



莨菪巴布剂体外释放和透皮行为的研究

杜茂波, 刘淑芝*, 李曼玲, 金日显, 康琛, 李军红

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 考察莨菪巴布膏的体外释放和透皮行为和规律。方法: 试验采用改良 Franz 扩散装置, 用 HPLC 法使用 1 种流动相测定接收液中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱 4 种指标成分的含量。结果: 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱释放速率分别为 $0.0239 \pm 0.0156 \pm 0.0725 \pm 0.8191 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$; 透皮速率分别为 $1.2561 \pm 0.0302 \pm 2.8029 \pm 0.9191 \mu \text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。结论: 莨菪巴布剂的体外释放符合 Higuchi 方程, 透皮行为为零级过程。

[关键词] 巴布剂; 黄连; 吴茱萸; 透皮; 释放

莨菪巴布膏由黄连、吴茱萸、木香等 3 味药组成, 具有泻火止痛之功, 用于脘胁疼痛, 暖气吐酸, 大便热泻等症。本研究以黄连中的巴马汀、小檗碱; 吴茱萸中的吴茱萸碱和吴茱萸次碱 4 种成分为指标, 通过体外释放度和离体小鼠皮的体外透皮试验, 考察莨菪巴布膏的体外释放和透皮行为, 考察了莨菪巴布膏成型可行性, 并为体内试验提供依据。

1 材料

Waters 1515—717 自动进样器, 2487 检测器, Empower 数据处理系统; 色谱柱 Kromasil—C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 检测波长 290 nm, 柱温 30℃; 流速 1 mL·min⁻¹; 流动相 甲醇—乙腈—15 mmol/L SDS 水溶液 (20:36:44)。

TK—12B 透皮扩散试验仪 (上海凯科技贸易有限公司); Z92—BD 多功能搅拌器 (天津利华仪器厂); 天平 AEL—200 (日本岛津)。

吴茱萸碱 (中国药品生物制品检定所, 批号 110802—200504)、吴茱萸次碱 (中国药品生物制品检定所, 批号 0801—9702)、巴马汀对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0732—9604)、小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0713—9906); 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯。

巴布剂基质均为食用或药用规格, 包括聚丙烯酸钠, 卡波姆, 明胶等。

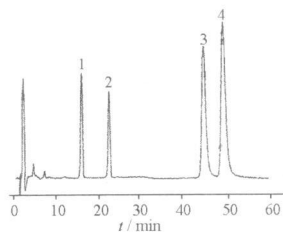
动物皮肤: 小鼠皮由中国药品生物制品检定所

实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(京)2005—0004。

2 莨菪巴布膏含量测定方法的建立^[1]

本实验以吴茱萸碱^[2]、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱^[3] 4 种成分作为莨菪巴布膏的指标成分, 用 1 种流动相, 在单一波长下同时测定 4 种指标成分的含量, 建立了一种方便快捷测定复方中多种成分的方法。

2.1 对照品溶液的配制 精密称定吴茱萸碱、吴茱萸次碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品 0.29032 g, 0.61097 mg 置于 25 mL 的量瓶中, 加适量甲醇溶解, 定容至 25 mL, 使其质量浓度分别为 0.0116 g/L, 0.0128 g/L, 0.0244 g/L, 0.0384 g/L⁻¹。见图 1~4。



1 吴茱萸碱; 2 吴茱萸次碱; 3 巴马汀; 4 小檗碱 (图 3~4 同)。

图 1 莨菪巴布膏对照品溶液色谱图

2.2 标准曲线的绘制 取供试品溶液分别进样 4.68, 10.20, 40.60, 80.12 μL, 采用上面的色谱条件, 测定其中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的峰面积, 并以各个组分的含量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 4 种成分的标准曲线见表 1。

2.3 供试品溶液的制备 供试品溶液为释放或者

[收稿日期] 2008—10—27

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划 (2006BA69B08—13)

