

高乌甲素微乳体外透皮吸收

李西林^{1*}, 栾晶¹, 王慧², 马艳¹

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海泽润生物科技有限公司, 上海 201203)

[摘要] 目的:研究高乌甲素微乳的体外透皮能力。方法:采用改良 Franz 扩散池和离体小鼠皮肤作为透皮屏障,通过 HPLC 测定高乌甲素质量浓度,计算透皮速率,筛选高乌甲素微乳最佳组方。结果:高乌甲素微乳外观澄清透明,其粒径、载药量、渗透系数分别为 16.6 nm,5.21 g·L⁻¹,12.74 cm·h⁻¹,粒径分布范围窄。结论:高乌甲素微乳具有良好透皮能力,达到预期要求。

[关键词] 高乌甲素;微乳;透皮吸收

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)10-0052-03

In vitro Percutaneous Absorption of Lappaconitine Micromulsion

LI Xi-lin^{1*}, LUAN Jing¹, WANG Hui², MA Yan¹

(1. College of Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;
2. Shanghai Zerun Biotechnology Co. Ltd, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Objective: To study on *in vitro* percutaneous absorption capacity of lappaconitine micromulsion. Method: Using improved Franz diffusion cell and excised mice skin as transdermal barrier, the content of lappaconitine was determined by HPLC. Optimum prescription of lappaconitine micromulsion was screened by calculating transdermal rate. Result: Lappaconitine microemulsion was clear and transparent, particle size, drug loading, permeation coefficient of lappaconitine micromulsion were 16.6 nm, 5.21 g·L⁻¹, 12.74 cm·h⁻¹, respectively. Distribution of particle size was narrow. Conclusion: Lappaconitine micromulsion had a good transdermal absorption capacity, it achieved desired requirement.

[Key words] lappaconitine; microemulsion; percutaneous absorption

高乌甲素(lappaconitine)是从毛茛科植物高乌头根中提取的一种二萜类生物碱,具有显著的消肿、解热、局部麻醉等作用,用于治疗中度以上疼痛,为国内首创的非成瘾性镇痛新药。但高乌甲素口服生物利用度较低,半衰期较短,需长时间口服给药,且有一定的毒性,鉴于以上问题,将其制成透皮吸收制

[收稿日期] 20111213(015)
[基金项目] 上海市教育委员会科研项目(07cz038)
[通讯作者] *李西林,博士,教授,从事中药新剂型研究,Tel:021-51322188,E-mail:lixilin121@sohu.com

[7] 马晶波,黄岚,冯树芳,等.甘草黄酮对黑色素细胞生物学作用的比较[J].中华皮肤科杂志,2003,36(10):586.

[8] SHI Yan,CHEN Q X. Inhibitory effects of cinnamic acid and its derivatives on the diphenolase activity of mushroom tyrosinase.[J].Food Chem,2005,92:707.

[9] ZHANG J P,CHEN Q X. Inhibitory effects of salicylic acid family compounds on the diphenolase activity of mushroom tyrosinase.[J].Food Chemistry,2006(95):579.

[10] 张伟,葛志强.聚酰胺树脂分离纯化复方山楂提取物中总黄酮的研究[J].中草药,2009,1(40):63.

[11] 白云娥,漆小梅.聚酰胺分离金莲花总黄酮[J].中国医院药学杂志,2006,26(5):512.

[责任编辑 全燕]

剂是较理想的给药方式^[1-2]。将水难溶性的药物制成微乳,可促进大分子药物在体内的吸收、提高其生物利用度、增强药物稳定性。微乳粒径小且均匀,使被包容的药物分散度提高,可显著提高透皮速率,进而促进药物的透皮吸收^[3-4]。本文通过制备高乌甲素微乳制剂,对其进行体外透皮吸收研究,建立高乌甲素微乳的透皮吸收研究方法,为进一步研制和开发新型镇痛透皮给药制剂提供试验依据。

1 材料

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent),Nicom ZPW388 Zeta 型电位/粒度分析仪(美国 santa barbara),改良 Franz 扩散池(天津富兰斯电子科贸有限公司),DKB-501A 型超级恒温水槽(上海精宏仪实验设备有限公司),氢溴酸高乌甲素对照品(中国药品生物制品检定所,含量 98.1%,批号 10289-0001),高乌甲素(兰州仕达生物药品研究所,含量 99.6%,批号 20081014),油酸(德国科宁公司),三辛酸癸酸甘油酯(GTCC,上海高维实业有限公司),肉豆蔻酸异丙酯(IPM,中国医药集团上海化学试剂公司),聚氧乙烯蓖麻油(Cremopher EL,BASF),二乙基乙二醇单乙醚(Transcutol P,法国佳法赛),中链甘油酸三酯(Miglyol 812,北京凤礼精求商贸有限公司),甲醇、乙腈、三乙胺、磷酸均为色谱纯。

