

高效液相色谱法测定狗皮巴布膏中肉桂的体外透皮吸收

北京医科大学药学院生化药理室(100083) 郝美荣* 李长龄

摘要 应用高效液相色谱法(HPLC)观察了狗皮巴布膏体外经皮渗透性,采用两室扩散模型对脱毛小鼠皮进行了实验观察。结果表明狗皮膏巴布剂透皮吸收的可行性,其透皮量随着药物浓度的增加和时间的延长而增多,低浓度 12.5 mg 生药/mL 在 180 min 时的累积透皮量已不再增加。此结果为狗皮膏巴布剂的临床应用提供了实验基础。

关键词 透皮吸收 HPLC 肉桂酸

近几年来,随着医用高分子材料的不断开发和生物药剂学的发展,药物经皮吸收成为一个迅速发展的研究领域,它可以避免一些别的给药途径所带来的问题^[1],因此,研制适合于皮肤外用的新剂型,将有可能为临床医生和患者带来方便,降低全身用药带来的不良反应。狗皮膏巴布剂是采用多种中草药经提炼而成的,具有抗炎、镇痛作用^[2]。我们对其透皮吸收情况进行了观察,为狗皮膏巴布剂的临床应用提供了实验依据。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄兼用,18~22 g,北京医科大学实验动物部提供。

1.2 药物:狗皮膏巴布剂(用时制成混悬液,0.1 g 生药/mL),北京同仁堂制药厂提供。桂皮酸化学对照品,中国药品生物制品检定所提供。地塞米松、盐酸、甲醇、乙酸乙酯均为 AR 级。

1.3 仪器:高效液相色谱仪(HPLC)包括:YSB-2 型平流泵,中科院上海分院仪器厂;2600 紫外分光检测器,上海分析仪器厂;SPS-1 色谱数据处理机,上海华光仪器仪表厂;7125 进样阀,Rheodyne;色谱柱 300mm × 4.6mm, YWG C₁₈H₃₇, 10 μm。

2 方法

2.1 标准曲线的绘制:精确称取桂皮酸化学对照品,配制成 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 μg/mL 标准溶液,以生理盐水为空白对照,用 HPLC 测定,标准曲线回归方程为:

$$C_{\text{肉桂酸}} = 1.41 H_{\text{肉桂酸}} / \text{His} + 0.005 \quad r = 0.9996, n = 3$$

2.2 离体鼠皮的制备:将小鼠处脱颈椎死后,立即剥取背部皮肤,去毛,用蒸馏水洗净,浸于生理盐水待用^[3]。

2.3 实验装置及使用:实验装置参照文献^[4],按简单小室制作,释放池内为内径 3 cm 的特制玻璃管,下口用橡皮筋密封处理好的鼠皮(表面朝上)。释放池内加入不同浓度的供试液,接受池为 100 mL 的烧杯,加入 50 mL 生理盐水作为接受液,接受液保温 37 °C,并不断以磁力给予搅拌,于样品池下口浸入接受液后,10、30、60、90、120、150 min 分别取接受液 2.5 mL,随即在接受池内补充相当量的生理盐水,使接受液始终保持 50 mL。

2.4 样品中肉桂酸的 HPLC 测定

2.4.1 样品的预处理:精密量取 1.00 mL 的样品液,置于 8 mL 样品管中,加一滴浓 HCl,加 1.0 mL 乙酸乙酯,旋摇振荡 2 min,离心,上清液转移至一个 5 mL 离心管中,氮

* Address: Hao Meirong, Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing
郝美荣 女,1989年毕业于北京医科大学药学院药物化学专业,获理学学士学位。毕业后,留校任教,从事药理学的教学与科研工作。主要的研究工作有:药物在体内及体外对血栓和血小板活化因子的影响作用,药物对血瘀大鼠血液流变学指标的影响、药物对慢性肾炎的治疗作用及药物对肾炎病理状态下动物血栓的影响。现任职于北京医科大学药学院药理教研室讲师。

气流下吹干,加入溶媒 30 μL ,取 20 μL 进样。

2.4.2 色谱条件:根据肉桂酸的溶解特性,并参照文献^[6],选择流动相为甲醇-水-乙酸,流速为 1.0 mL/min,样品的测定采用内标法,以地塞米松为内标物,肉桂酸在所选流动相中紫外吸收峰在 272nm,此处内标也有吸收,其保留时间分别为 5.2 及 9.0 min,并且,肉桂酸和地塞米松与杂质较好地分离。

