

· 工艺与制剂 ·

原花青素柔性纳米脂质体小鼠皮肤局部药代动力学

陈燕军¹, 张军斌², 熊欣¹, 武惠斌², 项佳音¹, 金日显¹, 郝宝剑¹, 熊维政², 黄璐琦^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 河南羚锐制药股份有限公司, 河南 新县 465550)

[摘要] 目的: 制备原花青素柔性纳米脂质体, 考察原花青素在小鼠腹部皮肤的滞留量与时间的关系及其局部经皮给药的药动学, 探讨柔性纳米脂质体促进药物的经皮吸收的作用。方法: 采用薄膜分散法制备原花青素柔性纳米脂质体, 紫外-可见分光光度法测定不同时间给药皮肤中原花青素生物滞留量, DAS 软件拟合药物动力学参数。结果: 原花青素柔性纳米脂质体包封率为 $(72.52 \pm 8.63)\%$, 平均粒径 167.5 nm, Zeta 电位 -60.3, 多分散指数 0.309; 在小鼠皮肤中滞留量的药动学过程符合二室模型。结论: 原花青素柔性纳米脂质体中有效成分能较快渗透进入皮肤, 并在皮肤局部较长时间蓄积。

[关键词] 原花青素; 柔性纳米脂质体; 皮肤局部药代动力学

[中图分类号] R283.6, R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0001-04

Dermatopharmacokinetic Studies of Proanthocyanidins Flexible Nanoliposomes in Rat Topical Skin

CHEN Yan-jun¹, ZHANG Jun-bin², XIONG Xin¹, WU Hui-bin², XU Jia-yin¹,
JIN Ri-xian¹, YU Bao-jian¹, XIONG Wei-zheng², HUANG Lu-qi^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;
2. Henan Lingrui Pharmaceutical Co. Ltd., Xinxian 465550, China)

[Abstract] **Objective:** Flexible nanoliposomes was prepared with proanthocyanidins to study the relationship between deposition and time of proanthocyanidins in rats' abdominal skin and its topical pharmacokinetics. The function of flexible nanoliposomes in enhancing the transdermal absorption of the encapsulated drug was investigated. **Method:** Flexible nanoliposomes was prepared with proanthocyanidins using a film dispersion method to determine the relationship between deposition and time of proanthocyanidins in rats' abdominal skin by ultraviolet spectrophotometry, and the pharmacokinetic parameters were fitted by DAS. **Result:** Depositions of different time in rats' abdominal skin could be fitted with the two compartment model. **Conclusion:** The active ingredients of proanthocyanidins flexible nanoliposomes can permeate through the skin effectively and lie long time.

[Key words] proanthocyanidins; flexible nanoliposomes; dermatopharmacokinetic studies of topical skin

柔性纳米脂质体 (flexible nanoliposomes) 又称传

递体、变形脂质体, 是通过自身膜的高度变形性, 以渗透压差为驱动力, 能高效地穿透比它本身小数倍孔道的类脂聚集体。粒径多为数十至数百纳米, 具有高效渗透性、高度柔韧性和亲水性^[1]。该类脂质体受角质层水合所产生的渗透压的影响能发生变形并被“挤入”角质层, 因而显著增加药物的经皮渗透^[2], 使更多的药物保留在皮肤中, 减少药物进入血液循环, 在表皮和真皮内形成药物贮库, 形成一个缓释模型, 使药物持久地对病变局部起治疗作用^[3]。因

[收稿日期] 20110222(015)

[基金项目] 中国博士后科学基金(20080430532)

[第一作者] 陈燕军, 博士, 副研究员, 从事中药新型给药系统的研究, Tel: 010-84036059, E-mail: ivycyj@163.com

[通讯作者] * 黄璐琦, 博士, 研究员, 从事中药学研究, Tel: 010-64014411-2955, E-mail: huangluqi@263.net

