

• 药剂与工艺 •

灵芝三萜纳米混悬凝胶剂的制备及其体外透皮研究

沈成英^{1,2}, 申宝德², 徐平华², 李晓荣^{1,2}, 闵红燕², 韩晋^{2*}, 袁海龙^{2*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 中国人民解放军第三〇二医院, 北京 100039

摘要: 目的 研制灵芝三萜纳米混悬凝胶剂(GT-NS-gel), 并进行体外透皮研究。方法 采用高压均质法制备灵芝三萜纳米混悬剂(GT-NS), 然后进一步制成凝胶剂。以24 h体外累积释放率和24 h后皮肤中的滞留量为指标, 通过效应面法优化GT-NS-gel的处方; 比较优化后的GT-NS-gel和灵芝三萜凝胶剂(GT-gel)的体外经皮渗透量及滞留量。结果 以最优处方: 5 mg/g卡波姆940、30 mg/g GT、47.2 mg/g卵磷脂制得的GT-NS-gel在24 h时的体外累积释放率为(56.28±2.16)%, 24 h皮肤滞留量为(472.89±8.74) μg/cm², 理论预测值与实测值接近, 模型具有良好的预测性; GT-NS-gel 24 h药物累积渗透量和皮肤滞留量分别为(50.73±4.97)和(475.89±10.74) μg/cm², 明显高于GT-gel的(14.79±3.45)和(101.32±7.02) μg/cm² (P<0.05)。结论 将灵芝三萜制成纳米混悬凝胶剂, 能够增加药物的皮肤滞留量, 提高药物在皮肤局部的生物利用度。

关键词: 灵芝三萜; 纳米混悬剂; 凝胶剂; 体外释放; 经皮渗透; 滞留量; 效应面法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)19-2770-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.19.008

Preparation of nanosuspension-based gel of *Ganoderma lucidum* triterpenoids and its *in vitro* transdermal diffusion characteristics

SHEN Cheng-ying^{1,2}, SHEN Bao-de², XU Ping-hua², LI Xiao-rong^{1,2}, MIN Hong-yan², HAN Jin², YUAN Hai-long²

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China

Abstract: Objective To prepare the nanosuspension-based gel of *Ganoderma lucidum* triterpenoids (GT-NS-gel) and investigate the *in vitro* transdermal diffusion characteristics. **Methods** GT-NS was prepared by high pressure homogenization and then transformed into gel. The formulation of GT-NS-gel was optimized by response surface method with cumulative release of drug from the GT-NS-gel within 24 h, and the amount of drug in the skin after applying GT-NS-gel for 24 h was used as indexes. *In vitro* percutaneous permeation and skin deposition of GT-NS-gel were studied and compared with those of GT-gel. **Results** The GT-NS-gel prepared by optimal formulation (5 mg/g Carbomer 940, 30 mg/g GT, and 47.2 mg/g lecithin) could release *in vitro* at 24 h to (56.28 ± 2.16)%, and the amount of drug in the skin after applying GT-NS-gel for 24 h was (472.89 ± 8.74) μg/cm². There was a little deviation between the theoretically predicted value and the measured value. It showed that this model had a good prediction. The amounts of GT penetrating through the skin and in the skin after applying GT-NS-gel for 24 h were (50.73 ± 4.97) and (475.89 ± 10.74) μg/cm², which were significantly higher than GT-gel (P < 0.05). **Conclusion** The GT-NS-gel has the ability to increase drug concentration in the skin, which can improve the bioavailability of the local skin.

