

祛斑止痒膏透皮吸收试验初步研究[△]

辽宁省中医研究院 (沈阳 110034) 张会宗* 李成森

摘要 首次报道了祛斑止痒膏(QO)中蛇床子素、补骨脂素以及血竭的部分成分能透过 NIH系小鼠离体皮肤,并以测定含氮酮及不含氮酮透皮吸收液中蛇床子素含量的方法,考察了氮酮对祛斑止痒膏透皮吸收的影响。结果表明,氮酮能有效促进蛇床子素的透皮吸收,累积透过量提高为 2.38倍。

关键词 祛斑止痒膏 透皮吸收 氮酮 蛇床子素 补骨脂素 血竭

透皮给药系统(Transdermal Drug Delivery, TDD)是药剂学中一个新兴的领域,自 1981年首创东莨菪碱透皮吸收贴剂以来国外市场相继有近 10个产品上市^[1]。因其具有可绕过肝脏首过效应及避免胃肠道破坏,降低药物毒性和刺激性等优点,近年来在国外得到了较快发展。但国内 TDD技术在品种开发方面尚处于初级阶段,而在中药研究领域更是如此。祛斑止痒膏为妇科外用膏剂,主药由淫羊藿、蛇床子、补骨脂等中药组成,具有清热祛风、燥湿杀虫之功效。临床主要用于治疗妇科外阴营养不良、外阴瘙痒等病证。为了考察祛斑止痒膏透皮吸收情况及氮酮对透皮吸收的影响,我们以祛斑止痒膏中蛇床子素、补骨脂素及血竭药材作为定量、定性考察指标进行了透皮吸收试验。

1 仪器、药品及试药

UV-260型分光光度计(日本岛津),模拟 Kenhary-chien改进型 franz扩散池(自制),超级恒温水浴(辽阳市恒温仪器厂),GSP型磁力搅拌器(江苏泰县姜埝无线电厂),定量毛细管(美国 Drummond scico USA);蛇床子素、补骨脂素、血竭对照药材(由中国药品生物制品检定所提供),氮酮(山东省龙口市日化助剂厂),硅胶 G(青岛海洋化工厂);3%氮酮祛斑止痒膏及不含氮酮祛斑止痒膏由辽宁省中医研究院药剂室提供,1 g生药/g;所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 标准曲线的绘制:精密称取蛇床子素 10 mg,于 5 mL容量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀备用(2 mg/mL)。用定量毛细管精密吸取 0.0, 10, 20, 30, 40, 50 μ L点于同一硅胶 G薄层板上,以苯-乙酸乙酯(30:3)展开,展距 11 cm,于 365 nm 荧光灯下刮取斑点,另刮取同位置、等面积硅胶 G

为空白对照于试管中,分别加 5 mL甲醇,振摇,离心取上清液于(320 $\pm$ 1) nm处测定吸收度,绘制 C-A标准曲线,得回归方程 $C=66.364A+0.0996$,回归系数 $r=0.9991$,于 0~20 μ g/mL范围内 C-A呈良好线性关系。

2.2 NIH系小鼠离体透皮吸收实验

2.2.1 透皮吸收实验装置:透皮吸收扩散装置模拟 Kenhary-chien改进型 franz扩散池,由上下两筒状玻璃筒对合而成,夹于玻璃筒间的皮肤将其分成上下两室,上室为供药室,下室为接受室。在接受室的中部和顶部侧面分别装有一个取液管和排气管,取样管供取样及补充接受液用,排气管用于排除气泡。供药室及接受室直径均为 2.0 cm,透皮面积为 2.25 cm²,试验中通过电磁搅拌保持接受室内流体动态环境,转速为 100 r/min,试验温度为(37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,试验过程进行了 32 h。

2.2.2 透皮吸收实验:将经 BaS脱毛 NIH系小鼠 2只(20~22 g)处死,取背部皮肤,尽量除去皮下组织,将皮肤固定于供药室与接受室之间,真皮一侧与接受液(0.9%生理盐水)接触,排净气泡,取祛斑止痒膏 2 g(含 3%氮酮和不含氮酮各 1份)均匀涂布于供药室皮肤上成 1.5 cm $\times$ 1.5 cm圆形,在接受室内注入 30 mL接受液使其恰与皮肤内层接触,保持(37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C恒温水浴及恒定转速(100 r/min),在设定时间内每次取样 2 mL,置具塞试管中备用,用 0.9%生理盐水补足体积,排除皮下气泡进行透皮吸收试验。

2.2.3 透皮吸收液中蛇床子素的含量测定^[3]:将每次吸取的 2 mL透皮吸收液浓缩近干,用少许甲醇溶解,定量转移至 1 mL容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,备用。精密吸取 30 μ L样品液于同一硅胶 G薄层板上点样,以苯-乙酸乙酯(30:3)上行展开,展距

* Address: Zhang Huizong, Liaoning Academy of Traditional Chinese Medicine, Shenyang

