

氟尿嘧啶经皮给药微乳凝胶的研究

肖衍宇¹, 刘芳¹, 陈志鹏², 平其能^{1*}

(1. 中国药科大学药剂教研室, 江苏 南京 210009; 2. 南京中医药大学药剂教研室, 江苏 南京 210046)

摘要: 制备氟尿嘧啶 (5-Fu) 微乳凝胶, 考察影响微乳凝胶理化性质的因素, 并研究其体外透皮特性及皮肤刺激性。以肉豆蔻酸异丙酯 (IPM) 为油相、磺化琥珀酸二辛酯钠 (AOT) 为表面活性剂、Tween 85 为助表面活性剂, 在室温下采用磁力搅拌法滴加水至油相中, 形成空白微乳后直接加入凝胶剂和 5-Fu, 即形成 5-Fu 微乳凝胶。以黏度和电导率为指标, 考察温度、明胶含量及微乳处方因素对微乳凝胶理化性质的影响。以单位面积的透皮累积渗透量 (Q_n) 为指标, 采用改进的 Franz 扩散池和离体小鼠皮肤研究明胶用量和载药量对离体鼠皮透皮吸收的影响, 并考察微乳凝胶对大鼠皮肤的刺激性。水/AOT/Tween 85/IPM W/O 型微乳系统, 只有明胶作为凝胶剂才能形成微乳凝胶。在 25 °C、32 °C 及 40 °C 时, 形成微乳凝胶所需明胶含量分别为 7%、14% 及 17% 以上。微乳凝胶黏度随微乳中含水量的增加而减小, 随表面活性剂用量的增加而减小, 随 K_m 值的增大而增大, 不受药物加入的影响。微乳凝胶的电导率与微乳比较没有明显变化。载药量为 0.5%, 明胶含量为 14% 的微乳凝胶 12 h 体外透皮累积渗透量为 $(876.5 \pm 29.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 分别是 0.5% 含水水溶液的 12.3 倍, 2.5% 市售软膏制剂的 4.5 倍。微乳凝胶具有一定的刺激性, 但停药后可迅速恢复。5-Fu 微乳凝胶 12 h 累积渗透量优于市售软膏, 且皮肤刺激性小, 可以作为 5-Fu 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: W/O 型微乳; 微乳凝胶; 氟尿嘧啶; 透皮给药

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 11-1440-07

Microemulsion-based gel of fluorouracil for transdermal delivery

XIAO Yan-yu¹, LIU Fang¹, CHEN Zhi-peng², PING Qi-neng^{1*}

(1. Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Department of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: This study is to prepare the microemulsion-based gel based on the W/O microemulsion and fluorouracil (5-Fu) as a model drug to study the transdermal characterization and observe its skin irritation of the microemulsion-based gel *in vitro*. IPM acted as oil phase, AOT as surfactant, Tween 85 as cosurfactant, water was added dropwise to the oil phase to prepare W/O microemulsion at room temperature using magnetic stirring, then 5-Fu powder was added. The gelatin was used as substrate to prepare 5-Fu microemulsion-based gel. The permeation flux of 5-Fu from 5-Fu microemulsion-based gel across excised mice skin was determined *in vitro* using Franz diffusion cell to study the influence of the amount of gelatin and the drug loading capacity. Refer to 5-Fu cream, the irritation of microemulsion and microemulsion-based gel on the rat skin was studied. Based on the water/AOT/Tween 85/IPM microemulsion, only the gelatin can form the microemulsion-based gel. At 25 °C, 32 °C and 40 °C, the amount of gelatin required for the formation of microemulsion-based gel were 7%, 14% and more than 17%, respectively. The 12 h transdermal cumulated permeation amount of 5-Fu from microemulsion-based gel containing 14% gelatin and 0.5% drug loading were $(876.5 \pm 29.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 12.3 folds

收稿日期: 2010-05-06.

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2009ZX09310-004); 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (JKQ2009018).

