

欧前胡素柔性脂质体凝胶的制备及质量评价^Δ

崔雪惠^{1,2*}, 陈世洪^{1,2}, 邱金娣^{1,2}, 班俊峰^{1,2}, 杨楠楠^{1,2}, 倪庆纯³, 潘钊言⁴, 谢清春^{1,2}, 陈燕忠^{1,2}, 吕竹芬^{1,2#}(1.广东药科大学新药研发中心/广东省药物新剂型重点实验室, 广州 510006; 2.广东药科大学广东省局部精准药物递药制剂工程技术研究中心/缓控释微粒递药系统研究创新团队, 广州 510006; 3.广州医药研究总院有限公司, 广州 510240; 4.中山大学新华学院, 广州 510520)

中图分类号 R944.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)09-1074-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.09.10

摘要 目的:制备欧前胡素柔性脂质体凝胶(IMP-UDLs-Gel),并对其质量评价。方法:在单因素考察的基础上,以12 h累积透过量(Q_{12h})为评价指标,采用正交试验法对IMP-UDLs-Gel处方中的卡波姆940比例、甘油比例和丙二醇比例进行考察,筛选最优处方,并对最优处方所制备的IMP-UDLs-Gel进行质量评价。结果:IMP-UDLs-Gel最优处方为卡波姆940比例1%、甘油比例15%、丙二醇比例10%。所制得的IMP-UDLs-Gel的 Q_{12h} 为 $(11.543 \pm 0.241) \mu\text{g}/\text{cm}^2$;外观为乳白色、半透明状;粒径为 $(93.13 \pm 1.68) \text{nm}$,多分散系数为 0.268 ± 0.012 ,Zeta电位为 $(-24.96 \pm 1.99) \text{mV}$;pH为 7.32 ± 0.03 ;黏度为 $(45.37 \pm 1.27) \text{g} \cdot \text{s}$;稳态流量为 $(0.727 \pm 0.002) \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{cm}^2$,滞后时间为 $(4.358 \pm 0.175) \text{h}$,表观渗透系数为 $1.392 \times 10^{-3} \text{cm}/\text{h}$,且具有良好的物理稳定性和光稳定性。结论:建立的制备方法稳定可行,所制备的IMP-UDLs-Gel具有良好的黏附性、稳定性和透皮性。

关键词 欧前胡素;柔性脂质体;凝胶;处方优化;制备;质量评价;透皮性

Preparation and Quality Evaluation of Imperatorin Ultradeflexible Liposomes Gel

CUI Xuehui^{1,2}, CHEN Shihong^{1,2}, QIU Jindi^{1,2}, BAN Junfeng^{1,2}, YANG Nannan^{1,2}, NI Qingchun³, PAN Zhaoyan⁴, XIE Qingchun^{1,2}, CHEN Yanzhong^{1,2}, LYU Zhufen^{1,2}(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Advanced Drug Delivery Systems/New Drug R&D Center, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. R&D Innovation Team for Controlled-release Microparticle Drug Delivery System/Guangdong Provincial Engineering Center of Topical Precision Drug Delivery System, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 3. Guangzhou General Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangzhou 510240, China; 4. Xinhua College of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510520, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Imperatorin ultradeflexible liposomes gel (IMP-UDLs-Gel), and to evaluate its quality. METHODS: Based on single factor test, using 12 h accumulative penetration amount (Q_{12h}) as evaluation index, the proportion of carbomer 940, glycerol and propyl glycol in formulation of IMP-UDLs-Gel were investigated by orthogonal test. The optimal formulation was screened. The quality of IMP-UDLs-Gel prepared with the optimal formulation was evaluated. RESULTS: The optimal formulation of IMP-UDLs-Gel included carbomer 940 proportion of 1%, glycerol proportion of 15% and propyl glycol proportion of 10%. Q_{12h} of IMP-UDLs-Gel was $(11.543 \pm 0.241) \mu\text{g}/\text{cm}^2$; the appearance was milky white and translucent; the particle size was $(93.13 \pm 1.68) \text{nm}$, PDI was 0.268 ± 0.012 , Zeta potential was $(-24.96 \pm 1.99) \text{mV}$; pH was 7.32 ± 0.03 ; viscosity was $(45.37 \pm 1.27) \text{g} \cdot \text{s}$; steady flow was $(0.727 \pm 0.002) \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{cm}^2$, lag time was $(4.358 \pm 0.175) \text{h}$, apparent permeability coefficient was $1.392 \times 10^{-3} \text{cm}/\text{h}$, and it has good physical and optical stability. CONCLUSIONS: The preparation method is stable and feasible, and the prepared IMP-UDLs-Gel has good adhesion, stability and transdermal property.

