

以油包水型微乳为载体促进氟尿嘧啶的经皮渗透

刘芳, 肖衍宇, 平其能*, 杨闯

(中国药科大学药剂学教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 以磺化琥珀酸二辛酯钠 (AOT) 为主要表面活性剂, 制备氟尿嘧啶油包水型微乳制剂, 以促进药物的经皮渗透。以伪三元相图为基础, 依据微乳区域大小, 初步筛选微乳处方; 用改进的 Franz 扩散池和离体小鼠皮肤研究氟尿嘧啶的透皮速率, 以单位面积的透皮累积渗透量 (Q_n) 为指标, 考察微乳处方中助表面活性剂的种类、水相比例、混合表面活性剂比例、表面活性剂和助表面活性剂质量比和载药量对离体鼠皮透皮吸收的影响, 优化处方。结果表明, 氟尿嘧啶微乳的优化处方为含药 0.5% (w/v), 水 30%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20%, 油相 (IPM) 49.5%, 经皮渗透符合一级速率方程, 12 h 累积渗透量为 $(1\ 355.5 \pm 41.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 分别为 0.5% 药物水溶液和 2.5% (w/w) 市售乳膏 (O/W) 的 19.1 和 7 倍。水/AOT/Tween 85/IPM 微乳系统能促进 5-氟尿嘧啶的透皮吸收, 可以作为氟尿嘧啶等亲水性但水溶性差和渗透性差的药物的新型经皮给药载体。

关键词: 氟尿嘧啶; 微乳; 透皮给药; 磺化琥珀酸二辛酯钠

中图分类号: R943.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 05-0540-08

Water in oil microemulsions for transdermal delivery of fluorouracil

LIU Fang, XIAO Yan-yu, PING Qi-neng*, YANG Chuang

(Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: An Aersol-OT (AOT) included microemulsion containing fluorouracil was prepared by using appropriate proportion of oil, co-surfactant and water for increasing the drug transdermal delivery ability. According to the area of microemulsion basing on the pseudo-tertiary phase diagrams, the optimum formulation was screened initially. And the permeation flux of fluorouracil across excised mice skin was determined *in vitro* using Franz diffusion cell to optimize the formulation further. The effect of the kind of co-surfactant, the content of water, the content of mixed surfactant, the mass ratio of surfactant/cosurfactant (K_m) and the drug load on skin permeation of fluorouracil were evaluated. The optimum formulation was composed of 0.5% (w/v) fluorouracil, 30% water, 20% mix-surfactant (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) and 49.5% oil (IPM). The cumulative amount permeated of fluorouracil in 12 hour was $1\ 355.5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 19.1 folds and 7 folds more than 0.5% fluorouracil aqueous solution and 2.5% (w/w) fluorouracil cream, respectively. The permeation of this microemulsion accorded with first-order model. The water/AOT/Tween 85/IPM microemulsion system promoted the permeation of fluorouracil greatly, which may be a promising vehicle for the transdermal delivery of fluorouracil and other hydrophilic drug.

Key words: fluorouracil; microemulsion; transdermal delivery; Aersol-OT

氟尿嘧啶 (5-Fu) 是一种亲水性抗代谢药物, 能够抑制 DNA 的合成从而阻断恶性细胞的复制, 其口服及注射剂被广泛用于多种癌症, 其外用软膏则用

于局部增生性皮肤病如角质层光化、表层皮肤癌和牛皮癣^[1]的治疗。5-Fu 是亲水性药物, 但在水中的溶解度不高, 并且很难透过脂性的角质层到达皮下等癌变扩散的区域, 在一些 5-Fu 局部用药研究中采取了多种方法以增加 5-Fu 的经皮渗透量, 如离子电渗

收稿日期: 2008-12-11.

*通讯作者 Tel: 86-25-83271098, E-mail: pingqn@cpu.edu.cn

法^[2]、激光处理^[3]、前体药物^[4]和添加促渗剂^[5,6]等。

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,主要有油包水型和水包油型两种结构。水包油型微乳多作为亲脂性、难溶性药物的透皮促渗载体,而油包水型微乳,特别是阴离子型,因为具有增加亲水性、难渗透药物与角质层的相容性、改变脂质双分子层结构、减小粒径及易透过皮肤毛囊孔^[7]等性质,成为可能解决亲水性药物经皮渗透问题的一个新的途径。磺化琥珀酸二辛酯钠(AOT)是一种阴离子表面活性剂,HLB值为10.5,在一定浓度范围内具有与油相结合含水量较高、促渗作用强、毒性低等特点。Gupta等^[8]发现水/AOT/IPM油包水型微乳能使5-Fu的透皮渗透量增大3~6倍。Paul等^[9]发现加入吐温、司盘等助表面活性剂和电解质后水/AOT/IPM微乳系统能增加含水量和稳定性,通过电导率测定等方法,推测这种增加可能是改变了表面活性剂界面的曲率及水滴间的相互作用。Liu等^[10,11]则应用含类似助表面活性剂的水/AOT/IPM油包水型微乳提高了疏水性药物环孢素皮肤渗透性。

