

凝胶骨架控释型马来酸噻吗洛尔贴剂的 透皮吸收促进剂研究^{*}

李娟 平其能 肖锋¹ 张颖² 彭辉迎¹

(中国药科大学药剂学教研室,南京 210009)

摘要 本文研究了挥发油类促进剂对噻吗洛尔经离体鼠皮肤的促进作用,探讨了凝胶控释型贴剂的透皮吸收机理。采用双室渗透扩散装置和紫外分光光度法,通过大鼠皮肤进行了贴剂的体外释放与渗透试验。结果表明,桉油、松节油、薄荷素油及与丙二醇的复合物均能有效地促进噻吗洛尔的渗透。首次发现2%桉油与丙二醇(1:1)混合物为最佳透皮吸收促进剂,其作用比3% Azone与丙二醇(1:3)混合物强。研究表明,该贴剂经皮渗透的主要屏障为角质层,压敏胶可明显减慢凝胶骨架中药物的渗透速率。大鼠皮肤渗透动力学试验表明,噻吗洛尔溶液的渗透呈零级动力学,而凝胶骨架贴剂中药物的渗透可用Higuchi方程来表述。

关键词 马来酸噻吗洛尔;凝胶控释型贴剂;促进剂;屏障效应;透皮吸收

噻吗洛尔(Timolol)是一种 β 受体阻滞剂,其 β 阻滞作用强度为普萘洛尔的5~10倍^[1],临幊上广泛用于高血压、心绞痛、心动过速和青光眼等疾病的治疗。噻吗洛尔具有用药剂量小, $t_{1/2}$ 短(4~5h),首过作用强,普通口服制剂血浓波动大及较易经皮吸收的特点^[2]。前文^[3]已报道采用膜控释或与粘胶控释结合制成噻吗洛尔经皮制剂,其透皮吸收较好,但该制剂释药面积较大(25cm^2),以PVA为基质,在湿热条件下易吸水、变形及溶蚀。针对其不足之处,本文对该制剂基质及工艺进行了改进,从多种挥发油中筛选了含有新的有效促进剂的凝胶型经皮制剂,具有释药面积小(10cm^2),弹性好,物理性质较稳定、恒速释药和增加渗透等优点。同时探讨了凝胶骨架型贴剂的透皮释药机理。

1 实验部分

1.1 仪器和试药

渗透扩散装置(自制),752G紫外分光光

度计(上海第三分析仪器厂),涡旋振荡仪(德国),电热恒温水浴(江苏医疗器械厂),噻吗洛尔马来酸盐(药用,山东济宁制药厂),氮酮(药用,广州助剂化工厂);桉油、松节油、薄荷素油(药用,广州化学试剂厂)

1.2 实验方法

1.2.1 离体皮肤的制备 a.选择250g左右的雄性大鼠,乙醚麻醉,腹部脱毛,生理盐水洗净,饲养24h后处死,剪取皮肤,剥离皮下脂肪组织及粘液组织,选取完整皮肤置低温冰箱保存备用。b.将上述处理过的皮肤角质层一面,用粘胶带反复粘贴40次,每次均换新的粘胶带,至皮肤表面光滑,半透明状^[4]。

1.2.2 渗透扩散装置及实验方法^[5] 本实验采用双室渗透扩散装置,包括扩散池、接受池和磁力搅拌器,扩散面积为 1.766cm^2 ,离体皮肤固定在两池之间,使角质层面向扩散池,扩散池中加入2%噻吗洛尔的饱和水溶液2ml(或贴剂),接收池为生理盐水,体积为16ml,内含磁力搅拌珠(维持在 $37\pm1^\circ\text{C}$),于1,2,4,6,8,12,24h从接收池斜口取样

* 收稿日期 1997-06-05 国家自然科学基金资助项目 ¹本校 1995届毕业生; ²本校 1996届毕业生
?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cajc.ac.cn

