

## 驻极体及联用氮酮对环孢菌素 A 的体外透皮促渗作用

刘鸿越<sup>a</sup>, 江 键<sup>b</sup>, 马 琳<sup>b</sup>, 梁媛媛<sup>b</sup>, 董法杰<sup>b</sup>, 崔黎丽<sup>a</sup> (第二军医大学 <sup>a</sup>. 药学院无机化学教研室; <sup>b</sup>. 基础部数理教研室, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 研究驻极体及联用氮酮对环孢菌素 A 的体外透皮促渗作用。方法 采用常温电晕充电的 -500V, -1 000 V, -2 000 V 聚丙烯为驻极体, 1%、3%、5% 的氮酮为化学促渗剂, 利用透皮实验仪和 HPLC 研究驻极体、氮酮以及驻极体联用氮酮对环孢菌素 A 溶液的透皮促渗作用。结果 不同表面电压的驻极体以及不同浓度的氮酮均能提高环孢菌素 A 的累积渗透量; -1 000 V 驻极体与 1% 氮酮联用, 环孢菌素 A 的累积渗透量较 1% 氮酮单独使用略有提高。结论 负性驻极体、氮酮对环孢菌素 A 均有促渗作用, 负性驻极体与氮酮联用对环孢菌素 A 没有明显联合促渗作用。

**[关键词]** 驻极体; 环孢菌素 A; 氮酮; 透皮吸收; 透皮促进作用

**[中图分类号]** R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)06-0440-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.06.012

## Penetration enhancement of electret and united Azone on cyclosporin A transdermal delivery *in vitro*

LIU Hong-yue<sup>a</sup>, JIANG Jian<sup>b</sup>, MA Lin<sup>b</sup>, LIANG Yuan-yuan<sup>b</sup>, DONG Fa-jie<sup>b</sup>, CUI Li-li<sup>a</sup> (Second Military University <sup>a</sup>. Department of Inorganic Chemistry, School of Pharmacy; <sup>b</sup>. Department of physics and Mathematics, College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the penetration enhancement of electret and united Azone on cyclosporin A transdermal delivery *in vitro*. **Methods** Using corona charged -500 V, -1 000 V and -2 000 V polypropylene (PP) as electrets, 1%, 3% and 5% Azone as chemical enhancers, the transdermal behaviours of the cyclosporine A in solution were evaluated by modified Franze diffusion cell method. The concentration of cyclosporine A was measured by HPLC. **Results** All the electrets and chemical enhancers used in this study enhanced the cumulative penetration amount of the drug. The combination of -1 000 V and 1% Azone showed a slight increase in cumulative penetration amount of the drug compared with that of the 1% Azone used alone. **Conclusion** Both the negative electret and Azone could enhance the transdermal delivery of cyclosporin A individually. But negative electret and Azone had no synergistic enhancing effect on cyclosporin A transdermal delivery.

**[Key words]** electret; cyclosporin A; azone; transdermal delivery; transdermal enhancement

大分子量的肽和蛋白质类药物的特殊理化性质决定了其很难透过皮肤屏障,限制了其在经皮给药系统中的应用<sup>[1]</sup>。驻极体是一类能够长期储存空间电荷和(或)偶极电荷的功能电介质材料<sup>[2]</sup>。它的静电效应和微电流能改变皮肤角质层内的脂质双层排列方式,形成大量暂时的、可渗透的新孔道<sup>[3]</sup>。研究表明,驻极体对小分子药物有良好的促渗作用,有望成为大分子类药物经皮吸收的促渗方法<sup>[3,4]</sup>。

本实验以蛋白质类的环孢菌素 A 为模型药物,聚丙烯膜为驻极体材料,通过比较研究负性驻极

体、不同浓度氮酮以及两者联用的环孢菌素 A 溶液的经皮转运规律,为进一步阐明驻极体促渗机制和研究驻极体环孢菌素 A 贴剂奠定实验基础。

### 1 材料与仪器

**1.1 仪器** RYJ-6B 型药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司),高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司,Agilent-1100),栅控电晕充电系统(大连理工大学静电与特种电研究所),SD803 表面电位计(机械电子部上海电动工具厂)。

**1.2 药物、试剂及材料** 聚丙烯商品膜(polypropylene PP,日本东丽株式会社),膜厚 13 μm。环孢菌素 A(上海源叶生物科技有限公司,批号: CAS# 59865-13-3); 氮酮(福建寿宁美菲思生物化学制品厂,纯度 ≥99.0%); 甲醇、乙腈为色谱纯,丙二醇、

