

土槿皮乙酸微乳的制备及体外经皮渗透性研究

徐 婷, 葛淑敏, 邓礼荷, 韦敏燕, 徐月红*, 吴传斌

中山大学药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 制备 O/W 型土槿皮乙酸(PAB)微乳, 并进行体外经皮渗透性能研究。方法 通过绘制伪三元相图确定 PAB 微乳形成的区域, 以微乳的体外经皮渗透速率为指标进一步优化筛选 PAB 微乳的处方, 并对微乳的外观、形态、粒径分布等进行表征; 以大鼠皮肤为渗透屏障, 利用 V-C 扩散池比较了 PAB 微乳和 PAB 过饱和水溶液的体外经皮累积渗透量及皮肤滞留量。结果 优选的 PAB 微乳处方为 IPM-Cremophor EL-Transcutol P-水 (0.2 : 0.97 : 1.83 : 7), 所制备的微乳澄清透明, 透射电镜 (TEM) 观察结果为均匀的球形或近球形, 平均粒径为 (18.7 ± 1.9) nm。PAB 微乳与 PAB 过饱和水溶液 24 h 累积渗透量分别为 (50.31 ± 4.63) 、 (6.27 ± 1.33) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 皮肤滞留量分别为 (6.28 ± 0.31) 、 (0.51 ± 0.13) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 差异均具有显著性 ($P < 0.05$)。结论 PAB 微乳新型给药系统可有效促进 PAB 的经皮渗透及提高其皮肤滞留量, 为 PAB 皮肤给药抗真菌新制剂的设计提供了实验基础。

关键词: 土槿皮乙酸; 微乳; 伪三元相图; 经皮渗透; 皮肤滞留

中图分类号: R283.6; 286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)04-0683-07

Preparation of pseudolaric acid B microemulsion and its transdermal penetration

XU Ting, GE Shu-min, DENG Li-he, WEI Min-yan, XU Yue-hong, WU Chuan-bin

School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To prepare O/W microemulsion formulation containing pseudolaric acid B (PAB) and investigate its transdermal delivery ability *in vitro*. **Methods** Pseudo-ternary phase diagrams were drawn to obtain the area of PAB microemulsion, and PAB microemulsion formulations were further optimized by the rate of transdermal permeation. The microemulsion properties including appearance, form, and particle size distribution were examined. Taking rat skin as permeability barrier, the cumulative permeation amount in 24 h and retention amount of PAB in skin were determined *in vitro* using V-C diffusion cell fitted with rat skin. Comparison was made between the PAB microemulsion and PAB supersaturated solution. **Results** The optimum PAB microemulsion formulation was composed of Isopropyl Myristate-Cremophore EL-Transcutol P-water (0.2 : 0.97 : 1.83 : 7). The appearance of the prepared microemulsion was clear with the mean diameter of (18.7 ± 1.9) nm. The appearance of microemulsion droplets was spherical or near-spherical shape in TEM image. The permeation and retention amount after application of PAB microemulsion for 24 h was significantly increased compared with supersaturated solution of PAB [permeation amount (50.31 ± 4.63) and (6.27 ± 1.33) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, retention amount (6.28 ± 0.31) and (0.51 ± 0.13) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$] ($P < 0.05$). **Conclusion** The new delivery system of PAB microemulsion could significantly improve the percutaneous absorption of PAB microemulsion and increase the amount of drug accumulated into the skin. This study will provide the experimental foundations for the development of a new antifungal percutaneous delivery system of PAB microemulsion.

Key words: pseudolaric acid B (PAB); microemulsion; pseudo-ternary phase diagrams; percutaneous penetration; skin retention

土槿皮为松科植物金钱松 *Pseudolarix amabilis* (Nelson) Rehd. 的干燥根皮或近根树皮, 具有杀虫、止痒的功效, 常用于治疗癣症^[1]。土槿皮乙酸 (pseudolaric acid B, PAB) 是从土槿皮中分离得到的新型二萜酸化合物。现代药理实验研究表明, PAB 具有抗真菌、抗肿瘤、抗生育、抗血管生成等作用,

是土槿皮 *Pseudolaricis Cortex* 中主要抗真菌成分^[2]。目前上市的剂型主要是复方土槿皮酊, 但存在皮肤刺激性大、易挥发析出结晶、稳定性差的缺点, 限制了其使用。

