

天杏咳喘贴中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的大鼠离体透皮试验

吴和珍^{1,2}, 付聪¹, 杨艳芳^{1,2}, 韩建伟^{1,2*}

(1. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065;

2. 湖北中医药大学中药资源与中药复方教育部重点实验室, 武汉 430065)

[摘要] 目的:测定天杏咳喘贴中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的大鼠离体透皮率。方法:以生理盐水为接受介质,采用HPLC测定盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量,考察天杏咳喘贴中2种成分的离体透皮率。结果:盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱24 h的离体透皮率分别为12.37%,12.04%,36 h的离体透皮率分别为14.81%,14.34%。结论:天杏咳喘贴中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的大鼠离体透皮率较高,为该制剂的临床疗效研究提供依据。

[关键词] 天杏咳喘贴;麻黄碱;伪麻黄碱;离体透皮率;高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6;R943;R284.1;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0058-04

[doi] 10.11653/syfy2013180058

In vitro Transdermal Test of Ephedrine and Pseudoephedrine from Tianxing Kechuan Patches in Rats

WU He-zhen^{1,2}, FU Cong¹, YANG Yan-fang^{1,2}, HAN Jian-wei^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resource and Compound Preparation, Ministry of Education, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To determinate *in vitro* transdermal rates of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride from Tianxing Kechuan patches in rats. **Method:** Accepted physiological saline as receiving medium, the contents of percutaneous ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were determined by HPLC, *in vitro* transdermal rate of two index ingredients from Tianxing Kechuan patches was investigated. **Result:** Cumulative transdermal rates of ephedrine and pseudoephedrine in 24 hours were 12.37% and 12.04%, respectively, and in 36 hours were 14.81% and 14.34%, respectively. **Conclusion:** *In vitro* transdermal rates of ephedrine and pseudoephedrine from Tianxing Kechuan patches in rats were high, which provided basis for clinical efficacy studies of this preparation.

[Key words] Tianxing Kechuan patches; ephedrine; pseudoephedrine; *in vitro* transdermal rate; HPLC

天杏咳喘贴是由祖传秘方黑膏药改剂型研制而成的外用膏贴制剂,由麻黄、杏仁、黄芩等10余味中药组成,临床用于敷贴穴位治疗慢性支气管炎急性

发作,疗效确切^[1-2]。黑膏药的制备方法是将处方药材直接粉碎成细粉,混合于已熬炼好的膏药基质中,药材未经提取,导致有效成分不易透过皮肤。曾对黑膏药中麻黄、黄芩两味药材中有效成分盐酸麻黄碱、黄芩苷进行小鼠离体透皮吸收试验,发现2种成分的离体透皮率为零。本实验采用大白鼠背部皮肤,以生理盐水为接受介质,考察天杏咳喘贴中君药麻黄^[3-7]的有效成分盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的离体透皮吸收率,通过HPLC测定指标成分含量^[8]。

[收稿日期] 20130228(016)

[第一作者] 吴和珍,博士,教授,从事中药活性成分作用机制研究, Tel:027-68890187, E-mail:hezhu_wu@163.com

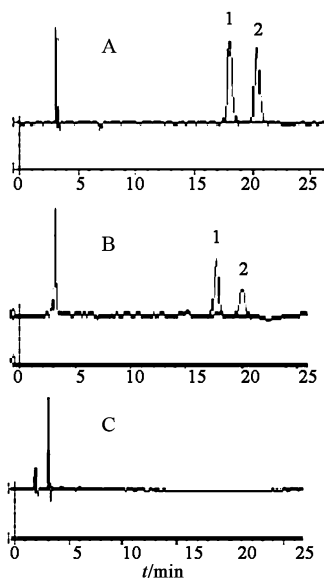
[通讯作者] *韩建伟,副研究员,从事中药新制剂的开发研究, Tel:15327194720, E-mail:hjwwy228@163.com

1 材料

YB-P6 型智能透皮实验仪(天津药典标准仪器厂),P680 型高效液相色谱仪(戴安中国有限公司),BP211D 型电子天平(德国赛多利斯)。盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号分别为 171241-200404,171237-200304),天杏咳喘贴(自制,批号 111101),甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂为分析纯。雄性 SD 大鼠,清洁级,华中科技大学同济医学院动物实验中心提供,动物许可证号 SCXK(鄂)2010-0007。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[9-14] Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% 三乙胺)(8:92),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 207 nm,柱温 30 °C,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;
1. 盐酸麻黄碱;2. 盐酸伪麻黄碱

图 1 天杏咳喘贴 HPLC

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品适量,加甲醇制成质量浓度依次为 8.25,8.16 mg · L⁻¹ 的混合溶液。

2.2.2 供试品溶液 取天杏咳喘贴,刮取药膏约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 45 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,滤液冰浴 30 min^[15],滤过,放至室温,精密量取续滤液 5 mL,置中性氧化铝柱(100~200 目,2 g,内径 1 cm)上,待滤液完全流出中性氧化铝后,用甲醇洗脱,收集流出液和洗脱液约 9 mL,置 10 mL 量瓶中,加磷酸 1 滴,

用甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例除去麻黄,其余药材按制备工艺制成麻黄空白膏贴。称取麻黄空白药膏 1.0 g,按 2.2.2 项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察 称取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 0.082 5,0.081 6 g · L⁻¹ 的混合对照品贮备液。精密吸取该储备液 0.5,1.0,2.0,2.5,4.0,5.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,制成系列质量浓度的对照品溶液,各进样 10 μL,测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y_{\text{盐酸麻黄碱}} = 38.289X - 0.039$ ($r = 0.999 9$), $Y_{\text{盐酸伪麻黄碱}} = 40.716X - 0.121$ ($r = 0.999 9$),线性范围分别为 0.041 2~0.412,0.040 8~0.408 μg。

2.4 稳定性试验 吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于 0,2,6,12,18 h 进样测定,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱峰面积的 RSD 分别为 0.92%,1.21%。

2.5 重复性试验 称取 6 份药膏,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,结果盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱含量的 RSD 分别为 1.96%,2.82%。

2.6 精密度试验 吸取同一供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,计算盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的 RSD 分别为 0.86%,0.96%。

2.7 回收率试验 制备盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱质量浓度分别为 58.8,34.4 mg · L⁻¹ 的对照品溶液。取已知含量的同一批次药膏,精密称定 0.5 g,共 6 份,分别精密加入上述对照品溶液各 5 mL,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,吸取 10 μL 进样测定,计算加样回收率,结果见表 1。

2.8 离体大鼠透皮率测定

2.8.1 大鼠皮肤制备 将大白鼠(256 g)处死,用剪刀剪去鼠毛,以棉花蘸取脱毛剂脱毛^[16],温水洗净被毛和残留脱毛剂,擦干,从腹部剖开,除去头及四肢,剥离整个皮肤,撕去内筋膜及皮下脂肪组织等,洗净,备用。

2.8.2 透皮试验 取天杏咳喘贴,揭去保护层,揭下药膏,按改良扩散池接收口内径大小将药膏剪切成直径 3 cm 的圆形药膏,精密称定 2.068 g(盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱质量分别为 1 179.587,650.758 μg),扩散池接受口直径 3 cm,面积 7.065 cm²,接受室容积约 35.0 mL。将新制备的离体鼠皮固定于扩散池接受口上,鼠皮内层面面向下(朝向扩散池内方),鼠皮外层面面向上,将称定质量的药膏置于位于扩散池接收口上的鼠皮外层上,药膏覆盖背衬,用夹

子将鼠皮、药膏和背衬夹紧固定,剪刀沿扩散池接受口外侧剪去多余鼠皮。扩散池接受室加满 32 ℃^[17]生理盐水作为接收介质,排出接收室中的气泡,使鼠皮内层与接收介质紧密接触,池外以 32 ℃ 水浴保温,磁力搅拌子以 200 r·min⁻¹ 的速度搅拌,分别于 2,4,8,12,24,36 h 时取出接受室中全部接受液,同

时立即补充同体积 32 ℃ 的生理盐水(36 h 时取样后不再补充),将 6 个时段的透皮液分别水浴蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至 2 mL 量瓶中,精密吸取 10 μL 进样,测定,计算盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的离体透皮率,结果见表 2。

表 1 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱加样回收率试验

成分	No.	称样量/g	样品中质量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
盐酸麻黄碱	1	0.508 5	0.331	0.621	98.64	98.19	1.11
	2	0.503 3	0.327	0.615	97.96		
	3	0.516 2	0.336	0.630	100.00		
	4	0.514 8	0.335	0.620	96.94		
	5	0.495 7	0.322	0.611	98.30		
	6	0.508 2	0.330	0.616	97.28		
盐酸伪麻黄碱	1	0.508 5	0.183	0.350	97.09	98.84	1.66
	2	0.503 3	0.181	0.350	98.26		
	3	0.516 2	0.186	0.359	100.58		
	4	0.514 8	0.185	0.353	97.67		
	5	0.495 7	0.178	0.352	101.16		
	6	0.508 2	0.183	0.352	98.16		

表 2 天杏咳喘贴中盐酸麻黄碱(A)、盐酸伪麻黄碱(B)的离体透皮率测定

样品	样品中质量/μg		透皮累加量/μg		透皮率/%		每 cm ² 鼠皮的透皮量/μg	
	A	B	A	B	A	B	A	B
2 h	32.204	18.721	32.204	18.721	2.73	2.88	4.56	2.65
4 h	17.416	9.758	49.620	28.479	4.21	4.38	7.02	4.03
8 h	27.442	15.625	77.062	44.104	6.53	6.78	10.91	6.24
12 h	26.616	12.689	103.678	56.793	8.79	8.73	14.67	8.04
24 h	42.193	21.562	145.871	78.335	12.37	12.04	20.65	11.09
36 h	28.782	14.938	174.653	93.293	14.81	14.34	24.72	13.20

3 讨论

天杏咳喘贴处方中有 10 余味药材,化学成分众多,这些成分均有可能同时渗透皮肤。虽然盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的离体透皮率不算很高,但相对其他化学成分而言,36 h 离体透皮率 > 14% 还是比较理想的。在经皮吸收制剂研制过程中,常采用离子导入、超声导入、微针透皮给药等技术来增加药物成分的透皮率,天杏咳喘贴未采用这些技术,但临床疗效确切,推测除了与处方基质组成有关外,可能还与采用敷贴穴位治疗有较大关系。

[参考文献]

[1] 赵为军. 天杏咳喘贴治疗慢性支气管炎急性发作临

床观察[D]. 武汉:湖北中医学院,2006.