5ml,并补充等量的空白液,样品液加入4 mol/L NaOH 0.1ml碱化,加入乙醚8 ml(分两次),涡旋振荡提取,提取液挥干后加入生理盐水5 ml,振荡,于752G紫外分光光度计294 nm处测定吸收度,换算成药物浓度,按以下公式计算累积释药量 Q :

$$C_i = f(A_i)$$

$$Q_n = 16C_0 + \sum_{i=1}^{n-1} 5C_i$$

$$(Q = 16C, i, n = 1, 2, 3, \dots)$$

其中: A_i : 样品吸收度; $f(A)$: 标准曲线方程; C_i : 样品中药物浓度

1.2.3 标准曲线的制备 精密称取噻吗洛尔对照品适量,用生理盐水配成浓度为50 μ g/ml的溶液,吸取0.2, 0.5, 1.0, ..., 4.0 ml置10ml离心管中,同上操作,测得294 nm处样品的吸收值,得标准曲线方程为 $A = 2.08 \times 10^{-2}C + 1.65 \times 10^{-2}$, $r = 0.9999$,线性范围1~40 μ g/ml

1.2.4 回收率和精密度试验 配制低、中、高浓度(2.0, 15.0和30.0 μ g/ml)三个水平噻吗洛尔生理盐水溶液,按“1.2.3”项下操作,每种浓度各做3份,测得回收率平均值为99.28%, RSD为1.46%;另将以上各浓度样品于室温25°C进行精密试验,测得其日内差为0.44%, 1.32%和2.71%;日间差为0.91%, 3.10%和4.41%。

1.2.5 挥发油的筛选方法 将药棉分别用松节油、薄荷素油及桉油适量湿润,平铺于处理好的大鼠皮肤上,置0°C冰箱贮存12h后取出,用生理盐水冲洗皮肤;另将桉油与丙二醇以1:1的比例混合后,按以上方法处理皮肤。然后进行体外透皮试验,考查不同种类的挥发油促进剂及其与丙二醇复合后对噻吗洛尔体外渗透的影响。

1.2.6 凝胶骨架贴剂的制备^[6]

凝胶基质 将15%明胶溶液与20% PVA溶液以1:1混合后,置三颈瓶中,加入1%硼酸,在电动搅拌下,于70°C水浴中加热

6h,取出冷却至室温,与4% Carbopol 934水溶液混合,搅拌均匀。

含药骨架贴片 称取噻吗洛尔马来酸盐适量,加水溶解,用三乙醇胺调节pH至碱性与上述凝胶基质混合均匀,用模具分别铺成约10~12cm²的圆形薄片,置50°C烘箱中,干燥至表面固化,且骨架薄片有较好的弹性即可。贴片最下层用铝塑膜覆盖,第二层为药物骨架圆片,第三层为粘胶层,部分涂在铝塑膜外缘和背衬层内侧的外周(药片四周无粘胶),第四层为海棉垫,最上层为背衬层。

2 结果

2.1 噻吗洛尔经皮渗透促进剂的筛选

2.1.1 不同促进剂促渗效果考察 在对Azone, Azone+丙二醇,油酸,丙二醇, α -吡咯烷酮等促进剂研究基础上^[7],本文筛选松节油、薄荷素油和桉油三种促进剂(见图1)。结果可见,上述促进剂单独使用对噻吗洛尔的促渗效果为:桉油>松节油>薄荷素油。

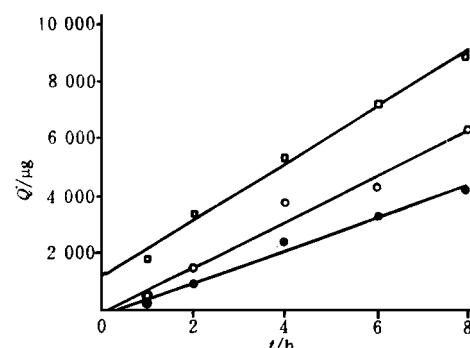


Fig. 1. The effect of different enhancers on the permeation of Timolol through rat skin *in vitro* ($n = 3$)

(—□—) Eucalyptus oil; (—○—) turpentine oil; (—●—) Peppermint oil

2.1.2 促进剂之间的相互作用及配比 据报道^[8],丙二醇在透皮制剂中起溶剂或载体作用,为一极性溶剂,由于桉油极性小,水中溶解度低,若与丙二醇合用具有协同作用。本文将桉油(Eucalyptus oil简EO)与丙二醇

(简 PG)以不同比例混合,进行透皮试验,对文献报道^[7]的最佳促进剂 Azone: PG(1: 3)

