

文章编号: (2005) 03-0081-06

渗透促进剂对尼美舒利透皮吸收的影响

杜玲然¹, 陈大为¹, 王永峰², 王国成³, 卢宏新³, 陈莹³

(1. 沈阳药科大学药学院, 辽宁沈阳 110016; 2. Aston University, UK;

3. 天津天士力集团化学制药研究所, 天津 300402)

摘要: **目的** 考察了油酸(OA)、氮酮(Azone)和肉豆蔻酸异丙酯(IPM)3种渗透促进剂(PE)对尼美舒利经离体鼠皮渗透性的影响。**方法** 采用Franz扩散池进行尼美舒利体外经皮渗透实验, 采用紫外分光光度法测定接受液中尼美舒利的含量。**结果** 应用质量分数为5%的油酸(OA)、氮酮和肉豆蔻酸异丙酯(IPM)为渗透促进剂, 药物的稳态流量与对照组比较均有提高, 增渗倍数分别为2.04、1.86、1.46; 药物的表观扩散系数分别增至4.43、4.19、1.76倍, 但表观分配系数却分别降低为45.98%、44.30%、83.32%。质量分数为5%的油酸对尼美舒利经皮渗透的促进效果最佳。**结论** 3种渗透促进剂的作用机制主要是改变角质层的通透性, 降低了药物经皮渗透的阻力, 提高了药物在皮肤角质层的扩散系数。

关键词: 药剂学; 透皮吸收; 紫外分光光度法; 尼美舒利; 渗透促进剂

中图分类号: R94

文献标识码: A

尼美舒利(nimesulide, NIM)是一种新型的非甾体解热镇痛药, 是第一个倾向于环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂, 由美国Riker Labs Inc研制开发, 最先由Boehringer Biochemia公司1985年10月在意大利上市。具有强选择性、生物利用度高、安全等特点, 对类风湿关节炎和骨关节炎等有良好的疗效^[1~3]。其口服血药浓度波动大, 局部浓度低, 有一定的胃肠道不良反应。将其制成外用制剂, 可避免这一缺点, 并可提高局部浓度。作者考察了不同渗透促进剂对尼美舒利体外经皮渗透性的影响。

1 仪器与材料

Cary50 Conc 紫外可见分光光度计(美国瓦里安技术有限公司), TP-4 智能透皮扩散仪(天津市富兰斯电子科贸有限公司), 电子天平(德国赛多利斯集团)。

尼美舒利原料及其对照品(天津药物研究院), 氮酮(Azone, 药用, 湖北南星化工总厂), 油酸(OA, 分析纯, 天津市化学试剂一厂), 肉豆蔻酸异丙酯(IPM, 化学纯, 中国医药集团上海化学试剂厂), SD 雄性大鼠 200~220 g(北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号SYXK-2004-0008)。

2 方法与结果

收稿日期: 2004-12-02

作者简介: 杜玲然(1980-), 女(汉族), 河北正定人, 在读硕士; 陈大为(1959-), 男(汉族), 辽宁海城人, 博士生导师, 主要从事药物新剂型及多肽类药物制剂的研究, Tel. 23986306; 王国成(1973-), 男(汉族), 内蒙古扎兰屯人, 高级工程师, 主要从事多肽药物合成及药物制剂的研究, Tel. 022-26736511, E-mail wangguoch@yahoo.com。

2.1 分析方法的建立

2.1.1 标准曲线绘制

精密称取尼美舒利对照品 20 mg, 用 pH 7.4 磷酸缓冲液超声溶解并定容至 200 mL, 分别移取 0.5、2、4、6、8、10 mL 于 50 mL 量瓶中, 加 pH 7.4 磷酸缓冲液至刻度, 摇匀, 在波长 394 nm 处测定吸收度 A , 得标准曲线方程: $A = 0.0262\rho + 0.0092$, $r = 0.9998$ 。

2.1.2 日内及日间精密度测定

取质量浓度为 $8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 在 1 日内测定 5 次, 计算日内精密度, RSD 为 0.56%。每日测定 1 次, 连续测定 5 d, 计算日间精密度, RSD 为 1.12%。

2.1.3 回收率测定

精密称取尼美舒利对照品 5 份, 用 pH 7.4 磷酸缓冲液制成药液约 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 在波长 394 nm 处测定吸收度 A , 按回归方程计算即得, 回收率为 99.0%, RSD 为 1.34%。