理论上,提高水/AOT/IPM油包水微乳体系中的含水量应使得该微乳系统更加适用于作为亲水性药物透皮吸收的促渗载体。因为含水量增高将有利于增加亲水性药物的溶解量,使其能维持更长时间的透皮渗透浓度梯度;同时体系含水量增多可以提高角质层水化程度,打开皮肤的通路,也能促进药物的吸收。因此,本文研究水/AOT/助表面活性剂/IPM油包水微乳体系对亲水性药物5-Fu透皮的作用。以提高非微乳处方中含水量、药物含量以及微乳稳定性为目标,应用伪三元相图,在更广泛的范围筛选各种类型油相、助表面活性剂和 K_m 。进行小鼠离体皮肤的透皮实验,以提高5-Fu的透皮量为目标,进一步优化设计的微乳处方,研究微乳透皮的影响因素,为皮肤渗透性差的亲水性药物提供促渗载体。

材料与方法

试剂 氟尿嘧啶(5-Fu,纯度98%,山东临邑氟瑞精细化工有限公司),2.5%氟尿嘧啶软膏(广东顺峰药业有限公司),AOT(北京百灵威公司),Tween 85、Tween 20、Span 80、油酸、丙二醇(PG)及甲醇(上海国药集团化学试剂有限公司),肉豆蔻酸异丙酯(IPM)和棕榈酸异丙酯(IPP,英国Croda公司),多聚葡糖甘油酯(Labrafil 2125CS),辛酸/癸酸三甘油酯(GTCC),聚乙二醇-12-羟基硬脂酸酯(Cremorph

EL),单亚油酸甘油酯Maisine35-1和二乙二醇单乙醚(Transcutol P,法国Gattefosse公司),聚乙二醇-12-羟基硬脂酸酯(SOLUTOL[®]HS 15,德国BASF有限公司)。

仪器 高效液相色谱仪(LC-10AT VP,SPD-10A VP紫外-可见检测器,日本岛津公司),透皮扩散试验仪及改进的扩散池(上海锴凯科技贸易有限公司),Agilent 8453型紫外扫描仪(美国Agilent公司)。

动物 昆明种雄性小鼠,体重18~22 g(东南大学医学部动物实验中心)。

5-Fu溶解度的测定 测定5-Fu在水、不同的油、表面活性剂和助表面活性剂中的溶解度。取过量5-Fu细粉于10 mL具塞刻度试管中,分别加入各种油、表面活性剂及助表面活性剂5 mL,密封,涡旋混匀,于 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒温水浴中机械振荡72 h,达到平衡后, $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,取部分上清液用 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜保温过滤,取续滤液,用甲醇适当稀释,HPLC检测药物浓度,即得5-Fu的饱和溶解度,同法操作3次,取平均值。

微乳伪三元相图绘制 称取定量的油和按一定质量比混合的表面活性剂和助表面活性剂,在室温 (25°C) 下搅拌混合均匀。向油/表面活性剂混合物中滴加水,因为尚未见文献报道测定油包水型微乳粒径的实际操作方法,本实验仍以观察体系到达澄清透明作为微乳形成指标。当外观不再澄清时,记录临界加入水量。按油、水和混合表面活性剂在临界点的质量分数,在伪三元相图中绘制曲线,确定微乳区。考察含药体系时,直接将5-Fu粉末加入到上述微乳中,室温搅拌30 min使其完全溶解。

小鼠离体皮肤的体外经皮渗透实验 取体重为18~22 g雄性小鼠,断颈处死,剃净腹部体毛,取无损伤皮肤,除去皮下脂肪,用生理盐水冲洗皮肤内表面。将皮肤固定在扩散池的上、下两室之间,角质层朝上,接受液为0.9%的生理盐水溶液(接受池体积为17.2 mL,透过面积为 2.83 cm^2),释放液为药液1 mL或1 g(乳膏)。将装置置于 $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 恒温水浴中,开动搅拌($300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),分别于0.5、1、2、4、6、8、10和12 h取样2 mL,同时补加相同温度等体积新鲜接受液。样品用 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,取样品续滤液1 mL进行HPLC分析,并计算药物的单位面积累积渗透量(Q_n)。

以 Q_n 为指标,进一步筛选微乳处方。给药池中是药物的微乳液或其他类型制剂,接受池中溶液能溶解药物的量远大于药物的饱和溶解度,满足漏槽

条件, 可用下式计算药物经皮累积渗透量^[12]。

$$Q_n = \frac{C_n \times V_o + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V}{A}$$

其中 C_n 表示第 n 个取样点测得的浓度, C_i 表示第 i 个取样点测得的浓度, V_o 表示接收池的体积, V 表示每次取样的体积, A 表示释药面积。以 Q_n ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) 对 t (h) 作图。

含量测定方法

色谱条件 色谱柱: Diamonsil ODS C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相: 10% 甲醇, 流速 1 mL \cdot min⁻¹, 检测波长: 266 nm, 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量: 20 μL 。

标准曲线的制备 精密称取 5-Fu 适量, 用流动相配成质量浓度为 1 mg \cdot mL⁻¹ 的储备液, 然后用流动相分别稀释成 1、10、30、50 和 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列对照品溶液, 进样 20 μL 。5-Fu 的保留时间为 5.3 min, 在 1~80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内峰面积 (A) 与 5-Fu 的质量浓度 (ρ , mg \cdot mL⁻¹) 呈良好的线性关系, 回归方程: $A = 60\,793\rho + 143.41$, $R^2 = 1$ 。方法回收率为 102.4%, 日内、日间 RSD (%) 分别为 0.3 和 0.4, 表明该分析方法准确、可靠, 满足含量测定要求。

