

# 盐酸青藤碱自溶性微针的制备及其 体外经皮渗透性能考察

曹英骥, 陶曜天, 桂双英\*

(安徽中医药大学药学院, 安徽省中医药科学院药物制剂研究所,  
安徽省中药制剂工程技术研究中心, 合肥 230012)

**[摘要]** **目的:** 优选盐酸青藤碱自溶性微针的处方工艺, 并考察微针对盐酸青藤碱经皮渗透性能的影响。**方法:** 采用浇注法制备盐酸青藤碱微针, 以成型性和机械性为指标筛选可达到最佳载药量的处方, 并对制备出的微针进行表征。采用改良 Franz 扩散池考察载药凝胶和微针的经皮渗透效果。运用 HPLC 检测盐酸青藤碱含量, 流动相甲醇-0.1% 磷酸盐水溶液 (18:82), 检测波长 263 nm。**结果:** 最佳处方聚乙烯吡咯烷酮、硫酸软骨素、盐酸青藤碱质量分数分别为 50%, 15%, 35%。制得的盐酸青藤碱微针针形完整、机械强度良好, 能够穿刺铝箔和离体的大鼠皮肤; 载药微针组和载药凝胶组的 48 h 累积渗透量分别为  $(80\ 738.41 \pm 1\ 354.72)$ ,  $(15\ 210.02 \pm 288.57)$   $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 渗透速率依次为  $(1\ 627.40 \pm 28.68)$ ,  $(321.72 \pm 15.20)$   $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。**结论:** 制备的载药自溶性微针机械性和成型性良好。相较于载药凝胶, 盐酸青藤碱微针能够更加有效地实现经皮渗透, 可改善青藤碱透皮制剂的透皮性能。

**[关键词]** 载药微针; 盐酸青藤碱; 经皮渗透; 凝胶剂; 青藤碱

**[中图分类号]** R283.6; R945; R284.1; R944.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0006-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016100006

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160331.1450.018.html>

**[网络出版时间]** 2016-03-31 14:50

## Preparation and *in Vitro* Percutaneous Permeability of Sinomenine Hydrochloride-loaded Self-dissolving Microneedles

CAO Ying-ji, TAO Yao-tian, GUI Shuang-ying\*

(Anhui Engineering Research Center for Chinese Medicine Preparation, Institute of Pharmaceutics, Anhui Academy of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize preparation process of sinomenine hydrochloride-loaded self-dissolving microneedles and to investigate effect of microneedles on transdermal delivery of sinomenine hydrochloride. **Method:** The microneedles was prepared by casting method. Taking formability and mechanical property of microneedles as indexes, prescription with optimal drug content was screened out, and its characterization was investigated. *In vitro* permeation of sinomenine hydrochloride-loaded self-dissolving microneedles and sinomenine hydrochloride-loaded hydrogel were examined by Franz diffusion cell. HPLC was employed to determine the content of sinomenine hydrochloride with mobile phase of methanol-0.1% phosphate solution (18:82) and detection wavelength of 263 nm. **Result:** Optimal prescription was as follows: polyvinylpyrrolidone (PVP) of 50%, chondroitin sulfate of 15%, sinomenine hydrochloride of 35%. The developed microneedles had regular shapes of needles with good mechanical strength, it can insert into aluminum

**[收稿日期]** 20151117(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274099);安徽省自然科学基金项目(11040606M219)

**[第一作者]** 曹英骥,在读硕士,从事制剂新技术与新剂型研究,Tel:0551-68129123,E-mail:xiazi2006@126.com

**[通讯作者]** \*桂双英,教授,硕士生导师,从事制剂新技术与新剂型研究,Tel:0551-68129123,E-mail:guishy0520@126.com

foil and rat's skin. Accumulation permeation amount and rate of sinomenine hydrochloride in microneedles group increased 5.31 times and 5.06 times versus hydrogel group, respectively. **Conclusion:** These prepared microneedles have ideal formability and mechanical property. It provides more effective permeability of sinomenine hydrochloride by comparing with hydrogel group.

