

## 吡罗昔康外用微乳的制备及其透皮吸收的研究

董平<sup>1,2</sup>, 吴娟<sup>1</sup>, 沙先谊<sup>1</sup>, 方晓玲<sup>1</sup> (1 复旦大学药学院药剂学教研室, 上海 200032; 2 上海市公共卫生临床中心药剂科, 上海 201508)

**[摘要]** 目的 制备吡罗昔康微乳并考察其体外经皮渗透特性。方法 采用 Lauroglycol FCC 为油相、Labrasol Cremophor EL 为表面活性剂、Transcutol P、乙醇为助表面活性剂, 绘制伪三元相图, 制备吡罗昔康 O/W 微乳。采用智能透皮实验仪, 大鼠背部皮肤作为透皮模型, HPLC 测定药物透皮浓度, 研究吡罗昔康微乳的透皮特性。结果 本实验中微乳较优处方含: 吡罗昔康 0.5%, Lauroglycol FCC 10%, Labrasol Cremophor EL、Transcutol P 各 13.3% 及水 50%, 吡罗昔康渗透速率可达  $10.04 \pm 1.73 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ 。结论 吡罗昔康微乳有很强的透皮能力, 有望成为吡罗昔康的新型透皮给药制剂。

**[关键词]** 吡罗昔康; 微乳; 透皮吸收

**[中图分类号]** R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)06-0418-05

## Study on preparation and percutaneous absorption *in vitro* of piroxicam microemulsion

DONG Ping<sup>1,2</sup>, WU Juan<sup>1</sup>, SHA Xianyi<sup>1</sup>, FANG Xiaoling<sup>1</sup> (1 Department of Pharmaceutics, school of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2 Department of Pharmacy, Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201508, China)

**[Abstract]** **Objective** To prepare Piroxicam microemulsion and investigate its transdermal characteristics *in vitro*. **Methods** The o/w microemulsion was prepared with the system contained of Lauroglycol FCC as oil phase, Labrasol and Cremophor EL as surfactants, Transcutol P and Ethanol as cosurfactants according to the pseudoternary phase diagrams. The transdermal characteristics were evaluated by modified Franz diffusion cell method. Rat skin was used as permeation barrier and the drug concentration was measured by HPLC. **Results** The optimum formulation consisted of 0.5% Piroxicam, 10% Lauroglycol FCC, 50% water, 13.3% Labrasol Cremophor EL and Transcutol P. The permeation rate of Piroxicam was  $10.04 \pm 1.73 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ . **Conclusion** The results indicated that the optimum microemulsion system with high permeation rate may be a potential vehicle for the transdermal delivery of Piroxicam.

**[Key words]** piroxicam; microemulsion; transdermal permeation

非甾体类抗炎药吡罗昔康 (piroxicam) 是一种较强的前列腺素合成酶抑制剂, 在临床上主要用于治疗风湿性及类风湿性关节炎, 具有半衰期长 (50 h)、剂量小、无蓄积作用和疗效确切等特点<sup>[1]</sup>, 但由于药物口服易产生胃肠道刺激, 当长期给药时, 易导致消化道出血、溃疡等不良反应。近年, 随着药用材料技术的高速发展, 新型吡罗昔康透皮制剂的研究也很多, 如涂膜剂<sup>[2]</sup>、有机凝胶剂<sup>[3,4]</sup>等。但在普通外用制剂中, 吡罗昔康溶解度较小, 药物含量较低, 透皮性质较差, 影响了药效发挥。微乳是由水、油、表面活性剂和助表面活性剂按适当比例混合, 自发形成的各向同性、透明、热力学稳定的分散体系, 粒径 < 100 nm。微乳透皮给药系统优于一般的乳剂, 稳定且对难溶性药物的增溶作用明显, 可明显提高药物在制剂中的含量, 增大药物的浓度梯度, 使其透

皮扩散速率增加, 吸收明显加快。本实验制备吡罗昔康的 O/W 微乳, 用改进的 Franz 扩散池对吡罗昔康微乳经离体大鼠皮肤的渗透特性进行研究, 评价吡罗昔康微乳的透皮能力。

### 1 材料与仪器

**1.1 仪器** 智能透皮试验仪 (巩义市英峪予华仪器厂, TP-3A 型), 高效液相色谱仪 (日本岛津公司, 包括 LC-20AT 四元梯度泵、SPD-20AV 型紫外检测器、SIL-20AC 自动进样器、LC-solution 工作站和恒温箱)、UV-2401PC 紫外分光光度计、激光散射仪 (NICOMP 380 ZLS Zeta Potential/Particle Sizer PSS-380 NICOMP, 美国)。

