

结果表明:虽然移去了药物,但是仍然有药物不断释放出来,说明 BH 在皮肤中存在贮库效应,且完整皮肤中的药物释放明显大于去角质皮肤中的药物释放量,存在极显著差异($P<0.01$),说明 BH 主要贮存在角质层中。

3 讨论

在体外透皮实验中用的较多的是小鼠皮肤,然而动物皮肤与人的皮肤渗透性仍有差异,本实验须进一步考察动物皮肤与人体皮肤透皮吸收的相关性,从而预测药物在人体皮肤上的渗透效果。

角质层是药物透皮的主要屏障,皮肤去除角质层后,药物的渗透性可显著增加。脂溶性药物长春西汀由原来的 206 增加至 382^[6],仅提高了 1.5 倍,正戊醇增加了 23 倍,而水溶性药物阿糖胞苷的渗透量增加可达到 1 300 倍^[7],显然角质层对水溶性药物的屏障作用更加明显。因而针对水溶性药物,通过调节介质 pH 改变水溶性药物分子型与离子型的比例,使脂溶性较大的分子型比例提高,不失为一种有效的减少角质层屏障作用、提高药物透过量的方法,在临床外用制剂中也可以成为一种重要设计途径。本实验在考察经皮吸收的形式时,选择了皮肤能够耐受的介质 pH 5~8 进行考察,调节合适的 pH 后,透过量增加了 5 倍,也进一步证实了这一点。当然给药制剂的 pH 选择还要结合药物的稳定性、溶解度、制剂的成型性等参数,全面优化处方。

实验结果显示, BH 的经皮吸收主要是以它的分子型透过皮肤,笔者后期通过以丁螺环酮代替 BH 并加入 3% Azone 来提高药物的经皮渗透,其

结果却不甚理想,渗透速率仅为 $4.88 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$,一方面与溶解度有关,另一方面,可能与药物形式发生改变后,促渗作用也发生改变有关,这也提示即使面对同一种药物,如果形式发生改变,促渗剂应另行筛选。

角质层中含有 40%的角蛋白,与血浆蛋白具有较高结合率的药物均有可能与角蛋白结合,使药物滞留在角质层中,形成贮库。BH 的血浆蛋白结合率高达 95%,角质层贮库效应明显,去除药物后,仍可维持较长时间的药物释放。

REFERENCES

- [1] KATHY M S, OLIN H, WELSH, et al. AHFS Drug Information [M]. United States of America: American Society of Health-system Pharmacists, 2000: 2215-2221.
- [2] KENEALY, JAMES N, GENTILE, et al. Transdermal administration of azapirones: United states, 5633009 [P]. 1997-05-27.
- [3] GANNU R, PALEM C, YAMSANI S K, et al. Enhanced bioavailability of buspirone from reservoir-based transdermal therapeutic system, optimization of formulation employing Box-Behnken statistical design [J]. AAPS PharmSciTech, 2010, 11(2): 976-85.
- [4] AL-KHALILI M, MEIDAN V M, MICHNIAK B B. Iontophoretic transdermal delivery of buspirone hydrochloride in hairless mouse skin [J]. AAPS PharmSci, 2003, 5(2): 14.
- [5] SHUMILOV M, TOUITOU E. Buspirone transdermal administration for menopausal syndromes, *in vitro* and in animal model studies [J]. Int J Pharm, 2010, 387(1/2): 26-33.
- [6] LI H, LI J Y, LIN J Y, et al. Preparation of vinpocetine transdermal therapeutic system and study on *in vitro* permeation mechanism [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学), 2004, 24(3): 131-134.
- [7] LIANG W Q. Biopharmaceutics and Pharmacokinetics(生物药剂学与药物动力学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007: 77.