Key words: *Ganoderma lucidum* triterpenoids; nanosuspension; gel; *in vitro* dissolution; transdermal permeation; skin deposition; response surface method

收稿日期: 2014-05-21

基金项目: 国家新药创制重大专项(2014ZX09J14106-01A); 北京市自然科学基金资助项目(7122176)

作者简介: 沈成英(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术研究。E-mail: shenchengying0728@163.com

*通信作者 韩晋, 硕士, 博士生导师, 研究方向为医院药学。Tel: (010)66933225 E-mail: hanjin302emba@163.com

袁海龙, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010)66933367 E-mail: yhlpharm@126.com

灵芝为多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 或紫芝 *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang 的干燥子实体。灵芝在我国已有悠久的药用历史,具有补中益气、扶正固本、滋补强壮、延年益寿等功效^[1]。灵芝含有多种化学成分,其中灵芝三萜(GT)是灵芝的主要有效成分之一,主要包括灵芝酸、赤芝酸、灵芝醇、灵芝内酯等^[2-4]。现代药理研究表明GT具有保肝、抗肿瘤、镇痛、抗氧化、抑制组胺释放等作用^[5]。本课题组在前期研究中发现GT类化合物具有抗冻伤作用^[6]。该类化合物具有较高的脂溶性,理论上较易通过亲脂性的生物膜,但其溶解度小和溶出速率慢导致透皮吸收差,从而影响其药效的发挥。

纳米混悬凝胶(NS-gel)是基于纳米混悬体系的分子凝胶^[7],即向纳米混悬溶液中加入凝胶剂形成透明稳定的三维网状结构。纳米混悬凝胶不但具有凝胶剂的生物相容性好、黏附性好、局部给药后易吸收,对皮肤和黏膜无刺激性等优点^[8],而且具有纳米混悬剂的优势,如可提高难溶性药物的可润湿性、饱和溶解度及溶解速度^[9]。

本实验为提高GT在皮肤局部的生物利用度,将其制成灵芝三萜纳米混悬凝胶剂(GT-NS-gel)。在本研究中,以卡波姆940为主要载体,卵磷脂为促渗透剂,制备GT-NS-gel,采用Box-Behnken设计-效应面法优化GT-NS-gel处方,并将优化的处方与灵芝三萜凝胶剂(GT-gel)在透皮吸收与皮肤滞留方面进行比较。

1 仪器与材料

UV-8453型紫外分光光度仪,美国安捷伦;透皮扩散池,北京金科利达电子科技有限公司;GYB40-10S高压均质机,上海华东高压均质机厂;JHBE-20A高速探头超声仪,河南金鼎科技发展有限公司;Winner801纳米激光粒度仪,济南微纳颗粒仪器股份有限公司;Design-Expert 8.0.5试验设计软件,卡贝信息技术有限公司。

灵芝子实体,由北京协和药厂提供(产地:浙江临安药材生产基地;批号20130301),经中国人民解放军第三〇二医院袁海龙研究员鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. Ex Fr.) Karst. 的干燥子实体;GT(自制,以灵芝酸A为对照品,经紫外分光光度计测定质量分数为78%);灵芝酸A对照品(质量分数大于98%,天津一方科技公司,批号101110);聚山梨酯80(Sigma公司,批号20131211)、

Poloxamer F68(北京凤礼精求商贸有限公司,批号20120212);卡波姆940(广州博峰化学有限公司,批号20130902);三乙醇胺(天津市永大化学试剂有限公司,批号20130401);大豆卵磷脂(上海太伟药业有限公司,批号20140201);高氯酸(北京世纪拓鑫精细化工有限公司,批号20130401);丙二醇、香草醛、冰醋酸(北京化工厂,批号分别为20130325、20090508、20130618);Na₂S(西陇化工股份有限公司,批号20111124)。

雄性SD大鼠,体质量(200±20)g,SPF级,由军事医学科学院实验动物中心提供,动物许可证号2012-(军)2012-0004。

2 方法与结果

2.1 GT-NS的制备

称取GT原料药3g、聚山梨酯80 0.6g、Poloxamer F68 0.3g,加入100mL蒸馏水,充分搅拌均匀,13300r/min高速探头超声5次,每次1min,在120MPa条件下高压乳匀20圈,得质量浓度为30mg/mL的GT-NS。

2.2 GT-NS的表征

2.2.1 粒径的测定 取适量GT-NS,加蒸馏水稀释。采用激光粒度仪测量GT-NS的粒径,重复3次。结果见图1,结果表明GT-NS平均粒径为(283±7)nm($n=3$),多分散度指数(PDI)为0.124±0.015($n=3$)。

