

含电解质的 W/O 型微乳作为氟尿嘧啶透皮给药载体的研究

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: 通过电解质氯化钠 (NaCl) 的加入, 制备含水量高、载药量高且透过能力强的氟尿嘧啶 (5-Fu) W/O 型微乳, 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 NaCl 溶液至油相中, 形成空白微乳后直接加入 5-Fu 粉末, 即形成 5-Fu 微乳。以伪三元相图为基础、单位面积的透皮累积透过量 (Q_n) 为指标, 用改进的 Franz 扩散池和离体小鼠皮肤考察微乳处方中含水量和载药量对离体鼠皮透过量的影响, 优化处方。以表面张力、黏度和电导率为指标, 研究 NaCl/AOT-Tween 85/IPM 微乳的理化性质, 并对最优处方的皮肤刺激性进行初步评价。结果表明, 5-Fu 微乳的优化处方为含药 0.7% (w/v), 0.05 mol·L⁻¹ NaCl 溶液 50%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20%, 油相 29.3%。12 h 累积透过量为 $(2\ 013.4 \pm 41.6) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 分别为 0.7% 药物水溶液和 2.5% (w/w) 市售乳膏 (O/W) 的 20.23 倍和 10.38 倍。该微乳具有一定的刺激性, 但停药后可迅速恢复。NaCl 的加入可显著增加 W/O 型微乳的含水量和载药量。NaCl/AOT-Tween 85/IPM 微乳大大促进 5-Fu 的透过量, 且皮肤刺激性小, 可以作为 5-Fu 等水溶性差和透过能力差的药物的新型透皮给药载体。

关键词: 氯化钠; 高载药量; 氟尿嘧啶; W/O 型微乳; 透皮给药

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 06-0720-07

Water in oil microemulsions containing NaCl for transdermal delivery of fluorouracil

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 W/O microemulsion containing NaCl and fluorouracil (5-Fu) as a model drug to investigate the transdermal characteristics and skin irritation of the microemulsion *in vitro*. Isopropylmyristate (IPM) acting as oil phase, Aerosol-OT (AOT) as surfactant, Tween 85 as cosurfactant, NaCl solution was added dropwise to the oil phase to prepare W/O microemulsion at room temperature using magnetic stirring, and then 5-Fu powder was added. According to the area of microemulsion based 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 cells to study the influence of the amount of water and the drug loading capacity and optimize the formulation further. Refer to 5-Fu cream, the irritation of microemulsion on the rat skin was studied. The optimum formulation was composed of 0.7% (w/v) 5-Fu, 50% NaCl solution (0.05 mol·L⁻¹), 20% mix-surfactant (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) and 29.3% oil (IPM). The cumulative amount of fluorouracil permeated in 12 h was $(2\ 013.4 \pm 41.6) \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 20.23 folds and 10.38 folds more than 0.7% fluorouracil aqueous solution and 2.5% (w/w) fluorouracil cream, respectively. Microemulsion

收稿日期: 2011-02-09.

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@yahoo.com.cn

exhibited some irritation, but could be reversed after drug withdrawal. The addition of NaCl significantly increased the content of water and the drug loading in microemulsion systems. The NaCl/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: NaCl; high drug loading; fluorouracil; W/O microemulsion; transdermal delivery

氟尿嘧啶 (5-Fu) 能够抑制 DNA 的合成从而阻断恶性细胞的复制, 其外用乳膏被广泛用于角质层光化、鳞状细胞癌、浅表基底细胞癌等多种皮肤癌^[1]。治疗皮肤癌特别是晚期皮肤癌, 药物必须透过角质层到达皮下癌变扩散区域才能起效, 而 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, 因此, 外用乳膏常不能达到较好治疗效果。研究者们已采取多种方法以增强其透过能力, 如离子电渗疗法^[2]、激光处理^[3]、前体药物^[4]和添加促透剂^[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系统^[7]。研究表明, W/O 型微乳因为具有增加亲水性药物与角质层的相容性、改变脂质双分子层结构、粒径较小及易透过皮肤毛囊孔^[8]等性质, 成为可能解决亲水性药物透皮问题的一个新途径。作者^[9]前期研究表明, W/O 型微乳 (water/AOT-Tween 85/IPM 微乳, WATI) 的确促进了 5-Fu 的透过能力。理论上, 提高 W/O 型微乳中的含水量能有效促进药物透皮量, 因为增加含水量有利于提高亲水性药物的溶解度, 使其维持更长时间的透皮浓度梯度; 同时系统含水量增多可以提高角质层水化程度, 打开皮肤通路, 也能促进药物的透过能力。Paul 等^[10]发现在水相加入电解质能提高 W/O 型微乳的含水量。

