

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.06.004

实心与空心微针对氨甲环酸体外经皮渗透的影响比较

陈彦彪¹, 唐 骢¹, 余楚钦², 魏嘉宝², 杨 凡², 李苑新^{2△}

(1. 广州纳丽生物科技有限公司, 广东 广州 511440; 2. 广东药科大学, 广东 广州 510006)

摘要:目的 探索不同微针对氨甲环酸体外经皮渗透的影响。方法 采用高效液相色谱法测定氨甲环酸含量。采用改良 Franz 扩散池法, 以离体猪皮为渗透屏障, 实心微针组(A组)、空心微针组(B组)与对照组(C组)分别于0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h时取样测定, 计算药物累积透过量、猪皮药物滞留量和透皮速率。结果 氨甲环酸质量浓度在0.1~8.0 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好, 方法学考察结果的RSD均小于3% ($n=6$), 平均加样回收率为98.83%, RSD为2.35% ($n=6$); 透皮0.5 h时A组、B组药物滞留量比C组分别提高了82.98%和162.07%; 3组药物累积透过量回归方程均符合零级模型; A组和B组透皮速率比C组分别提高了21.20%和37.08%。结论 实心微针和空心微针作用于猪皮均有利于氨甲环酸的透皮吸收。

关键词: 氨甲环酸; 微针; 高效液相色谱法; 改良 Franz 扩散池; 透皮吸收

中图分类号: R944; R986

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)06-0011-03

Comparison of the Effects Between Solid Microneedle and Hollow Microneedle on Transdermal Permeation of Tranexamic Acid *in Vitro*

CHEN Yanbiao¹, TANG Cong¹, YU Chuqin², WEI Jiabao², YANG Fan², LI Yuanxin²

(1. Guangzhou Nali Biological Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong, China 511440; 2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong, China 510006)

Abstract: Objective To investigate the effects of different microneedles on transdermal permeation of tranexamic acid *in vitro*. **Methods** The content of tranexamic acid was determined by HPLC. The modified Franz diffusion cell method was adopted, and the isolated porcine skin was used as the permeation barrier, the samples were collected from the solid microneedle group (group A), hollow microneedle group (group B) and the control group (group C), and then measured at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h. The cumulative drug penetration, porcine skin drug retention and transdermal rate were calculated. **Results** The tranexamic acid showed good linear relationship in the range of 0.1–8.0 mg/mL. The RSD of methodological investigation results was less than 3% ($n=6$), the average recovery rate was 98.83%, and RSD was 2.35% ($n=6$). The drug retention of group A and group B increased by 82.98% and 162.07% compared with group C at 0.5 h of transdermal delivery. The regression equations of cumulative drug penetration of the three groups accorded with the zero-order model. The transdermal rates of group A and group B increased by 21.20% and 37.08% compared with group C. **Conclusion** Both solid microneedle and hollow microneedle were beneficial to the transdermal absorption of tranexamic acid in porcine skin.

Key words: tranexamic acid; microneedles; HPLC; modified Franz diffusion cell; transdermal absorption

