

苦豆子生物碱涂膜剂的体外透皮试验

李军*, 郭超, 韩梅, 高莉莉, 冷晓红

(宁夏职业技术学院, 宁夏中药材开发与利用工程技术研究中心, 银川 750021)

[摘要] 目的: 优选苦豆子生物碱涂膜剂的体外透皮试验条件。方法: 利用UV测定苦豆子生物碱含量, 检测波长410 nm。选择奶牛乳房皮肤, 通过Franz垂直扩散池法考察苦豆子生物碱涂膜剂的透皮性能, 考察甘油、氮酮及两者合用对该涂膜剂透皮吸收的影响。结果: 不同促渗剂对苦豆子生物碱的促透作用顺序为5%氮酮+3%甘油>3%氮酮+3%甘油>8%氮酮>5%氮酮>3%氮酮>3%甘油>1%甘油>1%氮酮, 透皮吸收速率最高达 $62.96 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ 。结论: 5%氮酮联合3%甘油可显著增加苦豆子生物碱涂膜剂的透皮性能。

[关键词] 苦豆子生物碱涂膜剂; 体外透皮试验; 总生物碱; 氮酮; 槐定碱; 甘油; 乳房炎

[中图分类号] R284.1; R944.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0045-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130045

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1545.027.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 15:45

In vitro Transdermal Test of Alkaloids from *Sophora alopecuroides* Plastics

LI Jun*, GUO Chao, HAN Mei, GAO Li-li, LENG Xiao-hong

(Ningxia Polytechnic, Ningxia Engineering Technology Research Center of Development and Utilization of Chinese Herbs, Yinchuan 750021, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize *in vitro* transdermal test conditions of alkaloids from *Sophora alopecuroides* plastics. **Method:** UV was adopted to determine the content of alkaloids from *S. alopecuroides* with detection wavelength at 410 nm. Utilized skin on udder, franz vertical diffusion cell was adopted to investigate transdermal absorption of alkaloids from *S. alopecuroides* plastics, effects of azone, glycerol and combination of both of them on transdermal absorption of this plastics was investigated. **Result:** Effect of enhancers on alkaloids from *S. alopecuroides* was in order of 5% azone + 3% glycerol > 3% azone + 3% glycerol > 8% azone > 5% azone > 3% azone > 3% glycerol > 1% glycerol > 1% azone, transdermal absorption rate was up to $62.96 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. **Conclusion:** Combination of azone and glycerol could significantly increase percutaneous permeability of alkaloids from *S. alopecuroides* plastics.

[Key words] alkaloids from *Sophora alopecuroides* plastics; transdermal test; total alkaloids; azone; sophoridine; glycerol; mastitis

苦豆子生物碱具有清热解毒、抗菌消炎、通经活血、提高免疫功能的药理作用, 可作为防治奶牛乳房炎的新型药物制剂原料^[1-2]。涂膜剂具备不受肝脏首过效应和胃肠道破坏影响、可直达病灶的独特优

点。将苦豆子生物碱制备为成膜性好、稳定性高、刺激性小的涂膜剂, 应用价值很高^[3]。本实验采用Frank扩散池法考察苦豆子涂膜剂中生物碱类成分在奶牛乳房皮肤的体外渗透过程^[4], 考察药物渗透过程中的影响因素, 优化涂膜剂处方, 为开发预防奶牛乳房炎的新型中药制剂提供参考。

1 材料

TU-1810型紫外-可见分光光度计(北京普析通用分析仪器有限公司), RYJ-6A型药物透皮扩散实

[收稿日期] 20140210(010)

[基金项目] 宁夏自然科学基金项目(NZ12218)

[通讯作者] *李军, 硕士, 讲师, 从事中药与制剂技术研究, Tel:0951-2135415, E-mail:lijunamy@126.com

验仪(上海黄海药检仪器有限公司), AE-240 型 1/万电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。苦豆子生物碱浸膏(自制,纯度 >85%), 槐定碱对照品(批号 110784-200303, 中国食品药品检定研究院), 聚乙烯醇(国药集团化学试剂有限公司), 氮酮(阿拉丁化学品有限公司), 甘油(天津市瑞金特化学品有限公司), 奶牛乳房皮肤(吴忠屠宰场), 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 苦豆子生物碱涂膜剂的制备 称取聚乙烯醇 6 g, 加适量水浸泡, 充分溶胀后置于沸水浴中溶解; 精密称取苦豆子生物碱浸膏 2 g, 置于溶解了聚乙烯醇的烧杯中, 加入适量甘油和氮酮, 溶解至膜液中, 加入适量无水乙醇至 100 mL, 混匀, 即得。