**1.2 药物与试剂** 吡罗昔康原料药 (河南开封制药有限公司, 批号 200509087, 含量 98.8%), Cremophor EL (BASF 公司赠送); Labrasol, Transcutol P, Lauroglycol FCC, Purrol oleique, M glycol 812N、油酸

**[作者简介]** 董平 (1970-), 女, 副主任药师。Tel 13916319885; E-mail dongping@shaphc.org

(法国佳法赛公司赠送); 1,2-丙二醇、乙醇、聚乙二醇 400等 (均为药用级); 乙腈为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 水为超纯水。

**1.3 动物** SD大鼠 (复旦大学上海医学院科学动物部, SCXK(沪) 2007-0002), ♀, 体重 (220 ± 10) g

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC法测定吡罗昔康的含量

**2.1.1 检测波长的确定** 称取吡罗昔康约 25 mg于 100 mL容量瓶, 加乙腈溶解并定容至刻度, 精密量取 1 mL至 25 mL容量瓶, 加乙腈稀释至刻度。上述溶液在 200~ 500 nm 范围内进行扫描, 由扫描图谱可知, 本品在 324 nm 处有最大吸收。扫描图谱见图 1。

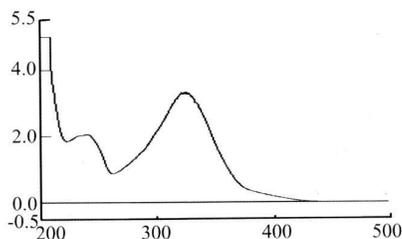


图 1 吡罗昔康溶液紫外扫描图谱

**2.1.2 色谱条件** 色谱柱: YMC ODS (250 × 4.6 mm, 10 μm), 流动相: pH 4.0 磷酸盐缓冲液: 乙腈 = 35: 65 (V/V), 流速: 1.0 mL/min, 进样量: 20 μL, 检测波长: 324 nm, 保留时间 4.8 min。在此条件下, 皮肤透过液对测定无干扰。典型色谱图见图 2。

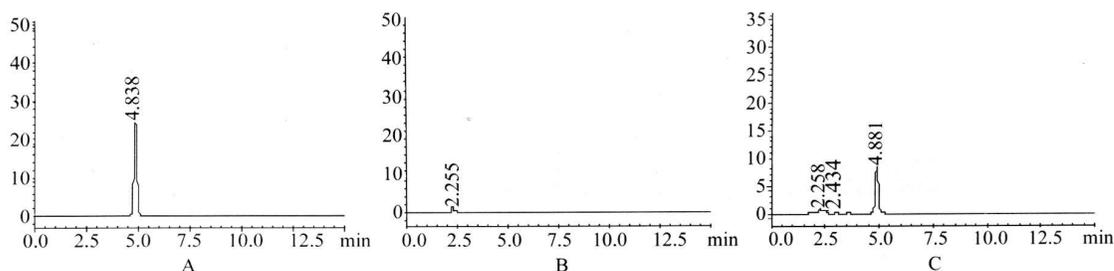


图 2 吡罗昔康透皮实验典型色谱图

A-吡罗昔康对照品; B-空白样品; C-吡罗昔康样品

**2.1.3 标准曲线** 精密称取吡罗昔康 2.56 mg 至 100 mL容量瓶中, 加入乙腈约 80 mL, 超声溶解后, 用乙腈定容至刻度, 配成 25.6 mg/L 的标准贮备液, 避光保存。取该标准贮备液 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL 于 10 mL容量瓶中, 用乙腈稀释, 定容至刻度, 得 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56, 5.12, 10.24 mg/L 的系列标准液。按 2.1.2 项下的色谱条件测定, 以药物峰面积 (A) 对药物浓度 (C, mg/L) 进行线性回归, 回归方程:  $A = 479.84C + 8.55$  ( $r^2 = 0.9999$ ), 即吡罗昔康在浓度 0.16~ 10.24 mg/L 范围内, 其浓度与峰面积线性关系良好。

**2.1.4 精密度** 配制浓度分别为 0.2, 2, 8, 2 mg/L 的吡罗昔康标准溶液作为低、中、高三种浓度, 按 2.1.2 项下的色谱条件测定得日内 RSD 分别为: 0.23%、1.08%、0.32% ( $n = 5$ ), 日间 RSD 分别为: 1.33%、1.72%、1.45% ( $n = 5$ )。

