

质含量的检测项目。

本次探索性研究尝试了薄层鉴别、总灰分测定及砷、汞含量测定等项目,涉及小通草真伪鉴别,质量评价及安全性研究,为改进中药小通草质量标准提供了参考及实验依据,为全面控制小通草药材质量提供技术支持。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 附录 48.
- [2] LI N. Study on the ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of the polyphenols from *Helwingia Japonica* [D]. Zhenzhou: Zhenzhou University, 2012.
- [3] LI W J, LI W J, YAO M, et al. Overview of Pharmaceuyical Research on *Helwingia Willd* [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2012, 14(9): 116-118.
- [4] 沈映君, 曾南, 贾敏如, 等. 几种通草及小通草的抗炎、解热利尿作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(11): 687-690.

- [5] 曾南, 沈映君, 贾敏如, 等. 通草及小通草多糖抗氧化作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 46-48.
- [6] LIANG H H, DENG J L. Identification of *Medulia Stachyuri Medulia Helwingiae* and its adulterated goods [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2005, 19(1): 45-46.
- [7] FU J, JING W G, ZHANG J. Research status and analysis of illegal addition in Chinese materia medica preparations [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45(3): 437-441.
- [8] ZHAO L H, YANG Y H, HU Y C. Current situation analysis and countermeasures on contamination of heavy metal in traditional Chinese medicinal materials in China [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2014, 45(9): 1199-1207.
- [9] EFFERTH T, KAINA B. Toxicities by herbal medicines with emphasis to traditional Chinese medicine [J]. Curr Drug Metab, 2011, 12(10): 989-996.
- [10] LIU S H, CHUANG W C, LAM W, et al. Safety Surveillance of Traditional hinese Medicine: Current and Future [J]. Drug Safe, 2015, 38 (2): 117-128.
- [11] SU H, LIAO X, JIANG J Y, et al. Study on improved quality standard for Xiaobai granules [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(3): 308-312.

收稿日期: 2016-02-23

乙醇脂质体对多奈哌齐经皮转运的促进作用

王慧, 张晓红, 张燕, 王文杰, 戴尊孝*(西安市精神卫生中心, 西安 710061)

摘要: 目的 制备多奈哌齐乙醇脂质体, 进一步优化有效药物的经皮转运。方法 采用注入法制备多奈哌齐乙醇脂质体; 通过形态, 粒径分布和包封率对乙醇脂质体进行了初步表征, 运用 Franz 扩散池和共聚焦激光扫描电镜考察乙醇脂质体的经皮转运情况。结果 多奈哌齐乙醇脂质体(乙醇含量 45%)包封率明显高于多奈哌齐脂质体; 多奈哌齐乙醇脂质体透皮量分别为脂质体及乙醇溶液的 3 倍和 1.6 倍。结论 乙醇脂质体可有效携带药物进入皮肤深层。

关键词: 多奈哌齐; 乙醇脂质体; 脂质体; 经皮转运; 共聚焦激光扫描电镜

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2016)11-1413-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.11.014

Synergistic Penetration Enhancement Effect of Ethosomes Prodrug on the Transdermal Delivery of Donepezil

WANG Hui, ZHANG Xiaohong, ZHANG Yan, WANG Wenjie, DAI Zunxiao*(Xi'an Mental Health Center, Xi'an 710061, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare donepezil ethosomes, and further optimize the transdermal delivery of drugs. **METHODS** Infusing method was used to prepare donepezil ethosomes. The systems were characterized for shape, particle size and entrapment efficiency (EE). Franz diffusion cells and confocal laser scanning microscopy were used for the percutaneous absorption studies. **RESULTS** The EE of donepezil ethosomes(ethanol content 45%) were much higher than that of liposome. The percentage of the drug in ethosomes retained by isolated skin were 3 and 1.6 times higher than liposomes and hydroalcoholic solution. **CONCLUSION** Ethosomes may be able to enhance the permeation of donepezil into skin.