样品的检测 按“小鼠离体皮肤的体外经皮渗透试验”项所得的待测液, 直接进样, 进样量为 20 μL 。按公式计算 5-Fu 的 Q_n 。

数据分析 对各微乳组累积释放量进行独立 t 检验。

结果与讨论

1 氟尿嘧啶的溶解度

考察了药物在水、不同的油、不同表面活性剂和助表面活性剂中的溶解度, 结果见表 1。药物在水中的最大溶解度为 (12.1 \pm 0.16) mg \cdot mL⁻¹; 而药物在油相中溶解能力有限。只有溶解的药物才能通过皮肤吸收, 为了提高药物在制剂中的总浓度以增大其透皮吸收, 需要选择微乳中水/油相体积比高, 对药物溶解能力大的油相和表面活性剂, 要求能以较少的表面活性剂用量形成药物溶解量高的微乳, 并在低温储藏条件下也没有药物结晶。

相对而言, 药物在 Masine35-1 中的溶解度较大, 故选择其为备选油相。药物在油酸中溶解度中等, 但文献^[13, 14]报道油酸能提高 5-Fu 透皮渗透量 56 倍, 具有很强的促渗效果, 故将油酸也作为备选油相。药物在 IPM 中溶解度很小, 但文献^[15]报道 IPM 的含水能力很强, 且具有一定的促渗能力, 这对提高 5-Fu

Table 1 Saturated solubility of 5-Fu in different solution

| Oil | Solubility /mg \cdot mL ⁻¹ | Surfactant | Solubility /mg \cdot mL ⁻¹ |
|-----------------|---|----------------------------|---|
| Labrafil 2125CS | 0.27 \pm 0.01 | SOLUTOL [®] HS 15 | 2.95 \pm 0.03 |
| GTCC | 0.031 \pm 0.012 | Transcutol P | 6.89 \pm 0.01 |
| IPM | 0.023 \pm 0.002 | PG | 9.18 \pm 0.07 |
| IPP | 0.014 \pm 0.005 | Tween 20 | 1.32 \pm 0.01 |
| Masine35-1 | 0.515 \pm 0.011 | Tween 85 | 2.37 \pm 0.03 |
| Oleic acid | 0.139 \pm 0.009 | Creomorph EL | 1 \pm 0.011 |
| Water | 12.1 \pm 0.16 | Span 80 | 0.92 \pm 0.01 |

透皮的渗透梯度和渗透速率都有很好的促进作用, 故也将其作为备选油相。药物在表面活性剂和助表面活性剂中的溶解度也不大。在 PG 和 Transcutol P, SOLUTOL[®]HS 15 中溶解度稍高, 故选择它们为备选的 AOT 微乳系统的助表面活性剂。据文献^[11, 16]报道 Tween 20 和 Tween 85 在 AOT 微乳系统中作为助表面活性剂时具有很强的协同促渗以及增加含水量的作用, 故也选择它们作为备选助表面活性剂。

2 微乳相图

2.1 油相对微乳形成的影响 分别以对 5-Fu 有较大溶解度的 Masine35-1, 有较好促渗作用的油酸, 含水量较大的 IPM 为油相, AOT 为表面活性剂, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下绘制伪三元相图, 见图 1。

由图可知, 油相为 IPM 时微乳区域最大, 含水量最多, 也最为稳定, 这可能与油相分子的体积大小相关。一般情况下, 油相的分子体积越大越不容易插入油水界面膜, 这将使得界面曲率变小, 水相粒径增大, 整个体系变得不稳定^[17, 18]。Masine35-1 和油酸分子不仅因为碳链较 IPM 长, 且分子中分别含有 1 和 2 个碳-碳双键, 分子的柔顺性较差, 分子体积明显大于 IPM, 所以含有这两种油的体系容纳水的能力均小于以 IPM 为油相的体系。此结果也符合 BSO 平衡理论^[9]。根据该理论, 油包水体系最大的水增容量应该出现在油相分子链长 + 助表面活性剂分子链长 = 表面活性剂分子链长时。若油相分子链过长, 长出的部分端基片段将升高界面热运动, 界面结构变得无序, 界面膜分子间的距离增大, 微乳体系变得不稳定。表面活性剂 AOT 分子具有双尾结构, 每条碳链上都有支链, 有限碳链长度为 12~16, 因此选择油相分子的碳链长度也应该在此范围内, IPM 是最为合适的一种。

2.2 助表面活性剂对微乳形成的影响 分别以对 5-Fu 有较大溶解度的 PG, Transcutol P 和 SOLUTOL[®]HS 15 以及对 5-Fu 有促渗作用的 Tween 20 和 Tween 85 作为助表面活性剂, AOT 为表面活性剂, 固定 K_m 值

(表面活性剂与助表面活性剂的质量比) 为 2:1, 在 25 °C 下绘制伪三元相图, 见图 2。

由图可知, 微乳区域和增溶水量的大小依次为 Tween 85 组>SOLUTOL[®]HS 15 组≈PG 组>Tween 20 组>不含助表面活性剂组(对照组)>Transcutol P 组。Tween 85 为助表面活性剂时微乳区域最大, 增溶水量也最大(在混合表面活性剂含量为 20% 时增溶水量 33%), SOLUTOL[®]HS 15 略次之, 它们的微乳区和含水量均大于对照组。虽然 AOT 的乳化能力很强, 但当其中加入非离子表面活性剂后可以形成混合胶团, AOT 的极性被非离子型表面活性剂的亲水基隔开, 因此静电排斥力减少, 导致体系对电解质敏感性下降, 稳定性增加; 同时, 非离子表面活性剂可以起到醇的作用, 降低界面膜的刚性, 促使微乳体系增