微乳 (microemulsion) 作为一种新型的给药系统, 由于对水溶性及脂溶性药物均具有良好的溶解

收稿日期: 2011-08-16

作者简介: 徐 婷 (1987—), 女 (瑶族), 硕士研究生, 研究方向为经皮给药新剂型。

Tel: (020)39943119 13802417418 E-mail: xuting20060519@163.com

*通讯作者 徐月红 Tel/Fax: (020)39943119 E-mail: lssxyh@mail.sysu.edu.cn

性,具有增强药物的生物利用度,改善易分解药物的稳定性,增强药物的靶向性,降低药物不良反应等特点,目前已用于口服、注射、经皮、黏膜给药等多种给药途径的研究^[3-5]。微乳作为经皮给药载体具备很多独特的优势,如处方中含有表面活性剂,可以通过增加药物溶解度来增大药物在皮肤的浓度梯度,同时可以作为渗透促进剂发挥促渗作用,增加角质层脂质双层的流动性,提高药物的透皮能力等^[6]。此外多项研究表明,微乳具有良好的角质层和真皮层储药功能,能够显著提高药物的皮肤滞留量,增强药物(如局部麻醉药、皮肤病等)的局部作用^[7],因此微乳在经皮吸收制剂的研究方面的应用日益广泛。目前微乳已用于利多卡因^[7]、两性霉素 B^[8]、酮洛芬^[9]、8-甲氧沙林^[10]等药物的经皮制剂研究。

PAB 的外用给药系统研究国内外尚未见报道,本研究将 PAB 制成微乳制剂,采用伪三元相图筛选处方,并评价其体外透皮行为,为开发 PAB 的新型经皮抗真菌给药制剂提供实验依据。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),Zetasizer Nano—ZS90 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(英国 Malvern 公司),DV—III ULTRA 旋转黏度计(美国 Brookfield 公司),JEM1400 高压透射电镜(日本电子株式会社)。

PAB(质量分数>97%,批号 091224,成都普瑞法科技开发有限公司),PAB 对照品(批号 110880-200502,中国药品生物制品检定所),肉豆蔻酸异丙酯(IPM,质量分数>98%)、棕榈酸异丙酯(IPP,质量分数>98%)、油酸乙酯均为上海阿拉丁试剂有限公司产品,油酸(广州市美亚特化工有限公司),聚氧乙烯醚(35)蓖麻油(Cremphor EL,德国 BASF 公司),辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol)、二乙二醇单乙基醚(Transcutol P)均为法国 Gattefosse 公司产品,聚山梨酯 80(江苏晨牌药业有限公司),

丙二醇(天津富宇精细化工有限公司),聚乙二醇 400(广东汕头市西陇化工厂),无水乙醇(分析纯,天津市大茂化学试剂厂)

SD 大鼠,雄性,体质量(200±20)g,中山大学实验动物中心,动物合格证号:SCXK(粤)2009-0011。

2 方法与结果

2.1 PAB 的 HPLC 测定

2.1.1 色谱条件 Welchrom C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-1%醋酸水溶液(70:30),体积流量 1.0 mL/min,检测波长 260 nm,进样量 10 μL。

2.1.2 对照品储备液的制备 精密称取 PAB 对照品 10.40 mg,置于 100 mL 量瓶中,加入乙醇溶解并稀释至刻度,制成 104.0 μg/mL 的对照品储备液。

2.1.3 线性关系考察 分别精密吸取 PAB 对照品储备液适量,配制成 0.104、0.52、1.04、2.08、5.20、10.40、20.80 μg/mL 系列 PAB 对照品溶液,采用 HPLC 法测定其峰面积,以 PAB 峰面积对其质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y=40.622X-2.9052$, $r=0.9999$;结果表明 PAB 在 0.104~20.80 μg/mL 线性关系良好。对照品溶液、微乳样品溶液、透皮液样品、空白微乳以及空白透皮液的 HPLC 色谱图见图 1。

2.1.4 精密度试验 分别取 PAB 微乳溶液和透皮液样品溶液,于 1 d 内重复进样 5 次,连续 3 d,计算日内精密度和日间精密度。微乳样品的日内和日间精密度的 RSD 分别为 1.24%、1.73%,透皮液样品日内和日间精密度的 RSD 分别为 1.08%、1.46%,结果表明微乳和透皮液样品在该测定方法下日内、日间 RSD 均小于 2%,符合方法学要求。

2.1.5 稳定性试验 取 PAB 微乳样品和透皮接收液样品溶液作为供试品溶液,分别放置 0、3、6、9、12、24 h 后进样测定,计算得微乳样品和透皮接收

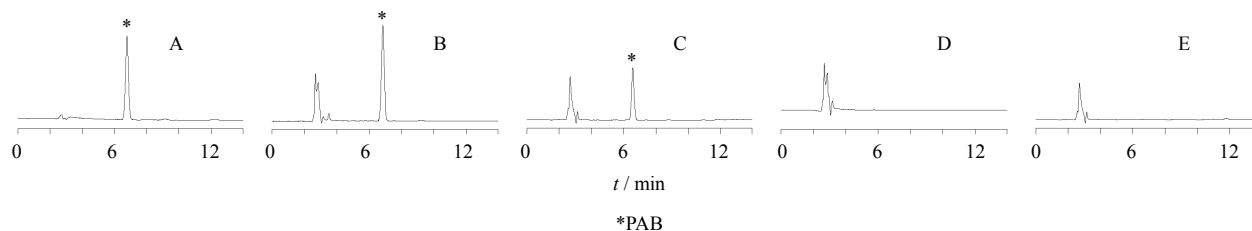


图 1 PAB 对照品溶液(A)、微乳样品溶液(B)、透皮液样品(C)、空白微乳(D)和空白透皮液(E)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC chromatogram of PAB reference solution (A), microemulsion solution with PAB (B), transdermal solution after application of PAB microemulsion (C), blank microemulsion (D), and blank transdermal solution (E)

