

· 工艺与制剂 ·

不同微乳配方对药物经皮渗透的影响

梅莹, 冯伟红, 刘淑芝*, 易红, 杨华, 杜茂波
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 考察不同微乳配方对左金微乳凝胶中有效成分经皮渗透的影响。方法: 采用改良 Franz 扩散池, 以凝胶中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱 4 种生物碱为评价指标, 用 HPLC 方法测定接收液中上述 4 个成分含量。结果: 不同微乳配方的左金凝胶中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱 4 种生物碱的经皮渗透速率和 24 h 累积透过率有明显差异。结论: 微乳处方的组成对药物的经皮渗透能力有一定的影响。

[关键词] 微乳凝胶; 透皮; 黄连; 吴茱萸

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0001-04

Effects of Different Prescription of Microemulsion on Transdermal Permeability on Drugs

MEI Ying, FENG Wei-hong, LIU Shu-zhi*, YI Hong, YANG Hua, DU Maobo

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: Investigated the effects of different prescription of microemulsion on transdermal permeability on Zuojin microemulsion based gel. **Method:** Improved Franz diffusion cell was adopted to research the transdermal permeability difference between these kinds of gels in mouse skin *in vitro*, and HPLC was used to determine the content of hydrochloride palmatine, berberine, evodiamine and rutaecarpine in receiving solution. **Result:** The permeation rate and 24 h accumulation transmittance of hydrochloride palmatine, berberine, evodiamine and rutaecarpine in different Zuojin microemulsion based gel were distinct. **Conclusion:** The transdermal permeability of drugs is influenced by the composition of microemulsion prescription.

[Key words] microemulsionbased gel; transdermal; huanglian; rutaecarpine

微乳(micro-emulsion, ME)是粒径为 10 ~100 nm 的乳滴分散在另一种液体中形成的热力学性质稳定、各向同性、外观澄明的胶体分散体系^[1]。凝胶剂是近年来兴起的一种药物新剂型,系指提取物与适量基质

制成的,具有凝胶特性的半固体或稠厚液体制剂^[2]。将微乳加至凝胶基质中制成的凝胶,即可称为微乳凝胶(microemulsionbased gels, MBGs)^[3]。

本文以左金丸作为模型药,以盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱为指标成分,探讨不同微乳配方对左金微乳凝胶透皮吸收的影响。

1 试剂与仪器

Waters Alliance 高效液相色谱仪(美国), 2695 溶剂管理系统, 2996 二极管阵列检测器, Empower² 色谱工作站, 透皮扩散实验仪 TK-12B 型(上海锆凯科技贸易有限公司)。

卡波姆(BF Goodrich CO. 公司), 羟丙甲基纤维素(美国陶氏), 聚维酮(德国 BASF), PEG400, 95%

[收稿日期] 2010-03-10

[基金项目] 国家自然科学基金课题(30873444); 重大新药创制-中药研究关键技术(2009ZX09502-010); 重大新药创制-综合性中药新药研究开发技术大平台(2009ZX09301-005-05)

[第一作者] 梅莹, 硕士, 中药制药, Tel: 13426283114, E-mail: meiying0520@126.com

[通讯作者] * 刘淑芝, 研究员, 中药制药, Tel: 010-84043227, E-mail: liushuzi2004@sina.com

乙醇、磷酸均为分析纯(北京化学试剂公司),乙腈为色谱纯(Fisher 公司),十二烷基磺酸钠为化学纯(国药集团化学试剂有限公司)。

黄连和吴茱萸提取物自制, O/W 型微乳 A, B, C 自制, 对照品: 盐酸巴马汀(批号 110732-200506); 盐酸小檗碱(批号 110713-200208); 吴茱萸碱(批号 0802-200003); 吴茱萸次碱(批号 110801-200304); 以上对照品均购自中国药品生物

制品检定所, 供含量测定用。

2 含量测定方法学考察

2.1 色谱条件 色谱柱 Accurasil-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 245 nm; 柱温 30 °C; 流速 1 mL·min⁻¹; 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(50:50) (每 100 mL 加十二烷基磺酸钠 0.1 g)^[14]。在上述色谱条件下, 4 种生物碱色谱峰均达到基线分离, 空白接受液无干扰, 符合定量分析的要求。见图 1。