收稿日期: 2011-10-18

中心组合设计-效应面法优化曲安奈德固体脂质纳米粒处方

邱凯峰¹, 黄嗣航^{2*}, 蔡宝玲², 廖龙荣², 梁启发² (1.增城市人民医院, 广州 511300; 2.广东药学院中药学院, 广州 510006)

摘要:目的 采用中心组合设计-效应面法优化曲安奈德固体脂质纳米粒(TACA-SLN)的处方。方法 采用中心组合设计-效应面优化法筛选处方,以曲安奈德包封率作为评价指标,考察泊洛沙姆 188 的浓度,单硬脂酸甘油酯和大豆卵磷脂的质量比,药物和脂质材料的质量比,水相和有机相的体积比对评价指标的影响。采用高温乳化-低温固化法制备 TACA-SLN。结果 优选的最佳处方为:泊洛沙姆 188 浓度 1.89%,单硬脂酸甘油酯与大豆卵磷脂质量比 1.95,药物与

基金项目: 2011 年广东省医院药学研究基金(2011A18)

作者简介: 邱凯峰,男,主管药师 Tel: 13570982132 E-mail: feng.qk@163.com *通信作者: 黄嗣航,男,硕士,讲师 Tel: (020)39352169 E-mail: huangsihang@yahoo.com.cn

脂质质量比 0.15, 水相与油相体积比 5.68, 实验值与理论值偏差 0.07%。结论 中心组合设计-效应面法能有效优选 TACA-SLN 处方。

关键词: 中心组合设计; 曲安奈德; 固体脂质纳米粒; 高温乳化-低温固化法

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)10-0920-05

Optimization of Triamcinolone Acetonide-loaded Solid Lipid Nanoparticles Formula by Central Composite Design and Response Surface Methodology

QIU Kaifeng¹, HUANG Sihang², CAI Baoling², LIAO Longrong², LIANG Qifa²(1.The People's Hospital of Zengcheng City, Guangzhou 511300, China; 2.Chinese Herbal Medicine College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the formula of triamcinolone acetonide-loaded solid lipid nanoparticles(TACA-SLN). **METHODS** Central composite design and response surface methodology was applied to screen TACA-SLN prescription. The influence factors such as F68 concentration, the ratio of glyceryl monostearate to lecithin, the ratio of drug to lipids, the ratio of water phase to organic phase were investigated using entrapment efficiency as evaluation parameter. TACA-SLN was prepared by the method of emulsion evaporation at a high temperature and solidification at a low temperature. **RESULTS** The optimum prescription was: F68 1.89%, the ratio of glyceryl monostearate to lecithin was 1.95, the ratio of drug to lipids was 0.15, the ratio of water phase to organic phase was 5.68. The bias was 0.07%. **CONCLUSION** Cental composite design and response surface metogology was successfully used to optimize the formulation of TACA-SLN.

KEY WORDS: central composite design; triamcinolone acetonide; solid lipid nanoparticles; emulsion evaporation at a high temperature and solidification at a low temperature

曲安奈德(triamcinolone acetonide, TACA)是一种长效的皮质类固醇激素,有良好的抗炎、止痒效果,广泛应用于治疗湿疹等变态反应性皮肤病。研究发现,TACA若长时间接触皮肤,可以透过皮肤的角质层和真皮层,进入体循环^[1],进而引起下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)抑制等不良反应。固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)是近年来发展迅速的一种新型给药系统。它以天然或合成的固态类脂,如卵磷脂、甘油三酯等为载体,将药物包裹于类脂核中,形成粒径 50~1 000 nm 的固体胶粒给药体系^[2]。SLN 作为药物传递系统载体,具有生物相容性好、可生物降解、载药能力强、物理化学存储稳定、对靶器官有特异趋向性、成本低和利于大规模生产等优点。目前,SLN 除用于静脉、口服给药外,亦可用于皮肤局部给药。处方、工艺设计合理的 SLN 有很好的皮肤靶向性,如张敏等^[3]研究发现鬼臼毒素-SLN 相对于鬼臼毒素酊剂,药物主要富集于表皮层及毛囊,而真皮及皮下组织药物含量相对较少;陈正明等^[4]研究发现 SLN 可以减少维 A 酸经皮吸收,提高其皮肤贮留量。本实验采用中心组合设计(central composite design, CCD)和效应面优化法(response surface method, RSM)优化 TACA-SLN 的制备处方,通过制成 SLN 使 TACA 浓集于皮肤