2.4.3 样品测定:将不同时间取出的接受液样品于 HPLC 上测定峰高 H,将测得的 H 值代入标准曲线方程,计算各时间接受液的浓度 C($\mu\text{g}/\text{mL}$)和累积透皮吸收量 N(μg)。

3 结果

释放池内分别加入 100、50、25、12.5 mg 生药/mL 的供试液,测量不同时间接受液浓度,并计算药物的累积透过量。由表 1 中可以看出,狗皮巴布膏可以透皮吸收,且透过量随着药物浓度的增加和时间的延长而增多,低浓度 12.5 mg 生药/mL 在 180 min 时的累积透过量已不再增加而趋于均值,显示了较好的透过性。

表 1 不同浓度的狗皮巴布膏的透皮吸收累积量 N(μg) ($\bar{x} \pm s$ $n=4$)

时间 (min)	供试液浓度(mg 生药/mL)			
	100	50	25	12.5
10	1.05 \pm 1.50	0.715 \pm 0.88	0	0
30	2.10 \pm 1.55	1.575 \pm 1.65	0.815 \pm 0.80	0
60	7.90 \pm 1.55	3.55 \pm 0.20	3.02 \pm 1.45	1.0 \pm 0.45
90	13.05 \pm 1.65	6.05 \pm 0.75	4.06 \pm 1.62	2.55 \pm 0.70
120	16.90 \pm 3.35	6.30 \pm 2.20	4.99 \pm 1.55	3.55 \pm 1.0
150	20.90 \pm 4.70	9.65 \pm 2.10	5.65 \pm 1.95	4.15 \pm 0.55
180	25.55 \pm 6.8	—	—	4.20 \pm 0.55

4 讨论

狗皮膏巴布剂中的主要组分之一是肉桂,其有效成分为肉桂酸,文献报道^[6]它具有镇痛杀菌的作用。用 HPLC 测定接受液中肉

桂酸之含量,可较好地了解狗皮膏巴布剂的透皮吸收情况。本法简便、快速,肉桂酸的保留时间仅为 5.2 min,且灵敏度较好,方法重现性也好,并且与杂质较好地分离。文献资料表明^[7,8],就整个皮肤各层而言,角质层是药物透皮吸收的限速层,皮肤水合后,狗皮膏巴布剂的透皮吸收量有明显增加,低浓度 12.5 mg 生药/mL 在水合 60 min 时才检测到肉桂酸。但随着水合时间的延长,皮肤水合化程度趋于饱和,皮肤肿胀,其透皮率并未能成比例地增大。12.5 mg 生药/mL 供试液在水合 180 min 时,其透过量不再增加。

虽然研究药物体外透皮吸收最理想的模型是人体,但由于人的皮肤并不像动物皮肤那样易得,而且由于每个皮肤样本之间在年龄、性别、种族及捐献者的健康状况等方面的差异^[9]以及人体皮肤的制备所要求的技术等等,使动物皮肤在此方面有独特的优势。无毛小鼠皮肤在某些方面与人体皮肤极为相似^[7],且制备简单方便,常常用于药物体外透皮吸收研究,但是寻求更好的、与人体完整皮肤更相近的皮肤标本将会更好地了解药物的透皮性。

参考文献

- 1 杨丽,等.药学报,1990,25(12):916
- 2 吴恩融,等.中草药,1997,28(11):675
- 3 李玉珍,等.中国药学杂志,1993,28(1):23
- 4 张泽威,等.中国医院药学杂志,1990,10(2):54
- 5 宋建平,等.药物分析杂志,1992,12(2):182
- 6 Marnzzella J C, et al. J Amer Pharm Ass Sci Ed, 1958, 47:294
- 7 徐益众,等.药学报,1992,27(6):467
- 8 Barry B W. J Controlled Release, 1987, 6:85
- 9 Hugo Durrheim, et al. J Pharm Sci, 1980, 69(7):78

(1996-04-19 收稿)

Studies on Transdermal Absorption of Goupibabu Plaster *in vitro* Using HPLC

Hao Meirong, Li Changling (Department of Biochemistry, College of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing 100083)

