

纳洛酮醇质体凝胶复合物的经皮渗透研究

蒋鸿雁¹,徐翔¹,许东航^{1*},胡宗权^{1,2},洪航^{1,2} (1. 浙江大学医学院附属第二医院,杭州 310009; 2. 浙江中医药大学,杭州 310053)

摘要:目的 设计纳洛酮醇质体凝胶复合物,考察不同浓度的羟丙甲纤维素 (HPMC)以及纳洛酮醇质体凝胶复合物与化学促渗剂联合应用对体外透皮速率的影响。方法 采用注入法制备醇质体,HPMC制备凝胶,以SD雄性大鼠皮肤为媒介,改良Franz单室扩散池为体外模型,用HPLC法测定透过皮肤的纳洛酮含量。求算稳态透皮速率和皮肤中的滞留量。结果 纳洛酮为 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,HPMC作为纳洛酮醇质体基质时经皮渗透速率为 $1\% \text{ HPMC} > 3\% \text{ HPMC} > 5\% \text{ HPMC} > \text{醇质体} > 10\% \text{ HPMC}$ 。二甲基亚砜的促渗效果最好,且随二甲基亚砜浓度增加,稳态渗透速率增加。结论 适当浓度的HPMC作为纳洛酮醇质体的基质时,能提高纳洛酮醇的透皮速率,增加药物在皮肤中的滞留量,醇质体凝胶复合物有望开发为纳洛酮经皮给药的新剂型。

关键词:纳洛酮;经皮给药;醇质体;凝胶;促渗剂

中图分类号:R943.43 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)05-0418-04

Study on Percutaneous Permeation of Naloxone Ethosomes Gel Complex

JIANG Hong-yan¹, XU Xiang¹, XU Dong-hang^{1*}, HU Zong-quan^{1,2}, HONG Hang^{1,2} (1. The Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of HPMC on the penetration rate of Naloxone and the synergistic effect of naloxone ethosome gel complex and the chemical enhancers on enhancement of naloxone permeation. **METHODS** Naloxone ethosomes gel complex was prepared by injection method and admixed with HPMC gel. With the skin of SD male rats, the penetration experiments in vitro were performed on modified Franz diffusion cells. The amount of penetrated naloxone was determined by HPLC. The steady penetration rate were calculated. **RESULTS** Keeping the concentrations of naloxone constantly $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, the penetration rate shows $1\% \text{ HPMC} > 3\% \text{ HPMC} > 5\% \text{ HPMC} > \text{ethosome} > 10\% \text{ HPMC}$. 9% DMSO Pretreated in ethosomal form dramatically enhanced the skin permeation of naloxone in vitro compared with ethosomes [$(61.12 \pm 6.16)\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ vs $(33.62 \pm 2.82)\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$]. **CONCLUSION** Ethosome gel complex could be developed as the new dosage form in naloxone transdermal delivery. Ethosome gel complex is effective for transdermal delivery. Ethosome gel complex and the chemical enhancer show a synergistic effect on naloxone percutaneous permeation.

KEY WORDS: naloxone; transdermal; ethosomes; gel; penetration enhancers

纳洛酮 (naloxone)是阿片受体的特异性拮抗剂,对四种阿片受体亚型 (μ 受体、 δ 受体、 κ 受体、 σ 受体)均有拮抗作用,它与吗啡受体的亲和力比吗啡或 β -内啡肽大,能竞争性阻止并取代吗啡样物质的作用,主要用于吗啡类镇痛药药物

作者简介:蒋鸿雁,男,药师 * 通讯作者:许东航,男,副主任药师,硕士生导师 Tel: (0571) 87783891 E-mail: xudonghang@zju.edu.cn

急性中毒,解除呼吸抑制和中枢抑制症状^[1]。由于其首效应显著,无法达到有效的治疗剂量,口服给药差,目前主要采用肌内或静脉注射的给药方式。纳洛酮半衰期短,作用持续时间仅 45~90 min,因此需重复给药,而重复给药会给病人带来疼痛和感染的危险,临床使用不便。透皮给药是药剂学中的一个新兴领域,可避免肝脏的首效应及胃肠道的首过作用,维持稳定持久的血药浓度,降低药物毒性和不良反应,减少给药次数,提高疗效,改善病人的耐受性和提高用药的安全性。纳洛酮经皮给药研究也受到越来越多的关注^[2-4]。

我们前期研究发现将纳洛酮制备成醇质体制剂能提高纳洛酮经皮给药时的渗透速率和药物在皮肤中的滞留量^[2-3]。醇质体是指含高浓度的醇(20%~50%)的一种多层囊泡结构的脂质体类似物,其双分子层流动性较高,易于变形,可穿透皮肤屏障。醇质体能促进药物穿透皮肤,增加药物在皮肤中的蓄积,已成为经皮给药研究的热点^[2-3]。