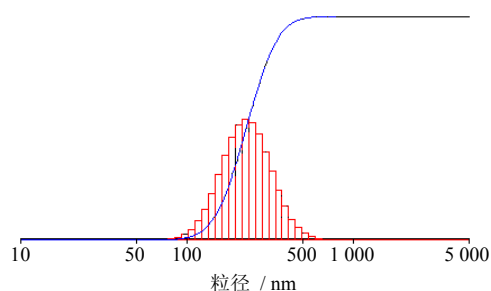


图1 GT-NS的粒径分布图

Fig. 1 Particle size distribution of GT-NS

2.2.2 扫描电镜(SEM)观察 取GT原料药和GT-NS加适量蒸馏水稀释后,然后滴加至锡箔纸上,常温条件下放置,待溶剂挥干后,于扫描电镜(SEM)下观察其形态并拍摄照片。结果见图2。由图2可见,GT原料药在扫描电镜下呈不规则块状,粒子大小在5~50μm;GT-NS粒子大小较均匀。

2.3 GT-NS-gel的制备

取20mL GT-NS混悬液2份,分别加蒸馏水稀

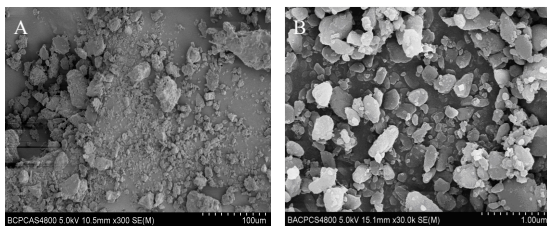


图 2 GT 原料药 (A) 和 GT-NS (B) 扫描电镜图

Fig. 2 SEM images of raw GT (A) and GT-NS (B)

释至 30 mL 和 60 mL, 得质量浓度分别为 20、10 mg/mL 的 GT-NS 混悬液。各取纳米混悬液 20 mL, 加入溶胀 24 h 的卡波姆 940 (5~10 mg/g)、卵磷脂 (0~80 mg/g)、丙二醇 50 mg/g 混匀后, 边搅拌边加入 20%三乙醇胺适量, 调 pH 值至 5.5~6.5, 加适量蒸馏水至 20 g, 即得不同载药量的 GT-NS-gel。

2.4 GT-gel 的制备

GT-gel 的处方与 GT-NS-gel 优化后处方相同, 具体制备方法如下: 取处方量的 GT 分散在蒸馏水中, 加入溶胀 24 h 的卡波姆 940、卵磷脂及丙二醇混匀后, 边搅拌边加入 20%三乙醇胺适量, 调 pH 值至 5.5~6.5, 加水使其载药量与优化后的 GT-NS-gel 相同, 即得 GT-gel。

2.5 UV 法定灵芝三萜^[10]

精密称取灵芝酸 A 对照品 10.4 mg 置于 50 mL 量瓶中, 加无水乙醇适量使溶解, 定容, 摇匀, 即得 0.208 mg/mL 灵芝酸 A 对照品溶液。精密吸取灵芝酸 A 对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mL, 分别置 10 mL 具塞试管中 (同时吸取无水乙醇 0.8 mL 作为空白对照), 置沸水浴中挥干溶剂, 再依次分别加入新配制的 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.5 mL、高氯酸 0.8 mL, 密塞, 置 60 °C 水浴中加热 15 min, 取出, 置冰水浴中冷却 5 min, 然后分别加冰醋酸 5 mL, 摇匀, 以无水乙醇作为空白对照, 在 543 nm 处测定吸光度 (A) 值, 以灵芝酸 A 质量 (μg) 为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y), 得到回归方程为 $Y=0.0071X-0.0701$, $r=0.9992$, 结果表明灵芝酸 A 在 20.8~166.4 μg 呈现良好的线性关系。