液峰面积的 RSD 分别为 0.86%、0.93%，表明微乳样品和透皮接收液在透皮实验条件下放置 24 h 基本稳定。

2.1.6 回收率试验

(1) PAB 微乳加样回收率：精密量取空白微乳溶液 0.5 mL，置于 10 mL 量瓶中，按处方量的 80%、100%、120% 加入 PAB 对照品溶液得到高、中、低 3 种质量浓度的微乳（每个质量浓度平行 3 份），用乙醇稀释至刻度，超声混匀后 5 000 r/min 高速离心 10 min，取上清液即得样品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进样 10 μ L，测定峰面积，并计算加样回收率。结果低、中、高 3 种质量浓度的微乳样品的加样回收率分别为 101.12%、99.79%、100.06%，RSD 分别为 1.11%、1.57%、0.89%。

(2) 透皮吸收回收率：精密量取 1 mL 空白皮肤接收液于 25 mL 量瓶中，分别加入 PAB 对照品储备液适量，配制成为低、中、高（1.04、10.40、20.80 μ g/mL）3 种质量浓度的样品（每个质量浓度平行 3 份），按“2.1.1”项下色谱条件进行测定，用外标法计算回收率。结果低、中、高 3 种质量浓度的平均回收率分别为 97.41%、99.84%、98.51%，RSD 分别为 1.70%、1.07%、1.37%。

2.2 PAB 溶解度的测定

取过量的 PAB 于 5 mL 具塞试管中，分别加入各种油、表面活性剂及助表面活性剂 3 mL，密封，涡旋混匀，（25 $\pm$ 1） $^{\circ}$ C 恒温水浴中机械振荡（150 r/min）24 h，达到平衡后，5 000 r/min 离心 10 min，取部分上清液用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过，取续滤液，适当稀释，HPLC 法检测药物质量浓度，即得 PAB 在各溶剂中的饱和溶解度。结果见表 1。

2.3 油相的选择

从溶解性能的考察结果可知，PAB 在各种油相中的溶解度均较小，而所选用的 4 种油相本身也是促渗效果较强的促渗剂。因此固定药物质量分数为 0.2%，油相质量分数为 2%，混合表面活性剂质量分数为 30%（聚山梨酯 80-乙醇 2：1），水质量分数为 67.8%，改变油相的种类（IPM、IPP、油酸、油酸乙酯），考察所制得 4 种 PAB 微乳的体外经皮渗透性能，筛选制备微乳的油相。

从图 2 可以看出，4 种油相制备成的微乳经皮渗透的顺序为 IPM>油酸>油酸乙酯>IPP，而溶解度 IPM<油酸乙酯<IPP<油酸。虽然一般认为药物在油中溶解越多，渗透梯度越高，经皮渗透量越大，

表 1 PAB 在不同溶剂中的表观溶解度 ($n=3$)

Table 1 Apparent solubility of PAB in different solutions ($n=3$)

溶 剂		溶解度 / ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
油相	IPM	1.873 ± 0.051
	IPP	3.724 ± 0.092
	油酸	4.551 ± 0.126
	油酸乙酯	3.216 ± 0.101
表面活性剂	Cremophor EL	97.122 ± 2.034
	聚山梨酯 80	39.781 ± 0.873
	Labrasol	82.681 ± 1.722
	Transcutol P	52.784 ± 0.950
	丙二醇	50.066 ± 1.002
	乙醇	16.245 ± 0.506
	PEG 400	64.647 ± 1.251
	水	0.032 ± 0.002

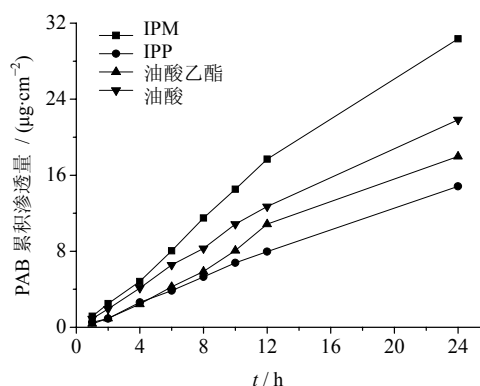


图 2 PAB 在不同油相组成的微乳中的体外经皮渗透曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 *In vitro* transdermal penetration curves of PAB microemulsions with different oil phases ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