表皮层,以增加 TACA 的治疗效果,降低其不良反应,并获得包封率较高的 TACA-SLN。

1 仪器与材料

UV-2450 紫外分光光度仪(日本岛津公司); JB-2 型恒温磁力搅拌器(上海智光仪器仪表有限公司);电热恒温水浴锅(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

TACA 原料(百灵威科技有限公司,纯度>99%,CAS 76-25-5);TACA 对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100055-200302,纯度≥98%);单硬脂酸甘油酯(上海凌峰化学试剂有限公司);大豆卵磷脂(上海源泉生物科技有限公司);泊洛沙姆-188(上海浦力膜制剂辅料科技合作公司);Sephadex G-50(上海蓝季科技发展有限公司);所用其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TACA-SLN 的制备

精密称取处方量的单硬脂酸甘油酯,大豆卵磷脂,加入适量溶于丙酮的 TACA,超声 20 min 溶解,构成有机相;另取处方量泊洛沙姆-188 溶于蒸馏水中,形成水相;将有机相(50℃)用 6 号针头注入水相(50℃)中,搅拌 2 h,温度保持在 50℃,使丙酮完全挥发,浓缩至 10 mL,得到纳米乳剂;

快速加入(0~2 ℃)20 mL 水相中,冰水浴继续搅拌 2 h,得到混悬液;用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.2 含量测定方法

2.2.1 吸收波长的确定 精密称量 TACA 对照品,丙酮溶解使成 0.142 mg·mL⁻¹ 的储备液,以丙酮为空白,按照分光光度法(《中国药典》2010 年版二部 IV A),在 190~400 nm 处进行扫描。TACA 在波长 244 nm 处有最大吸收,而单硬脂酸甘油酯、大豆卵磷脂和泊洛沙姆-188 在该波长处基本无吸收,故选择 244 nm 为 TACA 的检测波长。

2.2.2 标准曲线的制备 精密称量 TACA 对照品,丙酮溶解使成 0.142 mg·mL⁻¹ 的储备液,用丙酮配成 0.142, 0.014 2, 0.009 47, 0.007 10, 0.005 68, 0.004 73 mg·mL⁻¹ 的系列标准溶液。按照分光光度法(《中国药典》2010 年版二部 IV A),在 244 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A=23\ 600C+0.149\ 7(r=0.999\ 6)$ 。结果表明, TACA 在 0.004 73~0.142 mg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.2.3 仪器精密度试验 精密量取储备液加适量丙酮制成 0.014 2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液,重复测定 5 次。结果 RSD 为 0.828%,表明仪器的精密度良好。

2.2.4 回收率试验 按处方量的 80%, 100%, 120%称取 TACA 原料药各 3 份,分别加处方比例的辅料,超声 20 min,过滤。取续滤液稀释成适当浓度溶液,于 244 nm 处测定吸收度,计算回收率,结果见表 1。平均回收率分别为 94.68%, 100.91%, 99.62%, RSD 分别为 1.80%, 1.78%, 1.17%。

表 1 TACA 回收率测定结果

Tab 1 Recovery results of TACA

加入量/ mg	实测值/ mg	回收率/%	平均回 收率/%	RSD/%
7.92	7.65	96.59		
7.95	7.42	93.33	94.68	1.80
8.16	7.68	94.12		
10.18	10.21	100.29		
10.22	10.17	99.51	100.91	1.78
9.87	10.16	102.94		
12.37	12.42	100.40		
12.23	12.25	100.16	99.62	1.17
12.19	11.98	98.28		

2.2.5 稳定性试验 精密量取储备液适量,加丙酮使成 0.014 2 mg·mL⁻¹ 样品液,分别于 1, 2, 4,

8, 12 h 测定吸光度。结果 RSD 为 0.411 0%,表明 TACA 的丙酮溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3 包封率的测定

