

3 种治咳制剂中薄荷脑在健康志愿者
口腔黏膜的吸收特性比较

杨彬¹,刘俊静³,杜超¹,王金磊³,王丽峰^{1,2},刘丹³,王阳^{1,2*}

(1. 天津中医药大学中药学院,天津 300193; 2. 天津中医药大学实验教学部,天津 300193;
3. 天津中新药业集团股份有限公司第六中药厂,天津 300401)

[摘要] 目的:考察治咳川贝枇杷滴丸(ZCPDP)及 2 种参比制剂中薄荷脑在健康志愿者口腔黏膜在体吸收特性的差异。方法:采用 GC 测定薄荷脑含量,Agilent HP-1 色谱柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm),柱温 110℃,进样口温度 250℃,检测器温度 250℃,载气氮气,流速 0.80 mL·min⁻¹,进样量 1 μL。通过自制口腔黏膜在体吸收循环装置,测定 3 种制剂中薄荷脑的口腔黏膜吸收量,评价不同制剂中薄荷脑在健康自愿者口腔黏膜的吸收特性。结果:ZCPDP 中薄荷脑口腔黏膜吸收参数 T_{50} 及 T_d 分别为(4.734±0.406),(8.528±1.783) min,渗透系数(5.108±0.384) cm·min⁻¹,与 2 种参比制剂的吸收参数具有显著性差异。结论:建立的含量测定方法稳定可靠,满足测定要求。3 种制剂中薄荷脑口腔黏膜吸收速率不同,与不同剂型的释药特点有关,为止咳药物的临床合理应用提供参考。

[关键词] 治咳川贝枇杷滴丸;薄荷脑;口腔黏膜吸收;气相色谱;胶囊;枇杷露;方法学考察

[中图分类号] R283.6;R943;R945 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0140-04

[doi] 10.11653/syfy2013200140

Absorption Characteristics Comparison of Menthol from
Three Different Cough Preparations in Healthy Volunteers Oral Mucosa

YANG Bin¹, LIU Jun-jing³, DU Chao¹, WANG Jin-lei³, WANG Li-feng^{1,2}, LIU Dan³, WANG Yang^{1,2*}

(1. College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 300193, China; 2. Department of Experimental Teaching, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China;
3. No. 6 TCM Factory, Zhongxin Pharmaceutical Group Co. Ltd, Tianjin 300401, China)

[Abstract] Objective: To investigate *in vivo* absorption characteristics differences of menthol from Zhike Chuanbei Pipa dropping pills (ZCPDP) and two reference preparations in healthy volunteers oral mucosa. Method: The content of menthol was determined by GC, Agilent HP-1 column (0.25 mm×30 m, 0.25 μm), column temperature 110℃, inlet temperature 250℃, detector temperature 250℃, with nitrogen as carrier gas, flow rate 0.80 mL·min⁻¹, injection volume 1 μL. Oral mucosal absorption amounts of menthol from three different preparations were determined by homemade oral mucosa *in vivo* absorption circulation equipment, and evaluated absorption characteristics of menthol from different preparations in healthy volunteers oral mucosa. Result: T_d , T_{50} and permeability coefficient of ZCPDP was (8.528±1.783), (4.734±0.406) min and (5.108±0.384) cm·min⁻¹, respectively; All of these parameters had significant differences from two kinds of reference preparations. Conclusion: This determination method was stable and feasible. Oral absorption rate of menthol was different in three preparations and it was related to release characteristics of different preparations,

[收稿日期] 20130321(013)

[第一作者] 杨彬,硕士,从事中药制剂研究,Tel:022-59596279,E-mail:yang3023008@163.com

[通讯作者] *王阳,博士,教授,从事药物制剂新技术及新剂型研究,Tel:022-59596279,E-mail:wangysjw@yahoo.com.cn

these results could provide a reference for clinical application of cough medicines.

[**Key words**] Zhike Chuanbei Pipa dropping pills; menthol; oral mucosa absorption; gas chromatography; capsules; loquat dew; methodological study

口腔黏膜总面积约 200 cm²,其中颊黏膜为非角质化上皮组织,血流丰富,具有良好的渗透性,药物可通过颊黏膜以被动扩散方式直接吸收进入体循环,从而避免肝脏首过效应^[1-2]。薄荷脑为单萜醇类化合物,具有疏散表邪、宣通肺气、入肺止咳的功效,作用于呼吸道可减少呼吸道的泡沫痰,使有效通气腔道增大,表现祛痰作用^[3]。在中药复方止咳药物中,薄荷脑常作为使药物在发挥止咳功效的同时起到“宣风向导”之功能,引药入经,直达病灶。由于中药复方中其他药味常含有较多成分,难以定量检测,因此选择检测方法较为成熟的薄荷脑为指标成分^[4],可准确测定药物口腔黏膜的吸收量,便于阐明不同止咳制剂在口腔黏膜的吸收特性。本实验选择 3 种传统治咳药物剂型,对比药物在 8 名健康志愿者口腔黏膜的吸收规律,以揭示不同制剂的口腔黏膜吸收差异,为止咳药物的临床合理应用提供参考。

