

# 延胡索乙素柔性脂质体的制备与透皮吸收

刘广<sup>1\*</sup>, 齐娜<sup>2</sup>, 孙考祥<sup>3</sup>, 张延惠<sup>1</sup>

(1. 桂林天和药业股份有限公司, 广西 桂林 541100; 2. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541004;  
3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003)

**[摘要]** 目的: 制备延胡索乙素柔性脂质体, 研究其透皮吸收效果。方法: 采用薄膜分散法制备延胡索乙素柔性脂质体, 改良的 Franz 扩散池法研究其透皮吸收。结果: 制备的延胡索乙素柔性脂质体包封率 82.7%, 粒径(112.3 ± 59.2) nm, 基本呈正态分布。该制剂 12 h 内累积渗透量 2 121 μg, 明显高于对照组酊剂的 1 153 μg; 在皮肤内滞留率 53.9%, 明显高于酊剂的 11.2%。结论: 制得的延胡索乙素柔性脂质体透皮效果较酊剂好。

**[关键词]** 延胡索乙素; 柔性脂质体; 透皮吸收; 渗透

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0037-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013080037

## Preparation and Transdermal Absorption of *dl*-tetrahydropalmatine Flexible Liposomes

LIU Guang<sup>1\*</sup>, QI Na<sup>2</sup>, SUN Kao-xiang<sup>3</sup>, ZHANG Yan-hui<sup>1</sup>

(1. Guilin Tianhe Pharmaceutical Co. Ltd, Guilin 541100, China;  
2. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China;  
3. College of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare *dl*-tetrahydropalmatine flexible liposomes and study its transdermal absorption effect. **Method:** The flexible liposomes was prepared by film dispersion method, modified Franz diffusion cell method was used to study its transdermal absorption effect. **Result:** Particle size of the flexible liposomes was (112.3 ± 59.2) nm with a normal distribution basically, entrapment efficiency was 82.7%. Cumulative permeation amount of *dl*-tetrahydropalmatine flexible liposomes was 2 121 μg within 12 h, which was significantly higher than that of tincture (1 153 μg). The retention rate in skin was 53.9%, which was obviously higher than that of tincture (11.2%). **Conclusion:** Transdermal absorption effect of these prepared *dl*-tetrahydropalmatine flexible liposomes was superior than that of tincture.

**[Key words]** *dl*-tetrahydropalmatine; flexible liposomes; transdermal absorption; permeation

延胡索乙素又称四氢巴马汀(*dl*-THP), 具有毒性低、安全性大、无成瘾性等优点, 属于非麻醉性镇痛药。临床主要用于镇痛<sup>[1-3]</sup>和镇静安定<sup>[4]</sup>, 其镇痛作用比吗啡弱, 但比一般解热镇痛药强, 对慢性持续性疼痛效果较好, 但对创伤及手术后疼痛的作用较差。此外还有降压<sup>[5]</sup>、镇咳<sup>[6]</sup>、肝损伤<sup>[7]</sup>等方面

作用。柔性脂质体<sup>[8-9]</sup>是由亲油和亲水的双亲分子所构成的类脂质膜, 与皮肤组织相容性较好, 可包封油溶性和水溶性药物, 并具有变形渗透性、直径微小等特点。*dl*-THP 作为外用制剂的研究已有报道<sup>[10-12]</sup>, 但存在皮肤透过量较少的问题, 本实验拟将其制备成柔性脂质体制剂, 并考察该制剂的透皮吸收, 以达到增加透皮吸收的目的。