因此, 本文向 WATI 中加入电解质 NaCl, 以提高微乳中含水量及载药量为目标, 研究 NaCl/AOT-Tween 85/IPM 微乳 (NaATI) 对 5-Fu 促透作用, 以表面张力、黏度和电导率为指标, 考察 NaATI 的理化性质, 并对优化 NaATI 的稳定性进行研究, 以期对皮肤透过性差的亲水性药物透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% 氟尿嘧啶乳膏 (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), 氯化钠 (NaCl, 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), 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 (Brookfield, 美国), DDS-II C 型电导仪 (上海精密仪器厂), 全自动表面张力仪 DCAT 21 (Data Physics 公司, 德国)。

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)。SD 雄性大鼠, 体重: 200~300 g [中国药科大学动物中心, 动物合格证号: SCXK (苏) 20080034]。

最佳 NaCl 浓度的确定 根据前期研究结果^[9], 选择 AOT 为表面活性剂, Tween 85 为助表面活性剂, IPM 为油相。AOT 和 Tween 85 按质量比 2 : 1 混合 ($K_m = 2$), 作为混合表面活性剂。精密称取 IPM 和混合表面活性剂, 按质量比 2.5 : 1 混合, 25 °C 恒温磁力搅拌下分别缓慢滴加 0.1、0.07、0.05、0.01、0.005 和 0 mol·L⁻¹ 的 NaCl 溶液, 当系统由澄清透明变浑浊时为临界点, 记录临界时加入 NaCl 溶液的用量。以 NaCl 溶液的浓度为横坐标, NaCl 溶液在系统中的质量百分数 (w/w , 即系统中的含水量) 为纵坐标作图。

微乳伪三元相图的绘制 精密称取 IPM 和混合表面活性剂 ($K_m = 2$), 按质量比 1 : 9、2 : 8、3 : 7、4 : 6、5 : 5、6 : 4、7 : 3、8 : 2 和 9 : 1 混合, 25 °C 恒温磁力搅拌下缓慢滴加 0.05 mol·L⁻¹ NaCl 溶液, 当系统由澄清透明变浑浊时为临界点, 记录临界时加入 NaCl 溶液的用量。按油、混合表面活性剂和 NaCl 溶液在临界点的各自质量百分数 (w/w) 绘制伪三元相图, 确定以 0.05 mol·L⁻¹ NaCl 溶液为水相的微乳区。以纯水为水相作对照, 按上述操作绘制伪三元相图, 确定以纯水为水相的微乳区。考察含药系统时, 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。

5-Fu 含量测定方法的建立 ① 色谱条件 色谱柱: Diamonsil ODS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (体积比 90 : 10), 流速: 1.0 mL·min⁻¹,

检测波长: 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, 用流动相配成浓度为 1.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 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 左右, 以峰面积 (A) 对其质量浓度 (C , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 线性回归, 得标准曲线方程: $A = 60\,793C + 143.41$, $R^2 = 1$, 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, 结果表明该分析方法准确、可靠, 满足含量测定要求。③ 样品溶液的配制 精密量取含 0.7% 5-Fu 的微乳 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加 5 mL 甲醇破乳, 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。

微乳的理化性质 ① 表面张力 采用全自动表面张力仪 DCAT 21 小杯法测定微乳的表面张力。温度 25 °C, 使用威廉米吊片法 (铂金片规格: 9.95 mm $\times$ 0.20 mm, 浸入深度: 3.00 mm) 测定系统表面张力。② 黏度 采用 DV-III Ultra 流变仪测定微乳的黏度, 采用 18 号转子, 转速为 50 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度 25 °C。③ 电导率 采用 DDS-II C 型电导仪, 选择标号为 1.2 的电导池, 温度 25 °C。

小鼠离体皮肤的体外透皮实验 将小鼠断颈处死后, 剃除其腹部毛发, 剪下腹部皮肤, 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) °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。样品过 0.22 μm 微孔滤膜, 取样品续滤液 1 mL 用 HPLC 测定药物浓度, 计算药物的单位面积累积透过量 (Q_n)。对各组累积透过量进行独立 t 检验。

