

水杨酸微乳的制备及其体外透皮吸收研究

赵 晶*,金 凯,宋光杰,郝吉福[#](泰山医学院药学院,山东 泰安 271016)

中图分类号 R943;R944.1⁺7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)01-0112-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.01.36

摘 要 目的:制备水杨酸微乳并考察其对离体小鼠皮肤经皮吸收的影响。方法:以聚山梨酯80为乳化剂、丙二醇为助乳化剂、油酸乙酯为油相,通过伪三元相图确定微乳的处方。采用激光粒度分析仪测定微乳的粒径分布;采用紫外分光光度法测定水杨酸含量;采用Franz扩散池法比较所制备的水杨酸微乳与市售水杨酸软膏的体外透皮速率。结果:水杨酸微乳的处方为5%水杨酸、6.8%油酸乙酯、32.4%混合乳化剂(聚山梨酯80-丙二醇之比为4:1)。所制得的水杨酸微乳为O/W型微乳,粒径为 (70.35 ± 17.78) nm;其与市售水杨酸软膏的稳定渗透速率分别为 (573.72 ± 8.94) 、 (310.52 ± 7.11) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$,渗透系数分别为 (1.588 ± 0.019) 、 (0.430 ± 0.0012) cm/h,前者为后者的3.69倍;水杨酸微乳的透皮吸收行为符合零级动力学释放规律。结论:所制水杨酸微乳可促进水杨酸的透皮吸收,为制备胃肠道刺激性小、生物利用度高的水杨酸新剂型提供一定的理论依据。

关键词 水杨酸;微乳;透皮吸收;伪三元相图

Preparation of Salicylic Acid Microemulsion and Its *in vitro* Percutaneous Permeation

ZHAO Jing, JIN Kai, SONG Guang-jie, HAO Ji-fu (School of Pharmacy, Taishan Medical College, Shandong Tai'an 271016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Salicylic acid microemulsion, and to investigate its *in vitro* percutaneous permeation in isolated mice skin. METHODS: The microemulsion was prepared using tween-80 as emulsifiers, propylene glycol as assistant emulsifiers and ethyl oleate as oil phase. The formulation was optimized by pseudo-ternary phase diagram, and the distribution of particle size was determined by laser particle analyzer. The content of salicylic acid was determined by UV spectrophotometry. The *in vitro* percutaneous rates of prepared Salicylic acid microemulsion and commercially available Salicylic acid cream were determined by Franz diffusion cell. RESULTS: The formula of Salicylic acid microemulsion was as follows: 5% salicylic acid, 6.8% ethyl oleate, 32.4% mixture surfactant (tween-80/propylene glycol ratio of 4:1). The prepared Salicylic acid microemulsion was O/W microemulsion with particle size of (70.35 ± 17.78) nm. Steady permeation rates of prepared microemulsion and commercially available cream were (573.72 ± 8.94) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ and (310.52 ± 7.11) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$, respectively; the permeation coefficient of them were (1.588 ± 0.019) cm/h and (0.430 ± 0.0012) cm/h, and the former was 3.69 times of the latter. The percutaneous permeation behavior of Salicylic acid microemulsion was in line with zero-order kinetic release rules. CONCLUSIONS: Prepared Salicylic acid microemulsion can improve the percutaneous permeation of salicylic acid, and to provide theoretic basis for the preparation of new dosage form with less gastrointestinal irritation and high bioavailability.