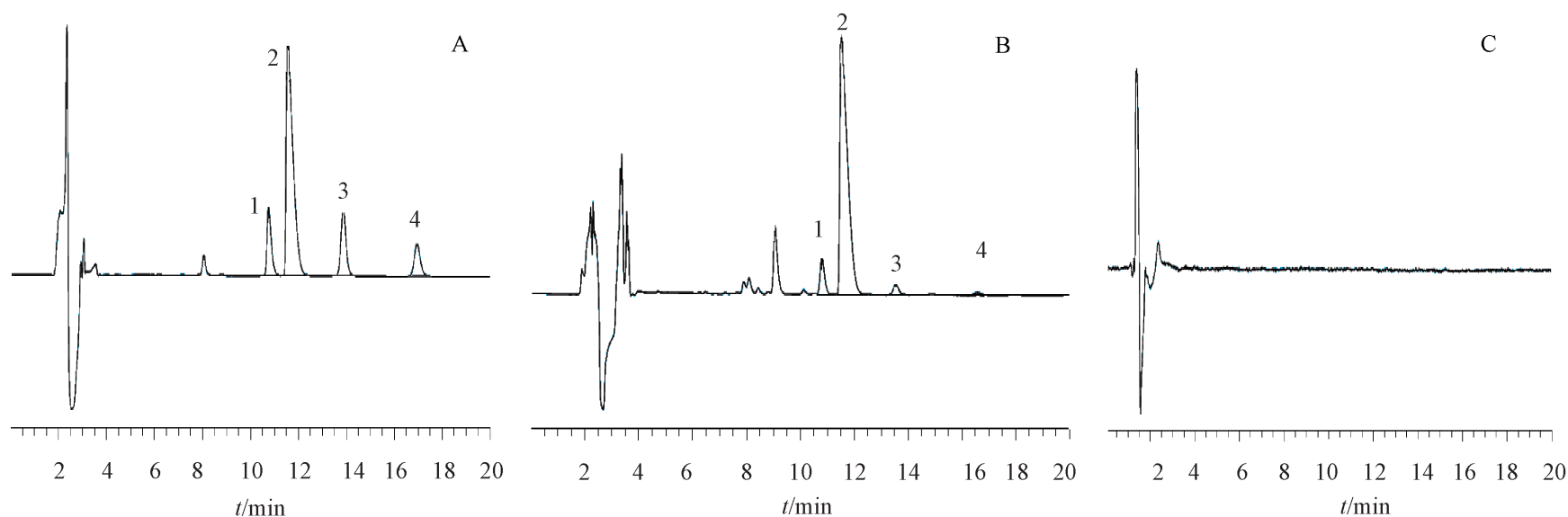


图 1 样品测定 HPLC

A. 混合对照品; B. 供试品; C. 阴性接收液; 1. 盐酸巴马汀; 2. 盐酸小檗碱; 3. 吴茱萸碱; 4. 吴茱萸次碱

2.2 线性关系考察 分别精密称取盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱对照品 0.56, 0.63, 0.56, 0.48 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加适量甲醇溶解, 定容至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(分别为 0.056, 0.063, 0.056, 0.048 g·L⁻¹)。将此溶液用甲醇稀释 10 倍(1:10)后进样 10 mL; 稀释 100 倍(1:100)后, 分别进样 2, 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按 2.1 项下色谱条件, 测定其中盐酸巴马汀, 盐酸小檗碱, 吴茱萸碱, 吴茱萸次碱的峰面积, 以对照品的进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 绘制标准曲线。结果各成分的线性关系良好, 见表 1。

表 1 4 种生物碱线性关系考察

组分	标准曲线	相关因子 r	线性范围/μg
盐酸巴马汀	$Y=3 \times 10^6 X - 1322.6$	0.999 95	0.001 2 ~ 0.061 0
盐酸小檗碱	$Y=3 \times 10^6 X + 3017.2$	0.999 90	0.007 2 ~ 0.361 0
吴茱萸碱	$Y=9 \times 10^6 X - 3098$	0.999 45	0.000 6 ~ 0.031 0
吴茱萸次碱	$Y=6 \times 10^6 X - 2810$	0.999 65	0.000 5 ~ 0.025 0