### 1 材料

BP2215 型电子分析天平 (Sartorius 公司), VCX-750 型超声细胞破碎仪 (宁波新芝生物科技股

**[收稿日期]** 20121031(020)

**[通讯作者]** \*刘广, 硕士, 工程师, 从事中药外用制剂研究, Tel:13667836040, E-mail:liuguang\_007@126.com

份有限公司), 380ZI 型粒度测定仪(美国 PSS 公司), LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), 实验室 pH 计(梅特勒-托利多公司), TDL-4 型离心机(上海安亭科学仪器厂), TT-6 型药物透皮扩散试验仪(天津市正通科技有限公司), 延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0726-9605), 注射用大豆卵磷脂(上海太伟制药有限公司), 胆固醇(医药级, 广东省珠海嘉成医药有限公司), 胆酸钠(食品级, 广州市鑫晨工贸有限公司), 豚鼠[桂林医学院实验动物中心, 动物合格证号 SCXK(桂)2007-0001], 水为纯化水, 甲醇、磷酸为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 延胡索乙素含量测定

**2.1.1 检测波长的选择** 称取卵磷脂、胆固醇、胆酸钠和 *dl*-THP 适量, 分别配制成溶液, 于 200 ~ 400 nm 扫描。结果 *dl*-THP 在 280 nm 处有较大吸收峰, 而卵磷脂, 胆酸钠, 胆固醇在此波长下几乎无吸收。

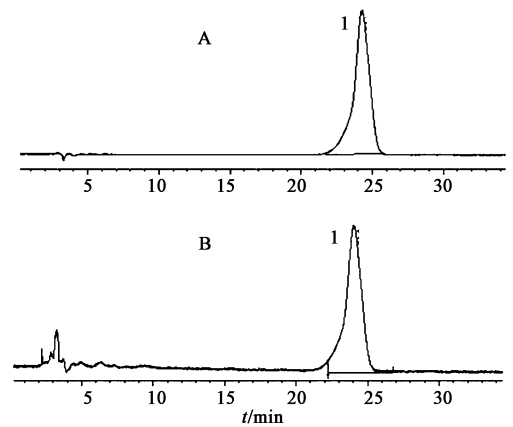
**2.1.2 色谱条件**<sup>[13]</sup> Vp-ODS 色谱柱(4.6 mm × 25 cm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0)(58:42), 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 280 nm, 进样量 20 μL。

**2.1.3 方法学考察** 称取适量 *dl*-THP 对照品和样品, 加甲醇溶解并定容, 按 2.1.2 项下方法进样。结果 *dl*-THP 在 2.4 ~ 180 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好, 回归方程  $Y = 16\,490X + 2\,363.3$  ( $R^2 = 0.9997$ ); 精密密度考察峰面积 RSD 0.66%; 重复性试验, *dl*-THP 平均质量 1.78 mg, RSD 0.98%, 包封率 74.4%; 稳定性试验发现, 在 8 h 内 *dl*-THP 峰面积 RSD 0.25%; 加样回收试验表明 3 个不同加入量水平的 *dl*-THP 的平均回收率 97.65%, RSD 0.68%。表明此检测方法准确可靠, 见图 1。

**2.2 包封率测定** 取延胡索乙素柔性脂质体(*dl*-THPFL)样品适量, 精密量取 2.0 mL, 置离心管内, 高速离心(15 000 r·min<sup>-1</sup>)离心 15 min, 取出, 得游离 *dl*-THP 上清液和 *dl*-THPFL 沉淀, 分别置 50 mL 量瓶内, 加甲醇适量溶解并定容, 分别注入高效液相色谱仪, 检测 *dl*-THP 含量, 计算包封率。

$$\text{包封率} = [C_{\text{脂}} / (C_{\text{游}} + C_{\text{脂}})] \times 100\%$$

**2.3 延胡索乙素柔性脂质体制备** 依次称取卵磷脂、胆固醇及 *dl*-THP 500, 150, 120 mg, 加乙醚 50 mL, 溶解制得溶液 A; 称取磷酸氢二钠、磷酸二氢钠适量, 加水制备成 pH 8.0 的磷酸缓冲液, 加入胆酸钠 50 mg, 制得 20 mL 溶液 B。精密量取 10 mL 溶液



