

不同密度滚轮微针对曲安奈德的透皮促渗作用

张娟娟^{1,2}, 朱全刚³, 张立超² (1. 宁夏医科大学研究生院, 宁夏 银川 750004; 2. 上海市第七人民医院药学部, 上海 200137; 3. 第二军医大学附属长海医院药学部, 上海 200433)

【摘要】 目的 探讨不同密度滚轮微针对曲安奈德经皮渗透的影响。**方法** 采用改良 Franz 扩散池法考察体外经皮渗透特性, 以离体裸鼠皮肤为屏障, 对照组、192 针、540 针滚轮微针处理组分别于 2、4、6、8、10、12 h 取接收液 0.2 ml, 用 HPLC 法测定曲安奈德含量, 计算累积渗透量, 并测定皮肤内曲安奈德滞留量。采用测定血药浓度法考察在体吸收特性, 在体给药 2h 后 HPLC 法测定各组皮肤及血浆中曲安奈德的含量。**结果** 两种密度滚轮微针对曲安奈德均有不同程度的促透作用。离体透皮实验结果显示, 192 针微针处理组和 540 针微针处理组的累积渗透量 Q 分别是对照组的 1.3 倍和 2.2 倍, 相应的皮肤内滞留量也分别是对照组的 1.9 倍和 2.8 倍。在体实验结果显示, 192 针微针和 540 针微针组的皮肤滞留量是对照组的 2.1 和 2.3 倍, 同时也将血药浓度提高了 1.3 倍和 1.4 倍。**结论** 两种不同密度滚轮微针均能有效提高曲安奈德的经皮渗透量, 提高皮肤内药物含量, 同时也导致血药浓度的增加, 且不同密度微针的促透作用有所不同。

【关键词】 滚轮微针; 曲安奈德; 经皮渗透

【中图分类号】 R944.9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1006-0111(2013)06-0415-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.06.005

Effect of different density microneedle-roller on transdermal delivery of triamcinolone acetonide

ZHANG Juan-juan^{1,2}, ZHU Quan-gang³, ZHANG Li-chao² (1. Graduate school of Ningxia Medical University, Ningxia Yinchuan 750004, China; 2. Department of Pharmacy, Shanghai Seventh People Hospital, Shanghai 200137, China; 3. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】 Objective To study the effects of different density microneedle-roller arrays on transdermal delivery of triamcinolone acetonide. **Methods** The in vitro permeation characteristics through isolated nude mouse skin were studied by modified Franz diffusion cells. Levels in the receptor solution of the control group, the 192 needles microneedle rooler group and the 540 needles microneedle rooler group were measured by HPLC at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 h, and sampling volume was 0.2 ml. The accumulative penetration amount were counted and the level of triamcinolone acetonide in skin were determined. Plasma concentrations of triamcinolone acetonide and skin volume were measured 2 hours later after administration by HPLC to observe the penetration of triamcinolone acetonide in vivo. **Results** Different density microneedle-roller could promote the transdermal delivery of triamcinolone acetonide respectively. Transdermal experiment results showed that the cumulative infiltration volume of 192 needles group was about 1.3 times of the control samples, and 540 needles was 2.2 times. Accordingly, skin retention volume were 1.9 times and 2.8 times of the control group respectively. In vivo results showed that skin retention volume were 2.1 times and 2.3 times of control group, while triamcinolone acetonide in plasma were 1.3 times and 1.4 times of control group. **Conclusion** Microneedles could effectively promote the skin permeability and deposition of triamcinolone acetonide, and triamcinolone acetonide in plasma was increased at the same time. The promoting of different density was diverse.

