

硝苯地平微乳凝胶的制备及其质量评价

杜艳¹, 杜丽², 谢茵¹, 张菁¹(1.山西医科大学药学院, 太原 030001; 2.山西省肿瘤医院, 太原 030009)

摘要: 目的 将硝苯地平制备成微乳凝胶, 以提高其生物利用度。方法 进行凝胶基质以及透皮吸收促进剂的筛选, 确定硝苯地平微乳凝胶的最佳处方, 并进行初步质量评价。结果 硝苯地平微乳的处方为乳化剂 OP: 无水乙醇: 油酸乙酯: 水=27: 13.5: 4.5: 55; 硝苯地平微乳凝胶的处方为 1.2%卡波姆 940, 2.5%氮酮。所制得的硝苯地平微乳平均粒径为 9.963 nm, 大小均匀; 硝苯地平微乳凝胶 24 h 的累积渗透量(Q_{24h})达到 $(296.35 \pm 34.66) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 稳态透皮速率为 $(14.20 \pm 0.23) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$; 经高速离心、低温、高温试验考察, 硝苯地平微乳凝胶稳定性良好; 经小鼠皮肤刺激性试验考察, 硝苯地平微乳凝胶对皮肤刺激性和毒性较小。结论 将硝苯地平制成微乳凝胶, 药物的溶解度提高, 制剂质量优良。**关键词:** 硝苯地平; 微乳凝胶; 制备工艺; 质量评价

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2021)11-1327-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.11.008

引用本文: 杜艳, 杜丽, 谢茵, 等. 硝苯地平微乳凝胶的制备及其质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1327-1331.

Preparation and Quality Evaluation of Nifedipine Microemulsion Gels

DU Yan¹, DU Li², XIE Yin¹, ZHANG Jing¹(1.School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2.Shanxi Provincial Cancer Hospital, Taiyuan 030009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare nifedipine microemulsion gels to increase the bioavailability. **METHODS** Gelling agents and penetration enhancers were screened to determine the best prescription of nifedipine microemulsion and evaluate the quality preliminary. **RESULTS** The prescription of nifedipine microemulsion consisted of emulsifier OP: anhydrous ethanol: ethyl oleate: water with the weight ratio of 27: 13.5: 4.5: 55. Prescription of nifedipine microemulsion gels consisted of carbomer 940(1.2%) and azone(2.5%). The average diameter of nifedipine microemulsion was 9.963 nm with uniform size. Nifedipine microemulsion gels showed highest cumulative amount(Q_{24h}) of $(296.35 \pm 34.66) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ and steady penetration rate of $(14.20 \pm 0.23) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. It showed good stability after high speed centrifuging, low temperature and high temperature test. After mouse skin irritation test, nifedipine microemulsion gels had less skin irritation and toxicity. **CONCLUSION** Nifedipine is made in to microemulsion gel, the solubility is increased and the quality of the preparation is excellent.

KEYWORDS: nifedipine; microemulsion gels; preparation technology; quality evaluation

硝苯地平(nifedipine, NF)为二氢吡啶类钙离子拮抗剂, 临床应用于抗高血压和心绞痛^[1-2]。然而 NF 溶解度低、生物利用度低的缺点限制了其使用, 因此本实验拟将 NF 制备成微乳凝胶以提高其溶解度。

微乳凝胶剂具有微乳与凝胶的双重优点, 是一种新型经皮给药系统^[3]。与传统剂型相比, 该剂型能够增加药物稳定性, 促进药物吸收, 提高药物生物利用度, 缓慢释放药物, 防止药物流失, 减少药物首过效应^[4]。本实验将 NF 制备成微乳凝胶, 通过基质和透皮促进剂的筛选, 确定制剂的处方, 并进行质量评价。制备成 NF 微乳凝胶后, 在一定程度上增加了 NF 的溶解度, 并提高其生物利用度, 所得产品质量优良、稳定性良好、对皮肤刺激性小。

1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); CP21 电子天平(奥豪斯仪器有限公司); SC-2554 型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); YB-P6 智能透皮试验仪(天津药典标准仪器厂); ZEN3690 粒度仪(英国马尔文仪器有限公司); C-MAG HS7 IKAMAG®数显加热磁力搅拌器(德国 IKA); NDJ-5S 数显黏度计(上海衡平一起仪表厂); DDS-307 电导率仪(成都世纪方舟科技有限公司); 2WA-J 阿贝折射仪(上海精密仪器仪表有限公司)。