2.2 离体奶牛乳房皮的制备 取屠宰后奶牛的乳房, 冲洗干净后, 剥离无损伤皮肤, 用刀刮净皮肤表面毛发, 仔细剥离皮下肌肉、血管和脂肪组织, 用生理盐水洗净, 置冰箱冷冻保存, 1 周内使用。

2.3 苦豆子生物碱的含量测定 苦豆子生物碱涂膜剂透皮接收液中含有多种单体生物碱, 其中以槐定碱含量最高, 故选择槐定碱为指标成分, 采用溴麝香草酚蓝比色法测定^[5]。

2.3.1 标准曲线绘制 精密称取槐定碱对照品 5 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得储备液。精密吸取储备液 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 μL , 分别置于 50 mL 磨口锥形瓶中, 挥尽乙醇, 加入 pH 7.6 溴麝香草酚蓝缓冲液和三氯甲烷各 12 mL, 密塞剧烈振荡 2 min, 静置 2 h 后分出三氯甲烷层, 以无水乙醇为空白, 于 410 nm 处测定吸光度(A), 以 A 为纵坐标, 质量浓度(C)为横坐标, 得回归方程 $A = 0.013\ 83C - 0.014\ 33$ ($r = 0.999\ 8$)。

2.3.2 专属性试验 将空白涂膜剂基质分别涂于经处理的奶牛乳房皮, 加生理盐水 6 mL 作为空白接收液, 透皮吸收 24 h, 精密吸取空白接收液 0.5 mL 置锥形瓶中, 按 2.3.1 项下方法测定 A, 结果显示皮肤内源性成分对苦豆子生物碱的含量测定无干扰。

2.3.3 精密度试验 取 1.01 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 槐定碱对照品溶液, 按 2.3.1 项下方法操作, 于 410 nm 处测定 A ($n = 5$), 结果 RSD 0.285%, 说明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同批次苦豆子生物碱涂膜剂透皮接受液, 按 2.3.1 项下方法操作, 每隔 30 min 于 410 nm 处测定 A ($n = 5$), 结果 RSD 0.624%, 说明供试品溶液在 2 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 取同批次苦豆子生物碱涂膜剂透皮接受液, 按 2.3.1 项下方法平行配制 6 份供试品溶液, 结果平均 $A = 0.620$, RSD 1.71%, 说明该方法重复性好。

2.3.6 回收率试验 精密量取已知含量的苦豆子生物碱涂膜剂透皮接受液 0.3 mL (总生物碱质量 22.95 μg), 共 6 份, 分别加入槐定碱对照品溶液 25 μg , 按 2.3.1 项下方法处理, 结果苦豆子生物碱的平均回收率 97.40%, RSD 1.89%, 表明该方法稳定可靠。

2.4 体外透皮试验 取离体奶牛乳房皮肤固定于扩散池上, 角质层朝上, 以皮肤恰好与液面接触为好, 排尽气泡, 将涂膜剂 0.2 mL 均匀涂于奶牛皮肤表面, 扩散池体积 6.0 mL, 有效扩散面积 1.77 cm^2 , 水浴温度 (37 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 接受液为生理盐水, 600 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒速搅拌接受液, 分别于 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12 h 定时取样 1 mL, 及时补充等体积等温度的接受液, 取接受液 0.5 mL 按 2.3.1 项下方法测定 A, 计算单位面积累积透皮吸收量(Q)。

$$Q = m_n / S = v C_n^i / S = (VC_n + V \sum C_{n-1}) / S$$

式中 m_n 为校正后接受池中苦豆子生物碱质量, v 为接受池内溶液体积, C_n^i 为第 n 次样品的校正质量浓度, C_n 为第 n 次样品的实测质量浓度, V 为每次取样量, S 为扩散池有效扩散面积。

2.4.1 甘油用量对透皮吸收的影响 为保证涂膜剂的可塑性, 又不影响涂膜剂的成膜时间, 选取甘油用量 1%, 3% 进行透皮吸收试验, 计算透皮吸收速率($J_s, \bar{x} \pm s, n = 11$), 结果见表 1, 故选择甘油用量 3%。