进行了重现试验,结果见表 1

Tab 1. The effect of the interaction of enhancers on the permeation of Timolol through rat skin *in vitro* (*n*= 3)

Enhancer	$Q, \mu\text{g}/\text{cm}^2$						$Q \sim t$ equation	<i>r</i>
	<i>t</i> , h 1	2	4	6	8	12		
EO: PG= 1: 1	988. 7	1719. 1	2919. 0	4116. 6	5343. 1	6956. 4	$Q= 548. 4t^{1/2} + 884. 5$	0. 995
EO: PG= 1: 2	309. 0	588. 9	1127. 4	1678. 4	2205. 5	3041. 3	$Q= 251. 2t^{1/2} + 109. 9$	0. 998
Azone: PG= 1: 3	487. 7	1363. 0	3472. 8	5367. 5	6553. 2	7578. 7	$Q= 672. 1t^{1/2} + 438. 3$	0. 965
EO	1016. 4	1975. 1	3081. 0	4133. 1	5028. 3	6177. 2	$Q= 463. 2t^{1/2} + 1020. 3$	0. 984

Q Cumulative Permeation amount

由上表知,各渗透常数按以下规律变化:

Azone+ PG(1: 3)> EO+ PG(1: 1)> EO> EO+ PG(1: 2),桉油与丙二醇合用,随着丙二醇浓度的增加,药物的渗透量(*Q*)及渗透常数逐渐降低,桉油与丙二醇以相同比例混合使用时,具有协同作用,据前文^[5]报道,Azone与丙二醇以不同比例混合,其促进药物经皮释放的效果为: Azone+ PG 1: 3> 1: 2> 1: 4> 1: 1 本实验可证实 Azone与丙二

醇(1: 3)复合时,促渗作用较前者略强

2.2 两种经皮渗透剂对噻吗洛尔贴剂的促渗作用

分别以 EO: PG= 1: 1(I)三种浓度1%、2%和3%为促进剂,另以 Azone: PG= 1: 3(II)3%为促进剂,制备噻吗洛尔贴剂,置完整鼠皮上,固定于双室渗透扩散装置上,进行透皮实验,结果见表 2

Tab 2. The effect of different enhancers on the permeation of Timolol-TDS through rat skin *in vitro* (*n*= 3)

Enhancer	$Q, \mu\text{g}/\text{cm}^2$						$Q \sim t^{1/2}$ equation	Permeation rate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$) $\times 10^2$
	<i>t</i> , h 1	2	4	6	8	12		
I (%)	61. 9	115. 1	200. 6	218. 0	360. 1	508. 2	$Q= 183. 72t^{1/2} - 147. 60$ (<i>r</i> = 0. 997)	1. 84± 0. 52
(I) (%)	101. 9	191. 3	332. 8	467. 5	564. 3	687. 5	$Q= 196. 33t^{1/2} - 53. 23$ (<i>r</i> = 0. 979)	1. 96± 0. 11
III (%)	55. 3	84. 5	201. 4	297. 3	398. 0	548. 8	$Q= 198. 96t^{1/2} - 173. 89$ (<i>r</i> = 0. 992)	1. 99± 0. 50
(II) (%)	48. 9	67. 4	128. 5	188. 6	269. 6	388. 0	$Q= 160. 97t^{1/2} - 165. 57$ (<i>r</i> = 0. 993)	1. 6± 0. 24

显然,三种溶度1%、2%和3%促进剂(I)(桉油+丙二醇=1: 1),对贴剂的促渗作用依次为2%>1%>3%,2%的时滞最短为0.27h,1%和3%时滞分别为0.80h和0.87h 结果表明,2%促进剂I对噻吗洛尔贴剂的促渗作用大于3%促进剂II(Azone+丙二醇=1: 3),而促进剂II的时滞为1.03h 经*t*检验,三种浓度的促进剂I的透皮速率*P_s*无显著性差异;而促进剂I与促进剂II的*P_s*值间有显著性差异(*P*<0.05)故2%桉油与丙二醇(1: 1)复合物为贴剂的最佳促进剂。