但油中药物溶解度越大，也表明两者亲和力越强，药物越难从油相中释放并进入皮肤。而 IPM 溶解度适中，而且自身又是一种优良的促渗剂，能增强角质层脂质流动而促进皮肤渗透。因此选择 IPM 作为进一步处方筛选的油相。

2.4 伪三元相图筛选微乳处方

2.4.1 伪三元相图的绘制 按一定质量比精密称取表面活性剂和助表面活性剂，混合均匀制成混合表面活性剂。按质量比 9：1、8：2、7：3、6：4、5：5、4：6、3：7、2：8、1：9，精密称取油和混合表面活性剂，在室温、磁力搅拌下滴加水，直至澄清透明的微乳形成。当外观不再澄清时，记录临界加水量。按油、水、混合表面活性剂在临界点的质量百分比，在伪三元相图中绘制曲线，确定微乳区。

用 ME 表示微乳区, Gel 表示凝胶区, EM 表示普通乳状液区。微乳结构采用染色法确定^[11]。

2.4.2 伪三元相图筛选表面活性剂 选取 Cremophor EL、Labrasol、聚山梨酯 80 3 种非离子表面活性剂, 固定油相为 IPM, 助表面活性剂为乙醇, 表面活性剂与助表面活性剂的比例 (K_m) 为 1:1, 改变表面活性剂的种类 Cremophor EL、Labrasol、聚山梨酯 80, 绘制伪三元相图。由图 3 可知, 微乳区域的大小依次为 Cremophor EL > 聚山梨酯 80 > Labrasol, 且药物在 Cremophor EL 中的溶解度最高。而 Cremophor EL 作为乳化剂, 出现了部分凝胶区, 这与 Cremophor EL 遇水溶胀的性质有关。综合溶解度和微乳区域面积的结果, 选择 Cremophor EL 作为制备微乳的表面活性剂。

2.4.3 伪三元相图筛选助表面活性剂 助表面活性剂能够降低微乳中油相与水相的表面张力, 改善界面膜的流动性和减少表面活性剂的用量。分别以对 PAB 具有较大溶解度的 PEG 400、Transcutol P 以及对 PAB 具有促渗作用的乙醇、1,2-丙二醇作为助表面活性剂, Cremophor EL 作为表面活性剂, 固定

K_m 值为 1:1, 绘制伪三元相图, 考察助乳化剂对微乳形成的影响。由图 4 可以看出, 四者在 $K_m=1$ 的情况下, 都可以形成一定面积的微乳区。以乙醇和 Transcutol P 制备的微乳区域面积较大, 而 PEG 400、1,2-丙二醇作为助表面活性剂所得的相图凝胶区过大, 导致微乳区较小。可能与 1,2-丙二醇、PEG 400 黏度较大、分子与分子间的作用力较强有关。考虑到乙醇的挥发性在储存过程中可能导致的稳定性问题, 最终选择 Transcutol P 作为助乳化剂。

2.4.4 K_m 值的考察 以 IPM 为油相, Cremophor EL 为表面活性剂, Transcutol P 作为助表面活性剂, 选择 K_m 值分别为 1、2、3, 绘制伪三元相图, 考察 K_m 值对微乳形成的影响。从图 5 可以看出, 在 IPM-Cremophor EL-Transcutol P 的微乳体系中, 随着 K_m 值的增加, 凝胶区增大, 但微乳区域也随之增大。这是因为 K_m 值的增大, 表面活性剂的用量增大, 乳化能力增强。但是由于 Cremophor EL 的增加, 制备微乳过程中的黏度增加, 因此凝胶区域增大, 不易于制备。综合考虑, 选择 $K_m=2$, 作为较优的微乳处方 K_m 值。