[ **Key words** ] drug-loaded microneedles; sinomenine hydrochloride; percutaneous penetration; gel; sinomenine

青藤碱是从青风藤中提取的异喹啉类生物碱单体,具有抗炎、免疫、镇痛、降压、抗心律失常等药理活性,临床上已有其用于治疗类风湿性关节炎及心律失常的制剂<sup>[1]</sup>。但青藤碱的生物半衰期较短,临床治疗一般需长期口服,且用药剂量偏大,易产生胃肠道刺激等临床不良反应<sup>[2]</sup>。为了克服这些缺点,近年来很多学者致力于开发青藤碱的新剂型,如缓控释制剂<sup>[3-5]</sup>、靶向制剂<sup>[6-7]</sup>等。这些制剂在一定程度上具有延长药物释放时间、提高青藤碱的稳定性和生物利用度等优势。而将盐酸青藤碱制成经皮制剂给药后能够有效地减少胃肠道刺激,并达到持续释放、方便给药,是青藤碱的一种理想给药途径。目前已有关于青藤碱透皮制剂的报道,如凝胶剂<sup>[8]</sup>、微乳<sup>[9]</sup>、巴布剂<sup>[10]</sup>等。但由于角质层阻碍作用的存在,使得药物的经皮渗透率不高,阻碍了其透皮制剂的发展,因此,有效突破角质层阻碍成为了青藤碱透皮制剂的关键因素。

微针可穿刺深度角质层,有效增加药物的渗透性,自其首次被报道应用于经皮给药系统<sup>[11]</sup>后,微针已成为新剂型的研究热点。以聚合物为基质的微针,其制作方法简单、机械性好、刺激性小,近年来受到越来越多学者的关注和研究<sup>[12-15]</sup>。本实验以盐酸青藤碱为模型药物,制备以聚乙烯吡咯烷酮和硫酸软骨素为基质材料的载药自溶性微针,考察自溶性微针对盐酸青藤碱经皮渗透能力的影响,为该制剂的制备及临床前研究提供参考。

## 1 材料

AG285 型电子天平(德国赛多利斯公司),1525 型高效液相仪(美国 Waters 公司,含 2489 型紫外-可见检测器,Breeze 色谱工作站),TK-12D 型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司),Franz 扩散池(实验室订制),微针模具(自制)。

盐酸青藤碱(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-14042521),硫酸软骨素(北京绿生源科技有限公司,批号 20130319215),聚乙烯吡咯烷酮(PVP,广东西陇化工厂),硫化钠(无锡市展望化工

试剂有限公司),亚甲基蓝(广州化学试剂厂),卡波姆 940(南京威尔化工有限公司),水合氯醛(天津市光复精细化工研究所),甲醇为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

SPF 级健康大鼠,雌雄不限,体重 215 ~ 250 g,购自常州卡文斯实验动物有限公司,合格证号 SCXK(苏) 2011-0003。

## 2 方法与结果

**2.1 载药微针的制备**<sup>[16]</sup> 以 PVP 和硫酸软骨素为基质材料,采用浇注法制备微针,对微针最大载药量及基质用量配比进行优化研究。分别称取硫酸软骨素、盐酸青藤碱和 PVP,按一定比例混合,加入约为固体总量 60% 的水,快速搅拌,形成均一溶液后浇注于微针模具上,放入 25 °C 真空干燥箱中,减压至 -70 kPa,抽真空 15 min,取出自然风干,脱模,得载盐酸青藤碱 PVP 微针。以微针的成型性和机械性能为考察指标,肉眼观察微针针型的完整程度及铝箔穿刺试验的结果<sup>[17]</sup>,在保证以上 2 种性能良好的情况下,得最佳处方为 50% PVP,15% 硫酸软骨素,35% 盐酸青藤碱。结果见表 1。

表 1 载盐酸青藤碱 PVP 微针的不同配料比考察

Table 1 Investigation of sinomenine hydrochloride-loaded PVP microneedles with different ratio of ingredients

质量分数/%			成型性	机械性
PVP	硫酸软骨素	盐酸青藤碱		
40	40	20	好	好
35	35	30	良好	良好
33	32	35	较差	良好
30	30	40	较差	较差
50	30	20	好	好
50	20	30	良好	好
50	15	35	良好	良好
50	10	40	良好	较差