KEYWORDS Imperatorin; Ultradeflexible liposomes; Gel; Formulation optimization; Preparation; Quality evaluation; Transdermal characteristics

脂质体自被开发以来,广泛应用于医药、化妆品及食品等领域。Cevc G等^[1]首次提出具有变形性的柔性脂质体,更容易透过皮肤。虽然脂质体在经皮给药系统中具有显著优势,但在外界环境如pH、温度等发生变化

时,会产生聚集、药物泄露、磷脂氧化水解等问题^[2]。将脂质体分散在凝胶基质中制成脂质体凝胶给药系统,可同时发挥二者特性:脂质体对药物起到缓控释作用,避免突释效应,减小毒副作用;凝胶骨架可以保护脂质体的完整性,提高其稳定性^[3-4]。

欧前胡素(Imperatorin, IMP)是一种线性呋喃香豆素类化合物,主要存在于白芷等伞形科植物中^[5],具有抗炎镇痛^[6-7]、抗菌^[8]、抗癫痫^[9]、抗肿瘤^[10]及保护心血管^[11]等药理作用。但IMP水溶性较差,口服吸收率低且易代

^Δ基金项目:广东省自然科学基金资助项目(No.2019A1515011018);广东省研究生教育创新计划项目(No.粤教研函[2018]17号)

*硕士研究生。研究方向:药物研发与转化。E-mail:1446455308@qq.com

#通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:药物新技术与新剂型。E-mail:luzhufen@126.com

谢,生物利用度低^[2],难以达到治疗浓度,限制了其在临床上的应用。本研究前期将IMP制备成柔性脂质体,增加了药物的透皮吸收,但混悬液状态在经皮给药中存在不便,故拟将IMP柔性脂质体(IMP-UDLs)溶液凝胶化以方便给药。基于此,笔者现对IMP柔性脂质体凝胶(IMP-UDLs-Gel)的制备工艺及其质量进行研究,为开发IMP透皮给药系统提供试验基础。

1 材料

1.1 仪器

e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);CP225D型十万分之一电子分子天平(德国Sartorius公司);L-100XPRES-52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-D型循环真空泵(巩义市裕华仪器有限公司);JY88-LIN型超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);SK7200LHC型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);JEM-2100型透射电子显微镜(日本电子株式会社);Delso Nano C型纳米粒度/Zeta电位分析仪(美国Beckman Coulter公司);TA.XT Plus型物性测试仪(英国Stable Micro Systems公司);TK-12B型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司);THZ-84型水浴恒温振荡器(金坛市宏华仪器厂);FE28型pH计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);LS3000型光照试验仪(北京天星科仪科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

IMP对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110826-201616,纯度:98%);IMP原料药(上海历鼎生物技术有限公司,批号:160118,纯度:97%);大豆卵磷脂(江苏曼氏生物科技股份有限公司,批号:150919);吐温20(批号:20180301)、吐温80(批号:20190915)均购自天津市大茂化学试剂厂;卡波姆940(上海麦克林生化科技有限公司,批号:C10112074);甘油(批号:20181101)、丙二醇(批号:20161110)均购自天津市致远化学试剂有限公司;胆固醇(批号:D160508)、三乙醇胺(批号:B1511023)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;常用有机试剂为分析纯,液相色谱法所用试剂均为色谱纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 IMP的含量测定方法

2.1.1 色谱条件 参考相关文献方法^[3]设置条件:色谱柱为YMC C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(70:30, V/V);流速为1.0 mL/min;检测波长为297 nm;柱温为30 ℃;进样量为20 μL。

2.1.2 溶液的制备 (1)IMP对照品溶液的制备:精密称取IMP对照品10.23 mg于100 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容,即得质量浓度为0.102 3 mg/mL对照品溶液。(2)供试品溶液的制备:精密称取IMP-UDLs-Gel样品100 mg于10 mL量瓶中,加入适量甲醇后超声(频率:53 kHz,功率:350 W)使溶解,冷却至室温后用甲醇定容,0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。(3)