2.3 噻吗洛尔贴剂经皮吸收的屏障效应

按前述方法,制备完整大鼠离体皮肤和去角质层的皮肤,将贴剂紧贴皮肤,进行渗透实验,结果见表 3

结果可见,去角质层皮肤对噻吗洛尔的渗透系数显然大于完整皮肤(*P*<0.05),去角质层皮肤的*P_s*值约为完整皮肤的1.0倍,这就说明,皮肤对噻吗洛尔渗透阻力主要来自于角质层,促进剂I是通过与角质层的蛋白质作用而发挥促渗效果的。故噻吗洛尔贴剂经皮吸收的主要屏障为角质层。

Tab 3. Barrier Function of Timolol-TDS through rat skin *in vivo* (*n*= 3)

Skin condition	$Q, \mu\text{g}/\text{cm}^2$						$Q \sim t^{1/2}$ equation	Permeation rate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$) $\times 10^2$	
	<i>t</i> , h	1	2	4	6	8	12	24	
Whole skin	101.9	191.3	332.8	467.5	564.3	687.5	834.2	$Q = 196.33t^{1/2} - 53.23$ (<i>r</i> = 0.979)	1.96± 0.11
SC-stripped skin	139.2	245.5	416.9	568.1	699.9	858.7	1201.0	$Q = 277.94t^{1/2} - 126.95$ (<i>r</i> = 0.988)	2.78± 0.64

2.4 噻吗洛尔贴剂经皮吸收的贮库效应

按 a法制备完整皮肤,同上操作进行透皮吸收试验,经 8h或 24h后,将贴剂移去,清洗皮肤及扩散池,重新将皮肤固定,接收池加入生理盐水继续进行透皮吸收试验,考察时间长短对贮库效应的影响(见表 4)。以上结果说明:噻吗洛尔经皮吸收制剂存在微弱的贮库效应,其强弱随贴剂移去时间延长而逐渐增大,可能由于药物从基质中扩散至角质层,少量药物分子与角质层的成分结合或以游离状态溶解于角质层中,这一过程是逐步、

可逆的。

Tab 4. Deposition Function of Timolol-TDS through rat skin (*n*= 3)

Skin condition	$Q, \mu\text{g}/\text{cm}^2$				
	<i>t</i> , h	1	2	4	6
Whole skin 8h	17.49	18.56	21.76	25.27	27.13
Whole skin 24h	45.98	46.14	56.44	62.82	80.45

2.5 压敏胶对贴剂经皮吸收的影响

将贴剂和表面涂布均匀压敏胶的贴剂分别粘附于离体皮肤上,同上实验,结果见表 5

Tab 5. The influence of PSA on the permeation of Timolol-TDS through rat skin (*n*= 3)

Adhesive patch	$Q, \mu\text{g}/\text{cm}^2$						$Q \sim t^{1/2}$ equation	Permeation rate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$) $\times 10^2$	
	<i>t</i> , h	1	2	4	6	8			
PSA	2.3	7.6	18.6	34.2	52.2	108.7	343.3	$Q = 89.50t^{1/2} - 155.48$ (<i>r</i> = 0.929)	0.90± 0.48
no-PSA	101.9	191.2	332.8	467.5	564.3	687.5	834.2	$Q = 196.33t^{1/2} - 53.23$ (<i>r</i> = 0.979)	1.96± 0.11

PSA Pressure Sensitivity Adhesive

压敏胶为水不溶性材料,作为噻吗洛尔 TDS 的粘附剂,对药物从凝胶骨架中的释放有显著性影响,其体外渗透系数 P_s 有明显差异($P < 0.01$),建议工业生产中应采用外周涂布少量粘附剂的办法。

3 讨论

1)本研究是在前文采用 25cm^2 释药面积,以 Azone 为促进剂,以聚乙烯醇为基材,制备的贴剂基础上,经处方筛选,工艺改进,对凝胶基质通过物理固化交联处理,制备出释药面积减少一半,基质弹性好,透皮速率明显提高的凝胶骨架型经皮给药系统。采用上述方法制备凝胶基质,主要根据聚乙烯醇凝胶化性质,聚乙烯醇水溶液加入不溶化剂硼

酸或硼砂可形成水不溶性热稳定凝胶,其作用机理是硼酸与 PVA 水溶液经物理交联,先形成可溶性络合物,该络合物在碱性条件下即转变成凝胶,而 PVA 水溶液与硼砂水溶液络合发生不可逆凝胶化,试验表明,后者形成的凝胶弹性较差,药物释放速率较慢,故本文选用硼酸为固化剂。