[△]辽宁省科委资助课题

11 cm,自然晾干,于 365 nm 荧光灯下检视,分别刮取对应位置蛇床子素斑点或同位置、等面积的空白硅胶 G 于试管中,加 6 mL 甲醇振摇 2 min,离心,取上清液于 (320± 5) nm 处测定吸收度,结果代入回归方程计算蛇床子素含量。因接受池连续取样,并每次加入空白接受液,测得值较真实值小,故按下式进

行校正:

$$Cr = \frac{1}{V} \sum_{n=1}^{n-1} Cn - 1$$

式中: C_r 为校正浓度; C_n 为测定浓度; V 为接受池内溶液体积

结果见表 1 及图 1

表 1 蛇床子素的累积透过量 ($\times 10^6 \mu\text{g}/30 \text{ mL}$, $\bar{x} \pm s$)

软膏	不同时间 (h) 累积透过量							
	0.5	1	2	8	14	20	26	32
I	1.218± 0.093	2.856± 0.103	3.262± 0.112	3.593± 0.089	3.912± 0.121	4.903± 0.118	5.172± 0.128	5.185± 0.093
II	2.014± 0.078	5.422± 0.131	7.764± 0.170	8.562± 0.134	9.960± 0.102	11.703± 0.432	12.144± 0.240	12.342± 0.095

$n=5$ I 含 3% 氮酮祛斑止痒膏 II 不含氮酮祛斑止痒膏

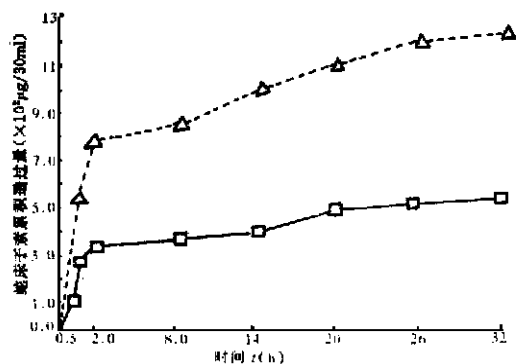


图 1 透皮吸收液中蛇床子素累积透过量随时间变化曲线
△ 含 3% 氮酮祛斑止痒膏透皮吸收液
□ 不含氮酮祛斑止痒膏透皮吸收液

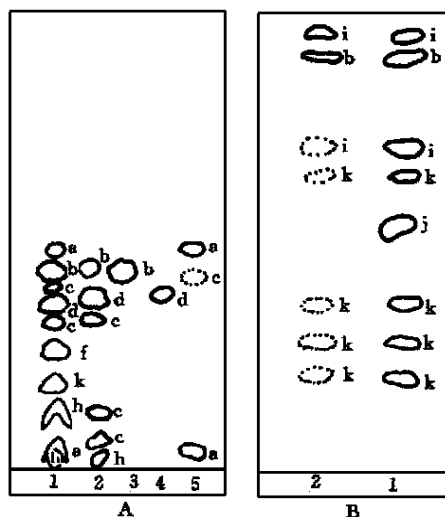
2.3 祛斑止痒膏透皮吸收液的定性鉴别

2.3.1 样品液的制备: 取含氮酮的祛斑止痒膏 1 g, 加 20 mL 氯仿回流提取 2 次, 每次 1 h, 合并提取液, 滤过, 滤液浓缩至约 10 mL 备用 (A_1); 残渣用 5 mL 水饱和正丁醇溶液溶解, 滤过, 滤液浓缩至约 2 mL 备用 (B_1); 将祛斑止痒膏透皮吸收液 10 mL (32 h 液) 浓缩近干, 同上述方法加氯仿回流及水饱和正丁醇溶液萃取得供试品溶液 (A_2 , B_2) 备用。

2.3.2 祛斑止痒膏透皮吸收液的定性鉴别: 吸收上述氯仿萃取液 (A_1 , A_2) 少许, 分别点于同一 $10 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ 硅胶 G 板上, 点少许蛇床子素、补骨脂素及血竭药材作对照, 经苯-乙酸乙酯 ($30:3$) 为展开系统, 上行展开, 展距 15 cm 取出自然晾干, 于 365 nm 紫外灯下观察荧光。吸取上述水饱和正丁醇萃取液 (B_1 , B_2) 少许, 于同一硅胶 G 薄层板上点样, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水 ($10:1:1:1$) 为展开剂上行展开, 于 365 nm 荧光下观察, 结果见图 2

3 讨论

试验结果表明祛斑止痒膏中蛇床子素、补骨脂



A 氯仿提取 B 水饱和正丁醇提取

1 祛斑止痒膏供试品液 2 祛斑止痒膏透皮吸收液
3 蛇床子素 4 补骨脂素 5 血竭对照药材
a 砖红色 b 紫色荧光 c 淡黄色 d 蓝色荧光
e 淡紫色荧光 f 紫色 g 淡红褐色 h 亮蓝紫色
荧光 i 黄色荧光 j 蓝紫色荧光 k 淡黄色荧光

