

• 研究简报 •

美洛昔康贴剂裸鼠经皮吸收的初步研究

郜琪臻¹, 杨丽英², 丁平田^{2*}, 何仲贵²

(1. 中国医科大学第一附属医院药剂科, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

关键词: 美洛昔康; 微渗析; 经皮吸收; 贴剂

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)12 - 1320 - 03

Percutaneous absorption of meloxicam patches in hairless mouse

GAO Qi-zhen¹, YANG Li-ying², DING Ping-tian^{2*}, HE Zhong-gui²

(1. Department of Pharmacy, No. 1 Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China;

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Meloxicam concentration in skin was determined following topical administration of meloxicam patches in hairless mouse. Samples were analyzed by HPLC coupled with microdialysis sampling technique, in which *in vivo* recovery of probe was characterized by the retrodialysis method. It was indicated that the *in vivo* recovery of the probe was 14.0%. The range of steady state concentration of meloxicam in dialysate was 24 - 50 ng·mL⁻¹, and that was 170 - 360 ng·mL⁻¹ in the hairless mouse skin. Steady state concentration of meloxicam was reached shortly after the application of meloxicam patches, which was maintained during the period of experiment.

Key words: meloxicam; microdialysis; percutaneous absorption; patch

美洛昔康是第 1 个上市的环氧合酶-2(COX-2)抑制剂,大量临床试验表明美洛昔康具有较强的镇痛消炎作用,对骨关节炎、类风湿性关节炎、坐骨神经痛有较好的治疗效果。目前美洛昔康上市的主要剂型为片剂、胶囊剂、软膏剂及注射剂等。为了提高患者用药的安全性和依从性,增加美洛昔康的适用人群,开发了局部经皮给药制剂——美洛昔康贴剂^[1]。本文采用经皮微渗析(microdialysis)取样技术联合 HPLC 对自行开发的美洛昔康贴剂经裸鼠在体皮肤的渗透性进行了研究。微渗析是一种在体取样技术,与传统的取样技术相比具有明显的优势^[2-6],用于在体研究药物的经皮渗透性,不存在体内外相关性的问题,可以直接测定药物在皮肤中的游离浓度。

材料与amp;方法

药品与动物 注射用生理盐水(沈阳志鹰制药厂);甲醇为色谱纯(天津市康科德科学技术有限公司);无水乙酸钠、甘油、甲醛、冰乙酸均为市售分析纯试剂。

动物 裸鼠(BALB/C),体重为(30±5)g,由中国医科大学实验动物中心提供。

仪器 高效液相色谱仪(515泵, Waters 2487 双波长检测器,美国 Waters 公司); Anasat 色谱工作站(大连 JASKOL 公司); KH-1 型微渗析针管泵(中国科学院化学研究所);微渗析针管(上海医用激光仪器厂); LM-10 线型微渗析探针(美国 BAS 公司)。

色谱条件 色谱柱: Kromsil-200 C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇:乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 4.5, 55:45, v/v);检测波长: 362 nm;流速: 0.8 mL·min⁻¹;柱温: 40 °C;进样量: 10 μL。

收稿日期: 2007-05-08.

* 通讯作者 Tel / Fax: 86 - 24 - 23986305,

E-mail: dingpingtian@yahoo.com.cn

专属性 图 1(A)为一个典型的未给药裸鼠在体经皮微渗析样品直接进样后得到的 HPLC 色谱图,图 1(B)是给药后微渗析样品的 HPLC 色谱图。由图可见,空白微渗析样品对于美洛昔康的测定无干扰。

工作曲线及精密度 精密称取美洛昔康适量,用生理盐水溶解并稀释为 0.015, 0.031, 0.067, 0.353, 0.748 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,准确量取各标准溶液 10 μL 进样。以样品的峰面积 (A) 对标准溶液质量浓度 (C, $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 应用最小二乘法线性回归处理后得工作曲线方程: $A = 39\,423C + 1\,121.6$ ($r = 0.9995$)。可见在以上浓度范围中,方程的线性良好。

配制高、中、低 3 个不同浓度的美洛昔康生理盐水溶液,1 日内连续进样 5 次,测定结果用于计算日内差,1 周内连续 3 天进样,测定结果用于计算日间差。实验结果表明日内、日间差分别为 (1.44 \pm 0.34)% 和 (1.39 \pm 0.32)%, 说明该分析方法稳定。

美洛昔康贴剂在体经皮微渗析实验

探针的植入 裸鼠用 20% 乌拉坦麻醉 (10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) 后固定于鼠板上。将探针植入裸鼠真皮中 (每次实验植入深度应尽量保持一致)。裸鼠周围环境的温度控制在 37 ~ 39 $^{\circ}\text{C}$ 。探针植入后,以生理盐水为灌注液,流速设定为 1 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 冲洗 1.5 h。

