

## 肉桂提取物醇质体透皮吸收研究

叶菲<sup>1</sup>, 许东航<sup>2\*</sup>

1. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学医学院附属第二医院, 浙江 杭州 310009

**摘要:** **目的** 研究肉桂提取物醇质体经皮给药系统中提高药物渗透性的方法。**方法** 以水蒸汽蒸馏法提取肉桂油, 注入法制备不同浓度醇质体, 以 SD 雄性大鼠皮肤作为媒介, Franz 单室扩散池为体外模型, HPLC 测定透过皮肤的肉桂酸含量。**结果** 相比于 20%肉桂醇质体, 30%、40%和 50%肉桂醇质体分别增渗 1.31、1.69 和 2.06 倍。氮酮、丙二醇、氮酮+丙二醇 3 组促渗剂相比于 30%醇质体, 分别促渗 2.31、1.10、3.40 倍。醇质体凝胶渗透速率大于 30%醇质体和凝胶。**结论** 提高醇浓度, 加促渗剂, 制备亲水凝胶的药剂学手段, 能有效促进肉桂提取物的经皮渗透。

**关键词:** 肉桂油; 经皮给药系统; 醇质体

中图分类号: R945

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2013)02-0119-004

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.010

## Percutaneous absorption of *Cinnamon Cortex* extract ethosomes

YE Fei<sup>1</sup>, XU Dong-hang<sup>2</sup>

1. Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China

**Abstract: Objective** To investigate the methods of enhancing the permeability in *Cinnamon Cortex* extract transdermal drug delivery system with ethosomes as a vector. **Methods** Cassia oil was extracted by steam distillation and injected into ethosomes with different concentration. The amount of cinnamic acid passing through the skin of SD male rats released from ethosomes was determined by HPLC under the model of Franz diffusion cells *in vitro*. **Results** Compared to CC<sub>2</sub> ethosome with 20% ethanol, the permeabilities of CC ethosomes with 30%, 40%, and 50% ethanol were increased by 1.31-, 1.69-, and 2.06-fold, respectively. Compared to CC ethosome with 30% ethanol, the permeabilities were increased by 2.31-, 1.10-, and 3.40-fold, with the penetration enhancer of Azone alone, propylene glycol alone or both, respectively. The permeability of CC ethosome gel was higher than that of CC ethosome and cassia oil gels. **Conclusion** The transdermal permeability of CC extract is enhanced by rising the concentration of ethanol, adding penetration enhancer, and preparing hydrogel.

**Key words:** cassia oil; transdermal drug delivery system; ethosomes

肉桂 *Cinnamomi Cortex* 为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮, 性大热, 味甘辛。具有补火助阳、引火归元、散寒止痛、温通经脉的功效<sup>[1]</sup>。肉桂是外用治疗关节炎等常用的一味温中止痛药<sup>[2]</sup>, 我国是其生产大国, 资源丰富。但目前现有的以肉桂为主药的外用制剂, 存在着成分复杂, 主药含量少, 稳定性差, 易挥发等问题, 给质量控制造成一定的困难。为此, 本课题组运用现有的药剂学手段, 将其制备成多种相应的透皮给药系统, 可有效包裹肉桂的有效成分, 从而减少药

物的挥发, 有利于肉桂的有效成分与其他成分稳定地相伍, 并有效促进药物经皮渗透速率。但现有的研究尚无法较好地发挥肉桂的疗效, 为此进一步筛选有效的中药经皮给药系统成了药学研究者共同的目标。

有文献报道, 将磷脂、乙醇和水制备成的醇质体具有脂质双分子层囊泡, 将其应用于经皮给药, 能显著地提高药物渗透速率, 增加皮肤中药物的累积量<sup>[3-4]</sup>。如能在前期研究基础上探讨醇质体的制备的可行性, 可为肉桂制剂提供一种新的剂型, 为广

收稿日期: 2013-02-04

作者简介: 叶菲 (1985—), 女, 药师, 研究方向为经皮给药系统。Tel: (0571)88206049 转 818 E-mail: sophie8587@126.com

\*通信作者 许东航 (1972—), 男, 主任药师, 研究方向为药物的控制与释放。E-mail: xudonghang@zju.edu.cn

大的患者和医生提供一个易于使用、质量可控的、具有较高生物利用度的长效治疗手段。

## 1 仪器和材料

### 1.1 仪器

TK-12B 型 Franz 单室扩散池 ( $S=2.8\text{ cm}^2$ ,  $V=7\text{ mL}$ , 上海谐凯贸易有限公司); LC-10ATyp 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SPD-10Avp 可变波长紫外检测器; N-2000 双通道色谱工作站 (浙江大学智能信息工程研究所); 85-2 型恒温磁力搅拌器 (上海司乐仪器厂); HT-230A 保温箱。