Abstract Percutaneous absorption of Goupibabu Plaster was studied using HPLC, adopting simple diffusion cell model to observe its permeation through hairless mouse skin. The result showed that Goupibabu plaster can evidently permeate through the skin, and the amount absorbed increased exponentially with con-

冠心病患者用冠心十二汤治疗前后的血液流变学变化

佳木斯医学院病生教研室(154002) 赵锦程* 张建华 张明远 邢凤友
伊春市金山屯医院 张跃

摘要 观察了冠心病心绞痛患者用中药冠心十二汤治疗前后及正常人循环血中红细胞变形性(RCD)、红细胞膜脂质流动性(LFU)及红细胞膜电学(membrane electricity)变化。结果表明,患者高切变率下全血粘度(η_{bh})和红细胞刚性指数(ERI)在治疗前较正常组明显升高,红细胞膜 LFU、红细胞电泳率(EPM)也较正常人明显降低。患者治疗后 η_{bh} 和 ERI 较治疗前明显降低,红细胞膜 LFU 和红细胞 EPM 较治疗前显著提高。

关键词 冠心病 红细胞 冠心十二汤

我们自 1994 年始采用中药冠心十二汤治疗冠心病心绞痛患者,取得一定的临床疗效。有资料表明心肌缺血者的红细胞变形能力明显下降,是加重心肌缺血性损伤的重要因素^[1],因此,本实验主要观察了中药治疗前后患者循环血与红细胞变形性(red cell deformability,RCD)变化有关的几个因素,并探讨其变化的意义。

1 材料和方法

1.1 实验分组:正常对照组 24 例,年龄 37~56 岁,平均年龄 50.2 岁;患者组 37 例,年龄 36~68 岁,平均年龄 57.6 岁,诊断标准按 WHO 标准,且询问病史、体检及辅助检查无其它疾病。所采血液均为肘静脉血,正常对照组均于晨起空腹时采血;患者组分别于治疗前和治疗 30 d 时晨起空腹采血。

1.2 实验仪器:成都 NXE-1 型锥板式血液粘度计,江苏 SDZ-1 型细胞电泳仪,F-4000 型日立荧光分光光度计,上海 721-分光光度计。

1.3 观察指标:血液标本置于 4℃ 冰箱保存,于采血后 4 h 内进行检测。a)红细胞压积

(hematocrit,HCT):离心力 15 000 g,微量毛细管压积法;b)高切变率(230 s^{-1})下全血粘度(η_{bh});c)高切变率(230 s^{-1})下血浆粘度(η_p);d)红细胞刚性指数(erythrocyte rigidity index,ERI):按公式 $ERI = (\eta_{bh} - \eta_p) / \eta_p \times 1 / HCT$ 计算;e)红细胞膜脂质流动性(erythrocyte membran lipid fluidity,LFU):荧光偏振法,激发波长 330 nm,发射波长 424 nm,按公式 $p = (I_v - I_h) / (I_v + I_h)$ 求偏振度(p);按公式: $\bar{\eta} = 2P / (0.46 - P)$ 计算微粘度($\bar{\eta}$);按公式 $LFU = (0.5/p - 1) / p$ 计算脂质流动性(LFU);f)红细胞电泳率(erythrocyte electrophoretic mobility,EPM):电压 38 V,电流 1.5 mA,10%NaCl 琼脂盐桥,电泳介质为自身血浆,将红细胞稀释至 $10000/\text{mm}^3$,450 倍镜下计数 20 个红细胞来回运动 $33\ \mu\text{m}$ 所需时间(s);g)红细胞膜唾液酸(sialic acids,NANA)含量:按秦德安等 Biolsche 试剂直接法测定^[2]。

1.4 数据处理:实验数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,并采用组间 t 检验。

2 结果

* Address:Zhao Jincheng,Department of Pathophysiology,Jiamusi Medical College,Jiamusi
赵锦程 男,1964 年生,1985 年毕业于佳木斯医学院,获学士学位,1997 年获医学硕士学位。现任佳木斯医学院基础药理教研室副主任、讲师。近年来发表了“马桑内酯对大鼠大脑皮层突触体和脑片谷氨酸摄取、释放功能的影响”等多篇学术论文。现主要从事中药药理研究。