2.3 精密度试验 将供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪中连续进样 6 次, 测定其峰面积, 经计算 4 种指标性成分的 RSD 分别为 1.57%, 0.97%, 1.47%, 1.51%, 表明仪器的精密度良好; 将供试品溶液 20 μL 于 3 日内每日分别连续进样 3 次, 测定峰面积,

经计算 4 种指标性成分的 RSD 分别为 1.03%, 0.67%, 1.82%, 1.87%, 表明精密度良好。

2.4 重复性试验 取 6 份供试品溶液, 分别进样, 测定峰面积。经计算, 4 种指标性成分的 RSD 分别为 1.16%, 0.40%, 1.19%, 1.58%, 重复性良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在样品制备后第 0, 2, 4, 8, 10, 24, 48 h 进样, 测定峰面积。经计算, 4 种指标性成分的 RSD 分别为 1.93%, 0.45%, 0.51%, 1.94%, 表明样品的稳定性良好。

2.6 加样回收率试验 取已测知含量的 6 份供试品溶液, 按样品:对照品 1:1 的量分别加入 4 种对照品混合溶液, 使其完全溶解并混匀, 过 0.22 μm 的微孔滤膜, 作为供试品溶液, 注入 HPLC 仪, 测定峰面积。经计算, 4 种指标成分的 RSD 均 < 3%, 表明方法的准确度良好, 见表 2。

3 透皮渗透方法与结果

3.1 微乳凝胶的制备 取卡波姆、羟丙甲基纤维素适量, 分别加微乳 A, B, C 充分溶胀成透明胶体, 再加入处方量的黄连和吴茱萸提取物及其他辅料, 搅匀, 最后加入 pH 调节剂, 搅匀, 得左金微乳凝胶 A, B, C。制得的左金微乳凝胶 A 样品中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的质量分数分别为 0.230 4,

4. 201 5, 0. 038 5, 0. 040 0 mg·g⁻¹;左金微乳凝胶 B 样品中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的质量分数分别为 0. 254 2, 4. 636 9, 0. 039 4, 0. 040 9 mg·g⁻¹;左金微乳凝胶 C 样品中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的质量分数分别为 0. 251 1, 4. 643 4, 0. 038 7, 0. 041 4 mg·g⁻¹。

表 2 4 种生物碱加样回收率试验 %

No.	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
1	99. 310 1	97. 729 2	98. 093 8	99. 691 1
2	96. 597 2	100. 254 2	94. 639 8	104. 690 8
3	97. 497 7	101. 348 3	98. 615 9	101. 111 6
4	98. 919 3	100. 451 3	100. 463 4	99. 941 8
5	98. 015 0	99. 779 9	99. 318 8	101. 306 6
6	97. 665 2	97. 700 3	100. 001 5	101. 766 2
平均回收率	98. 00	99. 54	98. 52	101. 42
RSD	1. 01	1. 51	2. 12	1. 77

3.2 离体鼠皮的制备 将年龄适宜的健康小鼠处死后,用脱毛剂将小鼠毛小心脱去,冲洗干净,剪下皮肤,小心剥离脂肪,选取完整的皮肤,用生理盐水冲洗干净,备用。

3.3 体外透皮实验^[5] 实验使用垂式 Franz 扩散池,接收液为 PEG400-95%乙醇-水(1 3 6)。实验过程:将 2 g 凝胶样品紧密涂布于皮肤角质层上,排净气泡,然后固定于扩散装置的扩散室和接收室之间,在接收室中注满接收液,排尽气泡。磁力搅拌器转速 400 r·min⁻¹,水浴温度 32℃,扩散池容积 18 mL,有效扩散面积为 2.834 cm²。分别在 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 取样,取样时将接收室中的液体全部倒出,同时补加同样体积的新鲜接收液;将倒出液体过 0.22 μm 微孔滤膜后,测定其中盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量,计算透过量。按下式计算单位面积累积透过量 Q 。

$$Q = \left[\sum_{i=1}^n C_n \right] \times V/S$$

式中, Q 单位面积累积释放(透过)量, C_n 第 n 次取样时接受液中药物浓度, V 取样体积, S 有效扩散面积。

3.4 左金微乳凝胶 A, B, C 透皮实验结果 以指标成分的单位面积累积透过量 Q 对时间 t 作图,结果见图 2;以 24 h 平均累积透皮量对 t 进行动力学方程拟合,结果见表 3 ~5;24 h 各成分累积透过率比较,结果见表 6。

