

位凝胶的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26 (4): 459-461.

[ 4 ] 谢友亮. 高效液相色谱法测定樟脑的含量[J]. 中国药品标准, 2010(11): 231-233.

[ 5 ] 卓玉娟, 刘 新, 喻录容, 等. 辛芷离子敏感型鼻用原位凝胶的研制及体外释药评价[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(1): 30-33.

[ 6 ] 刘永革, 宋秀勤, 张 莉. 鼻腔 pH 值的测定[J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2001, 9(2): 84-85.

[ 7 ] 史亚军, 杨 明, 施俊辉, 等. 黄芩提取物磷脂复合物鼻用制剂剂型研究 [ J ]. 中 药 材, 2013, 36 ( 10 ): 1697-1701.

[ 8 ] Cao S L, Zhang Q Z, Jiang X G. Preparation of ion-activated in situ gel systems of scopolamine hydrobromide and evaluation of its antimotion sickness efficacy [ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(4): 584-590.

[ 9 ] Gulsen D, Chauhan A. Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel : a potential ophthalmic drug delivery vehicle [ J ]. *Int J Pharm*, 2005, 292: 95-117.

[10] 祝宏达, 张先洲. 微乳透皮给药系统的研究概况 [ J ]. 中国药师, 2006, 9(9): 849-851.

[11] 崔海珍, 刘福强, 王艳萍, 等. 银杏叶鼻用原位凝胶剂的制备及体外吸收研究[J]. 药学实践杂志, 2010, 34(2): 118-121.

羟丙基-β-环糊精包合对当归挥发油透皮吸收的影响

吴叶鸣<sup>1,2</sup>, 陈 军<sup>1,2\*</sup>, 刘 培<sup>2</sup>, 蒋秋冬<sup>1,2</sup>, 张 越<sup>1,2</sup>, 段金威<sup>2\*</sup>  
(1. 南京中医药大学药学院药物制剂研究室, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023)

**摘要：**目的 考察羟丙基-β-环糊精包合对当归挥发油体外透皮吸收的影响。**方法** 采用水蒸气蒸馏法制备当归挥发油并采用 GC-MS 分析其成分及相对含有量。测定并比较了当归挥发油中藁本内酯与藁本内酯单体的油水分分配系数。采用羟丙基-β-环糊精通过饱和水溶液法将当归挥发油制成包合物，以藁本内酯为指标，比较了当归挥发油以溶液、包合物溶液、凝胶和包合物凝胶四种形式给药的体外透皮吸收效果。**结果** 当归挥发油得率为 0.27%，含有至少 52 种成分，并以藁本内酯为主。藁本内酯单体和当归挥发油中的藁本内酯的油水分分配系数对数值（lg*P*）分别为 1.88 ± 0.05 和 2.64 ± 0.06（*n* = 3）。当归挥发油在 12 h 内的体外透皮吸收动力学符合零级速度方程，溶液、包合物溶液、凝胶和包合物凝胶四种形式的累积透过率分别为 28.93%、6.67%、23.70% 和 11.93%。**结论** 在溶液或凝胶剂中，制成环糊精包合物不利于当归挥发油的透皮吸收。

**关键词：**当归挥发油；藁本内酯；羟丙基-β-环糊精；透皮吸收；凝胶；溶液

**中图分类号：**R944                      **文献标志码：**A                      **文章编号：**1001-1528(2015)12-2636-06

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.014

Effect of Hydroxypropyl-β-cyclodextrin complexation on percutaneous absorption of essential oil from *Angelica sinensis*

WU Ye-ming<sup>1,2</sup>, CHEN Jun<sup>1,2\*</sup>, LIU Pei<sup>2</sup>, JIANG Qiu-dong<sup>1,2</sup>, ZHANG Yue<sup>1,2</sup>, DUAN Jin-ao<sup>2\*</sup>  
(1. Pharmaceutical Research Laboratory, School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Provincial Collaborative Innovation Center for Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**ABSTRACT: AIM** To evaluate the effect of hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD) complexation on percutaneous absorption of essential oil from *Angelica sinensis* (EOAS). **METHODS** The essential oil extracted from *Angelica sinensis* by steam distillation was analyzed by GC-MS. The apparent oil-water partition coefficient (*P*) was

