

生姜炮制成干姜前后挥发油透皮吸收促进作用的比较研究

苏 曼, 陈 军*, 高 洁, 董 洁, 顾 薇

南京中医药大学药学院 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210023

摘 要:目的 比较生姜炮制成干姜前后挥发油透皮吸收促进作用及成分的变化。方法 将生姜炮制成干姜前后提取挥发油, 皮肤电阻动力学实验和体外布洛芬透皮实验比较二者的促渗能力, ATR-FTIR 红外分析挥发油透皮促渗主要机制, 皮肤细胞毒性实验比较了生姜和干姜挥发油的细胞毒性, GC-MS 分析成分变化。结果 干姜挥发油的透皮吸收促进作用显著优于生姜挥发油, 其透皮促渗机制主要为对皮肤角质层脂质的萃取, 而生姜和干姜挥发油的皮肤细胞毒性均显著低于化学促渗剂氮酮, 炮制后干姜挥发油的倍半萜类成分比例高于生姜挥发油, 透皮后干姜挥发油组皮内的倍半萜类成分比例也高于生姜挥发油组。结论 炮制后的干姜挥发油的透皮吸收作用优于生姜挥发油, 验证了中药挥发油透皮吸收促进剂存在“热者易效”的规律。

关键词: 生姜; 干姜; 炮制; 挥发油; 透皮吸收促进剂

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)24-5988-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.011

Comparative study on penetration-enhancing effect of essential oil before and after processing fresh ginger into dried ginger

SU Man, CHEN Jun, GAO Jie, DONG Jie, GU Wei

Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To compare the penetration-enhancing effect and composition changes of fresh ginger and dried ginger essential oil. **Methods** The essential oil was extracted before and after fresh ginger being processed into dried ginger, and the penetration-enhancing effect of them was compared by skin electrical resistance and transdermal test of ibuprofen *in vitro*. The main mechanism of penetration-enhancing effect of the essential oil was studied by ATR-FTIR. The skin cytotoxicity of the essential oils was compared by skin cytotoxicity test, and the composition changes were analyzed by GC-MS. **Results** The penetration-enhancing effect of dried ginger essential oil was much better than the fresh ginger essential oil. The mechanism was mainly due to the skin stratum corneum lipids extraction. The skin cytotoxicity of fresh ginger and dried ginger essential oil was much lower than that of azone. The sesquiterpenes content of dried ginger essential oil was higher than that of fresh ginger essential oil. The intradermal sesquiterpenoids of dried ginger essential oil group after transdermal treatment were higher than those in the fresh ginger essential oil group. **Conclusion** The transdermal absorption promotion effect of the processed dried ginger essential oil was much better than that of fresh ginger essential oil, which verified the existence of the rule of “hot herbs with better efficacy”.

Key words: fresh ginger; dried ginger; processing; essential oil; penetration enhancers

《理瀹骈文》是清代中医外治大家吴师机的一部以内科理法方药为理论依据而又以膏药为主要剂型的外治法专著, 其中提出了“凡病多从外入, 故医

有外治法”“外治之理, 即内治之理”和“膏药热者易效”的观点, 为中药外用制剂的研究提供了理论依据。

收稿日期: 2019-07-16

基金项目: 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室资助项目 (JKLPSE201808); 江苏省高校中药学优势学科建设工程资助项目 (PAPD); 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心重点项目 (ZDXMHT-1-1-5); 江苏省中医药管理局科研专项 (ZX2016D1); 江苏省高校优势学科项目 (2014); 江苏省高校优势学科专项培育项目 (2017)