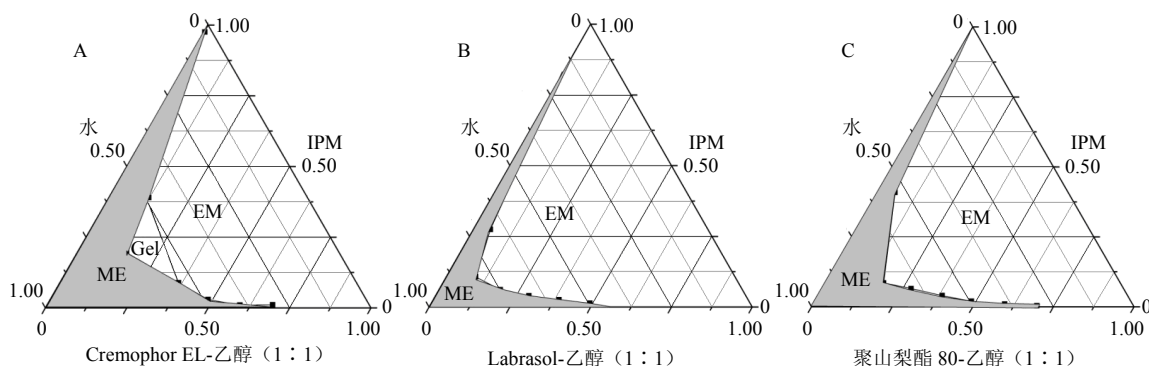


图 3 不同的表面活性剂 Cremophor EL (A)、Labrasol (B) 和聚山梨酯 80 (C) 组成微乳的伪三元相图

Fig. 3 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsion composed of different surfactants

Cremophor EL (A), Labrasol (B), and Polysorbate 80 (C)

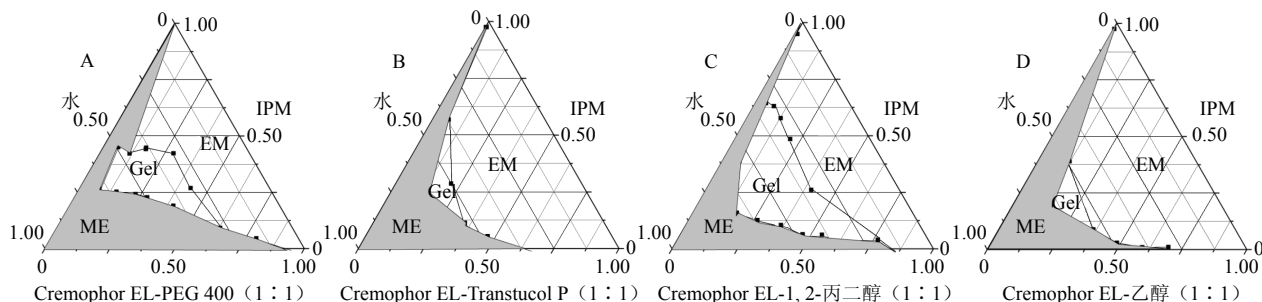


图 4 不同的助表面活性剂 PEG 400 (A)、Transcutol P (B)、1,2-丙二醇 (C)、乙醇 (D) 组成微乳的伪三元相图

Fig. 4 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsion composed of different cosurfactants

PEG 400 (A), Transcutol P (B), 1, 2-propylene glycol (C), and ethanol (D)

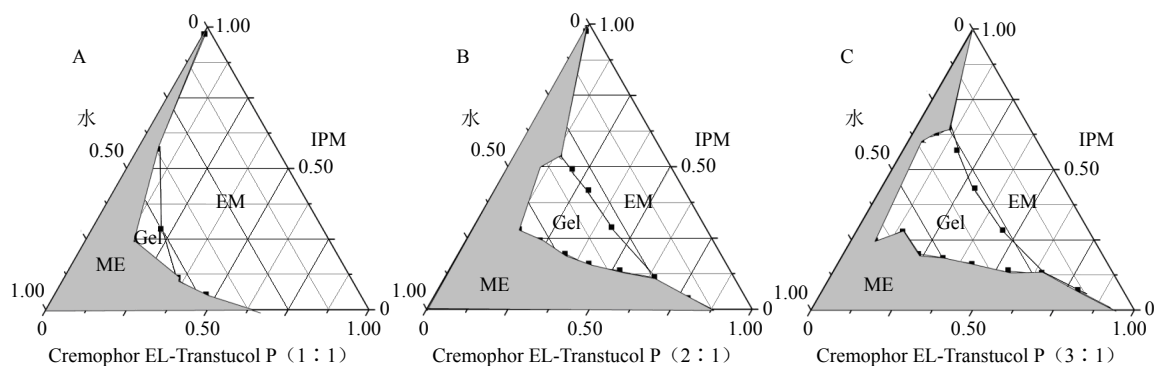


图 5 不同 K_m 值 1 (A)、2 (B)、3 (C) 时微乳的伪三元相图

Fig. 5 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsions at various K_m values [$K_m = 1$ (A), 2 (B), 3 (C)]

2.5 载药微乳的研究

根据以上伪三元相图的结果,确定了微乳的处方组成:油相为 IPM,表面活性剂为 Cremophor EL,助表面活性剂为 Transtucol P,最佳 K_m 值为 2:1(图 5-B)。从伪三元相图中,筛选出 6 个处方,作为进一步优选的处方,见表 2。

表 2 微乳的处方组成

Table 2 Compositions of selected microemulsion formulations

处方	PAB / %	IPM / %	Cremophor EL + Transtucol P / %	水 / %
ME1	0.2	2	18	79.8
ME2	0.2	2	28	69.8
ME3	0.2	2	38	59.8
ME4	0.2	2	48	49.8
ME5	0.2	4	28	67.8
ME6	0.2	6	28	65.8

