

渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透的影响^Δ

张丽华^{1,2*}, 宋洪涛^{1#}, 王 烈¹(1.南京军区福州总医院药学科,福州 350025;2.福建卫生职业技术学院,福州 350101)

中图分类号 R972 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)01-0010-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.01.04

摘要 目的:研究常用渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透的影响。方法:采用改良 Franz 扩散池,以 0.9% 氯化钠溶液作为接收液,以增渗倍数(ER)为考察指标,考察 1%、3%、5% 水溶性氮酮溶液,1%、3%、5% 油溶性氮酮溶液,1% 水溶性氮酮丙二醇溶液,5%、10% 油酸溶液,丙二醇等 10 种渗透促进剂对盐酸普萘洛尔透过离体大鼠腹部皮肤的影响。结果:渗透促进效果分别为 3% 油溶性氮酮溶液>10% 油酸溶液>1% 水溶性氮酮丙二醇溶液>5% 油溶性氮酮溶液>1% 水溶性氮酮溶液>3% 水溶性氮酮溶液>1% 油溶性氮酮溶液>5% 水溶性氮酮溶液>5% 油酸溶液>丙二醇。结论:油溶性渗透促进剂对盐酸普萘洛尔的经皮渗透促进作用有强于水溶性渗透促进剂的趋势。

关键词 盐酸普萘洛尔;渗透促进剂;透皮吸收

Effects of Penetration Enhancers on Percutaneous Absorption of Propranolol Hydrochloride

ZHANG Li-hua^{1,2}, SONG Hong-tao¹, WANG Lie¹(1.Dept. of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China;2.Fujian Health College, Fuzhou 350101, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effect of common penetration enhancer on percutaneous absorption of propranolol hydrochloride. METHODS: Using modified Franz diffusion cells, the effects of 10 kinds of penetration enhancer, such as 1%, 3%, 5% water-soluble azone solution, 1%, 3%, 5% oil-soluble azone solution, 1% water-soluble azone propylene glycol solution, 5%, 10% oleic acid solution, propylene glycol, on propranolol hydrochloride permeating across isolated abdominal skin of rats were investigated using normal saline as receptor fluid and enhancement ratio as index. RESULTS: The effect of different enhancers: 3% oil-soluble azone solution>10% oleic acid solution>1% water-soluble azone solution>5% oil-soluble azone solution>1% water-soluble azone solution>3% water-soluble azone solution>1% oil-soluble azone solution>5% water-soluble azone solution>5% oleic acid solution>propylene glycol. CONCLUSIONS: The oil-soluble enhancer tends to be better than water-soluble enhancer to enhance percutaneous absorption of propranolol hydrochloride.

KEYWORDS Propranolol hydrochloride; Penetration enhancer; Percutaneous absorption

普萘洛尔为肾上腺素β受体阻滞药,临床上主要用于治疗心脏病和高血压。2008年首次报道了普萘洛尔口服治疗婴幼儿血管瘤,随后的临床研究证实普萘洛尔对各部位的血管瘤都有作用,且起效快、疗效好^[1]。目前临床上多采用口服普萘洛尔治疗婴幼儿血管瘤。但是普萘洛尔因首关效应致其生物利用度不高,只有25%左右进入血液循环,且全身给药可能引发心动过缓、低血压、低血糖等不良反应。与其他给药途径相比,经皮给药更方便,且能避免口服给药可能发生的首关效应及全身不良反应。在药物经皮给药剂型的处方设计中常需要加入渗透促进剂以提高药物经皮渗透性,从而提高药物的疗效。笔者考察了几种国内外常用的渗透促进剂对盐酸普萘洛尔透过大鼠腹部皮肤的促进作用,为研制盐酸普萘洛尔经皮给药制剂奠定了基础。

^Δ 基金项目:福建省科技计划项目(No.2011Y0042);福建卫生职业技术学院教科研基金项目(No.2012-2-02)