### 1.2 试剂

肉桂提取物 (自制); 肉桂酸 (中国食品药品检定研究院, 批号 110786-200503, 质量分数 99.9%); 磷脂酰胆碱 (北京华清美恒天然产物技术开发有限公司); 1, 2-丙二醇 (如皋市试剂厂); 氮酮 (扬州市化工设计研究所); 二甲基亚砜 (江苏鸿声化工厂); 甲醇为色谱纯; 其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

雄性 SD 大鼠, 体质量约 150 g, 清洁级, 由浙江中医药大学提供, 合格证号: 证字第 22-008215 号。

## 2 方法与结果

### 2.1 肉桂挥发油的提取

对市售的 1 kg 肉桂进行粉碎, 采用《中国药典》2010 年版附录中挥发油测定法乙法装置<sup>[1]</sup>提取肉桂油。经萃取, 减压蒸馏, 得淡黄色具浓烈香气的肉桂油约 25 mL。

### 2.2 透皮给药方法

**2.2.1 制备离体皮肤** 取体质量约 150 g 的雄性 SD 大鼠, 脱颈椎处死, 剪去腹部皮肤毛, 剪取皮肤, 剥离皮下脂肪组织, 冰箱  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

**2.2.2 制备空白接受液** 采用改良的 Franz 单室扩散池, 以蒸馏水作为供应室介质, 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 为接受室溶液, 皮肤夹于两室之间, 真皮面向接受室, 控制水温为  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 搅拌速度为 150 r/min。间隔 1 h 取出全部接受液, 并补充等量的接受液。收集接受液备用, 作为空白接受液。

**2.2.3 HPLC 测定条件**<sup>[5]</sup> 色谱柱为 Dikma  $C_{18}$  ( $4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$ ), 流动相为甲醇-水 (70:30), 加磷酸调节 pH 为 3.8, 检测波长 272 nm; 体积流量 1.0 mL/min, 柱温  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

**2.2.4 标准曲线的建立** 精密称取肉桂酸对照品适量, 加无水乙醇定容, 得质量浓度为 1 mg/mL 的对

照品溶液。加入“2.2.2”项下制备的空白接受液, 稀释得到质量浓度为 0.1、0.4、1、4、10、20、40、80、100、160、200、400  $\mu\text{g/mL}$  的系列对照品溶液。取 20  $\mu\text{L}$  进样, 测定其峰面积, 以峰面积对质量浓度进行线性回归, 得回归方程为  $Y=97\ 712X+4\ 537.4$ ,  $R^2=0.999\ 8$ 。结果表明肉桂酸在 0.1~400  $\mu\text{g/mL}$  与峰面积线性关系良好。

**2.2.5 经皮给药方法** 将大鼠腹部皮肤固定在改良的 Franz 单室扩散池上, 控制水浴温度为  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 搅拌速度为 150 r/min, 以磷酸缓冲液 (pH 7.4) 为接受介质, 在供应室上加入适量制备的样品, 用薄膜密封, 每隔 1 h 取样测定, 加入等量的缓冲液, 直到稳态。根据标准曲线、接受室体积和有效扩散面积, 求得稳态渗透速率。以 SPSS19.0 软件对数据进行统计学分析。

$$Q = \frac{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V'}{S} \quad (Q_i = VC_i, n, i=1, 2, 3, \dots)$$

$Q$  为达稳态后不同时间的单位面积皮肤累积渗透量,  $C_n$  为第  $n$  个取样点测得的药物浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ),  $C_i$  为第  $i$  个取样点测得的药物浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ),  $V$  为单室扩散池体积,  $V'$  为每次取样体积,  $S$  为渗透面积 ( $\text{cm}^2$ )。

$$\text{稳态渗透速率} = dQ/dt$$

**2.2.6 皮肤中药物浓度测定**<sup>[6-7]</sup> 达到稳态时, 取出皮肤, 先在缓冲液中漂洗, 再剪碎皮肤, 加入 8 mL 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 提取, 测定其中的药物量。

### 2.3 醇质体的制备

<sup>[8]</sup>

精密称取肉桂油和磷脂酰胆碱适量, 分别以 2、3、4、5 mL 乙醇溶解, 在  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴搅拌下缓慢细流注入 8、7、6、5 mL 蒸馏水, 制得 20%、30%、40%、50% 肉桂醇质体。所得醇质体分别过孔径为 0.8、0.45、0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜, 冷藏备用。