[通信作者] *刘淑芝, 研究员, 博士生导师, Tel: (010) 84043227, E-mail: liushuzhi2004@sina.com.cn

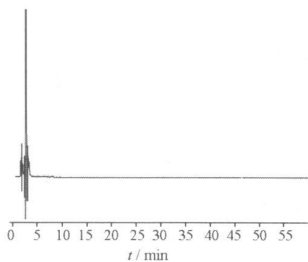


图 2 黄连巴布膏阴性对照色谱图

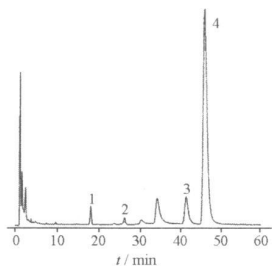


图 3 黄连巴布膏样品色谱图

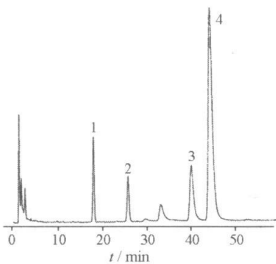


图 4 黄连巴布膏样品和对照品混合液色谱图

表 1 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀和小檗碱的
回归方程以及线性范围

样品名称	标准曲线	r	线性范围 /μg
吴茱萸碱	$Y=2e+06X-325.62$	0.999 4	0.004 64~0.094 8
吴茱萸次碱	$Y=1e+06X+146.59$	0.999 2	0.005 12~0.102 4
巴马汀	$Y=2e+06X+445.03$	0.999 7	0.009 76~0.195 2
小檗碱	$Y=2e+06X-408.04$	0.999 8	0.015 36~0.307 2

透皮液体,过微孔滤膜后即得。

2.4 精密度考察 用所配制的标准溶液于 1 日内进样 6 次,每次进样 10 μL,记录峰面积,计算 RSD,得吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的 RSD 分别为 1.9%,1.9%,0.29%,0.69%,均符合精密度的要求,说明该方法的精密度良好。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液分别在 0.2.4.6.

8.10.12.24 h 进样测定其中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗含量,计算 RSD 考察样品在 24 h 的稳定性,得吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的 RSD 分别为 0.37%,1.4%,0.19%,0.14%,表明供试品溶液在 24 h 的稳定性良好。

2.6 加样回收试验 取 3 种不同浓度的黄连巴布膏供试品溶液各 3 份,加入规定量的吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱对照品,使其完全溶解,过 0.45 μm 的微孔滤膜,测定 4 种指标成分的含量,计算得吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的平均回收率分别为 98.4%,98.1%,98.2%,97.7%;RSD 分别为 0.93%,1.6%,2.1%,0.54%。

3 试验方法与结果

3.1 黄连巴布膏的制备^[4] 精密称取处方量的浸膏和巴布剂基质,混合均匀,制备成膏体后均匀涂布于衬布上,加盖聚乙烯薄膜,即得巴布剂样品。黄连巴布剂中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的含量分别为 1.61,0.67,3.59,52.70 mg·g⁻¹。

3.2 离体鼠皮的制备 将年龄适宜的健康小鼠处死后,用脱毛剂将小鼠毛小心脱去,冲洗干净,剪下皮肤,小心剥离脂肪,选取完整的皮肤,用生理盐水冲洗干净,备用。

3.3 试验方法与装置 试验使用垂式 Franz 扩散池,接收液为 PEG400—95%乙醇—水(1:3:6)。试验过程:将黄连巴布膏紧密贴与处理好的小鼠皮上,排净气泡,然后固定于扩散装置的扩散室和接收室之间,巴布膏的背衬层朝向扩散室,在接收室中注满接收液,排尽气泡。磁力搅拌器转速设定为 400 r·min⁻¹,水浴温度 32℃,扩散池容积 18 mL,有效扩散面积为 2.834 cm²。分别在 0.5.1.2.4.8.14.24 h 取样,取样时将接收室中的液体全部倒出,同时补加同样体积的新鲜接收液;将倒出液体过微孔滤膜后,测定其中吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的含量,计算透过量。