*通讯作者 Tel: 86-25-83271098, Fax: 86-25-83271299, E-mail: pingqn2004@cpu.edu.cn

and 4.5 folds more than 0.5% 5-Fu aqueous solution and 2.5% (w/w) 5-Fu cream, respectively. Microemulsion-based gel exhibited some irritation, but could be subsided after drug withdrawal. Microemulsion-based gel may be a promising vehicle for transdermal delivery of 5-Fu and other hydrophilic drug.

Key words: W/O microemulsion; microemulsion-based gel; fluorouracil; transdermal delivery

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的治疗^[1]。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, 如离子电渗疗法^[2]、激光处理^[3]、前体药物^[4]和添加促渗剂^[5, 6]等。

微乳是由表面活性剂、助表面活性剂、油相和水组成的澄清、稳定和双向同性的热力学稳定分散体系^[7]。研究表明, W/O 型微乳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、较小粒径及易透过皮肤毛囊孔^[8]等性质, 成为可能解决亲水性药物经皮渗透问题的一个新途径, 但微乳制剂临床使用时黏度低, 流动性强及药物易损失等缺点, 限制了其在经皮给药中的应用。

微乳凝胶是基于微乳体系的分子凝胶^[9], 即向微乳中加入凝胶剂形成透明稳定的网状结构。微乳凝胶的形成基于微乳, 但不是所有的微乳都能形成微乳凝胶。Kantaria 等^[10]对离子型表面活性剂和非离子表面活性剂是否能与明胶形成微乳凝胶进行比较后发现, 单纯由非离子表面活性剂组成的微乳均不能形成微乳凝胶。这是因为只有在 25 °C~45 °C 能够发生渗透转变且电导随温度上升而增加的微乳, 才能通过生成簇状或水管状结构使明胶溶胀, 进而生成三维网状结构, 形成微乳凝胶。非离子型表面活性剂所形成的微乳的电导率随温度升高反而下降, 在相变温度时不能达到渗透状态, 故不能形成微乳凝胶。而在离子表面活性剂型微乳中加入非离子表面活性剂可以增大体系含水量, 降低渗透阈值, 使微乳凝胶能够在更大的区域内形成。因此, 制备微乳凝胶的表面活性剂多由离子型和非离子型表面活性剂组成。

在前期研究的基础上, 本研究首先将 5-Fu 制成 W/O 型微乳, 为了提高微乳的黏度, 方便给药, 进一步将其制备成微乳凝胶剂, 以黏度和电导率为指标初步考察影响微乳凝胶理化性质的因素, 并与市售

软膏的体外透皮行为及皮肤刺激性进行比较, 以期作为皮肤渗透性差的亲水性药物经皮给药提供一种新的剂型。

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); 磺化琥珀酸二辛酯钠 (AOT, 北京百灵威公司); Tween 85 (上海国药集团化学试剂有限公司); 肉豆蔻酸异丙酯 (IPM, 英国 Croda 公司); 明胶 (Sigma 公司); 卡拉胶, 黄原胶, 卡波普 940 (上海汇普工业化学品有限公司); 海藻酸钠 (美国国际特品公司); 甲醇 (色谱纯, 上海国药集团化学试剂有限公司)。

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), 流变仪 (美国 Brookfield 公司), DDS-II C 型电导仪 (上海精密仪器厂)。

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 微乳的处方和制备工艺 通过前期研究, 确定了 5-Fu W/O 型微乳的处方和制备方法^[11]。选择促渗作用强、毒性低的阴离子表面活性剂 AOT 为表面活性剂, Tween 85 为助表面活性剂, IPM 为油相制备 5-Fu W/O 型微乳。处方组成: IPM 49.5%、水 30%、AOT 13.4%、Tween 85 6.6% 和 5-Fu 0.5%。按处方量称取 IPM、AOT 和 Tween 85, 在室温 (25 °C) 下采用磁力搅拌器搅拌 30 min 混合均匀, 边搅拌边缓慢滴加处方量的水, 搅拌至澄清透明即得空白微乳。向空白微乳中直接加入 5-Fu 粉末, 室温搅拌 30 min 使其完全溶解, 即得 5-Fu 微乳。