第一作者: 陈彦彪, 工程师, 研究方向为微针及相关仪器, (电子信箱)531043566@qq.com。

△通信作者: 李苑新, 副研究员, 研究方向为新剂型技术, (电子信箱)liy98@163.com。

- [4] 田 杰, 王艳平, 宁 媛, 等. 正交试验法优选强力五虎合剂的水提取工艺[J]. 中国现代中药, 2016, 6(18): 789–792.
- [5] 马 玉, 肖 禾, 焦小珂, 等. 小儿解表止咳口服液盐酸麻黄碱含量测定[J]. 中国药业, 2014, 23(6): 37–38.
- [6] 魏 萍, 张亚锋, 王苑桃. 高效液相色谱法测定定喘止咳胶囊中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国药业, 2012, 21(17): 22–23.
- [7] 周红玲, 石 雕. 高效液相色谱法测定复方哮喘颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 湖南中医药大学学报, 2014, 34(8): 21–23.
- [8] 刘建华, 刘文伟, 高玉琼, 等. HPLC测定祛痰平喘胶囊中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 93–94.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 209, 320.
- [10] 徐 剑, 张永萍. 苗药痔康宁胶囊中大黄素和虎杖苷的含量测定[J]. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(1): 84–86.
- [11] 杨海燕, 张 成. 高效液相色谱法测定朱砂七中虎杖苷含量[J]. 中国药业, 2011, 20(10): 29–30.
- [12] 田文涛, 杨茂文, 杨金琰, 等. 高效液相色谱法测定复方伸筋片中虎杖苷的含量[J]. 中医医师, 2013, 17(3): 522–523.
- [13] 张海欢, 缪 红. HPLC法测定疏风解毒胶囊中虎杖苷[J]. 中成药, 2013, 35(17): 2281–2283.
- [14] 车彦忠, 王培智, 陈红英, 等. HPLC测定护宁肝中虎杖苷的含量[J]. 中医临床研究, 2013, 5(19): 27–29.
- [15] 滕海英, 祝国强, 黄 平, 等. 正交试验设计实例分析[J]. 药学服务与研究, 2008, 8(1): 75–76.
- [16] 齐 辉, 张 勉, 王峥涛. HPLC同时测定虎杖中4种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 2003–2005.
- [17] 王 健. 小儿肾炎颗粒质量标准研究[J]. 中成药, 2007, 29(12): 附10.

(收稿日期: 2018-07-05)

氨甲环酸又名传明酸、止血环酸和凝血酸等,其退黑祛斑功效是果酸的10倍、维生素C的50倍^[1]。临床研究表明,口服或外用氨甲环酸有助于治疗黄褐斑,且不良反应小,可单用或联合其他药物使用^[2]。微针是指长度在几十微米至几毫米、尖端直径几十微米的微型针头^[3],能刺破皮肤表面的角质层,极大地提高药物经皮输送效率^[4],可实现无痛、小创伤经皮给药。为增强氨甲环酸的透皮吸收,提高其疗效,本研究中采用改良 Franz 扩散池和高效液相色谱(HPLC)法,以离体猪皮为渗透屏障,考察实心微针、空心微针作用于猪皮对氨甲环酸注射液透皮吸收的影响,为其在美容方面的应用提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1100 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司);YB-P6 型智能透皮试验仪(天津药典标准仪器制造厂);超纳微晶美肤仪及其配套实心、空心微针(广州纳丽生物科技有限公司);DW-86W100 型卧式超低温保存箱(青岛海尔特种仪器有限公司);KDC-140HR 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);KQ-500M 型超声清洗机(东莞市科桥超声波设备有限公司)。

1.2 试药

氨甲环酸注射液(贵州圣济堂制药有限公司,批号为 20170401,规格为每支 0.5 g:5 mL);氨甲环酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 9Z1W-ETCD,纯度为 99.9%);甲醇、磷酸为色谱纯;其余试剂均为分析纯,水为去离子水。

1.3 动物

广西巴马小型乳猪,3 月龄,体质量约为 20 kg,广州南方医大实验动物科技发展有限公司提供,动物生产合格证号为 SCXK(粤)2016-0041,批号为 2017-0416。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.23% 十二烷基硫酸钠溶液(称取磷酸二氢钠 18.3 g,加水 800 mL 溶解,加三乙胺 8.3 mL 混匀,加十二烷基硫酸钠 2.3 g,振摇使溶解,用磷酸调 pH 至 2.5,加水定容至 1 000 mL,摇匀)-甲醇(60:40, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:25℃;进样量:20 μL^[5]。

2.1.2 溶液制备

称取氨甲环酸对照品适量,精密称定,加水溶解,制成质量浓度为 5 mg/mL 的对照品溶液;取氨甲环酸注射液适量(约相当于氨甲环酸 0.5 g),置 100 mL 容量瓶中,加水定容,摇匀,作为供试品溶液;以 0.9% 氯化钠溶液作为空白对照溶液。

2.1.3 方法学考察

系统适用性试验:分别取上述溶液各适量,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图 1。理论板数以氨甲环酸峰计大于 5 000,各成分基线分离良好,分离度大于 1.5。