根据文献报道,采用葡聚糖凝胶微型柱法^[4]来测定 TACA-SLN 的包封率。采用 1 000 r·min⁻¹ 离心 6 s,除去葡聚糖凝胶微柱中部分水分(约 3 mL),取 1 mL TACA-SLN 混悬液滴加到柱的中心,1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,一次性洗脱。将收集的洗脱液置 10 mL 量瓶,用蒸馏水定容至刻度;没有过柱的混悬液过 0.45 μm 滤头置 10 mL 量瓶内,用蒸馏水定容至刻度。分别在 244 nm 处测定吸收度,按照 UV 标准曲线计算药物浓度。按照如下公式计算包封率:包封率/%=洗脱液内 TACA 的浓度/混悬液内 TACA 的浓度×100%。

2.4 实验设计

在预试验基础上,选择对 TACA-SLN 性质影响较大的 4 个因素为考察对象,即泊洛沙姆 188 的浓度(X_1),单硬脂酸甘油酯/大豆卵磷脂质量比(X_2),药物/脂质材料质量比(X_3),水相/有机相体积比(X_4)。根据中心组合设计的原理,每因素设五水平,用代码值 $-\alpha$ 、 -1 、 0 、 1 、 α 来表示($\alpha=1.732$)。代码值所代表的实际操作物理量见表 2。

表 2 因素水平及代码表

Tab 2 Independent variables and codes

水平	因素			
	X_1	X_2	X_3	X_4
$-\alpha$	0.5	1 : 3	7 : 100	3 : 1
-1	1.125	1 : 1	9 : 100	4 : 1
0	1.75	1.7 : 1	12 : 100	5 : 1
1	2.375	2.33 : 1	14 : 100	6 : 1
α	3	3 : 1	17 : 100	7 : 1

2.5 中心组合设计实验结果

根据中心组合设计-效应面法的原理和使用法则,以包封率为指标,试验方案与结果见表 3。

2.6 模型拟合

利用 Design-EXpert 7.1.6 软件,以包封率为指标,对各因素分别进行多元线性拟合、二项式拟合和三项式拟合分析,结果见表 4。

三元非线性方程拟合度较高,最终选择三元非线性方程拟合,并绘制效应面图。由于三维图只能表示效应对其中两个因素的关系,为了考察各因素对指标的影响,分别将一个因素设为固定值,代入方程,再描绘各效应对两因素的三维效

应面图，结果见图 1。效应面响应值较高的公共区域即为优选区域，在图上选取较佳处方范围：泊洛沙姆 188 浓度范围 1.13%~1.89%，单硬脂酸甘

油酯/大豆卵磷脂质量比范围 1.95~2.33，药物/脂质质量比范围 0.12~0.17，水相/油相体积比范围 5.14~5.71。

表 3 实验设计及效应值

Tab 3 Central composite design and observed results for RSM analysis

序号	X ₁ (F68%)	X ₂ (单硬酯酸甘油酯/ 大豆卵磷脂)	X ₃ (药物/ 脂质)	X ₄ (水相/ 有机相)	包封率/ %	序号	X ₁ (F68%)	X ₂ (单硬酯酸甘油酯/ 大豆卵磷脂)	X ₃ (药物/ 脂质)	X ₄ (水相/ 有机相)	包封率/ %
1	1.13	1.00	0.10	4.00	34.62	16	2.38	2.33	0.15	6.00	65.66
2	2.38	1.00	0.10	4.00	30.91	17	0.50	1.67	0.12	5.00	43.89
3	1.13	2.33	0.10	4.00	54.00	18	3.00	1.67	0.12	5.00	68.45
4	2.38	2.33	0.10	4.00	37.94	19	1.75	0.33	0.12	5.00	53.86
5	1.13	1.00	0.15	4.00	54.15	20	1.75	3.00	0.12	5.00	39.37
6	2.38	1.00	0.15	4.00	51.53	21	1.75	1.67	0.17	5.00	65.02
7	1.13	2.33	0.15	4.00	52.00	22	1.75	1.67	0.17	5.00	59.62
8	2.38	2.33	0.15	4.00	36.77	23	1.75	1.67	0.12	3.00	29.52
9	1.13	1.00	0.10	6.00	54.92	24	1.75	1.67	0.12	7.00	51.84
10	2.38	1.00	0.10	6.00	44.94	25	1.75	1.67	0.12	5.00	59.88
11	1.13	2.33	0.10	6.00	51.99	26	1.75	1.67	0.12	5.00	56.91
12	2.38	2.33	0.10	6.00	47.45	27	1.75	1.67	0.12	5.00	59.94
13	1.13	1.00	0.15	6.00	57.29	28	1.75	1.67	0.12	5.00	54.80
14	2.38	1.00	0.15	6.00	35.08	29	1.75	1.67	0.12	5.00	54.46
15	1.13	2.33	0.15	6.00	35.19	30	1.75	1.67	0.12	5.00	64.69