### 2.2 吡罗昔康微乳的制备

**2.2.1 吡罗昔康溶解度考察** 将过量的吡罗昔康置于具塞离心管中, 分别加入油相、表面活性剂、助表面活性剂 2 mL 将混合物涡旋混合, 在 37 °C 水浴

中平衡 72 h, 于 3000 r/min 离心 10 min, 上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤。用乙腈稀释适宜倍数后, HPLC 法测定吡罗昔康含量。计算吡罗昔康在不同介质中的溶解度。结果见表 1。表明吡罗昔康在 Lauroglycol FCC、Cremophor EL、Labrasol、聚乙二醇 400、Transcutol P 中有着较高的溶解度。

表 1 吡罗昔康在不同介质中的溶解度

介质		溶解度 (mg/mL)
油相	Lauroglycol FCC	2.22
	Miglycol 812N	1.73
	油酸	2.86
表面活性剂	Cremophor EL	19.36
	Labrasol	13.88
助表面活性剂	Puroloque	1.61
	Transcutol P	17.71
	乙醇	1.03
	聚乙二醇 400	28.82
	丙二醇	1.3

**2.2.2 微乳伪三元相图的研究** 精密称取不同量的油、表面活性剂和助表面活性剂混合配制成一定比例的混和溶液, 在搅拌状态下逐渐滴加水, 以外观

“澄清透明”为指标,记录临界加入量,按油、水、混和表面活性剂在临界点的各自质量百分数(W/W),本研究根据溶解度和微乳相图预试验的结果,选择了 Lauroglycol FCC作为油相分别和表面活性剂 La-

brasoI Cremophor EL以及助表面活性剂 Transcutol P、乙醇配伍,绘制伪三元相图,结果见图 3。随着表面活性剂与助表面活性剂的比例(Km)的增大,微乳区域有所扩大。

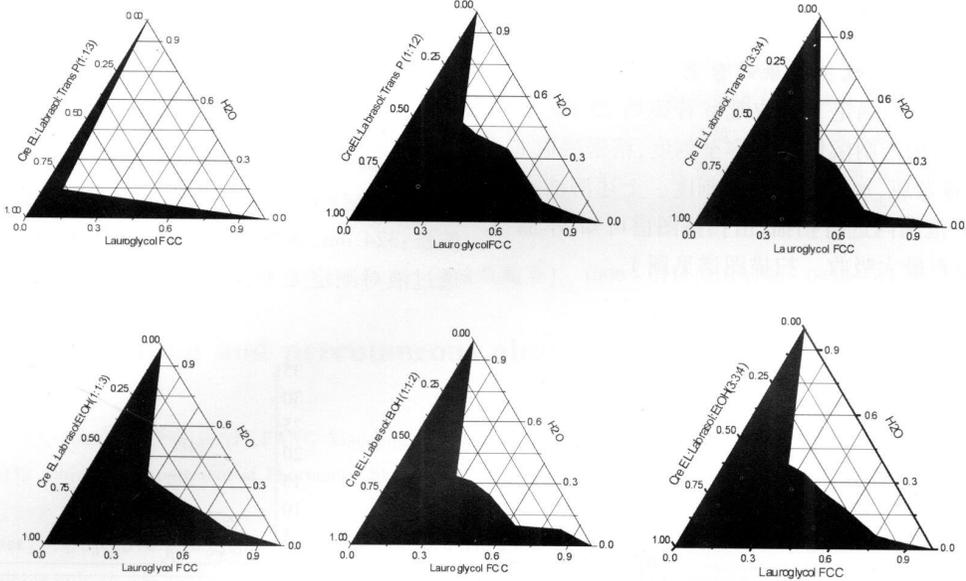


图 3 不同 Km 及助表面活性剂条件下微乳伪三元相图 (25℃)

**2.2.3 处方设计** 根据相图制备结果,选择 Km、油相比例及助表面活性剂的种类,三因素两水平设计处方。此外,水相占 50%,2种表面活性剂 Labrasol Cremophor EL为 1:1。见表 2

表 2 微乳处方三因素两水平设计表

水平	Lauroglycol FCC(%)	Km	助表面活性剂
1	5	1.5:1	Transcutol P
2	10	2:1	乙醇

**2.2.4 吡罗昔康水包油微乳的制备** 在室温下将微乳处方成分(除水外)按表 3所示的比例充分混

合后,加入吡罗昔康原料药,超声溶解,然后在搅拌的条件下缓慢滴入处方量的水,即得透明的吡罗昔康微乳。同时制备相同含药量的吡罗昔康羧甲基纤维素钠混悬液作为空白对照(ControI)。