作者简介: 苏 曼, 硕士研究生, 主要从事中药经皮给药制剂研究。Tel: 13815431317 E-mail: sm20181343@163.com

***通信作者** 陈 军, 教授, 博士, 主要从事中药经皮给药制剂研究。Tel: (025)85811769 E-mail: chenjun75@163.com

经皮给药具有避免首关效应、控制药物释放速度、患者依从性更好、给药方便等优点^[1-2]。但是皮肤作为人体的第 1 道屏障,限制了许多药物的经皮吸收,因此,常用透皮吸收促进剂(又称透皮渗透剂, penetration enhancers, PE)解决上述问题。中药挥发油是一大类常用的透皮吸收促进剂,且具有促渗效果好、安全性高、药效协同等特点。现有中药挥发油透皮吸收促进剂主要来自于辛味中药^[3-7],经典药性理论认为“辛入肺,肺在体合皮”“辛能开腠理”,提示辛味中药挥发油作用于皮肤,可能会增加皮肤的通透性。《本草经疏》中有“五味之中,惟辛通四气,复兼四味”的论述,说明四气药性特征与辛味中药挥发油透皮吸收促进效果之间可能存在密切的联系。前期文献研究发现,中药药性特征与中药挥发油透皮吸收促进效果之间存在显著相关性,其中四气的影响最为显著,实验研究选取了 21 种辛味中药挥发油,通过比较发现热性辛味中药挥发油的透皮吸收促进能力显著优于温性辛味中药挥发油^[8]。

炮制是改变中药药性的常用手段之一,在辛味中药中,生姜与干姜的来源完全相同,均来源于姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的根茎^[9],新鲜根茎为生姜,炮制后的干燥根茎为干姜,而炮制后其气味从辛温变为辛热。因此选择比较炮制前后的生姜与干姜挥发油,来验证“热者易效”规律。实验室前期研究发现皮肤电阻测定用于测定离体皮肤的屏障功能,能够快速比较 PE 透皮吸收促进能力^[10],故本实验选用皮肤电阻动力学实验比较生姜与干姜挥发油的透皮吸收促进能力。

1 材料与仪器

1.1 试剂及药材

生姜,编号 418002,亳州市紫锐药业有限公司,经南京中医药大学药学院中药鉴定学教研室主任刘圣金教授鉴定为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的根茎。氮酮,批号 20150104,国药集团化学试剂有限公司; 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT),批号 M2128,美国 Sigma Aldrich 公司; 1,2-丙二醇,批号 20161109,分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司; 异丙醇,分析纯,批号 20180108,南京化学试剂股份有限公司; 二甲亚砜(DMSO),批号 WXBC1590V,分析纯,美国 Sigma 公司; 0.25%胰酶、PBS (pH 7.4)、DMEM 培养基和胎牛血清,美国 Gibco 公司; 细胞计数板,

上海市求精生化试剂仪器有限公司; 布洛芬对照品,美国 Sigma 公司,批号 MKBQ4505V,质量分数≥98%; 水为自制超纯水; 乙腈、甲醇、乙醇均为色谱纯,美国 TEDIA 公司。

1.2 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量 180~200 g,购于南京市江宁区青龙山动物繁殖场,许可证号 SYXK(苏)2018-0049。本实验经南京中医药大学实验动物伦理委员会批准,批准编号: ACU171101。

1.3 细胞

人永生表皮细胞(HaCaT 细胞)购自江苏凯基生物股份有限公司,以 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清及 100 U/mL 青霉素-链霉素溶液)于 37 °C 培养于浓度为 5% CO₂ 培养箱中。

1.4 仪器

Millicell ERS-2 型细胞电阻仪、MERSSTX01 型电极,美国 Millipore 公司; FTIR-230、ATR-500/M 型傅里叶变换衰减全反射红外光谱(ATR-FTIR),JASCO 公司; Agilent7890A 5975C 型气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),美国安捷伦公司; LC20-AT 型高效液相色谱仪,日本岛津公司; TK-12D 型透皮扩散仪,上海锴凯科技贸易有限公司; TGL-16B 型高速离心机,上海安亭科学仪器厂; BAS-124S 型分析天平,德国赛多利斯股份有限公司; INCO108 型 CO₂ 培养箱,德国 Memmert 公司; XD-202 型倒置显微镜,南京江南永新光学有限公司; Chromate 4300 型酶标仪,美国 Awareness 公司; SW-CJ-IF 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司; 24 孔 Tran-swell TM 嵌套、24 孔板、96 孔板,美国 Corning 公司。

2 方法与结果

2.1 干姜的炮制

生姜洗净后切片。切片规格为 0.3 cm,干燥温度为 55 °C,干燥时间为 18 h^[11]。

2.2 挥发油的提取

按《中国药典》2015 年版中干姜与生姜项下挥发油的提取方法提取干姜挥发油和生姜挥发油,得率为提取出油的体积与药材质量的比值。干姜挥发油的得率为(1.373±0.064) mL/g (n=3),生姜挥发油的得率为(0.135±0.006) mL/g (n=3),均符合《中国药典》2015 年版标准。