空白UDLs-Gel溶液的制备:精密称取空白UDLs-Gel样品100 mg于10 mL量瓶中,按“2.1.2(2)”项下方法制备。

2.1.3 专属性考察 取空白UDLs-Gel溶液、IMP对照品溶液及供试品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析。结果,IMP的保留时间为9.3 min左右,峰形对称性良好,且溶剂与辅料对其色谱峰无干扰,表明方法专属性较好。色谱图见图1。

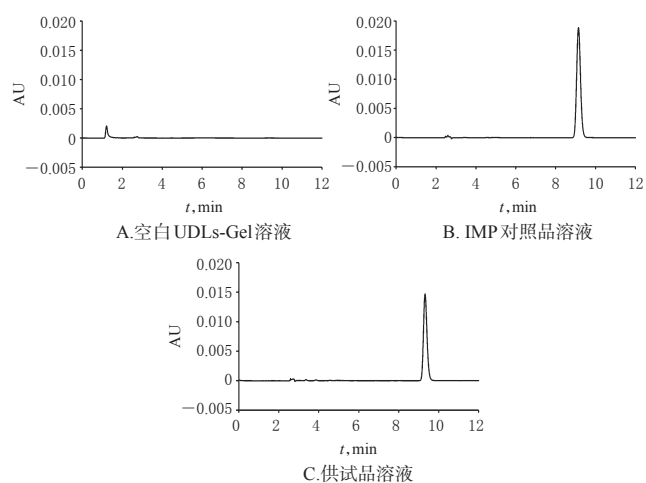


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.4 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下IMP对照品溶液适量,用甲醇稀释成质量浓度为0.102 3、0.511 5、1.023、5.115、10.23、20.46 μg/mL的系列对照品线性溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,以IMP峰面积(y)对质量浓度(x, μg/mL)进行线性回归,得回归方程为 $y=48\ 929x-260.2$ ($R^2=0.999\ 9$)。结果表明,IMP质量浓度在0.102 3~20.46 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.5 定量限与检测限考察 取“2.1.2”项下IMP对照品溶液适量,用甲醇倍比稀释,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,以信噪比10:1和3:1分别计算定量限、检测限。结果显示,IMP的定量限为0.10 μg/mL,检测限为0.025 μg/mL。

2.1.6 精密度考察 取“2.1.2”项下IMP对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果显示,IMP峰面积的RSD为0.38% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液适量,分别于室温放置0、2、4、6、8、10、12、24 h时,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,IMP峰面积的RSD为1.27% ($n=8$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 取IMP-UDLs-Gel适量,共6份,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,IMP峰面积的RSD为0.48% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 称取已知IMP含量的IMP-UDLs-Gel,共9份,按“2.1.2”项下方法制备供试品

溶液后,分别加入相当于IMP-UDLs-Gel中IMP含量的80%、100%、120%的IMP对照品,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积并计算加样回收率。结果,IMP的平均加样回收率为97.33%~101.03%,RSD为0.06%~0.59%(n=9),详见表1。

表1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery tests

已知含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
4.981	4.092	3.994	97.60	97.33	0.59
4.981	4.092	3.999	97.73		
4.981	4.092	3.956	96.67		
4.981	5.115	5.163	100.93	101.03	0.09
4.981	5.115	5.172	101.12		
4.981	5.115	5.168	101.03		
4.981	6.138	6.092	99.25	99.18	0.06
4.981	6.138	6.085	99.14		
4.981	6.138	6.086	99.17		

2.2 IMP-UDLs-Gel的制备

2.2.1 IMP-UDLs的制备 采用薄膜分散法^[13]制备IMP-UDLs。称取IMP 15 mg和适量大豆卵磷脂(与药物质量比为1:65)、胆固醇(与药物质量比为1:6),溶于适量10 mg/mL吐温20乙醇溶液中,使用旋转蒸发器以55℃水浴减压挥去乙醇,以磷酸盐缓冲液(PBS, pH为7.4)水化30 min,然后冰浴条件下超声(频率:70 kHz,功率:350 W)10 min,灭菌,即得。

2.2.2 空白UDLs的制备 除不加入IMP外,其余同“2.2.1”项下方法操作,制备空白UDLs。

2.2.3 IMP-UDLs-Gel的制备 参考文献方法^[14],称取处方量的卡波姆940、甘油、丙二醇及水于烧杯中,搅拌均匀,放置过夜使其充分溶胀,然后加三乙醇胺调pH至6.8~7.0得初始凝胶。将初始凝胶与“2.2.1”项下IMP-UDLs按1:1(m/m)混合,搅拌均匀,即得。

