

“冬病夏治”方药配伍对延胡索乙素经皮吸收特性的影响

黄雨威¹, 黄水红², 黄怀吉², 徐惠芳¹

(1. 武汉市中医医院, 武汉 430014; 2. 建始县人民医院, 湖北 恩施 445300)

[摘要] 目的:探讨“冬病夏治”方药配伍对延胡索乙素经皮吸收特性的影响。方法:采用 Franz 扩散池和离体大鼠皮肤进行体外透皮试验,利用 HPLC 测定体外透皮接收液中延胡索乙素的含量,流动相甲醇-0.1% 甲酸,检测波长 280 nm,流速 0.8 mL·min⁻¹。计算不同方药配伍的“冬病夏治”贴膏中延胡索乙素的累积渗透量和渗透速率。结果:不同方药配伍的“冬病夏治”贴膏中延胡索乙素体外透皮行为均符合零级动力学方程,全方组的透皮速率(1.04 μg·cm⁻²·h⁻¹)和 24 h 累积渗透量(29.54 μg·cm⁻²)均大于单味药,差异具有极显著性。全方组与缺甘遂和缺细辛组相比,延胡索乙素的体外渗透率无显著性差异,但与缺白芥子组相比具有显著性差异。结论:“冬病夏治”方药配伍对延胡索乙素的经皮渗透特性有一定影响,方中白芥子能促进延胡索乙素的经皮吸收。

[关键词] “冬病夏治”方药; 延胡索乙素; 经皮吸收特性; 白芥子

[中图分类号] R283.6;R284.1;R289.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0028-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110028

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150414.1123.006.html>

[网络出版时间] 2015-04-14 11:23

Effect of “Treating Winter Disease in Summer” Prescription Compatibility on Percutaneous Absorption Properties of Tetrahydropalmatine HUANG Yu-wei¹, HUANG Shui-hong², HUANG Huai-ji², XU Hui-fang¹
(1. Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, China; 2. The People’s Hospital of Jianshi Country, Enshi 445300, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of “treating winter disease in summer” prescription on compatibility on percutaneous absorption of tetrahydropalmatine. **Method:** Franz-type diffusion cell was employed, taking isolated rat skin as transdermal barrier, HPLC was adopted to determine the content of tetrahydropalmatine in *in vitro* percutaneous absorption liquid with mobile phase of methanol-0.1% formic acid, detection wavelength at 280 nm and flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. Cumulative permeation quantities and penetration rates of tetrahydropalmatine in “treating winter disease in summer” patches with different prescription compatibility were calculated. **Result:** *In vitro* percutaneous behavior of tetrahydropalmatine complied with the zero-order kinetics equation. Penetration rate (1.04 μg·cm⁻²·h⁻¹) and cumulative permeation quantity (29.54 μg·cm⁻²) of the whole group were greater than a single herb and difference was statistically significant. By comparing with the lack of Kansui Radix group and the lack of Asari Radix et Rhizoma group, effect of the whole group on *in vitro* percutaneous absorption of tetrahydropalmatine had no significant, however, compared with the lack of Semen Sinapis, difference was statistically significant. **Conclusion:** “Treating winter disease in summer” prescription compatibility has a certain influence on percutaneous absorption of tetrahydropalmatine, Semen Sinapis can enhance transdermal absorption of tetrahydropalmatine.

[Key words] “treating winter disease in summer” prescription; tetrahydropalmatine; percutaneous absorption properties; Semen Sinapis

[收稿日期] 20140806(024)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(S2012010008990)

[第一作者] 黄雨威, 硕士, 从事药物制剂的新剂型与新技术研究, Tel:13247160118, E-mail:370475306@qq.com

“冬病夏治”穴位贴敷疗法是根据《素问·四气调神大论》中“天人相应”、“春夏养阳,秋冬养阴”等养生和治疗原则^[1],结合现代透皮给药系统理论,对某些慢性疾病的冬季发病次数有所减少,并且能改善其症状,使疾病痊愈。临床主要用于治疗以咳嗽为主的慢性反复发作性肺系疾病,具有广泛的实践基础及确切疗效^[2-4]。