溶更多量的水^[9]。Tween 85 组的微乳区和含水量大于 Tween 20 组, 这可能是二者与 AOT 和 IPM 的相容性有关, 而与它们的 HLB 值没有直接的联系^[16]。PG 组的微乳区域和增溶水量也大于对照组, 这可能是因为短链醇碳链较短, 可以进入界面膜表面活性剂分子间隙中增加表面活性剂层柔韧性, 降低界面膜的刚性, 增加其流动性, 因而可以减少微乳液形成时所需的弯曲能, 使微乳体系容易自发形成。Tween 85, SOLUTOL[®]HS 15 和 PG 作为 AOT 微乳体系的助表面活性剂时, 体系含水量和微乳面积相差不大, 因此, 选择此 3 种辅料进行进一步实验。

2.3 K_m 值对微乳形成的影响 以 IPM 为油相, AOT 作为表面活性剂, Tween 85, SOLUTOL[®]HS 15 和 PG 为助表面活性剂, 在表面活性剂与助表面活性剂的质

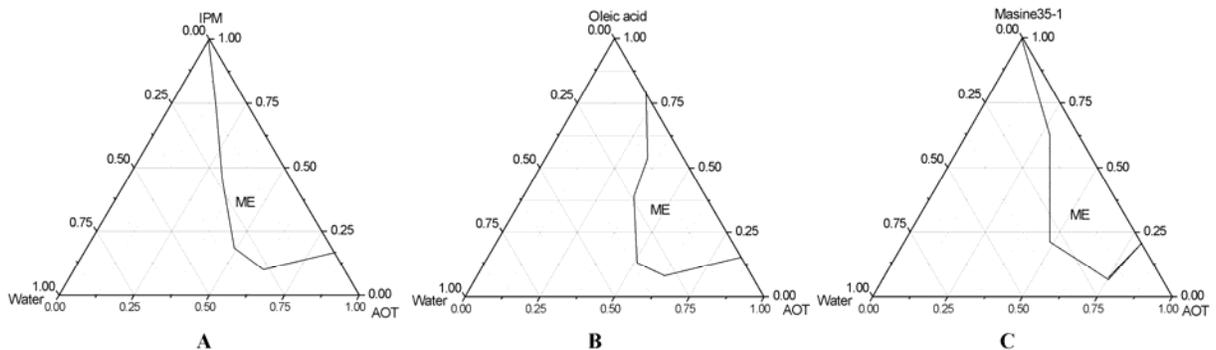


Figure 1 Effect of different oils on microemulsion phase diagram. A: IPM; B: Oleic acid; C: Masine 35-1

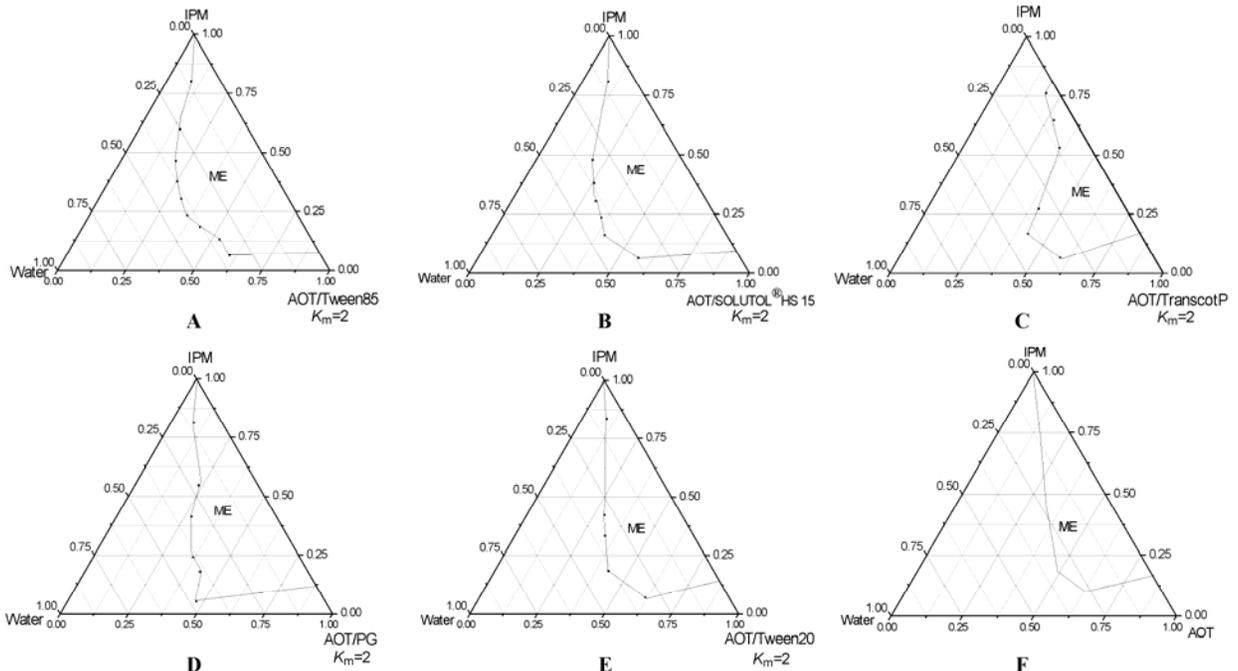


Figure 2 Effect of different co-surfactants on microemulsion phase diagram. A: Tween 85; B: SOLUTOL[®]HS 15; C: Transcutol P; D: PG; E: Tween 20; F: Control