以 Q_n 为指标, 进一步筛选 NaATI 处方。给药池中是 NaATI、WATI 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, 可用下式计算药物透皮累积透过量。

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

式中: C_n 为第 n 个取样点浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), C_i 为第 i 个取样点浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), V_o 为接受池的体积 (mL), V 为每次取样的体积 (mL), A 是本扩散装置的扩散面积, 为 2.83 cm^2 。以 Q_n ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) 对 t (h) 作图。

优化 NaATI 稳定性考察 以 NaATI 外观、载药量、表面张力、黏度和电导率为指标, 通过恒温加速实验考察优化 NaATI [含药 0.7% (w/v), 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 溶液 50%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20%, 油相 29.3%] 的稳定性。将样品置于西林瓶中, 密封保存。在 40 °C 及相对湿度 75% 条件下, 于 0、1、2、3 和 6 个月取样。

皮肤刺激性 取 18 只大鼠随机分为 3 组, 轻微麻醉, 小心剪去背部毛使皮肤暴露。连续 7 天分别涂抹优化的含药 NaATI、市售乳膏及生理盐水。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 厚), 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 最佳 NaCl 溶液浓度的确定

当 NaCl 浓度为 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, NaATI 最大含水量 (48.2%) 远大于 WATI 的最大含水量 (34.7%)。而 NaCl 浓度小于或大于 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, NaATI 最大含水量均随 NaCl 浓度的变化而减小, 在 NaCl 浓度为 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, NaATI 系统含水量甚至小于 WATI (图 1)。

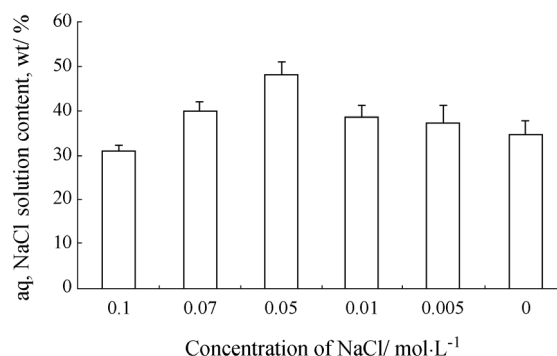


Figure 1 Effect of NaCl concentration on the solubilization of water in NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsion ($n = 3$)

W/O 型微乳中的含水量主要与粒子间吸引力相关, 增加界面刚性和减少粒子间的吸引力将使含水量最大化。一定浓度的 NaCl 溶液^[11]可以迫使部分 AOT 分子从水相伸向油相, 使界面刚性增加, 粒子间吸引力减小, 含水量增加。当 NaCl 溶液浓度过高时, 含水量反而下降, 这可能是因为过多的 NaCl 将压缩胶束扩散双电层, 导致含水量减少。因此, 选择 NaCl 浓度为 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2 微乳伪三元相图的绘制

以 AOT-Tween 85/IPM 系统为基础, 比较水相分别为纯水或 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液时, 微乳区域面积的大小。从图 2 可以看出, $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 溶液为水相时, 微乳区域面积更大, 且 AOT-Tween 85/IPM 系统可以增溶更多的水量。当混合表面活性剂含量为 20%, 系统含水量约为 50%, 而以纯水为水相时, 系统含水量最高约 33%。可见, 电解质 NaCl 的加入确实可提高 W/O 型微乳的含水量, 与文献^[11]报道的结果一致。为了获得 NaATI 的最佳处方, 本研究固定混合表面活性剂含量为 20%, 通过体外透皮实验进行进一步研究。

3 微乳的理化性质

3.1 表面张力 研究表明, 微乳从 W/O 型向 O/W 型转变时, 临界区域 (即双连续相结构) 会使油水界面变得相当弥散而出现超低界面张力。如图 3 所示, 固定混合表面活性剂含量为 20%, 含水量在 30%~50% 时, NaATI 的表面张力降到最低, 提示此时微乳进入

