

双黄连凝胶中黄芩苷的直肠吸收实验研究

赵永慧, 张保献*, 聂其霞, 臧琛, 李慧
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究双黄连凝胶中黄芩苷的直肠吸收, 为完善双黄连凝胶制备提供试验依据。方法: 采用家兔直肠肠系膜静脉插管在体吸收试验方法及 HPLC 法, 测定双黄连凝胶剂直肠给药后, 其有效成分黄芩苷的血药浓度。结果: 双黄连凝胶吸收达峰时间短(1h), 体内血药浓度稳定, 持续时间较长。结论: 双黄连凝胶中黄芩苷的吸收较双黄连栓快且持续时间长。

[关键词] 双黄连凝胶; 在体吸收; 黄芩苷

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)09-0007-02

Experiment of Absorption of Shuanghuanglian Gel in Rabbit Rectum

ZHAO Yong-hui, ZHANG Bao-xian*, NIE Qi-xia, ZANG Chen, LI Hui
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of CMS, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the absorption of Shuanghuanglian Gel in rabbit rectum for improvement of the preparation. **Methods:** The concentration of baiclin in rabbit's blood were determined by HPLC method, after administering Shuanghuanglian gel in rectum. **Results:** It showed that the gel was absorbed quickly and reached the peak for 1 hour, and the concentration of baiclin in vivo was steady and lasted longer. **Conclusion:** The gel was absorbed more quickly and longer than the suppository of Shuanghuanglian.

[Key words] Shuanghuanglian gel; Absorption in vivo; Baiclin

双黄连具有辛凉解表, 清热解毒等功效, 主要用于治疗外感风热引起的发热、咳嗽、咽痛等症, 是临床上理想的抗炎、抗病毒的中药制剂。双黄连栓(小儿消炎栓)收载于 2005 年版中国药典一部, 临床疗效好, 但储存不方便, 35℃以上开始变形、融化使药物稳定性受到一定影响, 尤其对夏季储存和用药均造成较大不便, 同时释药速度较慢。为了克服以上缺点, 我们研制了黏附性能好、释药速度快、易清洗不污染衣物, 半固体状态双黄连水凝胶。黄芩苷是双黄连凝胶的主要有效成分, 具有抗炎、解热、抗病毒等广泛的药理作用, 我们以该成分作为直肠吸收检测指标, 为今后进一步完善双黄连凝胶的制备提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪: Waters 600 泵, 2487 紫外检测器, Millennium³² 色谱工作站(均由 waters 公司生产); LDIE-08A 离心机(北京医用离心机厂生产); WH-1 微型漩涡混合仪(上海泸西分析仪器厂生产)。

1.2 试剂与试药 黄芩苷标准品(110715-200212, 由中国药品生物制品检定所提供), 羟丙基甲基纤维素(美国卡乐康公司), 乙腈为色谱纯, 其余均为分析纯, 水为高纯水, 双黄连栓(黑龙江济仁药业生产, 批号为 20050215)。

1.3 实验动物 新西兰白兔(体重 3.0±0.5kg), 由北京学院路通利试验动物养殖场提供, 合格证号第 024 总 069 号。

2 实验方法

2.1 双黄连凝胶的制备 称取处方量羟丙基甲基纤维素(HPMC), 用甘油润湿后加适量蒸馏水搅拌使充分膨胀, 即得空白基质, 另取双黄连提取物用少量蒸馏水溶解后缓缓加入空白基质中, 充分搅拌, 用三

[收稿日期] 2005-10-14

[通讯作者] * 张保献, Tel: (010) 84014127

乙醇胺调 pH 至中性, 即得。

2.2 给药及采样 取 10 家兔(体重 $3.0 \pm 0.5\text{kg}$), 随机分成两组, 每组 5 只, 用 10% 乌拉坦麻醉后, 打开腹腔, 排出肠内容物, 分离肠系膜静脉, 分别从肛门处灌入相同剂量的双黄连凝胶和栓剂, 在距肛门约 3cm 和 15cm 两处结扎, 使药物保留在直肠下段, 给药后 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7h 时由肠系膜静脉插管采血, 约 0.5mL, 3000r/min 离心 10min, 分离血浆, 取血浆, -20°C 下保存待用^[1]。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱(Alltech Apolo C_{18} $5\mu\text{m}$, $4.60 \times 250\text{mm}$); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈-水-磷酸(27:73:0.2); 流速: $1.0\text{mL}/\text{min}$; 检测波长: 276nm 。