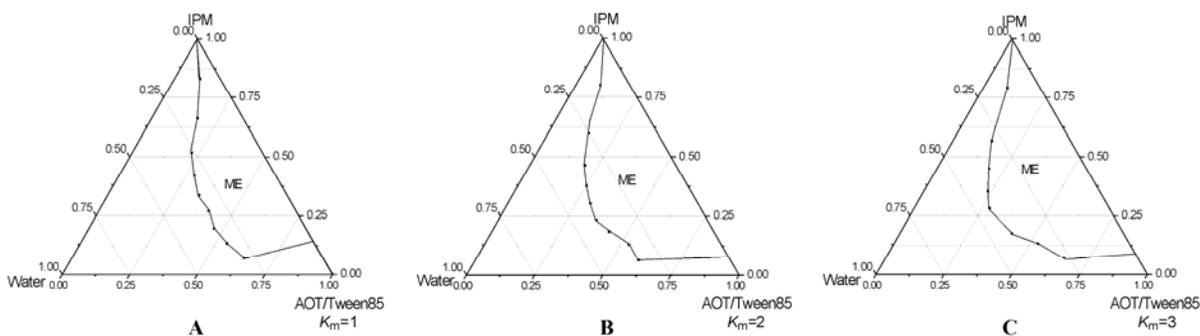


Figure 3 Effect of different K_m on microemulsion phase diagram (AOT/Tween85). A: $K_m = 1 : 1$; B: $K_m = 2 : 1$; C: $K_m = 3 : 1$

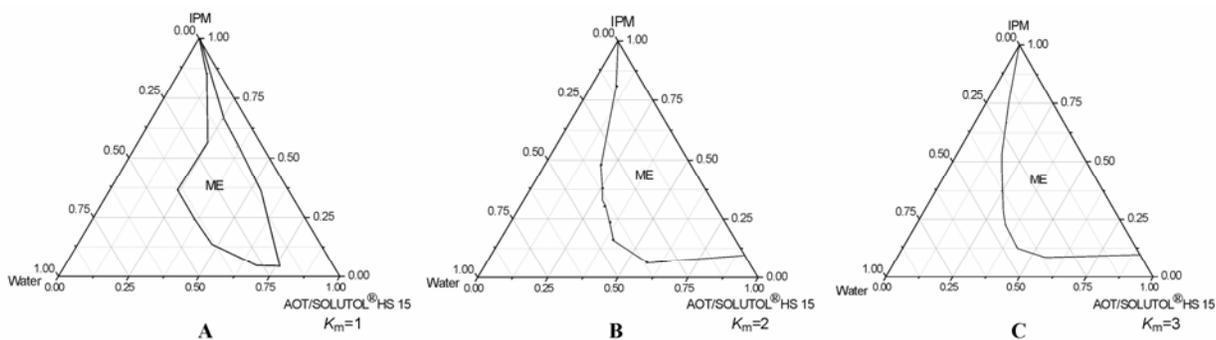


Figure 4 Effect of different K_m on microemulsion phase diagram (AOT/SOLUTOL[®]HS 15). A: $K_m = 1 : 1$; B: $K_m = 2 : 1$; C: $K_m = 3 : 1$

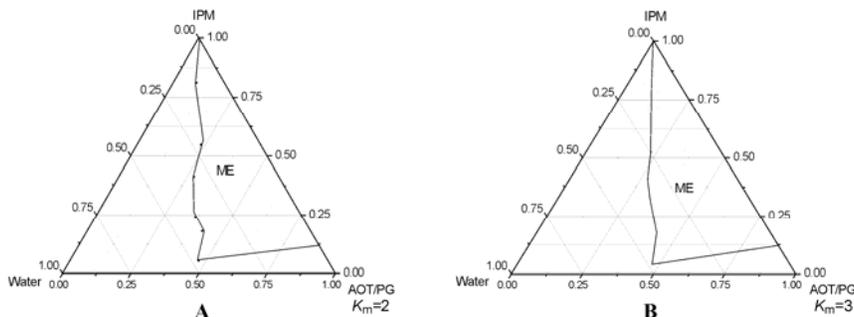


Figure 5 Effect of different K_m on microemulsion phase diagram (AOT/PG). A: $K_m = 2 : 1$; B: $K_m = 3 : 1$

量比分别为 $K_m = 3, K_m = 2, K_m = 1$ 时绘制三相图，如图 3~5。

可见，除了 PG 组在 $K_m = 1$ 时不能形成微乳外，随着 K_m 值的增大，各组微乳区域和含水量不断增加，这可能是由于 AOT 的乳化能力很强，能够更多地降低界面张力，随着它质量分数的提高，微乳体系越易形成。在较低表面活性剂含量（20%）时，Tween 85 组在 $K_m = 1, K_m = 2$ 及 $K_m = 3$ 时的增溶水量分别是 24%、33%和 36%；SOLUTOL[®]HS 15 组在 $K_m = 1, K_m = 2$ 及 $K_m = 3$ 时的增溶水量分别是 14.6%、31.8%和 33.2%；PG 组在 $K_m = 2$ 及 $K_m = 3$ 时增溶水量分别是 17.7%和 21.5%。 $K_m = 2$ 和 $K_m = 3$ 时的增溶水量相差不大，综

合考虑阴离子表面活性剂的毒副作用和增溶水量，各组 $K_m = 2$ 时都是最适合的选择。

3 小鼠离体皮肤的体外经皮渗透实验

3.1 不同助表面活性剂对药物经皮渗透的影响 本实验应用小鼠离体皮肤作为模型用于比较不同制剂透皮渗透性的相对大小。Wu 等^[20]用小鼠皮肤体外渗透实验研究了亲水性药物胰岛素的油包水微乳，并比较了小鼠、无毛小鼠和大鼠三者之间的透皮速率，没有显著性差异。