KEY WORDS: donepezil; ethosome; liposome; transdermal delivery; confocal laser scanning microscopy

作者简介: 王慧, 女, 硕士生 Tel: 18991144093
(029)63609305 E-mail: xajwzxyjk@163.com

E-mail: yaoxuewanghui@163.com *通信作者: 戴尊孝, 男, 主任医师 Tel:

多奈哌齐^[1]为可逆乙酰胆碱酯酶抑制剂,有改善患者精神状况及保持脑功能活性的作用,常用于阿尔茨海默病治疗。阿尔茨海默病^[2]早期表现为记忆力损伤,随着疾病的不断发展,判断力、注意力及语言能力逐渐缺失,患者在5~10年内死亡。近年来,此病的发病率不断升高,是严重威胁老年人健康及生活质量的主要疾病^[3]。阿尔茨海默病在中老年人群中很常见,而此类患者,通常吞咽困难,口服顺应性差,另外口服多奈哌齐会引起严重胃肠道不良反应^[4]。乙醇脂质体作为一种新型局部用药载体,易于变形穿透皮肤屏障,从而能有效携带药物吸收入血^[5],此外,乙醇脂质体无毒,不产生皮肤刺激性,并具有长时间保持相对恒定的血药浓度、患者用药顺应性好等优点,对于缺乏自主用药的患者是一种较理想的给药系统^[6]。本研究首次制备多奈哌齐乙醇脂质体,并同脂质体、乙醇溶液进行体外透皮性对比研究。

1 仪器与材料

日本岛津高效液相色谱仪系统(日本岛津公司); JEM-1200EX 型透射电镜(日本电子公司); Leica Tcs Sp2 型激光共聚焦显微镜(德国 Leica 公司); RYJ-6A 型药物透皮扩散实验仪(上海分析仪器有限公司); RC-3B 药物溶出仪(天津创新电子仪器厂); TG20M 高速离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司)。

多奈哌齐原料药(重庆桑田药业有限公司,批号:20060711,含量为99.8%);大豆磷脂(PC含量99%,湖北沃德康生物科技有限公司,批号:0807S02);罗丹明 B(美国 Sigama)。

昆明种小鼠,♂,体质量为18~22 g,兰州大学动物实验中心,合格证号:SCXK(甘)14-006。

2 方法与结果

2.1 多奈哌齐乙醇脂质体的制备

据预实验确定药物量、药脂比、乙醇浓度为影响多奈哌齐乙醇脂质体包封率的主要因素,本实验采用注入法制备乙醇脂质体,并选单因素优化处方。称取处方量的多奈哌齐及磷脂溶于乙醇中(4.5 mL),将磷酸缓冲液(PBS, pH 7.4)5.5 mL 缓慢注入,在35 °C下搅拌20 min,室温冷却,过滤,得多奈哌齐乙醇脂质体。采用共聚焦激光扫描电镜观察多奈哌齐乙醇脂质体外观形态,用494 nm 氩激光束进行光激发,检测518 nm 的荧光发射,结果显示,乙醇脂质体为双分子层囊泡结构的球

形及类球形,结果见图1和图2。

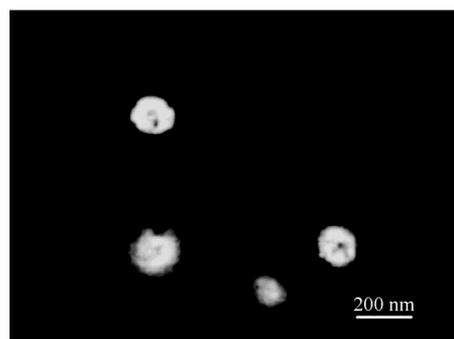


图1 多奈哌齐乙醇脂质体荧光素共聚焦激光扫描图

Fig. 1 Visualization of fluorescein ethosomes by confocal laser scanning microscopy

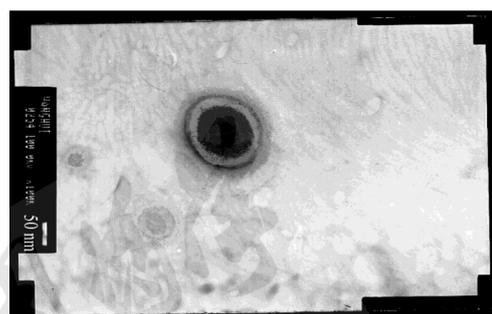


图2 多奈哌齐乙醇脂质体电镜照片(110 000×)

Fig. 2 Electron microgram of donepezil ethosomes (110 000×)