2.2.4 空白UDLs-Gel 除用“2.2.2”项下空白UDLs代替IMP-UDLs外,其余同“2.2.3”项下方法操作,制备空白UDLs-Gel。

2.3 单因素考察

参考相关文献^[5]发现,凝胶基质、促渗剂和保湿剂的种类及比例对IMP-UDLs-Gel的制备有一定影响,因此选择这几个因素进行单因素试验。

2.3.1 凝胶基质的筛选 考察以卡波姆940、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)和羟丙甲纤维素(HPMC)为基质对IMP-UDLs-Gel的影响,分别配制1%的卡波姆940、CMC-Na和HPMC水溶液,放置过夜使其充分溶胀。其中,卡波姆940溶液用三乙醇胺调pH至7.0左右。以颜色、成形性和涂展性为指标,确定最优基质。结果,卡波姆940成形性好、易涂抹,因此初步确定其作为凝胶基质。凝胶基质的筛选结果见表2。

2.3.2 卡波姆940浓度的筛选 选取不同比例(0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%)的卡波姆940作为凝胶基质,加入10%甘油、10%丙二醇,按“2.2.3”项下方法制备

表2 凝胶基质的筛选结果

Tab 2 Screening results of gel matrix

凝胶基质	颜色	成形性	涂展性
卡波姆940	透明	形成凝胶	易涂抹
CMC-Na	透明	未成凝胶	不易涂抹
HPMC	透明	未成凝胶	不易涂抹

IMP-UDLs-Gel。以IMP在离体皮肤12 h的累积透过量(Q_{12h})^[13,16]为指标,筛选卡波姆比例范围。 Q_n 计算公式为: $Q_n = (C_n V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$ [式中, Q_n 表示单位累积透过量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$); C_n 表示各个取样时间点的药物浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$); C_i 表示取样时间点的前一时间点的药物浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$); V_0 表示接收池体积(mL); V_i 表示接收液取样体积(mL), A 表示扩散池的有效透过面积(cm^2)。结果,当卡波姆940比例为0.5%时,凝胶难以成形;随卡波姆940比例增加,IMP在离体皮肤上的 Q_{12h} 降低;当卡波姆940比例为1.5%时,IMP在离体皮肤上的 Q_{12h} 明显降低,故选取卡波姆940比例为0.75%、1%和1.25%进行下一步研究。卡波姆940比例筛选结果见图2。

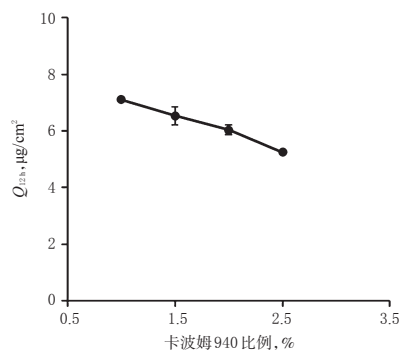


图2 卡波姆940比例筛选结果

Fig 2 Screening results of carbomer 940 proportion

2.3.3 促渗剂种类的筛选 选取常用促渗剂氮酮、丙二醇和薄荷醇进行考察。固定卡波姆940比例为1%,甘油比例为10%,分别加入3%的氮酮、丙二醇和薄荷醇,按“2.2.3”项下方法制备IMP-UDLs-Gel。以IMP在离体皮肤的 Q_{12h} 为评价指标,筛选促渗剂种类。结果,丙二醇与薄荷醇促渗效果相当,薄荷醇在水凝胶中的溶解度较低,因此选择丙二醇作为凝胶的促渗剂。促渗剂种类筛选结果见图3。

2.3.4 丙二醇比例的筛选 固定卡波姆940比例为1%、甘油比例为10%,加入不同比例(1%、2%、5%、10%)的丙二醇,按“2.2.3”项下方法制备IMP-UDLs-Gel。以IMP在离体皮肤的 Q_{12h} 为评价指标,筛选促渗剂浓度。结果,随促渗剂浓度的增加,促渗效果增强,但当促渗剂比例达到5%时促渗效果增加缓慢,故选取丙二醇比例为5%、7.5%、10%进行下一步研究。丙二醇比例筛选结果见图4。