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助(50977089);上海市自然科学基金资助(10ZR1437600)。

**[作者简介]** 刘鸿越(1988-),女,硕士研究生。E-mail: 673309108@qq.com。

**[通讯作者]** 崔黎丽。Tel: (021) 81871219, E-mail: cuilili39@hotmail.com。

无水乙醇为分析纯。

1.3 动物 雄性SD大鼠[第二军医大学实验动物中心, SYXK(沪)2007-0003], 体重(181 ± 28.6) g。

## 2 方法与结果

2.1 驻极体材料制备 PP薄膜置于常温下电晕充电, 针尖电压-25 kV, 栅压分别为-500 V、-1 000 V、-2 000 V, 注极时间5 min, 制得-500 V、-1 000 V、-2 000 V驻极体。

2.2 HPLC法测环孢菌素A的含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Diamonsil™ ODS柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 迪马公司); 流动相为乙腈-甲醇-水 = [340 : 100 : 60 (v/v/v)], 检测波长为214 nm, 流速为1.0 ml/min, 柱温为60 °C, 进样量为10 μl。

2.2.2 标准曲线的建立 精密称取17.90 mg环孢菌素A于100 ml容量瓶中, 加入25 ml乙醇, 溶解后, 用pH 7.2的PBS定容至100 ml, 得环孢菌素A贮备液。精密量取该贮备液0.1、0.4、0.8、3.0、8.0 ml于10 ml的容量瓶中, 加pH 7.3的PBS稀释, 定容至刻度, 得到浓度范围为1.79 ~ 143.2 μg/ml的环孢菌素A标准溶液。按2.2.1项下的色谱条件测定, 以药物峰面积A对环孢菌素A的浓度C(μg/ml)进行线性回归, 得标准曲线方程为  $A = 13.799 C - 1.2269$  ( $r = 0.99997$ ), 即在1.79 ~ 143.2 μg/ml范围内, 峰面积与浓度间有良好的线性关系。

2.2.3 准确度和精密度的测定 配制13.9、36.5、84.5 μg/ml的高、中、低3种浓度的环孢菌素A溶液作为质控样品, 按2.2.1项下的色谱条件进行测定, 得日内RSD最大值为0.676%, 日间RSD最大值为2.946%, 准确度的RR值为100.38% ~ 111.47%, 符合方法学要求。

2.3 环孢菌素A的体外透皮特性考察

2.3.1 药物透皮溶液的制备 精密称取环孢菌素A, 溶于丙二醇后, 制得0.5% (w/w)的对照溶液。称取一定量的丙二醇, 分别按1%、3%、5% (w/w)的比例加入相应的氮酮, 混匀, 再按前二者总质量的0.5% (w/w)精密称取环孢菌素A, 待其完全溶解后, 制得含化学促渗剂的药物溶液。

2.3.2 鼠皮的处理 取大鼠, 用20%乌拉坦腹腔麻醉后, 用电动剃须刀小心剃去腹部鼠毛, 剥离皮肤, 用脱脂棉擦除皮下组织和粘连物, 再用生理盐水冲洗干净, 待用。

2.3.3 体外透皮实验 采用改良的Franz扩散池, 将皮肤固定于供给池和接受池之间, 角质层面向供给池。供给池中分别放入对照溶液、含化学促渗剂

的含药溶液、对照溶液覆盖驻极体(与溶液液面保持约1 mm高度), 接受池中放入体积比为75 : 25的pH 7.2的PBS与乙醇的混合溶液。水浴温度为(37.0 ± 0.5) °C, 磁力搅拌速度为320 r/min, 分别于8、12、16、20、24 h从接受池取样, 每次取样1 ml, 并补充等量的接受介液, 按2.2.1项下的条件测定, 并按下式计算环孢菌素A的体外累积渗透量(Q):  
$$Q_n = (c_n V + \sum_{i=1}^{n-1} c_i V_i) A$$
 式中V为接受池的体积(6.75 ml),  $V_i$ 为取样体积,  $c_n$ 为第n个取样点药物的校正浓度,  $c_i$ 为第i个取样点的实测浓度, A为有效扩散面积(2.8 cm<sup>2</sup>)。