5-Fu 含量测定方法的建立 ① 色谱条件: 色谱柱为 Diamonsil ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为 10% 甲醇, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 266 nm, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL。② 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 1.0 mg·mL⁻¹ 的储备液, 再分别稀释成 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 左右, 以峰面积 (A) 对其浓度 (C , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 线性回归, 得标准曲线方程: $A = 60\,793\,C + 143.41$, $R^2 = 1$, 线性范围 1~80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 方法回收率为 102.4%, 日间、日内 RSD 分别为 0.3% 和 0.4%, 说明该分析测定方法准确、可靠, 满足含量测定要求。③ 样品溶液的配制: 精密量取含 0.5% 5-Fu 的微乳 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇 5 mL 破乳, 超声 10 min, 用甲醇稀释至刻度, 进样 20 μL , 带入标准曲线计算药物含量。

5-Fu 微乳凝胶的制备 按照微乳处方首先制备空白微乳——IPM 4.95 g, 5-Fu 50 mg, AOT 1.34 g, Tween 85 0.66 g, 水 3 g, 然后加入明胶 1.4 g, 室温下溶胀 4 h, 再置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中, 搅拌使明胶溶解, 直接加入 5-Fu, 剧烈搅拌 10 min 使药物完全溶解, 冷却至室温即得 5-Fu 微乳凝胶。

微乳凝胶理化性质的考察 ① 黏度的测定: 采用 DV-III Ultra 流变仪测定空白微乳凝胶及载药微乳凝胶黏度, 选定 25 号转子, 转速为 0.01~10 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。② 电导率的测定: 采用 DDS-II C 型电导仪测定空白微乳凝胶及载药微乳凝胶电导率。

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 μm 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)。对各组累计释放量进行独立 t 检验。

以 Q_n 为指标, 进一步筛选微乳凝胶处方。给药池中是药物的微乳液、微乳凝胶或其他外用制剂, 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。

$$Q_n = \frac{C_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V}{A}$$

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_0 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。

皮肤刺激性 取 24 只大鼠 (体重 200~300 g) 随机分为 4 组, 轻微麻醉, 小心剪去背部毛使皮肤暴露。连续 7 天分别涂抹 0.2 g 优化的含药微乳凝胶、含药微乳、市售软膏及生理盐水。之后, 将大鼠断颈处死, 分离背部皮肤, 小心剥离皮下脂肪, 用生理盐水清洗后泡在福尔马林中固化 48 h, 常规取材, 用乙醇脱水并且用石蜡包埋切片, 制片 (4 μm), HE 染色, 光学显微镜下观察用药后皮肤组织的变化。

结果与讨论

1 胶凝剂的筛选

文献报道卡波普 940、黄原胶^[12]、卡拉胶^[13]、明胶^[14]和海藻酸钠等均可与一定结构的微乳形成微乳凝胶。本研究以水 30%、混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m=2$) 20% 以及 IPM 50% 制备空白微乳, 分别加入 0.5% 卡波普 940、2% 卡拉胶、2% 黄原胶、2% 海藻酸钠和 10% 明胶, 室温下放置 1 周。结果发现, 除明胶外的其他大分子物质均不能在空白微乳中溶胀, 推测可能是因为这些物质的溶胀需要吸收大量的水分, W/O 型微乳中的水分不足以让它们完全溶胀; 同时, 高分子物质易受到与其竞争水分子的其他组分的影响而抑制溶胀。因此, 最后选择明胶作为水/AOT/Tween 85/IPM W/O 型微乳系统的胶凝剂。

2 影响微乳凝胶理化性质的因素

2.1 温度和明胶含量对微乳凝胶系统黏度的影响 以水 30%、混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m=2$) 20% 及 IPM 50% 制备空白微乳, 考察明胶含量分别为 5%、7%、8%、10%、12%、14%、16%、18%、19% 和 20% 时及在不同温度条件下对微乳凝胶黏度的影响, 结果如图 1。在 25 $^{\circ}\text{C}$, 明胶含量达 7% 时系统黏度突然增大, 这可能是由于明胶在微乳的“水通路”中充分溶胀, 系统由溶胶态转变成凝胶状态的微乳凝胶; 但在体表温度 32 $^{\circ}\text{C}$ 时, 明胶含量直到 14%, 系统黏度才突然增大, 形成微乳凝胶。这说明系统的黏度和状态容易受温度的影响, 属于温度敏感型凝胶; 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 时, 明胶含量只有大于 17% 才能形成微乳凝胶, 但当明胶含量超过 20% 时, 明胶不能溶胀完全, 体系中有明胶颗粒出现。因此, 为了保证在皮肤表面使用时该系统具有一定的黏性保持凝胶状态, 最后选择含量大于 14% 的明胶制备微乳凝胶进行进一步实验。