收稿日期：2015-02-15

**基金项目：**江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目（ZDXMHT-1-15）；江苏省高校自然科学研究面上项目（14KJB360001）；江苏省青蓝工程资助项目（2014 年）；江苏省高校优势学科资助项目补基金项目（2014 年）

**作者简介：**吴叶鸣（1991—），女，硕士生，研究方向为中药外用制剂。Tel: 15996255831, E-mail: njzyydxwym@sina.com

\* **通信作者：**陈 军，副教授，硕士生导师。Tel: (025) 85818050, E-mail: chenjun75@163.com

measured and compared between pure (*Z*)-ligustilide and (*Z*)-ligustilide in EOAS. The EOAS/ HP- $\beta$ -CD inclusion complexes were prepared by the saturated solution method. The comparisons of *in vitro* percutaneous absorption profiles of (*Z*)-ligustilide were made among different EOAS formulations of solutions, and hydrogels. **RESULTS** The yield of EOAS was 0.27%, and more than 52 compounds were detected in the oil. The lgP values of pure (*Z*)-ligustilide and (*Z*)-ligustilide in EOAS were  $1.88 \pm 0.05$ , and  $2.64 \pm 0.06$  ( $n = 3$ ), respectively. The *in vitro* percutaneous absorption kinetics were in line with zero-order rate equation. And the cumulative absorption ratio of EOAS solution, EOAS inclusion complex solution, EOAS hydrogel and EOAS inclusion complex hydrogel reached 28.93%, 6.67%, 23.70% and 11.93%, respectively. **CONCLUSION** HP- $\beta$ -CD inclusion can significantly depress the percutaneous absorption of EOAS either in solution or hydrogel.

**KEY WORDS:** essential oil from *Angelica sinensis* (EOAS); (*Z*)-ligustilide; hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin; percutaneous absorption; hydrogel; solution

中药当归 *Angelica sinensis* 具有补血活血、调经止痛、润燥滑肠等功效<sup>[1]</sup>, 为妇科临床使用频率最高的中药之一, 素有“十方九归”之称。

当归挥发油是当归的主要活性部位之一, 其主要成分为藁本内酯 [(*Z*)-ligustilide], 随产地以及提取方式不同, 约占挥发油总量的 40% ~ 80%。当归挥发油具有显著的透皮促渗效果及自身透皮作用<sup>[2,3]</sup>, 于中药外用制剂中配伍应用<sup>[4]</sup>, 同时也被证明具有镇痛抗炎及对子宫收缩具有双向调节作用<sup>[5]</sup>, 可用于治疗痛经<sup>[6]</sup>。

环糊精包合物是最常应用于中药挥发油的制剂技术, 可以实现挥发油稳定性的显著提高和固体剂型化, 但环糊精包合对于中药挥发油透皮吸收性质的影响还鲜见报道。溶液剂<sup>[2]</sup>和凝胶剂<sup>[7]</sup>是目前最常用的中药挥发油外用剂型, 因此, 本研究将当归挥发油分别以游离或包合物形式制备溶液剂或凝胶剂并评价其体外透皮吸收效果, 力求为中药挥发油经皮给药制剂的剂型设计提供实验依据。

## 1 实验材料

1.1 药物和试剂 藁本内酯对照品 (纯度  $\geq 98\%$ , 购于南京泽朗医药有限公司)。当归饮片 (产于甘肃, 批号 140409, 购于安徽丰原铜陵中药饮片有限公司), 经南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。

羟丙基- $\beta$ -环糊精 (HP- $\beta$ -CD, 西安德立生物化工有限公司), 卡波姆 940 (美国誉诺公司), 乙腈 (美国 Tedia 公司)、甲醇 (美国 Merck 公司) 为色谱纯, 纯水 (实验室自制), 三乙醇胺、无水乙醇均为分析纯 (南京化学试剂有限公司)。