NF 原料药(亚宝药业有限公司, 批号: 20160508; 纯度: 99%); 卵磷脂(食品级, 批号: 20171126)、卡波姆 940(食品级, 批号: 20171206)均购自河南万邦实业有限公司); 泊洛沙姆 188(食品级, 批号: 20170527)、羟丙基纤维素(食品级,

作者简介: 杜艳, 女, 博士, 副教授

Tel: 13753150381

E-mail: dulinhui-2004@163.com

批号: RH107023)均购自武汉胜天宇生物科技有限公司; 乳化剂 OP(天津市登峰化学试剂厂, 批号: 20170308); 氮酮(批号: 20170409)、香叶醇(批号: RH100363)、薄荷脑(批号: BD287343)、橙花叔醇(批号: H1513020)均购自北京百灵威试剂有限公司。

2 动物

小鼠(昆明属, SPF 级), 9 只, ♂, 体质量(20±2)g, 年龄为 8 周左右, 购自山西医科大学实验动物中心, 动物生产许可证号: SCXK(晋)2020-0003; 动物使用许可证号: SYXK(晋)2019-0001。豚鼠, 30 只, ♂, 体质量(250±10)g, 来源于山西医科大学实验动物中心, 动物生产许可证号: SCXK(晋)2020-0015; 动物使用许可证号: SYXK(晋)2020-0003。

3 方法与结果

3.1 NF 含量测定方法的建立

3.1.1 色谱条件与系统适用性 色谱柱为 Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(60 : 40); 检测波长为 237 nm; 流速为 0.8 mL·min⁻¹; 柱温为 30 °C; 进样量 20 μL。在上述条件下, NF 的理论板数≥5 000, 且空白溶剂不干扰药物的测定, 色谱图见图 1。

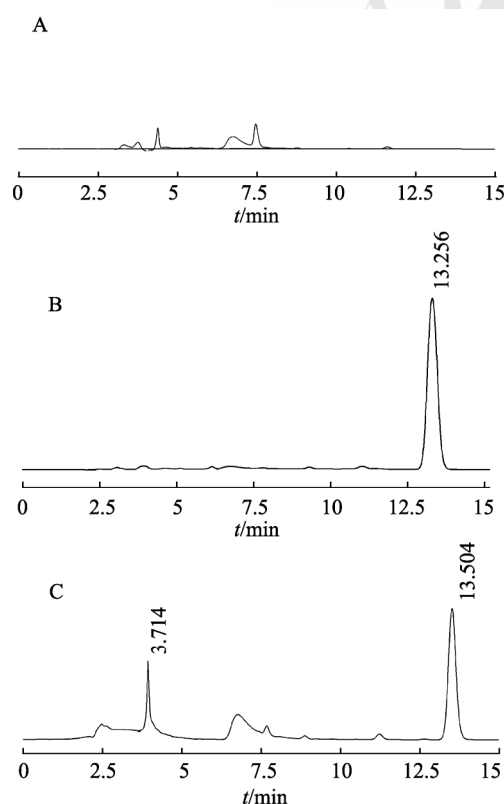


图1 空白(A)、NF 对照品(B)与 NF 样品(C)的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of blank(A), NF reference substance(B) and NF sample(C)

3.1.2 标准曲线 精密称取硝苯地平对照品适量, 加甲醇适量溶解并稀释成 30 μg·mL⁻¹ 的储备液。精密量取 0.5, 1, 3, 4, 5, 8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 混匀, 为系列浓度对照品溶液, 按“3.1.1”项下色谱条件取 20 μL 进样, 以溶液浓度(C)和峰面积(A)进行线性回归, 得标准曲线方程: $A=81\,173C+7\,682.6$, $r=0.999\,5$ 。

3.2 NF 微乳凝胶的制备

3.2.1 NF 微乳的制备 按照文献[5-6]所述处方制备 NF 微乳, 在具塞锥形瓶中加入 27 g 乳化剂 OP、13.5 g 无水乙醇、4.5 g 油酸乙酯, 缓慢滴加 55 g 水的同时, 在 25 °C 环境下, 使用磁力搅拌(300 r·min⁻¹)搅拌 30 min。取适量空白微乳, 加入过量的 NF 原料药, 置磁力搅拌器搅拌 20 min, 取出, 放至室温, 在 4 000 r·min⁻¹ 条件下离心 20 min, 取上清液即得 NF 微乳。