1 材料

6820 型气相色谱仪(美国安捷伦公司),FA1004N 型 1/万分析天平(上海精密科学仪器有限公司),BT-125D 型 1/10 万电子天平(赛特瑞斯科学仪器有限公司),BT100-1F 型蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司),TGL-16 型台式高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机有限公司),IKA MS3 digital 型涡旋仪(IKA 公司),85-2 型恒温磁力加热搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司)。

治咳川贝枇杷滴丸(ZCPDP)、枇杷止咳胶囊(PPZKC)、治咳川贝枇杷露(ZCPDF)(天津中新药业第六中药厂批号分别为 631015, 111008, A12022),薄荷脑对照品(批号 110728-200506,中国食品药品检定研究院),萘色谱对照品(批号 20100209,天津市光复精细化工研究所),薄荷脑(河北安国,经天津中医药大学李天祥教授鉴定为唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 的干燥地上部分),正己烷为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄荷脑的 GC 测定

2.1.1 色谱条件 Agilent HP-1 色谱柱(0.25 mm×30 m,0.25 μm),柱温 110℃,进样口温度 250℃,检测器温度 250℃,载气氮气,流速 0.80

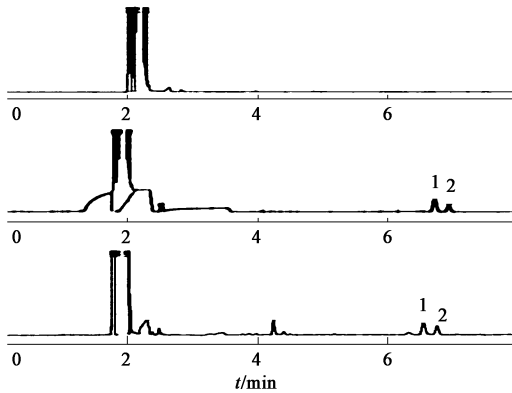
mL·min⁻¹,进样量 1 μL。

2.1.2 对照品储备液的制备 精密称取薄荷脑对照品 27.63 mg,置 25 mL 量瓶中,用正己烷-二氯甲烷(9:1)溶解并定容至刻度,摇匀后精密量取 1 mL 于 10 mL 量瓶中,用正己烷-二氯甲烷(9:1)定容至刻度,摇匀,得 110.52 mg·L⁻¹的对照品储备液,备用。

2.1.3 内标储备液的制备 精密称取萘色谱对照品 8.73 mg,置 25 mL 量瓶中,用正己烷-二氯甲烷(9:1)溶解并定容至刻度,摇匀后精密量取 1 mL 于 10 mL 量瓶中,用正己烷-二氯甲烷(9:1)定容至刻度,摇匀,得 34.92 mg·L⁻¹的内标物储备液,备用。

2.1.4 供试品溶液的制备 分别取 ZCPDP 7 粒、PPZKC 13 粒(剥去囊壳)、ZCPDF 40 mL、薄荷脑 5.4 mg,分别置于 4 支锥形瓶中,加水 50 mL 于 40 Hz 超声提取 10 min,作为 4 种供试品溶液(薄荷脑质量浓度均约 105 mg·L⁻¹)。

2.1.5 样品溶液的预处理^[5] 取经口腔黏膜循环后不同时间点的供试品溶液 200 μL 于 1.5 mL 离心管中,精密加入 400 μL 正己烷:二氯甲烷(9:1)溶液,涡旋 3 min,于 10 000 r·min⁻¹离心 10 min,精密吸取上层溶液 200 μL,待测。分别取空白溶液,对照品溶液,ZCPDP 供试品溶液,除空白溶液不加内标外,其余均加入适量内标溶液,按 2.1.1 项下色谱条件检测,结果表明薄荷脑与内标物萘分离度良好且空白溶液无干扰,见图 1。



A. 空白溶液;B. 对照品;C. 供试品;1. 薄荷脑;2. 萘

图 1 治咳川贝枇杷滴丸 GC

2.1.6 线性关系考察 精密量取对照品储备液适

量,置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1 mL,用正己烷-二氯甲烷(9:1)溶液稀释至刻度,分别制成含薄荷脑对照品质量浓度为 1.11, 5.53, 11.06, 22.10,44.20,66.30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以薄荷脑与萘峰面积之比对质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.253\ 7X + 0.088\ 9$ ($r = 0.999\ 6$),表明薄荷脑在 1.11 ~ 66.30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系。