1.2 仪器 7890A/5975C 气相色谱/质谱仪 (美国 Agilent 公司); LC20-AT 高效液相色谱仪 (日

本岛津公司), 包括 SPD-20A 检测器和 SIL-20A 自动进样器; BS124S 电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); TGL-16G 高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); DKZ-2 恒温振荡水槽 (上海精宏实验设备有限公司); DF-101SA 恒温磁力搅拌器 (南京柯尔仪器设备有限公司); TK-12D 型透皮扩散仪 (上海锴凯科技贸易有限公司); FD-1A-50 冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司); 挥发油提取器; 电热套 (通州申通实验仪器有限公司)。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠, 体质量 ( $200 \pm 20$ ) g, 购于上海杰思捷实验动物有限公司, 合格证号 SCXK (沪) 2013-0006。

## 2 方法与结果

2.1 当归挥发油的提取 称取当归饮片适量, 粉碎, 过 3 号筛, 加入 8 倍量水, 浸泡 1 h, 按《中国药典》2010 年版一部附录 XD 的挥发油测定法进行, 连续蒸馏 6 h, 收集油水混合物, 4 000 r/min, 离心 5 min, 用无水硫酸钠除去水分, 全过程避光操作, 得率为 0.27%。

### 2.2 GC-MS 分析<sup>[8-10]</sup>

2.2.1 色谱条件 色谱柱 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane; 柱长 30 m; 液膜厚度 0.25  $\mu\text{m}$ ; 内径 0.25 mm。载气为 He; 体积流量 1.0 mL/min; 采用程序升温, 初始 50  $^{\circ}\text{C}$ , 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 110  $^{\circ}\text{C}$ , 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 140  $^{\circ}\text{C}$ , 2  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 200  $^{\circ}\text{C}$ , 8  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 250  $^{\circ}\text{C}$ , 保留 10 min。

2.2.2 质谱条件 分流模式进样, 分流比 30 : 1, 进样口温度 260  $^{\circ}\text{C}$ , 辅助线温度 280  $^{\circ}\text{C}$ , 离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ , 四极杆 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 电离方式为 EI, 电子能量 70 eV; 电子倍增管电压 1347 kV; 采集方式为扫描; 扫描质量范围 50 ~ 500 amu。

2.2.3 成分分析结果 吸取适量当归挥发油, 乙酸乙酯稀释 50 倍, 进样测定。结果共检测出 52 种成分, 其中藁本内酯 (Z-ligustilide) 占 69.278%, 含量与文献报道相符<sup>[11-13]</sup>, 可作为当归挥发油的指标性成分。

### 2.3 HPLC 法测定透皮接收液中藁本内酯

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Benetnach C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 乙腈-水 (78:22); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 322 nm; 进样量 20 μL; 柱温 25 °C。

2.3.2 专属性考察 取适当质量浓度的藁本内酯对照品甲醇溶液、当归挥发油甲醇溶液、包合物凝胶透皮接收液、空白包合物凝胶接收液色谱条件下分别进样分析, 考察方法色谱系统适用性。在该条件下, 藁本内酯谱峰基线分离完全, 藁本内酯的保留时间为 6.4 min。色谱图见图 1。

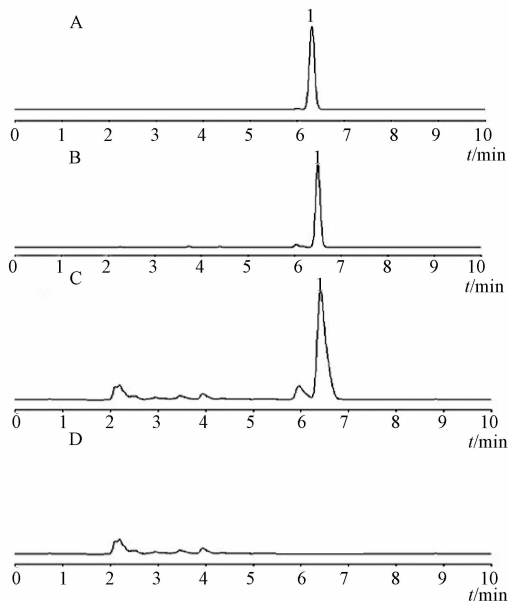


图 1 HPLC 图藁本内酯对照品 (2.015 μg/mL) (A)、当归挥发油 (B)、当归油包合物凝胶 24 h 透皮接收液 (C) 及空白包合物凝胶 24 h 接收液 (D)