KEYWORDS Salicylic acid; Microemulsion; Percutaneous permeation; Pseudo-ternary phase diagram

微乳(Microemulsion, ME)是由水相、油相、乳化剂和助乳化剂按适当比例形成的一种透明或半透明、低黏度、各相同性且热力学稳定的体系,是药物经皮转运的一种极具潜力的载

体,近年来用于酮洛芬等药物透皮给药制剂的研究^[1-3]。水杨酸(Salicylic acid)为非甾体类解热镇痛药物,口服给药后会引起不同程度的胃肠道不良反应,将水杨酸制成透皮给药制剂,

- [3] 杨宜华,赵子明,刘妍,等.蔡普生微囊的制备及其质量考察[J].中国药房,2010,21(45):4 271.
- [4] 董自亮,卢君蓉,高飞,等.芍药苷微囊的制备及其体外释药研究[J].中草药,2013,44(13):1 756.
- [5] 舒予,李小芳,刘玲,等.五味子多糖微囊的制备及其体外释药特性考察[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(5):27.
- [6] 孙世,刘艺,燕雪花,等.甘草黄酮微囊的制备及其理化性

- 质的研究[J].新疆医科大学学报,2011,34(3):270.
- [7] 艾凤伟,王佳瑜,李艳凤,等.芦丁微囊的制备及其质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):32.
- [8] 鲜敏,丁晓刚.正交设计法优选大蒜油微囊的制备工艺[J].时珍国医国药,2009,20(1):220.
- [9] 严春临,张季,张丹参,等.大黄酚微囊的制备及其体外释药的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):7.
- [10] 胡雪莲,黄华,李英博,等.流化床包衣法制备盐酸小檗碱掩味微囊[J].中国医药工业杂志,2013,44(4):362.

* 硕士研究生。研究方向:药物新技术与新剂型。电话:0538-6229751

[#] 通信作者:副教授,硕士。研究方向:药物新技术与新剂型。电话:0538-6229751。E-mail: haojifu@163.com

(收稿日期:2014-07-14 修回日期:2014-09-03)

(编辑:邹丽娟)

可避免胃肠道不良反应。本试验制备了稳定性较好的油(O)/水(W)型水杨酸微乳,并用Franz扩散池法对水杨酸微乳经离体小鼠皮的渗透速率进行了研究,探讨水杨酸微乳透皮给药的可行性。

1 材料

1.1 仪器

FA-1004电子分析天平(上海恒乐科学仪器有限公司);S-54紫外分光光度计(上海凌光技术有限公司);RYJ-6A药物透皮扩散实验仪(上海黄海药检仪器厂);Mastersize2000激光粒度测定仪(英国马尔文公司)。

1.2 药品与试剂

水杨酸(天津市巴斯夫化工有限公司,分析纯);水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100106-201303,纯度:99.5%);油酸乙酯(天津市光复精细化工研究所,分析纯);聚氧乙烯辛基苯基醚(OP,天津市光复精细化工研究所,分析纯);水杨酸软膏(市售,批号:20121016,规格:0.05 g/g);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

昆明种小鼠,♂,体质量18~22 g,由山东鲁抗医药股份有限公司实验动物中心提供,实验动物使用许可证号为SCXK(鲁)20080002。

2 方法与结果

2.1 伪三元相图优化水杨酸微乳处方

分别以油相、水相和不同质量比(K_m ,乳化剂和助乳化剂)的混合乳化剂作为三角形的顶点绘制伪三元相图,根据各组分在临界点时的质量百分比确定在相图中的位置,将临界点连成的曲线记为该 K_m 下的伪三元相图,通过比较封闭曲线下的阴影面积进行处方优化^[4]。

2.1.1 具体操作。在室温(25℃)下采用水滴滴定法构建伪三元相图,以油酸乙酯为油相、聚山梨酯80及OP为乳化剂、乙醇与丙二醇为助乳化剂,在 K_m 分别为2:1、3:1、4:1条件下,比较乳化剂和助乳化剂的种类及不同质量比对水杨酸微乳形成能力的影响。在不同处方条件下改变油酸乙酯与混合乳化剂的质量比为1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1,在磁力搅拌条件下将油酸乙酯、乳化剂和助乳化剂的混合物用蒸馏水进行滴定,平衡后观察混合体系的状态。以澄清、透明、黏度低状态为微乳;不透明、浑浊呈乳白色状态为普通乳剂;黏稠、倾斜后不流动状态为凝胶状态。观察上述状态的滴定变化终点,记录滴加水量。

