

· 药物代谢 ·

烧伤愈合软膏及其水凝胶中 3 种小檗碱型生物碱的药动力学分析

徐彬^{1,2}, 陈永刚¹, 邹吉利¹, 吴金虎^{1*}

(1. 武汉市第三医院药学部, 武汉 430060; 2. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065)

[摘要] **目的:** 建立大鼠血浆中盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的 HPLC 测定, 比较烧伤愈合软膏及其水凝胶中 3 种生物碱的生物利用度。**方法:** 制备大鼠深二度烫伤模型, 创面分别按 0.02 g·g⁻¹ 剂量给予烧伤愈合软膏及其水凝胶, 通过 HPLC 测定不同采血点血浆中 3 种生物碱的含量, 采用 PKsolver 2.0 软件拟合求算药动力学参数。**结果:** 3 种生物碱的药-时曲线呈非房室模型, 水凝胶组中生物碱在大鼠体内的生物利用度优于烧伤愈合软膏组, 水凝胶组中 3 种生物碱的 C_{max} 提高了 1.2 ~ 2.6 倍, AUC_{0-24 h} 提高了 1.2 ~ 1.7 倍。**结论:** 建立的 HPLC 简单、可靠, 可用于小檗碱型生物碱血药浓度分析及其药代动力学分析; 烧伤愈合软膏及其水凝胶经皮吸收迅速, 释放缓慢。

[关键词] 烧伤愈合软膏; 水凝胶; 生物碱; 药代动力学; 深二度烫伤模型; 盐酸小檗碱

[中图分类号] R283.6; R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0099-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110099

Pharmacokinetics of Three Alkaloids in Burn Healing Creams and Its Hydrogels

XU Bin^{1,2}, CHEN Yong-gang¹, ZOU Ji-li¹, WU Jin-hu^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430060, China;

2. Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a sensitive and specific HPLC method for determination of plasma concentrations of three alkaloids in rats plasma and compare their bioavailabilities in burn healing ointments and hydrogels. **Method:** Deep II scald model of rats was established, wound were given burn healing ointments and hydrogels with 0.02 g·g⁻¹, respectively. Then plasma concentrations of three alkaloids at different time points were determined by HPLC and major pharmacokinetic parameters were estimated by PKsolver 2.0 software. **Result:** Concentration-time curves of three alkaloids conformed to a atrioventricular model, *in vivo* bioavailability of three alkaloids in hydrogels group were superior to ointments group, compared to the latter, the former existed 120%~260% increases in C_{max} and 120%~170% increases in AUC_{0-24 h}. **Conclusion:** This established HPLC method was simple and sensitive to determine concentrations of three alkaloids in rats plasma and could be used for pharmacokinetic analysis; it could find that two dosage forms were quickly absorbed and slowly released.

[Key words] burn healing ointments; hydrogels; alkaloids; pharmacokinetics; deep II scald model; berberine hydrochloride

[收稿日期] 20130904(015)

[基金项目] 湖北省科技计划自然科学基金(2011CDB298)

[第一作者] 徐彬, 在读硕士, 从事药剂学研究, Tel:15377014189, E-mail:xubin7949@163.com

[通讯作者] * 吴金虎, 主任药师, 从事医院制剂开发研究, Tel:027-68894893, E-mail:wjhyx@163.com

烧伤愈合软膏是武汉市第三医院烧伤科自主研发的中药复方软膏剂,由黄连、乳香、没药、煅石膏、炉甘石、枯矾等药材粉末辅以羊毛脂、凡士林和石蜡油混合制成,批准文号[鄂药制字(2001)第 BZ02-047],是治疗成人深二度烧伤的首选药物之一^[1]。该制剂临床使用多年,疗效确切,但涂抹、清洗、换药较困难,包扎后气味难闻,给患者带来了很大痛苦。前期试验已对烧伤愈合软膏提取工艺进行考察,利用黄蓍树胶粉混合提取液制成水凝胶,在气味、质地、流动性、涂抹舒适度等方面有较大改观,预测其治疗烧伤的主要活性成分小檗碱型生物碱透皮吸收进入血液含量亦会提高^[2]。本实验通过考察烧伤愈合软膏及其水凝胶中盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱在大鼠体内的药动学,比较 2 种制剂中生物碱的透皮吸收量,为该软膏剂体内药效物质基础研究及二次开发提供参考。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), BT25S 型 1/10 万电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司), Master-SUF 型实验室超纯水机(上海和泰仪器有限公司), TGL-16M 型台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司), XH-B 型旋涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司), JNT-YLS 型烫伤强度仪(淮北正华生物仪器设备有限公司), HGC-2A 型氮吹仪(北京中兴汇利科技发展有限公司)。