### 2.4 醇质体与化学促渗剂的协同作用

分别选用丙二醇、氮酮、十二烷基硫酸钠、二甲基亚砜、氮酮-二甲基亚砜 (1:1)、肉蔻酸异丙酯作为促渗剂制备醇质体并进行透皮速率的测定。

## 3 结果

### 3.1 不同醇含量对肉桂透皮速率的影响

随着醇含量的增加, 平均稳态渗透速率增加。相比于 20% 肉桂醇质体, 30%、40%、50% 肉桂醇质体分别增渗 1.31、1.69、2.06 倍。因此醇的含量对肉桂醇质体渗透速率有较大的影响。结果见表 1。

### 3.2 促渗剂对肉桂醇质体的渗透速率的影响

分别考察了氮酮、丙二醇、氮酮-丙二醇(1:1)、肉蔻酸异丙酯等促渗剂对肉桂醇质体的渗透速率的影响。结果见表2,相比于30%醇质体,氮酮、丙二醇、氮酮-丙二醇(1:1)、肉蔻酸异丙酯分别促进2.31、1.10、3.40、0.59倍。氮酮-丙二醇(1:1)对肉桂醇质体的有较好的促渗效果。但肉蔻酸异丙酯却抑制了肉桂醇质体渗透作用,其机制有待进一步研究。

表1 乙醇含量对肉桂醇质体渗透速率的影响 (n=3)

Table 1 Effect of ethanol concentration on permeation rate of Cinnamon Cortex ethosomes (n=3)

样品	平均稳态渗透速率/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	增渗倍数
饱和水溶液	1.31±0.20	—
20%醇质体	1.17±0.16	—
30%醇质体	1.53±0.31*	1.31
40%醇质体	1.98±0.32*	1.69
50%醇质体	2.41±0.21*	2.06

与20%醇质体组相比: \* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs ethosomes with 20% ethanol group

表2 促渗剂对肉桂醇质体渗透速率的影响 (n=3)

Table 2 Effect of penetration enhancer on permeation rate of Cinnamon Cortex ethosomes (n=3)

样品	平均稳态渗透速率/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	增渗倍数
30%醇质体	1.53±0.31	—
30%醇质体+氮酮	3.53±0.50*	2.31
30%醇质体+丙二醇	1.68±0.18*	1.10
30%醇质体+氮酮+丙二醇	5.21±0.42*	3.40
30%醇质体+肉蔻酸异丙酯	0.91±0.22*	0.59

与30%醇质体组比较: \* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs ethosomes with 30% ethanol group

### 3.3 肉桂醇质体凝胶的研制

为了更好地开发肉桂经皮给药制剂,本课题组试图研制其凝胶制剂。将醇质体和羟丙甲纤维素(HPMC)凝胶制剂1:1机械混和,其渗透速率见表3。醇质体凝胶渗透速率大于30%醇质体和凝胶,有协同作用。

## 4 讨论

经皮给药由于其独特优点,一直是药剂学中研究的热点。脂质体用于皮肤给药已有30多年的历史,一般认为普通脂质体应用后,不能增加药物的

表3 不同肉桂制剂渗透速率的比较 (n=3)

Table 3 Comparison on permeation rate of different Cinnamon Cortex preparations (n=3)

样品	平均稳态渗透速率/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	增渗倍数
饱和水溶液	1.31±0.20	—
30%醇质体	1.53±0.31*	1.17
HPMC凝胶	1.44±0.19*	1.10
醇质体凝胶	3.57±0.39*	2.73

与饱和水溶液组比较: \* $P<0.05$

\* $P<0.05$  vs saturated aqueous solution group

透皮速率,仅能增加药物在皮肤内的滞留<sup>[9]</sup>,目前多用于化妆品。而醇质体作为一种新型的具有囊泡结构的经皮渗透载体,含有高浓度的乙醇,乙醇本身就是一种良好的透皮吸收促进剂。乙醇一方面改变了角质层脂质分子的紧密排列,增强了脂质流动性;另一方面增强了含醇脂质体膜的柔性和流动性,使含醇脂质体药物包封率更高,在传递过程中可发生变形,克服皮肤的屏障作用,透过紊乱的角质层,增强了渗透能力<sup>[10]</sup>。

本课题组曾将现有的肉桂提取物经皮给药系统,制备成与 $\beta$ 环糊精形成包合物<sup>[11]</sup>或非离子表面活性剂囊泡<sup>[12]</sup>,进行经皮给药研究,发现其均大幅提高药物经皮渗透速率,且包封率高,稳定性好<sup>[11-12]</sup>。但是,这两种制剂制备相对复杂,对仪器及操作人员要求高。而本实验所制备的肉桂提取物醇质体经皮给药系统,制备相对简单,且所需原料成本比上述两种经皮给药系统更低。对于中药制剂现代化生产来说,本实验处方更具操作性。