## 2.2 微针的表征

**2.2.1 形貌** 肉眼观察微针成型性良好,数目多且针型清晰完整,微针长度 0.6 mm,针间距 1.0 mm,

见图 1。

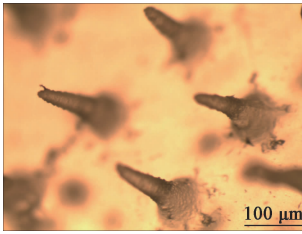


图 1 载盐酸青藤碱 PVP 微针外观形貌

Fig. 1 Appearance of sinomenine hydrochloride-loaded PVP microneedles

**2.2.2 机械性能** 分别采用铝箔穿刺和离体大鼠皮肤穿刺试验对微针的机械强度进行考察。铝箔穿刺时,拇指按压放置于微针背衬上的弹簧,使微针受力 5 N,发现微针可直接穿刺一层铝箔(厚度 11  $\mu\text{m}$ )<sup>[18]</sup>。结果发现微针可顺利穿刺铝箔,见图 2。离体大鼠皮肤穿刺时,微针以同样方法受力 5 N 穿刺健康无损伤大鼠离体皮肤,停留在皮肤内 3 min,取出微针,立即用亚甲基蓝溶液染色,1 min 后用异丙醇试剂洗去亚甲基蓝溶液,微针穿刺过的皮肤被染成蓝色,完整皮肤表面的蓝色则被洗去<sup>[19]</sup>,见图 3。结果说明制备的自溶性微针具有足够的机械强度,符合试验要求。

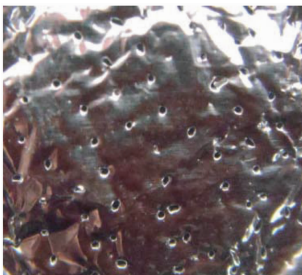


图 2 载盐酸青藤碱 PVP 微针穿刺铝箔

Fig. 2 Photograph of foil after punctured by sinomenine hydrochloride-loaded PVP microneedles

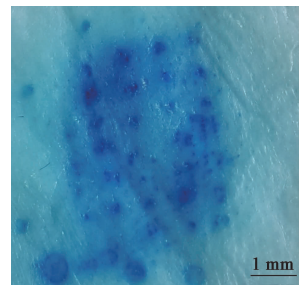


图 3 载盐酸青藤碱 PVP 微针穿刺离体大鼠皮肤

Fig. 3 Photograph of *in vitro* rat skin penetrated by sinomenine hydrochloride-loaded PVP microneedles

## 2.3 盐酸青藤碱的含量测定

**2.3.1 色谱条件** 依利特 ODS-BP  $C_{18}$  色谱柱

(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相甲醇-0.1% 磷酸盐水溶液(pH 3.0)(18:82), 检测波长 263 nm, 流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 进样量 20  $\mu\text{L}$ , 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 精密称定盐酸青藤碱 100.0 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用 pH 6.8 磷酸盐缓冲液(PBS)超声溶解并定容, 得 10.0 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 盐酸青藤碱储备液。分别精密移取该储备液 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加 PBS 定容, 经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 取续滤液, 按 2.3.1 项下条件测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程  $Y = 170\ 144X - 4\ 425$  ( $r = 0.999\ 8$ ), 线性范围 0.01 ~ 10.0 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。

**2.3.3 精密度试验** 取 0.1 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 盐酸青藤碱溶液, 于同日内每 1 h 进样 1 次, 按 2.3.1 项下条件连续进样 6 次, 并隔天进样 1 次, 连续 6 d 测定, 计算日内及日间精密度的 RSD 分别为 1.1% 和 1.0%, 表明仪器具有良好的精密度。

**2.3.4 重复性试验** 取载药微针 6 份, 每份 1.0 g, 用 pH 6.8 的 PBS 超声使溶解并定容, 分别按 2.3.1 项下条件测定, 结果盐酸青藤碱峰面积的 RSD 0.8%, 说明该方法重复性良好。

**2.3.5 稳定性试验** 取载药微针 1.0 g, 用 pH 6.8 的 PBS 超声溶解并定容, 每 2 h 进样 1 次, 重复进样 12 次, 计算盐酸青藤碱峰面积的 RSD 1.9%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.6 回收率试验** 精密移取 10.0 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 盐酸青藤碱储备液 0.1 mL 加至 1 g 空白微针中, 用 PBS (pH 6.8, 下同) 超声使溶解并定容, 平行制备 6 份, 按 2.3.1 项下条件测定, 计算平均回收率 98.47%, RSD 1.5%。

**2.4 大鼠皮肤预处理** 取健康大鼠, 用剃毛器剃除大鼠腹部的毛发, 用 8% 硫化钠溶液彻底清除毛根, 一段时间后, 用大量生理盐水冲洗腹部皮肤, 除去残留的硫化钠溶液, 脱臼处死后用手术剪剥离其腹部皮肤, 并除尽皮下脂肪, 用生理盐水冲洗干净, 冷冻, 备用。

**2.5 青藤碱凝胶的制备** 精密称定盐酸青藤碱 2.0 g 置于烧杯中, 加入乙醇 10 mL 使溶解, 边搅拌边加入溶胀 12 h 的卡波姆 940 溶液, 不断搅拌至混合均匀, 用三乙醇胺调节 pH 7, 得 4% 盐酸青藤碱凝胶。