2.3.4 负性驻极体对环孢菌素A透皮的影响 对照溶液覆盖驻极体后, 驻极体实验组和对照溶液的透皮行为如图1所示。结果显示, 在0 ~ 8 h的实验过程各实验组环孢菌素A的累积渗透量为零。在8 ~ 24 h的实验过程中, 不同表面的负性驻极体对模型药物均具有一定的促渗效果且满足指数上升规律, -500 V、-1 000 V、-2 000 V驻极体作用后, 环孢菌素A的24 h累积渗透量分别为7.52、9.28、8.86 μg/cm<sup>2</sup>, 分别是对照溶液的1.20、1.48、1.41倍。结果表明, 负性驻极体对环孢菌素A的经皮吸收有促渗作用。

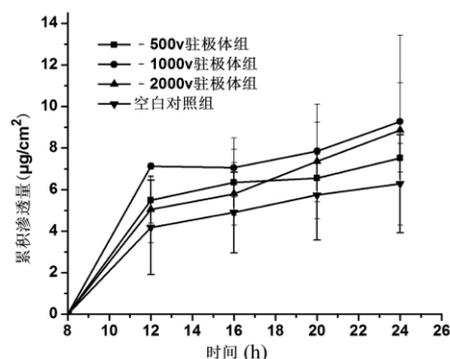


图1 负性驻极体作用下环孢菌素A的透皮量(n=4)

2.3.5 不同浓度氮酮对环孢菌素A透皮的影响

图2为含化学促渗剂的含药溶液和对照溶液的透皮行为。结果显示, 1%氮酮、3%氮酮和5%氮酮均可有效提高环孢菌素A的透皮速率、增加环孢菌素A的透皮量和缩短环孢菌素A透皮的迟滞时间。1%、3%、5%氮酮的环孢菌素A溶液的24 h累积渗透量分别为66.35、31.71、21.40 g/cm<sup>2</sup>, 是空白对照组的10.56、5.05、3.41倍(P < 0.05)。其中, 1%氮酮对环孢菌素A的促渗能力最强。

2.3.6 负性驻极体与氮酮联用对环孢菌素A透皮的影响 含促渗剂的药物溶液覆盖驻极体后, 除-1 000 V驻极体与1%氮酮联用组环孢菌素A的

24 h 累积渗透量高于 1% 氮酮实验组外 ( $P > 0.05$ ) (图 3) 其余各组的累积渗透量均小于对应氮酮促渗组 (图 4、图 5)。与对照组和不同浓度氮酮实验组相比 24 h 后,  $-1\ 000\ V$  驻极体与 1% 氮酮联用组环孢菌素 A 的累积透皮量分别是对照组、1% 氮酮、3% 氮酮和 5% 氮酮的 12.64、1.2、2.5、3.1 倍。

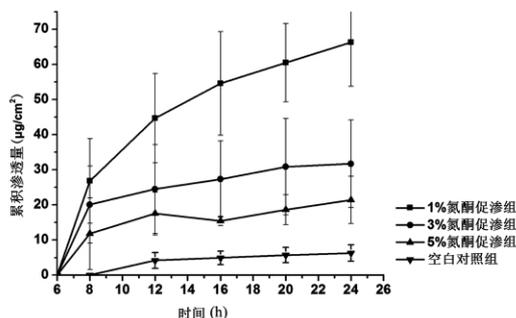


图 2 不同浓度氮酮作用下环孢菌素 A 的透皮量 ( $n = 4$ )

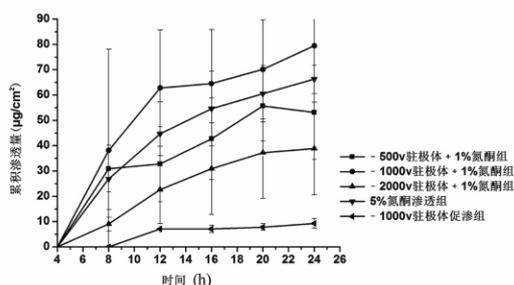


图 3 不同表面电位负性驻极体与 1% 氮酮对环孢菌素 A 体外透皮累积渗透量 ( $n = 5$ )

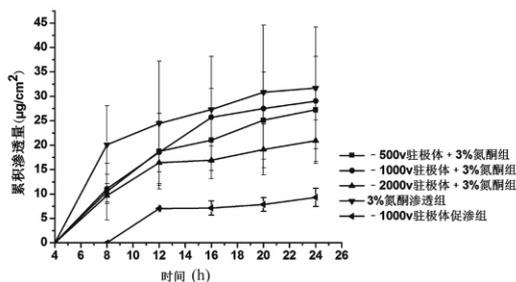


图 4 不同表面电位负性驻极体与 3% 氮酮对环孢菌素 A 体外透皮累积渗透量 ( $n = 5$ )