了转相区, 可能形成双连续状态。临界区界面变得相当弥散而出现超低界面张力, 这与临界现象导致的厚扩散界面有关^[12]。

3.2 黏度 含水量增加引起的 NaATI 黏度的变化见图 4。微乳黏度的变化与其界面的表面活性剂排列变化有关。当固定混合表面活性剂含量为 20%, 含水量在 5%~30% 时, 曲线有轻微的转折, 说明含水量小于 10%, 微乳中水滴呈球形, 液滴之间几乎没有相互作用。当含水量在 10%~30%, 水滴粒径变大, 黏度增大。当含水量超过 30%, 水滴向层状等体积更大的非球状变化, 黏度增加加快。在整个含水量变化范围内, 微乳黏度一直处于上升状态, 说明系统含水量高达 50% 亦未达到转相的临界点。

3.3 电导率 水是优良导体, 而油是不良导体。如果水是外相, 微乳的电导率较高; 反之, 油是外相, 微乳的电导率相当低, 接近或大于油的电导率, 由此可判断乳液的连续相是油相还是水相。在 25 °C 条件下, 用电导仪测定 NaATI 电导率随含水量的变化。由图 5

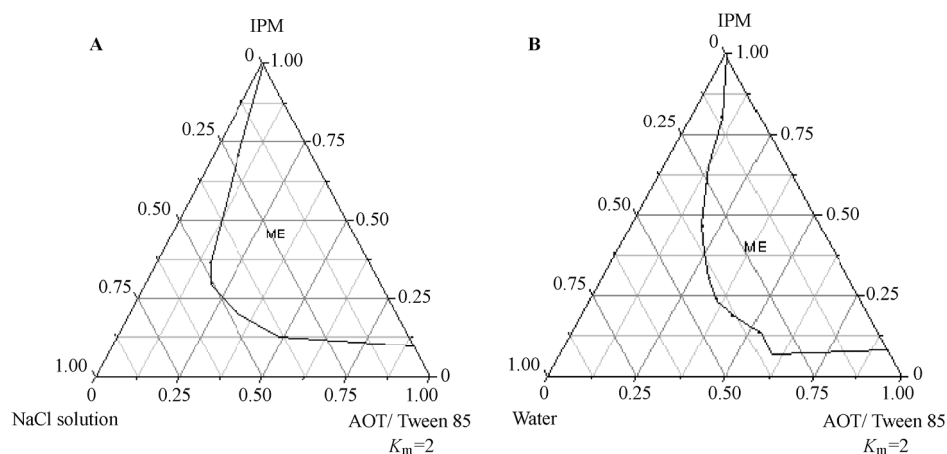


Figure 2 Effect of different kinds of water phase on AOT/ Tween 85/IPM microemulsion pseudo-ternary phase diagram. A: NaCl solution; B: Water. AOT: Aerosol-OT; IPM: Isopropylmyristate

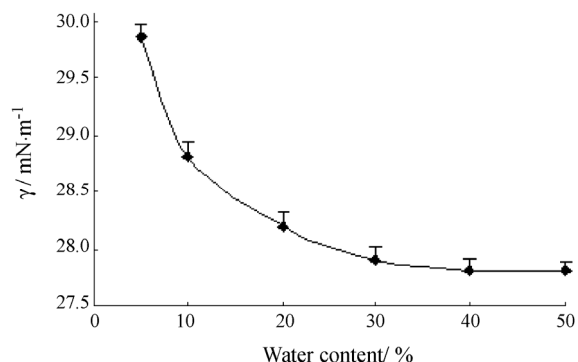


Figure 3 The variation of surface tension as a function of water phase content (wt%) in NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsions at 25 °C ($n = 3$)

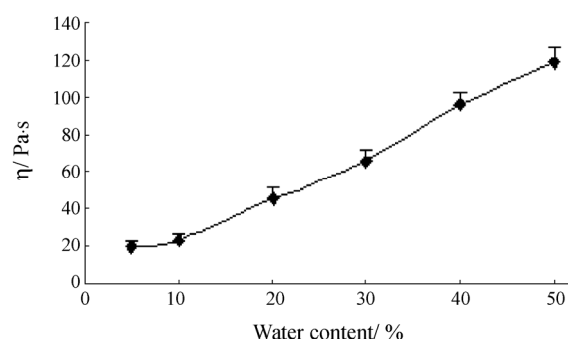


Figure 4 The variation of viscosity as a function of water phase content (wt%) in NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsions at 25 °C ($n = 3$)