但醇质体为液体制剂,存在着给药不方便、制剂制备困难等缺点。我们尝试制备新的纳洛酮经皮给药制剂。有文献报道凝胶作为给药基质,有促进透皮速率和在皮肤中的滞留量的作用^[5-7]。本实验研究的目的是在醇质体的基础上以不同浓度的羟丙甲纤维素(HPMC)为基质,制备成半固体状态的纳洛酮醇质体凝胶复合物,并联合化学促渗剂,考察其经皮渗透速率,希望借此为纳洛酮经皮给药开辟新途径。

1 仪器和试剂

高效液相色谱仪(LC-10AT vp型输液泵,SPD-10A vp型可变波长紫外监测器,日本津岛公司生产),N-2000双通道色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所),HT-230A保温箱;Dikma Dimond C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),85-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂),TK-12B型 Franz单室扩散池,(S=2.8 cm²,V=7 mL,上海诸凯贸易有限公司);纳洛酮(Sigma-Aldrich公司),磷脂酰胆碱(北京华清美恒天然产物技术开发有限公司),HPMC(Sigma公司),乙醇为分析纯,甲醇、乙腈为色谱纯。水为超纯水,其他均为分析纯。

2 实验方法

2.1 制备离体皮肤

取重约 150 g 的雄性 SD 大鼠(浙江中医药大学提供),断颈处死,剪去腹部皮肤毛,剪取皮肤,剥离皮下脂肪组织,冰箱-20℃冷藏备用。

2.2 醇质体的制备

大豆磷脂 300 mg,加乙醇 3 g 溶解,置于磁力搅拌器上,在搅拌下缓慢细流注入纳洛酮水溶液适量,使药物含量为 2 mg·mL⁻¹,过 0.22 μm 微孔滤膜即得。

2.3 醇质体凝胶剂的制备

称取处方量的 HPMC,加适量的蒸馏水溶胀 1 h,与“2.2”制备的醇质体充分混合,加适量蒸馏水配制成含 HPMC 为 1%,3%,5%,10%的醇质体凝胶。

2.4 纳洛酮 HPLC 测定条件^[2-3]

色谱柱:Dikma C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:

0.1 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 4.0)-甲醇-乙腈(75:15:10);检测波长:240 nm;流速 1.0 mL·min⁻¹;柱温 35℃;进样量 20 μL。在此条件下,辅料和皮肤不影响本品测定。

2.5 纳洛酮经皮给药方法

将皮肤固定在改良的 Franz 单室扩散池上,真皮层面向接受室,控制水浴温度为 37℃,以 pH 7.4 磷酸缓冲液为接受介质,在供应室上加入约 2 g 制备的样品,密封保持给药环境稳定,间隔 1 h 取样直到稳态,过 0.22 μm 滤膜,按“2.4”项下方法测定药物含量。根据标准曲线,接受室体积和有效扩散面积,求得稳态透皮速率和累积渗透量。

2.6 皮肤中纳洛酮浓度测定

达稳态后,用水擦去皮肤表面药物,剪碎后置于具塞试管中,加流动相 3 mL,37℃下恒温振荡提取过夜,离心取上清液过 0.22 μm 滤膜,按“2.4”HPLC 方法测定药物含量。

2.7 纳洛酮凝胶制剂联合促渗剂的应用

选择合适浓度 HPMC 为基质的纳洛酮凝胶制剂与适当浓度的二甲基甲酰胺、丙二醇、二甲亚砜、氮酮联合促渗剂(氮酮+丙二醇)等给药前均匀混合。按“2.5”体外给药,分别求得纳洛酮凝胶制剂联合促渗剂的渗透速率和皮肤滞留量。

3 结果

3.1 纳洛酮醇质体凝胶剂体外经皮渗透

控制药物浓度为 2 mg·mL⁻¹,分别选择 HPMC 含量为 1%,3%,5%,10%制备含醇量 30%的醇质体凝胶复合物,其稳态透皮释药速率和皮肤滞留量见表 1。

表 1 HPMC 浓度对纳洛酮醇质体透皮速率的影响
Tab 1 Effect of HPMC concentration on the transdermal flux of naloxone ethosomes

