

穿心莲内酯直肠微乳的 pH 和吸收促进剂用量考察

李海燕*, 朱庆文, 杜红, 王华敏
(北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的:考察穿心莲内酯直肠给药微乳处方的 pH 和吸收促进剂用量。方法:采用 HPLC 测定给药后不同时段家兔肠系膜血浆中穿心莲内酯的含量,绘制时间-血药浓度曲线,以曲线下面积 AUC_{0-2} 为指标,通过正交试验确定直肠给药微乳处方的 pH 及吸收促进剂用量的最佳方案。结果:确定直肠微乳的最适处方为穿心莲内酯 8 g,吐温-80 300 mL,无水乙醇 600 mL,肉豆蔻酸异丙酯 30 mL,氮酮 30 mL,水适量,调 pH 7,共配成 1 L。结论:按优选处方制得的穿心莲内酯直肠微乳稳定性良好。

[关键词] 正交试验;穿心莲内酯;直肠微乳;氮酮;pH

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0041-03

Investigation of pH and Absorption Enhancer Amount of Andrographolide Rectum Microemulsion

LI Hai-yan*, ZHU Qing-wen, DU Hong, WANG Hua-min
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate pH and absorption enhancer dosage of andrographolide rectum microemulsion prescription. **Method:** At different time after administration, the content of andrographolide in rabbit mesenteric plasma was determined by HPLC, and time-plasma concentration curve was drawn, with AUC_{0-2} as index, orthogonal test was used to determine the optimum prescription of pH and absorption enhancer dosage in andrographolide rectum microemulsion. **Result:** Optimum prescription of rectum microemulsion was determined as following: andrographolide 8 g, tween-80 300 mL, ethanol 600 mL, isopropyl myristate 30 mL, azone 30 mL, added water to 1 L with pH 7. **Conclusion:** These prepared Andrographolide rectum microemulsion had good stability.

[Key words] orthogonal test; andrographolide; rectum microemulsion; azone; pH value

穿心莲具有清热解毒、凉血、消肿的功效,主要有效成分穿心莲内酯具有祛热解毒、消炎止痛之功效,对细菌性与病毒性上呼吸道感染及痢疾有特殊疗效,被誉为天然抗生素药物^[1]。本品为二萜类内酯化合物,具有强疏水性、难溶于水、溶出速度和溶解度差、生物利用度低的特点。将其制成微乳液,能够达到增溶、热力学稳定及增加吸收的效果^[2-3],但口服液口感较差,无较好的囊材包裹,患者难于接

受。因此将穿心莲内酯微乳经直肠给药,前期试验表明直肠给药的生物利用度与口服相当,且可用于全身治疗^[4],适用于不同用药人群。而直肠给药时,处方中吸收促进剂的用量很重要^[5]。本实验采用正交试验设计法,考查 pH 与吸收促进剂对穿心莲内酯微乳经直肠给药吸收的影响,筛选其最佳处方,以提高穿心莲内酯的生物利用度。

1 材料

BSA224S-CW 型电子天平(德国赛多利斯), TGL-16G 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器有限公司),MVS-1 型漩涡混合器(北京东方开物科学器材有限公司),2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),穿心莲内酯微乳(自制),穿心莲内酯对照品

[收稿日期] 20120917(523)

[基金项目] 北京中医药大学自主课题(2011JYBZZ-JS003)

[通讯作者] *李海燕,博士,副教授,硕士生导师,从事方药的物质基础研究,E-mail:hy1334@126.com

(中国药品生物制品检定所,批号 201005020),高纯度氮气(北京泰龙电子技术有限公司),肉豆蔻酸异丙酯(Sigma 公司),聚山梨酯-80(吐温-80,天津永大化学试剂开发中心),肝素钠(国药集团化学试剂有限公司),氮酮(Azone,芮城县兴庆化工厂),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

日本大耳白兔,每组 6 只,体重(2.5~3) kg,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2005-0002。