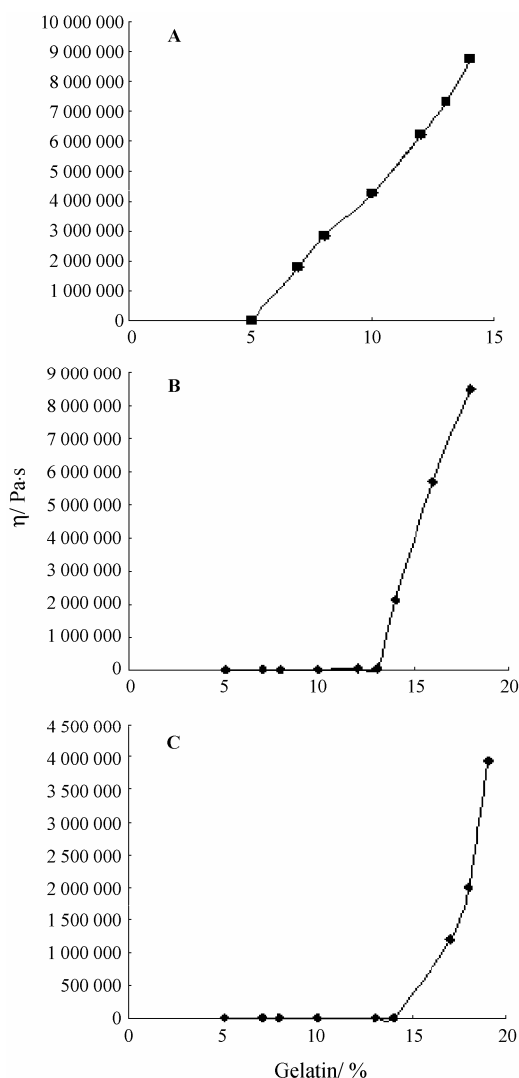


Figure 1 Viscosity of microemulsion-based gels containing different amounts of gelatin at different temperatures. A: 25 °C; B: 32 °C; C: 40 °C

2.2 微乳处方因素对微乳凝胶系统黏度的影响 很少有文献报道微乳的处方因素对微乳凝胶黏度和状态变化的影响, 本研究固定明胶含量为 10%, 分别考察空白微乳中含水量、混合表面活性剂含量、 K_m 值和药物的加入对微乳凝胶黏度的影响。在 32 °C 下固定 $K_m = 2$, 含水量在 25%~38% 变化时, 体系黏度由 3 500 Pa·s 降到 1 442 Pa·s (图 2A), 说明微乳凝胶黏度随微乳体系含水量的增加而减小。结果说明, 当体系含水量较小且能满足明胶充分溶胀的前提下, 使用少量的明胶就能形成微乳凝胶; 固定含水量为 30%, $K_m = 2$, 混合表面活性剂含量由 20% 增加到 40% 时, 体系黏度由 13 773 Pa·s 降到 1 860 Pa·s (图 2B), 说明混合表面活性剂用量的减少导致微乳凝胶体系的黏度增加; 同时, 如图 2C 所示, K_m 对黏度的影响极大。固定含水量为 30%, IPM 为 50%, $K_m = 3$ 时, 在 32 °C

下向微乳中加入 10% 明胶即可形成微乳凝胶, 而向 $K_m = 1$ 和 $K_m = 2$ 的微乳中加入 10% 的明胶则只能形成黏度非常小的溶胶; 固定含水量 30%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20% 以及 IPM 49.5%, 载药量为 0.5%, 在 25 °C 下考察明胶含量分别为 7%、8%、10%、12%、13% 和 14% 时微乳凝胶中药物的加入对其黏度的影响。图 3 显示药物的加入没有对微乳凝胶黏度产生太大影响, 与空白微乳凝胶相比, 含药微乳凝胶黏度仅轻微变小, 这说明 0.5% 药物浓度