提取到的挥发油加入过量无水硫酸钠脱水,保存于 4 °C。

2.3 离体皮肤的制备

雄性 SD 大鼠用 10% 水合氯醛麻醉 (3.5 mL/kg), 刀片剃除腹部体毛, 温水洗净, 自然饲养过夜后脱颈处死, 并立即剥离腹部皮肤, 去除皮下脂肪, 以 PBS 冲洗数次, 平铺于滤纸上, 保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [10]。

2.4 皮肤电阻动力学测定

已有研究表明, 皮肤电阻动力学与体外透皮实验在评价药物促渗能力方面有明显相关性 [10], 因此本研究应用皮肤电阻动力学, 简单快速比较 2 种挥发油的促渗能力。

将预先处理好的离体大鼠皮肤固定于 Transwell 装置 24 孔嵌套板上, 角质层朝上, 给药皮肤面积为 0.33 cm^2 。皮肤下层加入 0.65 mL PBS, 上层加入 0.2 mL 含 3% 挥发油的溶液 (溶剂为 70% 异丙醇-PBS), 空白组加入等体积的空白溶剂。将 24 孔嵌套板置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中, 插入细胞电阻仪电极, 平衡数秒后读取电阻值, 即为初始电阻 (R_0), 并于给药后的 1、2、3、4、5、10、15、20、40、60 min 时读取电阻值, 即为 R_t , 以初始电阻与 t 时电阻比值 (R_0/R_t) 对时间 t 作图, 并对曲线中直线部分进行线性回归, 所得直线斜率 K 即为衡量不同挥发油的促渗能力的参数, 按公式计算促渗倍数 (ER) 值: $\text{ER} = K_{\text{挥发油}}/K_{\text{空白}}$ 。结果如表 1 所示。

表 1 皮肤电阻动力学结果 ($n = 3$)

Table 1 Results of skin resistive kinetics ($n = 3$)

PE	K	ER
干姜挥发油	$0.180 \pm 0.060^*$	15.36
生姜挥发油	0.137 ± 0.082	11.73
氮酮	$0.070 \pm 0.015^{**}$	6.02
空白	0.012 ± 0.003	1.00

与空白组比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs blank group

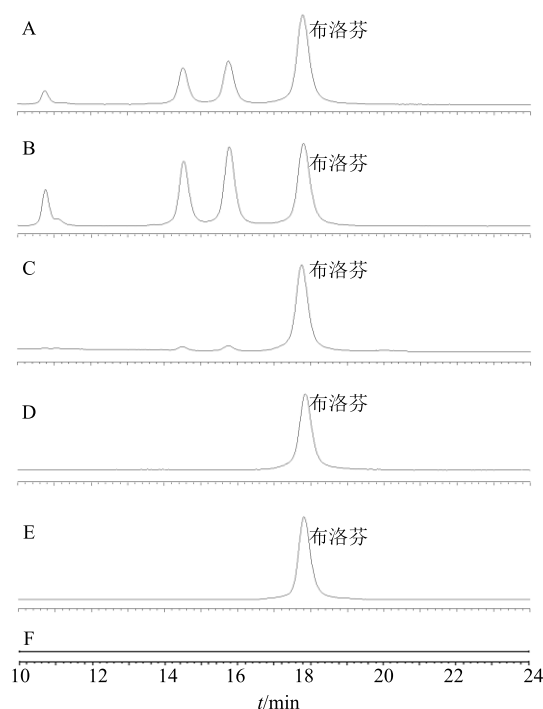
2.5 体外促渗布洛芬的研究

2.5.1 色谱条件 Agilent Eclipse Plus C_{18} 色谱柱 ($250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相 乙腈-水 (磷酸调 pH 值为 2.6, 51:49); 体积流量 1 mL/min ; 检测波长 220 nm , 柱温 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样体积 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.5.2 线性关系考察 精密称取布洛芬对照品 10 mg , 用 35% 乙醇生理盐水溶液溶解并定容至 20 mL 量瓶中, 作为储备液。精密吸取该储备液适量, 加 35% 乙醇生理盐水溶液稀释, 配成质量浓度为 5.14、10.28、20.56、30.48、51.40、82.24、102.80 mg/L

