

丙酸氟替卡松乳膏体外透皮吸收量测定

丁水生¹, 肖学成², 李金², 陈凤², 李丹²

(1. 广东省佛山市禅城区南庄医院药剂科, 528061; 2. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065)

摘要 目的 建立丙酸氟替卡松乳膏中体外透皮接收液的高效液相色谱(HPLC)测定方法, 研究丙酸氟替卡松乳膏的透皮能力。方法 采用 Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸氢二胺(用磷酸溶液调 pH 至 3.5)-乙腈(55:35:15), 柱温为 55 ℃; 检测波长为 240 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。体外透皮实验采用改良的 Franz 扩散池, 以体外乳猪皮作为透皮屏障, 比较自制乳膏与市售乳膏的透皮结果, 分别在不同时间点取样测定透皮接收液中丙酸氟替卡松浓度, 计算累积透皮量。结果 丙酸氟替卡松在 0.050 2~1.003 0 μg·mL⁻¹ 浓度范围内峰面积与浓度之间呈良好的线性关系($r=0.999\ 8$), 回归方程为 $A=47\ 709.364\ 7\times C+300.774\ 4$, 平均回收率 99.58%。自制乳膏与市售乳膏的透皮结果差异无统计学意义。结论 该检测方法操作简便, 快速准确, 是考察丙酸氟替卡松乳膏体外透皮吸收量较理想的方法。

关键词 丙酸氟替卡松乳膏; 透皮吸收; 色谱法; 高效液相

中图分类号 R986; R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)12-1613-03

Determination of Percutaneous Absorption of Fluticasone Propionate Cream by HPLC

DING Shui-sheng¹, XIAO Xue-cheng², LI Jin², CHEN Feng², LI Dan² (1. Department of Pharmacy, Nanzhuang Hospital, Foshan 528061, China; 2. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT Objective To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for quantitative determination of fluticasone propionate in percutaneous solution, and investigate the ability of percutaneous penetration of fluticasone propionate cream. **Methods** Hypersil ODS C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. Mobile phase was as follows: methanol-1.15 g·L⁻¹ ammonium dihydrogen phosphate (adjusted to pH 3.5)-acetonitrile (55:35:15 in volume). The column temperature was set at 55 ℃. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 240 nm. Improved Franz type diffusion cells were used *in vitro* permeation studies and excised minipig's skins *in vitro* were used as a transdermal barrier. The concentration of fluticasone propionate in the receptor solution was determined by HPLC to investigate its cumulative permeation quantities at different time points respectively, which were compared with those of the commercial cream. **Results** The regression equation of penciclovir was linear in the range of 0.050 2~1.003 0 μg·mL⁻¹ ($A=47\ 709.364\ 7\times C+300.774\ 4$, $r=0.999\ 8$). The average recovery was 99.58%. A good linear relationship existed between the cumulative penetration quantities and the time. There was no significant difference in the skin permeation quantities between the self-made cream and commercial cream. **Conclusion** The method was simple, rapid, and accurate. It is a better method to evaluate the characteristics of permeation for fluticasone propionate.

KEY WORDS Fluticasone propionate cream; Percutaneous absorption; High performance liquid chromatography

丙酸氟替卡松具有很强的抗炎和局部血管收缩作用, 主要用于治疗银屑病和白癜风。其引起皮肤变薄、变态反应和对下丘脑-脑垂体-肾上腺轴的抑制作用弱, 不良反应少。丙酸氟替卡松乳膏亲脂性较好, 外用时能与人体皮肤组织以及糖皮质激素受体很好地结合^[1], 具有较高的脂溶性^[2], 在用药部位停留时间长^[3]。目前, 市场上该制剂有进口和国产各一家, 笔者在本研究中建立了高效液相色谱(HPLC)法测定丙酸氟替卡松乳膏体外透皮吸收量, 研究丙酸氟替卡松

乳膏的透皮能力, 报道如下。

1 仪器与材料

1.1 仪器 HJ-4A 型数显恒温多头磁力搅拌器(金坛市岸头中旺实验仪器厂); 改进的 Franz 立式扩散池; KNAUER 高效液相色谱仪; AUV220D 分析天平(日本岛津)。

1.2 试剂 市售丙酸氟替卡松乳膏(葛兰素史克集团公司, 批号: C443237); 自制丙酸氟替卡松乳膏; 0.9% 氯化钠溶液(国药集团化学试剂有限公司); 无水乙醇(分析纯, 宜兴市晨天化工有限公司); 甲醇(色谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 乙腈(色谱纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 磷酸氢二胺(上海新宝精细化工厂); 丙酸氟替卡松对照品(欧洲药典委员

收稿日期 2012-06-12 修回日期 2012-07-10

作者简介 丁水生(1972-), 男, 湖北应城人, 主管药师, 研究方向: 药物分析。电话: 0757-85383061, E-mail: 176777234@163.com。

会提供,批号为:007205)