雄性昆明种雄性小鼠(20±2)g,上海中医药大学实验动物中心,合格证号 SCXK(沪)2002-0005。

2 方法与结果

2.1 微乳的处方^[5-6] 根据伪三元相图,将药物先加入混合油相中,待完全溶解后,用重蒸水滴定,形成 7 个不同处方的高乌甲素微乳。处方组成见表 1。

表 1 高乌甲素微乳不同处方

No.	油相	表面活性剂	助表面活性剂
1	油酸-GTCC(1:1)	Cremopher EL	Transcutol P
2	油酸-IPM(1:1)	Cremopher EL	Transcutol P
3	油酸-Miglyol 812(1:2)	Cremopher EL	Transcutol P
4	油酸-Miglyol 812(2:1)	Cremopher EL	Transcutol P
5	油酸-Miglyol 812(1:1)	Cremopher EL	Transcutol P
6	油酸-Miglyol 812(1:1)	Cremopher EL	丙二醇
7	油酸-Miglyol 812(1:1)	Cremopher RH40	Transcutol P

2.2 微乳的制备 根据伪三元相图结果,固定 Cremopher EL-Transcutol P 质量比 2.5:1,选择油酸-Miglyol 812 为混合油相,将高乌甲素加入混合油相

中,待完全溶解后,磁力搅拌油相、表面活性剂和助表面活性剂混合物并用重蒸水进行滴定,直至形成澄清透明的高乌甲素微乳,载药量 5.21 g·L⁻¹。将高乌甲素微乳用适量水稀释,滴加至铜网上,用 2.0% 磷钨酸负染,于透射电镜下观察形态,结果可以看到所形成的微乳内相粒子呈圆形或椭圆形,且粒径大小均匀。用激光散射仪测定制得的高乌甲素微乳粒径为 16.6 nm,分布范围窄。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(24:76,水相含 0.3% 三乙胺,磷酸调节 pH 3),进样量 10 μL,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,检测波长 252 nm。

2.3.2 标准曲线的绘制 精密称取氢溴酸高乌甲素对照品 20.06 mg,置于 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。精密吸取对照品储备液 0.2,1,2.5,4,6,10 mL,甲醇稀释并定容至 100 mL,制成系列质量浓度对照品溶液,分别进样测定。以峰面积为纵坐标,对照品溶液质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 Y=8.015X-2.778(r=0.999 9),表明在 4.012~200.6 mg·L⁻¹ 线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取质量浓度 80.24 mg·L⁻¹ 的对照品溶液,同日内连续测定 6 次,计算日内精密度。结果 RSD 1.08%,表明本法精密度良好。

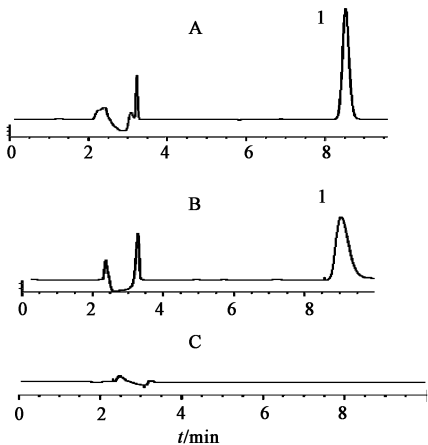
2.3.4 回收率试验 取一定量高乌甲素微乳溶液,置 5 mL 量瓶中,分别加入等量高、中、低 3 个质量浓度的高乌甲素对照品溶液,甲醇定容,制备待测溶液。分别测定其中高乌甲素的含量,考察该试验条件下高、中、低 3 个质量浓度水平下药物测定的回收率。结果平均回收率 99.44%,RSD 2.66%,表明该方法回收率良好。

2.3.5 样品测定 将体外透皮吸收试验所得的待测液,直接进样,进样量 10 μL。按公式计算高乌甲素的累积渗透量。样品溶液与对照品溶液的色谱图一致,空白微乳在此无吸收,表明微乳样品中辅料对其无干扰(图 1)。

2.4 高乌甲素微乳的透皮吸收试验^[5]

2.4.1 小鼠离体皮肤的制备 取雄性小鼠,断颈处死,剃毛,取腹部皮肤,剥离皮下脂肪层,置于生理盐水中冲洗干净,置于-40 ℃低温冰箱中冻存,保存时间少于 1 周。试验时取出,室温下自然解冻后使用。