处方	透皮速率 / μg·h ⁻¹ ·cm ⁻²	皮肤滞留量 / μg·cm ⁻²
A	33.62 ± 2.82	89.63 ± 17.95
A + 1% HPMC	50.32 ± 10.41	104.41 ± 8.45
A + 3% HPMC	43.23 ± 11.32	127.42 ± 1.98
A + 5% HPMC	41.36 ± 17.07	112.69 ± 4.20
A + 10% HPMC	17.10 ± 2.20	132.75 ± 19.93

注: A 为含醇量为 30%的纳洛酮醇质体

Note: A is naloxone ethosomes which contained 30% ethanol

从表 1 可发现,低浓度的 HPMC 与含醇量 30%的纳洛酮醇质体制备而成的复合物透皮效果较单纯的醇质体要好,随着 HPMC 含量的增加透皮速率有下降的趋势;当 HPMC 含量为 10%时,复合物中纳洛酮的透皮速率则要小于单纯纳洛酮醇质体的透皮速率。纳洛酮醇质体凝胶复合物与纳洛酮醇质体制剂相比,纳洛酮醇质体凝胶复合物增加了在皮肤中的滞留量。但药物在皮肤的滞留量与 HPMC 的浓度未见线性关系。

3.2 促渗剂和醇质体凝胶的协同作用

3.2.1 促渗剂的初步考察 参考制剂的外观形态,最后选择 3% HPMC 的醇质体凝胶复合物。并以此为对照,经 1%的二甲基甲酰胺、丙二醇、二甲亚砜、月桂氮草酮(氮酮)、联合促渗剂(氮酮+丙二醇)处理后稳态速率分别为(41.53 ±

5.52), (40.66 ± 6.09), (49.33 ± 7.00), (45.86 ± 6.44), (44.21 ± 4.28) $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 对照组为 (40.63 ± 2.52) $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。说明经二甲基甲酰胺、丙二醇处理的实验组纳洛酮的透皮速率没有明显改变,而经二甲基亚砷、氮酮、氮酮+丙二醇处理的实验组与对照组相比,纳洛酮的透皮速率都有所提高,其中以二甲基亚砷的促渗效果为最好,因此选择二甲基亚砷作为醇质体凝胶的促渗剂。

3.2.2 考察不同浓度二甲基亚砷对透皮速率的影响 纳洛酮浓度为 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, HPMC 为 3%, 选择 1%, 3%, 5% 和 9% 的二甲基亚砷 (DMSO) 作为含醇量为 30% 的醇质体的促渗剂,其稳态透皮速率和药物在皮肤的滞留量见表 2。

表 2 不同浓度二甲基亚砷对纳洛酮醇质体凝胶复合物透皮速率的影响

Tab 2 Effect of DMSO concentration on the transdermal flux of naloxone ethosomes gel complex

处方	透皮速率 $/\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$	增强率 (ER)	皮肤滞留量 $/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
A	33.62 ± 2.82	----	89.63 ± 17.95
B	40.63 ± 2.52	1.21	112.69 ± 0.54
B + 1% DMSO	44.84 ± 3.39	1.33	118.73 ± 2.68
B + 3% DMSO	48.05 ± 5.76	1.43	101.47 ± 1.65
B + 5% DMSO	49.10 ± 3.08	1.46	118.19 ± 19.22
B + 9% DMSO	61.12 ± 6.16	1.82	127.67 ± 13.83

注: A 为含醇量为 30% 的纳洛酮醇质体, B 为 A + 3% HPMC
Note: A is naloxone ethosomes which contained 30% ethanol; B is A + 3% HPMC

从表 2 可以发现,控制 HPMC 含量为 3%, 药物的透皮速率随着 DMSO 浓度的递增逐渐增大。A 组与 B 组相比, B 组中药物透过皮肤的速率是 A 组的 1.2 倍,当在纳洛酮醇质体凝胶复合物联合含量为 1%, 3%, 5%, 9% 的 DMSO, 纳洛酮的透皮速率分别提高到 A 组的 1.33, 1.43, 1.46, 1.82 倍,说明含纳洛酮醇质体凝胶复合物与 DMSO 联合应用,能有效的提高纳洛酮的透皮速率。

4 讨论

介于经皮给药的各种独特优点,经皮给药制剂的研发在药剂学领域中越来越受到关注,经皮给药新载体如脂质体、醇质体、传递体以及非离子活性囊泡等的研究在不断的深入^[8-9]。经 Touitou 等^[10-11]证实醇质体为多层囊泡结构后,醇质体被广泛的应用于透皮给药的载体,并显示了良好的透皮特性。我们在纳洛酮醇质体的经皮渗透实验中也发现将纳洛酮制备成醇质体后能有效的增加药物透过皮肤的速率和在皮肤中的滞留量^[2-3]。