2.2 多奈哌齐脂质体及乙醇溶液的制备

采用超声波分散法制备多奈哌齐脂质体。将多奈哌齐溶于45%乙醇溶液中,制备多奈哌齐45%乙醇溶液。

2.3 多奈哌齐乙醇脂质体单因素考察

2.3.1 药物量对包封率及粒径的影响 本实验固定磷脂3%,乙醇45%,分别制备0.5%,1%,1.5%的乙醇脂质体,研究药物量对包封率的影响。结果显示,当磷脂及乙醇含量一定时,随着药物量的增加,包封率及粒径都逐渐增大,见表1。考虑到粒径越小,包封率越高,乙醇脂质体越易携带药物透过皮肤入血^[8]。故选择药物量为1%时最佳。

表1 不同含量药物对包封率及粒径的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of drugs with different contents on encapsulation efficiency and particle size($n=3, \bar{x} \pm s$)

药物量/%	包封率/%	粒径大小/nm
0.5	79.48±0.32	107±4.2
1.0	82.43±0.71	110±2.1
1.5	86.54±1.63	120±3.6

2.3.2 药脂比对包封率及粒径的影响 本实验固定乙醇 45%，药物量 1%，分别以药脂比为 1:0, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 制备乙醇脂质体，考察药脂比对包封率及粒径的影响。结果表明，包封率和粒径随磷脂浓度的增加而增加，磷脂用量增大，包封率随之增高，粒径增大，包封率越高，粒径越小，乙醇脂质体携带药物透皮吸收越多，且药脂比为 1:3 及 1:4 时包封率无显著性差异，但粒径随磷脂含量增大而增大，故选择药脂比为 1:3 时最佳。结果见表 2。

表 2 不同药脂比对包封率及粒径的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of different drug lipid ratio on encapsulation efficiency and particle size($n=3, \bar{x} \pm s$)

药脂比	包封率/%	粒径大小/nm
1:0	-	-
1:1	52.35±1.19	98±4.1
1:2	63.31±1.56	105±5.2
1:3	81.74±3.22	111±2.1
1:4	82.35±2.11	132±4.3

2.3.3 乙醇浓度对包封率的影响 固定药物量为 1%，磷脂的用量为 3%，用注入法制备 0, 25%, 35%, 45% 的乙醇脂质体，考察乙醇含量对包封率及粒径的影响。结果表明，当乙醇含量为 45% 时，包封率相对较高，粒径较小，因而本实验选乙醇 45%。结果见表 3。

表 3 不同浓度乙醇对包封率及粒径的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of concentration of alcohol on encapsulation efficiency and particle size($n=3, \bar{x} \pm s$)

乙醇浓度	包封率/%	粒径大小/nm
-	60.00±4.15	328±12.7
25%	45.31±2.15	131±17.0
35%	60.13±4.23	128±19.0
45%	81.93±3.16	103±13.0

2.3.4 单因素考察结果 当药物量为 1%、药脂比为 1:3、乙醇浓度为 45% 时制得的乙醇脂质体包封率较高，粒径较小，易于满足临床需要。

2.4 含量测定

2.4.1 测定方法的建立 色谱柱: VP-ODS C_{18} 柱 (5 μm , 4.6 mm \times 150 mm, 日本岛津); 流动相: 甲醇-0.02 mol·L⁻¹ 醋酸铵-三乙胺(30:60:0.1); 检测波长: 270 nm; 进样量: 20 μL 。柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2 标准曲线的制备 精密称取 10 mg 的多奈

哌齐置 100 mL 量瓶中，甲醇定容为 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品。精密量取该对照品，用甲醇稀释成不同浓度溶液(100, 40, 20, 8, 4, 0.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。分别取上述溶液进样分析，记录峰面积，以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归，回归方程为 $A=42\ 159C-36\ 143$, $r=0.999\ 5$, 表明多奈哌齐在 0.8~100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.3 精密度的试验 取 4, 8, 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 低、中、高浓度的多奈哌齐对照品溶液于 1 d 内连续测定，每个质量浓度平行测定 3 次，连续测定 3 d，计算日内及日间精密度。日内平均 RSD 为 1.67%，日间平均 RSD 为 1.84%。表明该方法精密度良好。