2.3.5 保湿剂种类及其比例的筛选 选取甘油和聚乙二醇-400(PEG-400)这2种保湿剂进行比较。固定卡波

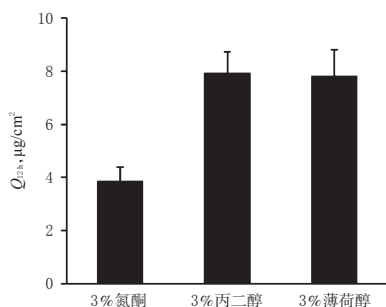


图3 促渗剂种类筛选结果

Fig 3 Screening results of the types of penetration enhancers

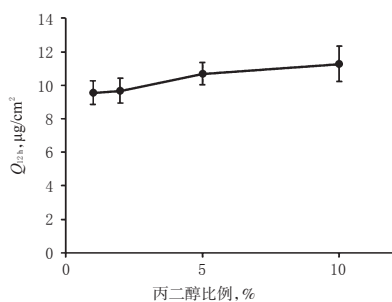


图4 丙二醇比例筛选结果

Fig 4 Screening results of propyl glycol proportion

姆940比例为1%、丙二醇比例为10%，分别加入不同比例(5%、10%、15%)的甘油和PEG-400，按“2.2.3”项下方法制备IMP-UDLs-Gel，以失水率(S)为评价指标，筛选保湿剂种类及其比例。参考文献方法^[17-18]测定 S ：称定空白量瓶质量 M_0 ，然后加入一定质量的IMP-UDLs-Gel，称定总质量 M ，再将量瓶放入55℃烘箱中干燥，每隔1h取出称定质量，记为 M_i 。 S 计算公式为： $S=(M-M_i)/(M-M_0) \times 100\%$ 。以时间(t)为横坐标、 S 为纵坐标，绘制 $S-t$ 曲线，并计算终点失水率。不同保湿剂种类及其比例的 $S-t$ 曲线见图5。

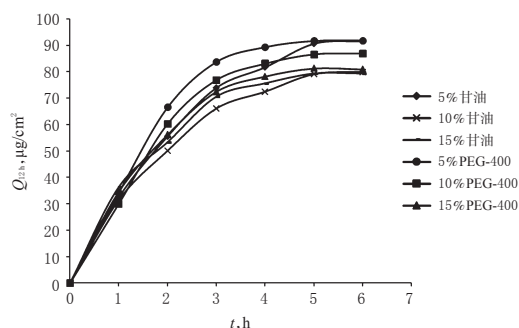


图5 不同保湿剂种类及其比例的 $S-t$ 曲线

Fig 5 $S-t$ curve of different moisturizers type and its proportion

结果显示，甘油的终点失水率大于PEG-400，说明甘油的保湿效果比PEG-400好。随甘油用量的增加，失水率减小；当甘油比例为10%~15%时，其保湿效果较好，故选取甘油比例为10%、12.5%、15%进行下一步研究。

2.4 处方优化试验

2.4.1 正交试验 根据单因素考察结果，选取卡波姆940比例(A)、甘油比例(B)和丙二醇比例(C)为正交试验考察因素，每个因素选取3个水平，采用 $L_9(3^3)$ 正交表设计试验，以IMP在离体皮肤上的 Q_{12h} 为评价指标确定最优处方。因素与水平见表3，正交试验设计及结果见表4，方差分析结果见表5。

表3 因素与水平

Tab 3 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, %	C, %
1	0.75	10	5
2	1	12.5	7.5
3	1.25	15	10

表4 正交试验设计及结果

Tab 4 Design and results of orthogonal test

No.	因素			Q_{12h} , $\mu\text{g}/\text{cm}^2$
	A	B	C	
1	1	1	1	7.829
2	1	2	2	8.318
3	1	3	3	10.900
4	2	1	2	7.361
5	2	2	3	11.400
6	2	3	1	10.208
7	3	1	3	10.322
8	3	2	1	8.660
9	3	3	2	7.707
K_1	27.047	25.511	26.696	
K_2	28.968	28.378	23.386	
K_3	26.689	28.815	32.622	
R	1.921	3.303	9.236	

表5 方差分析结果

Tab 5 Analysis results of variance

因素	偏差平方和	自由度	F	P
A	1.002	2	1.223	>0.1
B	2.146	2	2.620	>0.1
C	14.597	2	17.823	<0.1
D(误差)	0.820	2		

注： $F_{0.1}(2, 2)=9.00$

Note： $F_{0.1}(2, 2)=9.00$

2.4.2 结果分析 由表4和表5结果可知，各因素对IMP-UDLs-Gel的影响程度为 $C>B>A$ 。由方差分析结果可知，因素C对 Q_{12h} 有显著影响($P<0.1$)，因此确定最优处方为 $A_2B_3C_3$ ，即卡波姆940比例为1%，甘油比例为15%，丙二醇比例为10%。