2.2 离体鼠皮的制备

取体质量为 200~220 g 的 SD 雄性大鼠, 断颈处死, 剃去腹部皮肤的毛, 剪下皮肤, 去除皮下组织, 用生理盐水冲洗数遍, 于 -40°C 保存备用。

2.3 透皮吸收实验

2.3.1 渗透促进剂对尼美舒利透皮吸收的影响

用改进的 Franz 扩散池的 2 个半池将皮肤夹住, 并以配套的铁夹夹紧 2 个半池, 角质层面向供药池, 在供药池中分别加入下列溶液: 质量分数为 5% 的氮酮丙二醇溶液、5% 的油酸丙二醇溶液、5% 的肉豆蔻酸异丙酯丙二醇溶液, pH 7.4 磷酸缓冲液, 作为空白对照。接受池中加入 pH 7.4 的磷酸缓冲液为接受液, 搅拌速度 $300 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。37°C 恒温水浴中处理大鼠皮肤 2 h, 然后将扩散池两侧的液体倒出, 用 pH 7.4 的磷酸缓冲液冲洗数次, 然后在供药池中加入 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的尼美舒利 pH 7.4 磷酸缓冲液 2 mL, 接受池中加入空白接受液, 分别于 1、2、4、6、8 h 取出接受池中的溶液 3 mL, 同时补加同体积新鲜的接受液 3 mL 并排除接受液中的气泡。取出的溶液用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, 于紫外分光光度计波长 264 nm 处测定吸收度, 代入标准曲线方程求出相应的药物质量浓度, 按下式计算单位面积累计透过量 (Q)。

$$Q = \frac{\rho_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} \rho_i \times V}{A} \quad \text{。}$$

ρ_n 为第 n 个取样点测得的药物质量浓度; ρ_i 为第 i 个取样点测得的药物质量浓度; A 为扩散面积; V_0 为接受池中溶液的体积; v 为取样体积。

质量分数为 5% 的不同渗透促进剂对尼美舒利透皮吸收的影响结果见表 1, 渗透曲线见图 1。将时间与累积透皮量进行回归, 求得回归方程, 结果见表 2。根据直线方程可以求出药物稳态流量

(J_{ss}) 和滞后时间 (t_{lag})。渗透系数 (P_m) 等于药物的稳态流量除以供药池中药物溶液的质量浓度, 增渗比 (EF) 的计算以对照组尼美舒利的稳态流量为参比^[4], 计算结果见表 3。

Table 1 Accumulative penetration amount (Q) of nimesulide with different penetration enhancers ($n=5, \bar{x} \pm s$)

t/h	Q (OA)/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Q (Azone)/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Q (IPM)/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Q (control)/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)
1	11.21 \pm 1.63	8.26 \pm 0.91	6.99 \pm 0.91	3.37 \pm 0.53
2	21.21 \pm 3.16	22.54 \pm 4.65	14.75 \pm 1.93	10.53 \pm 1.58
4	46.30 \pm 3.36	45.67 \pm 3.95	31.77 \pm 4.63	18.43 \pm 2.61
6	78.20 \pm 9.02	61.35 \pm 5.72	53.34 \pm 6.97	36.99 \pm 7.63
8	91.37 \pm 8.00	88.48 \pm 7.55	65.77 \pm 9.22	43.57 \pm 6.21

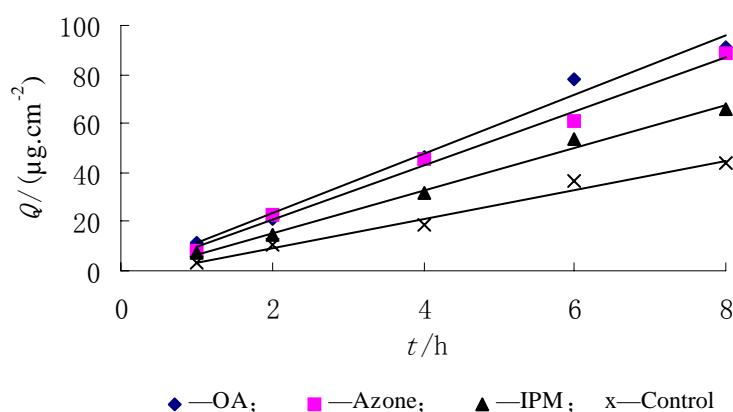


Fig. 1 The penetration kinetic profiles of nimesulide across the rat skin with different enhancers