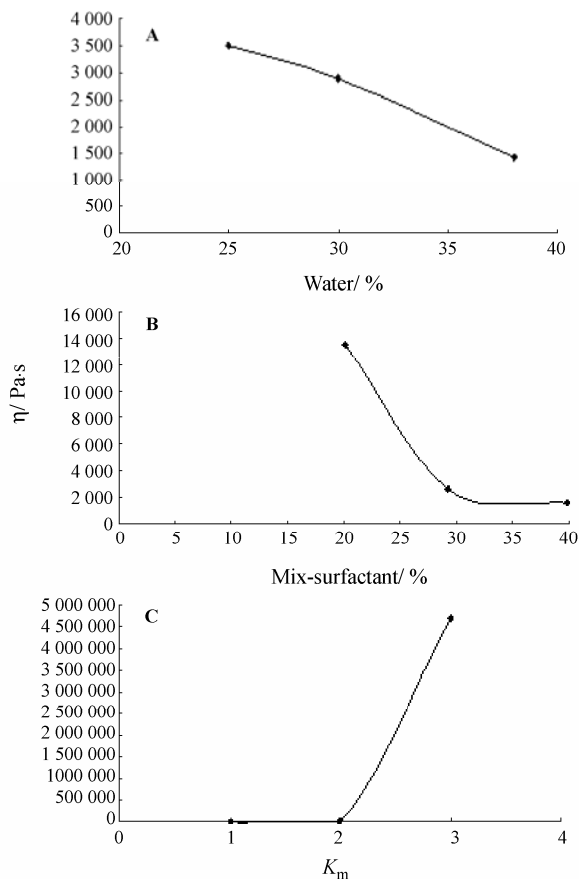


Figure 2 Effect of water content (A), mix-surfactant content (B), K_m (C) on the viscosity of microemulsion-based gels at 32 °C

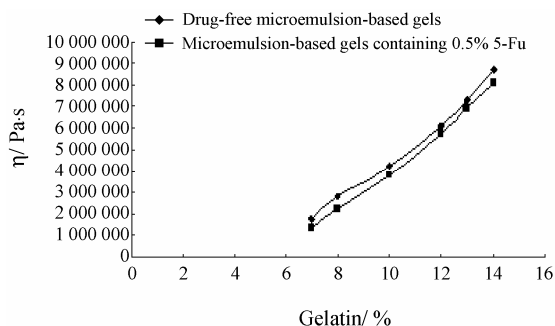


Figure 3 Effect of 5-Fu on the viscosity of microemulsion-based gels at 25 °C

对微乳凝胶结构的破坏作用非常小,可忽略不计。

2.3 明胶含量对不同温度下微乳凝胶电导率的影响

良好的导电率是微乳凝胶形成的一个判断依据。由图 4 可知,以水 30%、混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20% 以及 IPM 50% 制备空白微乳,明胶含量在 14%~18% 时,微乳凝胶的电导率与空白微乳比较均没有明显减小。说明微乳凝胶中水分子的运动并没有受到明胶形成的网络结构的影响,由此判断明胶形成的网状结构的孔径明显大于水分子的直径,否则就会减慢水分子的运动。不同明胶用量形成的微乳凝胶在不同温度时的电导率与空白微乳相差很小,且随着温度增加而递增,这说明微乳凝胶没有改变微乳的特性,只是在内部形成了 AOT/明胶/水的通道。在研究的浓度范围内,不论微乳凝胶中明胶的含量有多大,体系均保持很高的导电性。微乳凝胶的强导电性可用微乳凝胶组分之间的相互作用进行解释^[15, 16]: AOT 通过静电作用吸附在明胶分子形成的三维网状结构附近,形成水相通道,离子或带电粒子在通道内部迁移导电。微乳凝胶的微乳结构模型之一孔道学说 (图 5) 认为 AOT/明胶/水形成水相通道,通道内部是明胶 (呈轴向线状) 和水,管壁是亲水基向内,亲油基向外的 AOT 单分子层,管外是由有机溶剂和微乳液滴形成的油相通道。微乳凝胶体系中存在这种由明胶、表面活性剂稳定的水相通道是微乳凝胶具有良好导电性的根本原因。