2.6 体外释放实验

采用 Franz 扩散池研究 GT-NS-gel 的体外释放情况。取单层透析袋 (截留相对分子质量 7 000) 放置在供给池和接收池之间, 用夹子将两者夹紧固定, 接收池中加入新配的含 20%乙醇的磷酸盐缓冲液 (pH 6.8), 使透析袋内表面完全浸润在其中, 保证

无气泡, 扩散面积为 1.77 cm^2 , 接收池总体积为 22.5 mL。设定温度 (32.0 ± 0.5) °C, 转速 500 r/min。供给池上方加入 0.5 g GT-NS-gel 后, 开始计时。在给药 24 h 后取样 1 mL, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 以空白接收液为对照, 按照“2.5”项下方法测定并计算释放率。

2.7 体外皮肤滞留实验

取 SD 大鼠, 乙醚麻醉后用 10%的 Na_2S 溶液脱去腹部毛, 断颈处死后立即剪下腹部皮肤, 除去皮下组织、血管及脂肪, 用生理盐水反复冲洗。将皮肤固定在扩散池上, 角质层朝上, 用含 20%乙醇的磷酸盐缓冲溶液 (pH 7.4) 作为接收液^[11], 转速为 100 r/min, 扩散面积为 1.77 cm^2 , 接收池总体积为 22.5 mL, 32 °C 水浴循环。取 0.5 g GT-NS-gel 紧密贴敷在鼠皮上。24 h 后将皮肤从扩散池上取下, 用棉签擦去残留制剂, 用蒸馏水冲洗, 滤纸吸干水分, 剪下有效吸收皮肤面积, 置于 5 mL 离心管中, 用一定量的乙醇浸泡探头超声破碎, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 以空白接收液为对照, 按照“2.5”项下方法测定并计算皮肤滞留量。

2.8 效应面法优化 GT-NS-gel 处方

2.8.1 实验设计与结果 在预试验及文献研究结果的基础上^[12-13], 以卡波姆 940 的质量浓度 (A)、载药量 (B) 和卵磷脂的质量浓度 (C) 为考察因素, 以 24 h GT-NS-gel 体外累积释放率 (Y_1 , 最大值为优) 和 24 h 皮肤滞留量 (Y_2 , 最大值为优) 为指标, 采用 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 设计优化 GT-NS-gel 处方。实验安排及结果见表 1。

2.8.2 指标回归方程的拟合 基于 Box-Behnken 实验设计的内容和结果见表 2。采用 Design-Expert 8.0.5 软件对表 2 数据进行拟合分析, 以 Y_1 和 Y_2 为指标进行二项式方程拟合, 得到的二次多元回归方程分别为 $Y_1=48.8-5.49A+4.11B-8.42C+1.81AB+0.22AC-0.96BC+3.44A^2-0.83B^2-2.99C^2$ ($R^2=0.9835$, 校正 $R^2=0.9624$, $P<0.0001$); $Y_2=405.67-32.31A+54.19B+176.22C+8.37AB-3.61AC+24.24BC-57.55A^2+7.86B^2-70.96C^2$ ($R^2=0.9835$, 校正 $R^2=0.9624$, $P<0.0001$)。

2.8.3 方差分析和显著性检验 2 个拟合方程的相关系数说明该模型拟合程度良好, 可对 GT-NS-gel 处方进行分析与预测。由表 2 回归系数的显著性检验得到, 模型 Y_1 中卡波姆 940 的一次项、二次项, 卵磷脂质量浓度的一次项、二次项, 药物浓度一次

表 1 Box-Behnken 试验安排及结果

Table 1 Experimental arrangement and results of Box-Behnken design-response surface methodology