此柔性纳米脂质体越来越多地用作各种大分子、水溶性药物或脂溶性药物的载体。

葡萄籽原花青素 (grape seed extract proanthocyanidin, GSP) 是从葡萄籽中提取的一类天然多酚化合物, 分子结构单元由儿茶素表儿茶素或没食子酸组成^[3], 具有较多的羟基, 具有较大的极性, 由于 GSP 的相对分子质量大, 亲水性、空间结构复杂, 以柔性纳米脂质体作为给药载体是一个极好的选择。本实验制备了原花青素柔性纳米脂质体, 通过小鼠皮肤给药, 测定不同时间点原花青素中总酚的单位体积皮肤滞留量, 来考察皮肤局部药物动力学, 并用 DAS 软件拟合药物动力学参数, 探讨其皮肤药动学规律, 为原花青素柔性纳米脂质体的应用及质量评价提供试验依据。

1 材料

1.1 动物 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, 动物使用许可证号为 SCXK(京)2006-0008。

1.2 仪器与试剂 J301 型高速冷冻离心机(美国贝克曼库尔特公司), JY92-2D 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司), Nano ZS90 型纳米激光粒度测定仪(德国马尔文公司), T₆ 新世纪紫外-可见分光光度仪(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), DL-120A 型超声波清洗器(上海之信有限公司)等。没食子酸(中国药品生物制品检定所, 批号 08110059), 卵磷脂(北京双旋微生物培养基制品厂, 批号 20100431), 胆酸钠(美国 SIGMA 公司, 批号 028K00121), 原花青素(OPCS ≥ 85%, 天津尖峰天然产物研究开发有限公司, 批号 08110059-05), 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 原花青素柔性纳米脂质体的制备 根据文献方法^[4], 按比例[卵磷脂-胆酸钠(8:1), 卵磷脂-原花青素(15:1)]精密称取卵磷脂 900 mg 和胆酸钠 112.5 mg 置于 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加入 60 mL 三氯甲烷-甲醇(1:1)混合液, 超声溶解。旋转蒸发使其成膜并除尽有机溶剂(水浴 40 °C, 0.06 MPa); 精密称取葡萄籽提取物 70.6 mg(相当于原花青素 60 mg)溶于 60 mL 水中, 加入到有类脂膜的圆底烧瓶中再继续旋转水和一段时间, 形成脂质体混悬液, 再将其于冰水浴中探头试超声(超声 4 s, 间歇 4 s, 超

声功率 50 W) 5 min, 即得。

2.2 柔性纳米脂质体粒径、Zeta 电位、多分散指数(PDI)值及包封率的测定^[4] 精密量取柔性纳米脂质体 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 测定其粒径、PDI 值及 Zeta 电位。结果见表 1、图 1、2。

表 1 原花青素柔性纳米脂质体粒径、Zeta 电位、PDI 及包封率

样品	粒径/nm	Zeta 电位/mV	PDI
1	170.6	-63.9	0.306
2	165.8	-58.8	0.290
3	166.1	-58.1	0.330
平均值	167.5	-60.3	0.309
SD	2.69	3.17	0.02

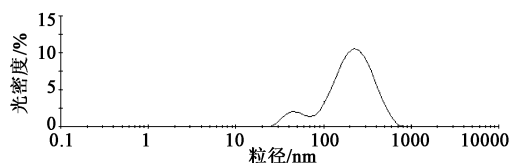


图 1 原花青素柔性纳米脂质体粒径分布

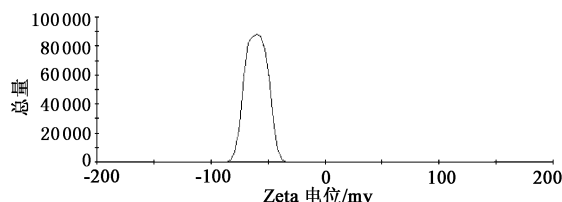


图 2 原花青素柔性纳米脂质体 Zeta 电位分布

精密量取柔性纳米脂质体 5 mL, 置于 10 mL 离心管中, 加 0.1 mol·L⁻¹ HCl 溶液 0.4 mL, 静置, 使絮凝, 在 4 °C 14 000 r·min⁻¹ 条件下离心 15 min, 取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液 1 mL 于 25 mL 棕色量瓶中, 加入磷钼钨酸试液 1 mL, 再加水 11 mL, 用 29% Na₂CO₃ 溶液稀释至刻度, 摇匀, 放置 30 min, 以相应的试剂为空白, 以紫外-可见分光光度法在 760 nm 的波长处测定吸光度。计算含量为未包封药物量, 以投入量为总药物量, 按《中国药典》2010 年版二部附录 XIXE 公式计算药物的包封率。制备得到原花青素柔性纳米脂质体的包封率为 (72.52 ± 8.63)%。