【Key words】 microneedle-roller; triamcinolone acetonide; percutaneous penetration

曲安奈德 (triamcinolone acetonide) 是一种糖皮质激素药物, 常用于治疗增生性瘢痕。但是, 由于皮肤角质层的屏障作用, 直接涂抹曲安奈德经皮难以吸收^[1,2], 而采用瘢痕皮肤内注射给药又存在药物

扩散不均、易外渗和疼痛程度高等缺点, 亦不适合大面积给药^[3,4]。

微针由数百或数千根、长度在几百微米到几毫米不等的细针组成, 使用微针后, 药物可以沿着由微针产生的微孔道直接进入皮肤而又不触及皮下神经, 在促进药物渗透的同时又不引起疼痛和皮肤损伤^[5]。目前国内外微针透皮的研究主要集中于蛋白质、多肽等大分子的给药^[6,7], 且大多应用传统的

【基金项目】 浦东新区科委基金资助 (PKJ2009-Y33)。

【作者简介】 张娟娟 (1988-), 女, 硕士研究生。E-mail: zhangjuanjuan522@126.com。

【通讯作者】 张立超。E-mail: lingli_Z163@163.com。

微针贴片,不适于大面积应用。滚轮微针将传统的微针制成微针滚筒,实现了大面积给药。本实验采用 192 针和 540 针的市售滚轮微针,研究不同密度对曲安奈德经皮吸收的影响,并用 HPLC 法测定药物透皮量、皮肤滞留量和血药浓度,旨在研究两种密度微针对曲安奈德的体外和体内经皮渗透的作用,为进一步应用于临床瘢痕治疗积累数据。

1 材料与仪器

1.1 仪器 SPD-10AVP 高效液相色谱仪(日本岛津公司);改良 Franz 扩散池(第二军医大学附属长海医院);滚轮微针(192 针、540 针,针长 500 μm , Clinical Resolution Laboratory, 美国);TGL-18B 离心机(上海安亭科学仪器厂),超声破碎仪(宁波新芝);电子分析天平(万分之一,上海精科天平)。

1.2 药物、试剂及材料 曲安奈德对照品(批号:100055-200302,中国药品生物制品检定所);醋酸曲安奈德乳膏(0.1%,批号:120602,上海通用药业股

份有限公司);甲醇(色谱纯,Tedia Company Inc,美国);肝素钠注射液(批号:100804,上海第一生化药业有限公司);生理盐水(批号:1208131-1,江苏四环生物制药有限公司)。

1.3 动物准备 6~8 周雄性 BALB/C 裸鼠(第二军医大学动物实验中心)。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定曲安奈德的含量

2.1.1 色谱条件和系统适用性实验 色谱柱:Diagramsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相:测定接收液和皮肤匀浆液时为甲醇-水(70:30),测血浆药量时为甲醇-水(65:35);柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;流速 1.0 ml/min;检测波长 240 nm;进样量 20 μl 。上述条件下色谱图如图 1,接收液和皮肤匀浆液中曲安奈德约 8 min 出峰,血浆液约 10.5 min 出峰,与杂质峰分离较好,且空白皮肤和空白血浆对曲安奈德含量测定无影响。

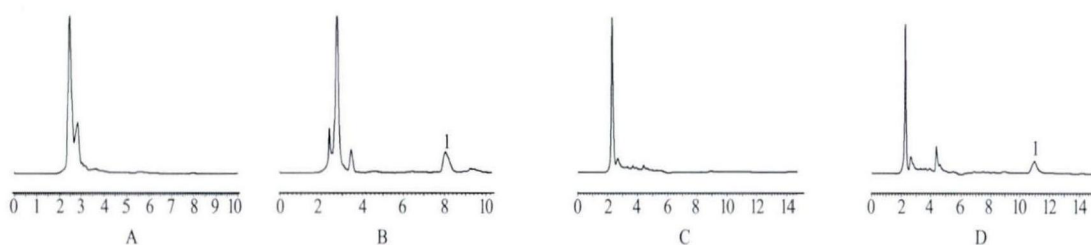


图 1 曲安奈德 HPLC 图谱

A-空白皮肤样液;B-实验组皮肤样液;C-空白血浆样液;D-实验组血浆样液;1-曲安奈德

2.1.2 标准曲线的建立

2.1.2.1 接收液标准曲线建立 取对照品约 25.0 mg,置 50 ml 容量瓶中,加甲醇 35 ml 振摇使溶解,用水稀释至刻度,摇匀,制备成浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的储备液;用接收液(含 20% 乙醇的生理盐水)稀释得 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件测定,以峰面积 A 对曲安奈德浓度 C 进行线性回归,得标准曲线方程: $A = 44\ 713C - 71.065$ ($n = 5$), $r = 0.999\ 9$,即在 0.1~10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内,峰面积与浓度有良好的线性关系。