的系列对照品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件测定。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得标准曲线方程为 $Y = 24\,847X - 767.42$, $r^2 = 0.9998$, 结果表明布洛芬质量浓度在 $5.14 \sim 102.80\text{ mg/L}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.5.3 专属性考察 制备适当质量浓度的布洛芬对照品溶液、透皮接收液及空白接收液, 按“2.5.1”项下色谱条件分别进样分析, 考察色谱方法系统适用性, 见图 1。在该条件下, 空白接收液不影响布洛芬出峰, 供试品溶液中布洛芬出峰位置与对照品一致, 表明该方法专属性良好, 布洛芬的保留时间为 17.8 min 。



A-干姜挥发油组 B-生姜挥发油组 C-氮酮组 D-空白溶剂组
E-对照品 F-空白接收液
A-dried ginger essential oil group B-fresh ginger essential oil group
C-azone group D-solvent group E-reference substance F-blank receiver

图 1 布洛芬透皮接收液的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of receiving solution of ibuprofen

2.5.4 精密度试验 制备低、中、高质量浓度 (25.7、51.4、77.1 mg/L) 的布洛芬对照品溶液, 按“2.5.1”项下色谱条件测定, 利用质量浓度计算 RSD, 3 d 重复操作考察方法的日间精密度, 同一天平行操作 6 次考察方法的日内精密度。结果日间精密度的 RSD 分别为 4.51%、3.73%、2.64%, 日内精密度的 RSD 分别为 1.61%、1.17%、1.03%, 表明仪器精密

度较好。

2.5.5 回收率试验 取已知质量浓度 (49.66 mg/L) 的布洛芬空白透皮接收液 1.0 mL, 平行 9 份, 等分成 3 组, 分别加入不同质量浓度 (25.7、51.4、77.1 mg/L) 的布洛芬对照品溶液 1.0 mL, 按“2.5.1”项下色谱条件测定, 回收率分别为 101.99%、101.97%、102.91%, RSD 分别为 1.08%、1.15%、0.93%。

2.5.6 体外透皮吸收实验 采用改良的 Franz 扩散池进行皮肤渗透试验。角质层朝向供给池, 有效扩散面积为 3.14 cm²。以预先脱气的 35%乙醇生理盐水溶液为接收液加入到接收池中。供给池加入含 3% 挥发油 (30 mg/mL) 的布洛芬溶液 1 mL, 溶剂为丙二醇-异丙醇 (3:7)。分为 4 组, 空白溶剂组、干姜油组、生姜油组和氮酮组, 每组平行 3 份, 37 °C 下透皮 36 h, 接收池中转子转速设定 300 r/min。以经典化学促渗剂 3%氮酮作为阳性组, 以空白溶剂作为阴性组^[8]。分别在 6、8、10、12、14、24、30、36 h 时吸取接收液 0.3 mL, 并立即补充等体积等温的新鲜空白接收液。取出样品适当稀释后, 于 12 000 r/min 离心 10 min, 上清液按“2.5.1”项下色谱条件测定, 计算各时间点下单位面积累积透过量 (Q)。

$$Q_n = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 0.3) / A$$

C_n 为第 n 个取样点所测的药物质量浓度, C_i 为第 i 个取样点所测的药物质量浓度, A 为扩散池的有效透皮扩散面积, V 为扩散池的容积

以 Q 对 t 绘制不同挥发油布洛芬溶液给药后的经皮渗透曲线, 结果如图 2 所示。结果干姜挥发油组、生姜挥发油组、氮酮组、阴性组的透皮速率常数 (J_{ss}) 分别为 (58.37 ± 9.13)、(39.50 ± 7.17)、(21.70 ± 3.94)、(17.76 ± 9.63) μg/(cm²·h), 说明干姜挥发油组与生姜挥发油组显著优于氮酮组 ($P < 0.05$) 和空白溶剂组 ($P < 0.05$), 干姜挥发油组略优于生姜挥发油组 ($P < 0.05$)。

皮肤电阻动力学实验和体外布洛芬透皮实验表明干姜挥发油与生姜挥发油的促渗效果显著优于氮酮, 且热性的干姜挥发油促渗效果优于温性的生姜挥发油, 初步验证“热者易效”的合理性。

2.6 促渗机制的研究 (ATR-FTIR 法)

将大鼠皮肤切成 1 cm × 2 cm 的小片, 置于 3% 干姜挥发油、3%生姜挥发油或 3%氮酮溶液中, 溶剂为丙二醇-异丙醇 (3:7)。以溶剂处理的为溶剂组, 未经处理的作为空白组。37 °C 水浴下放置 24 h,