试验号	A / (mg·g ⁻¹)	B / (mg·g ⁻¹)	C / (mg·g ⁻¹)	Y ₁ / %	Y ₂ / (μg·cm ⁻²)
1	5.0 (-1)	10.0 (-1)	40.0 (0)	55.21	340.89
2	10.0 (1)	10.0 (-1)	40.0 (0)	38.46	232.34
3	5.0 (-1)	30.0 (1)	40.0 (0)	60.72	462.91
4	10.0 (1)	30.0 (1)	40.0 (0)	51.22	387.82
5	5.0 (-1)	20.0 (0)	0 (-1)	62.19	103.98
6	10.0 (1)	20.0 (0)	0 (-1)	52.93	73.77
7	5.0 (-1)	20.0 (0)	80.0 (1)	45.11	487.78
8	10.0 (1)	20.0 (0)	80.0 (1)	36.73	443.14
9	7.5 (0)	10.0 (-1)	0 (-1)	48.87	163.66
10	7.5 (0)	30.0 (1)	0 (-1)	58.12	193.21
11	7.5 (0)	10.0 (-1)	80.0 (1)	33.76	443.47
12	7.5 (0)	30.0 (1)	80.0 (1)	39.15	163.66
13	7.5 (0)	20.0 (0)	40.0 (0)	49.32	193.21
14	7.5 (0)	20.0 (0)	40.0 (0)	48.14	443.67
15	7.5 (0)	20.0 (0)	40.0 (0)	49.22	405.01
16	7.5 (0)	20.0 (0)	40.0 (0)	46.98	369.81
17	7.5 (0)	20.0 (0)	40.0 (0)	50.32	416.67

表 2 二次项回归方程系数显著性检验

Table 2 Significance of coefficients in second order regression equation

因素	P 值		因素	P 值	
	Y ₁	Y ₂		Y ₁	Y ₂
A	<0.000 1	0.021 2	BC	0.261 7	0.160 8
B	0.000 2	0.001 6	A ²	0.002 9	0.006 5
C	<0.000 1	<0.000 1	B ²	0.317 5	0.617 8
AB	0.055 6	0.605 1	C ²	0.006 0	0.002 2
AC	0.788 8	0.822 1			

项都达到显著水平 ($P < 0.05$), 其他项不显著。模型 Y_2 中卡波姆 940 的一次项、二次项, 药物浓度一次项, 卵磷脂质量浓度一次项、二次项都达到显著水平 ($P < 0.05$), 其他项不显著。删除对指标无显著性影响的项, 得到二项式方程如下: $Y_1 = 48.8 - 5.49A + 4.11B - 8.42C + 3.44A^2 - 2.99C^2$ ($R^2 = 0.983 5$, 校正 $R^2 = 0.962 4$, $P < 0.000 1$); $Y_2 = 405.67 - 32.31A + 54.19B + 176.22C - 57.55A^2 - 70.96C^2$ ($R^2 = 0.983 5$, 校正 $R^2 = 0.962 4$, $P < 0.000 1$)。

2.8.4 效应面分析 选择对各指标有显著影响的 2 个因素, 另一因素设为中心点值, 采用 Design-Expert 8.0.5 软件绘制相应的曲面图, 见图 3。

图 3-A~C 表明, 卡波姆 940 的质量浓度、载药量和卵磷脂的质量浓度都是影响 24 h GT-NS-gel 体外累积释放率的主要因素 (A, $P < 0.000 1$; B, $P = 0.000 2$; C, $P < 0.000 1$)。体外累积释放率与卡波姆 940 的质量浓度和卵磷脂的质量浓度成负相关, 与载药量成正相关。图 3-D 表明, 卡波姆 940 对 24 h 皮肤滞留量的影响随其用量而变化 (A, $P = 0.021 2$)。卡波姆 940 在用量小的范围内 (5~7.5 mg/g), 药物的滞留量变化不大, 在用量大的范围 (7.5~10 mg/g), 用量增加, 皮肤滞留量略有下降, 在 0.75 mg/g 时滞留量最大。图 3-E 表明, 皮肤滞留量随着载药量的增大而增加 (B, $P = 0.000 2$)。图 3-F 表明, 磷脂的用量对 24 h 皮肤滞留量具有极显著影响 (C, $P < 0.000 1$), 其用量越大, 滞留量越大。