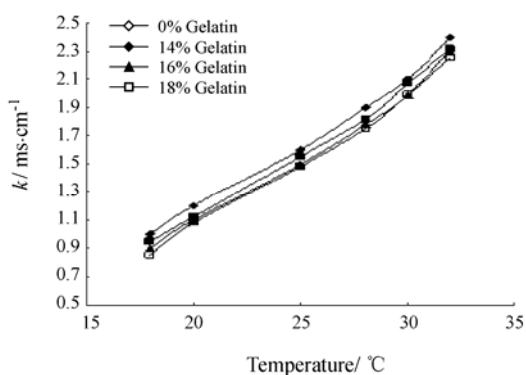


Figure 4 Effect of temperature on the electrical conductivity of microemulsion-based gels with different gelatin contents

3 小鼠离体皮肤的体外经皮渗透实验

3.1 不同明胶含量对 5-Fu 经皮渗透的影响 本实验应用小鼠离体皮肤作为模型比较不同制剂透皮渗透性。Wu 等^[17]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。

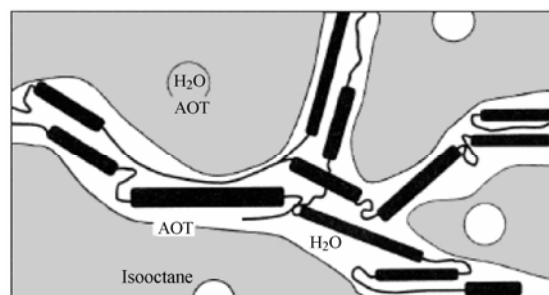


Figure 5 Structure of microemulsion-based gels

含水量 30%、混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20% 以及 IPM 49.5%, 载药量 0.5%, 分别对明胶含量为 0% 的微乳、明胶含量为 8% 的溶胶以及明胶含量为 14% 和 16% 的微乳凝胶进行小鼠透皮实验,考察它们的累积渗透量,结果如图 6。明胶含量为 14% 和 16% 的微乳凝胶组累积释放量明显低于其他两组,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。明胶含量为 14% 和 16% 时,体系呈凝胶状态,其经皮渗透曲线与微乳相比有较大的不同,药物的渗透明显减缓,推测体系形成凝胶后黏度增加,药物释放需先从微乳内相扩散到外相,再从凝胶的网状结构中渗透出来,因此渗透速度下降。12 h 的累积渗透量分别为 (876.5 ± 29.1) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 (765.8 ± 20.3) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。而在 32 °C 下明胶含量为 8% 时,体系呈溶胶状态,其经皮渗透曲线与微乳相似,但累积渗透量为 ($1\,220.7 \pm 37.5$) $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 略小于微乳 [$(1\,355.5 \pm 41.1)$ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$],说明体系黏度提高对药物的扩散有限制作用。可见,明胶的用量对药物透皮渗透量有较大的影响。明胶用量较小,不能形成微乳凝胶;用量太大,药物释放过于缓慢,故最后选择明胶含量为 14%。

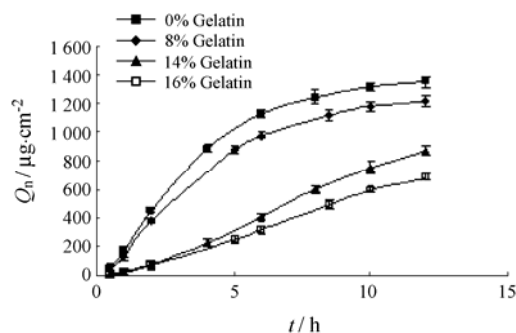


Figure 6 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsion-based gels containing different contents of gelatin *in vitro* ($n = 6$)

3.2 不同载药量微乳凝胶对 5-Fu 经皮渗透的影响 以水 30%、混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20%、IPM (用量分别为 49.9%、49.7%和 49.5%) 以