2.3 皮肤局部药代动力学试验

2.3.1 小鼠皮肤样品的制备与处理 健康小鼠 30 只, 雄性, 体重 25 ~ 30 g, 在实验室喂养 1 个星期以适应实验室的环境, 试验前 1 d 小心除去腹部的皮

肤毛,注意不要损伤皮肤,禁食 1 d,自由饮水。试验时,留 3 只小鼠不给药,作为空白组;将柔性纳米脂质体用棉签均匀涂抹于腹部脱毛处,给药量为 1 g/只。分别在给药后 10,30 min,1,2,4,6,8,10,18 h 分别处死 3 只,用生理盐水反复擦拭皮肤表面,剥离皮肤(面积为 4 cm × 2.25 cm),去除附着的肌肉,剪成碎片,放在试管中,加入 10 mL 蒸馏水,超声提取 1 h,在 4 ℃ 以下,7 000 r·min⁻¹离心 20 min,加至 10 mL 量瓶中定容,吸取上清液,加入 0.1 mol·L⁻¹盐酸溶液 0.2 mL,在 4 ℃ 以下离心 15 min(14 000 r·min⁻¹),取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,作为样品溶液。

2.3.2 样品溶液中总酚的含量测定 按《中国药典》2010 年版一部附录鞣质含量测定方法项下“总酚”的方法测定样品溶液中总酚的量。含量测定方法学研究见文献[4]。分别去各个时间点的皮肤样品溶液 1 mL,置于 25 mL 棕色量瓶中,各加入磷钼钨酸试液 1 mL,再分别加水 11 mL,用 29% Na₂CO₃ 溶液稀释至刻度,摇匀,放置 30 min,以空白组皮肤提取液加相应的试剂为空白,照紫外-可见分光光度法,在 760 nm 的波长处测定吸光度。

2.3.3 透皮吸收实验结果 原花青素柔性纳米脂质体小鼠腹部皮肤给药后,不同滞留时间药物滞留量见图 3。

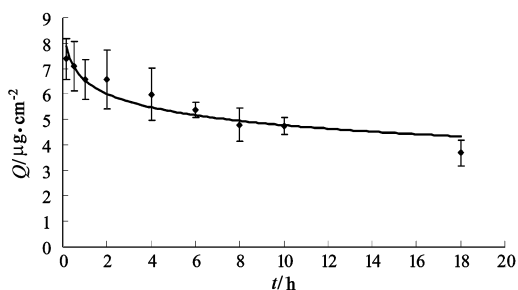


图 3 小鼠给药后不同时间皮肤中有效成分的滞留量-时间曲线

2.4 数据处理

2.4.1 模型拟合优度 将小鼠腹部皮肤给药后不同时间点的单位面积皮肤中的有效成分滞留量数据用 DAS 药理学软件统计程序处理,选择合适的房室模型进行拟合,各成分拟合度参数见表 2。

结果表明,柔性纳米脂质体在皮肤中的滞留量的动力学过程以二室模型拟合效果好。

2.4.2 药理学参数的计算 据文献[5]方法,以二室模型为拟合模型,权重为 1·c⁻²,用 DAS 药理学软

件统计程序统计各有效成分的药理学参数,房室模型参数结果见表 3,统计矩参数结果见表 4。

表 2 小鼠腹部皮肤给药后原花青素滞留量数据二室模型拟合度参数

拟合参数	Mean
A	2.528
α	0.56
B	4.984
β	0.022
房室数	2
AIC	-31.637
AE	0.425
RE	0.013
R ²	0.999
SBC	-30.848
Fit times	269
权重系数	1/c ²

表 3 小鼠腹部皮肤给药后原花青素滞留量动力学房室模型参数

参数	单位	Mean
t _{1/2} α	h	5.642
t _{1/2} β	h	60 937.206
V ₁	L·kg ⁻¹	5.953
CL	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	0.251
AUC(0-t)	mg·L ⁻¹ ·h	90.841
AUC(0-∞)	mg·L ⁻¹ ·h	177.88
K ₁₀	h ⁻¹	0.043
K ₁₂	h ⁻¹	0.499
K ₂₁	h ⁻¹	0.431

