducted by using an improved Franz diffusion cell, the enhancing effect of 1%, 3%, 5%, 7% volatile oil of FL on percutaneous permeation of Rotundine was investigated. The accumulative penetration amount of Rotundine was determined by HPLC. Results: 5%, 7% volatile oils of FL had enhancing effect on Rotundine permeation. The average cumulative doses of Rotundine for 8 hours (Q_8 , mg/cm²) of 5%, 7% volatile oil of FL were 5.7839, 6.3837, the enhancement ratios of 4 hours were 1.10, 1.20. Conclusion: 7% volatile oil of FL had the best effect of percutaneous permeation enhancing on Rotundine.

[KEY WORDS] rotundine; volatile oils of *fructus litseae*; accumulative penetration amount

(上接第 17 页)

[2] 罗元恺. 中医妇科学 (高等医药院校教材) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 73-75.
[3] 王寅, 玉腊波. 傣医经典选读 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 95, 99-103, 108, 134, 241-242, 244.

[4] 康朗腊. 档哈雅龙 [M]. 昆明: 云南民族出版社, 2003: 389, 390, 391, 392, 393.
[5] 贾克琳, 赵应红. 傣医方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 40-41.

(编辑: 岳胜难)

The Comparison and Analysis on Chinese Medicine and Dai Medical Diagnosis and Treatment of Headache

ZHANG Xiao-lin, YANG Mei, XU Xiao-yun, WANG Jian
(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

[ABSTRACT] This paper compares the clinical common, frequent headaches disease in TCM and dai medical treatment method and it found Dai medicine has numerous herbs to cure headache disease and has paid attention to headache disease in external treatment method of the character, not only curing the head when the headache occurs, also curing feet, external treatment method varied, including the use of drug leads and the use of synergistic method are worth learning and in-depth study, which is a valuable experience.

[KEY WORDS] chinese medicine; dai medicine; headache sickness; diagnosis and treatment; the comparison