线性关系考察:称取氨甲环酸对照品适量,精密称定,加水溶解,制成质量浓度为 8 g/L 的对照品溶液,加水稀释,制得质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0 g/L 的系列对照品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标、氨甲环酸质量浓度(X)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 429.44X + 11.413$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明,氨甲环酸质量浓度在 0.1~8.0 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度、稳定性、加样回收试验:按规定进行试验,结果的 RSD 均小于 1%,表明仪器精密度高,供试品

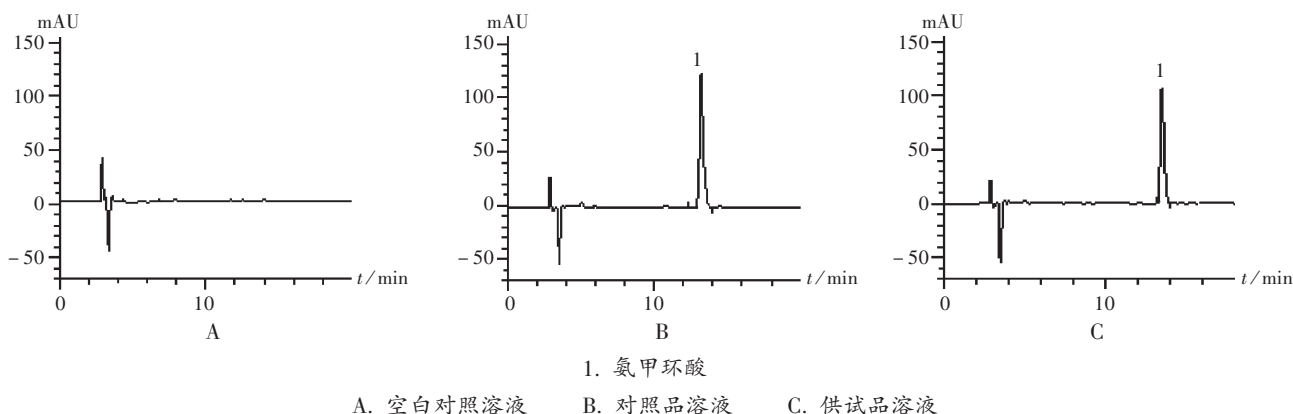


图 1 高效液相色谱图

溶液在室温放置 24 h 稳定,本方法重复性良好,平均加样回收率为 98.83%,RSD 为 2.35% ($n=6$)。

2.3 透皮试验

2.3.1 猪皮样品制备

将巴马小型乳猪放血处死,观察有无皮肤红肿、充血、破损等现象。剃毛取腹部猪皮,除去皮下组织,用 0.9% 氯化钠溶液洗净,置 -70°C 冰箱中冷冻,备用^[6]。

2.3.2 分组及试验

取猪皮样品,常温解冻,切成所需小块,用 0.9% 氯化钠溶液洗净,用滤纸吸干水分,称定质量后摊平,表皮角质层向上。试验分为 3 组,即实心微针组(A 组)、空心微针组(B 组)、空白对照组(C 组)。A 组用超纳微晶美肤仪及其配套的方形实心微针,以 2~3 N 力垂直表面持续注入 0.3 mL 氨甲环酸注射液 60 s。B 组使用超纳微晶美肤仪及其配套的方形空心微针,同法操作。C 组不作任何处理。分别将 3 组猪皮固定在 Franz 扩散池,表皮角质层朝上,下表面接触扩散池液面^[7-8]。在接收池中加满 0.9% 氯化钠溶液 $37 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 水浴加热,定速磁力搅拌 $300 \pm 5 \text{ r/min}$ 平衡 1 h,向供给室加入 0.3 mL 氨甲环酸注射液,用密封胶封口,以防溶剂蒸发。分别于 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h 时移取接收液 1.0 mL,经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,随即补回 1.0 mL 备用接收液,测定含量,计算各时间点的药物累积透过量并对时间进行回归,所得斜率为透皮速率。详见图 2 和表 1。透皮试验 12 h 后拆除扩散池装置,取出 3 组猪皮,剪取,用适量甲醇浸泡,超声(功率为 500 W,频率为 40 kHz)处理 30 min, 1000 r/min 离心 15 min,补足减失的甲醇,摇匀,取适量,经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,测定含量,并计算药物滞留量。详见表 2。