3.2.2 NF 微乳凝胶的制备及处方优化 取泊洛沙姆 188、卡波姆 940、羟丙基纤维素适量, 分别加水适量进行分散, 使其充分溶胀, 得不同浓度的凝胶溶液, 结果见表 1。卡波姆 940 分散于水中, 待完全溶胀后, 加三乙醇胺溶液, 调节 pH 至 6.0。将 NF 微乳分别与 3 种基质混合, 制备微乳凝胶。根据外观性状、细腻性、黏稠度、涂展性, 挑选处方 3, 4, 7, 8, 11, 4 000 r·min⁻¹ 离心 30 min^[7], 观察凝胶性状变化情况, 凝胶配比见表 1。

表1 凝胶处方配比

Tab. 1 Ratio of gel prescription

处方	卡波姆 940/%	泊洛沙姆 188/%	羟丙基纤维素/%	甘油/g	微乳/mL
1	0.5			0.5	10
2	0.8			0.5	10
3	1.0			0.5	10
4	1.2			0.5	10
5		20		0.5	10
6		25		0.5	10
7		30		0.5	10
8		35		0.5	10
9			2	0.5	10
10			4	0.5	10
11			6	0.5	10

以卡波姆 940(处方 1~4)为凝胶基质, 加入含药微乳后可得到理想的凝胶, 但随着卡波姆 940 浓度的增加, 黏度也逐渐增大, 以处方 4 黏度适宜, 浓度为 1.2%; 泊洛沙姆 188(处方 5~8)作为凝胶基质, 黏度整体偏低, 不适合制备微乳凝胶;

羟丙基纤维(处方 9~11)作为凝胶基质,黏度稍低于卡波姆 940,成型性也良好。外观及稳定性试验考察结果显示,处方 4 所制备的 NF 微乳凝胶离心 30 min 后,未分层,性状良好、稳定,结果见表 2。

表 2 微乳凝胶质量考察

Tab. 2 Quality study on microemulsion gel

处方	外观性状	涂展性	黏度/mPa·s	分层情况
4	澄清透明、均匀细腻	中质、慢速铺展	6 300	未分层
8	澄清透明、均匀细腻	轻质、快速铺展	3 000	分层
11	澄清透明、均匀细腻	中质、慢速铺展	5 200	分层

3.2.3 含透皮吸收促进剂凝胶的制备 根据外观性状、稳定性试验结果,选择处方 4,分别将 2.5%氮酮、卵磷脂和萜烯类化合物加入微乳油相中。考察不同促透剂对理化性质和体外渗透性质的影响。

3.3 NF 微乳理化性质考察

对 NF 空白微乳与加入氮酮、卵磷脂、萜烯类化合物的 NF 微乳的理化性质进行考察,比较微乳系统中不同促透剂对其理化性质的影响^[8]。

黏度测定:使用数显黏度计,按中国药典 2020 年版规定方法测定。

电导率测定:恒温水浴 25 °C 测定微乳的电导率。

折光率测定:使用阿贝折光仪,按中国药典 2020 年版规定方法恒温 20 °C 测定微乳的折光率。

粒度和电位测定:在比色杯中加入待测微乳样品,用马尔文粒度仪测定微乳粒径与电位。

所测得的不同种类微乳的粒度、电位、黏度、电导率和折光率值见表 3。

表 3 理化性质考察

Tab. 3 Physical and chemical properties investigation

组别	粒度/dm	电位/mv	黏度/ Pa·s	电导率/ μs·cm ⁻¹	折光率
对照组	198.00±79.59	-8.10±1.06	1 900	147.3	1.393 0
氮酮	9.93±3.32	-1.31±0.50	2 200	104	1.391 8
卵磷脂	33.73±16.67	-12.20±0.45	1 300	423	1.397 8
香叶醇	15.93±0.17	-4.01±1.37	1 000	147.1	1.420 0
橙花叔醇	107.6±54.01	-7.77±1.21	800	142.5	1.410 0
薄荷脑	23.31±11.48	-5.70±1.17	1 400	133.3	1.394 0

