

黄芩苷脂质载体凝胶的制备及其体外透皮性能评析

熊欣^{1,2}, 刘淑芝¹, 项佳音¹, 陈燕军^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 制备黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶, 同时比较两者体外释透皮性能。**方法:** 以卡波姆 981 为辅料制备黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶, 采用改良 Franz 扩散池, 以离体小鼠皮肤为透皮屏障, 紫外分光光度法测定黄芩苷的单位面积累积透皮量。**结果:** 黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶 24 h 单位面积累积透皮量分别为 (38.00 ± 2.51) , $(43.27 \pm 2.39) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 体外释药特性均符合 Higuchi 动力学方程。**结论:** 在无压力条件下, 黄芩苷传递体凝胶与普通脂质体凝胶具有相似的体外透皮性能。

[关键词] 黄芩苷; 脂质体凝胶; 传递体凝胶; 体外透皮

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0028-03

Preparation of Baicalin Lipid Carrier Gel and Evaluation of its *in vitro* Transdermal Property

XIONG Xin^{1,2}, LIU Shu-zhi¹, XU Jia-yin¹, CHEN Yan-jun^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare baicalin liposome gel and transfersome gel, and to compare *in vitro* transdermal property of them. **Method:** Baicalin liposome gel and transfersome gel were prepared with carbopol 981 as accessories, modified Franz diffusion cell was used, isolated rat skin as transdermal barrier, unit area cumulative permeation quantity of baicalin was determined by ultraviolet spectrophotometry. **Result:** Unit area cumulative permeation quantities of baicalein liposome gel and transfersome gel in 24 h were (38.00 ± 2.51) , $(43.27 \pm 2.39) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ respectively, *in vitro* transdermal property of them were in line with Higuchi pharmacokinetics equation. **Conclusion:** Without pressure, baicalin transfersome gel had similar *in vitro* transdermal property with ordinary liposome gel.

[Key words] baicalin; liposome gel; transfersome gel; *in vitro* transdermal

脂质体(liposome)是一种类似于生物膜结构的双分子层微囊,具有类细胞结构。作为药物载体时,脂质体具有靶向性和缓释性,可延长药物作用时间、

降低药物毒性,因此其应用日益受到重视。传递体(transfersome)又称柔性纳米脂质体、变形体,是Cevc在研究局部止痛药和局部麻醉药脂质体时发现的一种类脂聚集体,具有高度变形性的脂质囊泡。皮肤给药时,传递体在压力作用下,能变形挤入并穿过皮肤角质层上微孔(直径为其本身直径1/5),而其直径在此前后几乎不变,是目前经皮给药领域研究的热点剂型之一^[1]。黄芩苷(baicalin)是由唇形科植物黄芩的干燥根中提取的一种黄酮类化合物。目前市场上黄芩苷制剂较多,但大多存在口服吸收差、生物利用度不高、水溶性差等缺点。将其制备成经皮给药制剂,可达到局部迅速给药、避免肝脏首过

[收稿日期] 20120209(002)

[基金项目] 科技部“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-010);中国中医科学院基本科研研究业务费自主选题项目(ZZ20090202)

[第一作者] 熊欣, 硕士, 从事中药药剂研究, Tel: 010-84036059, E-mail: huanhuanleslie@sina.com

[通讯作者] * 陈燕军, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药新型给药系统的研究, Tel: 010-84036059, E-mail: ivycyj@163.com

效应及胃肠道酶解作用等目的^[2]。本课题组在前期研究基础上^[3],本试验旨在制备黄芩苷脂质体与传递体凝胶剂,并对两者体外透皮性能进行对比考察。

1 材料

TGL型高速离心机(上海安亭科学仪器厂),JY92-2D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司),T₀新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析用仪器公司),BSA224S-CW型电子分析天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),TK-20B型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司),黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110715-200514),黄芩苷提取物(自制,含量76.5%),卵磷脂(北京双旋微生物培养基制品厂),胆固醇(国药集团化学试剂有限公司),胆酸钠(美国SIGMA公司),卡波姆981NF(上海运宏化工制剂辅料技术有限公司),其余试剂均为分析纯。

昆明种小鼠,雄性,体重25~30 g,购于北京大学医学部动物实验中心,动物使用许可证号SCXK(京)2009-0017。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷脂质载体的制备^[3]