[2] 樊茂蓉,苗青,张燕萍. 天杏咳喘贴治疗慢性支气管炎急性发作的临床研究[J]. 北京中医药,2012,31(9):643.
 [3] 刘兴祥. 麻黄的药理作用及其临床应用[J]. 中西医结合杂志,1989,9(4):255.
 [4] 丁丽丽,施松善,崔健,等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2006,31(20):1661.
 [5] 潘国华,孙晓如. 国外对麻黄及其制剂的安全性评价[J]. 药物警戒,2007,4(2):111.
 [6] 徐文杰,陈飞龙,谢颖,等. 不同配伍对比对麻黄-桂枝药对有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):84.

沙棘总黄酮的大鼠肠吸收特性考察

申雪丽¹, 袁勇², 黄川生², 王新春^{1,2*}, 尹俊涛³

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 石河子大学医学院一附院, 新疆 石河子 832008;
3. 石河子开发区神内食品有限公司, 新疆 石河子 832000)

[摘要] 目的: 考察沙棘总黄酮在大鼠小肠的吸收特性。方法: 运用大鼠在体单向灌流和离体外翻肠囊模型, 采用 HPLC 测定槲皮素、山奈酚、异鼠李素含量, 计算沙棘总黄酮在大鼠小肠的吸收参数。结果: 沙棘总黄酮中槲皮素、山奈酚、异鼠李素的吸收部位分别为回肠、回肠、十二指肠, 吸收速率常数 (K_a) 分别为 3.405×10^{-2} , 3.649×10^{-2} , 5.671×10^{-2} , 沙棘总黄酮质量浓度在 $50 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, K_a 和表观吸收系数无显著性差异。累积吸收量随药物质量浓度升高呈线性增加。结论: 沙棘提取物中 3 种黄酮类成分均呈现一级动力学特征, 吸收机制均为被动扩散, 且在小肠有特定吸收部位。

[关键词] 沙棘总黄酮; 槲皮素; 山奈酚; 异鼠李素; 吸收机制

[中图分类号] R945; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0061-04

[doi] 10.11653/syjf2013180061

Investigation of Rat Intestinal Absorption Properties of Total Flavonoids from Hippophae Fructus

SHEN Xue-li¹, YUAN Yong², HUANG Chuan-sheng², WANG Xin-chun^{1,2*}, YIN Jun-tao³

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China;

2. First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832008, China;

3. Shihezi Development Zone Shennei Food Co. Ltd, Shihezi 832000, China)

[收稿日期] 20130218(008)

[基金项目] 新疆建设兵团火炬计划项目(2011BD021); 国家自然科学基金-新疆联合基金重点项目(U1203204)

[第一作者] 申雪丽, 在读硕士, 从事中药民族药新制剂及新剂型研究, Tel: 0993-2855827, E-mail: 393852090@qq.com

[通讯作者] *王新春, 博士, 主任药师, 从事中药民族药新制剂及新剂型的研究, Tel: 0993-2855827, E-mail: cwjwxc@163.com

- [7] 贺丰, 罗佳波. 麻黄汤中臣、佐、使药对君药中麻黄碱的人体内过程的影响[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1313.
- [8] 葛斌, 罗燕梅, 许爱霞, 等. HPLC 测定麻黄药材中麻黄碱与伪麻黄碱的含量[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 173.
- [9] 刘睿, 王宁, 刘志辉. RP-HPLC 同时测定宣肺止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 91.
- [10] 查道成, 冯冬兰, 李林晓, 等. HPLC 法测定冯了性风湿跌打药酒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 139.
- [11] 王瑞明, 张玲, 倪艳, 等. HPLC 测定苏杏胶囊中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 中成药, 2005, 27(6): 651.
- [12] 金阳. HPLC 测定小儿咳喘灵颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 安徽医药, 2007, 11(11): 992.
- [13] 付应华, 杜静. RP-HPLC 测定清肺饮口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(8): 1148.
- [14] 韩桂茹, 赵志军, 黄占群, 等. 药材、制剂、半成品中麻黄碱、伪麻黄碱和苦杏仁苷的同时定量研究[J]. 中成药, 2005, 27(4): 419.
- [15] 唐俞芳. 浅谈麻黄中麻黄碱的提取、分离与检视[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(20): 147.
- [16] 李峰, 吴军正, 刘斌, 等. 动物实验用脱毛剂配方的改进[J]. 实用口腔医学杂志, 1998, 14(4): 298.
- [17] 梁秉文. 中药经皮给药制剂技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 38.

[责任编辑 全燕]