及明胶 14% 制备含药微乳凝胶, 考察载药量分别为 0.1%、0.3% 和 0.5% 时微乳凝胶累积渗透量的变化, 结果如图 7。当药物浓度增加时, 各时间点渗透量呈线性增加, 12 h 后累积渗透量分别为 (138.5 ± 12.1) 、 (510.2 ± 14.3) 和 $(876.5 \pm 29.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。可见, 透皮渗透量与药物的载药量或浓度梯度直接相关, 载药量越大, 浓度梯度越高, 累积渗透量越大。故最后选择微乳凝胶的载药量为 0.5%。

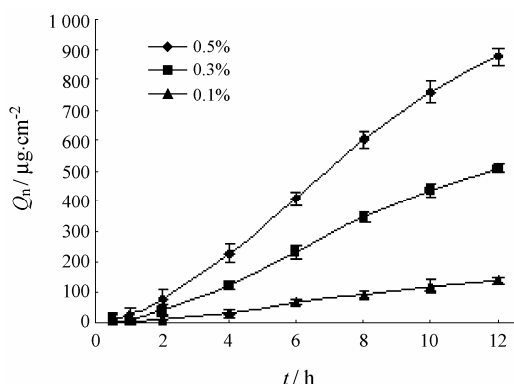


Figure 7 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from microemulsion-based gels containing different contents of 5-Fu ($n = 6$)

3.3 优化微乳凝胶与水溶液和软膏 (O/W) 的比较
以载药量为 0.5%, 明胶含量为 14% 的微乳凝胶、0.5% 5-Fu 水溶液和 2.5% 5-Fu 软膏对小鼠进行透皮实验, 考察它们的累积渗透量 (图 8)。结果表明, 12 h 后累积渗透量分别为 (876.5 ± 29.1) 、 (71.1 ± 8.9) 和 $(194 \pm 12.1) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。可见, 优化后的微乳凝胶体外累积渗透量分别是 0.5% 含药水溶液的 12.3 倍、2.5% 市售软膏制剂的 4.5 倍。

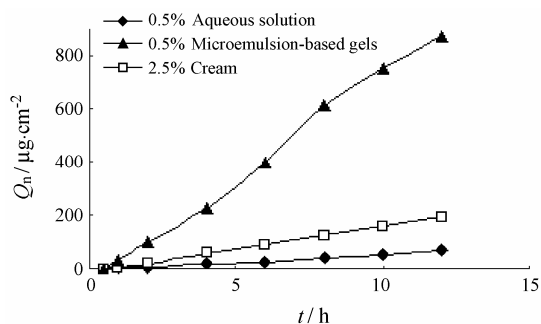


Figure 8 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from different preparations

4 皮肤刺激性研究

光学显微镜下观察用药后皮肤组织变化见图 9。

由图可见, 市售的 5-Fu 软膏处理后的皮肤结构完整, 被覆鳞状上皮完整, 角化层无增厚, 真皮内无血管扩张充血、炎细胞浸润, 毛囊、皮脂腺结构完整, 没有皮肤刺激性, 说明 5-Fu 本身对皮肤没有刺激性; 与生理盐水组对比, 被含有 20% 混合表面活性剂的含药微乳和明胶含量 14% 的微乳凝胶处理过的大鼠皮肤大部分被覆鳞状上皮完整, 部分角化层增厚, 有少量炎性渗出, 见散在的结痂, 真皮血管扩张充血、炎细胞浸润, 部分毛囊、皮脂腺结构不完整, 具有轻微刺激性, 这可能是由于微乳和微乳凝胶中的表面活性剂与角质层作用, 对角质层产生了一定伤害, 但刺激性轻微, 在停止用药后可迅速恢复, 符合外用制剂刺激性要求。