**2.6 体外经皮渗透试验** 采用改良的 Franz 扩散池, 以凝胶组为对照, 考察载药微针的体外透皮性能。将皮肤固定在供给池与接受室相接处, 角质层

朝向供给池,真皮层与接受室相接。接受室内注入 PBS 5 mL,排净气泡,给药面积均为 3.14 cm<sup>2</sup>。微针组取载药微针,穿刺皮肤并滞留在皮肤中;凝胶组取等药量的盐酸青藤碱凝胶,均匀涂布在皮肤角质层的上侧。分别平行 3 组,置 37 °C 恒温水浴中,搅拌转速 120 r·min<sup>-1</sup>,分别于 1,5,10,20 min 和 0.5,1,2,4,8,12,24,48 h 吸取接受液 1 mL 置于 1.5 mL 的 PVC 管内,同时补充等体积同温的 PBS。接受液经 0.45 μm 滤膜过滤,按 2.3.1 项下色谱条件测定,计算累积渗透量<sup>[20]</sup>。

$$Q_n = (C_n V + V_0 \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / S$$

式中  $Q_n$  为第  $n$  个取样点盐酸青藤碱的单位面积累积渗透量,  $C_n$  为第  $n$  个取样点接受液中盐酸青藤碱的质量浓度,  $C_i$  为第  $i$  ( $i \leq n-1$ ) 个取样点接受液中盐酸青藤碱的质量浓度,  $V$  为接受池体积 (8 mL),  $V_0$  为取样体积 (1 mL),  $S$  为药物扩散时的有效透过面积。结果盐酸青藤碱微针组和凝胶组的  $Q_{48h}$  分别为 (80 738.41 ± 1 354.72), (15 210.02 ± 288.57) μg·cm<sup>-2</sup>,以累积渗透量对时间  $t$  进行线性回归,得回归方程依次为  $Q_n = 1 627.4t + 18 597.0$ ,  $Q_n = 321.72t + 307.15$ ,渗透速率 ( $J_{ss}$ ) 依次为 (1 627.40 ± 28.68), (321.72 ± 15.20) μg·cm<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>,利用  $t$  检验对试验数据进行处理,发现微针组的累积渗透量较凝胶组有显著差异 ( $P < 0.05$ ),说明制备盐酸青藤碱微针可有效穿刺皮肤并经皮释药,还可明显提高盐酸青藤碱的经皮渗透效果。体外经皮渗透释放曲线见图 4。

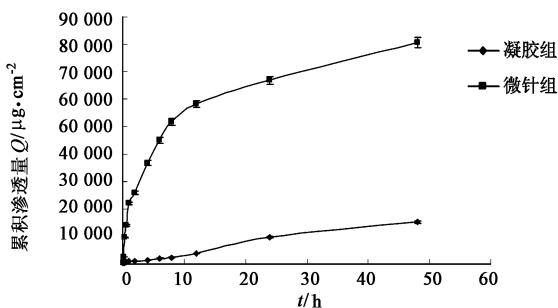


图 4 载盐酸青藤碱 PVP 微针体外经皮渗透释放曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 4 *In vitro* percutaneous permeability release curve of sinomenine hydrochloride-loaded PVP microneedles ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3 讨论

在载药微针的处方优选与制备试验中,参考前期实验结果<sup>[16]</sup>,将 PVP 与硫酸软骨素等比例混合制备微针,并在此基础上加入盐酸青藤碱,发现微针的机械性和成型性随着 PVP 与硫酸软骨素用量的

减少呈现不同的下降,最佳载药量 30% ~ 35%。而当 PVP 用量占到 50% 时,相应地减少硫酸软骨素用量,可使载药量达最佳。相较于 PVP 和硫酸软骨素等比例混合的方式,后者的载药量有所提高。可能是由于 PVP 在受潮后黏性增大,本身就可作为药用辅料中的黏合剂。因此,PVP 用量需达到能够黏合处方中硫酸软骨素与盐酸青藤碱用量总和的水平,并在此前提下筛选能保证良好机械性的盐酸青藤碱与硫酸软骨素的比例,方可得出最佳载药量。说明 PVP 用量是处方工艺中的关键因素。

在体外经皮渗透试验中,凝胶组的释放速率一直保持在较为稳定的状态,微针组却在给药后的初期释放速率很快,直到 8 h 后才趋于稳定。可能是由于微针的基质本身易溶于水,在刺入皮肤后,迅速吸收组织液并溶解,导致处于针尖部位的药物快速释放;在 8 h 后,针尖部位药物释放完毕,同时皮肤中打开的药物通道闭合,组织液渗出减缓,使得释药速率趋于稳定。