Table 2 Penetration kinetic equation for nimesulide across the rat skin

PE	Equation	r
OA	$Q = 12.078t - 1.0688$	0.9929
Azone	$Q = 11.021t - 1.0294$	0.9996
IPM	$Q = 8.682t - 1.9394$	0.9970
Control	$Q = 5.930t - 2.3252$	0.9888

Table 3 Penetration parameters for nimesulide across the rat skin

PE	$J_{ss}/(\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2})$	EF	t_{lag}/h	$P_m \times 10^{-4}$
OA	12.078	2.04	0.0885	12.08
Azone	11.021	1.86	0.0934	11.02
IPM	8.682	1.46	0.2234	8.68
Control	5.930	—	0.3921	5.93

从表 3 的数据可知, 油酸、氮酮和肉豆蔻酸异丙酯作为渗透促进剂对尼美舒利的经皮吸收有不同的促进作用, 增渗倍数分别为 2.04、1.86、1.46。渗透促进剂一般通过改变药物经皮肤的扩散系数或药物在角质-基质中的分配系数而起作用。为了探讨 3 种渗透促进剂的作用机制, 根据以上实验数据求出了经不同渗透促进剂处理后尼美舒利在鼠皮中的表观扩散系数 (D_{app}) 和表观分配系数 (K_{app})。

表观扩散系数的计算公式^[5]: $D_{app} = h^2 / (6t_{lag})$ 。

式中, h 为皮肤角质层厚度, 大鼠皮肤一般为 18.4 μm 。

表观分配系数的计算公式^[6]: $K_{app} = P_m \times h / D_{app}$ 。

Table 4 Apparent diffusion coefficients and SC medium partition coefficient calculated from the penetration data for nimesulide across the rat skin

PE	$D_{app} \times 10^{-2}$	$K_{app} \times 10^{-3}$
OA	6.38	3.484
Azone	6.04	3.357
IPM	2.53	6.313
Control	1.44	7.577

从表 4 中看出, 油酸、氮酮和肉豆蔻酸异丙酯(质量分数为 5%)分别使尼美舒利的表观扩散系数增至 4.43、4.19、1.76 倍; 而表观分配系数分别降低为对照组的 45.98%、44.30%、83.32%。说明这 3 种渗透促进剂的作用机理主要是通过改变类脂双分子层排列, 增加类脂的流动性, 从而改变角质层的通透性, 减小了药物经皮渗透的阻力, 提高了药物在皮肤角质层的扩散系数。

2.3.2 不同浓度的油酸、氮酮对尼美舒利透皮吸收的影响

考察质量分数为 1%、3%、5%、7% 的油酸丙二醇溶液及 1%、3%、5% 的氮酮丙二醇溶液对尼美舒利透皮吸收的影响。实验方法、测定方法同“2.3.1”条。

不同浓度的油酸、氮酮对尼美舒利的累积透皮量结果见表 5。鼠皮经不同浓度的油酸、氮酮处理后, 尼美舒利的渗透曲线分别见图 2、3。

Table 5 Accumulative penetration (Q , $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) of nimesulide with different concentrations of OA and Azone

($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

PE (w)	t/h				
	1	2	4	6	8
1% OA	1.10±0.34	13.65±2.08	34.68±3.85	44.83±4.27	61.43± 7.51
3% OA	6.45±0.82	18.53±1.21	40.76±2.87	65.07±4.93	79.11± 8.08
5% OA	11.21±1.63	21.21±3.16	46.30±3.36	78.20±9.02	91.37± 8.00
7% OA	8.23±1.26	18.81±2.53	42.03±3.71	70.39±5.45	87.52±10.09
1% Azone	1.28±0.23	10.71±1.59	30.49±2.75	45.36±4.38	59.83± 6.46
3% Azone	5.57±0.92	16.38±2.03	40.15±3.47	59.73±5.28	72.41± 8.92
5% Azone	8.26±0.91	22.54±4.65	45.67±3.95	61.35±5.72	88.48± 7.55

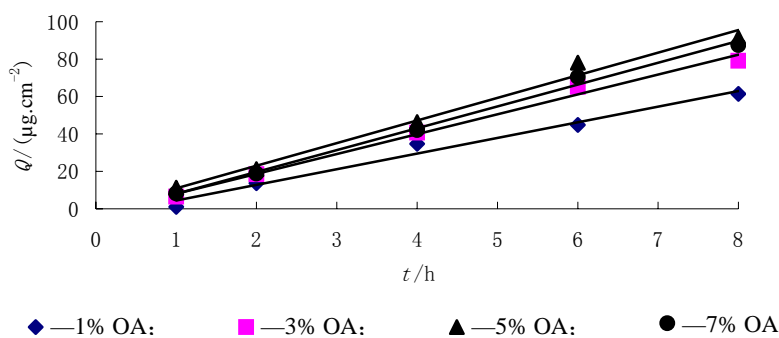


Fig. 2 The penetration kinetic curves of nimesulide across the rat skin with different concentrations of OA