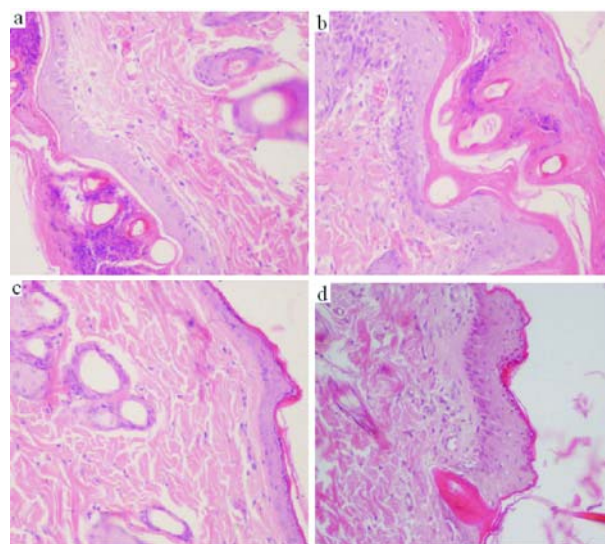


Figure 9 Histological photomicrographs of skin biopsies taken from mice treated with various applications. H&E stain. (a) microemulsion (b) microemulsion-based gels (c) commercial preparation (d) control

结论

本研究制备了具有一定黏度和良好透过效果的 5-Fu 微乳凝胶。该微乳凝胶外观呈半固体状, 兼具微乳和凝胶的双重优点, 能有效地延长药物在作用部位的时间从而增加药物经皮渗透量。从研究结果可知, 对于不同的微乳系统而言, 凝胶剂的选择是不同的。水/AOT/Tween 85/IPM W/O 型微乳系统, 只有明胶才能形成微乳凝胶, 且该系统的黏度和状态容易受温度的影响, 属于温度敏感型凝胶。小鼠体外经皮渗透结果表明, 5-Fu 微乳凝胶体外累积渗透量优于市售软膏, 且皮肤刺激性小, 可作为 5-Fu 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。

References

- [1] Pinedo HM, Peters GF. Fluorouracil: biochemistry and pharmacology [J]. *J Clin Oncol*, 1988, 6: 1653–1664.
- [2] Lee WR, Shen SC, Wang KH, et al. The effect of laser treatment on skin to enhance and control transdermal delivery of 5-fluorouracil [J]. *J Pharm Sci*, 2002, 91: 1613–1626.
- [3] Fang JY, Hung CF, Fang YP, et al. Transdermal iontophoresis of 5-fluorouracil combined with electroporation and laser treatment [J]. *Int J Pharm*, 2004, 270: 241–249.
- [4] Patrik 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] Moulik SP, Paul BK. Structure, dynamics and transport properties of microemulsions [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 1998, 78: 99–195.
- [8] Wu HL, Ramachandran C, Weiner, ND. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2001, 220: 63–75.
- [9] Atkinson PJ, Robinson BH, Howe AM, et al. Structure and stability of microemulsion-based organogels [J]. *J Chem Soc Faraday Trans*, 1991, 87: 3389–3397.
- [10] Kantaria S, Reesb GD, Lawrence MJ. Formulation of electrically conducting microemulsion-based organogels [J]. *Int J Pharm*, 2003, 250: 65–83.
- [11] Liu F, Xiao YY, Ping QN, et al. Water in oil microemulsions for transdermal delivery of fluorouracil [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 540–547.
- [12] Chen HB, Chang XL, Du DR, et al. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery [J]. *Int J Pharm*, 2006, 315: 52–58.
- [13] Valenta C, Schultz K. Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations [J]. *J Control Release*, 2004, 95: 257–265.
- [14] Liu HZ, Wang YJ, Han F, et al. Gelatin-stabilised microemulsion-based organogels facilitates percutaneous penetration of cyclosporinA *in vitro* and dermal pharmacokinetics *in vivo* [J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96: 3000–3009.
- [15] William J, Knox JR, Terence OP. The interaction of sodium dodecyl sulfate with gelatin [J]. *J Colloid Interface Sci*, 1970, 33: 16–23.
- [16] Fadnavis NW, Koteswar K. An unusual reversible sol-gel transition phenomenon in organogels and its application for enzyme immobilization in gelatin membranes [J]. *Biotechnol Prog*, 1999, 15: 98–104.
- [17] Wu HL, Ramachandran C, Weiner ND, et al. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions [J]. *Int J Pharm*, 2001, 220: 63–75.