**2.3 微乳的粒径测定** 取 A、B、C、D、E、F、G、H 八种吡罗昔康微乳及空白对照加水稀释 10倍,置于粒径仪的比色皿中,测定粒径。结果见图 4及表 3。微乳平均粒径在 18~28 nm 范围内,分布均匀,达到 100%。

**2.4 微乳的透皮特性研究**

**2.4.1 皮肤的制备及处理** 取大鼠,用 20% 的乌

表 3 吡罗昔康微乳的组成及含量 %

样品	水	Lauroglycol FCC	Cremophor EL	Labrasol	Transcutol P	乙醇	吡罗昔康
A	49.5	5	13.5	13.5	—	18	0.5
B	49.5	5	13.5	13.5	18	—	0.5
C	49.5	5	15	15	—	15	0.5
D	49.5	5	15	15	15	—	0.5
E	50.5	10	13	13	—	13	0.5
F	50.5	10	13	13	13	—	0.5
G	49.5	10	12	12	—	16	0.5
H	49.5	10	12	12	16	—	0.5

拉坦腹腔注射麻醉后剪去背部毛, 剥离后小心剔除皮下组织和脂肪, 用生理盐水洗净, 滤纸吸干, 用铝箔封装, -20℃冻存备用。

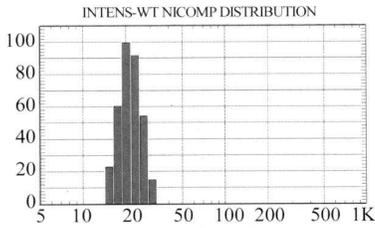


图 4 微乳粒径尼康分布图

**2.4.2 微乳的渗透扩散实验** 采用智能透皮试验仪, 将离体鼠皮固定, 角质层面向供给池, 真皮层面向接受池, 有效接触面积 1.33 cm<sup>2</sup>。供给池中分别加入制备好的 A、B、C、D、E、F、G、H 八种微乳及空白对照品 2 g 在接受池中加入含乙醇 10% 的生理盐水 18 ml。水浴恒温至 (35±0.5)℃, 300 r/min 电磁恒速搅拌, 分别于 0.5、1、2、3、4、6、8、10、12 h 从接收池中取出 0.5 ml 接收液样品, 同时补加等量接收液。样品于 10 000 r/min 离心 10 min 后按 2.1 项下的方法测定, 计算累积渗透量 Q (μg/cm<sup>2</sup>),  $Q = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$ , 其中 V = 18 ml, V<sub>i</sub> = 0.5 ml, A = 1.33 cm<sup>2</sup>, C<sub>n</sub> 和 C<sub>i</sub> 分别为第 n 次和第 i 次取样时接收液中药物的浓度 (μg/ml),  $\sum C_i V_i$  为取样时带走的药物累积量之和。以单位面积累积渗透量为纵坐标, 时间为横坐标, 绘制经皮渗透曲线, 将曲线末端直线部分的 Q~t 数据进行线性回归, 求得直线斜率为渗透速率 J [μg/(cm<sup>2</sup>·h)]。吡罗昔康微乳累积渗透量 Q (μg/cm<sup>2</sup>) 和渗透速率 J [μg/(cm<sup>2</sup>·h)] 的测定结果见图 5 图 6 及表 4。由实验结果可知, 吡罗昔康微乳处方 A~H 的吡罗昔康经皮渗透速率与空白比较均有显著差异 (P < 0.01), 其中处方 F 的 12 h 累积渗透量达到 98.91 ± 22.05 (μg/cm<sup>2</sup>), 渗透速率达到 10.04 ± 1.73 [μg/(cm<sup>2</sup>·h)]。

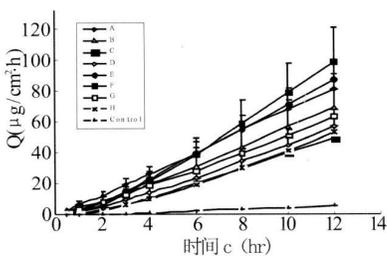


图 5 吡罗昔康微乳累积渗透量 (n = 5)