2 方法与结果

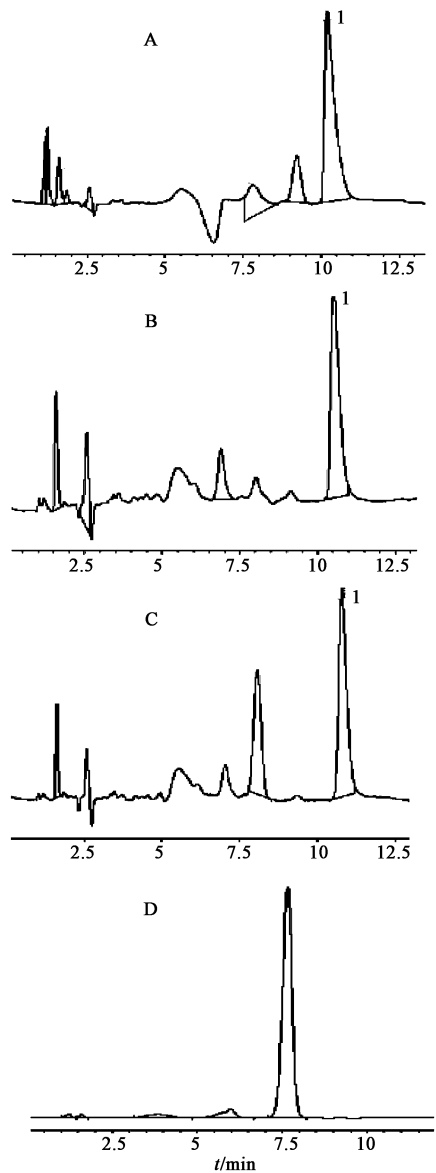
2.1 穿心莲内酯口服微乳的制备 在磁力搅拌下,将吐温-80 300 mL 与乙醇 600 mL 混匀,滴入肉豆蔻酸异丙酯 30 mL,缓缓将 8.0 g 穿心莲内酯溶入其中,加水适量,澄清,定容至 1 L,即得。

2.2 血样采集与制备 采用兔直肠肠系膜静脉采血法^[6]。家兔用戊巴比妥麻醉,打开腹腔,排出肠内容物,分离肠系膜静脉,插入聚乙烯管并连接蠕动泵(流速 5 mL·h⁻¹),固定。从肛门口处灌入穿心莲内酯微乳,给药剂量 40 mg·kg⁻¹(按穿心莲内酯计算)。在距肛门口处约 3 cm 和 15 cm 处结扎,使药物保留在下直肠段。分别于给药后 5,15,30,45,60,90,120,180 min 各采血约 1 mL,加肝素抗凝。将血样置于 4 ℃ 低温离心机中于 3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,分离血浆,备用。精密吸取血浆 0.2 mL,置 2 mL 离心管中,加入 1 mL 三氯甲烷,于漩涡混合器上混合提取 15 min,3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,精确吸取三氯甲烷层 0.8 mL,于 37 ℃ 水浴氮气流下吹干,残留物准确加入甲醇 0.5 mL 超声溶解,滤过,HPLC 测定。

2.3 标准曲线的制备 精密称取 105 ℃ 干燥至恒重的穿心莲内酯对照品 5.39 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,配成储备液备用。取 7 个空白量瓶,分别加入空白血浆 1 mL,再分别加入对照品储备液 8,16,24,32,40,48,56 μL,按 2.2 项下方法处理,得标准曲线方程 $Y = 13.72X + 0.20$ ($r = 0.9994$),线性范围 0.86~6.04 mg·L⁻¹。

2.4 色谱条件 Alltech Apolo C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(50:50),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 225 nm,柱温室温。见图 1。

2.5 正交试验优选 在预试验基础上,选取 pH 和 Azone 的用量为考察因素,按 L₉(3³) 正交表设计方案,以确定穿心莲内酯直肠微乳处方,提高穿心莲内酯微乳经直肠给药的生物利用度。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。



A. 样品;B. 穿心莲内酯片;C. 对照品;D. 空白血浆;1. 穿心莲内酯
图 1 穿心莲内酯微乳液相色谱

表 1 穿心莲内酯直肠微乳 pH 与吸收促进剂用量
考察正交试验因素水平

水平	A 氮酮用量/%	B 药液 pH
1	1	6.0
2	3	7.0
3	5	8.0

由表 2~3 可知,Azone 的用量对穿心莲内酯直肠微乳的制备有显著影响,pH 则无显著影响,最优方案为 A₂B₂。同时在口服微乳处方基础上,确定直肠微乳的最适处方为穿心莲内酯 8 g,吐温-80 300 mL,无水乙醇 600 mL,肉豆蔻酸异丙酯 30 mL,氮酮