反向渗析法测定探针的在体回收率 反向渗析法 (retrodialysis method) 通常用于测定探针在体回收率,用一系列的含不同浓度的药物灌注液对空白组织进行微渗析实验,由于组织液中不含药物,灌注液中的药物向组织中扩散,致使渗析液样品中的药物浓度 (C_d) 小于灌注液中的浓度 (C_p), 即 $C_d - C_p < 0$; 以 $C_d - C_p$ 对 C_p 作图,得到直线的斜率 (R) 即为在体回收率^[2,7]。

实验中冲洗期后,分别用 0.017, 0.049, 0.170, 0.293, 0.466 和 0.893 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的美洛昔康的生理盐水溶液为灌注液,流速为 1.0 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 收集微渗析样品用于测定。更换灌注液后,在收集下一个样品之前,冲洗期至少 30 min。

美洛昔康贴剂的透皮吸收实验 冲洗期后,将美洛昔康贴剂样品 0.79 cm^2 (直径为 1 cm) 贴于裸鼠腹部皮肤,使得探针的渗析窗位于贴片的正下方。在 0 ~ 1, 1 ~ 2, 2 ~ 3, 3 ~ 4, 4 ~ 5, 5 ~ 6, 6 ~ 7 和 7 ~ 8 h 间隔收集渗析液样品,注入 HPLC 系统进行测定。

结果与讨论

1 美洛昔康贴剂裸鼠在体经皮微渗析实验

渗析液中美洛昔康的浓度对取样时间间隔的中间点作图 (图 2)。由图可见贴剂给药后,美洛昔康经皮吸收后迅速达到稳态浓度 (24 ~ 50 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

以渗析液中累积流出的药量对取样时间间隔的中间点作图 (图 3), 可见美洛昔康贴剂的经皮吸收遵从零级渗透动力学规律,其线性方程为 $Q = 2.201t - 0.331$ ($R^2 = 0.993$), 直线的斜率即为渗析

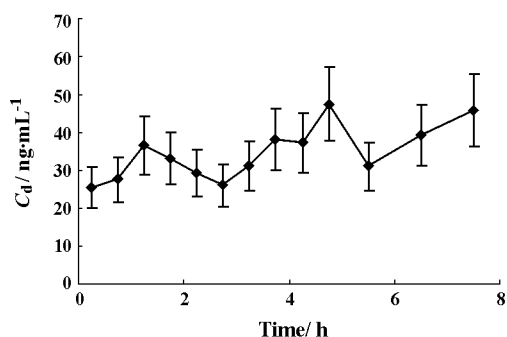


Figure 2 Profile of the concentration of meloxicam in dialysate samples versus time ($n = 3$)

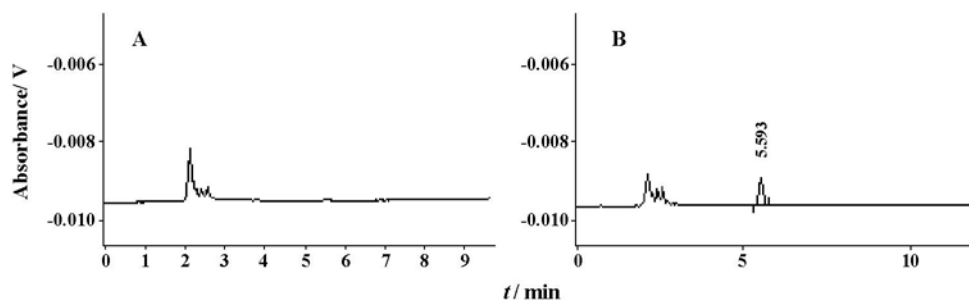


Figure 1 Typical HPLC chromatograms of the cutaneous microdialysis samples. A: Blank microdialysis sample; B: Sample after drug administration

液中的药物透皮吸收的稳态流量，直线的反向延长线与 x 轴交点处的时间即为滞后时间，仅为 0.15 h。可见美洛昔康贴剂在基质中的扩散与皮肤中的分配过程极快，有利于贴剂药效的发挥。