临床贴敷的“冬病夏治”方药多源于《张氏医通》^[5]的冷哮方,该方由白芥子、延胡索、甘遂、细辛等组成。方中白芥子、延胡索为君药,辛温助阳、行气散结;细辛为臣,辛温宣肺、散寒止通、温肺化饮,佐以甘遂,既防辛温太过又助其行气散结之功。“冬病夏治”穴位贴敷的药物多具有较强刺激性,能使皮肤发红、发热甚至起泡,从而破坏皮肤的正常屏障功能。研究表明^[6]皮肤屏障通常在皮肤发生病变或被破坏时变得薄弱,使药物分子的渗透阻力大大下降,从而增加了皮肤的渗透性。本实验拟通过研究不同方药配伍中延胡索乙素的经皮吸收特性,探讨“冬病夏治”方药配伍对延胡索乙素经皮渗透特性的影响,推测复方中能影响延胡索乙素经皮吸收的药物,为穴位贴敷疗法方药的配伍提供参考。

1 材料

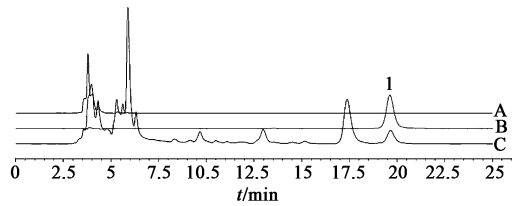
LC-20AT型高效液相色谱仪和AUW120D型电子分析天平(日本岛津公司),TK-12A型透皮扩散试验仪(7 mL立式玻璃扩散池,接口面积2.92 cm²,上海凯谱科技贸易有限公司)。白芥子、延胡索、甘遂等药材(广州致信中药饮片有限公司,经广州中医药大学李薇教授鉴定,均符合2010年版《中国药典》一部相关项下要求),延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号111702),甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。SPF级SD大鼠,雄性200~250 g,由广州中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(粤)2008-0020。

2 方法与结果

2.1 延胡索乙素的含量测定

2.1.1 色谱条件 TC-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.1%甲酸(63:37,用三乙胺调pH 6),检测波长280 nm,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温30℃。理论塔板数按延胡索乙素峰计算不低于3 000,见图1。结果显示基线噪音较小,空白皮肤及方药中其他药物对体外透皮接收液中延胡索乙素的峰形无干扰,对称因子、理论塔板数、拖尾因子均符合要求,说明该方法具有较好的专属性。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素



A. 空白样品;B. 对照品;C. 供试品;1. 延胡索乙素

图1 “冬病夏治”贴膏透皮接受液 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of *in vitro* percutaneous absorption liquid of “treating winter disease in summer” patches

对照品2.5 mg,置于25 mL量瓶中,加10%乙醇生理盐水定容,即得,于-20℃冰箱中保存备用。

2.1.3 线性范围的考察 精密吸取对照品溶液适量,分别置于10 mL量瓶中,用10%乙醇生理盐水配成1,2,4,10,20,100 mg·L⁻¹的系列对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样10 μL,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 9\,608.6X - 6\,823.4$ ($R^2 = 0.999$),线性范围0.01~1.0 μg。

2.1.4 精密度试验 精密吸取1,10,100 mg·L⁻¹的延胡索乙素对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件测定,每种质量浓度1 d内重复进样6次,计算日内精密度RSD均<1.9%;重复测定3 d,计算日间精密度RSD均<2.8%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 取同一样品溶液,在48 h内每隔4 h进样1次,按2.1.1项下色谱条件测定,计算延胡索乙素峰面积的RSD 1.2%,表明样品溶液在-20℃冰箱中48 h内稳定。

2.1.6 回收率试验 精密吸取延胡索乙素对照品溶液0.05,0.5,5.0 mL,分别置于5 mL量瓶中,加不含药物的空白接收液定容至刻度,按2.1.1项下色谱条件测定,各质量浓度样液重复测定3次,计算回收率分别为101.57%,99.74%,98.58%,RSD依次为1.3%,0.9%,1.9%,表明该方法的回收率符合要求。

2.1.7 定量限与检测限 取样品溶液适量,分别配制系列质量浓度的延胡索乙素溶液,按2.1.1项下色谱条件进样10 μL,计算检测限约2.5 ng(S/N=3),定量限约5 ng(S/N=10)。

2.2 “冬病夏治”方药的制备 将处方药分为全方组(白芥子、延胡索、甘遂、细辛)、缺白芥子组(延胡索、甘遂、细辛)、缺甘遂组(白芥子、延胡索、细辛)、缺细辛组(白芥子、延胡索、甘遂)、延胡索药材组。白芥子-延胡索-甘遂-细辛(2:2:1:1)按上述分组方