图 2 祛斑止痒膏薄层色谱图

素及血竭药材部分成分能透过 NIH 系小鼠离体皮肤 且脂溶性成分较水溶性成分透过性好。通过 TLC 荧光色谱观察发现, 透皮吸收液较原供试品液缺少一个荧光斑点, 说明并非所有药物成分均能透过小鼠离体皮肤, 其为何种成分尚有待进一步研究。

通过蛇床子素累积透过量对时间曲线表明, 透皮吸收 32 h 累积透过量基本达到峰值, 为临床给药时间提供参考数据; 并证实氮酮能起到透皮吸收促进剂作用, 32 h 蛇床子素的累积透过量含 3% 氮酮为不含氮酮的 2.38 倍。

蛇床子素含量测定过程中发现蛇床子素于 320 nm 处吸收峰出现短移, 是否受到分子缔合、官能团取代、pH 值等因素影响, 尚有待进一步研究; 在蛇

床子素的定性、定量过程中,参考了有关文献^[2,3],并对文献的展开系统进行了调整,认为本实验所选用的苯-乙酸乙酯(30∶3)展开系统,重现性及分离效果均较好。

参 考 文 献

1 郑俊民. 经皮给药新剂型(M). 北京: 人民卫生出版社, 1997 107

2 中华人民共和国药典. 一部. 北京: 人民卫生出版社, 1995 276

3 程大敦,等. 中国药学杂志, 1990, 25(3): 164

(1999-08-30收稿)

复方丹参滴丸治疗心绞痛 160例临床疗效观察

武进市人民医院内科(2130003) 徐象明

消心痛已广泛用于冠心病治疗,但长期服用易产生耐药性,加大剂量其副作用亦随之增多,病人难以耐受。到目前为止,还没有办法能克服消心痛的耐药性,为了选择更合适长期服用的药物,我们将复方丹参滴丸和消心痛治疗稳定型心绞痛疗效进行了对比研究,其结果报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择符合WHO关于稳定型心绞痛诊断标准,具有至少3个月典型劳累型心绞痛病史,心绞痛发作每周≥5次,经休息或舌下含服硝酸甘油可缓解症状的病人作为观察对象的300例患者,其中男220例,女80例,年龄48~80岁,平均59.2岁,病程1~4.5年,其中陈旧性心梗52例,合并高血压病48例,合并高脂血症40例,合并糖尿病38例。

1.2 观察方法:将300例患者采用随机双盲法分为治疗组160例,对照组140例。治疗前两周停用其他抗心绞痛药,高脂血症者停用降脂药。治疗组复方丹参滴丸(由天津天士力制药集团有限公司生产),每次10粒,每日3次;对照组消心痛,每次10mg,每日3次。疗程均为8周。全部患者于治疗前、治疗1个月以及疗程结束后,血尿常规、血脂、肝肾功能、心电图及动态心电图检查。服药期间每周记录心绞痛发作次数,检测血压、心率,记录副作用。

1.3 疗效判断标准:

1.3.1 心绞痛症状:疗程结束后,心绞痛完全消失或减少发作次数超过治疗前90%以上者为显效,减少次数超过治疗前50%以上,但未达到90%者为有效。心绞痛症状无减少或减少次数不足治疗前总数的50%者为无效。

1.3.2 心电图改善:①显效:心电图恢复至“大致正常”或达到正常。②有效:S-T段降低,治疗后回升0.05mV以上,但未达到正常水平,在主要导联倒

置T波变浅(达25%以上)或T波由平坦变直立、房室或房内传导阻滞改善者。③无效:心电图基本与治疗前相同。④加重:S-T段较治疗前降低0.05mV以上。在主要导联倒置T波加深(达25%以上)或直立T波平坦,平坦T波变倒置,出现异位心律、房室传导阻滞或室内传导阻滞。

2 结果

2.1 心绞痛症状的疗效:见表1

表1 两组心绞痛症状疗效比较								
组别	显效		有效		无效		总有效率	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
复方丹参滴丸	111	69.4	37	23.1	12	7.6	148	92.5
消心痛	71	51.0	53	38.1	14	10.0	124	89.1

从表1可以看出两组比较总有效率差异不显著($P>0.05$),但治疗组显效率达69.4%,对照组为51.0%,两组有显著差异($P<0.05$),表明复方丹参滴丸优于消心痛。

2.2 心电图疗效比较:见表2

表2 两组心电图疗效分析								
组别	例数	显效		有效		无效		总有效率
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	
复方丹参滴丸	160	32	20.0	68	42.5	60	37.5	62.5
消心痛	140	16	11.42	40	28.57	84	60	39.99

从表2可以看出治疗组心电图疗效显效率达20%,总有效率62.5%。对照组显效率11.42%,总有效率39.99%,组间经统计学处理 $P<0.05$,有明显差异,说明复方丹参滴丸在改善心肌缺血性心电图方面优于消心痛。两组在治疗中及疗程结束后心电图S-T段及T波均未发现有加重病例,亦未发现出现异位心律、房室或室内传导阻滞。

2.3 副作用与不良反应:复方丹参滴丸组无1例出现明显的不良反应,仅2例原有慢性胃炎患者服药1周后有胃部不适,经对症处理后消失。消心痛组38