2.5.1 载药微乳的制备 在室温下将 IPM、水、Cremophor EL、Transtucol P 按表 2 所示比例充分混合后,再加入 PAB 原料药,充分搅拌,使 PAB 完全溶于油相,然后在搅拌的条件下缓慢滴入处方量的注射用水,即得透明的 PAB 微乳。

2.5.2 微乳的表征

(1) 粒径的考察:采用马尔文 Zetasizer Nano ZS90 激光粒度仪进行粒径测定。取微乳 1 mL,置于粒径测定仪的比色皿中,在 25 °C 下测定 PAB 微乳的粒径。每个样品平行测定 3 次,取平均值,结果见表 3。可以看出 6 个微乳处方的粒径大致相同,在 16~30 nm。

(2) 黏度的测定:取微乳 8~10 mL,加入 Brookfield DV-III 型黏度计圆筒中,连接转子开始测定,当读数稳定时记录黏度值,每个样品平行测定 3 次,取平均值,结果见表 3。微乳体系的黏度

变化较大,影响微乳黏度的有分散相的相体积分数、分散介质的黏度、表面活性剂的性质和用量、 K_m 值等。对于 ME1、ME2、ME3、ME4 4 个处方,在油相用量相同(2%)的条件下,随着混合表面活性剂的量由 18%增加至 48%,微乳的黏度迅速增大。处方 ME4 的黏度最大,可能由于其体系水相的量为 50%,在相图上较为接近凝胶区有关。处方中含有的表面活性剂 Cremophor EL 具有遇水溶胀的性质,在体系水量达到 40%左右时,黏稠度最大。对于 ME2、ME5、ME6 3 个处方,其混合表面活性剂的量相同(28%),随着油相的比例由 2%增加至 6%,其黏度略微增加,可能与作为分散相的水体积逐渐减少有关。

(3) pH 值测定:皮肤用药必须要有适宜的 pH 值,微乳的 pH 值同时影响体系的稳定性。对所制备各处方的 pH 值进行测定,结果见表 3。

表 3 PAB 微乳的理化性质 ($n=3$)

Table 3 Physicochemical properties of PAB microemulsions ($n=3$)

微乳	粒径 / nm	多分散指数	黏度 / (mPa·s)	pH 值
ME1	16.8±1.6	0.138±0.014	3.23±0.06	4.89±0.02
ME2	18.7±1.9	0.268±0.028	8.06±0.15	4.91±0.03
ME3	20.5±0.2	0.332±0.012	29.56±0.77	4.80±0.07
ME4	26.8±1.1	0.297±0.006	107.31±6.93	4.77±0.04
ME5	24.9±1.5	0.310±0.011	12.70±0.08	4.92±0.03
ME6	29.9±1.9	0.252±0.012	16.10±0.21	4.87±0.05

(4) 微乳的形态:采用透射电镜(TEM)对微乳(ME2)的形态进行观察。按磷钨酸负染法^[12],滴 1 滴微乳于覆有 Formvar 膜的铜网上,1~2 min 后取出铜网,用滤纸从铜网边缘吸干多余液体,再将铜网放置于 1%磷钨酸中负染 1~2 min,用滤纸从铜网边缘吸干多余液体,晾干后置透射电子显微

镜下观察形态, 见图 6。微乳呈圆整均一的球体, 大小不超过 30 nm。

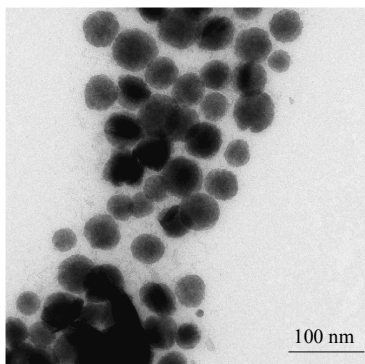


图 6 PAB 微乳 (ME2) 的 TEM 图

Fig. 6 TEM image of PAB microemulsion (ME2)

2.5.3 PAB 微乳体外经皮渗透实验

(1) 离体大鼠皮肤的制备: 雄性 SD 大鼠断颈处死后, 立即剃毛, 剥离腹部皮肤, 去除皮下脂肪组织和黏连物, 用生理盐水冲洗干净, 冷冻保存, 备用。临用前自然解冻, 用生理盐水洗涤, 再用纯水冲洗, 即可。每次试验前检查鼠皮的完整性。