可知, 微乳含水量在 5%~30% 时, 电导率增加缓慢, 表明微乳中水相粒子逐渐增多, 微乳属于 W/O 型; 当含水量达到 30% 后, 电导率急剧上升, 说明这时系统通过了渗透边界, W/O 型微乳中水液滴的浓度足够高, 液滴之间发生“黏性碰撞”, 油连续相中形成许多狭窄而细小的水管, 溶液中的反离子也能通过, 使得溶液的导电能力迅速上升, 此时微乳进入双连续相结构。随着水量的增加形成的水管越来越多, 电导率持续上升, 直到微乳转变成 O/W 型。

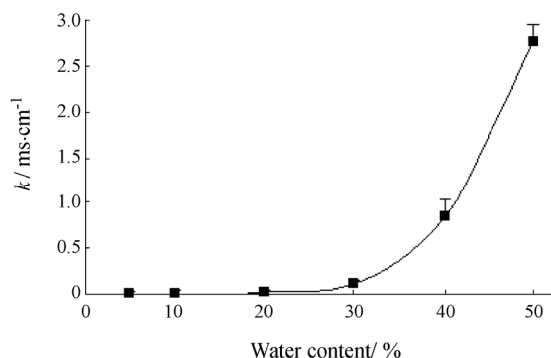


Figure 5 The variation of electrical conductivity as a function of water phase content (wt%) in NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsions at 25 °C ($n = 3$)

图 5 表明 NaATI 含水量达到 30% 后才达到渗透边界, 与 WATI 系统相比 (渗透边界为含水量 10%), 阈值明显提高。这是因为电解质加入 WATI 系统后, 减少了阴离子表面活性剂有效极性头的面积^[13-15], 使表面活性剂界面膜刚性变强, 粒子间的作用减少, 局部地区正向曲率需要的活化能增加, 黏性碰撞减少, 微乳内部形成细小水管的难度加大, 因此即使在含水量较高时渗透边界也难以达到。也正因为渗透边界难以达到, 系统的增溶水量才得以最大化。

4 小鼠离体皮肤的体外透皮实验

4.1 不同含水量对 5-Fu 透皮的影响 固定 AOT 含量为 13.3%, Tween 85 为 6.7%, 载药量为 0.2%, 分别对含水量为 10%、20%、30%、40% 和 50% 的 NaATI 进行小鼠透皮实验, 同时选择含水量为 30%, 载药量为 0.2% 的 WATI 作为对照, 结果如图 6。固定载药量时, NaATI 的累积透过量随含水量的增加而增加。当含水量为 10%、20%、30%、40% 和 50% 时, 12 h 累积透过量分别为 (337.35 ± 15.9) 、 (402 ± 24.1) 、 (509.4 ± 18.3) 、 (523.6 ± 15.1) 和 $(571.4 \pm 23.7) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。而含水量为 30% 的 WATI, 12 h 累积透过量为 $(502.7 \pm 22.3) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。

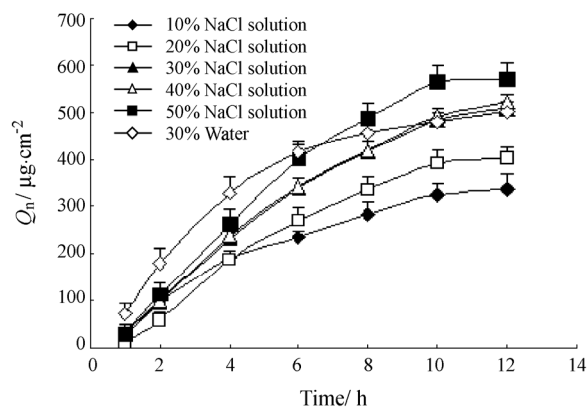


Figure 6 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsions containing different contents of water *in vitro* ($n = 3$)