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型与制剂新技术。E-mail: zlhforever@yahoo.com.cn

通信作者:教授。研究方向:药物新剂型与制剂新技术。电话:0591-83712298。E-mail:sohoto@vip.sohu.com

1 材料

1.1 仪器

Tp-5透皮扩散实验仪(上海铂凯科技贸易有限公司);超级恒温槽(上海衡平仪器仪表厂);电动剃毛刀(美国Oster公司);电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);高效液相色谱(HPLC)仪(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸普萘洛尔原料药(常州亚邦制药有限公司,批号:20100915,纯度:>98%);油酸(纯度:>99%)、1,2-丙二醇(下简称丙二醇,纯度:>99.8%)、水溶性氮酮(纯度:>98%)、油溶性氮酮(纯度:>98%)均由天津博迪化工有限公司提供;甲醇(上海科丰化学试剂有限公司,纯度:>99.9%);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD大鼠,♂,体质量(200±20)g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,合格证编号:SCXK(沪)2012-008。

2 方法与结果

2.1 离体鼠皮的制备

取SD大鼠,处死后立即剪除腹部鼠毛,取下皮肤,去除皮

下组织,用0.9%氯化钠溶液(生理盐水)反复冲洗干净,浸于生理盐水中,放入冰箱-20℃保存,于1周内用完。每次实验前,目测检查鼠皮完整性,不得有任何破损。

2.2 分析方法的建立

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验。色谱柱:Agilent C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-混合溶液(十二烷基硫酸钠 7.14 g,加磷酸 3 ml,再加水稀释至 1 000 ml,用三乙胺调pH至 3.0)(75:25),流速:1.0 ml/min;柱温:室温;检测波长:290 nm;进样量:20 μl。精密称取盐酸普萘洛尔原料药 20 mg,置于 25 ml 量瓶中,加适量流动相,超声使溶解,定容至刻度,摇匀;精密移取 0.15 ml,用流动相定容至 25 ml,进样测定。结果表明,盐酸普萘洛尔的保留时间为 7.063 min,理论板数按盐酸普萘洛尔计不低于 3 000。另考察了油酸、油溶性氮酮、丙二醇、水溶性氮酮对盐酸普萘洛尔检测的影响,结果上述渗透促进剂和溶剂对盐酸普萘洛尔的测定未见干扰。

2.2.2 标准曲线的制备。精密称定盐酸普萘洛尔原料药 12.5 mg,置于 250 ml 量瓶中,加适量流动相,超声使溶解,定容至刻度,摇匀。精密移取上述溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加流动相定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度分别为 0.5、1、2、4、8、16、32 μg/ml 的系列标准溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。以峰面积(A)对质量浓度(c)进行线性回归分析,得标准曲线方程为 $A=21.52c-1.537$ ($r=0.9997$),结果表明,盐酸普萘洛尔检测质量浓度的线性范围为 0.5~32 μg/ml。

2.2.3 回收率试验。取盐酸普萘洛尔约 8、10、12 mg 各 3 份(分别为标示量的 80%、100%、120%),精密称定,分别置于 250 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀;精密移取上述溶液 1 ml,置于 10 ml 量瓶中,加生理盐水稀释至刻度,摇匀,得低、中、高不同质量浓度的溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液进样测定,记录峰面积,计算低、中、高质量浓度平均回收率为 98.6%,RSD=0.76% ($n=3$)。

2.2.4 精密密度试验。取盐酸普萘洛尔适量,加适量流动相分别配制质量浓度为 2、8、24 μg/ml 的盐酸普萘洛尔溶液,各 5 份,过滤后同日重复进样测定 5 次,考察日内精密密度;每日测定 1 次,连续测定 5 d,考察日间精密密度。结果日内、日间 RSD 均小于 2% ($n=5$)。