2.4.4 回收率试验 精密量取空白乙醇脂质体，置 10 mL 量瓶中，分别加入多奈哌齐(0.8, 20, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)对照品储备液，混匀，HPLC 测定多奈哌齐的含量，计算得平均回收率为 99.73%，RSD 为 1.6%。

2.5 多奈哌齐乙醇脂质体包封率测定

本实验采用微柱离心法测定包封率^[7]。取 Sephadex G-50 葡聚糖凝胶微柱，加入多奈哌齐乙醇脂质体 1 mL, 2 500 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取离心液，洗脱液(pH 7.4 磷酸盐缓冲液)为重复洗脱 3 次，合并洗脱液，无水乙醇破乳并定容，过微孔滤膜，滤液用 HPLC 测定药物的浓度(C)，另取相同体积的多奈哌齐乙醇脂质体，置透析袋中，扎紧透析袋，放入盛有一定量的 45% 乙醇磷酸盐缓冲液中，恒温，搅拌，取透析液，过滤膜，滤液用 HPLC 测定药物的浓度(C_1)，乙醇脂质体的包封率(EE%)为：

$$EE\%=(C-C_1)/C \times 100\%$$

2.6 体外经皮渗透试验^[9]

取小鼠自然饲养 72 h，在实验前剃去背部毛，处死，剥离背部皮肤，生理盐水冲洗，备用。采用 Franz 扩散池，固定小鼠皮肤于给药室，向接受池中加入磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)作为接收液，并保证与小鼠皮肤充分接触。分别取含多奈哌齐乙醇脂质体、脂质体和 45% 乙醇溶液各 0.3 mL，滴于与接受液接触的离体皮肤上，并将接收池置于恒温水浴中(36±2) $^{\circ}\text{C}$ ，以 200 r·min⁻¹ 的速度搅拌。于 0, 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 12, 24 h 取出 0.5 mL 接受液，并及时补充 35 $^{\circ}\text{C}$ 的接受液。将取得的样品以 10 000 r·min⁻¹ 速度离心 5 min, 20 μL 进样测定含量。12 h 后多奈哌齐乙醇脂质体、多奈哌齐脂质体和多奈哌齐 45% 乙醇溶液在离体

皮肤中的渗透率均为恒值。多奈哌齐乙醇脂质体渗透百分数最高(45%)，多奈哌齐脂质体透皮累计渗透百分率最低(15%)，由此可见，乙醇脂质体对多奈哌齐的经皮转运作用最为显著。3种制剂累积透皮药量见图3。

2.7 采用共聚焦激光扫描电镜观察乙醇脂质体在小鼠皮肤分布^[6]

2.7.1 涂药方法 将含有 0.03%罗丹明 B 的 3 种不同制剂(乙醇脂质体、脂质体及 45%乙醇溶液)均匀涂抹于同一只小鼠背部，涂药面积约 1.5cm²，给药后 12 h 处死小鼠，取皮，生理盐水冲洗，载玻片及盖玻片固定涂药皮肤。

2.7.2 共聚焦激光扫描显微镜观测 用 Leica Tcs Sp2 共聚焦激光扫描显微镜(用 494 nm 氩激光束进行光激发，检测 518 nm 的荧光发射)对载玻片及盖玻片固定涂药皮肤进行断层扫描(XYZ 扫描模式、

512×512 格式、物镜 100×(NA 1.4)、激发波长 415 nm、发射波长 537 nm)。结果见图 4，乙醇脂质体可携带药物进入皮肤深层。

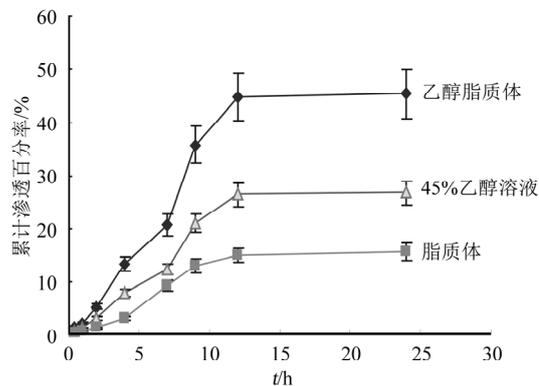


图 3 多奈哌齐离体皮肤累计渗透百分率(n=3)
Fig. 3 Cumulative quantity of donepezil penetrating skin (n=3)