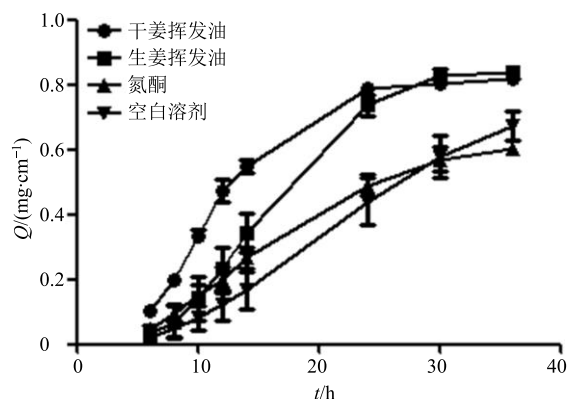


图 2 干姜挥发油与生姜挥发油对布洛芬的透皮促渗作用 ($n = 3$)

Fig. 2 Transdermal penetration effect of dried and fresh ginger oil on ibuprofen ($n = 3$)

然后用蒸馏水洗涤处理过的皮肤样品并用滤纸擦干。使用 ATR-FTIR 光谱仪获得皮肤样品的红外光谱。红外检测条件: 分辨率 2 cm⁻¹, 平均扫描 64 次, 扫描范围 650~4 000 cm⁻¹。

ATR-FTIR 可以用来研究角质层脂质的空间结构^[12-13], 其峰位与峰面积能够反映挥发油对角质层脂质的排列和萃取的影响^[14]。大鼠皮肤角质层红外吸收光谱峰中, 2 917 cm⁻¹ 为脂质 C-H 不对称振动吸收峰 (ν_{as}), 2 849 cm⁻¹ 为脂质 C-H 对称振动吸收峰 (ν_s), 当峰面积减小时, 表明脂质在角质层中因溶剂抽提等作用引起含量下降^[15]。由图 3 可知常用促渗剂氮酮与干姜挥发油脂质峰的峰面积比其他 3 组要小, 推测干姜挥发油与氮酮能够增强对角质层中脂质的萃取作用, 从而更好地发挥促渗作用。

2.7 细胞毒性实验 (MTT 实验)

人永生化上皮细胞 (HacaT 细胞) 来源于人类皮肤角质形成细胞的细胞系, 占表皮细胞的 80% 以

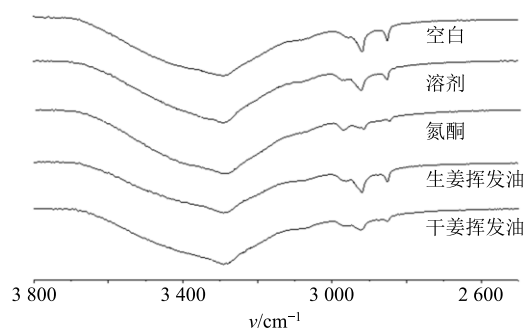


图 3 3% (30 mg·mL⁻¹) 挥发油处理大鼠皮肤的 ATR-FTIR 吸收光谱

Fig. 3 ATR-FTIR absorption spectra of rat skin treated with 3% (30 mg·mL⁻¹) EOs

上,是评价皮肤刺激性的经典细胞模型^[16],用于皮肤屏障功能的评价,同时已成为研究外用透皮用药经皮渗透能力的一种重要细胞模型^[17],通过对 HacaT 细胞的毒性试验能很好地反映出挥发油对人体皮肤刺激性大小差异^[18]。

HacaT 细胞以 DMEM 完全培养基(含 10% 胎牛血清及 100 U/mL 青霉素-链霉素溶液)于 37 °C 培养于浓度为 5% CO₂ 培养箱中。收集对数期细胞,以每孔 7 000 个的细胞密度接种于 96 孔板,每孔含有 100 μL 完全培养基,并设 5 个复孔,在 5% CO₂ 及 37 °C 条件下培养 12 h。移去培养基,每孔加入 100 μL 不同质量浓度的挥发油或氮酮溶液,溶剂为含 1% DMSO 的 DMEM 高糖培养基。设置空白对照组(PBS)、对照组(含 1% DMSO 的 DMEM 高糖培养基)。在 5% CO₂、37 °C 条件下继续培养 24 h。移去培养基,每孔加入 100 μL DMEM 高糖培养基和 20 μL MTT 溶液(用 PBS 配制成 5 mg/mL),在 5% CO₂ 及 37 °C 条件下继续培养 4 h。移去培养基,每孔加入 DMSO 溶液 150 μL,振荡溶解 10 min,用酶标仪于 570 nm 处检测各孔的吸光度(A)。各孔细胞的存活率按照公式计算。