本实验探讨了醇含量对肉桂醇质体渗透速率的影响,发现随着醇含量的增加,渗透速率增加。与饱和水溶液相比,20%的醇质体的渗透速率更低。这可能是由于肉桂本身具有挥发性,体外有一定的渗透效果,因此醇质体促渗效果也有其限制性。同时,磷脂易溶解于乙醇,因此乙醇量不能过高,否则影响醇质体的形成以及稳定性<sup>[13]</sup>。结合文献资料<sup>[13]</sup>及制备所得醇质体的稳定性,最后选定30%的醇浓度作为研究对象,考察了30%醇质体与促渗剂的协同作用,并制备了醇质体凝胶。凝胶制剂亲水性高,在药物经皮渗透方面与醇质体有协同作用,加速渗透。本实验对此进行了初步考察,其机制的探讨、制剂的制备等有待进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 梅全喜, 毕焕新. 现代中药药理手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998.
- [3] Godin B, Touitou E. Ethosomes: new prospects in transdermal delivery [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2003, 20(1): 63-102.
- [4] 冯璇, 许东航, 徐翔, 等. 纳洛酮醇质体的经皮渗透研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2008, 25(1): 65-67.
- [5] 许东航, 徐翔, 万伟峰, 等. 肉桂提取物  $\beta$ -环糊精包合物经皮渗透性的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 96-97.
- [6] 郝美荣, 李长龄. 高效液相色谱法测定狗皮巴布膏中肉桂的体外透皮吸收 [J]. 中草药, 1998, 29(1): 23-25.
- [7] 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): 443-445.
- [8] 陆彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [9] Schaller M, Korting H C. Interaction of liposomes with human skin: the role of the stratum corneum [J]. *Adv Drug Del Rev*, 1996, 18: 303-304.
- [10] Touitou E, Dayan N, Bergelson L, et al. Ethosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties [J]. *J Control Release*, 2000, 65: 403-405.
- [11] 李广武, 蒋鸿雁, 许东航, 等. 肉桂挥发油  $\beta$ -环糊精包合物制备工艺优选 [J]. 中国药房, 2007, 18(21): 1623-1625.
- [12] 杜立峰, 许东航, 胡宗权, 等. 肉桂油非离子表面活性剂囊泡经皮给药系统的研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(16): 1348-1351.
- [13] 刘晓昱, 饶跃峰, 梁文权. 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): 284-286.

## 美国食品药品监督管理局发出阿奇霉素临床用药心血管事件风险警告

2012年5月17日,《新英格兰医学杂志》发表了题目为“阿奇霉素和心血管死亡风险”的文章。研究者回顾比较分析了1992—2006年使用阿奇霉素、阿莫西林、环丙沙星、左氧氟沙星和未使用抗菌药物患者的心血管死亡事件,特别是心源性猝死。其处方量分别为347 795件,1 348 672件、264 626件、193 906件和1 391 180件。结果发现,使用5 d疗程阿奇霉素相关的心血管死亡事件发生率较使用阿莫西林、环丙沙星或未使用抗菌药物升高,与使用左氧氟沙星相似。而对于有心血管疾病危险性的患者,死亡事件的增加相对更高。从绝对值推算,每100万治疗者中心血管死亡增加47件,有心血管疾病危险者的心血管死亡增加245件。

美国食品药品监督管理局(FDA)结合文献及药品生产者的关于阿奇霉素导致心脏电生理变化相关研究,于2013年3月12日在其网站药品分栏的“Drug Safety and Availability”中向公众发出阿奇霉素临床用药心血管事件风险警告。对于以下高风险人群应在权衡利弊后方可使用:(1)先天或已知有QT间期延长的患者,有尖端扭转型室性心动过速(TdP)病史患者,心动过缓或非代偿性心功能不全患者。(2)处于可能诱发心律失常状态下的患者,如未纠正低钾血症和低镁血症,有临床意义心动过缓,以及接受IA型(奎尼丁、普鲁卡因胺)和III型(多非利特、胺碘达隆、索他洛尔)抗心律失常药物。(3)老年患者可能对药物相关的QT间期影响更为敏感。对于正在使用抗精神病、抗抑郁和氟喹诺酮类等已知的可引起QT间期延长药物治疗的患者也同样应在评估后方可用药。

(本刊讯)