Tween 85, SOLUTOL[®]HS 15 和 PG 作为 AOT 微乳体系的助表面活性剂时，体系含水量和微乳面积相差不大，因此用小鼠离体皮肤的体外经皮渗透实

进一步筛选助表面活性剂。选取 AOT 为 13.3%, K_m 值为 2, 固定载药量为 0.3% (不同微乳最低含水量时的最大载药量), Tween 85 组和 SOLUTOL[®]HS 15 组含水量为 30%, PG 组含水量为 17%, IPM 分别为 49.7%, 49.7%和 62.7%, 对 3 种不同助表面活性剂的微乳进行小鼠透皮实验, 考察累积透皮渗透量。结果如图 6 所示。

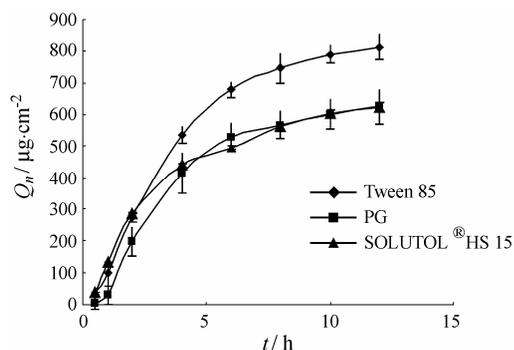


Figure 6 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsions containing different cosurfactants *in vitro* ($n=6$)

Tween 85 组的累积渗透量显著大于 SOLUTOL[®]HS 15 组和 PG 组, 12 h 达到 $(813.3 \pm 41.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$; SOLUTOL[®]HS 15 组和 PG 组的渗透曲线和累积渗透量相似, 12 h 累计渗透量分别达到 (625.2 ± 21.3) 和 $(624.8 \pm 30.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。这说明药物在 Tween 85 组微乳中热力学活性较大, 渗透效果较好, 故最终选择 Tween 85 作为助表面活性剂。

3.2 不同含水量对药物经皮渗透的影响 固定 AOT 含量为 13.3%, Tween 85 为 6.7%, 载药量为 0.3%, 分别对含水量为 10%、20%、25%和 30%的微乳进行小鼠透皮实验, 考察它们的累积渗透量, 结果如图 7。对各微乳组累积释放量进行独立 t 检验, 统计结果显示在显著水平 $P < 0.05$ 时, 含水量为 10%的微乳组明显低于其他各组, 与其他含水量组的累积渗透量有显著差异, 而其他含水量的各微乳组的累积渗透量没有显著差异, 这主要与微乳的结构有关。在含水量较低时, 微乳处于油包水状态, 药物从水相中扩散到油相中再到达皮肤具有一定阻力, 阻碍了药物的透皮渗透; 当含水量在 20%~30%时, 渗透量增大, 可能是因为微乳进入了过渡的双连续状态^[10, 11], 在微乳内部形成了水的通路, 微乳中水相和油相都是连续的, 药物更易扩散并透过皮肤。同时增加含水量还可以增加角质层的水化, 使角质层处于疏松状态, 有利于药物的渗透。但含水量在 20%~30%时, 结果显示随着含水量的增大, 药物的渗透量并没有增加, 可能是因为

微乳在处于双连续状态时, 增加一定量的水不能改变微乳的结构, 角质层的水化作用也趋近饱和而导致作用减弱。含水量增大能提高药物的载药量, 也可以降低油相的量减少微乳对皮肤的刺激, 因此选择质量分数 30%作为优化微乳制剂的含水量。

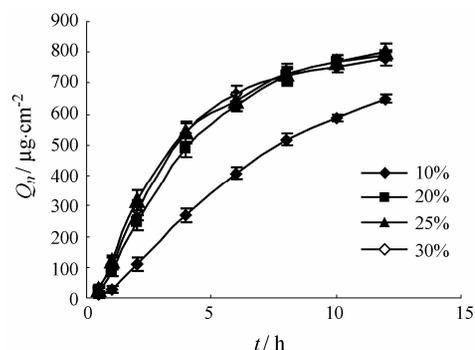


Figure 7 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsions containing different contents of water *in vitro* ($n=6$)

3.3 不同混合表面活性剂含量对药物经皮渗透的影响 固定含水量为 25%, 载药量为 0.3%和 $K_m = 2$, 分别对混合表面活性剂 (AOT/Tween 85) 含量为 15%、20%、30%和 40%的微乳进行小鼠透皮实验, 结果如图 8。对各微乳组累积渗透量进行 t 检验, 结果显示没有显著性差别, 混合表面活性剂的含量在 15%~40%对透皮渗透产生类似的促渗作用, 这说明水/AOT/Tween 85/IPM 微乳系统在混合表面活性剂含量较低时就能达到促渗效果。混合表面活性剂质量分数为 20%时能包含 33%的水, 微乳的总载药量能达到 0.5%。虽然增加表面活性剂用量可以继续增加微乳载药量, 但当表面活性剂用量高达 40%时, 载药量仅为 0.71%。故选择质量分数 20%作为混合表面活性剂的优化值。