$$\text{存活率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

挥发油和氮酮对细胞的毒性以半数抑制率(IC₅₀)作为评价指标。IC₅₀ 采用 GraphPad Prism 5 计算。实验结果如图 4 所示,氮酮的 IC₅₀ 为 9.53 μg/mL,干姜为 38.00 μg/mL,生姜为 48.12 μg/mL。比较生姜挥发油与干姜挥发油的细胞毒性,发现均小于氮酮,生姜挥发油的 IC₅₀ 值为氮酮的 5.04 倍,而干姜挥发油的 IC₅₀ 值为氮酮的 3.98 倍,二者的安全性均显著优于化学促渗剂氮酮,干姜挥发油的细胞毒性略大于生姜挥发油。

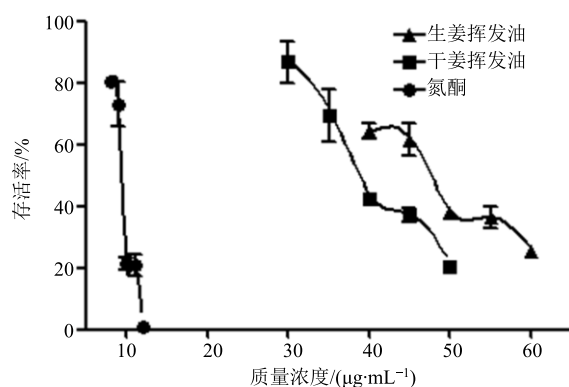


图 4 细胞毒性实验结果

Fig. 4 Results of cytotoxicity test

2.8 生姜与干姜挥发油炮制前后 GC-MS 成分分析

2.8.1 GC-MS 色谱条件 HP-5 MS 色谱柱(5%苯甲基聚硅氧烷石英毛细管柱, 30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 载气为氦气, 体积流量 1 mL/min, 离子源为 EI 源, 电离能量 70 eV, 离子源温度 230 °C; 进样口温度 250 °C, 进样体积 1 μL, 分流比为 20:1, 程序升温, 45 °C 保持 2 min, 5 °C/min 到 120 °C, 15 °C/min 到 180 °C 保持 10 min, 20 °C/min 到 250 °C 保持 5 min^[3]。采取分流进样方式进行分析, 采用归一化法获得各成分的比例。

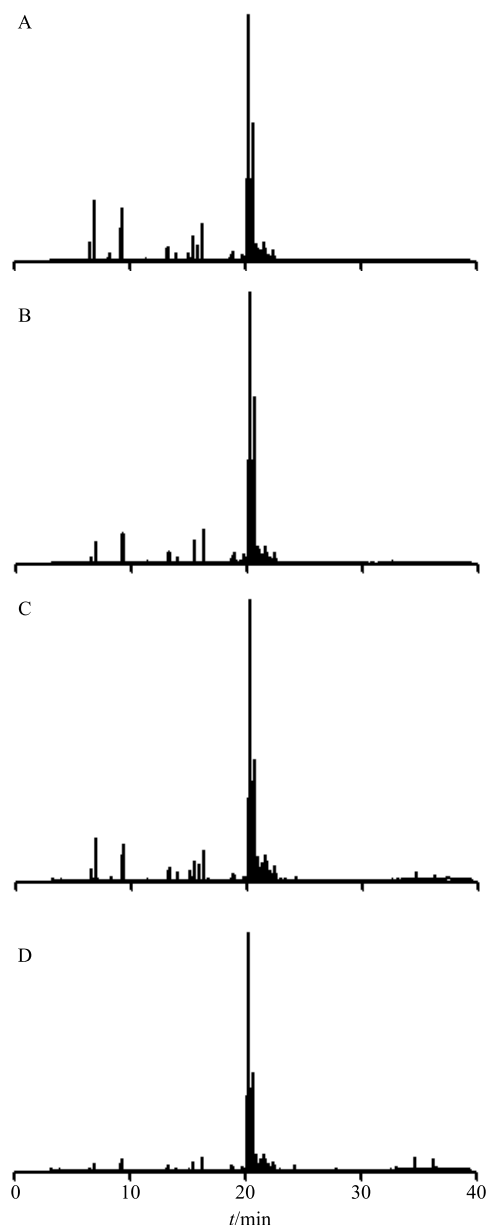
2.8.2 挥发油成分分析 称取各挥发油 0.10 g, 精密称定, 加醋酸乙酯稀释 100 倍, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液按上述色谱条件进行 GC-MS 分析($n=3$)。