1.3 动物 实验用小型猪为巴马香猪,体质量 6.8 kg,重庆宗申医达生物技术研发有限公司提供,实验动物许可证号:SCXK(渝)2010-001。

2 方法与结果

2.1 丙酸氟替卡松乳膏的制备 将液状石蜡、十八十六醇、肉豆蔻酸异丙酯组成油相;将纯化水、丙二醇、鲸蜡醇聚醚-20、磷酸氢二钠、枸橼酸、咪唑烷基脲组成水相,分别加热至 85~90℃,在搅拌下将水相加至油相中,制成软膏基质。将丙酸氟替卡松乳膏用无水乙醇溶解,在搅拌下加入到上述基质中,混合均匀,即得。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品储备液的制备 取丙酸氟替卡松对照品 20 mg,精密称定,置于 1 000 mL 量瓶,用 0.9% 氯化钠溶液-无水乙醇(50:50)作溶剂,溶解,定容,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取“2.2.1”项储备液 3 mL 置于 100 mL 量瓶,加溶剂溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。

2.2.3 样品溶液的制备 取丙酸氟替卡松乳膏适量(0.5 g),均匀涂布于 Franz 扩散池猪皮上,按照透皮实验方法,取接收液用孔径 0.45 μm 滤膜过滤,取续滤液作为样品溶液。

2.2.4 空白基质液的制备 取空白基质 0.5 g,均匀涂布于 Franz 扩散池的猪皮上,按照透皮实验方法,取接收液用孔径 0.45 μm 的滤膜过滤,取续滤液作为空白基质液。

2.3 色谱条件 色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相:甲醇-0.01 mol·L⁻¹磷酸氢二胺(用磷酸调 pH 至 3.5)-乙腈(55:35:15),柱温 55℃;检测波长 240 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。

2.4 专属性 分别取“2.2.2”项对照品溶液,12 h 后的“2.2.3”项样品溶液和 12 h 后的“2.2.4”项空白基质液各 20 μL 分别进样,记录色谱图,结果见图 1。

结果表明,空白基质不会对皮肤产生影响,且空白基质在丙酸氟替卡松主峰处无吸收峰,故对丙酸氟替卡松含量测定无干扰。

2.5 标准曲线的绘制 精密量取“2.2.1”中对照品储备液适量,分别制备成浓度为 0.05,0.10,0.40,0.60,0.80,1.00 μg·mL⁻¹ 的系列标准溶液。分别取 20 μL 进样,每样进 2 针。以丙酸氟替卡松的平均峰面积(A)为纵坐标,以丙酸氟替卡松浓度(C)为横坐标,进行线性回归。结果表明,用本法测定丙酸氟替卡松溶液,在 0.050 2~1.003 0 μg·mL⁻¹ 的浓度范围内

峰面积与浓度之间呈良好的线性关系,回归方程为 $A = 47\ 709.364\ 7 \times C + 300.774\ 4$, $r = 0.999\ 8$ 。

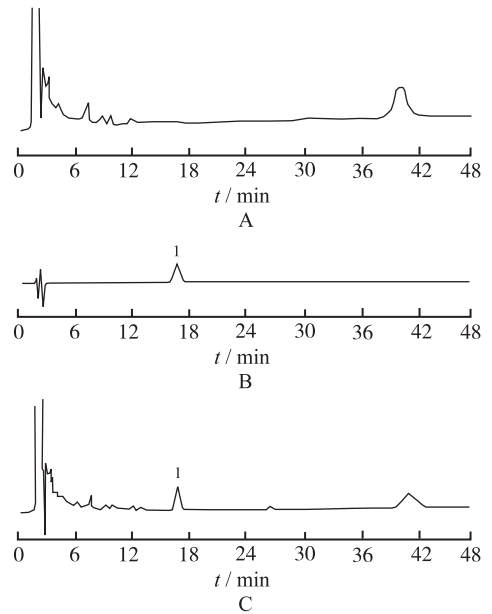


图 1 3 种溶液的 HPLC 图谱

A. 空白基质接收液;B. 对照品;C. 12 h 后的接收液;1. 丙酸氟替卡松

Fig. 1 HPLC chromatogram of 3 kinds of solution

A. blank matrix reception solution;B. reference substance;C. reception solution after 12 hours;1. fluticasone propionate

2.6 精密度与回收率实验 精密量取“2.2.1”中对照品储备液适量并稀释成浓度约为 0.1,0.6,1.0 μg·mL⁻¹ 低、中、高 3 个浓度的对照品溶液,分别于 1 d 内重复进样 5 次,连续进样测定 5 d,日内精密度 RSD 为 1.03%,日间精密度 RSD 为 1.57%。取 3 份丙酸氟替卡松溶液,分别加入等量的丙酸氟替卡松对照品贮备液,摇匀后,各进样 20 μL,测定峰面积,连续 5 次,代入标准曲线,换算成实际测定浓度,计算得低、中、高 3 种浓度的回收率分别为 99.89%,98.22% 和 100.64%,平均回收率为 99.58%。