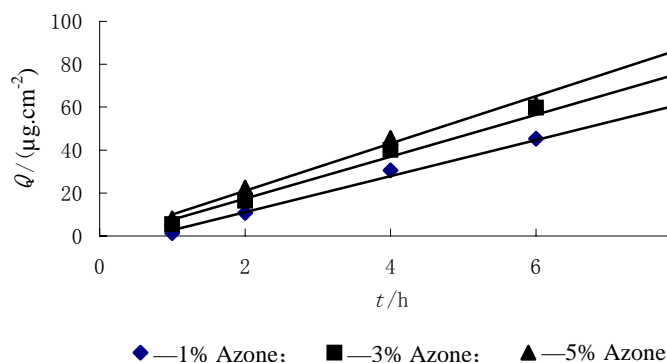


Fig. 3 The penetration kinetic curves of nimesulide across the rat skin with different concentrations of azone

表5、图2、3显示,质量分数为1%、3%、5%、7%的油酸丙二醇溶液对尼美舒利均有促渗作用,在1%~5%内随质量分数增加促渗作用增强,7%促渗作用降低,5%为最佳。不同质量分数的氮酮也均增强尼美舒利的经皮渗透,在实验所用质量分数范围内促渗作用随浓度的增加而增强。综合考虑,质量分数为5%的油酸丙二醇溶液对尼美舒利经皮渗透的促进效果最佳。

参考文献:

- [1] FAMACY JP. *In vitro* and *in vivo* pharmacological evidence selective cyclooxygenase-2 inhibition by Nimesulide: an overview [J]. *Inflamm-Res*, 1977, 46 (11): 437.
- [2] HOBRADESKY MG, BERETTA A. Post-marketing survey of nimesulide in the short-term treatment of osteoarthritis[J]. *Drugs-Exp-Clin-Res*, 1991, 17(3): 197.
- [3] DAVIS R, BROGDEN RN. An update of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy [J]. *Drugs*, 1944, 48(3): 431.
- [4] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977.
- [5] BRONAUGH RL, STEWART RF, CONGDON ER. Methods for *in vitro* percutaneous absorption studies: Animal model for human skin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1982, 62: 481.
- [6] HARRISON JE, WATKINSON AC, GREEN DM, *et al*. The relative effect of Azone transdeutol on permeant diffusivity and solubility in human stratum corneum [J]. *Pharm Res*, 1966, 13: 542.

Studies of effects of enhancers on percutaneous absorption for nimesulide across excised full thickness rat skin

DU Ling-ran¹, CHEN Da-wei¹, WANG Yong-feng², WANG Guo-cheng³, LU Hong-xin³, CHEN Ying³

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Aston University, UK; 3. Chem-Pharm R&D Institute, Tasly Group, Tianjin 300402, China)

Abstract: Objective To study the *in vitro* permeability of nimesulide across full thickness rat skin treated with penetration enhancers (PE). **Methods** The modified Franz diffusion cells were used to do penetration experiments, UV analytic method was used to determine the content of nimesulide in the receptor medium.

Results The enhancers including 5% oleic acid (OA), 5% Azone and 5% isopropyl myristate (IPM) were able to increase the nimesulide percutaneous steady-state fluxes 2.04, 1.86 and 1.46 times to the control, respectively. And the diffusion and partition coefficients for nimesulide were calculated. It was indicated that OA, Azone and IPM increased the diffusion coefficients of nimesulide to 4.43, 4.19 and 1.76 times respectively to the control, while decreased the SC/medium partition coefficients to 45.98%, 44.30%, 83.32% respectively. 5% OA is the best choice in increasing penetration of nimesulide across the rat skin.

Conclusion It is shown the main enhancement mechanism of three skin penetration enhancers used is to destroy the barrier function of stratum corneum, reduce the resistance of drug transport through the skin and increase the diffusion coefficients of nimesulide.

Key words: pharmaceuticals; percutaneous absorption; UV analytic method; nimesulide; penetration enhancers

(本篇责任编辑: 高明)