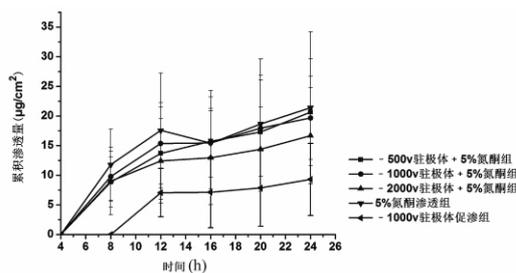


图 5 不同表面电位负性驻极体与 5% 氮酮对环孢菌素 A 体外透皮累积渗透量 ( $n = 5$ )

2.4 统计学处理 实验数据采用 SPSS13.0 统计软件进行单因素方差分析和  $t$  检验, 检验水平 ( $P$ ) 为 0.05。

### 3 讨论

聚丙烯驻极体是能够长期储存大量空间电荷的功能电介质材料, 它产生的静电场不仅可穿越离体皮肤并保持相对稳定, 而且可在离体皮肤内诱导产生生物电流<sup>[5]</sup>。当驻极体作用离体皮肤, 它产生的静电场和微电流可改变皮肤的自然极化状态, 导致皮肤角质层层状类脂结构的改变和皮肤附属器毛囊口的拓宽, 从而产生大量新孔道, 并使这些新增孔道持续开放, 这些结果可直接导致角质层“砖墙结构”的改变, 药物分子通过这些孔道经皮传递而增加通透量, 实现促进药物渗透的目的<sup>[3]</sup>。本实验的结果显示, 负性驻极体作用下的环孢菌素 A 溶液或单独的环孢菌素 A 溶液经皮渗透存在时滞现象。这是因为一方面驻极体对皮肤角质层结构的影响有时间延迟效应<sup>[6]</sup>; 另一方面环孢菌素 A 是较大分子脂溶性多肽类药物 (分子量 1 202.63 Da), 其高分子量和脂质溶解性使其容易在皮肤角质层和皮肤的深层形成储库而不易经皮扩散。因此, 不同表面电位的负性驻极体对环孢菌素 A 的体外促渗在宏观上表现出迟滞现象。此外, 3 种负性驻极体中,  $-1\ 000\ V$  驻极体对环孢菌素 A 的促渗效果最佳。驻极体作用下的皮肤显微结构研究表明, 在  $-500\ V \sim -2\ 000\ V$  电压范围内,  $-1\ 000\ V$  驻极体对皮肤角质层结构具有最佳的调控作用<sup>[7]</sup>。

氮酮由弱极性氮杂环和非极性结构长链烷烃或烯烃组成, 是常用的化学促渗剂, 对于亲水性和亲脂性化合物均具有良好的促渗效果, 尤其对亲水性药物促渗效果更佳。氮酮可以增加脂质双分子层的流动性, 增加角质层的含水量, 而且氮酮浓度越高, 角质层的含水量越多, 脂溶性药物不易通过, 促渗效果减弱<sup>[8]</sup>。环孢菌素 A 为脂溶性药物, 随着氮酮浓度的增加, 其促渗效果也相应减弱。因此本实验中, 1% 氮酮对环孢菌素 A 的促渗作用优于 3% 氮酮和 5% 氮酮, 其 24 h 的累积渗透量分别为 3% 和 5% 氮酮促渗组的 2.09 倍和 3.10 倍。

本实验的研究结果还表明,  $-1\ 000\ V$  驻极体与 1% 氮酮联用可提高环孢菌素 A 的透皮速率和透皮量, 该作用产生的主要机制, 一方面是驻极体作用大鼠皮肤改变了大鼠皮肤的电极化状态和角质层的空间结构, 新增了大量可逆性孔道, 从皮肤表面经孔道扩散进入角质层及皮肤各层的 1% 氮酮进一步改变

(下转第 466 页)

