

## 三九膏体外透皮吸收性质的研究

渠莉, 李宏伟, 张金科\*

天津市公安医院, 天津 300042

**摘要:**目的 研究三九膏的体外透皮吸收规律。方法 通过 Franz 扩散池获得接收液, 采用 HPLC 法测定芥子碱硫氰酸盐, 计算三九膏的体外透皮吸收的累积渗透率, 探究其拟合模型。结果 三九膏中芥子碱硫氰酸盐 12 h 的累积渗透率在 22% 左右, 体外透皮吸收规律符合希古契模型。结论 三九膏中芥子碱硫氰酸盐累积透过量在时间上与临床治疗贴敷时间吻合, 为三九膏临床治疗确定最适宜贴治时间提供了依据。

**关键词:** 三九膏; 白芥子硫氰酸盐; 透皮吸收; 动力学模型

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2016)10-1535-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.10.005

## Percutaneous absorption of Sanjiu Plaster *in vitro*

QU Li, LI Hong-wei, ZHANG Jin-ke

Tianjin Police Hospital, Tianjin 300042, China

**Abstract: Objective** To study the absorption properties of Sanjiu Plaster *in vitro*. **Methods** Franz diffusion pool was used to obtain receptor fluid, and sinapine thiocyanate was determined by HPLC method. Cumulative permeability was calculated to find out its fitting model. **Results** Cumulative permeability of sinapine thiocyanate from Sanjiu Plaster during 12 h was about 22%. The characteristics were accord to Higuchi fitting model *in vitro*. **Conclusion** Cumulative penetration amounts of sinapine thiocyanate in Sanjiu Plaster had the same period of time with sticking time, which can provide the basis for treatment.

**Key word:** Sanjiu Plaster; sinapine thiocyanate; percutaneous absorption; dynamical model

三九膏系天津市公安医院的医院制剂, 多年来以治疗咳喘有良好疗效而备受患者青睐。全方以白芥子、元胡、沉香、细辛、甘遂等中药组成, 且以其君药白芥子中含有的芥子碱硫氰酸盐为主要有效成分治疗咳喘等呼吸道疾病, 作用强烈<sup>[1]</sup>。本实验以大鼠皮肤模拟人的皮肤研究三九膏的体外透皮吸收性质和规律, 为三九膏在体透皮吸收规律研究提供参考。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

改良 Franz 扩散池、7k-208 型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司), KH3200B 超声清洗仪(昆山禾创超声仪器有限公司), LC-20A 高效液相色谱(日本岛津), RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

#### 1.2 试剂

三九膏药粉、阴性对照药粉, 规格 6 g/盒, 均由天津市公安医院提供。芥子碱硫氰酸盐对照品, 批号 111702-201102, 由中国食品药品检定研究院提供。甲醇(色谱纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司)、磷酸二氢钾(分析纯, 天津市江天化工技术有限公司)、乙腈(色谱纯, 天津市协和昊鹏色谱科技有限公司)、屈臣氏蒸馏水。

#### 1.3 实验动物

SD 大鼠, 雄性, 20 只, 体质量 250~300 g, 由天津实验动物中心提供, 动物使用许可证号 SYXK(津)2011-0008, 生产合格证号 201400603。

### 2 方法与结果

#### 2.1 芥子碱的 HPLC 法测定

##### 2.1.1 色谱条件<sup>[2]</sup> Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×

收稿日期: 2016-06-14

作者简介: 渠莉, 女, 工作于天津市公安医院。

\*通信作者 张金科(1980—), 男, 天津人, 主治医师, 2004 年毕业于天津中医药大学中医系, 研究方向: 呼吸系统疾病的中西医结合治疗, 中药贴敷疗法在呼吸系统疾病中的应用研究。Tel: 13820428792 E-mail: zjk-1004@163.com

4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈 - 0.08 mol/L 磷酸二氢钾 (20 : 80); 检测波长: 326 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10  $\mu$ L; 柱温: 室温。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取减压干燥至恒定质量的芥子碱硫氰酸盐对照品 2.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并加至刻度, 制成含芥子碱硫氰酸盐 0.2 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取三九膏粉末 1 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加入甲醇 25 mL, 超声提取 20 min, 滤过, 滤渣再用甲醇同法提取 3 次, 合并滤液。减压回收溶剂至 25 mL, 即得供试品溶液, 过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 备用。