3.4 不同载药量微乳对药物经皮渗透的影响 以水相 30%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20%以及 IPM 来制备含药微乳, 考察含药量分别为 0.1%、0.3%和 0.5%时微乳渗透量的变化, 结果如图 9。当药物浓度增加时, 各时间点渗透量呈线性增加, 12 h 后它们的累积渗透量分别是: (268.9 ± 7.6) , (813.3 ± 28.1) 和 $(1355.5 \pm 41.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。可见, 透皮渗透量与药物的载药量或浓度梯度直接相关, 在固定含水量时, 载药量越大, 浓度梯度越高, 累积渗透量越大。故选择 0.5%的载药量作为含药微乳的最佳配方。

3.5 优化微乳与水溶液和乳膏 (O/W) 的比较 以 0.5%优化处方微乳、0.5% 5-Fu 水溶液和 2.5% 5-Fu 乳膏对小鼠进行透皮分析, 考察它们的累积渗透量和透皮曲线 (图 10), 并对其进行释放方程拟合, 结果见表 2。

结果显示, 在实验时间内, 0.5%药物水溶液和 2.5%市售乳膏制剂的透皮是零级动力学过程, 这是由于皮肤角质层的屏障作用受制剂因素影响小, 药物透过速率很低, 皮肤两侧能长时间保持相对稳定的浓度梯度。含药微乳前 4 h 的透过也属于零级动力学 ($y = 242.57x - 65.998, R^2 = 0.9963$), 但透过速率是高浓度乳膏的 14.4 倍, 是同浓度水溶液的 57.3 倍。这表明该微乳与皮肤角质层的相互作用改变了角质层的屏障性能, 使药物从角质层进入真皮层的速率大大加快。4 h 后, 随着供给室中药量的减少和浓度梯度的下降, 透皮速度虽然变慢, 转变为一级速度过程, 但透皮速率仍然高于水溶液。6 h 时 0.5% 优化微乳的累积渗透百分数已达到 64%, 而 Gupta 等^[8]所研究水/AOT/IPM 微乳系统 6 h 累积渗透百分数仅为 18.24%。可见, 助表面活性剂的加入对增强水/AOT/IPM 微乳系统的透皮吸收具有极大意义。一方面, 它能增加微乳的含水量, 增大载药量, 提高药物的渗透梯度促进吸收; 另一方面, 它通过与阴离子表面活性剂 AOT 的协同促渗作用提高药物的透皮累积量, 并能相对减少 AOT 的用量, 降低微乳的皮肤毒性。因此, 与单一的阴离子型油包水微乳相比, 加入助表面活性剂后的油包水微乳更具有开发成为亲水性、难渗透药物的透皮给药载体的前景。

通过对 3 种不同制剂的 12 h 累积渗透量比较发现, 0.5%含药微乳的累积渗透量是 0.5%含药水溶液的 19.1 倍, 是 2.5%市售软膏制剂的 7 倍, 促进了 5-Fu 的透皮渗透。该系统也可以促进疏水性药物的透皮渗透^[10,11], 但对于亲水性药物, 特别是极性大, 在水中溶解度小、在油和表面活性剂中几乎不溶的药物(如 5-Fu) 来说很有意义。因为极性大的药物很难通过皮肤角质层, 也很难溶于一些油相或表面活性剂中达到促渗效果, 促渗载体的选择十分困难, 此类药物在透

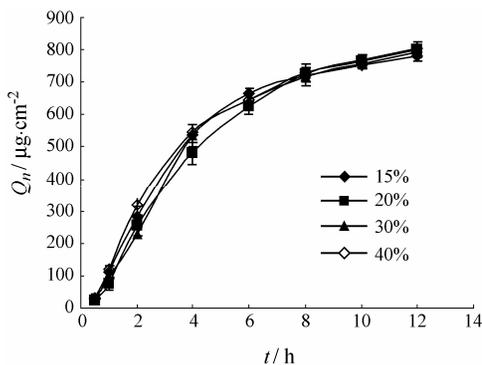


Figure 8 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsions containing different contents of S/CoS *in vitro* ($n = 6$)

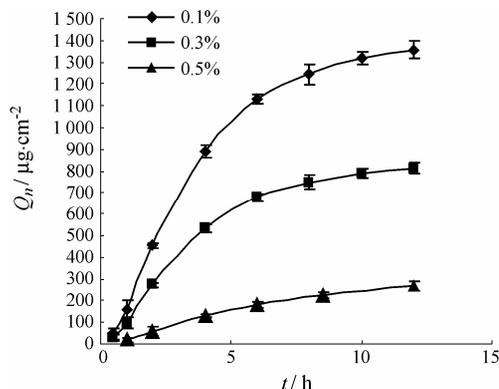


Figure 9 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsions containing different contents of 5-Fu ($n = 6$)

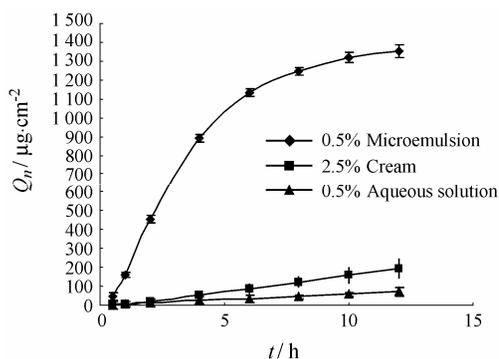


Figure 10 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from different preparations