2.4.3 验证试验 根据优化的处方比例，取适量卡波姆940、甘油、丙二醇和水置于烧杯中，按“2.2.3”项下方法制备IMP-UDLs-Gel，平行制备3批，测定并计算IMP在离体皮肤上的 Q_{12h} 。结果，3批IMP-UDLs-Gel在离体皮肤上IMP的 Q_{12h} 为 $(11.543 \pm 0.241) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，RSD为2.09% ($n=3$)，表明优化后的处方稳定可行。

2.5 IMP-UDLs-Gel的质量评价

2.5.1 外观及性状观察 取“2.4.3”项下最优处方制备

的IMP-UDLs-Gel 适量,于黑色背景下观察。结果,IMP-UDLs-Gel为乳白色、半透明、均匀细腻的半固体制剂,详见图6。



图6 IMP-UDLs-Gel的外观及性状

Fig 6 Appearance and property of IMP-UDLs-Gel

2.5.2 粒径分布及 Zeta 电位 取“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 适量,加水稀释,摇匀,采用纳米粒度/Zeta 电位分析仪测定其粒径和 Zeta 电位,平行测定 3 次。结果,IMP-UDLs-Gel 的粒径为 (93.13 ± 1.68) nm,多分散系数(PDI)为 0.268 ± 0.012 , Zeta 电位为 (-24.96 ± 1.99) mV。

2.5.3 透射电镜观察 取“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 适量,加水稀释后,用 2% 磷酸铀溶液负染,滴于铜网上,自然晾干,在透射电镜下观察。结果,IMP-UDLs-Gel 中 IMP 脂质体呈均匀球形,详见图 7。

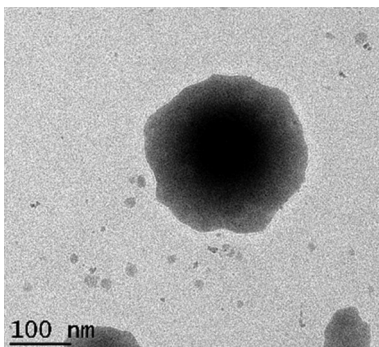


图7 IMP-UDLs-Gel的透射电镜图($\times 50\ 000$)

Fig 7 Transmission electron microscopy of IMP-UDLs-Gel($\times 50\ 000$)

2.5.4 pH 值 取“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 于烧杯中,加 50 mL 水稀释,测定其 pH 值。平行 3 份操作。结果,IMP-UDLs-Gel 的 pH 为 7.32 ± 0.03 。

2.5.5 凝胶的质构特性 参考相关文献方法^[19],分别取 10 g“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 和按同法制备的空白UDLs-Gel 于测试杯底,并保持表面平整,选择质构仪中的单次下压分析模式,使用 P/0.5 圆柱型探头,设置预测速度为 1.5 mm/s、测试及测后速度均为 1.0 mm/s、压缩距离为 15 mm、触发力为 5 g,测定胶凝强度、硬度和黏性。将皮肤组织粘合在 P/10 圆柱形探头上,设置预测速度为 0.5 mm/s、测试及测后速度为 0.1 mm/s、触发力为 3

g、测定停留时间为 10 min、返回距离为 10 mm,测定生物黏附力和黏附功。结果,与空白UDLs-Gel 比较,IMP-UDLs-Gel 的胶凝强度与硬度较低,黏附功和黏度较高,说明IMP-UDLs-Gel 具有良好的黏附性。IMP-UDLs-Gel 的质构特性见表 6。

表6 IMP-UDLs-Gel的质构特性($\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Texture characteristics of IMP-UDLs-Gel ($\bar{x} \pm s$)

制剂	胶凝强度,g	硬度,g	黏度,g·s	黏附力,g	黏附功,g·s
空白UDLs-Gel	19.30 ± 0.28	11.44 ± 0.18	36.75 ± 1.31	3.28 ± 0.11	89.51 ± 3.03
IMP-UDLs-Gel	9.65 ± 0.46	3.92 ± 0.05	45.37 ± 1.27	2.34 ± 0.03	197.35 ± 10.88