2.8.5 优选处方的预测与验证 采用 Design-Expert 8.0.5 实验设计软件, 按 Y_1 最大值, Y_2 最大值设定目标, 得到的优选处方条件为 A=5 mg/g, B=30 mg/g, C=47.2 mg/g。依据该处方制备了 3 批 GT-NS-gel, 测定各响应指标。模型对各指标的预测值 Y_1 、 Y_2 分别为 57.37% 和 468.39 μg/cm²。实际测量值分别 (56.28 ± 2.16) % 和 (472.89 ± 8.74) μg/cm² ($n = 3$)。结果显示实际测量值与模型预测值接近, 表明该模型的预测性良好。

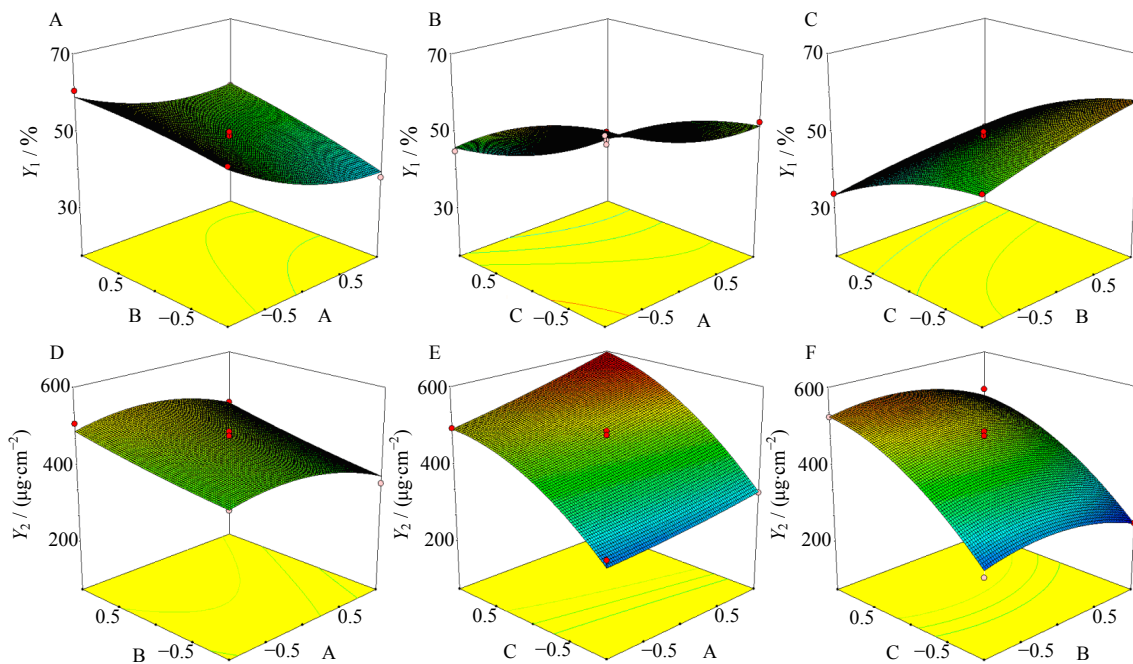


图3 各因素对响应值影响的三维效应曲面图

Fig. 3 3D Response surface plot for effects of different factors

2.9 优化 GT-NS-gel 与 GT-gel 的比较

先按照“2.7”项下“将皮肤固定在扩散池上……, 32 °C水浴循环”操作, 然后分别取 0.5 g GT-NS-gel 和 GT-gel 紧密贴敷在大鼠皮肤上后, 在 1、2、3、5、7、9、12、24 h 分别从接收池内取样 5 mL, 同时补充等量的接收液。所取样品 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 以空白接收液作为对照, 按照“2.5”项下方法测定并计算累积透过量 (Q_n)。 Q_n 的计算按照以下公式进行。

$$Q_n = (V_r C_n + \sum_{i=1}^{n-1} V_s C_i) / A$$

Q_n 为第 n 次取样时的累积透过量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), V_r 代表接收液的体积 (22.5 mL), C_n 为每个取样点质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), V_s 为取样体积 (5 mL), C_i 为第 i 次取样测得的接收液中药物质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), A 为扩散渗透面积 (cm^2)