2.3 盐酸普萘洛尔在各种 pH 下的溶解度测定

取过量盐酸普萘洛尔原料药,置于 50 ml 三角瓶中,加磷酸盐缓冲液(PBS)适量配成 pH 分别为 5.0、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5 的溶液,且溶液中始终保持有固体药物存在,将上述溶液置于恒温振荡器中振荡 72 h,取出静置,吸取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液进样测定,计算溶解度。结果,盐酸普萘洛尔在 pH 分别为 5.0、6.5、7.5、8.5、9.5、10.5 的溶液中的溶解度分别为 (51.7 ± 2.34) 、 (52.6 ± 1.53) 、 (49.8 ± 2.14) 、 (8.5 ± 1.15) 、 (1.41 ± 0.33) 、 (0.87 ± 0.08) mg/ml。由此可见,当 pH>7.5 时盐酸普萘洛尔的溶解度急剧下降,因而在以下试验中没有考察 pH>7.5 的情况。

2.4 pH 对盐酸普萘洛尔经皮渗透的影响^[2]

采用改良 Franz 扩散池,将鼠皮固定于供给池和接收池之间,使角质层面向供给池,供给池中分别加入 pH 为 5.0、6.5、7.5 的 1% 盐酸普萘洛尔水溶液,接收池中加入 15 ml 生理盐水,分别于 1、2、4、6、8 h 从接收池中取样 2 ml,同时补加等量的相同

温度的生理盐水,将不同时间的接收液经 0.45 μm 微孔滤膜过

滤后,测定药物浓度。按公式^[3]: $Q_n = \frac{c_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} c_i \times V}{A}$ 计算单位面积累积渗透量(Q)。式中, c_n 为第 n 个取样点测得的药物浓度; V_0 为接收池的体积; c_i 为第 i 个取样点测得的药物浓度; V 为取样体积; A 为渗透面积(cm^2)。以 Q 为纵坐标、渗透时间(t)为横坐标,绘制累积渗透曲线,取曲线中的直线部分进行线性回归,所得方程的斜率即为稳态透皮速率 [$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$],结果见表 1。

表 1 pH 对盐酸普萘洛尔经皮渗透影响的考察结果 ($n=6$)
Tab 1 Effects of pH value on percutaneous absorption of propranolol hydrochloride ($n=6$)

pH	回归方程	r^2	$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$
5.0	$Q=17.19t-11.05$	0.987	17.19 ± 0.71
6.5	$Q=14.80t-10.4$	0.993	14.80 ± 0.62
7.5	$Q=11.39t-8.1$	0.962	11.39 ± 0.53

由表 1 结果可知,pH 5.0 时盐酸普萘洛尔更易透过皮肤,且该 pH 与皮肤表面的 pH 接近,因此以下试验选择 pH 5.0 的盐酸普萘洛尔水溶液作为渗透促进剂研究的介质。

2.5 渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用^[4]

本研究考察的渗透促进剂分为油溶性和水溶性两大类,油溶性渗透促进剂(油酸、油溶性氮酮)以丙二醇为溶剂,水溶性渗透促进剂(水溶性氮酮)以水为溶剂,配制一定浓度的渗透促进剂溶液。采用改良 Franz 扩散池,将鼠皮固定于供给池和接收池之间,使角质层面向供给池,在供给池中先加入 5 ml 渗透促进剂溶液或相应的空白溶剂(作对照),接收池中加入生理盐水 15 ml, (32 ± 1) °C 水浴中放置 1 h 后,倾出扩散池中液体,用生理盐水淋洗干净;然后,于供给池中加入 pH 5.0 的 1% 盐酸普萘洛尔水溶液 1 ml,接收池中加入生理盐水 15 ml, (32 ± 1) °C 保温,分别于 1、2、4、6、8 h 从接收池中取样 2 ml,同时补加等量的相同温度的生理盐水。将不同时间的接收液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,进样测定药物浓度(超出线性范围的进行适当稀释),计算 Q;以 Q 对渗透时间(t)作图,对曲线的直线部分进行线性回归。按公式^[4]: $ER = J/J_0$ 计算各渗透促进剂的增渗倍数(ER)。式中, J_s 为使用渗透促进剂后药物的稳态透皮速率, J_0 为不加渗透促进剂时药物的稳态透皮速率,每种渗透促进剂溶液重复 6 次,求均值,结果见表 2。