2.1.2 数据处理。采用Origin 7.5软件对数据进行处理并绘制伪三元相图,结果见图1(阴影区代表微乳区,a、b、c表示不同乳化剂和助乳化剂的质量比)。

由图1可知,以微乳伪三元相图区域面积大小为指标,通过比较阴影部分的面积大小确定乳化剂为聚山梨酯80、助乳化剂为丙二醇、两者 K_m 为4:1时阴影部分面积最大。

2.2 水杨酸微乳的制备

根据伪三元相图,分别在微乳区中心选择一点,考虑到尽量减少表面活性剂用量及维持一定的载药量等因素,结合市售水杨酸外用制剂的规格,制备含量为5%的水杨酸微乳。在室温下将6.8%的油酸乙酯与32.4%混合乳化剂(聚山梨酯80-丙二醇之比为4:1)均匀混合后,加入5%水杨酸,充分搅拌使水杨酸完全溶解,然后在搅拌的条件下缓慢滴入55.8%的蒸馏

水,即得水杨酸微乳。

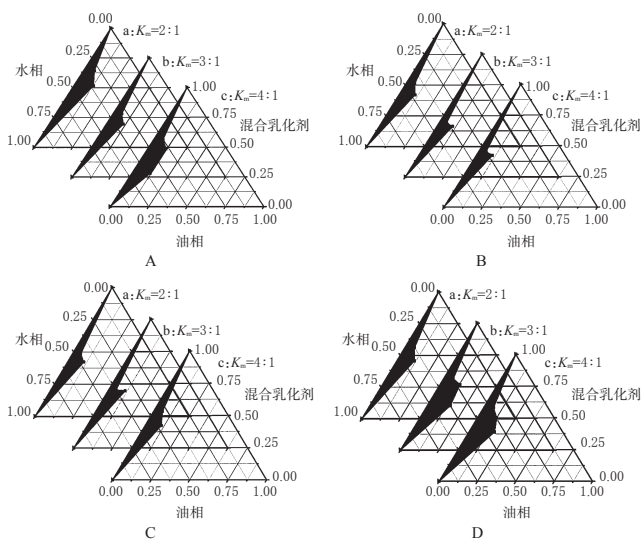


图1 微乳体系的伪三元相图

A.聚山梨酯80-乙醇;B.OP-丙二醇;C.OP-乙醇;D.聚山梨酯80-丙二醇

Fig 1 Pseudo-ternary phase diagram of microemulsion systems

A. tween-80/ethanol; B. OP/propylene glycol; C. OP/ethanol; D. tween-80/propylene glycol

2.3 微乳的理化性质表征

2.3.1 粒径检测。采用激光粒度测定仪对所制备的水杨酸微乳进行粒度检查。结果表明,水杨酸微乳的粒径为(70.35±17.78) nm,多分散指数(PDI)为0.205,水杨酸微乳的粒径大小分布图见图2。

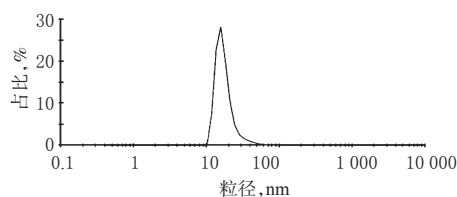


图2 水杨酸微乳的粒径大小分布图

Fig 2 Particle size of Salicylic acid microemulsion

2.3.2 外观检查。根据2010年版《中国药典》(二部)附录IX A溶液颜色与IX B澄清度检查法对所制备的水杨酸微乳和不含水杨酸的空白微乳进行检查^[6]。结果表明,水杨酸微乳及空白微乳外观均为澄清透明、流动性好的胶体溶液,有明显的丁达尔效应。