3.4 释放试验及结果^[5] 试验方法与透皮试验的方法相同,只是把皮肤换成纱布。以指标成分的 24 h 累积透过量 Q 对时间 t^{1/2}作图,结果见图 5~8 并以 6 份样品 24 h 平均累积释放量 t^{1/2}进行动力学方程拟合,结果见表 2。6 份样品的 4 种指标成分的平均释放率为吴茱萸碱 44.0%,吴茱萸次碱 65.5%,巴马汀 59.0%,小檗碱 44.7%。

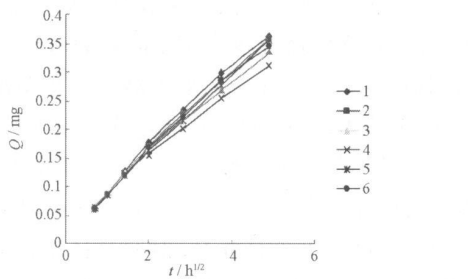


图 5 6 份样品中吴茱萸碱的 $Q-T^{1/2}$ 曲线

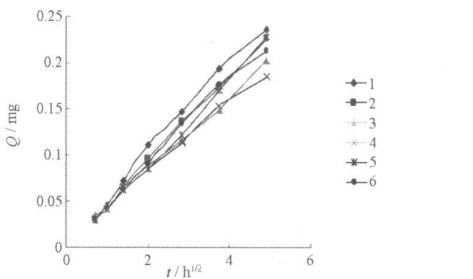


图 6 6 份样品中吴茱萸次碱的 $Q-T^{1/2}$ 曲线

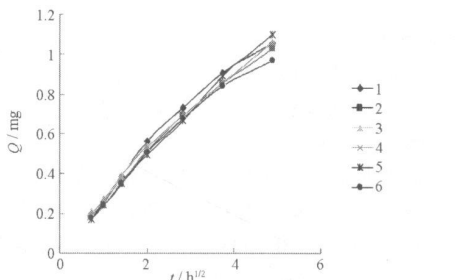


图 7 6 份样品中巴马汀的 $Q-T^{1/2}$ 曲线

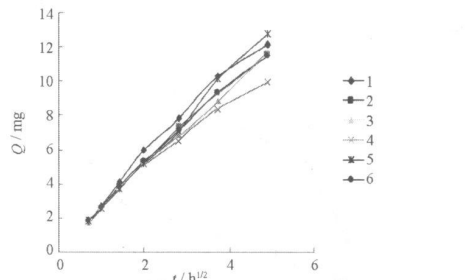


图 8 6 份样品中小檗碱的 $Q-T^{1/2}$ 曲线

表 2 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的体外释放曲线 (n=6)

指标成分	拟合曲线	释放速率 /mg · cm ⁻² · h ^{-1/2}	r
吴茱萸碱	$Q=0.0239t^{1/2}+0.0078$	0.0239	0.9976
吴茱萸次碱	$Q=0.0156t^{1/2}+0.0005$	0.0156	0.9993
巴马汀	$Q=0.0725t^{1/2}+0.0234$	0.0725	0.9951
小檗碱	$Q=0.8191t^{1/2}+0.1583$	0.8191	0.9977

3.5 透皮试验及结果^[9] 按上述方法,进行黄连巴布剂的体外透皮试验,以指标成分的累积的透过量 Q 对时间 t 作图,以 4 份样品 24 h 平均累积透皮量 Q 对

进行动力学方程拟合,结果见表 3 6 份样品的 4 种指标成分的平均透过率为吴茱萸碱 10.9%,吴茱萸次碱 21.3%,巴马汀 11.2%,小檗碱 5.6%。

表 3 吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的体外透皮曲线 (n=4)

指标成分	拟合曲线	经皮渗透速率 /μg · cm ⁻² · h ⁻¹	r
吴茱萸碱	$Q=1.2561t-0.1016$	1.2560	0.9983
吴茱萸次碱	$Q=1.0302t-1.0318$	1.0302	0.9985
巴马汀	$Q=2.8029t-1.2159$	2.8029	0.9980
小檗碱	$Q=0.9190t-32.322$	0.9190	0.9909