**2.1.4 阴性样品溶液的制备** 取不含白芥子的阴性样品药粉, 照供试品溶液的制备项下方法操作, 即得。

**2.1.5 专属性试验** 分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 10  $\mu$ L, 进样测定, 见图 1。结果阴性样品对测定无干扰。

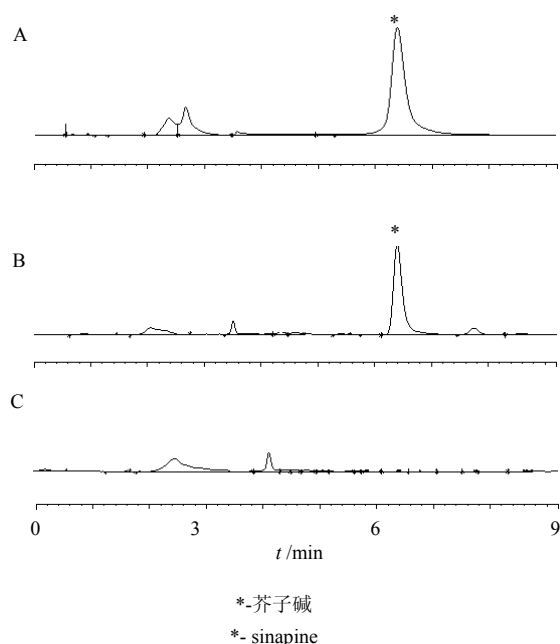


图 1 芥子碱对照品 (A)、三九膏 (B) 和缺白芥子阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of sinapiine reference substance (A), Sanjiu Plaster (A), and negative sample without *Sinapis Semen* (C)

**2.1.6 线性范围考察** 取对照品溶液, 稀释制成质量浓度分别为 57.000、28.500、14.250、7.125、3.563、1.781  $\mu$ g/mL 系列对照品溶液, 分别精密移取 10  $\mu$ L, 进样分析, 记录峰面积。以质量浓度为横坐标, 峰

面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 1.08 \times 10^9 X - 1.36 \times 10^5$ ,  $R^2 = 0.9995$ , 结果表明白芥子碱硫氰酸盐在 1.781~57.000  $\mu$ g/mL 线性良好。

**2.1.7 精密度试验** 精密移取芥子碱硫氰酸盐对照品溶液 10  $\mu$ L, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算得 RSD 值为 0.29%。

**2.1.8 稳定性试验** 精密移取供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 进样 10  $\mu$ L, 测定芥子碱硫氰酸盐峰面积值, 计算得 RSD 值为 0.29%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.1.9 重复性试验** 取同一批样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算芥子碱硫氰酸盐的质量分数, 结果其 RSD 值为 1.53%。

**2.1.10 加样回收率试验** 取同一批样品 6 份, 分别加入芥子碱硫氰酸盐对照品 1.00、1.10、1.20 mg, 制备供试品溶液, 测定, 计算回收率, 结果芥子碱硫氰酸盐的平均回收率为 99.42%, RSD 值为 1.72%。

## 2.2 离体皮肤的制备

SD 大鼠禁食 24 h, 处死, 除净毛, 取后背部皮肤, 除去皮下脂肪和筋膜、血管, 用生理盐水洗至无浑浊即可, 用塑料薄膜包好, 置于冰箱中 4  $^{\circ}$ C 冷藏备用。

## 2.3 样品的制备

将本处方除白芥子外 6 味药材粉碎过 40 目筛, 按等量递增法混匀, 另将生姜熬成汁, 加甘油、姜汁适量调成糊状 1.2 g/份 (干药粉 0.6 g), 作为空白组。将本处方全方 7 味药同空白组制备方法制备成 1.2 g/份糊状 (干药粉 0.6 g), 备用。试验组平行 3 组, 编号分别为 1、2、3。

## 2.4 体外透皮吸收试验<sup>[3]</sup>

采用改良 Franz 扩散池, 将鼠皮用生理盐水冲洗干净, 固定, 角质层朝上, 真皮一侧与接受液接触, 接好样品室, 接受室中加入生理盐水 (接收介质), 排尽气泡, 在样品室中加入三九膏, 封好上端敞口。将安装好的 Franz 扩散池置于 (37 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C 中搅拌, 采用循环水浴保温, 磁力搅拌器搅拌速度为 200 r/min。编号 1、2、3 组均在 2、4、6、8、10、12 h 分别用注射器吸取尽接收液, 同时补充等体积等温的生理盐水, 排尽气泡后继续实验。接收液均过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 置于 EP 管, 备用。精密量取上述各样品接收液续滤液 10  $\mu$ L 进样测定, 计算累积渗透率 ( $Q$ ), 结果见表 1。

$$Q=C_n V/M$$

$C_n$  是各时刻接收液中白芥子碱硫氰酸盐的质量浓度,  $V$  是扩散池接收室的体积 ( $V=7\text{ mL}$ ),  $M$  是加在扩散池载药室的白芥子碱硫氰酸盐的总量 ( $M=0.766\text{ mg}$ )