以 Q_n 值为纵坐标, 时间 t 为横坐标进行线性回归, 所得方程分别为 $Y_{\text{GT-NS-gel}} = 2.228 2 t + 1.032 1$ ($R^2 = 0.968 3$) 及 $Y_{\text{GT-gel}} = 0.685 3 t - 0.524 8$ ($R^2 = 0.916 7$), 其斜率即为透皮速率常数 J_{ss} [$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$]。由方程可知 $J_{ss \text{ GT-NS-gel}} = 2.228 2 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, $J_{ss \text{ GT-gel}} = 0.685 3 \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$, GT-NS-gel 的渗透速率是 GT-gel 的 3 倍多。

皮肤的滞留量按照“2.7”项下方法计算。结果见图 4。结果表明, 24 h 后 GT-NS-gel 和 GT-gel 的 Q_n 分别为 $(50.73 \pm 4.97) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 (14.79 ± 3.45)

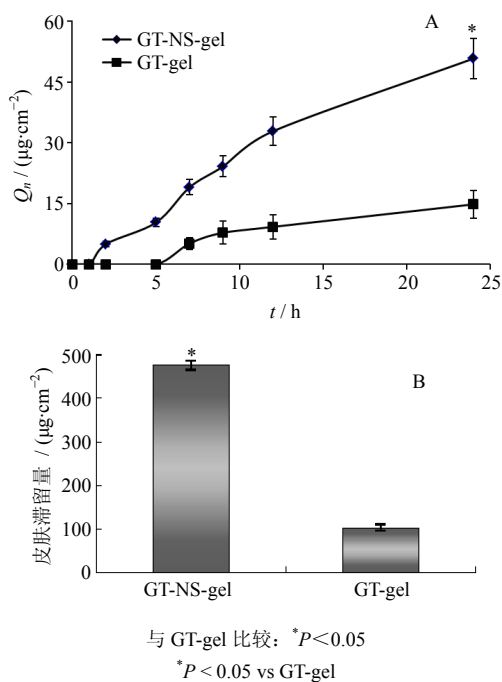


图4 GT-NS-gel 和 GT-gel 的体外透皮吸收 (A) 和皮肤滞留量 (B) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Amount of GT-NS-gel and GT-gel penetrating through skin (A) and in skin (B) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 皮肤滞留量分别是 $(475.89 \pm 10.74) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $(101.32 \pm 7.02) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。可见, 优化后的 GT-NS-gel 体外 Q_n 和皮肤滞留量分别是 GT-gel 的 3.43 倍和 4.70 倍。

3 讨论

卡波姆是一种常用的水溶性聚合物凝胶基质,当其与皮肤接触时,能够迅速润湿皮肤,增加皮肤的水合作用,有利于药物的吸收,其用量直接影响凝胶的黏度和释药性能^[14]。在预实验中,0.5%~1%的卡波姆 940 形成的凝胶剂外观及黏度均合适。GT 的加入量对其在凝胶中的分散均与程度和体外释放有影响。卵磷脂能改变角质层结构,促进药物在皮肤中滞留^[12],因此本研究以卵磷脂为促透剂。丙二醇是常用的保湿剂^[13],其常用量为 5%~10%^[15],所以本实验选择卡波姆 940、载药量及卵磷脂用量为考察因素。药物从制剂中溶出是药物起效的第一步,GT 治疗冻伤在局部起效,增加药物在皮肤的滞留量,有利于提高其局部生物利用度,因此,本实验选择 24 h 体外累积释放率和皮肤滞留量为考察指标。通过效应面法优化得到的处方具有良好体外释放和透皮滞留效果。