黄连、乳香、没药、冰片等药材均由武汉市第三医院中药房提供,经药学部吴金虎教授鉴定均符合 2010 年版《中国药典》相关项下规定^[3];盐酸黄连碱对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-12032301),盐酸小檗碱、盐酸巴马汀对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110713-200911, 110732-201108),烧伤愈合软膏(自制,批号 20130510, 20130520, 20130530),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体重 200 ~ 250 g,由湖北省实验动物研究中心提供,许可证号 SCXK(鄂)2010-0009,试验前动物置于室内适应环境 1 周,室温 18 ~ 25 ℃。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Gemini-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.04 mol·L⁻¹磷酸二氢钠溶液(30:70),柱温 40 ℃,检测波长 345 nm,进样量 25 μL。

2.2 对照品溶液的配制 精密称定黄连碱、巴马汀和小檗碱对照品适量,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容到刻度,得质量浓度分别为 0.043, 0.04, 0.107 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液,作为母液备用。

2.3 烫伤模型的制备 取大鼠 12 只,随机分成 2 组,每组 6 只,分别为烧伤愈合软膏治疗组和水凝胶治疗组;另取 3 只造模后作病理切片观察。大鼠造模前 12 h 背部脱毛,断食不断水饲养。采用 JNT-YLS 烫伤强度仪,用直径 2 cm 的烫头 75 ℃ 烫伤 15 s,通过病理切片证实大鼠皮肤深二度烫伤模型制备成功^[4-5]。

2.4 血样的处理 大鼠烫伤后立即在创面按生药量 0.02 g·g⁻¹ 经皮给药,分别涂抹烧伤愈合软膏和水凝胶适量,分别于给药后 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24 h 眼眶静脉丛采血 0.4 mL,置于用肝素润洗过的离心管中,于 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液 100 μL 置于另一离心管中,加入甲醇 300 μL,旋涡混匀 30 s,于 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1 项下方法进样分析。

2.5 标准曲线的绘制 分别精密量取 0.313, 0.625, 1.25, 2.50, 5 mL 混合对照品母液置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容刻度,摇匀,得系列混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱回归方程分别为 $Y = 2 \times 10^7 X - 6 508.3$ ($R^2 = 0.999 7$), $Y = 3 \times 10^7 X - 6 563.7$ ($R^2 = 0.999 4$), $Y = 3 \times 10^7 X - 15 261$ ($R^2 = 0.999 6$),线性范围分别为 2.69 ~ 43, 2.50 ~ 40, 6.70 ~ 107 μg。

2.6 工作标准曲线的绘制 精密量取 2.5 项下系列混合对照品溶液 1 mL,于 60 ℃ 氮气流下吹干,加入空白血浆 1 mL,摇匀,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下方法进样分析,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱工作标准曲线依次为 $Y = 2 \times 10^7 X - 7 017.8$ ($R^2 = 0.999 3$), $Y = 2 \times 10^7 X - 5 999.9$ ($R^2 = 0.998 8$), $Y = 3 \times 10^7 X - 15 564$ ($R^2 = 0.998 6$)。

2.7 回收率试验 取空白血浆 1 mL,按 2.4 项下方法操作,加入适量混合对照品溶液,制备 3 个质量浓度(盐酸黄连碱、盐酸巴马汀均为 0.68, 2.71, 10.83 mg·L⁻¹,盐酸小檗碱 1.67, 6.69, 26.75 mg·L⁻¹)的模拟血样,每个质量浓度测定 3 次;另取相应质量浓度的混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱

条件测定,以每个质量浓度2种处理方法的峰面积比值计算提取回收率($\bar{x} \pm s$),结果盐酸黄连碱分别为(76.67 ± 2.91)%, (86.14 ± 1.89)%, (93.22 ± 1.62)%, 盐酸巴马汀(73.86 ± 3.18)%, (85.67 ± 3.18)%, (93.13 ± 2.39)%, 盐酸小檗碱(72.77 ± 3.01)%, (87.00 ± 1.86)%, (93.40 ± 1.76)%。