Fig. 1 HPLC chromatograms for reference substance Z-ligustilide (A), volatile oil from *Angelica sinensis* (B), percutaneous receptor fluid of its hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex gel, and hydroxypropyl-β-cyclodextrin hydrogel without Z-ligustilide

2.3.3 对照品溶液的制备 取藁本内酯对照品, 精密称定, 用甲醇溶解稀释配制成 3.55 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取对照品母液适量,

加甲醇稀释定容到不同质量浓度 (0.100 8、0.201 5、0.503 8、1.007 5、2.015 0、5.038 2 μg/mL), 进样分析, 以对照品峰面积 Y 对质量浓度 X (μg/mL) 进行线性回归, 成分藁本内酯在 0.100 8~5.038 2 μg/mL 范围内线性关系良好, 回归方程为  $Y = 53\,635 X + 4\,096$  ( $r = 0.999\,5$ )。定量限为 0.100 8 μg/mL。

2.3.5 日内及日间精密度的测定 分别取低、中、高 3 个质量浓度 (0.201 5、0.806 1、5.038 2 μg/mL) 对照品液于 1 d 内进样 5 次, RSD 分别为 0.048%、0.036% 和 0.035%。连续 5 d 进样, 日间精密度的测定分别为 0.323 8%、0.185 9%、0.122 1%。

2.3.6 加样回收率的测定 取当归挥发油溶液组 12 h 透皮接收液 (藁本内酯质量浓度为 1.290 1 μg/mL) 1.0 mL 平行 9 份, 分成 3 组, 每组 3 份, 分别加入 2.015 0 μg/mL 藁本内酯的对照品溶液 0.1、1.0、2.0 mL。甲醇定容至 5 mL 量瓶, 得 0.298 3、0.661 0、1.064 0 μg/mL 藁本内酯溶液, 色谱条件下分析, 得藁本内酯的平均加样回收率为 98.04%, RSD 为 2.67%。

取 0.5 g 当归挥发油包合物凝胶 (藁本内酯含量为 8.43 mg/g), 精密称定, 平行 9 份, 每 3 份加入 0.5、1、2 mL 质量浓度为 3.55 mg/mL 的藁本内酯对照品液, 加入无水乙醇超声 30 min, 12 000 r/min 离心 5 min 取上清液用甲醇稀释, 残渣加入少量无水乙醇, 振摇, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液甲醇稀释, 收集稀释液定容至 10 mL, 从中精密吸取 1 mL, 甲醇稀释至 10 mL, 进样分析测定其中藁本内酯的质量浓度, 9 份样品中藁本内酯的平均加样回收率为 96.31% ± 2.26%。

2.3.7 重复性试验 取当归挥发油溶液组 18 h 透皮接收液 (藁本内酯质量浓度为 1.881 μg/mL) 0.5 mL 平行 6 份, 进样分析测定, 6 份样品中藁本内酯含量的 RSD 值为 1.97%。吸取 6 份 100 μL 当归挥发油供试品溶液, 甲醇稀释至 1 mL 进样分析, 6 份样品中藁本内酯含量的 RSD 值为 0.93%。取 0.5 g 当归挥发油包合物凝胶, 精密称定, 平行 6 份, 加入无水乙醇超声 30 min, 12 000 r/min 离心 5 min 取上清液用甲醇稀释, 残渣加入少量无水乙醇, 振摇, 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液甲醇稀释, 收集稀释液定容至 10 mL, 从中精密吸取 1 mL, 甲醇稀释至 10 mL, 进样分析测定其中藁本内酯的质量浓度, 6 份样品中藁本内酯的 RSD 值为 2.18%。

2.4 鼠皮处理 取雌性 SD 大鼠于取皮前 12 h 刮净腹部鼠毛,取皮前处死,取腹部皮肤,用生理盐水反复冲洗干净,仔细剥去皮下脂肪层,备用。

2.5 当归挥发油包合物的制备 称取 6 g HP- $\beta$ -CD,加入 8 mL 纯水,搅拌,加热溶解,转移至 40 ℃ 恒温磁力搅拌,逐滴加入 600  $\mu$ L 当归挥发油溶液(油与无水乙醇溶液 1:1 混合),中速搅拌 4 h,冷却至室温,分次加入 10 mL 石油醚摇匀 5 000 r/min 离心 10 min,移去上层液体,取下层液体经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过滤 2 次,冷冻干燥得包合物固体粉末。

