

如意金黄巴布剂中小檗碱经皮渗透研究

上海市中药研究所(200127)

王建新*

成都中医药大学药学院

李令媛 郭 力

摘 要 采用改良 Franz 扩散池法和人体剩余量法,研究如意金黄巴布剂中小檗碱的经皮渗透特性,HPLC 法检测透过的小檗碱。结果表明:小檗碱可以透过皮肤而被吸收,其经皮渗透过程符合 Higuchi 方程,而且两种透皮试验方法具有良好的相关性。提示如意金黄巴布剂经皮渗透效果良好,适于经皮给药。体外透皮试验在一定程度上可以反映药物透皮吸收的真实情况。

关键词 如意金黄巴布剂 经皮渗透 小檗碱 改良 Franz 扩散池法 人体剩余量法

Studies on Percutaneous Absorption of Berberine from Ruyijinhuang Adhesive Tape

Wang Jianxin, Li lingyuan and Guoli (Shanghai Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai 200127)

Abstract Percutaneous absorption of berberine from Ruyijinhuang adhesive tape was studied by improved Franz diffusing cells and residual dosage methods. The permeated berberine was determined by HPLC. The results showed that berberine in Ruyijinhuang adhesive tape could penetrate through skin and be absorbed. The process of Penetration could be described by Higuchi equation. The two percutaneous test methods showed a significant correlation suggesting that Ruyijinhuang adhesive tape is suitable for administration through skin.

Key words Ruyijinhuang adhesive tape percutaneous absorption berberine improved Franz diffusing cells method residual dosage method

如意金黄巴布剂是对古方如意金黄散进行剂改而成的外用中药新制剂,由姜黄、黄柏、大黄等药物组成,具有消肿止痛、清热解毒之功效,对疮疡肿痛、跌打损伤等症具有显著而确切的疗效。我们将药材中有效成分进行提取纯化后,制成以氮酮和丙二醇为透皮促进剂的巴布剂,有药物容量高,透皮性、贴敷性、保湿性好等优点,临床疗效显著。为研究其透皮吸收情况,采用体外扩散池法和人体剩余量法,对其主药黄柏中有效成分小檗碱的经皮渗透进行了研究,并探讨两种试验方法的相关性。

1 材料

1.1 药品:如意金黄巴布剂样品(自制);盐

酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所);所用试剂均为分析纯。

1.2 动物:家兔(华西医科大学实验动物中心)。

1.3 仪器:Gilson 高效液相色谱仪(法国);改良 Franz 扩散池(华西医科大学仪器修造厂);CS501 型超级恒温器(重庆试验设备厂);78-1 型磁力搅拌器(杭州仪表电器厂)。

2 盐酸小檗碱的 HPLC 测定方法

2.1 标准曲线制备:精密称取干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 7.1 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,再精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。分别精密吸取上述

* Address: Wang Jianxin, Shanghai Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai

王建新 男,1993 年毕业于河南中医学院中药系,1996 年于成都中医药大学获药剂学硕士学位,1999 年于华西医科大学获药剂学博士学位。先后从事过中药新剂型、药物动力学和靶向给药制剂的研究。已公开发表论文 11 篇。现就职于上海市中药研究所,主要从事中药新剂型、新剂型的研究。

对照品溶液 2,4,6,8,10,12 μL 注入高效液相色谱仪中测定,以盐酸小檗碱峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行回归,得回归方程为 $Y=1188816.14X+5789.87, r=0.9999$ 。表明在进样量 0.03~0.17 μg 范围内,盐酸小檗碱峰面积与进样量线性关系良好。

2.2 色谱条件:色谱柱:Synchrom Si 柱, Si 预柱,检测波长:346 nm,流动相:甲醇-乙酸乙酯-甲酸(70:25:5),流速:1.0 mL/min。以盐酸小檗碱为对照品,进样后测定峰面积,外标法定量。本法的加样回收率为 98.99% ($RSD=1.17\%$)。

3 改良 Franz(体外)扩散池法经皮渗透测定

3.1 离体兔皮制备:取健康家兔,用电刮刀脱去腹部毛,24 h 后剥取腹部皮肤,分离皮下脂肪及组织,选用无损伤皮肤,浸泡于生理盐水中,置冰箱-15 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