结果显示,透皮试验 0.5~2.0 h B 组的药物累积

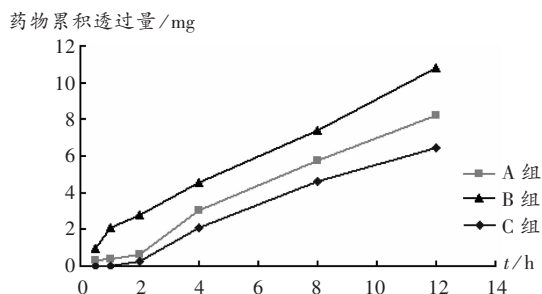


图2 不同微针作用于猪皮时药物透皮吸收结果($n=6$)

表1 药物累积透过量回归方程及透皮速率($n=6$)

组别	回归方程	r	透皮速率(mg/h)	速率提高(%)	迟滞时间(h)
A组	$Y_1 = 0.722 X_1 - 0.2471$	0.9942	0.7220	21.20	0.342
B组	$Y_2 = 0.8166 X_2 + 1.013$	0.9973	0.8166	37.08	-1.241
C组	$Y_3 = 0.5957 X_3 - 0.495$	0.9934	0.5957	-	0.831

表2 3组药物累积透过量与药物滞留量($n=6$)

组别	药物累积透过量(mg)		猪皮药物滞留量(mg)	
	0.5 h	12.0 h	0.5 h	12.0 h
A组	0.3096	8.2200	6.7997	9.7542
B组	0.9455	10.7983	9.7385	9.8353
C组	0	6.4140	3.7160	9.6753

透过量明显大于 A 组和 C 组,表明空心微针作用于猪皮可促进氨甲环酸的体外透皮作用。2.0 h 后,3 组药物累积透过量随时间延长而增大,表明两种微针作用于猪皮均有利于氨甲环酸的透皮吸收。3 组药物累积透过量回归方程均符合零级模型。0.5 h 时,A 组和 B 组药物滞留量比 C 组分别提高了 82.98% 和 162.07%;12 h 时,各组药物滞留量接近,A 组和 B 组透皮速率比 C 组分别提高了 21.20% 和 37.08%。

3 讨论

本研究选用与人体皮肤较接近的小型乳猪皮作为试验屏障,预试验中考察了腹部、背部和臀部猪皮的透皮吸收差异,发现腹部猪皮更适用于氨甲环酸透皮试验。

氨甲环酸治疗黄褐斑已逾 30 年,其在化学结构上与酪氨酸相似,均有 1 个羧基($-\text{COOH}$),可与酪氨酸竞争酪氨酸酶,进而干扰酪氨酸酶对酪氨酸的激活作用,从而减少黑色素合成^[9]。

微针的主要作用为刺破皮肤表面的角质层以促进药物渗透,本研究结果显示,空心微针和实心微针均有利于氨甲环酸的透皮吸收,该结果可为下一步临床研究提供依据。

参考文献:

- [1] 杨晓霞. 氨甲环酸不同给药途径对 UVB 诱导豚鼠色素沉着抑制作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [2] 李健和, 胡 焰, 赵子影, 等. 氨甲环酸治疗黄褐斑的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2013, 32(6): 440-443.
- [3] 陈 娟, 陈志鹏, 瞿敏明, 等. 微针技术在经皮给药中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(2): 142-147.
- [4] 朱 凤, 金凡茂, 赵 昱, 等. 微针经皮给药技术研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(8): 149-152.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1145.
- [6] 李金红, 贺亚静, 贺吉香, 等. 复方利多卡因乳膏体外经皮渗透比较研究[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(13): 1541-1545.
- [7] 张 玮, 高 静, 张 敏, 等. 微针对熊果苷皮肤给药的促渗透作用研究[J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(1): 80-83.
- [8] 沈晓燕, 孙莉莉, 邹巧根. 双氯芬酸依泊胺凝胶的体外透皮吸收研究[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(5): 566-568.
- [9] 彩 霞. 氨甲环酸对人培养黑色素细胞生物学影响和相关分子机制的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2013.

(收稿日期: 2018-07-29)