2.1.2.2 皮肤匀浆液标准曲线建立 空白皮肤匀浆液代替接收液,按上述方法测定,得标准曲线方程: $A = 45\ 627C - 3\ 096.3$ ($n = 5$), $r = 0.999\ 8$,线性范围:0.1~10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.1.2.3 血浆标准曲线建立 分别取 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的曲安奈德对照品溶液 100、50、20、10、2 μl 置具塞试

管中,加入空白血浆 200 μl ,再加入醋酸乙酯-正己烷(4:1) 3.0 ml,涡漩 2 min,静置 10 min,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上层有机相 2.0 ml 于 10 ml 锥底试管。在上述具塞试管中再加入醋酸乙酯-正己烷(4:1) 2.0 ml,进行二次萃取。将 2 次萃取液合并,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴,氮气流下挥干,100 μl 流动相复溶,得浓度为 50、25、10、5、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血浆曲安奈德标准液。经离心、过滤,取滤液 20 μl ,进行 HPLC 检测。得标准曲线方程: $A = 47\ 775C - 3\ 974.2$ ($n = 5$), $r = 0.999\ 4$,线性范围:1~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.1.3 精密度和回收率的测定 分别取接收液和皮肤匀浆液对照品低、中、高 3 个浓度(0.1、1.0、10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$),上述条件下测得接收液和皮肤匀浆液的最大日内 RSD 分别为 2.46% 和 2.31%,最大日间 RSD 分别为 2.91% 和 3.06%。3 种浓度的皮肤匀浆液回收率分别为 104.28%、107.71% 和 103.57%。实验测得血浆低、中、高 3 个浓度(1、10、

50 μg/ml)的最大日内RSD和最大日间RSD分别为3.04%和3.25%。血浆3个浓度的回收率分别为96.61%、88.07%和86.37%。结果显示,符合方法学要求。

2.2 微针对曲安奈德的体外透皮特性考察

2.2.1 离体皮肤的制备

裸鼠拉颈处死后,取下背部皮肤,去除皮下组织后用生理盐水反复冲洗,于4℃冰箱中保存备用。

2.2.2 体外透皮实验

空白组不用微针处理,实验组分别用2种密度微针进行4个方向滚动(滚动方向如图2),每个方向滚动5次。分别将空白组与实验组裸鼠皮肤的角质层朝上,固定于给药室与接收室之间。将0.3g醋酸曲安奈德乳膏涂抹于鼠皮角质层上,向接收室中加入20%乙醇的生理盐水^[10-12],直至与皮肤紧密接触,排除气泡,置于(37.0±0.5)℃恒温水浴中,300 r/min恒速电磁搅拌。分别于2、4、6、8、10、12 h取出0.2 ml接收液(取液后迅速补充等量的接收液),HPLC法测定含量,注意避光操作,见图3。

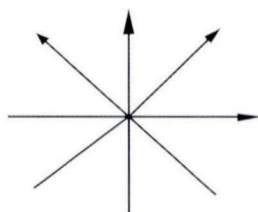


图2 微针滚动方向

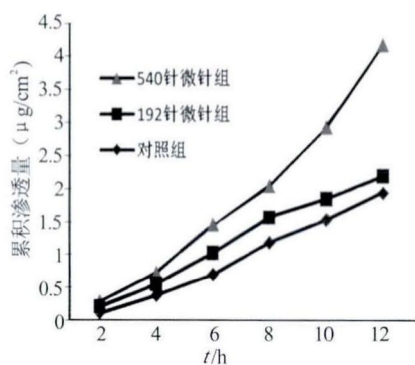


图3 两种微针对曲安奈德的促透作用

按累积渗透量公式计算各时刻累积渗透量。公式为:

$$Q = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

式中V为扩散池体积(4 ml),V_i为每次取样体积(0.2 ml),C_n和C_i分别为第n次和第i次取样时接收液的浓度。A为有效皮肤渗透面积(0.85 cm²)。