表 2 渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透影响的考察结果 ($n=6$)

Tab 2 Effects of different penetration enhancers on percutaneous absorption of propranolol hydrochloride ($n=6$)

渗透促进剂	回归方程	r	$J_s, \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	ER
无	$Q=17.19t-11.05$	0.987	17.19 ± 0.71	1.00
1% 水溶性氮酮溶液	$Q=75.55t-58.11$	0.980	75.55 ± 0.34	4.39
3% 水溶性氮酮溶液	$Q=36.84t-18.56$	0.970	36.84 ± 1.12	2.14
5% 水溶性氮酮溶液	$Q=30.69t-24.29$	0.988	30.69 ± 0.21	1.79
1% 油溶性氮酮溶液	$Q=33.04t-30.97$	0.980	33.04 ± 0.66	1.92
3% 油溶性氮酮溶液	$Q=201.3t-229$	0.980	201.3 ± 0.19	11.71
5% 油溶性氮酮溶液	$Q=136t-110.7$	0.960	136.0 ± 0.68	7.91
1% 水溶性氮酮丙二醇溶液	$Q=166.21t-50.09$	0.990	166.21 ± 1.02	8.85
5% 油酸溶液	$Q=23.84t-61.71$	0.940	23.84 ± 0.65	1.39
10% 油酸溶液	$Q=164.6t-226.6$	0.950	164.6 ± 0.65	9.58
丙二醇	$Q=19.35t-30.97$	0.969	19.35 ± 0.59	1.13

由表2结果可知,以ER为评价指标,各种渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用由大到小依次为:3%油性氮酮溶液>10%油酸溶液>1%水溶性氮酮丙二醇溶液>5%油性氮酮溶液>1%水溶性氮酮溶液>3%水溶性氮酮溶液>1%油性氮酮溶液>5%水溶性氮酮溶液>5%油酸溶液>丙二醇。

油性渗透促进剂(油酸、油性氮酮)对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用有强于水溶性渗透促进剂(水溶性氮酮)的趋势。3%油性氮酮溶液的经皮渗透促进作用强于1%、5%油性氮酮溶液,表明促进作用未呈浓度依赖性。10%油酸溶液对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用明显强于5%油酸溶液。水溶性氮酮对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用随浓度的增加反而降低。丙二醇单独使用对盐酸普萘洛尔经皮渗透没有明显促进作用,但与其他渗透促进剂合用时显示出协同作用,如1%水溶性氮酮丙二醇溶液对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用为1%水溶性氮酮溶液的2倍。

3 讨论

氮酮分为油性氮酮与水溶性氮酮,水溶性氮酮是由油性氮酮改性后制成的高效水溶性产品,从而扩大了氮酮的使用范围。氮酮结构由亲脂链和环状内酰胺基团两部分组成,对亲水和亲脂性药物都有渗透促进作用,其渗透促进机制为内酰胺基团与角质层的脂质双分子层的极性端相互作用,而烷基链插入了脂质链中亲脂性更强的区域,使其致密性改变,增加脂质的流动性,从而改善皮肤角质层的通透性,降低药物的扩散阻力^[6]。本试验结果表明,油性氮酮对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用,3%明显强于1%,但5%反而较3%降低;而水溶性氮酮对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用随着浓度的增加反而降低,其中1%水溶性氮酮经皮渗透促进作用最强。因此根据剂型的不同可将3%油性氮酮与1%水溶性氮酮作进一步筛选。

油酸是一种很常用的渗透促进剂。据报道油酸能插入到细胞间的脂质中,使脂质分子层产生扭转效应形成细小的易于渗透的流动性孔道,有效地影响角质层脂质结构的有序排列,增加膜脂流动性^[9]。油酸的常用浓度≤10%,本试验结果