结果表明,加入不同促透剂后,各种微乳的粒度不同,对照组的粒度最大,为(198.0±79.59)dm;加入 2.5%氮酮的微乳粒径最小,为(9.93±3.32)dm;此外,不同促透剂的微乳黏度也不相同,氮酮组的黏度最大,为 2 200 Pa·s,橙花叔醇组的黏度最小,为 800 Pa·s;各组的电导率和折光率也不同。

3.4 NF 微乳凝胶体外透皮吸收特征

3.4.1 鼠皮的处理 取♂豚鼠 30 只,分 6 组,麻醉后脱臼处死,用剃须刀除去腹部的鼠毛,取豚鼠腹部皮肤,去除附着在皮肤上的脂肪及黏连物。生理盐水浸泡后保存备用,24 h 内用完。每次试验前检查鼠皮的完整无破损^[7]。

3.4.2 体外透皮吸收试验 采用智能透皮试验仪(V : 16 mL, C : 2.01 cm²),将处理好的动物皮肤固定在扩散池的供给池与接受池之间,皮肤角质层朝上。皮肤上加含药微乳凝胶 1 g,接受液为 50% 甲醇-生理盐水,以 300 r·min⁻¹ 的速度搅拌均匀,设定温度为(37±0.1)°C。分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 从接受池内取样 5 mL,同时补足等量接收液。接受液过 0.45 μm 微孔滤膜后,取续滤液, HPLC 测定 NF 含量,计算单位面积累积经皮渗透量 $Q_m(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$ ^[7]。

$$Q_m = \frac{C_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V_i}{A}$$

式中 C_n 为第 n 个取样点药物浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), V 为接收液体积(16 mL), C_i 为第 i 个取样点药物浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), V_i 为取样体积(5 mL), A 为渗透面积(2.01 cm²)。以单位面积渗透量对 t 作图,所得直线的斜率为稳态透皮速率 $J_s(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$ 。增渗倍数= $Q_{\text{试验组 } 24\text{ h}}/Q_{\text{对照组 } 24\text{ h}}$,试验结果见图 2 和表 4。

结果表明,与对照组相比,2.5%氮酮、橙花叔醇和薄荷脑对 NF 药物的经皮渗透有促进作用($P<0.05$),其中,2.5%氮酮的经皮渗透促进作用最为明显, $Q_{24\text{ h}}$ 达到(296.35±34.66) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,增渗倍数为 4.83。萜烯类透皮吸收促进剂与对照组比较,24 h 的累积渗透量都有所升高,促透顺序为橙花叔醇>薄荷脑>香叶醇,橙花叔醇 $Q_{24\text{ h}}$ 为(233.52±32.41) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,香叶醇 $Q_{24\text{ h}}$ 仅为(128.63±13.77) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。卵磷脂 $Q_{24\text{ h}}$ 为(102.39±31.00) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$,促透效果最差。因此,2.5%氮酮体外透皮渗透性最好,确定 2.5%氮酮为透皮吸收促进剂。

3.5 NF 微乳凝胶的质量评价

3.5.1 外观和形态 该制剂外观淡黄色,兼具有微乳和凝胶的优良特性。

3.5.2 NF 微乳的粒径分布 取 NF 微乳,加水稀释 10 倍后,采用马尔文粒度仪测定硝苯地平微乳粒径,从而确定其是否形成微乳^[9]。NF 微乳平均粒径为 9.963 nm,其中多分散指数为 0.124,表明微乳大小均匀、稳定性良好,结果见图 3。

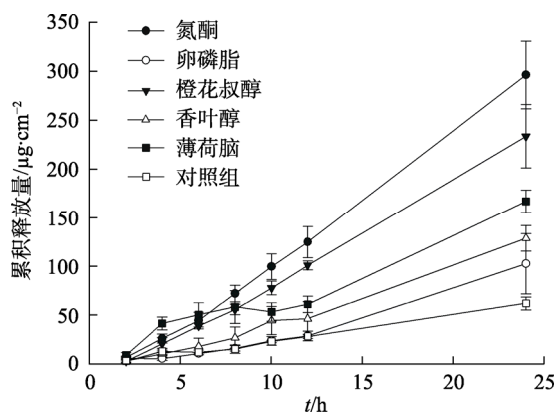


图2 不同促透剂对NF微乳凝胶累积释放影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 2 Effect of different penetrant on the cumulative release of NF microemulsion gel ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