2.3.2 标准储备液的制备 精密称取黄芩苷对照品 5.15mg , 用甲醇配制成 $1.03\text{mg}/\text{mL}$ 的标准溶液。

2.3.3 标准曲线的制备 精密称取标准储备液, 置于 2mL 容量瓶中, 加空白血浆, 配制成 51.5, 103, 206, 412, $515\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准血浆溶液, 照“样品溶液的制备”方法操作, 每一样品连续进样 3 次, 进样量 $10\mu\text{L}$, 以黄芩苷的峰面积, 对浓度作图, 结果表明, 进样量在 $0.0515\mu\text{g} \sim 0.515\mu\text{g}$ 范围内, 峰面积与进样量呈线性相关, 回归方程为 $Y = 36869 + 9173X$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。

2.3.4 供试品溶液的制备 精密吸取 0.2mL 血浆, 置 2mL 离心管中, 准确加入 2mL 甲醇, 漩涡振荡 1min, 3000r/min 离心 10min, 取上清液 1mL, 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3.5 空白血浆溶液的制备 精密吸取空白血浆 0.2mL , 按供试品溶液制备方法操作制得空白血浆溶液, 按上述色谱条件进样。结果表明方法特异性良好, 黄芩苷峰处无干扰。

2.3.6 回收率测定和精密度试验 黄芩苷血浆标准溶液分别是 51.5, 251.75, $515.0\mu\text{g}/\text{mL}$, 平行测定 5 份, 照样品处理项下操作, 每份测定 2 次, 得回收率, 其结果见表 1。结果见表 2。

表 1 回收率结果($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

加入量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	测得量($\mu\text{g}/\text{mL}$)	回收率(%)
5.15	4.06 ± 0.114	88.2 ± 1.78
25.75	21.54 ± 1.217	86.4 ± 3.58
51.50	45.44 ± 1.493	90.92 ± 2.98

2.3.7 精密度试验 取 $251.75\mu\text{g}/\text{mL}$ 黄芩苷血浆溶液, 分别测定日内(0, 1, 2, 4, 8h) 转密度及日间(1, 3, 5d) 转密度, 结果日内精密度 $RSD = 1.02\%$ ($n = 5$), 日间精密度 $RSD = 2.02\%$ ($n = 3$)。

2.3.8 回收率试验 精密吸取标准储备液, 置 2mL 容量瓶中, 加空白血浆, 制成 51.5, 251.75, $515.0\mu\text{g}/\text{mL}$ 的黄芩苷血浆溶液, 照供试品溶液制备方法操作进样, 平行测定 5 份, 测定回收率, 结果见表 1。

3 试验结果

取给药家兔血样, 按含量测定方法测定血浆中黄芩苷的含量, 并绘制药时曲线, 结果见图 1。

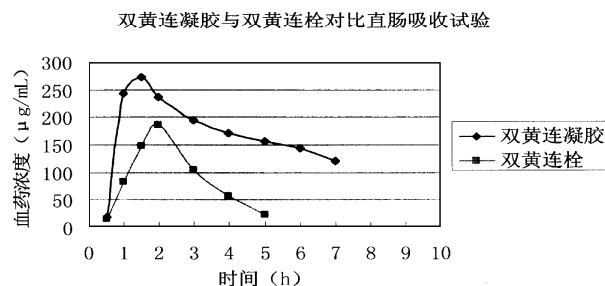


图 1 双黄连凝胶及双黄连栓中黄芩苷的家兔直肠吸收曲线

4 讨论

双黄连凝胶血药浓度测定, 采用蛋白沉淀法处理样品, 该法简单、快速、准确, 在实验过程中分别采用加 2mL 乙腈和 2mL 甲醇进行沉淀蛋白比较, 发现用甲醇沉淀蛋白, 得样品峰形好, 不拖尾, 黄芩苷含量高, 故我们采用了甲醇沉淀法。从图 2 可知双黄连栓直肠给药经 2~3h 达峰值, 5h 后不能测得体内血药浓度, 且体内血药浓度较低, 持续时间较短; 双黄连凝胶在 1~1.5h 达峰值, 在 1~3h 之间维持较稳定的血药浓度, 消除时间长。本制剂消除缓慢, 在相同剂量情况下, 更有利于体内的吸收, 从而减少了给药次数, 提高了生物利用度。但外感热病等急性病多要求血药达峰时间迅速一般多为 0.5~1h, 因此我们尚需进一步研究改进基质或增加促渗剂。

[参考文献]

[1] 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): 8.