2.8 精密度试验 取2.7项下低、中、高3个质量浓度的混合对照品血浆样品($n = 5$),于1 d内按2.1项下色谱条件测定,计算日内精密度;另取一份样品,连续测定5 d,计算日间精密度,结果RSD均 < 15%。

2.9 药-时曲线的绘制 将各时间点采集的血样处理后进行HPCL分析,记录峰面积,计算盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱含量,绘制药-时曲线,结果见图1。

2.10 药代动力学参数计算 将时间-血药浓度数据输入PKsolver软件^[6]进行拟合分析,发现烧伤愈

合软膏及其水凝胶均符合非房室模型^[7-8],药动学参数见表1~2。

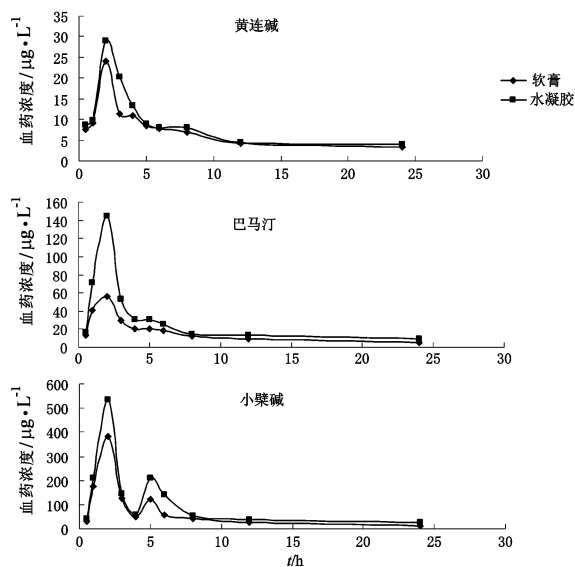


图1 烧伤愈合软膏及其水凝胶中3种生物碱成分的药-时曲线

表1 烧伤愈合软膏中3种生物碱成分的药动学参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	盐酸黄连碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
$t_{1/2}$	h	14.06 ± 4.77	12.46 ± 5.33	9.89 ± 1.25
t_{max}	h	2.10 ± 1.31	2.56 ± 2.05	2.32 ± 1.06
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	24.07 ± 7.36	56.16 ± 20.69	383.07 ± 108.86
t_{lag}	h	0	0	0
$\text{AUC}_{0-24\text{h}}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	152.25 ± 52.07	330.84 ± 120.53	1 333.89 ± 769.22
$\text{ACU}_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	219.38 ± 110.66	416.79 ± 265.87	1 516.38 ± 906.97
$\text{MRT}_{0-\infty}$	h	19.45 ± 3.65	14.50 ± 4.28	9.92 ± 1.76
V_z/F	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	76.26 ± 28.25	35.59 ± 12.33	7.77 ± 2.10
CL/F	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	3.76 ± 2.01	1.97 ± 1.69	0.55 ± 0.96

表2 水凝胶中3种生物碱成分的药动学参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	盐酸黄连碱	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱
$t_{1/2}$	h	16.72 ± 3.26	24.17 ± 6.68	15.97 ± 4.32
t_{max}	h	2.65 ± 2.21	2.88 ± 1.87	2.17 ± 1.13
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	29.00 ± 6.58	144.36 ± 42.16	534.44 ± 256.46
t_{lag}	h	0	0	0
$\text{AUC}_{0-24\text{h}}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	179.60 ± 68.95	558.62 ± 276.45	1 958.75 ± 1 032.1
$\text{ACU}_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	278.96 ± 108.68	874.94 ± 433.26	2 250.70 ± 1 456.38
$\text{MRT}_{0-\infty}$	h	22.55 ± 3.27	25.73 ± 4.42	15.95 ± 3.65
V_z/F	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	71.32 ± 20.08	32.88 ± 9.77	7.45 ± 1.39
CL/F	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	2.95 ± 1.41	0.94 ± 1.52	0.32 ± 0.87