表4 不同促透剂的透皮渗透参数($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab. 4 Percutaneous penetration parameters of different penetrant ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	$Q_{24h}/\mu g \cdot cm^{-2}$	$J_s/\mu g \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$	增渗倍数
对照组	61.27±6.77	2.78±0.73	1.00
2.5%卵磷脂	102.39±31.00	2.51±2.10	3.18
2.5%氮酮	296.35±34.66 ¹⁾	14.20±0.23	4.83
2.5%香叶醇	128.63±13.77	7.247±0.73	2.47
2.5%橙花叔醇	233.52±32.41 ¹⁾	10.84±0.35	3.70
2.5%薄荷脑	166.75±11.58 ¹⁾	8.78±0.12	3.35

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$.

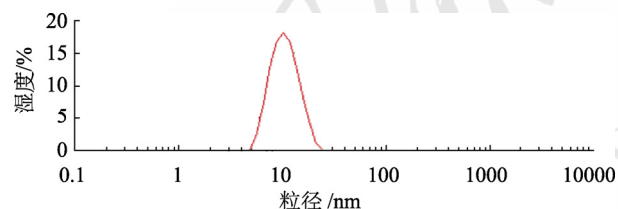


图3 NF微乳的粒径分布

Fig. 3 Particle size distribution of NF microemulsion

3.5.3 NF微乳凝胶的稳定性考察 NF微乳凝胶在 $10\,000\,r \cdot min^{-1}$ 离心 $30\,min$ ^[10]。结果表明, NF微乳凝胶无分层、沉淀等不稳定现象, 涂展性良好; 取NF微乳凝胶适量, 于 $-5\,^{\circ}C$ 冰箱中放置 $24\,h$, 取出后恢复至室温, 进行观察。结果表明, 外观澄清透明, 无分层, 均匀细腻, 涂展性良好; 取NF微乳凝胶适量, 于 $40\,^{\circ}C$ 水浴锅中放置 $24\,h$, 取出后恢复至室温, 进行观察。结果表明, 外观澄清透明, 无分层, 均匀细腻, 涂展性良好。

3.5.4 NF微乳凝胶pH值的测定 利用精密试纸测定最优处方的微乳凝胶, pH为6.5, 符合皮肤局部外用制剂对pH的要求。

3.5.5 病理学研究 9只♂小鼠, 分为对照组、空白对照组(涂抹空白凝胶)和试验组(涂抹NF微乳凝胶)。剃去小鼠腹部毛, 限定试验范围, 涂抹药物 $6\,h$, 观察小鼠皮肤的变化, 将小鼠麻醉后切除用药皮肤, 经4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, HE染色。结果见图4。

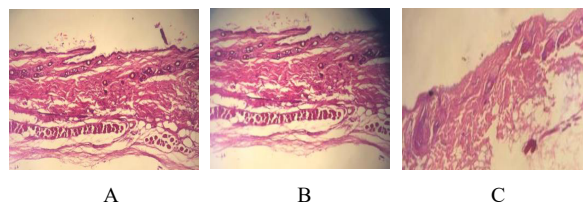


图4 小鼠皮肤病理学研究(HE, 40×, $n=3$)

A-对照组; B-空白对照组; C-试验组。

Fig. 4 Pathology study of skin in mice (HE, 40×, $n=3$)

A-control group; B-black control group; C-test group.

结果表明, 各组小鼠皮肤表层无红肿、红斑。HE染色结果表明, 空白凝胶组与对照组相比, 角质层无变化; 含药微乳凝胶组小鼠皮肤角质层软化, 变化明显, 其真皮层保持不变, 表明含药微乳凝胶对皮肤刺激性和毒性较小。

4 讨论

本研究以不同浓度的卡波姆940、泊洛沙姆、羟丙基纤维素作为基质, 通过外观性状、涂展性、黏度和稳定性考察, 最终以1.2%的卡波姆940作为基质, 制备微乳凝胶。卡波姆940作为凝胶基质, 成形性好, 黏稠度适宜, 与微乳易于混合与分散, 可提高药物疗效。