2.5.6 稳定性试验 (1)离心稳定性。取“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 于EP管中,平行3份,以 3 000 r/min 离心 30 min,观察其分层情况。(2)光稳定性。取适量“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 密封于透明西林瓶中,于 4 500 lx、25 ℃条件下放置 0、5、10 d 观察其外观,并测定 IMP 含量。(3)温度稳定性。取“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel 于西林瓶中,遮光密封,分别于 4、25、60 ℃下放置 0、5、10 d 后观察其外观,并测定 IMP 含量。结果,3 批样品均无分层现象,具有良好的物理稳定性;光照 10 d 后 IMP-UDLs-Gel 中 IMP 的含量下降不超过 5%;在 4 ℃和 25 ℃条件下放置不同时间后,IMP-UDLs-Gel 中 IMP 的含量下降均未超过 5%;在 60 ℃条件下放置不同时间后,IMP-UDLs-Gel 颜色逐渐由乳白色变为黄色,IMP 含量下降超过 5%。由此可知,IMP-UDLs-Gel 具有良好物理稳定性和光稳定性,详见表 7。

表7 IMP-UDLs-Gel稳定性试验结果

Tab 7 Results for stability tests of IMP-UDLs-Gel

检测指标	时间,d	光稳定性		温度稳定性	
		4 500 lx	4 ℃	25 ℃	60 ℃
外观	0	乳白色	乳白色	乳白色	乳白色
	5	乳白色	乳白色	乳白色	淡黄色
	10	乳白色	乳白色	乳白色	黄色
含量,mg/g	0	0.485	0.486	0.475	0.478
	5	0.485	0.486	0.479	0.337
	10	0.475	0.487	0.477	0.206

2.5.7 IMP-UDLs-Gel 的透皮性能考察 取适量“2.4.3”项下制备的IMP-UDLs-Gel,进行离体皮肤透过试验。平行 3 份操作。以 Q_t 为纵坐标、时间(t)为横坐标绘制 Q_t-t 曲线,并进行拟合,拟合方程的斜率为稳态流量,截距为滞后时间。然后根据公式[表观渗透系数=稳态流量/ C_0 , C_0 为 IMP 在 IMP-UDLs-Gel 中的含量($\mu\text{g/g}$)]计算表观渗透系数。结果,IMP-UDLs-Gel 的 Q_{12h} 为 (11.632 ± 0.271) $\mu\text{g/cm}^2$,拟合方程为 $y=0.727x+3.168$,稳态流量为 (0.727 ± 0.002) $\mu\text{g}\cdot\text{h/cm}^2$,滞后时间为 (4.358 ± 0.175) h,表观渗透系数为 1.392×10^{-3} cm/h,表明IMP-UDLs-Gel 的透皮性能良好。IMP-UDLs-Gel 的 Q_t-t 曲线见图 8。

3 讨论

IMP 是水不溶性药物,在肠胃中不易吸收且易代

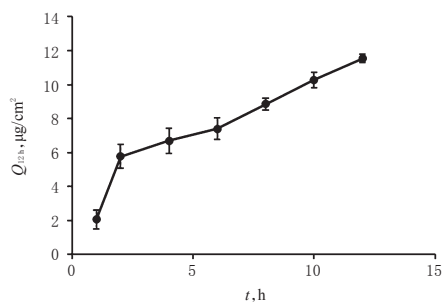


图8 IMP-UDLs-Gel的 Q_n-t 曲线($n=3$)

Fig 8 Q_n-t curves of IMP-UDLs-Gel($n=3$)

谢,生物利用度很低,因此考虑将其制成经皮给药制剂,但限于其不易透过角质层,故直接经皮给药也不易吸收。脂质体制剂具有较好的生物相容性,更容易透过皮肤角质层。基于此,本课题拟将药物包裹在类脂结构载体中,再将其制成凝胶,弥补单一制剂方法的不足,并对所得IMP-UDLs-Gel的质量及透皮特性进行研究。

凝胶基质、保湿剂及促渗剂的含量对凝胶的透皮性能均有影响。由单因素试验和正交试验可知,IMP-UDLs-Gel的最优处方为卡波姆940比例1%、甘油比例15%、丙二醇比例10%。验证试验所制得的IMP-UDLs-Gel的 Q_{12h} 为 $(11.543 \pm 0.241) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。质量评价结果显示,其外观为乳白色、半透明状,粒径为 $(93.13 \pm 1.68) \text{nm}$,PDI为 0.268 ± 0.012 ,Zeta电位为 $(-24.96 \pm 1.99) \text{mV}$,pH为 7.32 ± 0.03 (接近于人体皮肤的pH),且其黏附性较好。稳定性试验结果表明,IMP-UDLs-Gel在常温或低温状态下稳定性较好,而温度较高时会加快药物降解,降低药物含量。透皮性能考察结果表明,IMP-UDLs-Gel具有良好的透皮性。