## 2.5 体外透皮吸收规律研究<sup>[4]</sup>

以累积渗透率与时间拟合零级动力学模型、威布尔模型、希古契模型、Ritger-Peppas 模型、单指

数模型、双指数模型, 并以各模型拟合方程的  $R^2$  值、AIC 值以及拟合绝对偏差和相对偏差确定三九膏体外释放的最佳拟合模型, 见表 2。比较各模型方程的  $R^2$  值、AIC 值可知, 希古契模型的  $R^2$  值最大为 0.999 1、AIC 最小为-3.11, 故其为三九膏最佳拟合模型, 即三九膏的体外透皮吸收规律符合希古契模型。

表 1 三九膏中白芥子碱硫氰酸盐累积渗透率 ( $n=3$ )

Table 1 Cumulative permeability of sinapine thiocyanate in Sanjiu Plaster ( $n=3$ )

| 组别  | 累积渗透率/% |      |       |       |       |       |
|-----|---------|------|-------|-------|-------|-------|
|     | 2 h     | 4 h  | 6 h   | 8 h   | 10 h  | 12 h  |
| 空白  | 0.00    | 0.00 | 0.00  | 0.00  | 0.00  | 0.00  |
| 1 组 | 2.83    | 7.68 | 12.34 | 16.17 | 19.37 | 22.02 |
| 2 组 | 2.65    | 7.77 | 12.43 | 16.45 | 19.74 | 22.57 |
| 3 组 | 2.65    | 7.68 | 12.15 | 15.90 | 19.28 | 21.93 |

表 2 各种类型拟合模型结果

Table 2 Results of different types of fitting models

| 动力学模型         | 拟合方程                                       | $R^2$ 值  | AIC 值 |
|---------------|--------------------------------------------|----------|-------|
| 零级动力学         | $Q=1.948\ 6\ t-0.24$                       | 0.988\ 3 | 10.86 |
| 威布尔           | $\ln\ln[1/(1-Q)]=1.233\ 4\ \ln t-4.342\ 2$ | 0.985\ 9 | 15.19 |
| 希古契           | $Q=9.641\ 4\ t^{1/2}-11.218$               | 0.999\ 1 | -3.11 |
| Ritger-Peppas | $\ln Q=1.1743\ \ln t+0.2979$               | 0.983\ 0 | 17.86 |
| 单指数           | $\ln(Q_\infty-Q)=-0.0224\ t-4.615$         | 0.993\ 9 | 6.95  |

## 3 讨论

三九膏在贴治过程中, 由于患者的个体差异, 会出现皮肤过敏的不良反应。贴治时间越长, 发生的过敏反应越严重。实验结果显示, 三九膏中芥子碱硫氰酸盐 12 h 的累积渗透率在 22% 左右。由于三九膏的制作工艺以及剂型的限制, 造成了三九膏中芥子碱硫氰酸盐的累积渗透率不高。因此, 为更好地提高三九膏的治疗疗效, 需要进行处方改进, 拟加入促透剂或做成新的剂型来提高透过率, 缩短贴治时间, 减少不良反应的发生, 因此本研究为药物新剂型的设计和开发提供了依据。

数据结果显示, 三九膏中芥子碱硫氰酸盐的最大透过量在 4 h。三九膏在临床治疗中, 成人的贴敷

时间是 8~10 h, 儿童的贴敷时间是 4~6 h。从研究结果来看, 芥子碱硫氰酸盐累积透过量在时间上与临床治疗贴敷时间相吻合, 因此本研究为三九膏临床治疗确定最适宜贴治时间提供了依据。

## 参考文献

- [1] 张学梅, 刘凡亮, 梁文波, 等. 白芥子提取物的镇咳、祛痰及平喘作用研究 [J]. 中草药, 2003, 34(7): 39-40.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 王利胜, 涂 星, 陈 豆, 等. 在体肠循环法研究黄芪提取物对川芎嗪大鼠肠吸收的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(9): 661-664.
- [4] 杨俊毅. TP 缓释片的研制及体内相关性评价 [D]. 成都: 四川大学, 2003.