3.2 经皮渗透实验:将皮肤固定于扩散池的给药室与接受室之间,真皮一侧与接受液接触,排净气泡。取一定面积(4.5 cm^2)的巴布剂样品贴在给药室皮肤上,使之与皮肤密切接触。接受液为约 30 mL pH7.4 的磷酸盐缓冲液,磁力搅拌速度约为 100 r/min 水浴温度为(37 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$ 。于 72 h 内间隔一定时间倾取全部接受液,然后立即补充等体积接受液。取出的接受液置于干燥蒸发皿中,水浴蒸干后加甲醇溶解定容于 1 mL 量瓶中,取 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定,并计算其累积透过量,结果见表 1。以时间 t 为横坐标,各时刻小檗碱平均累积透过量 Q 为纵坐标,绘制其经皮渗透曲线,见图 1。

表 1 体外扩散池法测定如意金黄巴布剂中小檗碱的经皮渗透试验($n=5$)

	4 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h
累积透过量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	0.1154	0.2079	0.3680	0.4539	0.5641	0.6200	0.7654
RSD(%)	0.0386	0.0478	0.0472	0.0438	0.0543	0.0420	0.0528

4 人体剩余量法经皮渗透测定

4.1 给药:取如意金黄巴布剂 1/4 片,贴于 5 名男性健康受试者背部,每人 8 块。分别于

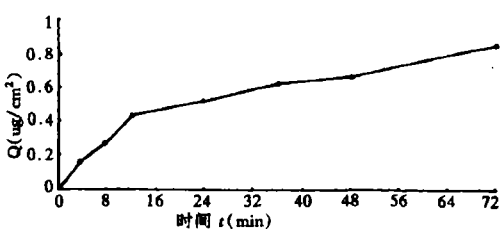


图 1 体外扩散池法测定如意金黄巴布剂中小檗碱的累积透过量-时间曲线($n=5$)

4,8,12,24,36,48,72 和 96 h 各取一块,并将皮肤上残留部分用酒精棉球擦下,待测。

4.2 透过小檗碱的测定与计算:将各时间取下的片材及棉球置具塞锥形瓶中,加甲醇 25 mL,浸渍 12 h,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩后转移并定容于 10 mL 量瓶中,作为供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,计算样品中小檗碱剩余量。另取未使用的同样规格片材同法提取测定,作为小檗碱未经吸收的空白值,以空白值和剩余量计算各时间间隔小檗碱经皮渗透量,结果见表 2。并绘出体内透过量经时变化曲线,见图 2。

表 2 人体剩余量法测定如意金黄巴布剂中小檗碱的经皮渗透试验($n=5$)

	4 h	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	96 h
累积透过量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	3.51	5.85	6.68	7.34	7.89	8.56	9.63	10.62
RSD(%)	1.11	0.94	0.71	0.64	0.66	0.68	0.79	0.94

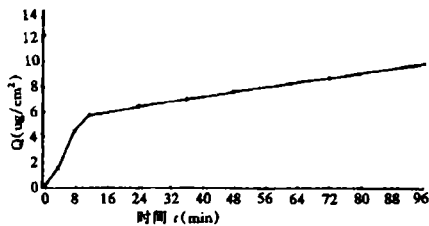


图 2 人体剩余量法测定如意金黄巴布剂中小檗碱的累积透过量-时间曲线($n=5$)

5 两种透皮试验方法结果的相关性

为探讨两种透皮试验方法结果的相关性,对改良 Franz 扩散池法和人体剩余量法测得的小檗碱累积释放百分率的结果进行比较,见表 3。

表3 两种透皮试验方法测定结果比较

<i>t</i> (h)	累积透过百分率(%)		线性回 归方程	相关系数 (<i>r</i>)
	体外扩散池法	人体剩余量法		
4	6.83	7.66	$Y = -20.75 + 3.04X$	0.9708
8	12.31	12.77		
12	21.80	14.58		
24	26.89	16.03		
36	33.42	17.32		
48	36.73	18.69		
72	45.34	21.03		
96		23.32		