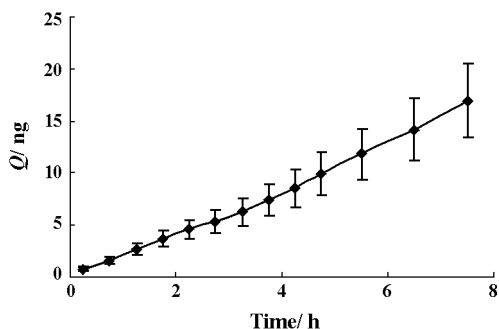


Figure 3 Cumulative plots of meloxicam in dialysate versus time

2 美洛昔康在皮肤中的浓度

药物经皮吸收的主要屏障为角质层，如果药物经皮吸收到达真皮组织，则可以迅速向病灶部位扩散，所以真皮中药物的游离浓度与药效有着较密切的关系，测定药物经皮吸收后在皮肤中的浓度有重要的意义。真皮中药物的游离浓度可由公式 (1) 计算求得 [2,4,5]。

$$C_{\text{dermis}} = C_d \cdot R^{-1} \quad (1)$$

式中， C_d 为渗析液中药物的浓度， R 为微渗析探针的在体回收率。

图 4 是应用反向渗析法对探针在体回收率的测定结果。由图可见，渗析液与灌注液之间的药物浓度差 ($C_d - C_p$) 与灌注液中药物的浓度 (C_p) 之间具有良好的线性关系， $(C_d - C_p) = -0.1399C_p - 0.0028$ ($r = 0.998$)。由该方程计算的在体回收率为 14.0%。

图 5 为美洛昔康在皮肤中的浓度-时间曲线，其形状与图 2 一致。可以看出美洛昔康贴剂给药后，

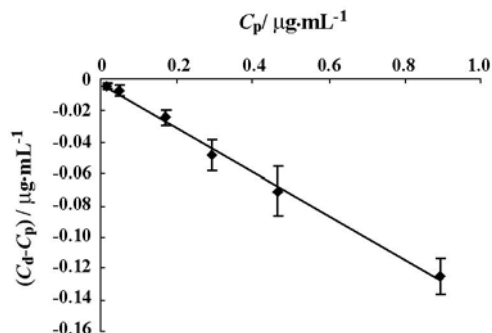


Figure 4 Characterization of the probe in hairless mouse ($n = 3$)

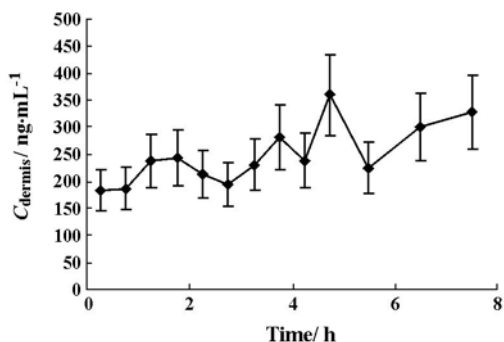


Figure 5 Profile of the concentration of meloxicam in dermis versus time in hairless mouse

美洛昔康经皮吸收后在裸鼠皮肤中的浓度迅速达到稳态浓度，并在实验时间内持续维持该浓度。

微渗析技术在药物经皮吸收领域中可用于测定药物在体经皮渗透性及局部用制剂使用后皮肤内药物浓度。在该领域中的应用称之为“经皮微渗析”，可直接测定药物在皮肤中的游离浓度，真实地记录皮肤中药物浓度在整个监测时间范围内连续变化的情况，目前其他技术尚不能达到。药物发挥作用通常与其游离浓度相关，所以微渗析技术的应用对于研究药物动力学与药效学之间的相关性具有重要的意义。

References

- [1] He ZG, Ding PT, Yang LY. One topical patch to contain meloxicam on skin: CN, 1557320 [P]. 2004-12-29.
- [2] Ding PT, Xu H, Zheng JM. Application of microdialysis in pharmacokinetic and drug metabolism studies [J]. Acta Pharm Sin (药理学报), 2002, 37: 316 - 320.
- [3] Ding PT, Wei G, Li H, et al. Study on the recovery of dialysis by concentration difference method [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2001, 36: 690 - 694.
- [4] Ding PT, Xu H, Zheng JM. Microdialysis sampling coupled to HPLC for transdermal delivery study of ondansetron hydrochloride in rats [J]. Biomed Chromatogr, 2000, 14: 141 - 143.
- [5] Jia SC, Ding PT, Cheng D, et al. Cutaneous permeation kinetics and pharmacodynamics of topical lidocaine gel in rat [J]. Acta Pharm Sin (药理学报), 2003, 38: 631 - 633.
- [6] Wei G, Ding PT, Zheng JM, et al. Pharmacokinetics of timolol in aqueous humor sampled by microdialysis after topical administration of the m osetting gels [J]. Biomed Chromatogr, 2006, 20: 67 - 71.
- [7] Shi J, Gao ZB, Wei J, et al. Pharmacokinetics of pingyangmycin hydrochloride in rabbits determined by microdialysis coupled with RP-HPLC [J]. Acta Pharm Sin (药理学报), 2007, 42: 297 - 300.