A. 对照品; B. 供试品; 1. 延胡索乙素

图 1 延胡索乙素柔性脂质体 HPLC

A, 置于旋转蒸发仪内, 于 40 °C 以 60 r·min<sup>-1</sup> 转速挥掉溶剂成膜, 加入溶液 B, 超声, 制备成初脂质体, 用超声细胞破碎仪于 250 W 超声 30 s, 频率 1 s/次, 即得<sup>[14]</sup>。测得包封率 82.7%, 粒径检测(112.3 ± 59.2) nm, 基本呈正态分布。

**2.4 透皮扩散试验** 采用改良的 Franz 扩散池, 取雄性成年豚鼠(400 ~ 450 g)一只, 处死后剥离完整无损皮肤, 电动剃毛器除毛, 勿损伤皮肤。剪下约 2 cm<sup>2</sup> 处理好的皮肤, 夹在扩散池盖与扩散池之间, 扩散池面积 1.0 cm<sup>2</sup>, 容积 12.5 mL, 将含有 *dl*-THP 的药物制剂均匀涂布于皮肤表面上, 扩散池内加入等渗接收溶液, 皮肤的内表面浸在等渗溶液中, 循环水控制水浴温度 37 °C, 间隔一定时间取样, 更换接收液<sup>[15]</sup>, 0.22 μm 超滤膜滤过, 进行 HPLC 检测, 重新加入接收液继续检测下个时间段的透皮情况。

**2.4.1 检测方式** 参考 *dl*-THPFL 检测方法, 为缩短 *dl*-THP 检测时间, 修改了流动相的比例, 调整为甲醇-0.1% 磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0)(65:35), 经方法学考察, 准确可靠。线性关系考察 *dl*-THP 在 2.1 ~ 159.0 mg·L<sup>-1</sup> 有良好线性关系, 回归方程  $Y = 14\,979X - 6\,218$  ( $R^2 = 0.9998$ ), 精密密度试验重复测定 6 次, 结果 RSD 0.37%。

**2.4.2 接收溶液 pH 考察** 称取适量磷酸二氢钾和磷酸氢二钾, 配制成 pH 分别为 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 的缓冲溶液, 作为接收溶液。取 *dl*-THPFL 样品适量, 离心, 取离心沉淀适量, 涂布于离体皮肤, 进行检测, 比较 6 h 后接收液内 *dl*-THP 质量。结果分别为 894, 769, 545, 318, 227 μg, 说明 pH 6.0 的接收液内含药量最大, 溶液呈弱酸性, 有利于药物从皮肤表面扩散至接收液中, 且较接近生理条件。

**2.4.3 延胡索乙素酞剂的制备** 称取适量 *dl*-THP,加 70% 乙醇使溶解,制成质量浓度  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液,即得。

**2.4.4 全皮透过性考察** 取 *dl*-THPFL 适量,选择 pH 6.0 接收溶液,分别于 1,2,3,4,6,8,12,24 h 分别取样,测定接收溶液中 *dl*-THP 含量,计算其渗透量。另制备 *dl*-THP 酞剂,按上法操作,作为对照组,评价 *dl*-THPFL 的皮肤外用给药的透皮能力。结果见图 2。说明在开始的 2 h 内脂质体的渗透速率较慢于酞剂,但 4 h 后变快,于 12 h 的累积渗透量  $2\ 121 \mu\text{g}$ ,酞剂则为  $1\ 153 \mu\text{g}$ 。