2.3.3 体系性质。用染色法鉴定微乳的体系性质,根据红色的油性染料苏丹红和蓝色的水溶性染料亚甲基蓝在所制备的水杨酸微乳中的扩散速度的快慢,判定微乳类型。结果水杨酸微乳中蓝色扩散速度快于红色,表明所制备的水杨酸微乳为O/W型微乳。

2.4 水杨酸的含量测定

2.4.1 标准曲线的制备。精密称取水杨酸对照品10 mg,用蒸馏水溶解后定容配制成质量浓度为100 μg/ml的标准贮备液。再取上述标准贮备液依次稀释成质量浓度分别为10、20、40、50、80 μg/ml的标准溶液。分别精密量取不同质量浓度的标准溶液5 ml,加硫酸铁铵显色剂1 ml,以蒸馏水5 ml加硫酸铁铵

显色剂 1 ml 为空白对照,于 530 nm 波长处测定吸光度。以吸光度(A)为纵坐标、水杨酸质量浓度(c)为横坐标进行线性回归分析,得标准曲线方程为 $A=0.011\ 3c+0.001\ 3$ ($r=0.999\ 2$, $n=6$)。结果表明,水杨酸检测质量浓度的线性范围为 10~100 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4.2 回收率试验。取空白微乳,加入高、中、低质量浓度的水杨酸标准溶液后测定水杨酸的含量并计算回收率,结果平均回收率为 100.07%,RSD 为 1.26%($n=3$)。

2.4.3 精密度试验。取“2.4.1”项下水杨酸质量浓度分别为 100、40、10 $\mu\text{g/ml}$ 的标准溶液,按照该项下方法操作,采用硫酸铁铵显色后,在同日内每间隔 1 h 测定 1 次吸光度,共测 5 次,考察日内精密度,结果日内 RSD 依次为 1.23%、1.46%、2.01%($n=5$);取上述溶液在 3 d 内每间隔 1 d 测定 1 次,共测 3 次,考察日间精密度,结果日间 RSD 依次为 2.89%、2.73%、2.06%($n=3$)。

2.5 体外透皮实验

2.5.1 小鼠离体皮肤的制备。将小鼠腹部脱毛后,生理氯化钠溶液洗净腹部脱毛部位,饲养 24 h 后处死,剥离无毛的腹部皮肤,去掉皮下脂肪,用生理氯化钠溶液冲洗干净后,滤纸吸干水分,铝箔包裹后置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。临用前解冻回复至室温,用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液漂洗至洗液澄清,离体皮肤用滤纸吸干后备用。

2.5.2 实验方法。采用 Franz 扩散池进行透皮实验,扩散池置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中保温。将处理好的小鼠离体皮肤固定于供给池和接收池之间,角质层表面朝向供给池,扩散池的有效面积为 3.5 cm^2 。接收介质为生理氯化钠溶液,接收池的体积为 6.5 ml。分别将水杨酸微乳与市售水杨酸软膏均匀涂布在小鼠皮肤的角质层表面,在 300 r/min 的搅拌条件下,分别于 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0 h 时从接收池中取样 1.0 ml,每次取样后补加等量等温的生理氯化钠溶液。将取出的样品定容至 10 ml 量瓶中,测定水杨酸含量,按照公式计算单位面积累积渗透量(Q): $Q=V_0(c_n+\frac{V}{V_0}\sum_{i=1}^{n-1}c_i)/S=(V_0c_n+V\sum_{i=1}^{n-1}c_i)/S$ 。

式中,S 为有效扩散面积; V_0 为接收池中接收液体积; V 为取样体积; c_i 为第 i 次取样时接收液中药物质量浓度; c_n 为第 n 次取样时接收液中药物质量浓度; n 为取样次数。

2.5.3 数据处理与结果。以累积渗透量对渗透时间作图,并对曲线中的直线部分进行线性回归分析,所得直线斜率即为稳态渗透速率($J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$),计算渗透系数($P_s, \text{cm/h}$),直线与 X 轴的交点为滞后时间(T_{lag})。2 种水杨酸样品经小鼠离体皮肤的渗透曲线比较见图 3,数据结果见表 1。