表 4 模型拟合表

Tab 4 Results of model-data fitness

模型	拟合方程	拟合度 R
多元线性拟合	$Y=29.02+0.35X_1-0.71X_2+33.50X_3+3.55X_4$	0.092 9
二项式拟合	$Y=-152.95-23.01X_1+34.30X_2+556.45X_3+63.59X_4+4.96X_1X_2+98.80X_1X_3+3.13X_1X_4-128.91X_2X_3-107.65X_3X_4-3.55X_1^2-8.47X_2^2+237.66X_3^2-5.26X_4^2$	0.499 0
三项式拟合	$Y=58.62+6.14X_1-3.62X_2-1.35X_3+5.58X_4+2.07X_1X_2+1.54X_1X_3+1.96X_1X_4-2.15X_2X_3-2.69X_3X_4-1.41X_1^2-3.80X_2^2-5.28X_4^2+2.94X_1X_2X_3+5.19X_1X_2X_4+1.30X_1X_3X_4+3.26X_2X_3X_4+4.72X_1^2X_2+3.28X_1^2X_3-3.04X_1^2X_4-8.88X_1X_2^2$	0.901 5

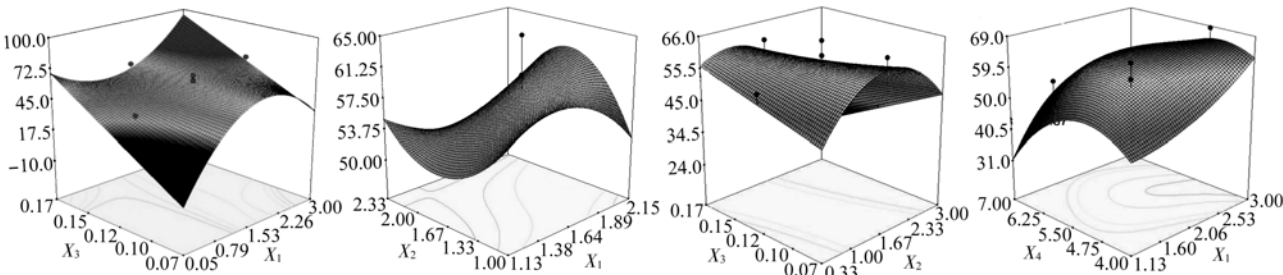


图 1 三维效应面图

X₁—泊洛沙姆-188; X₂—单硬脂酸甘油酯/大豆卵磷脂; X₃—药物/脂质材料; X₄—水相/有机相

Fig 1 Response surface diagram

X₁—concentration of F68; X₂—ratio of glyceryl monostearate to lecithin; X₃—ratio of drug to lipids; X₄—ratio of water phase to organic phase

2.7 参数优化与预测

利用 Design-Expert 软件，得到的最佳处方为：泊洛沙姆 188 浓度 1.89%，单硬脂酸甘油酯/大豆卵磷脂质量比 1.95，药物/脂质质量比 0.15，水相/油相体积比 5.68，预测值为：56.58%。为检验预

测的可靠性，按照最优处方制备 3 批 TACA-SLN。验证实验结果，平均包封率为 56.62% (RSD 为 1.03%，n=3)，偏差 (%)=(56.62-56.58)/56.58 × 100%=0.07%。结果表明，所建立的数学模型具有良好的预测性，所选处方条件重现性良好。