式分别研成细小粉末,过 7 号筛,每组另取混合药粉 10 g,用生姜汁 10 mL 调成与 Franz 扩散池有效透皮面积相等的药饼^[5]。

2.3 离体透皮试验^[7] 取雄性 SD 大鼠,用 10% 水合氯醛麻醉,8% 硫化钠脱毛^[8],用生理盐水擦拭干净,恢复 3 d,试验前 1 天断头处死,取腹部脱毛皮肤,除去皮下脂肪及黏液组织,用生理盐水浸泡至皮肤无浑浊,取出,用锡箔纸包裹至 -20 °C 冰箱中保存。采用 Franz 扩散池,取制备好的大鼠皮放在生理盐水中浸泡 1 h 恢复至室温,用滤纸吸干表面水分,检查皮肤的完整性,确保皮肤完好无损,角质层面向供给池,真皮层面向接收池,接收池中注入 10% 乙醇生理盐水(使用前超声脱气),角质层面贴上与有效透皮面积相同的“冬病夏治”方药,扩散池保持恒温水浴(32 ± 0.5) °C,200 r·min⁻¹ 磁力搅拌平衡 1 h,分别于 2,5,8,12,24 h 从接收池中精密吸取接收液 1 mL,立即补充同等体积、同温度的生理盐水(注意真皮层与接收液密切接触,不要有气泡),样品液过 0.22 μm 微孔滤膜,保存于 -20 °C 冰箱中。精密吸取续滤液 10 μL 按 2.1.1 项下色谱条件测定,每份样品平行 3 份,重复 5 次,计算各时间点延胡索乙素的单位面积累积透过量(Q)和渗透速率常数(J)。

$$Q_n = \frac{C_n \times V_r + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V}{A}$$

$$J = \frac{dQ}{dt}$$

式中 C_n 为第 n 个时间点的延胡索乙素质量浓度, C_i 为第 i 个取样点的延胡索乙素浓度, V_r 为接收池总体积(7 mL), V 为取样体积(1 mL), A 为有效透皮面积(2.92 cm²)。数据用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,单个时间点下采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey 法。绘制全方组、缺白芥子组、缺甘遂组、缺细辛组、延胡索药材组中延胡索乙素的渗透动力学方程分别为 $Q = 1.04t + 5.08$ ($r = 0.992$), $Q = 0.66t + 2.12$ ($r = 0.992$), $Q = 0.95t + 3.35$ ($r = 0.991$), $Q = 0.82t + 2.93$ ($r = 0.992$), $Q = 0.49t + 2.06$ ($r = 0.994$), J 依次为 1.04, 0.66, 0.95, 0.82, 0.49 μg·cm⁻²·h⁻¹, 释药曲线见图 2。

结果不同方药配伍的“冬病夏治”贴膏中延胡索乙素体外透皮行为符合零级动力学方程,延胡索乙素在 24 h 内体外透皮速率接近恒速,作用时间较长。这为临床中“冬病夏治”穴位贴敷给药每隔 10 d 贴 1 次,即头伏、二伏、三伏各贴 1 次^[9] 提供了理

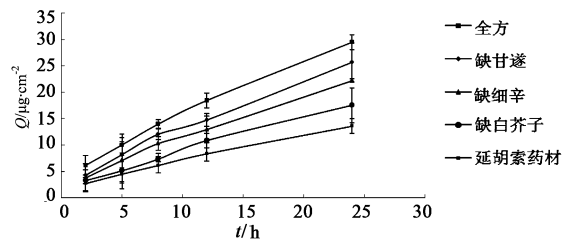


图 2 不同方药配伍的“冬病夏治”贴膏中延胡索乙素累积渗透量-时间曲线

Fig. 2 Cumulative permeation amount-time curves of tetrahydropalmatine in “treating winter disease in summer” patches with different prescription compatibility

论依据。全方组的透皮速率和 24 h 累积渗透量均大于单味药,差异具有统计学意义,说明方药配伍对延胡索乙素的体外渗透率有一定影响。全方组与缺甘遂和缺细辛组相比,延胡索乙素的体外渗透率无显著性差异,但与缺白芥子组相比具有显著性差异,说明方药中白芥子能促进延胡索乙素的经皮吸收。

3 讨论

“冬病夏治”穴位贴敷采用的药物大多为辛温走串药,能持续刺激穴位,使局部血管扩张,促进血液循环,药物吸收后运动加快,吸收更加迅速;有的还能引起局部皮肤红赤,甚则发泡化脓。甘浩庆等^[10]认为发泡对机体的刺激作用较强,使皮肤发生无菌性渗出炎症反应是其主要作用机制。“冬病夏治”方药除了对穴位或患部的刺激作用外,药物的直接药理作用也是一个治疗因素,药物敷于穴位皮肤上,渗达皮下,进入经脉(血脉),随气血运行,内达于脏腑,外络于肢节,散布于全身,从而发挥药物的治疗作用。本文考察了不同“冬病夏治”方药配伍对延胡索乙素体外经皮吸收特性的影响,结果表明复方配伍能促进延胡索乙素的经皮吸收。