2)本制剂为凝胶骨架控释,促进剂要先从基质中缓慢扩散至皮肤表面,然后与角质层发生作用,其扩散速率为影响药物渗透的重要因素。桉油分子量较小,既具有较强的亲脂性又有亲水性,相对强亲脂性 Azone 有更强的穿透性,在凝胶基质中扩散速率较快。结果表明,2% 和 3% 桉油+丙二醇(1:1)(A)的滞留分别为 0.27 h 和 0.87 h,渗透速率为

$196.33 \mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$ 和 $198.96 \mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$, 桉油浓度 2% 时渗透速率较快; 而 3% Azone+丙二醇 (1:3) (B) 的时滞为 1.03 h, 渗透率为 $160.97 \mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}^{1/2}$ 。显然, 2% 促进剂 A 对噻吗洛尔贴剂促渗效果较好。

3) 角质层细胞间类脂对药物分子的经皮渗透具有屏障及通道双重作用^[4], 凝胶骨架中的噻吗洛尔, 通过皮肤的渗透阻力, 主要来自于角质层和活性表皮, 本文进一步证实, 去角质层的活性表皮的渗透速率明显大于完整皮肤, 说明角质层是噻吗洛尔贴剂经皮渗透的主要限速屏障。

4) 噻吗洛尔饱和溶液通过皮肤的扩散, 符合零级动力学过程, 而凝胶骨架中药物的渗透量 (Q) 与时间的平方根 ($t^{1/2}$) 有较好的线性关系, 其释药方程为: $Q = 196.3 t^{1/2} - 53.2$, ($r = 0.979$)

参 考 文 献

- 陈修主编. 心血管药理学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 159.
- Vermeij P. The disposition of timolol in man. *J Pharm Pharmacol*, 1978, 30: 53.
- 冀学芳, 平其能, 刘国杰等. 马来酸噻吗心安透皮贴剂的制备及释药机理研究. *中国药学杂志*, 1996, 31(4): 217.
- 平其能, 孙国庆, 刘国杰. 角质层及类脂对雌二醇经皮渗透的作用. *中国药科大学学报*, 1993, 24(1): 24.
- O'Neill CT and Deasy PB. Development and evaluation using hairless mouse skin of a transdermal timolol product. *International Journal of Pharmaceutics*. 1988, 48: 247.
- 平其能, 郑梁元编著. 药用聚合物的理论和实践. 第一版. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 324-327.
- 冀学芳, 平其能, 刘国杰等. 促进剂对马来酸噻吗洛尔经皮渗透的影响. *中国药科大学学报*, 1996, 27(1): 6.
- 梁秉文主编. 经皮吸收制剂. 第一版. 北京: 中国医药科技出版社, 1992: 27, 151.

Studies on the Enhancers of Percutaneous Absorption of Timolol Maleate Gel Matrix Controlled Patches

Li Juan, Pi Qineng, Xiao Feng¹, Zhang Yin², Peng Huiying¹

Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract The effects of various volatile oils enhancers on the permeation of timolol through excised rat skin were observed. The mechanism of transdermal absorption of timolol maleate gel-matrix diffusion controlled patches was investigated. The *in vitro* drug diffusion from gel matrix and the permeation tests across excised rat skin were carried out by two compartment diffusion cells and UV spectrophotometry method. It was found that the permeation rate of timolol was considerably enhanced by eucalyptus oil (EO), turpentine oil, and peppermint oil or in the propylene glycol (PG) combination. In this studies matrix consisting of 2% eucalyptus oil+propylene glycol (PG) (1:1) was found to be the optimal enhancer for the penetration of timolol. The effects of mixed enhancers on rat skin penetration were ordered as follows: 2% EO+PG(1:1)>3% Azone+PG(1:3). Furthermore, it seemed that the main barrier to the *in vitro* penetration of timolol patches through rat skin was stratum corneum. The pressure sensitive adhesive could significantly reduce the value of permeation coefficient of the drug in the gel matrix patches. The permeation process of timolol solution was found to follow zero-order kinetics and the permeation rate of drug from the hydrogel formulations could be described by Higuchi's Equation.

Key words Timolol maleate, Gel-matrix diffusion controlled patches; Enhancer; Barrier function; Transdermal absorption