3 讨论

包封率是评价固体脂质纳米粒的重要指标,载药纳米粒和游离的药物必须分离后才能测定包封率。文献报道多采用凝胶柱色谱法、离心法或者透析法分离载药纳米粒和游离的药物。其中,葡聚糖凝胶柱色谱法由于操作简单,常被采用,但缺点为:洗脱时间长,洗脱体积大,药物浓度低等;透析法则耗时较长。本实验采用葡聚糖凝胶微柱离心法测定包封率,该方法的优点是分离速度快,但操作时要注意离心的转速和时间,若转速过高和长时间离心容易造成脂质核心被破坏,导致药物渗漏。本实验在预实验的基础上,将离心转速控制为 $1\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心时间控制为 5 min ,可避免上述问题。

中心组合设计是在析因设计的基础上,加上星点及中心点而形成的实验次数较少、并可进行线性或非线性拟合的实验设计方法。该方法已经在制剂处方和工艺的优化中得到了一定范围的应用。本实验采用中心组合设计-效应面法优化了

TACA-SLN 给药系统。由试验结果可知,理论优化结果与试验值相差不大,由此可以看出采用非线性模型,接近客观实际和便于找到极值范围,水平的选取直观,实验精度高,预测性好。

REFERENCES

- [1] QIU K F, LAO H C, CHEN L S, et al. Study on percutaneous penetration of triamcinolone acetoneide [J]. Pharm Today(今日药学), 2011(8): 475-477.
- [2] WANG J X, ZHANG Z R. Progress in studies on solid lipid nanoparticles [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2001, 36(2): 73-76.
- [3] ZHANG M, ZENG K, LI G F. Safety of podophyllotoxin-solid lipid nanoparticles versus podophyllotoxin tincture applied on skins [J]. J Clin Rehabil Tiss Eng Res(中国组织工程研究与临床康复), 2008, 12(1): 103-107.
- [4] CHEN Z M, LONG X Y, DING M G, et al. Study on solid lipid nanoparticles as transdermal administration carrier for tretinoin [J]. Chin J New Drug(中国新药杂志), 2010, 19(5): 427-434.
- [5] DUBEY V, MISHRA D, JAINA NK. Melatonin loaded ethanol liposomes: Physicochemical characterization and enhanced transdermal delivery [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 67(2): 398-405.

收稿日期: 2012-03-15

扎来普隆脉冲释放微丸的制备及体外释放

李娇, 王扣存, 宗莉* (中国药科大学药学院药剂研究所, 南京 210009)

摘要: 目的 制备扎来普隆脉冲释放微丸, 并对其进行处方筛选与优化。方法 以交联羧甲基纤维素钠(CC-Na)为内包衣溶胀层, 乙基纤维素水分散体为外包衣控释层制备扎来普隆脉冲释放微丸, 考察处方因素及介质 pH 对药物释放的影响, 用 Box-Behnken 效应面设计法对处方进行优化。结果 溶胀层厚度、组成及控释层包衣增重对微丸的时滞和释药速率均有显著影响。结论 按 Box-Behnken 效应面设计法所得最优处方制备的微丸具有良好的延时脉冲释药效果。

关键词: 扎来普隆; 脉冲释放微丸; 体外释放; Box-Behnken 效应面设计

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2012)10-0924-07

Preparation and *in Vitro* Evaluation of Zaleplon Pulsatile Release Pellets

LI Jiao, WANG Koucun, ZONG Li* (Institute of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare and the optimize zaleplon pulsatile release pellets. **METHODS** Zaleplon pulsatile release pellets were prepared by double-layer coating method with swelling material CC-Na as the inner swelling layer and ethylcellulose aqueous dispersion as the outer controlled layer. The effects of pellets compositions and the pH values of the media on the *in vitro* release behavior were evaluated. The formula was optimized by Box-Behnken response surface design. **RESULTS** The composition of swelling layer, the coating level of swelling layer and the controlled layer had significant effect on the lag time and release rate. **CONCLUSION** The pellets which are optimized by Box-Behnken response surface design

作者简介: 李娇, 女, 硕士生
E-mail: zongcpu@hotmail.com

Tel: 13552786117

E-mail: lhlijiao@126.com

*通信作者: 宗莉, 女, 教授, 博导

Tel: (025)83271317