GC-MS 成分分析结果见图 5。生姜挥发油共测得 71 种成分, 炮制后的干姜挥发油共测得 78 种成分。生姜挥发油中单萜类成分 24 种, 占(32.750±2.553)%, 其中含氧单萜 13 种, 占(17.780±1.011)%。干姜挥发油中单萜类成分 20 种, 占(18.320±2.268)%, 其中含氧单萜 9 种, 占(11.657±1.660)%, 即炮制后单萜类成分的含量显著下降。而生姜挥发油中测得倍半萜类成分 27 种, 占(63.450±2.764)%, 干姜挥发油中测得倍半萜类成分 33 种, 占(78.753±3.396)%, 可见炮制后倍半萜类成分的含量明显上升。

2.9 挥发油透皮后皮内 GC-MS 成分分析

大鼠皮用时提前取出解冻, 固定于 Franz 扩散池上, 角质层向上。接收液为生理盐水, 37 °C 超声脱气 30 min 后加入到含转子的接收池。平衡 1 h 后, 供给池分别加入 2 种含 5% 挥发油的供给液 1 mL(溶剂为 70% 异丙醇-PBS), 池口用 PE 膜密封, 扩散池容积 8 mL, 扩散面积 3.14 cm², 水浴温度 37 °C, 转速 500 r/min^[19-20]。6 h 后取出大鼠皮, 冲洗数次后剪碎, 加醋酸乙酯 1 mL 萃取, 无水硫酸钠脱水, 12 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 按“2.8”项下的方法进行成分分析。

GC-MS 成分分析结果见图 5。单萜类成分主要集中在前 6~18 min 出峰, 倍半萜类成分主要集中在 18~23 min 出峰。计算其中单萜与倍半萜类成分的相对含量, 生姜挥发油组倍半萜类成分的相对含量在 70% 左右, 而干姜挥发油组倍半萜类成分的相对含量在 85% 左右, 即干姜挥发油组皮内倍半萜类成分的相对含量高于生姜挥发油组。



A-生姜挥发油成分 B-干姜挥发油成分 C-生姜挥发油透皮后皮内成分 D-干姜挥发油透皮后皮内成分

A-component of fresh ginger essential oil B-component of the volatile oil of dried ginger essential oil C-intradermal component of fresh ginger essential oil after transdermal treatment D-intradermal component of dried ginger essential oil after transdermal treatment

图 5 干姜挥发油与生姜挥发油透皮前后的 GC-MS 总离子流图

Fig. 5 GC-MS total ion chromatogram of dried ginger oil and fresh ginger oil before and after skin penetration

3 讨论

皮肤电阻动力学和体外布洛芬透皮实验的结果显示干姜挥发油的促渗效果比生姜挥发油好，且二者都明显优于常用促渗剂氮酮。ATR-FTIR 实验可

以说明干姜挥发油比生姜挥发油更能增强角质层中脂质的萃取。根据 GC-MS 分析可知炮制后干姜挥发油中的倍半萜类成分含量显著高于生姜挥发油，可能与单萜类成分相对分子质量小，易挥发，较易溶于水有关。生姜炮制成干姜后失水，且烘干过程中温度较高，造成了炮制后干姜挥发油中的倍半萜类成分含量显著高于生姜挥发油，而单萜类成分有所下降。而透皮后皮内倍半萜类成分含量上升，猜测倍半萜类成分可能主要滞留在了角质层中。考虑以上因素，总的来说干姜挥发油比生姜挥发油更适合作为透皮吸收剂促进药物经皮吸收，其原因可能与干姜挥发油中倍半萜类成分含量更多，而倍半萜类成分能够更好地滞留在角质层中，干扰脂质的萃取，打开角质层脂质中的通道，这也解释了“热者易效”的合理性。