取适量包合物粉末,精密称定,用无水乙醇超声 20 min,12 000 r/min 离心 5 min 取上清液用甲醇稀释,残渣加入少量无水乙醇,振摇,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液甲醇稀释,收集稀释液定容至 10 mL,HPLC 进样分析测定其中藁本内酯的质量浓度,最终测得包合物中藁本内酯的含有量为  $(20.75 \pm 1.79)$  mg/g ( $n=3$ ),以藁本内酯计的当归挥发油的包合率为  $81.05\% \pm 2.42\%$  ( $n=3$ )。

2.6 当归挥发油透皮供试制剂的制备

2.6.1 溶液剂 以 20% 乙醇-生理盐水为溶剂,分别配制藁本内酯浓度相同的当归挥发油包合物溶液和当归挥发油溶液(肉眼观察呈澄明的淡黄色液体),临用前配制。

2.6.2 凝胶剂 空白凝胶基质的制备:精密称取 2.00 g 卡波姆均匀撒于 30 mL 蒸馏水上,溶胀过夜(12 h),得到透明半固体基质,加入 3.00 g(约 2.7 mL)三乙醇胺调节 pH 7.11。

临用前,称取 1.40 g 空白凝胶,加入适量当归挥发油、0.6 g 无水乙醇,用水调凝胶总质量为 3.00 g,搅匀,即得当归挥发油凝胶,肉眼观察呈淡黄色均匀的半固体。

另称取 1.40 g 空白凝胶,加入 1.15 g 当归挥发油包合物、0.6 g 无水乙醇,用水调凝胶总质量为 3.00 g,搅匀,即得当归挥发油包合物凝胶,其藁本内酯质量浓度与当归挥发油凝胶相同。

2.7 体外透皮吸收试验

2.7.1 溶解度考察 分别向 1 mL 20% 乙醇-生理盐水中加入 10、15、20、25  $\mu$ L 的当归挥发油(藁本内酯质量浓度为 0.35 mg/ $\mu$ L),平行 3 份,37 ℃ 水浴振荡 1 h,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液进样测定,测得当归挥发油中的藁本内酯在 20% 乙醇-生理盐水中溶解度约为 7 mg/mL,供给池

内药量为 8 mg,接收液体积为 8 mL,符合漏槽条件。

2.7.2 透皮接收液的稳定性考察 将适量当归挥发油溶于 20% 乙醇-生理盐水中,于 37 ℃ 避光放置 24 h 后测定其中藁本内酯的浓度为初始质量浓度的  $97.33\% \pm 0.56\%$  ( $n=3$ )。

2.7.3 透皮实验 将大鼠离体腹部皮肤自然固定在改良的 Franz 扩散池上,用手术剪剪去多余皮肤,有效扩散面积为 3.14 cm<sup>2</sup>,使皮肤表面面向药室,皮肤里层与接受液刚好接触。供给室中分别加入 4 种当归挥发油制剂(当归挥发油溶液、当归挥发油包合物溶液、当归挥发油凝胶、当归挥发油包合物凝胶)适量(均含 8 mg 藁本内酯),接收液为脱气并 37 ℃ 预热的 20% 乙醇-生理盐水<sup>[14-17]</sup>,接收池水浴温度为 37 ℃,磁力搅拌转速为 200 r/min。实验过程中注意避光,分别于 1、2、4、6、9、12、24 h 取样 0.8 mL,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液进样测定藁本内酯浓度,每次取样后均补加等体积同温度的接收液。