表 2 穿心莲内酯直肠微乳 pH 与吸收促进剂用量考察正交试验安排

No.	A	B	C(空白)	AUC ₀₋₂ /mg·L ⁻¹ ·min ⁻¹
1	1	1	1	240
2	1	2	2	255
3	1	3	3	216.5
4	2	1	2	285
5	2	2	3	370.75
6	2	3	1	327.5
7	3	1	3	318.5
8	3	2	1	329.75
9	3	3	2	310.75
K ₁	711.5	843.5	897.25	
K ₂	983.25	955.5	850.75	
K ₃	959	854.5	905.75	
R	271.75	112	55	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	15 076.93	2	7 538.47	13.58	<0.05
B	2 393.26	2	1 196.63	2.15	>0.05
C(误差)	2 219.07	4	554.77		

注: $F_{0.05(2,4)} = 5.14$ 。

30 mL,水适量,调 pH 7,共制成体积 1 L。

3 讨论

直肠给药后药物的吸收受诸多因素影响,如药物的性质、直肠的组织 and 生理状态、基质和促渗剂的性质等^[7]。本实验所用微乳液粒径小,易吸收,但因直肠吸收面积较小,往往难于达到有效的血药浓度,所以促渗剂的影响较大。适当加入吸收促进剂能增加药物的吸收,本实验主要考察了吸收促进剂的用量。直肠吸收促进剂的主要作用机制与经皮吸收促进剂相似,由于黏膜没有角质层的干扰,促吸收机制主要是增加细胞膜通透性或旁细胞途径,因此会有一定的刺激性^[8],故选择 Azone。Azone 促吸收

作用与药液性质相关,如加入 Azone 会使凝胶剂的黏度增加,溶质由基质向体液中扩散减慢,从而使两者吸收减少^[9]。本实验结果表明加入 3% 氮酮效果最佳,说明微乳载药体系不影响氮酮的促渗效果,与文献报道的一般水溶液作为溶剂的用量相符。同时说明直肠给药中促渗剂用量并不是用量越多越好^[10]。选择考察药液 pH,主要是由于直肠黏膜没有角质层,易产生刺激性,因此选择了 6~8 的中性范围。试验结果表明 pH 对直肠微乳的吸收影响不大,可能与 pH 选取梯度较小有关。

[参考文献]

- [1] 李曙光,叶再元.穿心莲内酯的药理活性作用[J].中华中医药学刊,2008,26(5):984.
- [2] 杜红,牛欣,冯前进,等.穿心莲内酯口服微乳与穿心莲内酯片在家兔体内生物利用度的比较研究[J].中药新药与临床药理,2007,18(3):217.
- [3] 刘恒戈,苏红,王新春.紫草素微乳改善大鼠小肠吸收的研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(5):130.
- [4] 李海燕,朱庆文,杜红,等.穿心莲内酯微乳直肠给药与口服给药在家兔体内生物利用度比较与评价[J].中医外治杂志,2010,19(6):6.
- [5] 王章阳,高振同,刘松青.微型灌肠剂与直肠吸收促进剂[J].中国医院药学杂志,1999,19(12):745.
- [6] 赵永慧,张保献,聂其霞.双黄连凝胶中黄芩苷的直肠吸收实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(9):7.
- [7] 马莉,唐建元.直肠给药的国内外研究进展[J].中医研究,2002,15(1):58.
- [8] 张筱红.直肠给药吸收促进剂研究概况[J].海峡药学,2009,21(3):95.
- [9] 冯怡,史芝英,徐莲英.小儿哮喘直肠凝胶剂的研制凝胶剂中辅料及促渗剂的选择[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(2):7.
- [10] 王利胜,赖宝林,吴阳,等.氮酮对跌打活络微乳喷雾剂体外透皮吸收影响的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):26.

[责任编辑 仝燕]