2.1.7 精密度试验 分别取上述低、中、高(1.11, 11.06,66.30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)3 个质量浓度的对照品溶液,按上述色谱条件连续进样 3 次,结果 RSD 分别为 1.5%,0.8%,0.1%,表明仪器精密度良好。

2.1.8 重复性试验 取 2.1.4 项下 4 种供试品溶液各 5 份,分别按 2.1.5 项下方法预处理,精密加入内标溶液 22 μL ,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样,记录峰面积,结果 ZCPDP,ZCPDF,PPZKC,薄荷脑供试品溶液的 RSD 分别为 1.3%,0.4%,0.7%,0.6%,表明该方法重复性良好。

2.1.9 稳定性考察 精密量取预处理后的 4 种供试品溶液 200 μL ,精密加入内标溶液 22 μL ,分别于 0,2,4,6,8 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定峰面积,结果 ZCPDP,ZCPDF,PPZKC,薄荷脑供试品溶液的 RSD 分别为 0.9%,0.4%,1.0%,1.7%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.1.10 萃取回收率试验 取 4 种供试品溶液各 3 份,加入薄荷脑对照品适量配置成低、中、高 3 种质量浓度的样品溶液,按 2.1.5 项下方法处理后进样,计算萃取回收率,结果表明回收率均在 97.3% ~ 103.9%,RSD 均 <2%,满足测定要求。

2.2 受试对象 健康志愿者 8 名,男女各半,平均年龄(25 ± 1)周岁,试验前获得志愿者的知情同意对健康志愿者进行试验方案培训,每次试验开始前健康志愿者用蒸馏水漱口 3 次,试验过程中未有不良反应发生。试验完毕后检查志愿者口腔黏膜受试部分,肉眼观察未见异常。

2.3 口腔黏膜在体循环装置 制备口腔黏膜吸收扩散池^[6-7],扩散池采用性质稳定、吸附率低的聚四氟乙烯材料制成,容积约 1 mL,扩散面积 1.8 cm^2 ,试验过程中通过内径 1.6 mm 的蠕动泵硅胶软管与蠕动泵和储液瓶连接构成循环通路,通过特制的不锈钢夹将扩散池夹在人口腔内部颊黏膜上,实现药液在体循环,见图 2。

2.4 口腔黏膜吸收试验 8 名健康志愿者分别依次给与 ZCPDP,ZCPDF,PPZKC 及薄荷脑口腔黏膜

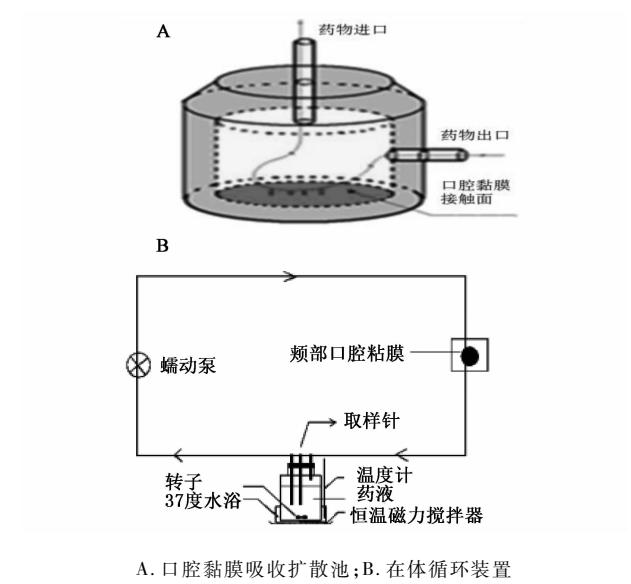


图 2 口腔黏膜吸收循环装置

吸收药液,每次给药间隔 > 3 d,保证薄荷脑完全消除,不干扰测定。每次试验按 2.1.4 项下方法制备口腔黏膜吸收药液后装入大小适宜的西林瓶中,将西林瓶置磁力搅拌器上,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴保温,80 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速搅拌。按图 2 所示连接循环装置后调节蠕动泵转速,使药液以 10 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度不断循环,分别于 0,1,3,5,10,20,30,45,60,90,120 min 定时取药液 200 μL ,取样后,立即向药液中补充同温等体积空白溶液,样品经 2.1.5 项下方法处理后测定,以药物累积吸收率为纵坐标,时间为横坐标,绘制吸收曲线,见图 3,通过 Weibull 模型对曲线进行拟合后提取吸收参数,结果见表 1。