2.1.1 传递体的制备 精密称取黄芩苷提取物样品60 mg,溶于混合三氯甲烷-甲醇(1:1)有机溶剂40 mL中,超声溶解,按比例(卵磷脂-胆酸钠6:1,卵磷脂-黄芩苷10:1)依次加入卵磷脂,胆固醇。转移至圆底烧瓶中,旋转蒸发(水浴温度40℃,0.05 mPa,转速50 r·min⁻¹)至形成脂质膜并除尽有机溶剂,加入高纯水40 mL置于上述的旋蒸瓶中,混合均匀,旋转水合2 h(水浴温度40℃,0.05 MPa,转速90 r·min⁻¹)至形成脂质体混悬液,放入冰箱中冷藏,将该混悬液于冰水浴中探头式超声5 min,即得,于4℃条件下避光保存。

2.1.2 脂质体的制备 将2.1.1项中胆酸钠替换成胆固醇,其他步骤同2.1.1项下操作。

2.2 脂质体、传递体包封率的测定 精密吸取黄芩苷脂质体、传递体混悬液各5.0 mL,置离心管中,加0.1 mol·L⁻¹盐酸溶液0.8 mL,静置,使絮凝;在4℃条件下高速离心15 min(14 000 r·min⁻¹),取上清液,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液1 mL,置10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,精密吸取1 mL置10 mL量瓶中,加水稀释至刻度,279 nm波长下测定吸光度,按下式计算包封率。结果所得脂质体与传递体平均包封率分别为55.44%,59.97%(n=3)。

$$\text{包封率} = (W_{\text{总}} - W_{\text{游}}) / W_{\text{总}} \times 100\%$$

2.3 黄芩苷脂质体凝胶和传递体凝胶的制备 采用基质形成后加入法制备^[4],即精密称取卡波姆粉末适量,加适量pH 7.4的磷酸缓冲溶液(PBS 7.4溶液)充分搅拌,用三乙醇胺调节pH 6.0~6.5,加PBS 7.4溶液适量,充分搅拌,使卡波姆质量浓度为5%,溶胀过夜。精密称取5%卡波姆基质1.6 g,加甘油1 mL,精密称取山梨酸0.02 g超声溶解于1 mL无水乙醇中,加入基质中搅拌均匀;精密量取脂质体/传递体混悬液6 mL,加入上述基质中,边加边搅拌,补充PBS 7.4溶液至10 g,充分搅拌,溶胀过夜,即得质量浓度0.09%的黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶。

2.4 黄芩苷脂质载体凝胶含量测定^[3] 精密称取黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶样品各0.5 g,置烧杯中,加甲醇10 mL,超声搅拌3~4 min,得到白色混悬液,转移至25 mL量瓶中,用甲醇少量多次清洗烧杯壁上的辅料,合并洗液置量瓶中,加甲醇稀释至刻度,超声10 min,取出,放置至常温,精密量取1 mL至5 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,于279 nm波长下测定吸光度,计算药物浓度。

2.5 离体皮肤的制备 购买昆明小鼠,雄性,25~30 g,实验前正常喂养1周以适应实验室环境。用6%硫化钠将昆明种小鼠胸腹部皮肤脱毛,将其断颈处死,用钝头剪刀取下胸腹部皮肤,除去脂肪和皮下组织,保留角质层的完整,用无菌生理盐水洗净,4℃浸泡在无菌生理盐水中,备用。

2.6 体外透皮试验 分别比较黄芩苷脂质体凝胶和传递体凝胶的24 h累积透皮量。取出备用皮肤,将其固定于扩散池上,有效扩散面积为3.14 cm²,角质层面向给药室,真皮层面向接受室,接受室体积为18~20 mL,接受液为PBS 7.4溶液,温度(36±1)℃,转速350 r·min⁻¹。精密称取2种凝胶各0.5 g,均匀涂布于鼠皮表面,分别于1,2,4,6,8,10,12,24 h将接受室液体全部倒出,同时补充同等量新鲜接受液,将取出液体置于带刻度试管中,用PBS 7.4溶液进行体积校正,记录校正后体积,0.45 μm微孔滤膜滤过,于279 nm波长下测定接受液中药物的吸光度,计算接受液中药物浓度。累积透皮量按下式计算,各凝胶单位累积透皮量见表1,24 h单位面积累积透皮量曲线见图1。

$$Q = \sum C_i V_i / S$$

Q为该时间点累积透皮量;C_i为第i次取样时

接受液中药物浓度; V_i 为每次取样校正后的接受液体积, S 为皮肤有效扩散面积。

表 1 黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶各时间点

平均单位面积累积透皮量 ($\bar{x} \pm s, n=3$) $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$

t/h	脂质体凝胶	传递体凝胶
1	6.14 ± 1.91	4.17 ± 1.35
2	10.52 ± 3.09	7.77 ± 2.66
4	17.80 ± 4.61	12.76 ± 5.31
6	23.64 ± 5.07	17.41 ± 6.67
8	28.71 ± 4.39	21.58 ± 6.74
10	32.86 ± 3.52	25.51 ± 5.73
12	36.04 ± 3.25	28.37 ± 4.89
24	43.27 ± 2.39	38.00 ± 2.51
平均累积透皮量/mg	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01
平均累积透皮率/%	29.68 ± 2.31	25.85 ± 2.21