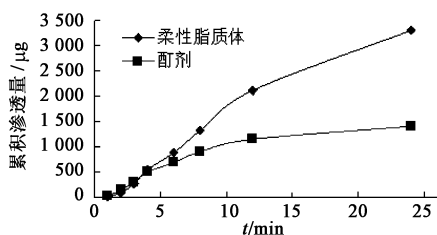


图 2 延胡索乙素累积透皮吸收曲线

**2.4.5 离体皮肤药物滞留量** 于 2.4.3 试验终止后,取下皮肤,洗净皮肤表面残余药物,将皮肤剪碎,加少量甲醇匀浆。匀浆液转移入离心管中,加适量甲醇,涡旋振荡 10 min,离心,上清液倾入量瓶中,沉淀用少量甲醇重提 1 次,合并上清液,加甲醇稀释至刻度,摇匀,测定 *dl*-THP 含量 ( $n=2$ ),计算滞留率,滞留率 = 滞留量/加药量  $\times 100\%$ 。结果 *dl*-THPFL 在皮肤内滞留率 53.9%,酞剂滞留率 11.2%。

### 3 讨论

本实验建立的检测方法准确可靠,简化了样品处理过程,缩短了检测时间,但多次检测后,柔性脂质体的基质会污染色谱系统,建议检测完毕后及时冲洗色谱系统。采用薄膜分散法制备的柔性脂质体,粒径和包封率均满足外用制剂要求;离体皮肤透过试验接收液 pH 选择 6.0,接近生理条件,且使弱碱性药物 *dl*-THP 以解离型不断地扩散至等渗接收溶液中,有利于药物扩散;在 12 h 的累积渗透量约为酞剂的 2 倍;在皮肤内的滞留率远高于酞剂的滞留率,形成了药物储库。总之,采用薄膜分散法制备的延胡索乙素柔性脂质体,透皮效果较酞剂好,增加了药物透过量,作为局部镇痛治疗药物成为可能,基

本达到实验目的;但通过透皮吸收用于全身或较大范围的应用,应考虑透皮速率问题,考虑添加透皮吸收促进剂,具体有待于进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 高金成,李智帅,王连主,等. 延胡索乙素穴位注射用于手术镇痛[J]. 山东中医杂志,2007,26(10):686.
- [2] 卞春甫. 四氢巴马汀镇痛的心血管因素[J]. 中国药理学会通讯,2000,17(2):48.
- [3] Hu J Y, Jin G Z. Supraspinal D2 receptor involved in antinociception induced by 1-tetrahydropalmatine [J]. Acta Pharmacol Sin,1999,20(8):715.
- [4] 黄锦煜,方敏,李嫣婧,等. 延胡索在三叉神经痛大鼠模型中的镇痛作用研究[J]. 南方医科大学学报,2010,30(9):2161.
- [5] 邵翎宁,颜清明,颜梅,等. 左旋四氢巴马汀对门静脉压的影响及其机制[J]. 中国药理学通报,1995,11(3):248.
- [6] 龚彩珍. 左旋四氢巴马汀治疗顽固性咳嗽疗效观察[J]. 今日科技,1998,41(6):35.
- [7] 闵清,白育庭,舒思洁,等. 延胡索乙素对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中国中药杂志,2006,31(6):483.
- [8] 龙晓英,易军. 柔性囊泡-柔性脂质体透皮研究新进展[J]. 国外医药——合成药、生化药、制剂分册,2002,23(26):363.
- [9] 王森,欧水平,朱卫丰,等. 柔性脂质体在中药经皮给药制剂中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):30.
- [10] 徐剑,张智豪,张永萍. 延胡索乙素贴剂处方研究[J]. 中南药学,2008,6(2):148.
- [11] 钱励,马臻,张望刚,等. 透皮促进剂对消旋延胡索乙素体外经皮渗透的影响[J]. 中国药理学杂志,2010,45(19):1484.
- [12] 张超. 氮酮对骨平巴布膏中延胡索乙素在体经皮吸收的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(16):14.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 2010:130.
- [14] 牛瑞,孙谧,于建生,等. 抗氧化肽纳米柔性脂质体的制备及配方优化研究[J]. 渔业科学进展,2011,32(2):89.
- [15] 吴培诚,彭学东. 熊果苷柔性脂质体经皮渗透体系的初步研究[J]. 临床医药工程,2009,16(8):8.

[责任编辑 仝燕]