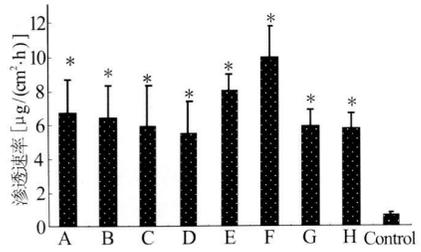


图 6 吡罗昔康微乳渗透速率

表 4 吡罗昔康微乳的粒径与透皮参数 (n = 5)

样品	粒径 (nm)	Q (μg/cm <sup>2</sup> )	J [μg/(cm <sup>2</sup> ·h)]
A	19.6 ± 3.0	81.10 ± 17.82	6.74 ± 2.00
B	22.6 ± 3.8	69.26 ± 23.42	6.46 ± 1.86
C	24.1 ± 4.4	49.27 ± 16.32	5.98 ± 2.40
D	20.5 ± 3.6	56.67 ± 10.92	5.52 ± 1.85
E	18.8 ± 2.2	86.70 ± 4.28	8.06 ± 0.91
F	19.4 ± 5.6	98.91 ± 22.05	10.04 ± 1.73
G	21.3 ± 2.0	63.39 ± 11.50	5.94 ± 0.94
H	27.4 ± 4.8	53.22 ± 6.86	5.80 ± 0.85
空白	22.5 ± 3.5	5.79 ± 0.80	0.67 ± 0.13

**2.4.3 不同吡罗昔康制剂透皮比较** 经过微乳渗透扩散实验, 取得最佳处方 F, 制备微乳, 超声破坏微乳结构, 使其形成均匀的混悬液, 另制备含相同药物量的羧甲基纤维素钠空白对照液, 依 2.4.2 项下方法进行渗透扩散实验, 对比微乳 F 混悬液、空白对照液三者透皮行为 (药物含量均为 0.5%)。结果见图 7 与图 8。实验结果表明, 含微乳成分的混悬液的渗透速率与空白相比, 有显著提高 (P < 0.01), 但是与微乳处方 F 的渗透速率相比仍有显著差异 (P < 0.01)。

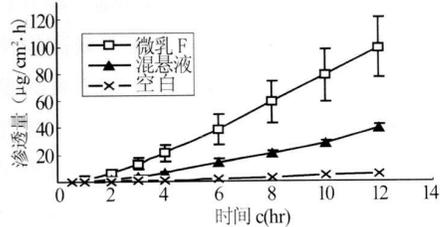


图 7 不同吡罗昔康制剂累积渗透量 (n = 5)

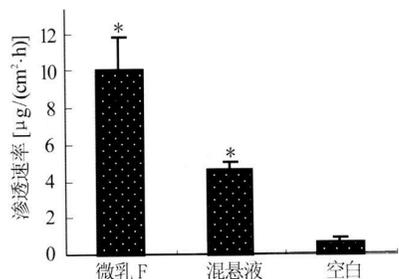


图 8 不同吡罗昔康制剂渗透速率

在处方中三乙醇胺作为辅助乳化剂被使用,可与部分的硬脂酸作用生成新生皂,而起 O/W 型乳化剂的作用,但从处方 3、4、5、6和其他处方比较可以看出,当霜剂中含有三乙醇胺时,所制备的镰形棘豆总黄酮放置一段时间后,霜剂的颜色加深,且变得蓬松;同时,测得 pH 大于 6.8 接近中性。这可能是三乙醇胺和水相混合,使整个水相处在碱性环境下,当加入本身显酸性的镰形棘豆总黄酮时,两者发生反应,一方面可能与苯环上的羟基生成盐;另一方面可能破坏黄酮中的 C 环,使 C 环打开,从而使霜剂整体颜色加深。因此在制备该霜剂时三乙醇胺不能使用。处方 1、2、7、8 的 pH 值小于 5.83 符合水包油基质的酸碱度<sup>[10]</sup>。十二烷基硫酸钠作为乳化剂,能使霜剂细腻,但唯一不足之处就是,如果制霜过程中搅拌速度过快,就会导致霜剂中产生大量气泡。因此,在最佳霜剂处方未选用十二烷基硫酸钠,而选用易控制搅拌速度的吐温-80 它为水溶性表面活性剂,常被广泛用作增溶剂或 O/W 型乳化剂。司盘-60 在处方中作为 O/W 型辅助乳化剂,以调节适宜的亲水亲油平衡值而形成稳定的 O/W 型乳剂型基质。

当处方中有吐温时,防腐剂尼泊金便会部分失活。解决的办法就是加大尼泊金的用量。另外,采用少量乙醇溶解可以加大尼泊金的溶解度,可以增加霜剂整体的防腐效果。

(上接第 421 页)