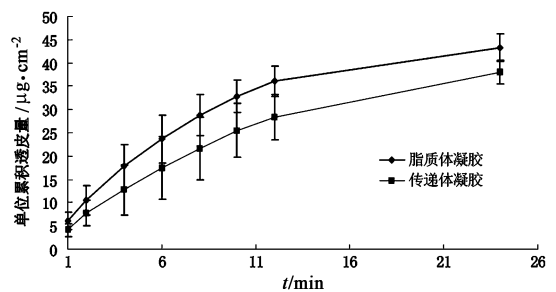


图 1 黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶
24 h 单位面积累积透皮量曲线 ($\bar{x} \pm s$)

分别对 2 种凝胶 0~24 h 体外透皮行为进行零级、一级和 Higuchi 方程拟合, 结果见表 2。

由表 2 结果可知, 黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶体外透皮规律均符合 Higuchi 动力学方程, 且两种凝胶均具有良好的缓释性。

表 2 黄芩苷脂质体凝胶与传递体凝胶释放曲线方程拟合

拟合模型	脂质体凝胶	r	传递体凝胶	r
零级方程	$Q = 1.088 1t + 7.935 9$	0.912 2	$Q = 0.988 4t + 4.938 4$	0.953 5
一级方程	$\ln(1 - Q) = -0.013 4t + 4.525 2$	0.928 3	$\ln(1 - Q) = -0.011 7t + 4.557 9$	0.965 0
Higuchi 方程	$Q = 6.948 2t^{1/2} - 1.379 2$	0.978 9	$Q = 6.137 1t^{1/2} - 3.060 2$	0.994 9

3 讨论

本试验中脂质体与传递体结构模拟的是细胞膜的磷脂双分子层结构, 具有一定的流动性, 造成脂质体或传递体内药物的渗漏和流失, 降低了包封率。故在今后研究中, 还需在提高脂质体或传递体膜稳定性方面进行深入研究。

由于脂质体和传递体均以混悬液状态存在, 给药时流动性太大, 给患者带来不便。本实验将其制备成经皮凝胶剂, 能降低脂质双分子的流动性, 防止药物渗出脂质体并有助悬作用, 可增加脂质体的稳定性^[5]。黄芩苷为弱酸性黄酮类物质^[6], 在酸性环境中易析出, 故试验中先将卡波姆基质 pH 调至 6.0~6.5, 再加入脂质体或传递体, 以防止未被包封的黄芩苷析出。

传递体透过皮肤的形式是通过自身变形来实现的。传递体中的胆酸钠能在高压部位蓄积而使之产生变形, 这种变形使传递体能容易地穿过孔径小几倍的孔道, 传递体在通过角质层的过程中经过了多次变形^[7]。本研究体外透皮试验中未对传递体凝胶施压, 结果显示, 黄芩苷传递体凝胶累积透皮量与普通脂质体凝胶无显著性差异。佐证了传递体在没

有压力情况下, 体外透皮性能与普通脂质体相似, 其不同压力下的体外透皮比较有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Cevc G, Blume G. Hydrocortisone and dexamethasone in very deformable drug carriers have increased biological potency, prolonged effect, and reduced therapeutic dosage[J]. Biochim Biophys Acta, 2004(1663):61.
- [2] 夏金兰, 蒋海明, 聂珍媛. 透皮给药制剂研究[J]. 中南工业大学学报, 2003, 34(5): 494.
- [3] 陈燕军, 贾燕, 金日显, 等. 黄芩苷柔性纳米脂质体的制备[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 1.
- [4] 阳长明, 冯长根, 向大雄, 等. 8-甲氧补骨脂素脂质体凝胶成型工艺研究[J]. 中成药, 2007, 29(12): 1847.
- [5] 郭成希. 博来霉素脂质体凝胶的制备和体外透皮性比较[J]. 中国药师, 2009, 12(12): 1720.
- [6] 于波涛, 张志荣, 刘文胜, 等. 黄芩苷稳定性研究[J]. 中草药, 2002, 33(3): 218.
- [7] 谢悦良, 张毕奎. 柔性纳米脂质体的研究进展[J]. 中国药房, 2008, 19(25): 1983.

[责任编辑 全燕]