样品峰面积根据标准曲线计算浓度,然后按下式计算各时间点的单位面积累积透过量:

$$Q = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

式中, $C_n$ 为第  $n$  个取样点测得的药物质量浓度(mg/L), $C_i$ 为第  $i$  个取样点测得的药物质量浓度(mg/L), $A$ 为扩散池有效渗透面积(cm<sup>2</sup>), $V$ 为扩散池容积, $V_i$ 为第  $i$  个点取样体积,即 0.8 mL。药物稳态透皮速率  $J$  ( $\mu$ g/cm<sup>2</sup>·h)为药物单位累积渗透量  $Q$  对时间  $t$  作图直线部分斜率。

2.8 藁本内酯的油水分配系数测定 精密吸取等体积的正辛醇和纯水,于 37 ℃ 恒温水浴中振荡 12 h,饱和后静置分层,分取上层水饱和的油相,以及下层正辛醇饱和的水相,待用。

取藁本内酯对照品适量,精密称定,溶解于水饱和的正辛醇中配制成 2.67 mg/mL 的溶液,加入等体积正辛醇饱和的水,置于 37 ℃ 水浴中高速振荡 1 h,4 000 r/min 离心 5 min,分取水层和油层,用甲醇稀释到一定浓度,HPLC 法测定藁本内酯,以油层与水层的浓度比计算油水分配系数。

取当归挥发油适量,精密称定,溶解于水饱和的正辛醇中配制成藁本内酯质量浓度为 2.67 mg/mL 的溶液,以下同法操作,测定当归挥发油中藁本内酯的油水分配系数。

藁本内酯分配后油水两相中的总含有量是加入量的 97.81%;当归挥发油分配后油水两相中藁本

内酯的总含有量是加入当归挥发油中藁本内酯含有量的 97.52%，说明在试验过程中藁本内酯并未发生显著降解。

3 结果

以脱气并 37℃ 预热的 20% 乙醇-生理盐水作为接受液，按“2.7.2”项下将离体皮肤置于透皮池间放置 1 h。用自提当归挥发油制备 4 种藁本内酯含有量相当的制剂（当归挥发油溶液、当归挥发油包合物溶液、当归挥发油凝胶、当归挥发油包合物凝胶），每种平行 5 份，加入供给池。按照“2.7.2”项下进行测定。

测定结果 24 h 内以  $Q$ （单位面积透过的藁本内酯的量）对  $t$ ，绘制不同时间点不同形式当归挥发油制剂给药后藁本内酯渗透曲线，如图 2。12 h 内  $Q$ - $t$  拟合结果见表 1。

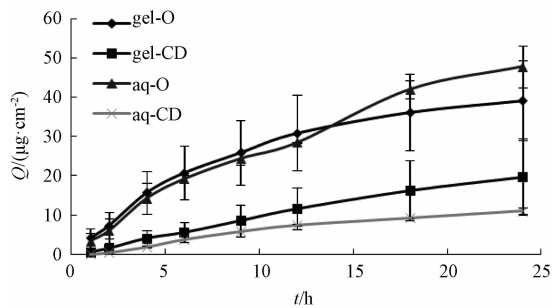


图 2 不同形式当归油制剂中藁本内酯经皮渗透曲线 ( $n = 5$ )

Fig. 2 Transdermal penetrating curves for ligustilide of volatile oil from *Angelica sinensis* in 4 different formulations

表 1 不同形式当归挥发油的体外渗透比较  
Tab. 1 Comparison of *in vitro* transdermal penetration of volatile oil from *Angelica sinensis* in the different formulations

| 供试品        | $J/(\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ | $r$     | 时滞/h              |
|------------|----------------------------------------------|---------|-------------------|
| 当归挥发油溶液    | $2.700 \pm 0.373$                            | 0.984 7 | $0.281 \pm 0.072$ |
| 当归挥发油包合物溶液 | $0.697 \pm 0.108^*$                          | 0.998 0 | $1.083 \pm 0.164$ |
| 当归挥发油凝胶    | $3.897 \pm 0.348$                            | 0.976 2 | $0.378 \pm 0.047$ |
| 当归挥发油包合物凝胶 | $0.997 \pm 0.125^{\#}$                       | 0.998 8 | $0.330 \pm 0.042$ |