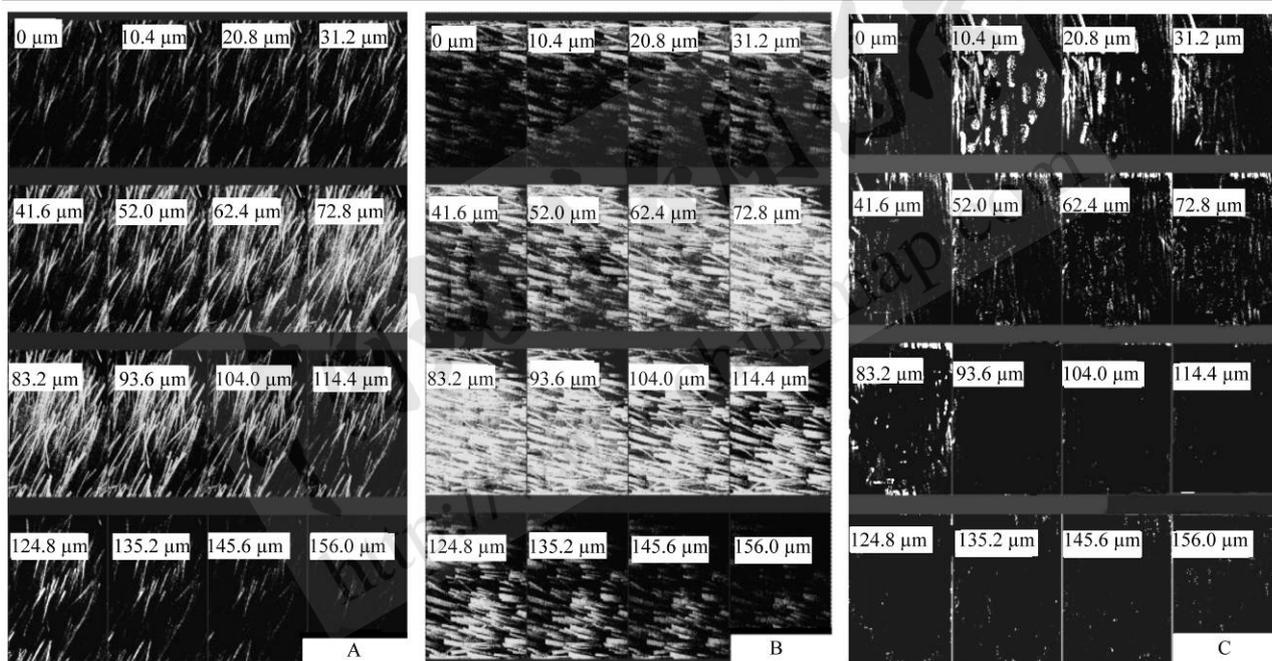


图 4 3 种制剂的荧光素共聚焦激光扫描图

A-45%乙醇溶液；B-乙醇脂质体；C-脂质体。

Fig. 4 The depth of fluorescein skin penetration from 3 kinds of preparations visualized by confocal laser scanning microscopy A-45% hydroalcoholic solution; B-ethosomes; C-liposomes.

2.8 稳定性试验

将多奈哌齐乙醇脂质体密封于锥形瓶中，分别置于冰箱(4℃)和室温下保存 3 个月，考察包封率。结果表明，多奈哌齐乙醇脂质体在 2 种贮存条件下，其包封率未发生明显改变，表明本品稳定性良好。结果见表 4。

表 4 稳定性试验结果(n=5, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Results of stability test(n=5, $\bar{x} \pm s$)

放置时间(月)	包封率/%	
	室温	冰箱(4℃)
0	82.13±9.24	82.13±9.24
1	81.18±8.31	82.00±6.47
2	80.41±3.86	81.51±3.24
3	80.19±5.87	81.13±5.79

3 结论

本实验制备并评价多奈哌齐乙醇脂质体、45%乙醇溶液及脂质体,考察比较其体外透皮性能。经处方优化,药物量为1%、药脂比为1:3、乙醇浓度为45%时制得的乙醇脂质体包封率最高(81.93±3.16)%,粒径较小,易于满足临床需要。体外经皮渗透实验表明多奈哌齐乙醇脂质体透皮量最高为45%,荧光素共聚焦激光扫描实验表明,与脂质体及45%乙醇溶液相比,乙醇脂质体可携带药物进入皮肤深层。因而,多奈哌齐乙醇脂质体有望开发成为一种易于满足临床需要的有效制剂。