将含水量均为 30% 的 NaATI 与 WATI 的透皮曲线进行比较, 发现 10 h 前 WATI 的累积透过量一直大于 NaATI, 但 12 h 两者累积透过量没有显著性差异, 说明药物从 WATI 中释放更快, 推测其原因可能是含水量 30% 时, WATI 已处于双连续相结构 (结果另文发表), 亲水性药物从水通道中更容易释放, 而 NaATI 刚开始进入双连续相结构, 在微乳内部形成团状或是细小的水管状的水通道, 药物的扩散仍需要较长时间, 导致前面时间点透过较慢。当 NaATI 微乳含水量增加至 50%, 药物透皮量继续增加, 说明此时微乳仍处于转相临界区域, 未达到转相的临界点, 这与微乳理化性质的研究结果一致 (即当含水量 30% 时, NaATI 开始形成双连续状态, 而含水量高达 50% 亦未达到 W/O 型向 O/W 型转相的临界点)。可见, 在相同含水量和载药量的前提下, 电解质的加入并没有影响药物的累积透过量, 而是影响两种微乳的透过速率。但是, 微乳含水量越大, 微乳系统对亲水性药物的载药量就越大, 能维持更长时间的透皮浓度梯度, 因此选择质量分数 50% 作为 NaATI 的含水量。

4.2 不同载药量微乳对 5-Fu 透皮的影响 以含水量 50%, 混合表面活性剂 (AOT/Tween 85, $K_m = 2$) 20% 以及 IPM 制备含药的 NaATI, 结果发现该系统的最大载药量为 0.7% (w/v)。考察该系统载药量分别为 0.2%、0.5% 和 0.7% 时药物透过量的变化见图 7。各时间点透过量随载药量增加呈线性增加, 12 h 累积透过量分别是: (571.4 ± 23.7) 、 $(1\,470.8 \pm 31.5)$ 和 $(2\,013.4 \pm 41.6) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 可见, NaATI 透皮量与系统的载药量或皮肤两侧药物浓度梯度直接相关。固定含水量时, 载药量越大, 浓度梯度越高, 累积透过量越大。故选择 0.7% 的载药量作为 NaATI 的最佳配方。

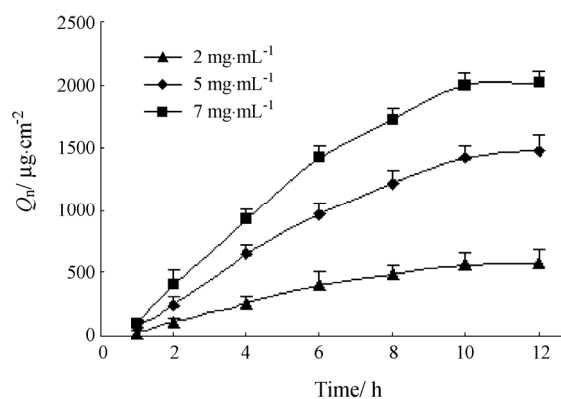


Figure 7 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from NaCl/AOT-Tween 85/IPM microemulsions containing different drug loads *in vitro* ($n = 3$)

4.3 优化微乳与水溶液和乳膏 (O/W) 的比较 以载药量 0.7% 优化 NaATI、0.5% WATI、0.7% 5-Fu 水溶液和 2.5% 5-Fu 乳膏对小鼠进行透皮分析, 考察它们的累积透过量 (图 8)。结果表明, 12 h 累积透过量分别是: $(2\ 013.4 \pm 41.6)$ 、 $(1\ 355.5 \pm 41.1)$ 、 (99.54 ± 10.7) 和 $(194 \pm 12.1) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。可见, 0.7% 优化 NaATI 的体外累积透过量分别是 0.5% WATI 的 1.49 倍, 0.7% 含药水溶液的 20.23 倍, 2.5% 市售乳膏制剂的 10.38 倍。

5 优化 NaATI 的稳定性考察

3 批优化 NaATI 进行恒温加速实验, 避光密闭放置 6 个月后, 外观仍澄清透明, 其载药量、表面张力、黏度和电导率结果见表 1。由表可见, 40 °C 放置 6 个月优化微乳的载药量、表面张力、黏度和电导率基本无变化, 可见电解质的加入不会影响微乳的稳定性。

6 皮肤刺激性研究

市售的 5-Fu 乳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, 含药微乳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, 可

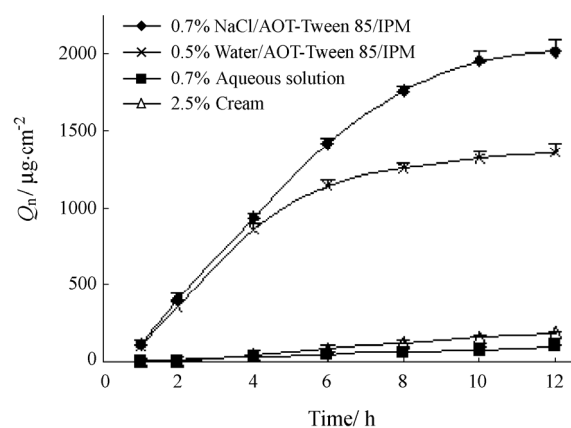


Figure 8 Permeation profiles of 5-Fu through mice skins from different preparations ($n = 3$)