注：与游离当归挥发油组比较，\*  $P < 0.01$ ；与当归挥发油凝胶组比较， $^{\#}P < 0.01$

由以上图表可知：不同形式的当归挥发油制剂体外透皮吸收动力学基本符合零级速度方程。无论在溶液剂还是凝胶剂中，包合后的当归油制剂中藁本内酯的 24 h 累计透过百分数、稳态透皮速率均较游离挥发油显著降低 ( $P < 0.01$ )。说明制成包合物明显降低了当归挥发油的透皮速率和程度。

综上所述，不同当归挥发油制剂的体外透皮效果排序为：游离挥发油凝胶剂 > 游离挥发油溶液剂 > 挥发油包合物凝胶剂 > 挥发油包合物溶液剂，为中药挥发油经皮给药形式的确定提供依据。

本实验还测定了藁本内酯单体及在当归挥发油中的油水分配系数，结果表明，其单体的  $\lg P$  为  $1.88 \pm 0.05$ ，而在当归挥发油中的  $\lg P$  为  $2.64 \pm 0.06$ ，提示当归挥发油有效部位用药较其单体更加有利于当归挥发油中藁本内酯的透皮吸收。

4 讨论

4.1 提取条件优化 采用水蒸气蒸馏法提取当归挥发油时，考察了粉碎粒度，浸泡时间，提取时间对于提取率的影响。粉碎后过 2 号筛比过 1 号筛提取率高，浸泡时间由最初的 3 h 缩短至 1 h，提取率上升了 20%，提取时间由 8 h 缩短至 6 h，提取率无明显变化。

4.2 HPLC 色谱条件优化 通过对藁本内酯的甲醇溶液进行全波长扫描，发现最大吸收波长范围为 321 ~ 323 nm，最终选择 322 nm 为检测波长。分别用乙腈-水比例为 78 : 22、75 : 25<sup>[18]</sup>、65 : 35 以及甲醇-水比例为 60 : 40<sup>[19]</sup> 的流动相，观察藁本内酯对照品溶液及当归挥发油供试品溶液的出峰情况，综合选择分离度佳 ( $R > 2$ )、峰形好的 78 : 22 比例作为流动相比例。

4.3 藁本内酯的性质 藁本内酯是当归挥发油的最主要成分，具有改善微循环、舒张血管、镇痛抗炎等药理活性<sup>[20]</sup>，而油水分配系数是衡量药物透过皮肤的性能的重要指标，本研究测定了藁本内酯单体  $\lg P$  值相比在挥发油中降低了 0.76，可能是由于当归挥发油中其他脂溶性更强的成分影响，使藁本内酯在有机相中分配减少， $\lg P$  值增大。

4.4 当归挥发油经皮给药适应性 从四种不同形式的当归油制剂体外透皮试验的结果可以看出：采用溶液剂或凝胶剂，以包合物形式加入的当归挥发油与游离当归挥发油相比，藁本内酯的经皮渗透速度和累积透过量均有明显减少，累积透过率分别降低了约 22% 和 12%，说明包合物明显阻碍了当归挥发油的透皮过程，这可能是因为当归挥发油被包合后更难从环糊精非极性空穴结构中释放到水性环境中，从而难以到达皮肤表面所致。此外，同样有研究表明，环糊精包合不利于凝胶剂中丁香挥发油的透皮吸收<sup>[21]</sup>。

在体外透皮实验中，凝胶剂的稳态透皮速率相较溶液剂快 ( $P < 0.05$ )，且包合物凝胶的累计透

过率大于包合物溶液，其原因可能是因为对于溶液剂而言，供给池和接收池内的体系渗透压相比凝胶剂和接收液更为接近，不利于溶质的扩散。也有文献报道类似结果<sup>[22-23]</sup>。由实验结果可知，凝胶剂比溶液剂更适合于作为考察挥发油体外透皮的剂型。

然而，环糊精包合是中药挥发油在制剂中入药的主要形式，能够显著改善挥发油的稳定性和溶解度，但在外用制剂中，环糊精包合可能不利于中药挥发油的透皮吸收和促渗效果，寻找面向中药挥发油经皮给药的、稳定性与透皮吸收效果能够兼得的中药新型制剂技术是十分必要的。

参考文献：

[ 1 ] 国家药典委员会，中华人民共和国药典：2010 年版一部 [S]. 北京：中国医药出版社，2010：124-125.