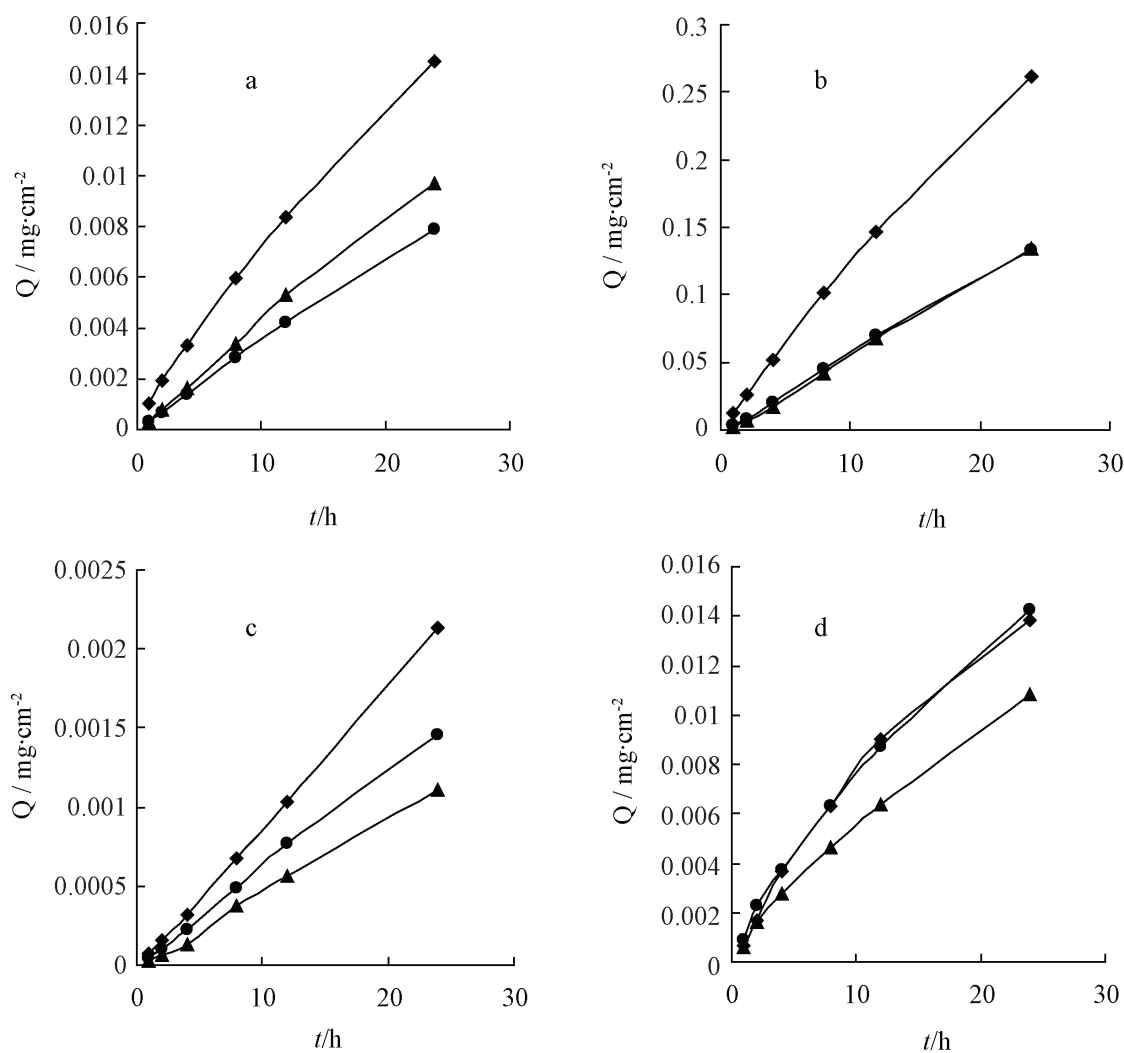


图 2 3 种微乳凝胶透皮曲线

a 巴马汀; b. 小檗碱; c. 吴茱萸碱; d. 吴茱萸次碱

— 微乳凝胶 A; — 微乳凝胶 B; — 微乳凝胶 C

表 3 左金微乳凝胶 A 的体外透皮曲线

指标成分	拟合曲线	经皮渗透速率 / $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	R
盐酸巴马汀	$Q=0.64t+0.9$	0.64	0.994 1
盐酸小檗碱	$Q=10.8t+8$	10.81	0.995 0
吴茱萸碱	$Q=0.09t-0.03$	0.09	0.999 8
吴茱萸次碱	$Q=0.06t+0.1$	0.06	0.968 8

表 4 左金微乳凝胶 B 的体外透皮曲线

指标成分	拟合曲线	经皮渗透速率 / $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	R
盐酸巴马汀	$Q=0.43t+0.02$	0.43	0.997 3
盐酸小檗碱	$Q=5.82t-4.8$	5.82	0.999 3
吴茱萸碱	$Q=0.05t-0.03$	0.05	0.997 7
吴茱萸次碱	$Q=0.04t+0.08$	0.04	0.988 5

表 5 左金微乳凝胶 C 的体外透皮曲线

指标成分	拟合曲线	经皮渗透速率 / $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$	R
盐酸巴马汀	$Q=0.32t+0.06$	0.32	0.997 8
盐酸小檗碱	$Q=5.74t-1.8$	5.74	0.998 6
吴茱萸碱	$Q=0.06t-0.01$	0.06	0.998 4
吴茱萸次碱	$Q=0.06t+0.1$	0.06	0.983 2

表 6 不同处方的微乳凝胶中有效成分 24 h 累积透过率的比较 %

处方	盐酸巴马汀	盐酸小檗碱	吴茱萸碱	吴茱萸次碱
A	17.80	17.62	15.72	9.79
B	10.80	8.21	8.00	7.51
C	8.88	8.11	10.66	9.79

表 6 结果显示, 盐酸巴马汀、盐酸小檗碱的 24 h 累积透过率的大小比较为: 微乳凝胶 A 最大, 微乳凝