综上,本研究成功优化处方并制备了IMP-UDLs-Gel;该制剂具有良好的黏附性、稳定性和透皮性,可为后续IMP-UDLs-Gel的开发应用提供参考。

参考文献

[1] CEVC G, ANDREAS SCHATZLEIN, BLUME G. Transdermal drug carriers: basic properties, optimization and transfer efficiency in the case of epicutaneously applied peptides[J]. *J Control Release*, 1995. DOI: 10.1016/0168-3659(95)00056-E.

[2] LI R, DENG L, CAI Z, et al. Liposomes coated with thiolated chitosan as drug carriers of curcumin[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.05.136.

[3] CAO D, ZHANG X, AKABAR MD, et al. Liposomal doxorubicin loaded PLGA-PEG-PLGA based thermogel for sustained local drug delivery for the treatment of breast cancer[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 181-191.

[4] SONG J, YUN ME, PARK SN. Surfactant-stable and pH-sensitive liposomes coated with N-succinyl-chitosan and chitoooligosaccharide for delivery of quercetin[J]. *Carbohydr Polym*, 2018. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.098.

[5] 伍冠一,陈佳妤,徐小丽,等.欧前胡素的中药源与药理作用研究进展[J]. *中医药导报*, 2017, 23(20): 54-56.

[6] ADEBAJO AC, LWALEWA EO, OBUOTOR EM. Pharmacological properties of the extract and some isolated compounds of *Clausena lansium* stem bark: anti-trichomonal, antidiabetic, anti-inflammatory, hepatoprotective and antioxidant effects[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(1): 10-19.

[7] 王梦月,贾敏如,马逾英,等.白芷中四种线型呋喃香豆素类成分药理作用研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(3): 485-489.

[8] ROSSELLI S, MAGGIO A, BELLONE G, et al. Antibacterial and anticoagulant activities of coumarins isolated from the flowers of *magyaristomentosa*[J]. *Planta Med*, 2007, 73(2): 116-120.

[9] LUSZCZKI JI, GLOWNIAK K, CZUCZWAR SJ. Time-course and dose-response relationships of imperatorin in the mouse maximal electroshock seizure threshold model [J]. *Neurosci Res*, 2007, 59(1): 18-22.

[10] KIM YK, KIM YS, RYU SY. Antiproliferative effect of furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica* on cultured human tumor cell lines[J]. *Phytother Res*, 2007, 21(3): 288-290.

[11] ZHANG Y, CAO Y, ZHAN Y, et al. Furanocoumarins-imperatorin inhibits myocardial hypertrophy both in vitro and in vivo[J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(8): 1188-1195.

[12] ZHAO G, PENG C, DU W. Simultaneous determination of imperatorin and its metabolites in vitro and in vivo by a GC-MS method: application to a bioavailability and protein binding ability study in rat plasma[J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(7): 947-956.

[13] LIN H, XIE Q, HUANG X, et al. Increased skin permeation efficiency of imperatorin via charged ultradeformable lipid vesicles for transdermal delivery[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018. DOI: 10.2147/IJN.S150086.

[14] 郭咸希. 博来霉素脂质体凝胶的制备和体外透皮性比较[J]. *中国药师*, 2009, 12(12): 1720-1722.

[15] 朱红梅,刘涛,何秋蓉,等.中药经皮凝胶的研究进展[J]. *中成药*, 2018, 40(8): 1811-1814.

[16] LU K, XIE S, HAN S, et al. Preparation of a nano emodin transfersome and study on its anti-obesity mechanism in adipose tissue of diet-induced obese rats [J]. *J Transl Med*, 2014. DOI: 10.1186/1479-5876-12-72.

[17] 唐建兰,刘承伟,王丹丹,等.金黄凝胶制剂成型工艺研究[J]. *中草药*, 2015, 46(2): 207-210.

[18] 陈积,赵小倩,马彦巧,等.复方莪术油脂质体凝胶的制备及体外透皮作用[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(7): 830-838.

[19] 刘玮琳,孔有余,许贤康,等.脂质体水凝胶结构变化与形成机理[J]. *食品科学*, 2019, 40(20): 81-86.

(收稿日期:2019-11-24 修回日期:2020-03-13)

(编辑:唐晓莲)