以扩散平衡后的Q对渗透时间t进行线性回归,所得直线斜率J为药物的渗透速率[g/(m²·h)]内药物透过单位面积的渗透量。

2.2.3 皮肤内滞留量

拆除扩散池装置,取下透皮扩散皮肤,用棉签擦净皮肤表面残留药物,剪取给药部位皮肤,剪碎匀浆,加入1 ml接收液,超声提取20 min^[8],涡旋振荡3 min,在3 000 r/min转速下离心10 min,上清液用0.45 μm膜过滤,取20 μl HPLC测定曲安奈德含量。

2.2.4 体外实验结果分析

由表1可见,与对照组相比,使用微针后,曲安奈德的体外累积渗透量(Q)及经皮渗透速率(J)显著增加(P<0.05),其中540针微针组的累积渗透量约是对照组的2.2倍,而192针微针组是对照组的1.3倍。与192针微针组相比,540针微针组对曲安奈德的促透作用更强(P<0.05)。12 h后,两微针组的皮肤内曲安奈德滞留量与对照组相比,也明显增加(P<0.05),540针微针组和192针微针组分别比对照组提高了2.8倍和1.9倍,且540针微针组也比192针微针组明显增加(P<0.05)。

表1 曲安奈德体外皮肤透过参数(x±s, n=3)

组别	累积渗透量 Q(μg/cm)	渗透速率 J[g/(m ² ·h)]	皮肤滞留量 E/Q(μg/cm)
对照组	1.941±0.355	0.396±0.080	1.256±0.067
192针微针组	2.191±0.780 ¹⁾	0.409±0.165 ¹⁾	2.382±0.455 ¹⁾
540针微针组	4.171±1.167 ¹⁾²⁾	0.835±0.263 ¹⁾²⁾	3.520±0.468 ¹⁾²⁾

注:¹⁾P<0.05,与对照组比较;²⁾P<0.05,与192针微针组比较。

2.3 微针对曲安奈德的在体透皮特性考察

2.3.1 血药浓度测定

取3只裸鼠麻醉,对照组直接涂抹0.5g醋酸曲安奈德乳膏,涂抹面积约2 cm²,实验组用两种微针处理后涂药。给药2 h后,取血浆样本0.2 ml于10 ml具塞试管,加入醋酸乙酯-正己烷(4:1)3.0 ml,漩涡2 min,静置10 min,2 000 r/min离心10 min,吸取上层有机相2.0 ml于10 ml锥底试管。在上述具塞试管中再加入醋酸乙酯-正己烷(4:1)2.0 ml,进行二次萃取。将2次萃取液合并,40℃水浴,氮气流下挥干,200 μl流动相复溶,10 000 r/min离心过滤5 min,取滤液20.0 μl,进行HPLC检测。

2.3.2 皮肤药物含量

给药2 h后取下给药皮肤,剪碎匀浆,加入1 ml接收液,超声提取15 min,涡旋振荡3 min,在3 000 r/min转速下离心10 min,上清液用0.45 μm微孔滤膜过滤,取20 μl用HPLC法测定皮肤药物含量。

(下转第461页)

【参考文献】

- [1] 任冰如,赵友谊,徐柏衡,等.水飞蓟素提取和水飞蓟宾纯化的研究[J].时珍国医国药,2012,23(3):655.
[2] 梁敏,宋粉云,吕朝霞.HPLC法测定益肝灵片中水飞蓟素的含量[J].广东药学院学报,2008,24(5):472.
[3] 周采菊,黄华瑞.HPLC法测定水飞蓟素及制剂中水飞蓟素的含量[J].中国药品标准,2008,9(3):235.

- [4] Xin RL, Yan FL, Yan XZ, et al. Determination of silymarin in microemulsion by RP-HPLC[J]. J Chin Pharm Sci, 2009, 18(2):190.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:76.