4 讨论

巴布剂的体外释放和透皮速率是巴布剂评价的重要指标,对于巴布剂来说,药物从基质中释放出来的释放量,能否满足其经皮渗透需要就显得非常重要;由图 9 10 4 种指标成分的的释放和透皮曲线图

中很清楚的显示出吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱的体外释放量远远大于其透皮量,完全满足体外透皮的需要。

图 5 ~ 8 4 种指标成分体外释放的 $Q-T^{1/2}$ 曲线图显示每种成分的 6 份样品的曲线基本一致,离散

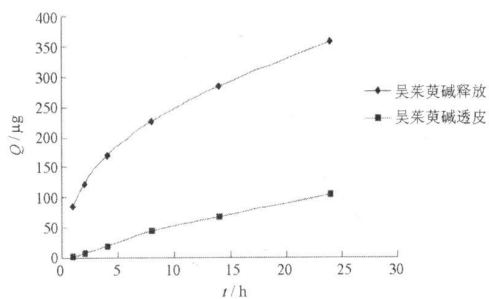


图 9 吴茱萸释放和透皮比较曲线图

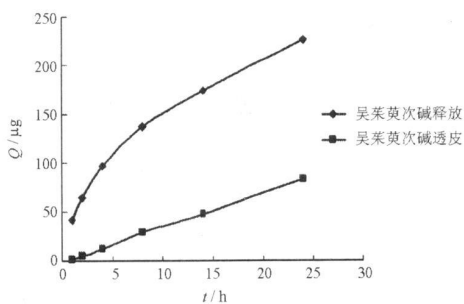


图 10 吴茱萸次碱释放和透皮比较曲线图

度比较小;横向比较 4 种指标成分释放规律一致, 黄连巴布膏的体外释放符合 Higuchi 方程。释放速率显示小檗碱>巴马汀>吴茱萸碱>吴茱萸次碱。

在样品测定过程中, 本研究首次用 1 种流动相, 在单一波长下, 分离 4 种指标成分吴茱萸碱、吴茱萸次碱、巴马汀、小檗碱, 如图 1~4。从色谱图上可以很清晰的看出, 无论是样品、对照品还是样品和对照品的混合样品, 4 种指标成分都分离的相当好, 所以该方法不仅满足了测定要求, 并且大大减少了含量测定的工作量, 并为中药复方多指标成分的测定提供了参考。

[参考文献]

- [1] 李宇, 韩凤梅, 柳伟, 等. 反相高效液相色谱法测定加味左金丸中盐酸小檗碱和吴茱萸次碱的含量[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(4): 8.
- [2] 于治国, 侯晓虹, 马俊凤, 等. HPLC 测定吴茱萸及其制剂中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J]. 中国药理学杂志, 1999, 34(10): 10.
- [3] 吴春红, 谢颖. RP-HPLC 法测定黄连中小檗碱含量的研究[J]. 华西医学, 2006, 21(3): 467.
- [4] 刘淑芝, 费虹, 汤亚池, 等. 中药巴布剂制备工艺的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 9.
- [5] 刘淑芝, 彭丽华, 郭春燕, 等. 两种巴布剂基质体外释放度的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 5.

Study on vitro release and transdermal behaviors of Yulian cataplasms

DU Maobao, LIU Shuzhi*, LI Manling, JIN Rixian, KANG Chen, LI Junhong

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To investigate the regularity of Yulian Cataplasms in vitro release and transdermal behaviors. Method: Improved Franz diffusion devices was used with four index ingredients as evodiamine, rutaecarpine, palmatine and berberine that were determined by HPLC in one mobile Phase. Result: The release rates of evodiamine, rutaecarpine, palmatine and berberine were 0.023 9, 0.015 6, 0.072 5, 0.819 1 $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2}$, respectively. The transdermal rates of evodiamine, rutaecarpine, palmatine and berberine were 1.256, 1.030 2, 2.802 9, 20.919 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. Conclusion: The releasing process of all index is in accordance with Higuchi equation and the transdermal process is in accordance with zero-level equation.

[Key words] cataplasms; huanglian; rutaecarpine; vitro release; transdermal

[责任编辑 周 驰]