有文献报道^[3],凝胶作为透皮给药基质时具有药物容量高,透皮性、保湿性好,贴着舒适,不污染衣物等优点。刘晓昱等^[5]将炔雌醇制备成醇质体凝胶制剂,发现药物的透皮速率是其水溶液的 9.97 倍,是体积分数为 30% 乙醇溶液的 1.69 倍,是凝胶制剂 (含醇量 30%) 的 1.45 倍,药物在皮肤中的滞留量也有显著增加。

我们的研究也证实了醇质体凝胶显示了良好的促渗效

果,其 HPMC 浓度为 1%, 3% 和 5% 的醇质体凝胶渗透速率分别是醇质体的 1.50, 1.29 和 1.23 倍。随着 HPMC 浓度进一步增加,渗透速率低于醇质体。此结果和宁玉明等^[7]得到的结果相似。我们认为低浓度的 HPMC 凝胶液有良好的透过性,而处于高度容胀的 HPMC 有较大的平均孔径,有利于分子通过,因此提高了纳洛酮透过皮肤的速率。而当凝胶浓度提高,药物的渗透速率成下降趋势,这可能随着凝胶浓度的提高凝胶交联度增大,使凝胶骨架空隙反而变小,不利于分子通过,降低了药物的扩散速率。

在进一步通过皮肤渗透速率筛选了联合促渗剂,发现二甲基亚砷显示了良好的促渗效果。这可能是由于二甲基亚砷能改变皮肤中的细胞间桥粒联结和双层磷脂结构,使药物更容易透过皮肤角质层。随着二甲基亚砷用量的提高,渗透速率逐渐增加,9% 浓度的二甲基亚砷联合醇质体凝胶的渗透速率为醇质体凝胶的 1.82 倍。这可能是由于随着 DMSO 浓度的增加使皮肤中的细胞间桥粒联结和双层磷脂结构被改变的时间变久,保持药物透皮速率在一个较大的值,从而达到有效的药物浓度。

本实验表明纳洛酮醇质体凝胶复合物和促渗剂联合应用能有效提高药物透过皮肤的速率和在皮肤中的滞留量,其透皮速率比纳洛酮醇质体提高了 1.82 倍。3% HPMC 的醇质体凝胶制剂为半固体状态,与醇质体的液体状态相比,更容易制备成贴剂等剂型,醇质体凝胶复合物在提高透皮速率的同时更丰富了给药方式,有望开发为纳洛酮经皮给药的新制剂。

REFERENCES

[1] The Pharmacopoeia Committee. Clinical Guide to the Chinese Pharmacopoeia (2005 Vol II)(中国药典临床用药须知) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005.
[2] FENG X, XU D H, XU X, *et al.* Study on percutaneous permeation of naloxone ethosomes[J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2008, 25(1): 65-67.
[3] XU D H, ZHANG Q, FENG X, *et al.* Synergistic effects of ethosomes and chemical enhancers on enhancement of naloxone through human skin[J]. Pharmazie, 2007, 62(4): 316-318.
[4] PANCHAGNULA R, SALVE P S, THOMAS N S, *et al.* Transdermal delivery of naloxone: effect of water, propylene glycol, ethanol and their binary combinations on permeation through rat skin[J]. Int J Pharm, 2001, 219(1-2): 95-105.
[5] LIU X Y, RAO Y F, LIANG W Q. Study on Transdermal Penetration of Ethinyl Estradiol Ethosome Gel[J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2006, 41(4): 284-286.
[6] XU M, LIANG W Q. Penetration kinetics of α -asaronum gel patch in skin of rat[J]. Chin J Clin Pharm (中国临床药杂志), 2006, 15(5): 318-320.
[7] NING Y M, LIANG W Q. Transdermal penetration of anem on in gels and its anti-inflammation test in mice[J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2006, 25(11): 1121-1123.
[8] LUO S Q, LIU X Y, LIANG W Q, *et al.* The progress of vectors in transdermal[J]. J Pharm Pract (药学实践杂志), 2006, 24

(5) : 257-260.

- [9] LONG X Y, YI J. The progress of new liposome used in transdermal[J]. World Pharmacy(国外医药:合成药、生化药,制剂分册), 2002, 23(6) : 363.
- [10] TOUITON E, GODIN B, WEISIS C. Enhanced delivery of drugs into and across the skin by ethosomal carriers[J]. Drug Dev

Res, 2000, 50(3-4) : 406-415.

- [11] GODIN B, TOUITOU E. Mechanism of bacitracin permeation enhancement through the skin and cellular membranes from an ethosomal carrier[J]. J Controlled Release, 2004, 94(2-3) : 365-379.

收稿日期: 2008-02-03