卡波姆 940 的用量增加,凝胶的黏度增加,阻碍药物的释放;药物包埋于凝胶内,凝胶内的磷脂不溶于水,也会阻碍药物释放;而凝胶内载药量增加使药物浓度梯度增大,可促进药物的释放。因此,GT 体外累积释放率与卡波姆 940 的质量浓度和卵磷脂的质量浓度成负相关,与载药量成正相关。24 h 皮肤滞留量随着卡波姆 940 用量的增加先变化不大之后略有下降,说明一定黏度的卡波姆 940 会阻碍药物的释放,进而进入皮肤的药量下降;皮肤滞留量随着载药量的增大而增加,药物用量增加使体外释放量增加,皮肤滞留量也随之增加;皮肤滞留量随着磷脂的用量增加而增加,一方面是因为磷脂能够破坏角质层的结构,使得皮肤的通透性增加,另一方面磷脂是皮肤细胞的重要组成部分,能够促进亲脂性的药物滞留在皮肤层。

在本研究中,GT-NS-gel 24 h 药物累积透过量和皮肤滞留量分别为 $(50.73 \pm 4.97) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $(475.89 \pm 10.74) \mu\text{g}/\text{cm}^2$,滞留量是透过量的 9.38 倍。将 GT-NS-gel 与 GT-gel 相比,24 h 体外累积透过量增加了 2.43 倍,皮肤滞留量增加了 3.70 倍。说明将药物粒径降至纳米级别,不但提高了药物的饱和溶解度和溶出速率,而且增强与皮肤各层的黏附性,增加了滞留量^[7]。将纳米混悬液进一步分散在凝胶基质中,可以减少纳米粒的聚集而增加稳定性。同时体系黏度的增加能够增加药物在皮肤表面的保

留时间,有利于药物的经皮渗透和皮肤深层的滞留作用,将纳米混悬与凝胶剂结合,能够有效地增加药物在皮肤中的滞留量,提高药物在皮肤局部的生物利用度,以便其发挥抗冻伤作用。

参考文献

- [1] 陈若芸,于德泉. 灵芝三萜化学成分研究进展 [J]. 药学学报, 1990, 25(12): 940-953.
- [2] 牛君仿,方正,王红庚,等. 灵芝有效化学成分研究进展 [J]. 河北农业大学学报, 2002, 25(增刊): 51-54.
- [3] 王赛贞,林冬梅,林占熿,等. RP-HPLC 和 UV-VIS 法测定灵芝不同收获期的多糖肽和灵芝酸 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(3): 190-193.
- [4] 董虹玲,赵娜夏,商倩,等. 赤芝子实体中三萜酸类成分及其抗人乳腺癌 SKBR3 细胞增殖活性 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(2): 132-137.
- [5] 罗俊,林志彬. 灵芝三萜类化合物药理作用研究进展 [J]. 药学学报, 2002, 37(7): 574-578.
- [6] 韩晋,周旭,袁海龙,等. 复方灵芝乳膏对兔耳轻度冻伤治疗作用的初步研究 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(9): 689-692.
- [7] Venkataraman M, Nagarsenker M. Silver sulfadiazine nanosystems for burn therapy [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2013, 14(1): 254-264.
- [8] 张宁,徐艳敏,仁燕冬,等. 外用凝胶剂研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2010, 23(1): 92-93.
- [9] 岳鹏飞,万晶,胡鹏翼,等. 中药固体化纳米混悬给药系统的研究进展与思考 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 626-629.
- [10] 贺俊杰,陈彦,杜萌,等. 灵芝多组分微乳一步制备方法的探索 [J]. 药学学报, 2013, 48(3): 441-446.
- [11] Li B, Ge Z Q. Nanostructured lipid carriers improve skin permeation and chemical stability of idebenone [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2012, 13(1): 276-283.
- [12] Bentley M V L B, Kedor E R M, Vianna R F, et al. The influence of lecithin and urea on the *in vitro* permeation of hydrocortisone acetate through skin from hairless mouse [J]. *Int J Pharm*, 1997, 146: 225-262.
- [13] 郭红叶,伊博文,闫小平,等. 新型辅料卡波姆在凝胶剂中应用现状 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 371-374.
- [14] 施海英,陈钧,费超群,等. 水飞蓟宾缓释凝胶剂的制备及体外释药特性研究 [J]. 中成药, 2013, 35(3): 491-494.
- [15] 郭红叶,闫小平,伊博文,等. 均匀设计法优选祛斑凝胶剂基质处方 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(23): 4076-4078.