2.4.2 体外透皮吸收 采用改良 Franz 扩散池,将小鼠皮肤固定在扩散池上,角质层朝向给药层并紧



A. 对照品;B. 载药微乳;C. 空白微乳,1. 高乌甲素
图 1 高乌甲素 HPLC

密接触,真皮层与扩散池相接。扩散室和接收室直径 1.0 cm,渗透面积为 0.785 cm²,扩散室加药物微乳溶液 2 mL,选择 30% 乙醇-PBS 6.8 作为高乌甲素体外经皮渗透试验接受介质,接收室中注入接收液 5 mL,保持(37±0.5)℃恒温水浴,磁力搅拌下预平衡 15 min。于 1,2,4,6,8,12 h 分别取样 1 mL,每次取样后均补加相同体积的新鲜接收液,排除接收室中气泡。样品液以 0.22 μm 微孔滤膜滤过,精密吸取续滤液 10 μL,HPLC 测定扩散液中高乌甲素含量。按以下公式计算单位面积累积透过量(Q)。

$$Q = \frac{VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} V_i C_i}{A}$$

式中 C_n 表示第 n 个取样点测得的药物质量浓度;C_i 表示第 i(i≤n-1) 个取样点测得的药物质量浓度;V 表示接收池体积;V_i 表示第 i 次取样的体积;A 表示有效透皮面积。

以 Q 对时间 t 进行线性回归,所得方程斜率即为透皮速率常数 J。

药物渗透系数 P=J/C₀,C₀ 表示药物扩散池中的初始质量浓度,t_{lag} 表示滞后时间。结果见表 2。经皮渗透曲线见图 2。

由以上图表可知,以油酸-Miglyol 812(1:1,35%)为混合油相,Cremophor EL(45%)为表面活性剂,Transcutol P(20%)为助表面活性剂时,所形成的高乌甲素微乳的透皮速率最大,且时滞最小。综合以上试验结果,确定高乌甲素微乳处方为油酸-Miglyol 812 为混合油相,Cremophor EL 为表面活性剂,Transcutol P 为助表面活性剂。

3 讨论

将不同处方组成的高乌甲素微乳进行体外经皮

表 2 高乌甲素微乳的经皮渗透试验(n=3)

处方	Q-t 回归方程	r	Q /μg·cm ⁻²	P /cm·h ⁻¹	t _{lag} /h
1	Q=16.588t-19.225	0.993 7	69.94	5.70	1.16
2	Q=13.852t-20.706	0.980 0	58.27	4.41	1.49
3	Q=17.503t-10.067	0.995 6	72.53	6.10	0.58
4	Q=24.664t-22.062	0.996 0	103.49	8.44	0.89
5	Q=29.938t-20.396	0.992 8	125.16	12.74	0.68
6	Q=14.484t-15.481	0.989 2	61.96	6.33	1.07
7	Q=17.082t-13.363	0.998 1	73.26	6.50	0.78

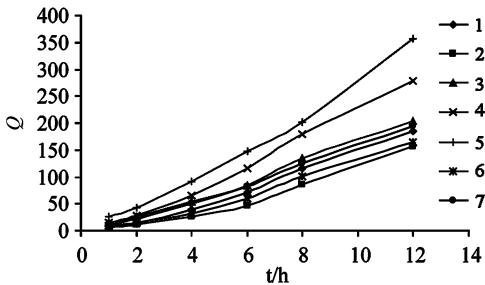


图 2 高乌甲素微乳经皮渗透曲线

渗透试验,从中筛选出最佳处方。一般认为油相载药量越大,渗透梯度越高,药物透皮量越多,但油相中药物溶解度过大,表明两者亲和力很强,药物很难从油相中释放出来进入皮肤。故基于多种因素的相互影响和制约,处方组分的选择及各组分的配比应通过试验进行优化。选用无毒、无刺激、无不良药理作用、具有良好的生物相容性、不影响主药效和稳定性的辅料成为关键^[7]。

[参考文献]

[1] 于基志,张白晶,蒋雪涛.高乌甲素的临床应用[J].第二军医大学学报,2005,26(7):822.
[2] LAWRENCE M J,GARITH D R. Microemulsion based media as novel drug delivery systems [J]. Adv Drug Delivery Rev,2000,45:89.
[3] 吴晓辉,刘玉玲.微乳作为经皮给药载体的研究进展[J].中国药杂志,2006,41(22):1681.
[4] 王英姿,任天池,肖永庆,等.高乌甲素凝胶的质量控制方法[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(2):8.
[5] 宋金春,王玉广.马钱子碱微乳的制备及其体外透皮吸收的研究[J].中国药杂志,2006,41(12):928.
[6] 谢敏,邢建国,王新春,等.天山雪莲透皮微乳制剂处方优化[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(1):8.
[7] 张立超,胡晋红.微乳透皮给药系统的研究进展[J].国外医学:药学分册,2004,31(1):44.

[责任编辑 全燕]