Table 1 Stability of NaCl /AOT-Tween 85/IPM microemulsion under the temperature of 40 °C ($n = 3$, $\bar{x} \pm s$)

Month	Content /mg·mL ⁻¹	Surface tension /mN·m ⁻¹	Viscosity /Pa·s	Conductivity /ms·cm ⁻¹
0	7.05 ± 0.09	27.82 ± 0.18	113.11 ± 4.71	2.77 ± 0.12
1	7.01 ± 0.03	27.68 ± 0.12	112.81 ± 5.91	2.82 ± 0.23
2	6.97 ± 0.05	27.72 ± 0.21	113.32 ± 4.14	2.80 ± 0.17
3	6.99 ± 0.04	27.74 ± 0.24	113.01 ± 2.91	2.75 ± 0.12
6	7.01 ± 0.08	27.81 ± 0.19	112.92 ± 4.62	2.72 ± 0.09

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 (图 9), 具有轻微刺激性, 这可能是由于微乳中的表面活性剂与角质层作用, 对角质层产生了一定伤害, 但由于刺激性较轻微, 在停药后 2~3 天即可恢复, 符合外用制剂刺激性要求。

结论

本研究制备了含水量高、载药量高和透过能力较强的 NaATI。体外透皮实验表明, 在载药量和含水量相同的前提下, 电解质 NaCl 的加入并未影响微乳系统的累积透过量, 而是影响微乳的透过速率。但是, 从伪三元相图可以看出, 电解质 NaCl 的加入显著增

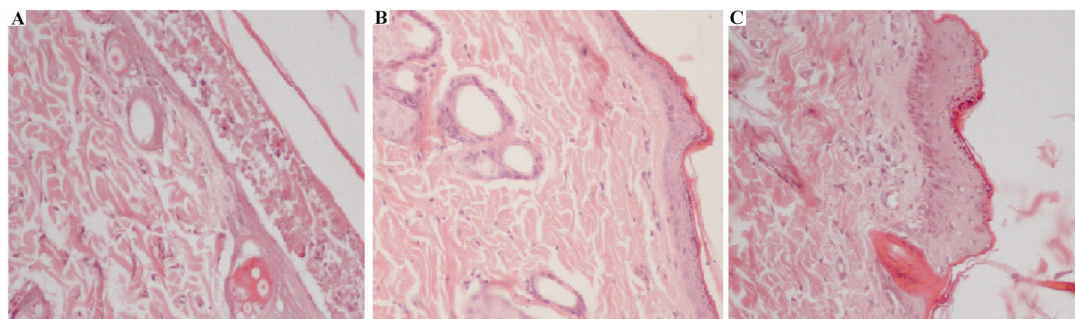


Figure 9 Histological photomicrographs of skin biopsies taken from rat treated with various applications. H&E stain. A: Microemulsion; B: Commercial preparation; C: Control

加了 W/O 型微乳的含水量,从而增加了系统的载药量。因此,对于 5-Fu 等亲水性药物而言,在 W/O 型微乳中加入适量的电解质可提高系统的含水量,进而增大药物的载药量,对其在透皮制剂上的应用具有十分重要的意义。

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] 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.
- [10] 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.
- [11] Mitra RK, Paul BK. Effect of NaCl and temperature on the water solubilization behavior of AOT/nonionics mixed reverse micellar systems stabilized in IPM oil [J]. Colloids Surf A, 2005, 255: 165–180.
- [12] Leser ME, Evert WC, Agterol WG. Phase behaviour of lecithin-water-alcohol-triacylglycerol mixtures [J]. Colloids Surf A, 1996, 116: 293–308.
- [13] Roger L, 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.
- [14] Roger L, 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.
- [15] Hou MJ, Kim M, Shah DO. A light scattering study on the droplet size and interdroplet interaction in microemulsions of AOT-oil-water system [J]. J Colloid Interface Sci, 1988, 123: 398–412.