2.7 体外透皮实验

2.7.1 体外猪皮的制备 巴马香猪处死后立即用电动剪刀剪去腹部皮肤毛,去除皮下脂肪后用 0.9% 氯化钠溶液冲洗干净,置于 0.9% 氯化钠溶液中浸泡约 30 min,取出,用滤纸吸干,备用。

2.7.2 透皮方法 取改进的 Franz 立式扩散池 2 个,平均分成两组。取制备好的体外猪皮置于 Franz 立式扩散池的两个半池之间,用夹子固定好。皮肤角质层朝上,均匀涂抹自制丙酸氟替卡松乳膏 0.5 g(相当于

丙酸氟替卡松 0.5 mg), 在接收池中加接收液 14 mL, 使液面与皮肤刚好接触, 扩散面积为 4.7 cm², 水浴为 (37.0 ± 0.5) °C。用磁力搅拌器定速搅拌 (300 r · min⁻¹), 分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 各取接收液 1 mL, 每次取样后, 随即补加 1 mL 备用接收液到接收室内。同法, 将市售乳膏涂于皮肤上, 制备上述各时间点的接收液。

2.8 样品测定 分别取自制乳膏接收液和市售乳膏接收液经孔径 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

分别精密量取“2.2.2”的对照品溶液、样品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。并用以下公式计算出各时间点的单位面积累积渗透量(Q):

$$Q_n = V_o \times q_n / V + \sum_{i=1}^{n-1} q_i$$

式中 V_o 为接收液总体积, V 为取样量, q_n 为第 n 次

实测单位面积渗透量 (q_n = 样品峰面积 × 对照品浓度 × 接收液取样量 / (对照品峰面积 × 释放面积)), q_i 为第 n 次前每次测得的单位面积渗透量。

各取样点自制样品和市售样品的单位面积累积渗透量结果见表 1。以单位面积累积渗透量对时间进行线性回归, 所得斜率即为透皮速率, 对两种乳膏的单位面积平均累积渗透量作方差分析, 结果见表 2, 3。

表 1 自制和市售样品在不同时间单位面积平均累积渗透量

Fig. 1 The average cumulative permeation amount per unit area of homemade and commercially available samples at different time

样品	0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h
自制	0	0.105	1.054	2.711	4.247	6.760	9.593
市售	0	0.171	1.065	2.967	4.421	6.512	9.265

表 2 自制和市售样品单位面积累积渗透量(Q)及透皮速率

Fig. 2 The cumulative infiltration quantity(Q)and transdermal rate per unit area of homemade and commercially available samples

样品	回归曲线方程	r	透皮速率(J)/ [μg · (cm ²) ⁻¹ · h ⁻¹]	12 h 累积渗透量/ [μg · (cm ²) ⁻¹]
自制	Y=0.876 2X-0.742 0	0.997 3	0.876 2	9.593
市售	Y=0.835 6X-0.528 9	0.998 0	0.835 6	9.265

表 3 12 h 后自制和市售样品累积渗透量的方差分析

Fig. 3 Variance analysis for the cumulative infiltration quantity of homemade and commercially available samples after 12 hours

变异来源	离均差平方和 SS	自由度	均方 MS	F 值	P 值
组间	0.002	1	0.002		
组内	0.017	6	0.003	0.771	0.414

3 讨论

由于丙酸氟替卡松在水中几乎不溶, 而可溶于乙醇, 考虑到丙酸氟替卡松的溶解性及皮肤的生理特性, 选用 0.9% 氯化钠溶液-无水乙醇 (50 : 50) 为透皮接收介质。

实验结果表明, 自制丙酸氟替卡松乳膏与原研厂家生产的丙酸氟替卡松乳膏在拟定的实验条件下, 2 h 之前的透皮接收液均未检出丙酸氟替卡松; 4 h 后有检出, 且 4, 6, 8, 12 h 各取样点的累积渗透量差异无统计

学意义 (P>0.05); 且 7 个取样点的平均累积渗透量差异也无统计学意义 (P>0.05), 表明丙酸氟替卡松乳膏具有良好的皮肤渗透作用。

本实验建立的 HPLC 法简便快速, 可以准确地检测体外透皮接收液中的丙酸氟替卡松浓度, 满足透皮吸收制剂研究的要求, 为丙酸氟替卡松乳膏的体外研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 王家璧, 晋红中, 刘跃华. 丙酸氟替卡松乳膏和油膏治疗湿疹疗效观察 [J]. 中华皮肤科杂志, 1995, 2 (2): 230-131.
- [2] JOHNSON M. Development of fluticasone propionate and comparison with other inhaled corticosteroids [J]. J Allergy Clin Immunol, 1998, 101 (4 Pt 2): 434-439.
- [3] CHU A C, MUNN S. Fluticasone propionate in the treatment inflammatory dermatoses [J]. Br J Clin Pract, 1995, 49 (3): 131-133.

DOI 10.3870/ydyb.2012.12.028