而比较生姜挥发油、干姜挥发油和氮酮的细胞毒性，生姜挥发油的细胞毒性略小于干姜挥发油，且均小于氮酮，证明了中药挥发油作为促渗剂更加安全。其原因可能是由于虽然生姜炮制成干姜后，挥发油中倍半萜类成分含量上升，细胞毒性较大，但由于倍半萜类成分主要滞留在了皮肤角质层中，故在体皮肤刺激性可能无显著差异，但该观点需要进一步的研究证明，从安全性上支持“热者易效”的观点。

常用的辛味中药挥发油有 135 种，但是热性的辛味中药挥发油只有 7 种，本实验初步验证了热性挥发油具有“热者易效”的优点，说明药性为辛热的中药挥发油可能是一类良好的透皮吸收促进剂来源，其中倍半萜类成分可能是其促渗作用的主要来源，但仍须进一步的验证。之后可以聚焦热性中药挥发油在透皮吸收促进领域中的应用，开发出新的更好的透皮吸收促进剂。

参考文献

- [1] 张建林, 陶 玲, 管咏梅, 等. 中药挥发油的促透皮吸收作用及在外用制剂研究中的问题分析 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5263-5269.
- [2] 申玉坤, 申玉璞, 潘一峰, 等. 氧化石墨烯对多烯紫杉醇的高效装载和缓释性能及其经皮给药的渗透性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2830-2834.
- [3] 蒋秋冬, 杨文国, 蔡 皓, 等. 透皮促渗中药挥发油的化学成分与中药药性关联性研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13): 2500-2505.
- [4] 陆姗姗, 赵玉荣, 姚俊宏, 等. 中药挥发油透皮吸收促进剂制剂技术的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(10):

- 2477-2481.
- [5] 李 扬, 王 阳, 刘科攀. 中药挥发油作为透皮吸收促进剂的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(6): 474-477.
- [6] 杨文国, 朱学敏, 吴凤烨, 等. 基于逐步判别法分析辛味中药挥发油“四气”药性、透皮促渗能力和化学成分的相关因素 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4219-4224.
- [7] 阮文懿, 覃梦瑶, 万 涛, 等. 细辛挥发油促进芥子碱经皮渗透及其促透机制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2197-2201.
- [8] 姚俊宏, 蒋秋冬, 陈 军, 等. 21 种辛味中药挥发油透皮促渗效果的药性规律分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 1-7.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [10] 任 略, 陈建亚, 姚俊宏. 等. 基于皮肤电阻动力学技术快速比较 6 种温里药挥发油的透皮促进效果 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(5): 474-479.
- [11] 吕 沐, 钟凌云. 正交试验优选干姜的制备工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(15): 23-25.
- [12] Laugel C, Yagoubi N, Baillet A. ATR-FTIR spectroscopy: A chemometric approach for studying the lipid organisation of the stratum corneum [J]. *Chem Phys Lipids*, 2005, 135(1): 55-68.
- [13] 薛漫清, 梁 庆, 黄 钊, 等. 利用 ATR-FTIR 变化探讨薄荷醇对皮肤角质层结构的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2474-2477.
- [14] Jiang Q D, Wu Y M, Zhang H, *et al.* Development of essential oils as skin permeation enhancers: Penetration enhancement effect and mechanism of action [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 1592-1600.
- [15] 兰 颀. 挥发油对中药成分经皮促透规律及其作用机制的初步研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [16] 胡 静, 朱全刚, 张娟娟, 等. 川芎挥发油对 HaCaT 细胞和皮肤的刺激性研究 [J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(5): 573-576.
- [17] 覃梦瑶, 阮文懿, 翟苑好, 等. 三伏贴中芥子碱及细辛挥发油促进 HaCaT 细胞摄取延胡索乙素的作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 400-405.
- [18] Wilhelm K P, Bottjer B, Siegers C P. Quantitative assessment of primary skin irritants *in vitro* in a cytotoxicity model: Comparison with *in vivo* human irritation tests [J]. *Br J Dermatol*, 2001, 145(5): 709-715.
- [19] Eid RK, Essa EA, El Maghraby GM. Essential oils in niosomes for enhanced transdermal delivery of felodipine [J]. *Pharm Dev Technol*, 2019, 24(2): 157-165.
- [20] 李 扬, 王丽峰, 刘科攀, 等. GC-MS 考察羌活、独活及其药对中挥发油透皮成分及透皮效果 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 46-51.