表 4 小鼠腹部皮肤给药后原花青素滞留量动力学统计矩参数

参数	单位	Mean
AUC(0-t)	mg/L ⁻¹ ·h	90.871
AUC(0-∞)	mg/L ⁻¹ ·h	169.803
AUMC(0-t)		716.553
AUMC(0-∞)		4 125.115
MRT(0-t)	h	7.895
MRT(0-∞)	h	23.876
VRT(0-t)	h ²	29.826
VRT(0-∞)	h ²	596.608
t _{1/2} z	h	16.477
T _{max}	h	0.28
CL _z	L·h ⁻¹ ·k ⁻¹ g	0.264
V _z	L·kg ⁻¹	6.163
Zeta		0.044
C _z (尾点回归值)	mg·L ⁻¹	3.296
C _{max}	mg·L ⁻¹	7.425

3 讨论

从以上数据可以看出,原花青素柔性纳米脂质体大小、粒径分布均一,性质稳定,其有效成分在皮肤滞留的动力学过程以二室模型拟合效果较好,权

刺五加胶囊成型工艺

牟洪, 刘树民*, 杨补科, 张翀, 范振群, 方圆
(黑龙江中医药大学中医药研究院, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 探讨刺五加胶囊的成型工艺。方法: 考察不同辅料对主药吸湿性的影响; 以颗粒的合格率作为指标, 筛选最佳制粒成型工艺条件, 并考察颗粒的临界相对湿度, 休止角及堆密度。结果: 主药与可溶性淀粉、微晶纤维素按 40: 45: 15 的比例混匀, 加入 70% 乙醇制软材, 20 目筛制粒, 所得颗粒的休止角为 33.5°, 堆密度为 0.38 g·mL⁻¹, 临界相对湿度为 66%。结论: 该成型工艺合理、可行, 为大生产提供了科学依据。

[关键词] 刺五加胶囊; 成型工艺; 临界相对湿度; 休止角; 堆密度; 帕金森病

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0004-03

Formulation Progress of *Acanthopanax senticosus* Capsule

MU Hong, LIU Shu-min*, YANG Bu-ke, ZHANG Chong, FAN Zhen-qun, FANG Yuan
(Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the formulation procedure of *Acanthopanax senticosus* capsule. **Method:** The influence of different excipients on the hygroscopicity of the main medicines was investigated by screening the best processing technology conditions and inspecting the critical relative humidity, angle of repose, and bulk density. **Result:** The main medicines and soluble starch, microcrystalline cellulose were mixed by a ratio of 40:45:15, 70% ethanol was added to make materials soft, 20 mesh sieve granulation. The angle of repose of the

[收稿日期] 20110328(003)

[基金项目] 重大新药创制项目(2009ZX09103)

[第一作者] 牟洪, 硕士研究生, 从事中药临床药效物质基础研究及中药药性理论研究, Tel: 13674689875, E-mail: muhong19861214@163.com

[通讯作者] * 刘树民, 教授, 博士生导师, 从事中药临床药效物质基础研究及中药药性理论研究, Tel: 0451-82196163, Fax: 0451-82196181, E-mail: lsm@hljucm.net

重系数为 $1 \cdot c^{-2}$; 原花青素在皮肤内 $t_{1/2\alpha}$ 较小, 能较快渗透进入皮肤, 并在局部蓄积; $t_{1/2\beta}$ 大于 24 h, 表明在皮肤局部长时间有较强的蓄积作用, 有利于药物在皮肤深层局部长时间发挥药理作用。柔性纳米脂质体是原花青素局部皮肤给药的良好载体, 有望得到进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] Cevc G, Blume G. Lipid vesicles penetrate into intact

skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force [J]. Biochim Biophys Acta, 1992, 1104: 226.

- [3] 陈桐楷, 林华庆, 李园. 柔性纳米脂质体经皮给药新载体的研究进展[J]. 中国药师, 2009, 12(6): 732.
- [4] 陈燕军, 武惠斌, 袁军林, 等. 原花青素柔性纳米脂质体与普通脂质体体外释药评析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 169.
- [5] 王森, 朱卫丰, 陈丽华, 等. 良肤乳膏小鼠皮肤药物动力学研究[C]. 山西运城: 全国中药创新与研究论坛, 2009: 496.

[责任编辑 仝燕]