[ 2 ] 张京，刘雪英，刘琳娜，等. 当归挥发油对兔皮肤的透皮吸收研究 [J]. 医药导报，2009，28(12)：1527-1530.

[ 3 ] 王公校，张华，耿智隆，等. 当归挥发油增强白藜芦醇经皮渗透作用的研究 [J]. 中华中医药杂志，2012，27(1)：117-119.

[ 4 ] 徐文杰. 复方当归痛经宁的巴布剂的药学研究 [D]. 广东：广东药学院，2009.

[ 5 ] 肖军花，周健，丁丽丽，等. 当归挥发油对子宫的双向作用及其活性部位筛选 [J]. 华中科技大学学报：医学版，2003，32(6)：589-592.

[ 6 ] 刘峰林，王瑞琼，马中山，等. 当归油治疗痛经的药效学实验研究 [J]. 现代中药研究与实践，2006，20(6)：22-24.

[ 7 ] Khan N R, Khan G M, Wahab A, *et al.* Formulation and physical, *in vitro* and *ex vivo* evaluation of transdermal ibuprofen hydrogels containing turpentine oil as penetration enhancer [J]. *Pharmazie*, 2011, 66(11)：849.

[ 8 ] 胡长鹰，丁霄霖. 当归挥发油中内酯类成分的提取分离及结构鉴定 [J]. 中草药，2004，35(4)：383-384.

[ 9 ] 李桂生，李八方. GC 法测定当归油中 Z-藁本内酯 [J]. 中草药，2005，36(12)：1816-1818.

[10] 王冬梅，贾正平，马制刚. 气相色谱-质谱联用分析甘肃岷

当归挥发油成分 [J]. 兰州医学院学报，2002，28(3)：44-46.

[11] 周永红，谢鸿，王天文，等. 当归挥发油的提取与成分分析 [J]. 化工技术与开发，2007，36(3)：33-36.

[12] 刘琳娜. 当归精油的提取、成分分析及其药理研究 [D]. 西安：第四军医大学，2002.

[13] 纪鹏，华永丽，薛文新，等. 当归及其不同炮制品的挥发油提取及成分分析 [J]. 天然产物研究与开发，2012，24：1230-1234.

[14] Nicolazzo J A, Morgan T M, Reed B L, *et al.* Synergistic enhancement of testosterone transdermal delivery [J]. *J Cont Rel*, 2005, 103(3)：577-585.

[15] Solomon B, Sahle F F, Gebre Mariam, *et al.* Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: formulation and *in vitro* permeation studies [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 80(1)：61-66.

[16] Che Junxiu, Wu Zushuai, Shao Weiyan, *et al.* Synergetic skin targeting effect of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin combined with microemulsion for ketoconazole [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 93：136-148.

[17] Raza K, Singh B, Lohan S, *et al.* Nano-lipoidal carriers of tretinoin with enhanced percutaneous absorption, photostability, biocompatibility and anti-psoriatic activity [J]. *Int J Pharm*, 2013, 456(1)：65-72.

[18] 张京，刘雪英，姜茹，等. 反相高效液相色谱法测定当归挥发油中藁本内酯含量 [J]. 军医大学学报，2009，30(9)：853-855.

[19] 赵惠茹，周晓棉，冯素香，等. HPLC 测定兔血浆中的藁本内酯 [J]. 华西药学杂志，2009，24(4)：415-418.

[20] 左爱华，王莉，肖红. 藁本内酯药理学和药代动力学研究进展 [J]. 中国中药杂志，2012，37(22)：3350-3353.

[21] 袁红宇，王静，张宏文，等.  $\beta$ -环糊精包合对小儿腹泻外敷凝胶透皮吸收的影响 [J]. 中成药，2008，30(11)：1604-1607.

[22] 刘晓昱，饶跃峰，梁文权，等. 炔雌醇醇质体凝胶的经皮渗透研究 [J]. 中国药学杂志，2006，41(4)：284-288.

[23] 郭倩倩，刘金华，刘二刚，等. 盐酸氨酮戊酸溶液剂与水凝胶的透皮及体内转化效果评价 [J]. 中国现代应用药学，2014(1)：57-60.