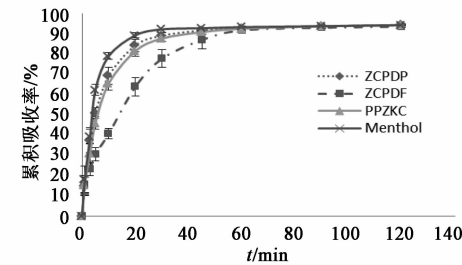


图 3 薄荷脑累积吸收曲线

2.5 渗透系数的计算^[8] 在药物渗透吸收的初始阶段一般认为符合被动扩散的过程,常用 Fick 定律进行描述。以单位面积累计渗透量为纵坐标,时间为横坐标,绘制药物累计渗透曲线,对曲线的直线部分进行线性回归,求出斜率,即得药物的稳态渗透速度(J),计算药物的渗透系数(P , $P = J/C_d$, C_d 为西林瓶中药液质量浓度),结果表明与参比制剂相比,ZCPDP 的口腔黏膜渗透速率具有显著性差异,见表 1。

表1 薄荷脑累积吸收曲线的 Weibull 模型拟合参数 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

样品	m	T_d/min	T_{50}/min	$J/\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$	$P/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$
滴丸	0.46 ± 0.04	$8.53 \pm 1.78^{1,2,3)}$	$4.73 \pm 0.41^{1,2,3)}$	0.292 ± 0.025	$5.108 \pm 0.384^{1,2,3)}$
枇杷露	0.66 ± 0.06	$19.66 \pm 1.92^{1,3)}$	$11.25 \pm 1.40^{1,3)}$	0.119 ± 0.026	$1.484 \pm 0.36^{1,3)}$
胶囊	0.52 ± 0.04	$10.81 \pm 1.67^{1)}$	$5.70 \pm 1.08^{1)}$	0.242 ± 0.030	$3.935 \pm 0.547^{1)}$
药材	0.40 ± 0.02	5.735 ± 0.718	4.16 ± 0.16	0.363 ± 0.048	8.162 ± 1.501

注:与药材比较¹⁾ $P < 0.05$;与枇杷露比较²⁾ $P < 0.05$;与胶囊比较³⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

ZCPDP 与参比制剂中薄荷脑在口腔黏膜累积吸收率均 >93%,表明在取样时间范围内薄荷脑在口腔颊黏膜吸收较完全,结果准确可靠。ZCPDP 与 3 种参比制剂的吸收速率和渗透速率由大到小依次为薄荷脑药材 > ZCPDP > PPZKC > ZCPDF,表明滴丸剂型较传统胶囊与糖浆剂型具有快速吸收的特点,可作为临床合理用药提供依据,根据病症的轻重缓急选择合适的剂型,提高疗效。

3 种制剂中薄荷脑的吸收速率均 < 薄荷脑药材,表明不同剂型处方中辅料会影响药物的释放与吸收。目前,临床常用的止咳药物多有服用剂量大、日服次数多等缺点。因此,在药物处方设计过程中,可考虑通过口腔黏膜吸收试验筛选适宜辅料,制成具有缓控释作用的缓释滴丸和口腔黏膜生物黏附制剂,以提高药物的生物利用度及病人顺应性,起到持续止咳的作用。

在口腔黏膜吸收过程中,装置的气密性决定了试验结果的准确度。因此在试验开始前要考察自制装置的气密性,同时在取样时要快速准确,减小薄荷脑挥发对结果产生影响。

[参考文献]

[1] Collins L M C, Dawes C. The surface area of the adult

human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa [J]. J Dent Res, 1987, 66 (8):1300.

[2] Shojaei A H, Berner B, LI X L. Transbuccal delivery of acyclovir: I. *In vitro* determination of routes of buccal transport [J]. Pharmaceut Res, 1998, 15 (8):1182.

[3] 景玉霞, 兰卫. 薄荷的化学成分和药理作用 [J]. 新疆中医药, 2012, 30 (4):122.

[4] 刘东辉, 陈慕媛, 黄月纯, 等. 双柏散中槲皮苷与薄荷脑的含量测定研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (12):4.

[5] 徐雪芳, 王阳, 陈志娟, 等. 清咽滴丸中冰片和薄荷脑体外溶出及人口腔黏膜吸收规律研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14 (9):974.

[6] Barsuhn C L, Olanoff L S, Gleason D D, et al. Human buccal absorption of flurbiprofen [J]. Clin Pharmacol Ther, 1988, 44:225.

[7] Adrian C L, Olin H B D, Dalhoff K, et al. *In vivo* human buccal permeability of nicotine [J]. Int J Pharm, 2006, 311 (1/2):196.

[8] Artusi M, Santi P, Colombo P, et al. Buccal delivery of thiocolchicoside; *in vitro* and *in vivo* permeation studies [J]. Int J Pharm, 2003, 250 (1):203.

[责任编辑 全燕]