表明5%油酸对盐酸普萘洛尔无明显促渗作用,而10%油酸对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用是5%油酸的6.9倍,呈现一定的浓度依赖性。

丙二醇被广泛作为助渗剂,可以增加很多渗透促进剂(氮酮、油酸、萜类)的溶解度。其可使角质层中角蛋白溶剂化,占据蛋白质的氢键结合部位,减少药物-组织间结合而发挥促渗作用。但是当其单独使用时经皮渗透促进作用不明显,有时反而阻滞药物透过^[7]。

本研究结果表明,油性渗透促进剂对盐酸普萘洛尔经皮渗透的促进作用有强于水溶性渗透促进剂的趋势。但渗透促进剂的具体选用应结合剂型而选择,如制备乳膏或凝胶可选用3%油性氮酮溶液或者10%油酸溶液作为渗透促进剂;如制备水凝胶则可选用1%水溶性氮酮丙二醇溶液作为渗透促进剂。

参考文献

- [1] Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, et al. Propranolol for severe hemangiomas of infancy[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(24): 2 649.
- [2] 孙镜沂,孙永超,丁平田.促渗剂对咪喹莫特体外经皮渗透的影响[J].沈阳药科大学学报, 2008, 25(2): 85.
- [3] 张志华,何周康,何世英,等.盐酸普萘洛尔凝胶的制备及质量评价[J].中南药学, 2012, 10(5): 345.
- [4] 贾士聪.局部用利多卡因凝胶的研究[D].沈阳:沈阳药科大学, 2001: 24-25.
- [5] 杨丽英,朱海虹,丁平田,等.渗透促进剂对美洛昔康经皮渗透的促进作用[J].沈阳药科大学学报, 2006, 23(12): 745.
- [6] 郑俊民.经皮给药新剂型[M].北京:人民卫生出版社, 2006: 46-49.
- [7] 李文兰,王艳萍,季宇彬,等.渗透促进剂对川乌总生物碱和新乌头碱透皮吸收的影响[J].中国药理学杂志, 2007, 42(17): 1 316.

(收稿日期:2013-01-15 修回日期:2013-02-25)

国家食品药品监督管理总局办公厅关于进一步加强疫苗临床试验现场检查的通知

本刊讯 为加强疫苗临床试验质量管理,落实《疫苗临床试验质量管理指导原则(试行)》(食药监药化管[2013]228号)等相关规范性文件要求,国家食品药品监督管理总局将进一步加强疫苗临床试验现场检查,现将有关事项通知如下:

(1)加强疫苗临床试验的质量管理。申办者和临床试验机构应按食药监药化管[2013]228号文件等要求,加大监督和稽查力度,对存在的问题进行整改,严格执行质量管理的各项措施,不断完善疫苗临床试验质量管理体系。

(2)提高疫苗临床试验的透明度。申办者应按《关于药物临床试验信息平台的公告》(2013年第28号)的要求,及时进行疫苗临床试验的登记与信息公示,便于公众获取疫苗临床试验相关信息,发挥社会监督作用。

(3)提高疫苗临床试验伦理审查的独立性和透明度。伦理委员会应按《药物临床试验伦理审查工作指导原则》(国食药监注[2010]436号)、食药监药化管[2013]228号文件等要求,提高伦理审查能力,保证伦理审查独立性,加强伦理审查信息公开,保障受试者权益和安全。

(4)提高疫苗临床试验现场检查的质量和效率。国家食品药品监督管理总局药品认证管理中心按统一要求、统一程序、统一标准、统一组织疫苗临床试验质量管理体系现场检查和疫苗临床试验注册现场核查。检查结果直接报总局药品审评中心,抄送相关省食品药品监督管理局。各省食品药品监督管理局要高度重视现场检查工作,选派合格的检查员,按要求报送疫苗临床试验注册现场核查所需资料。