考察加入不同透皮促进剂后微乳的理化性质的变化, 包括粒径、电位、电导率、黏度、折光率等指标。表明加入不同的促透剂, 各微乳的理化性质均有改变。此外考察了氮酮、卵磷脂和萜烯类化合物等不同透皮促进剂的作用, 氮酮、橙花叔醇和薄荷脑对NF药物的经皮渗透均有促进作用。其中氮酮的促透作用最好, 卵磷脂的促透作用最差。氮酮为本处方理想皮肤透皮促进剂。

NF微乳凝胶与预试验制备的NF乳剂凝胶相比, 同样时间点药物累积渗透量较大, 表明微乳凝胶透皮性能获得较大提高。同时, 试验中考察了豚鼠皮肤的透皮效果, 与预试验的透析袋相比, 相同时间点的皮肤透过率较低。使用动物皮肤进行透皮试验, 尽量取腹部皮肤, 不同动物皮肤厚薄差异大, 因此药物透过率也不同, 因此尽量选择厚薄一致的皮肤进行试验, 以减少个体差异,

同时加大样本量,可以减少试验误差。病理学试验表明,皮肤涂抹微乳凝胶,可使皮肤的角质层得到软化,使药物容易通过。

使用马尔文粒度仪测定 NF 微乳粒径时,因为原溶液浓度大,导致纳米粒的聚集,测得粒径不稳,因此采用稀释后再测定的方法。预实验进行了不同倍数的稀释,然后测定粒径,最终确定的稀释倍数是微乳粒径稳定不变的倍数,因此选择稀释到 10 倍。

NF 为临床治疗高血压的一线药物,但由于其溶解度小,生物利用度低,限制了其应用。本实验将其制备成微乳凝胶,可以增加 NF 的溶解度,提高其生物利用度。NF 的临床剂量为每日 30 mg,因此以片剂为主要剂型。本实验将 NF 作为模型药物,初步探索提高其生物利用度的方法。实验结果表明 Q_{24} 为 $(296.35 \pm 34.66) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,该剂量距离其临床使用剂量还有较大差距,因此本实验仅作为提高 NF 生物利用度的初步探索研究,NF 经皮制剂目前还不能作为临床抗高血压药物剂型使用。

REFERENCES

- [1] 刘敏,温成泉. 硝苯地平在非心血管系统疾病中的应用[J]. 首都医药, 2000(7): 24.
- [2] LUBSEN J, VOKÓ Z, POOLE-WILSON P A, et al. Blood pressure reduction in stable angina by nifedipine was related to stroke and heart failure reduction but not to coronary interventions[J]. J Clin Epidemiol, 2007, 60(7): 720-726.
- [3] YU Y T, ZHU W F, CHEN L H, et al. Preparation of Triptolide microemulsion-based gel and investigation of its *in vitro* percutaneous permeability[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2016, 36(13): 1087-1091.
- [4] CUI Y, ZHANG A W. Study on optimized formulation of ondansetron nasal microemulsion gels and investigation on its release *in vitro*[J]. Anti-Infect Pharm(抗感染药学), 2017, 14(1): 20-25.
- [5] LUO P, LUO L, LIU Y. Preparation and evaluation of nifedipine microemulsion[J]. J Chongqing Univ(重庆大学学报), 2014, 37(5): 83-89.
- [6] LUO L. Preparation and evaluation of nifedipine microemulsion[D]. Chongqing: University of Chongqing, 2013.
- [7] ZHANG H M, CUI B J, QIAN X Y, et al. Preparation of amlodipine besylate emulgels for transdermal administration and its percutaneous permeability *in vitro*[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2016, 25(3): 348-351, 360.
- [8] YAN M, ZHANG Z W, XU F L, et al. Preparation of eugenol microemulsion gel and study on its *in vitro* release characteristics[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(2): 170-174.
- [9] WANG R R, REN G L, WANG R L, et al. Preparation and antimalarial activity of octadecylamine-modified dihydroartemisinin prodrug self-assembled nanoparticles[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2019, 50(10): 1201-1207.
- [10] LU X X, PAN T T, HONG Y Q, et al. Preparation and quality evaluation of tea tree oil microemulsion gel[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46(13): 1892-1900.

收稿日期: 2020-05-27
(本文责编: 陈怡心)