[收稿日期]2012-09-26

[修回日期]2013-03-26

(上接第417页)

表2 曲安奈德体内分布参数($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	血药浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	皮肤滞留药量 $EQ(\mu\text{g/cm})$
对照组	7.282 ± 2.103	0.223 ± 0.076
192针微针组	$10.166 \pm 2.617^{(1)}$	$0.505 \pm 0.125^{(1)}$
540针微针组	$10.409 \pm 3.309^{(1)}$	$0.474 \pm 0.151^{(1)}$

注:¹⁾ $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3.3 体内实验结果分析 由表2所示,两微针组明显提高了曲安奈德的皮肤滞留量($P < 0.05$),540针和192针微针组的皮肤滞留药量是对照组的2.13和2.26倍。同时,使用微针处理后,曲安奈德的血药浓度也分别提高了1.3倍和1.4倍。

2.4 统计学处理 数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS17.0统计软件,多组比较采用单因素方差分析,组间比较采用Q检验。

3 讨论

从前期裸鼠药动学结果显示,对照组、192针、540针微针组曲安奈德的 t_{max} 分别为(2.58 ± 0.75)、(1.98 ± 0.64)和(1.66 ± 0.53)h;考虑到曲安奈德微针组在1~2h、对照组在2~3h,血药浓度曲线相对平缓,因此本实验折中将在体实验取样时间点设定在2h。

致密的角质层是影响曲安奈德经皮渗透的重要因素,微针可以通过在皮肤产生微孔道来促进药物的渗透。但是,传统的微针贴片存在面积小、不易大面积操作的问题,滚轮微针将手柄与微针滚筒有机结合,实现了方便有效地大面积皮肤给药。目前市售的滚轮微针中,有192针和540针两种密度,本实验就选用这两种密度的滚轮微针,研究其对曲安奈德经皮渗透的影响,具有广泛的临床意义。

研究结果显示,微针可以有效提高曲安奈德的体外和在体经皮渗透,同时,使用微针后,药物的血药浓度明显增加。曲安奈德是治疗增生性瘢痕的常用药物,微针的应用促进了曲安奈德的经

皮渗透,且微创、无痛,在瘢痕治疗中具有一定的应用前景。但是,对于瘢痕的治疗仅需实现药物对局部病灶部位的有效释放,进入血液后会产生诸多不良反应。因此,在利用微针有效提高药物局部渗透的同时,减小入血药量的问题值得进一步研究解决。

【参考文献】

- [1] 黄兴汉,费路华,陈春游.HPLC法测定复方醋酸曲安奈德乳膏的含量[J].中国药师,2011,14(1):90.
[2] 胡斌,林彩,赵映兰,等.高效液相色谱法测定复方醋酸曲安奈德溶液中醋酸曲安奈德含量[J].中国药业,2010,19(21):26.
[3] 谢俊,王宇,张晓龙,等.曲安奈德治疗增生性瘢痕的疗效观察[J].临床医学与护理研究,2006,5(6):16,33.
[4] 董洪峰,刘倩,邹敏.曲安奈德治疗瘢痕疙瘩28例[J].现代临床医学,2006,34(6):443.
[5] 潘志斌.微针技术的研究进展[J].中国新药与临床杂志,2005,24(11):912.
[6] You SK, Noh YW, Park HH, et al. Effect of applying modes of the polymer microneedle-roller on the permeation of L-ascorbic acid in rats[J]. J Drug Target, 2010, 18(1):15.
[7] Zhou CP, Liu YL, Wang HL, et al. Transdermal delivery of insulin using microneedle rollers *in vivo*[J]. Int J Pharm, 2010, 392(1-2):127.
[8] 胡守莲,范玉峰,李道明.高效液相色谱法测定醋酸曲安奈德尿素乳膏中醋酸曲安奈德的含量[J].中国医药导报,2009,6(27):53.
[9] 陈浩,孙树茂,秦晓怡,等.高效液相色谱法检测兔血浆中曲安奈德的浓度[J].中国医院药学杂志,2009,29(19):1614.
[10] Liu W, Hu ML, Liu WS, et al. Investigation of the carbopol gel of solid lipid nanoparticles for the transdermal iontophoretic delivery of triamcinolone acetonide acetate[J]. Int J Pharm, 2008, 364:135.
[11] Vieira MLT, Singha RP, Derendorf H. Simultaneous HPLC analysis of triamcinolone acetonide and budesonide in microdialysate and rat plasma: Application to a pharmacokinetic study[J]. J Chromatogr B, 2010, 878:2967.
[12] 邱凯锋,劳贺存,陈露诗,等.曲安奈德经皮渗透特性研究[J].今日药学,2011,21(08):475.

[收稿日期]2013-03-22

[修回日期]2013-05-14