表 1 不同促渗剂对苦豆子生物碱涂膜剂体外透皮吸收特性的影响

促渗剂	质量 分数/%	回归方程	r	J_s / $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$
甘油	1	$Q = 22.30t - 12.25$	0.995 4	22.30 ± 0.710
	3	$Q = 30.01t - 10.67$	0.997 0	30.01 ± 0.776
氮酮	1	$Q = 14.58t - 10.07$	0.997 8	14.58 ± 0.322
	3	$Q = 30.25t + 24.24$	0.992 6	30.25 ± 1.234
	5	$Q = 44.90t + 7.63$	0.993 9	44.90 ± 1.656
氮酮 + 甘油	8	$Q = 44.99t - 12.86$	0.994 4	44.99 ± 1.589
	3 + 3	$Q = 47.69t + 52.68$	0.990 7	47.69 ± 2.151
	5 + 3	$Q = 62.96t + 10.78$	0.991 7	62.96 ± 2.889

2.4.2 氮酮用量对透皮吸收的影响 氮酮的最佳用量为 2% ~ 10%。分别配制含氮酮 1%, 3%, 5%, 8% 的苦豆子生物碱涂膜剂进行体外透皮试验, 结果

见表1,表明当氮酮用量增加至5%时, J_s 增加不显著,故当2种透皮吸收促进剂合用时,氮酮用量选择3%和5%。

2.4.3 甘油和氮酮复合促渗剂对透皮吸收的影响

分别配制含氮酮3%和5%联合3%甘油的苦豆子生物碱涂膜剂进行体外透皮吸收试验,结果见表1,表明当甘油和氮酮联合使用后 J_s 较单独使用甘油或氮酮显著提高。

3 讨论

苦豆子生物碱涂膜剂主要用于预防和治疗奶牛乳房炎,为保证离体皮肤和作用病灶皮肤的一致性,本文选择离体奶牛乳房皮为透皮介质,剔除干净脂肪和肌肉组织,尽量使用同一头奶牛相近部位的乳房皮,以免影响试验结果。

向扩散池中装接受介质时,要排除气泡,介质必须与皮肤充分接触,尤其当试验时间较长时,接收液宜及时补充,以免接收液的液面不接触牛皮而影响透皮效果^[6]。接受池中生理盐水在使用前应用超声波进行脱气,以避免形成气泡,影响皮肤与生理盐水的接触^[7]。

氮酮的吸湿性强,可水化角质层成分,改变细胞角质双分子层的致密性,增大角质层的通透性,具有很强的透皮吸收促进作用。甘油除具有增塑剂和保湿剂的作用外,还具有一定促渗作用^[8],单独使用时促透作用不明显,与其他促渗剂联合使用时可产生明显协同促透作用。另外预试验使用薄荷脑和冰

片作为促渗剂制备涂膜剂时,发现其对皮肤具有一定刺激性,甚至发生红肿和发痒等不良反应,故选择甘油和氮酮作为增塑剂和促渗剂。

[参考文献]

- [1] 周伟业. 奶牛乳房炎病因及中西医疗法[J]. 兽医导刊, 2011(10):34.
- [2] 王晓娟,姜斌,李丽君,等. 苦豆子总碱对急性期溃疡性结肠炎小鼠血清IL-1 β ,IL-4的影响[J]. 中国中药杂志, 2010,35(9):1177.
- [3] Febriyenti A M. Physical evaluations of Haruan spray for wound dressing and wound healing [J]. Inter J Drug Deliv, 2011,3(1):115.
- [4] 葛克亚,杜茂波,刘淑芝,等. 万通筋骨喷雾剂的体外经皮渗透效果考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5):1.
- [5] 李军,冷晓红,郝彩琴. 苦豆草生物碱提取方法的研究[J]. 安徽农学通报, 2010,16(17):47.
- [6] Schroeder I Z, Franke P, Schaefer U F, et al. Delivery of ethinyl estradiol from film forming polymeric solutions across human epidermis *in vitro* and *in vivo* in pigs[J]. J Control Release, 2007,118(2):196.
- [7] 曾谕,黄洁迪,刘灿红,等. 复方大黄涂膜剂中助透剂选择的研究[J]. 中草药, 1999,30(12):906.
- [8] 常忆凌. 药剂学[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2008:302.

[责任编辑 刘德文]

《中国中药杂志》2014年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2014年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.ejcm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。