“冬病夏治”方药贴敷于相应的穴位后能引起皮肤发赤潮红,在某种酶与神经系统的作用下,引起皮肤角质层中蛋白质可逆性的结构变化,形成疏松组织,加之“三伏天”是一年中阳气最盛的时候,此时人体的腠理开泄,经络气血运行旺盛,药物更易透过皮肤,可增加药物有效成分的渗入^[11]。刘强等^[12]采用裸鼠皮肤为屏障,利用 Franz 扩散池法研究白芥子对黄芩苷透皮吸收作用的影响,结果表明白芥子细粉、白芥子挥发油、白芥子脂肪油均可促进黄芩苷的透皮吸收。马云淑等^[13]考察了白芥子对麻黄碱体外透皮吸收作用的影响,结果表明,白芥子对麻黄碱的透皮速率有一定的促进作用。本文研究结果进一步表明“冬病夏治”方药中白芥子能促进

延胡索乙素的经皮吸收,这可能与白芥子自身的物理化学性质有关,白芥子中主要成分白芥子苷经芥子酶的作用会生成异硫氰酸对羟基苜酯,该成分具有刺鼻的辛辣味,能刺激皮肤,使皮肤发红、发热甚至起泡,从而破坏皮肤的正常屏障功能,促进药物渗透。“冬病夏治”穴位贴敷是药物透皮吸收与经络系统对人体调节的双重效应^[14]。

[参考文献]

[1] 顾从德. 素问·四气调神大论篇第二[M]. 北京:人民卫生出版社,1963:13.
[2] 陈卫华,辛坤,蔡臣安,等. 中药穴位贴敷治疗支气管哮喘疗效观察[J]. 中国针灸,2009,29(4):272-274.
[3] 来暮. 中药穴位贴敷治疗哮喘及呼吸系统疾病临床观察[J]. 辽宁中医杂志,2009,6(6):1005-1006.
[4] 李慧,刘清华. 中药敷贴治疗支气管炎、哮喘100例分析[J]. 中国民族民间医药,2011,21(2):82.
[5] 张璐. 张氏医通[M]. 北京:中国中医药出版社,1995:26.
[6] 梁秉文. 经皮给药制剂[M]. 上海:中国医药科技出版社,1996:99.

[7] 黄雨威,王利胜,兰小群,等. 促渗剂对消喘巴布剂中白芥子体外透皮吸收特性的影响[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(21):1754-1757.
[8] 王利胜,张升,刘丽萍,等. 青藤碱微乳凝胶的制备及体外透皮吸收特性研究[J]. 中国新药与临床药理,2011,22(1):21-24.
[9] 赖新生,张毅敏. 中药穴位敷贴治疗支气管哮喘的临床研究进展[J]. 中国药物与临床,2004,4(6):411-414.
[10] 甘浩庆. 发泡法在骨伤科的应用[J]. 中国民间疗法,1999,4(4):22.
[11] 袁海蓉. 述内伤外治药物特殊类型——激经气药[J]. 中医外治杂志,1997,6(6):8.
[12] 刘强,陈兴兴,孙学刚,等. 白芥子促进黄芩苷透皮吸收的研究[J]. 中医外治杂志,2005,14(4):8-9.
[13] 马云淑,罗艳梅,潘琦. 麻黄的透皮吸收与白芥子促透皮作用的实验研究[J]. 中国医药学报,2002,17(1):59-60.
[14] 刘强,吕志平. 中药经皮给药制剂的进展及发展趋势[J]. 中医外治杂志,2004,13(1):31-33.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)

经过中国科学院“中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database,简称 CSCD)”定量遴选、专家定性评估,《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)。

2015—2016 年度 CSCD 收录来源期刊 1200 种,其中中国出版的英文期刊 194 种,中文期刊 1006 种。CSCD 来源期刊分为核心库和扩展库两部分,其中核心库 872 种(以备注栏中 C 为标记);扩展库 328 种(以备注栏中 E 为标记)。

CSCD 具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点,自提供使用以来,深受用户好评,被誉为“中国的 SCI”。CSCD 是我国第一个引文数据库,曾获中国科学院科技进步二等奖。该数据库已在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用。