Table 2 Percutaneous permeation parameters of the microemulsion, the aqueous solution and cream

| Formulation | Regression curve | R^2 | $Q_{12h}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ | $Q_{12h}/\%$ |
|-----------------------|---|--------|--|-----------------|
| 0.5% Microemulsion | $y = -1.624 \times \exp(-x/3.74) + 1.434.5$ | 0.998 | 1355.5 ± 41.1 | 76.7 ± 0.8 |
| 0.5% Aqueous solution | $y = 4.235x + 0.0238$ | 0.9995 | 71.1 ± 8.9 | 4.02 ± 0.18 |
| 2.5% Cream | $y = 16.867x - 10.598$ | 0.9971 | 194 ± 12.1 | 2.2 ± 0.05 |

皮制剂上的应用受到很大的限制。同时,亲水性药物包裹在微乳水相中,粒径很小,可以通过毛囊孔等^[7]透过皮肤,相对于疏水性药物来说,亲水性药物渗透途径更多,促渗效果更好。

结论

三相图和透皮渗透实验的筛选结果表明,与其他油、表面活性剂及助表面活性剂微乳系统比较,水/AOT/Tween 85/IPM 所形成的 5-Fu 微乳具有最大含水量和最大透皮渗透量。在混合表面活性剂(AOT/Tween 85)含量为 20%时,微乳含水量能达到 33%,与药物的水溶液相比能提高渗透量近 20 倍。同时,由于该系统的强大促渗能力,4 h 内渗透速率是药物水溶液的 57.3 倍,在较短的时间就能渗透大量的药物。因此,水/AOT/Tween 85/IPM 油包水微乳系统不仅适合作为疏水性药物的透皮载体,更适合作为亲水性药物的载体,是一种极具应用潜力的透皮促渗载体。

References

- [1] Pinedo HM, Kligman AM. Fluorouracil biochemistry and pharmacology [J]. *J Clin Oncol*, 1988, 6: 1653-1664.
- [2] Lee W, Shen S, Wang K, et al. The effect of laser treatment on skin to enhancer and control transdermal delivery of 5-fluorouracil [J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91: 1613-1626.
- [3] Fang J, Hung C, Fang Y, et al. Transdermal iontophoresis of 5-fluorouracil combined with electroporation and laser treatment [J]. *Int J Pharm*, 2004, 270: 241-249.
- [4] Pat rik AI, Beall HD, Gilroy P, et al. Effect of vehicles on topical delivery of 5-fluorouracil (5-Fu) by 1-acyl-5-Fu prodrugs [J]. *Int J Pharm*, 1997, 154: 39-48.
- [5] Gao S, Singh J. Effect of oleic acid/ ethanol and oleic acid/ propylene glycol on the *in vitro* percutaneous absorption of 5-fluorouracil and tamoxifen and the macroscopic barrier property of porcine epidermis [J]. *Int J Pharm*, 1998, 165: 45-55.
- [6] Singh BN, Singh RB, Singh J. Effect of ionization and penetration enhancers on the transdermal delivery of 5-fluorouracil through excised human stratum corneum [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298: 98-107.
- [7] Wu HL, Ramachandran C, Weiner, ND. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2001, 220: 63-75.
- [8] Gupta RR, Jain SK, Varshney M. AOT water-in-oil microemulsions as a penetration enhancer in transdermal drug delivery of 5-fluorouracil [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 41: 25-32.
- [9] Paul BK, Mitra RK. Water solubilization capacity of mixed reverse micelles: effect of surfactant component, the nature of the oil, and electrolyte concentration [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2005, 288: 261-279.
- [10] Liu HZ, Wang YJ, Lang YY. Bicontinuous cyclosporin A loaded water-AOT/Tween 85-isopropyl myristate microemulsion: structural characterization and dermal pharmacokinetics *in vivo* [J]. *J Pharm Sci*, 2008, 6: 1-10.
- [11] Liu HZ, Li SM, Wang YJ. Bicontinuous water-AOT/Tween 85-isopropyl myristate microemulsion: a new vehicle for transdermal delivery of cyclosporin A [J]. *Drug Dev Ind Pharm* 2006, 32: 549-557.
- [12] Zhang CF, Yang ZL. Effects of *D*-limonene and *L*-limonene on transdermal absorption of ligustrazine hydrochloride [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 772-777.
- [13] Goodman M, Barry BW. Action of penetration enhancers on human skin as assessed by the permeation of model drugs 5-fluorouracil and estradiol. I. infinite dose technique [J]. *J Invest Dermatol*, 1988, 91: 323-327.
- [14] Wang CX, Liu YL. New improvement in transdermal delivery [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2002, 37: 999-1002.
- [15] Lee PJ, Langer R, Shastri VP. Novel microemulsion enhancer formulation for simultaneous transdermal delivery of hydrophilic and hydrophobic drugs [J]. *Pharm Res*, 2003, 20: 264-269.
- [16] Kantaria S, Reesb GD, Lawrence MJ. Formulation of electrically conducting microemulsion-based organogels [J]. *Int J Pharm*, 2003, 250: 65-83.
- [17] Leung R, Shah DO. Solubilization and phase equilibria of water-in-oil microemulsions: I. effects of spontaneous curvature and elasticity of interfacial films [J]. *J Colloid Interface Sci*, 1987, 120: 320-329.
- [18] Leung R, Shah DO. Solubilization and phase equilibria of water-in-oil microemulsions: II. effects of alcohols, oils, and salinity on single-chain surfactant systems [J]. *J Colloid Interface Sci*, 1987, 120: 330-344.
- [19] Bansal VK, Shah DO, O'connell JP. Influence of alkyl chain length compatibility on microemulsion structure and solubilization [J]. *J Colloid Interface Sci*, 1980, 75: 462-475.
- [20] Wu HL, Ramachandran C, Weiner, ND. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2001, 220: 63-75.