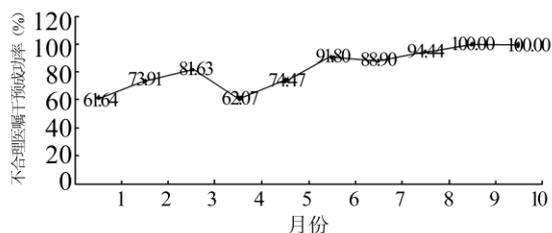


图 3 2011 年 1 月 ~ 10 月不合理医嘱干预成功率趋势图

PIVAS 医嘱实时审核干预流程符合卫生部相关规程中的规定,按照流程进行审核,主要参照药品说明书、《临床静脉用药集中调配技术》(人民军医出版社)、《380 种注射液理化与治疗学配伍检索表》、《400 种中西药注射剂临床配伍应用检索表》、《药品注射剂手册(第 14 版)》等资料进行医嘱合理性的判断。保证了医嘱的实时审核,避免了不合理医嘱进行静脉配置;保证了审核工作的一致性、连续性,避免了人为差错,带来的安全隐患。通过这一流程的建立,提高了药师整体水平,有利于药师进一步参与临床及开展药学关怀。

流程化后审核更加规范、连续、一致。PIVAS 医嘱实时审核干预流程不仅可作为入岗、轮岗培训资料保证了规范化,明确了审核工作的要点,而且按照流程进行医嘱审核保证了工作的连续性和一致性,也避免了疏漏<sup>[3,4]</sup>。

药师通过对于不合理医嘱实时登记、各病区 PIVAS 不合理医嘱月结汇总以及药师提示单的积累学习,提高了自己辨识不合理医嘱的能力,而且通过查阅文献分析不合理原因。通过与临床沟通、讨论,弥补了作为药师所欠缺的临床知识,同时也大大增加了药师参与临床合理用药力度<sup>[5]</sup>。

静脉用药集中调配中心是构建医生、药师、护士紧密结合的新平台,我院肿瘤中心药师通过实践摸索出适合自身的工作模式,大大降低了不合理医嘱发生率,希望通过静脉用药集中调配这一平台更好的开展药师合理用药审核工作。

### 【参考文献】

- [1] 吴永佩,焦雅辉. 临床静脉用药调配与使用指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:5.
- [2] 静脉用药集中调配质量管理规范[S]. 卫办医政发(2010)62号.
- [3] 王明辉,张艳华. 我院静脉药物配置中心工作实践[J]. 中国药房,2011,22(9):858.
- [4] 计成,葛卫红. 药学干预对促进合理用药的效果分析[J]. 药学与临床研究,2011,20(2):156.
- [5] 孙艳,胡静,谢牧牧. PIVAS 中药师通过联络信发挥人为干预作用保证合理用药的调查研究[J]. 中国药物应用与监测,2010,7(3):166.

[收稿日期]2012-01-17

[修回日期]2012-06-20

(上接第 442 页)

了脂质双分子层的有序排列,且增加了脂质的流动性。另一方面,1% 氮酮还使从贴剂中进入皮肤各层的环孢菌素 A 部分溶解并滞留在皮肤中,在皮肤中的大量环孢菌素 A 在自然扩散力和驻极体外电场力的作用下定向运动通过皮肤各层。而 3% 和 5% 的氮酮增加了角质层的含水量,高浓度的水分子在驻极体的外静电场作用下极化,使得皮肤内的电场强度减弱,电场对药物的作用力减小。因此,-1000 V 驻极体与 3% 和 5% 氮酮联用,药物的透皮速率和透皮量反而减小。

### 【参考文献】

- [1] Wang S, Kara M, Krishnan TR. Transdermal delivery of cyclosporin-A using electroporation[J]. J Control Release,1998,50:61.
- [2] 夏钟福. 驻极体[M]. 北京:科学出版社,2001:2.

- [3] Cui LL, Hou XM, Jiang J, et al. Comparative enhancing effects of electret with chemical enhancers on transdermal delivery of meloxicam *in vitro* [J]. J Phys: Conf Ser,2008,142:012015.
- [4] 孔玉秀,程亮,肖永恒,等. 驻极体利多卡因贴剂的促渗作用[J]. 第二军医大学学报,2009,30(5):469.
- [5] Jiang J, Liang YY, Dong FJ, et al. Study of electret effect of rat skin by thermally stimulated discharge analysis [J]. J Electrostat,2012,70:258.
- [6] 梁媛媛,董法杰,马琳,等. 驻极体对大鼠皮肤显微结构影响的时间效应研究[J]. 广东工业大学学报,2011,28(2):88.
- [7] Cui LL, Liang YY, Dong FJ, et al. Structure of rat skin after application of electret characterized by DSC [J]. J Phys: Conf Ser,2011,301:012027.
- [8] Harrison JE, Watkinson AC, Green DM, et al. The relative effect of Azone and Transcutol on permeant diffusivity and solubility in human stratum corneum [J]. Pharm Res,1996,13:542.

[收稿日期]2012-04-24

[修回日期]2012-09-10