(2) 体外透皮试验: 采用 V-C 扩散池, 将处理好的大鼠腹部皮肤固定于供给池与接收池之间, 角质层面向供给池, 有效透皮面积为 2.27 cm^2 。接收液为 20%乙醇-生理盐水, 体积 6.40 mL, 于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 取样 1 mL, 并补充相应体积的接收液。所取接收液用 $0.22 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜滤过, 测定接收液中 PAB 的量, 并计算各处方 (ME1~ME6) 的累积渗透量 (Q_n , $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)^[13], 结果见图 7。以 Q_n 对时间 t 作线性回归, 所得直线斜率即为稳态渗透速率常数 (J_s , $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)。

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

C_n 表示第 n 个取样点测得的质量浓度 (mg/mL), C_i 表示第 i 个取样点测得的质量浓度 (mg/mL), V_0 表示接收池的体积 (mL), V 表示每次取样的体积 (mL), A 表示释药面积 (cm^2)

(3) 大鼠皮肤中 PAB 滞留量的测定: 体外透皮试验终止后, 从扩散池中取出大鼠皮肤, 用乙醇溶液洗涤表面, 棉花擦干, 剪碎, 加乙醇 5 mL, 匀浆, 5 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜滤过, 取续滤液, 采用 HPLC 法测定皮肤中 PAB 的量。结果不同处方组成 (ME1~ME6) 的微乳在皮肤中的滞留量分别为 (5.05 ± 0.47)、(6.28 ± 0.31)、(2.85 ± 0.46)、(2.35 ± 0.39)、(6.09 ± 0.83)、(5.95 ± 0.70) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

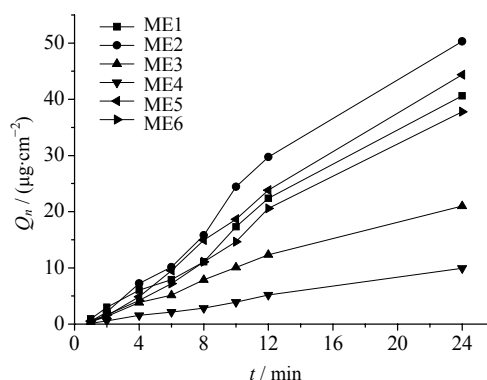


图 7 不同处方组成的微乳的体外经皮渗透曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 7 *In vitro* transdermal penetration curves of microemulsion in different formulations ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.5.4 PAB 微乳最优处方的确定 由以上研究可以看出, 对于 ME1、ME2、ME3、ME4 4 个处方, 随着混合表面活性剂质量分数的增大 (18%~48%), PAB 的 Q_n 和皮肤滞留量先增加后显著减少。虽然表面活性剂通常认为能增加药物的经皮渗透, 但是表面活性剂浓度过大, 药物被大量增溶而热力学活性显著降低, 药物的皮肤透过量反而降低, 这之前文献报道^[9,14]一致。另一方面表面活性剂比例升高, 微乳水相的量下降, 水分与角质层中角蛋白的水合作用下降, 也降低了药物经皮渗透率。因此选择 28% 作为混合乳化剂的比例。

固定混合表面活性剂的比例为 28%, 考察不同量的油相 (ME2、ME5、ME6) 对药物经皮渗透的影响。结果发现, 各处方的经皮渗透能力差异不明显。当油相为 2% 时, 微乳 (ME2) 具有最高的透皮速率。油相量的增大, 稍降低了药物的经皮渗透能力。但不同质量分数油相 (2%、4%、6%) 的微乳 (ME2、ME5、ME6) PAB 的皮肤滞留量差异无显著性。计算所选 6 个微乳处方的 J_s , ME2 处方具有最高的 J_s ($2.250 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$), 因此选择 ME2 作为最优的微乳处方。

2.6 优化处方的 PAB 微乳与 PAB 过饱和水溶液的比较

以优化的含药量 0.2% 的微乳处方 ME2 (PAB 2.116 mg/mL)、PAB 过饱和水溶液 (PAB 2.079 mg/mL), 考察两者的经皮 Q_n , 结果见图 8。实验结束后对两者的皮肤滞留量进行考察, 0.2% 的微乳处方与 PAB 过饱和水溶液 24 h 经皮肤滞留量分别为 (6.28 ± 0.31)、(0.51 ± 0.13) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

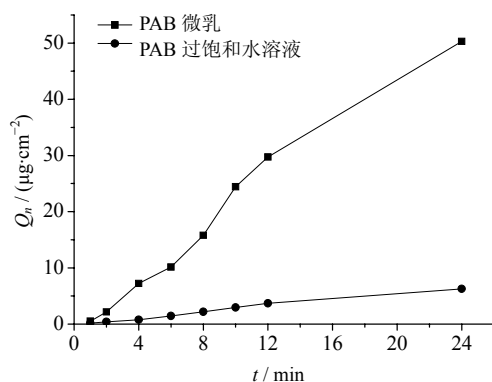


图8 PAB微乳和PAB过饱和水溶液的经皮渗透曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 8 Transdermal permeation profiles of PAB microemulsion and supersaturated solution *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