3 讨论

文献报道大鼠灌胃或注射含盐酸小檗碱型生物碱的药物后,小檗碱型生物碱的 t_{max} 约2 h^[9-10],正常皮肤给药后 t_{max} 约4 h^[11],本文将大鼠皮肤烫伤后给

药,生物碱类成分更容易透过皮肤进入血液, t_{max} 为2~3 h,透皮吸收速率介于灌胃和正常皮肤给药之间。烧伤愈合软膏及其水凝胶中含生药量相同,但水凝胶中3种生物碱成分经皮吸收进入血液

大鼠体内麻黄汤中总生物碱的药代动力学考察 及其与盐酸麻黄碱含量变化的比较

江峰¹, 杨真真², 吴华嵩³, 李孝栋^{2*}

(1. 厦门大学附属中山医院, 福建 厦门 361004; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350108;
3. 福建省中医药研究院, 福州 350003)

[摘要] 目的: 考察麻黄汤中总生物碱在大鼠体内的药代动力学过程, 比较其与盐酸麻黄碱的体内含量变化。方法: 大鼠口服灌入麻黄汤, 于不同时间点眼眶取血, 采用酸性染料比色法测定血浆样品中总生物碱含量, 通过3P97软件进行房室模型拟合并计算药代动力学参数, 利用HPLC测定血浆样品中盐酸麻黄碱含量, 比较二者在大鼠体内的含量变化。结果: 总生物碱在4~144 mg·L⁻¹与吸光度呈良好线性关系。总生物碱在大鼠体内的代谢过程符合一室模型, $t_{1/2} = 339.88$ min, $t_{max} = 265.86$ min, $AUC = 326\ 631.38$ min·mg·L⁻¹; 盐酸麻黄碱10 min入血, 但在第6 h基本未能测出。结论: 酸性染料比色法可用于麻黄汤中总生物碱的药代动力学分析, 方法准确可靠。盐酸麻黄碱入血、消除均较快。

[关键词] 麻黄汤; 总生物碱; 酸性染料比色法; 药代动力学; 盐酸麻黄碱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0102-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110102

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1611.026.html>

[网络出版时间] 2014-03-24 16:11

[收稿日期] 20130918(007)

[基金项目] 福建省科技厅项目(2010Y2004)

[第一作者] 江峰, 副主任药师, 从事医院药学研究, Tel:13003942577, E-mail: xmwsjf@163.com

[通讯作者] * 李孝栋, 博士, 副教授, 从事中药制剂与质量控制研究, Tel:0591-22861135, E-mail: lxdtem@163.com

的质量均大于烧伤愈合软膏, 可能与剂型、辅料等有关。

[参考文献]

- [1] 袁汀, 周瑜妹. 外用中药治疗烧烫伤的研究进展[J]. 光明中医, 2010, 25(11): 2151.
- [2] 王静, 袁子明, 李可强, 等. 黄连提取物中盐酸小檗碱在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2284.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 285.
- [4] 王雪妮, 张德芹, 黄云英, 等. 大鼠烫伤模型制备的实验研究[J]. 天津中医药大学学报, 2011, 30(4): 218.
- [5] 杨莉, 田吉来, 柯学. 纳米级与微米级珍珠粉对大鼠深Ⅱ度烫伤的药效学评价[J]. 临床医药实践, 2012, 21(4): 281.
- [6] Zhang Y, Huo M R, Zhou J P, et al. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data

analysis in Microsoft Excel[J]. Comput Meth Prog Bio, 2010, 99(3): 306.

- [7] 白耀武, 杨俊红, 王树华. 非房室模型统计矩方法测定妊娠晚期孕妇瑞芬太尼的药代动力学特点[J]. 河北医药, 2009, 31(18): 2382.
- [8] 陈潮, 许羚, 郑青山. 药代动力学非房室模型终末段半衰期的算法研究[J]. 定量药理学, 2013, 18(8): 891.
- [9] 肖学风, 乔晓莉, 高岚, 等. 黄连解毒汤中三种成分在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国医药导报, 2008, 5(3): 13.
- [10] 李艺, 游雪甫, 蒋建东. 小檗碱的药动学研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(9): 733.
- [11] 王彦礼, 刘淑芳, 王岚, 等. 黄连巴布膏中盐酸巴马汀和小檗碱的药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 129.

[责任编辑 刘德文]