由表3可见,两种方法结果 $r = 0.9708$
 $> r_{0.01,5} = 0.874$,说明二者极显著相关。

6 讨论

6.1 巴布剂为外用中药新剂型,是以水溶性
 高分子化合物或亲水性物质为基质,与中药
 提取物制成的中药外用贴膏剂。它可以在很
 大程度上克服目前常用的中药外用剂型的许
 多缺点,同时具有药物容量高,透皮性、贴敷
 性、保湿性好,应用方便舒适等优点,被认为
 是一种具有广阔发展前景的外用新剂型。因
 此,我们将原方剂改为巴布剂,并以其中有效
 成分小檗碱为指标,对其透皮吸收特性进行
 研究。

6.2 由图1,2可以看出,如意金黄巴布剂中
 小檗碱可以经皮渗透,且透过量随时间的延
 长而增加,表明如意金黄巴布剂中有效成分
 可以透过皮肤而发挥作用,适于经皮给药。两
 种试验方法的 $Q-t$ 曲线均为非线性过程,说
 明小檗碱通过皮肤的渗透不是零级过程。分
 别将两种方法的平均累积透过量 Q 对 $t^{1/2}$ 进
 行回归,所得方程分别为 $Q = -0.03729 +$
 $0.09697t^{1/2}$, $r = 0.9863$ 大于 $r_{0.01,5} = 0.874$

和 $Q = 0.2066 + 2.50 \times 10^{-3}t^{1/2}$, $r = 0.9196$
 大于 $r_{0.01,6} = 0.834$,即 Q 与 $t^{1/2}$ 极显著相关,
 说明经皮渗透过程符合 Higuchi 方程。

6.3 目前常用的在体透皮试验方法有血药
 浓度法、放射性同位素示踪法和人体剩余量
 法等^[1],因一般中药制剂成分复杂,且有效成
 分含量较低,用血药浓度法检测其在体内的
 吸收情况难度很大,放射性同位素示踪法研
 究中药制剂只适用于动物和体外试验,一般
 不宜用于人体;因此人体剩余量法虽然存在
 一定误差,但仍有其实用价值。离体透皮实
 验多采用扩散池法,具有简单、易于重复、可
 以控制环境以考察药物透皮吸收的特定影响
 因素等优点,因此有人认为透皮试验的体外数
 据比体内数据更有意义^[2]。由表3可见,体外
 扩散池法和人体剩余量法的试验结果虽然有
 一定的差异,但二者有显著的相关性,说明体
 外试验可以在很大程度上反映药物透皮吸收
 的情况,同时也表明了试验结果的可靠性。

6.4 本文参考有关文献^[3]制定了样品中小
 檗碱的测定方法,选用正相色谱条件,在 346
 nm 波长处进行测定,不仅灵敏度高,而且可
 以使样品中小檗碱型生物碱得到很好的分
 离,保证了试验结果的准确性。

参考文献

- 1 孙考祥,等. 中国药学杂志,1996,31(1):13
- 2 Roberl L B, et al. Toxicol Appl Pharmacol, 1982,62:
474
- 3 沙世炎主编. 中草药有效成分分析法(下册). 北京:人
民卫生出版社,1982:299

(1999-01-04 收稿)

《国外医药·植物药分册》2000 年征订启事

《国外医药·植物药分册》杂志是由国家药品监督管理局主管,中草药信息中心站和天津药物研究院主
 办,国内外公开发行的医药科技专业期刊。

本刊以综述、编译、文摘、信息、题录等形式向读者提供植物药有效成分的分离提取、结构鉴定;生产工艺
 和质量控制;生化药理活性与临床研究;组织培养与生物技术工程;各国民间药物的开发与植物药专利;市场
 贸易与各国的药政管理。此外,与植物相关的保健食品、化妆品、兽药、农药、饲料、调料等亦属本刊的报道范
 围。信息来源涉及十几个国家出版发行的一百多种期刊,每年向读者提供约 50 万字新、特、快信息。

本刊为双月刊,全年 6 期;每期定价 9.50 元,全年 70 元(包括包装费与邮资)。自办发行,随时可以订阅。
 联系地址:天津市鞍山西道 308 号。邮编:300193 电话:(022)27423636。

本部现有 1991~1999 年年度会计本,每本 80 元(含邮资),可与本刊发行部直接联系订购。