REFERENCES

- [1] MA Z, CHEN Y. A system review of efficacy of donepezil in treatment of vascular dementia [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2013, 22(5): 569-572.
- [2] 应霞, 吴振, 雷严. 阿尔茨海默病的发病机制及治疗药物研

- 究进展[J]. *中国药房*, 2014, 25(33): 3152-3154.
- [3] 马崔, 施佳军. 早老素1基因多态性与迟发型阿尔茨海默病的遗传相关研究[J]. *中华精神科杂志*, 2000, 33(3): 344-347.
- [4] 冯亚青, 王建华, 赵大卫等. 多奈哌齐与多奈哌齐加银杏叶提取物合用治疗阿尔茨海默病的疗效比较[J]. *中国新药与临床杂志*, 2004, 23(11): 792-794.
- [5] TOUTIE E, BERGELSON L, GODIN B, et al. Ethosome novel vesicular carriers for enhanced delivery : characterization and skin penetration properties [J]. *J Cont Rolled Release*, 2000, 65 (3) :403-418.
- [6] DUBEY V, MISHRA D, ASTHANA A, et al. Transdermal delivery of a pineal hormone: melatonin via elastic liposomes [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(18): 3491-3496.
- [7] WANG H, WEI Y H, LIU W J, et al. Preparation and evaluation of amorphous hydrochloride ethosomes [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2010, 19(13): 1175-1179.
- [8] YUAN H L, HU J M, WEI Y H, et al. Preparation of ibuprofen ethosomes and their *in vitro* transdermal preparation [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2013, 22(3): 284-286.
- [9] QI X R, LIU M H, ZHANG K B, et al. The release and percutaneous permeation of econazole nitrate liposome gel [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2001, 10(7): 507-510.

收稿日期: 2016-03-28

基于小波神经网络时间序列模型预测血药浓度的研究

闫辉辉¹, 朱智慧¹, 刘伦铭¹, 方晴霞^{1,2}, 王刚³, 赵华军^{1*} (1.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 2.浙江省人民医院, 杭州 310014; 3.杭州市第一人民医院, 杭州 310006)

摘要: 目的 基于小波神经网络时间序列模型预测阿司匹林血药浓度, 评价模型的适应性。方法 对4组家兔灌胃, 分别于0.15, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 6.0, 13.0, 22.0 h时间点获取血药浓度数据, 利用计算机软件MATLAB对其中3组实验数据进行网络训练, 利用训练好的网络对剩下的1组血药浓度数据进行预测。之后联合药动学, 判断其房室模型和药动学特点。结果 模拟仿真结果与实际数据基本符合, 网络的绝对平均误差范围在0.3%~5.39%, 在统计学允许误差范围之内。联合药动学仿真证明了阿司匹林的血管外给药药动学特点是二室模型。结论 小波神经网络时间序列模型在预测阿司匹林血药浓度时有较好拟合能力和优良预测能力, 同时与药动学的结合更为现代临床药理的研究起到积极的推动作用。

关键词: 小波神经网络; 时间序列; 血药浓度; 药动学; MATLAB

中图分类号: R284.1; R917.101 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)11-1417-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.11.015

Prediction of Plasma Concentration Based on Wavelet Neural Network Time Series Model

YAN Huihui¹, ZHU Zhihui¹, LIU Lunming¹, FANG Qingxia^{1,2}, WANG Gang³, ZHAO Huajun^{1*} (1.College of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 3.Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the adaptability of wavelet neural network time series model through predicting the concentration of aspirin in blood. **METHODS** Four groups of rabbits were fed with aspirin, and plasma concentration data were obtained in 0.15, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 6.0, 13.0, 22.0 h time points. Then through the software

作者简介: 闫辉辉, 男 Tel: (0571)86633145 E-mail: divine_hui@sina.com *通信作者: 赵华军, 男, 博士, 教授 Tel: 13738133548 E-mail: zhj@zcmu.edu.cn