由上述结果可知, PAB微乳不仅能够促进药物的渗透, 同时还能增加药物在皮肤中的滞留 ($P < 0.05$); 24 h Q_n 是饱和水溶液的 7.48 倍, J_s 由 $0.298 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ 提高到 $2.250 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, 皮肤滞留量是饱和水溶液的 12.31 倍。PAB微乳能显著增强药物渗透皮肤的能力, 一方面是由于制备成微乳后提高了 PAB 的溶解度 [PAB 在水中的饱和溶解度仅为 $(0.032 \pm 0.002) \text{mg/mL}$], 在皮肤两侧形成较高的浓度梯度; 另一方面微乳载体本身的结构和所含有组分对药物具有促渗作用。皮肤的代谢研究发现, 药物在经皮吸收过程中可能会在皮肤内产生积累, 形成储库, 有利于保持局部药物浓度在有效范围。本研究的结果显示, PAB微乳在增加药物渗透的同时, 能更有效地增加药物在皮肤中的滞留, 而这对于保持皮肤局部的药物浓度, 减少全身不良反应, 发挥 PAB 局部抗真菌的效果具有十分重要的意义。

3 讨论

PAB 为水难溶性药物, 临床上应用的 PAB 的剂型主要为复方土槿皮酊, 制剂中的乙醇量较高, 使用过程中, 药物容易析出, 影响制剂的稳定性以及药效的发挥, 且皮肤局部刺激性较大, 患者常用药后疼痛难忍, 不易使患者接受。本实验将 PAB 制成微乳透皮给药剂型, 优化的微乳处方为 IPM-Cremophor EL-Transcutol P-水 (0.2 : 0.97 : 1.83 : 7), 所制微乳澄清透明, 平均粒径为 $(18.7 \pm 1.9) \text{nm}$, 所制备 PAB 质量分数为 0.2% 的微乳, 24 h Q_n 达 $(50.31 \pm 4.63) \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 皮肤滞留量 $(6.28 \pm 0.31) \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 分别是 PAB 过饱和水溶液的 7.48 倍和 12.31

倍, 表明 PAB 微乳不仅具有较强的透皮能力, 更重要的是可以显著提高药物在皮肤中的滞留量, 减少全身不良反应, 有利于局部抗真菌药效的发挥, 初步的体外抗真菌实验已证实了这一结论 (文献待发表)。本研究的结果表明, PAB 微乳促进了 PAB 的经皮吸收, 载有 PAB 的微乳有望开发成新型的 PAB 外用制剂。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 周晓飞, 梁子华, 林 密, 等. 土槿皮乙酸的药理学作用及其毒性反应 [J]. 中国热带医学, 2007, 7(7): 1240-1242.
- [3] 刘 璇, 张振海, 陈 彦, 等. 秋水仙碱微乳的制备及体外经皮渗透研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 1963-1967.
- [4] 姚金娜, 陈苹苹, 尚小广, 等. 水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2261-2264.
- [5] 许海玉, 张铁军, 赵 平, 等. 中药缓控释制剂的研究现状及研发思路 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(1): 30-35.
- [6] 赵永哲, 胡晋红, 刘继勇. 透皮给药载体微乳的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(24): 1841-1844.
- [7] Sintov A C, Brandys-Sitton R. Facilitated skin penetration of lidocaine: Combination of a short-term iontophoresis and microemulsion formulation [J]. *Int J Pharm*, 2006, 316(1/2): 58-67.
- [8] 田青平, 李 鹏, 王 雷, 等. 两性霉素 B 的制备及体外经皮渗透研究 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(4): 283-287.
- [9] Rhee Y S, Choi J G, Park E S, *et al.* Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2001, 228(1/2): 161-170.
- [10] Baroli B, López-Quintela M A, Delgado-Charro M B, *et al.* Microemulsions for topical delivery of 8-methoxysalen [J]. *J Controlled Release*, 2000, 69(1): 209-218.
- [11] Ho H O, Hsiao C C, Sheu M T. Preparation of microemulsions using polyglycerin fatty acid esters as surfactant for the delivery of protein drugs [J]. *J Pharm Sci*, 1996, 85(2): 138-143.
- [12] Chen H B, Mou D S, Du D R, *et al.* Hydrogel-thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at an extremely low concentration [J]. *Int J Pharm*, 2007, 341(1/2): 78-84.
- [13] Zhu W W, Yu A H, Wang W H, *et al.* Formulation design of microemulsion for dermal delivery of penciclovir [J]. *Int J Pharm*, 2008, 360(1/2): 184-190.
- [14] 王 晶, 王晓黎, 欧伊益, 等. 氢溴酸东莨菪碱微乳的制备及其体外透皮吸收研究 [J]. 药学实践杂志, 2009, 27(4): 279-281.