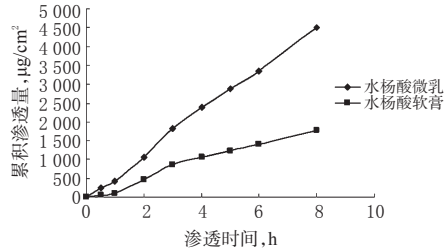


图3 2种水杨酸样品经小鼠离体皮肤的渗透曲线比较($n=6$)
Fig 3 Comparison of permeation curves between 2 kinds of salicylic acid samples in isolated mice skin($n=6$)

表1 2种水杨酸样品的渗透参数比较($\bar{x}\pm s, n=4$)

Tab 1 Comparison of permeation parameters between 2 kinds of salicylic acid samples ($\bar{x}\pm s, n=4$)

剂型	回归方程	r^2	$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$	$P_s, \text{cm/h}$	T_{lag}, h
水杨酸微乳	$Q=573.72t-27.726$	0.992 0	573.72 ± 8.94	1.588 ± 0.019	0.047 5
水杨酸软膏	$Q=310.52t-142.94$	0.942 1	310.52 ± 7.11	0.430 ± 0.0012	0.460 3

从图 3 可知,水杨酸微乳的释放速率符合零级动力学特征,即达到稳态后药物恒速释放,遵循 Fick's 扩散定律。水杨酸微乳中药物的累积渗透量与渗透时间呈良好的线性关系,以各时间点的累积渗透量(Q)对渗透时间(t)进行回归分析,得直线回归方程见表 1。与市售水杨酸软膏比较,水杨酸微乳的 J_s 、 P_s 均更高,其中后者 P_s 为前者的 3.69 倍,表明微乳体系可以增强水杨酸的透皮吸收,并且能够使水杨酸获得较高的释放量。

3 讨论

根据水杨酸的溶解性能,采用油酸乙酯作为微乳的油相。在微乳的形成过程中,随着水相的加入,微乳体系发生转相,即从开始透明的 W/O 型微乳,然后经历透明黏稠的液晶区,最后形成透明的 O/W 型微乳。染色法也证明所形成的微乳为 O/W 型。

在体外经皮渗透实验中,与市售水杨酸软膏比较,从水杨酸微乳的动力学参数可以看出,所制备的水杨酸微乳可促进水杨酸经皮渗透。这可能与微乳的表面活性剂和助表面活性剂作为渗透促进剂,减轻了角质层的屏障作用有关;同时微乳可增加水杨酸的溶解度,形成高浓度梯度,从而促进扩散的进行,提高了渗透速度^[6-7]。本试验为制备胃肠道刺激性小、生物利用度高的水杨酸新剂型提供了一定的理论依据。

参考文献

[1] Sintov AC, Greenberg I. Comparative percutaneous permeation study using caffeine-loaded microemulsion showing low reliability of the frozen/thawed skin models[J]. *Int J Pharm*, 2014, 471(1/2):516.
[2] Park ES, Cui Y, Yun BJ, et al. Transdermal delivery of piroxicam using microemulsion[J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(2):243.
[3] Ngawhirunpat T, Worachun N, Opanasopit P, et al. Cremophor RH40-PEG400 microemulsions as transdermal drug delivery carrier for ketoprofen[J]. *Pharm Dev Technol*, 2013, 18(4):798.
[4] 潘国良,贾晓斌,魏惠华,等.药用微乳伪三元相图的几种制备方法比较研究[J]. *中国药房*, 2006, 17(1):21.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S]. 2010 年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录 68-71.
[6] 刘晨,王文苹,戴贵东.不同方法制备枸杞籽油微乳的比较研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(19):1 749.
[7] 李宁,张敬一,李川,等.氟比洛芬微乳的制备及其透皮吸收的研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(10):819.

(收稿日期:2014-07-03 修回日期:2014-08-31)

(编辑:邹丽娟)