### 3 讨论

制备微乳的关键是找出油相、表面活性剂、助表面活性剂及水相的合适配比,本实验通过水滴定法绘制微乳伪三元相图,改变微乳中成分的比例,观察  $K_m$  值的变化对微乳区域大小的影响,选择形成微乳区域比较大的点设计处方。本实验的油相选用 Laurylglycol FCC,除了其吡罗昔康的溶解度相对较高,更重要的是考虑到它的渗透能力比较好,适合做透皮制剂的载体<sup>[5]</sup>。另外,考虑透皮制剂的安全性,选用非离子表面活性剂作为乳化剂。由于 Labrasol 乳化能力较弱,因此加用 Cremopher EL 为混合乳化剂,使药物溶解度增加,微乳粒径减小。而且 Cremopher EL 对皮肤刺激性低,乳化能力强,应用较广泛安全性好。

仅根据伪三元相图的方法优化透皮微乳处方,具有一定程度上的局限性,故需其他实验辅助判断<sup>[6]</sup>。因此本实验结合离体大鼠皮肤的渗透实验,综合评价累积渗透量和渗透速率进一步筛选了较优处方,结果表明,吡罗昔康微乳的透皮效果很好,12

### 【参考文献】

- [1] 罗达尚. 中华藏本草 [M]. 北京: 民族出版社, 1997.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986.
- [3] 李茂星, 兰芝荟, 樊鹏程, 等. 藏药镰形棘豆的研究进展 [J]. 中药材, 2009, 32(8): 1318.
- [4] 乌兰格日乐, 白海泉, 翁 慧. 黄酮的抗氧化活性的研究进展 [J]. 内蒙古民族大学学报 (自然科学版), 2008, 23(3): 277.
- [5] 孙凤娇, 廖克俭, 丛玉凤, 等. 含中草药黄芩有效成分的美白防晒日霜的研制 [J]. 东华理工大学学报 (自然科学版), 2008, 31(4): 377.
- [6] 龚盛昭, 何远伦. 芦丁在抗衰老化妆品中的应用研究 [J]. 香料香精化妆品, 2003, 2: 19.
- [7] 胡佳兴, 楼一层, 王 晨, 等. 葡萄籽霜剂的制备 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(14): 1165.
- [8] 刘延彤, 李茂星, 杜青云, 等. 大孔吸附树脂富集藏药镰形棘豆总黄酮的工艺研究 [J]. 药学实践杂志, 2008, 26(6): 438.
- [9] 杜青云, 洪佳妮, 郭文勇, 等. 镰形棘豆防晒乳的制备与质量评价 [J]. 医药导报 2010, 29(2): 229.
- [10] 张兆旺. 中药药剂学 [M] 北京: 中国中医药出版社, 2003: 305.
- [11] 李茂星, 贾正平, 张汝学, 等. 二氯氧锆比色法测定镰形棘豆水提取物中的总黄酮 [J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(4): 466.

[收稿日期] 2010-01-28

[修回日期] 2010-06-16

h 累积渗透量可达  $98.91 \pm 22.05 (\mu\text{g}/\text{cm}^2)$ 。本实验也说明单纯使用表面活性剂和助表面活性剂并不是微乳透皮的主要促进因素,间接证明了微乳的良好透皮作用可能是通过纳米乳滴整体产生的纳米效应达到的。

### 【参考文献】

- [1] 陈新谦. 新编药理学 [M]. 16版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 201.
- [2] 张 红, 刘 宾, 何伟雄, 等. 吡罗昔康涂膜剂的制备与质量控制 [J]. 中国药业, 2009, 18(9): 40.
- [3] 杨艳丽, 徐 晖, 盛秋双, 等. 吡罗昔康普朗尼克磷脂有机凝胶的体外评价和局部组织分布 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(4): 265.
- [4] T. P'enzes T, Blaz' o G, A igner Z, *et al*. Topical absorption of piroxicam from organogels: in vitro and in vivo correlations [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2005, 298: 47.
- [5] K kwai L, Kanakkaman N, Babu R J, *et al*. Effect of vehicles on the transdermal delivery of melatonin across porcine skin in vitro [J]. Journal of Controlled Release, 2002, 83: 307.
- [6] 潘国梁, 贾小斌, 魏惠华, 等. 药用微乳伪三元相图的几种制备方法比较研究 [J]. 中国药房, 2006, 11(1): 21.

[收稿日期] 2010-03-30

[修回日期] 2010-05-07