胶 B 次之, 微乳凝胶 C 最差; 吴茱萸碱和吴茱萸次碱的 24 h 累积透过率大小比较为: 微乳凝胶 A 与微乳凝胶 C 的曲线几乎重合, 微乳凝胶 B 次之。

4 讨论

本研究结果显示, 对于不同的有效成分(盐酸巴马汀、盐酸小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱), 微乳 A, B, C 的经皮渗透能力不同, 微乳配方 A 好于 B 和 C, 分析原因可能是由于微乳配方 A 中油相成分含量较大, 促进了有效成分在其中的溶解, 增加了透皮量; 对于同一有效成分, 微乳 A, B, C 的经皮渗透能力也有不同, 说明微乳配方中油相、表面活性剂、助表面活性剂等用量比例的不同, 对药物的经皮渗透是有影响的。综上所述, 微乳处方的不同构成, 直接影响药物的经皮渗透效果。其作用机制后续研究将做进一步探讨。

[参考文献]

- [1] GASCO M R. Microemulsions in the pharmaceutical field: Perspectives and applications, in industrial application of microemulsions [M]. New York Marcel Dekker Inc, 1997: 97.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S] 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 12.
- [3] Chen H B, Chang X L, Du D R, et al. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery [J]. Int J Pharm, 2006, 315(1/2): 52.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S] 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 214.
- [5] 刘淑芝, 彭丽华, 郭春燕, 等. 两种巴布剂基质体外释放度的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 5.

[责任编辑 仝燕]