微针与凝胶作为经皮给药制剂,二者的透皮吸收机制不同。微针是通过刺穿角质层达到促进透皮吸收的目的,而凝胶由于剂型本身的结构决定其具有良好的生物相容性,可包载药物通过角质层细胞间隙渗透进入皮肤。体外经皮渗透试验结果表明在等给药量和给药面积的前提下,微针组与凝胶组相比,前者的累计渗透量和渗透速率均显著提升。说明通过微针这种物理促渗的机制,可实现快速、持续及高效的经皮给药。

本文所制备的微针具有足够的机械强度,能作为一种较为理想的新型透皮制剂,可使青藤碱有效实现经皮渗透。同时,以自溶性高分子材料 PVP 为基质制备出的微针,相较于硅微针和金属微针,增加了用药的安全性。课题组将在后期增加体内实验和渗透机制等方面的研究,全面考察微针的经皮释药动态过程,对其在经皮给药方面的应用做进一步探索。

### [参考文献]

[1] 刘强,周莉玲,李锐. 青藤碱的研究概况[J]. 中草药, 1997,28(4):247-249.  
[2] 赵小亮,李涛,刘洋,等. 基于自动采血系统与 HPLC-QQQ-MS 的青藤碱药动学分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(14):66-70.  
[3] 魏树辉,何仲贵,王立云. 盐酸青藤碱口服渗透泵控释片的制备及释药影响因素考察[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(3):165-169.  
[4] 赵铁,张伟,何仲贵,等. 盐酸青藤碱缓释微丸的研制

- [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(5): 360-362.
- [ 5 ] 郭军. 盐酸青藤碱关节腔注射微球的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [ 6 ] 王岩, 周莉玲. 青藤碱脂质体的制备及稳定性研究[J]. 中成药, 2005, 27(7): 757-760.
- [ 7 ] 张先洲, 陈晓清, 潘细贵, 等. 青藤碱固体脂质纳米粒的制备[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(24): 2081-2084.
- [ 8 ] 李熙, 刘玉亭, 吴淑梅, 等. 青藤碱微乳体外透皮特性的研究[J]. 中成药, 2008, 30(8): 1119-1122.
- [ 9 ] 张先洲, 潘细贵, 罗顺德, 等. 青藤碱凝胶的制备及质量控制[J]. 中国药房, 2003, 14(5): 275-277.
- [10] 郭威希, 张先洲, 李勇. 盐酸青藤碱巴布剂基质和处方的优选[J]. 中国医药工业杂志, 2007, 38(8): 564-566.
- [11] Henry S, McAllister D V, Allen M G, et al. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery [J]. J Pharm Sci, 1998, 87(8): 922-925.
- [12] Kim M, Jung B, Park J H. Hydrogel swelling as a trigger to release biodegradable polymer microneedles in skin [J]. Biomaterials, 2012, 33(2): 668-678.
- [13] DeMuth P C, Garcia-Beltran W F, Ai-Ling M L, et al. Composite dissolving microneedles for coordinated control of antigen and adjuvant delivery kinetics in transcutaneous vaccination [J]. Adv Funct Mater, 2013, 23(2): 161-172.
- [ 14 ] Matsuo K, Yokota Y, Zhai Y, et al. A low-invasive and effective transcutaneous immunization system using a novel dissolving microneedle array for soluble and particulate antigens [J]. J Control Release, 2012, 161(1): 10-17.
- [ 15 ] Ito Y, Yoshimitsu J, Shiroyama K, et al. Self-dissolving microneedles for the percutaneous absorption of EPO in mice [J]. J Drug Target, 2006, 14(5): 255-261.
- [ 16 ] 吴星星, 曹英骥, 桂双英. 自溶性微针的制备及其对盐酸青藤碱凝胶透皮性能的影响 [J]. 安徽医药, 2015, 19(6): 1035-1038.
- [ 17 ] Ke C J, Lin Y J, Hu Y C, et al. Multidrug release based on microneedle arrays filled with pH-responsive PLGA hollow microspheres [J]. Biomaterials, 2012, 33(20): 5156-5165.
- [ 18 ] 陈磊, 桂双英, 钱珊珊, 等. 复合物微针的制备及其对盐酸青藤碱透皮性能的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(4): 255-259.
- [ 19 ] 唐人杰. 微针阵列技术对不同理化性质药物的经皮吸收促透作用 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [ 20 ] 李伟泽, 闫菁华, 赵宁, 等. 盐酸青藤碱在微针阵列作用下的透皮给药研究 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(7): 767-771.

[责任编辑 刘德文]