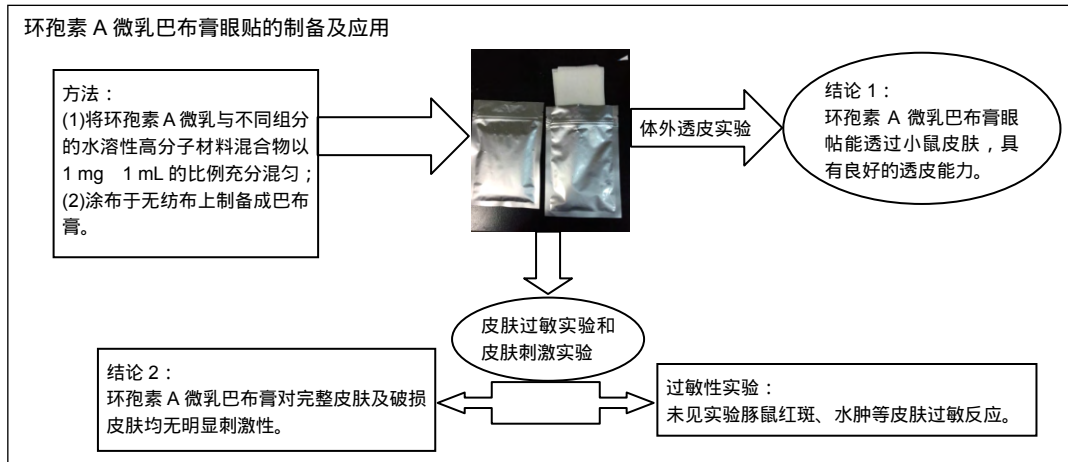


环孢素A微乳巴布膏眼贴的制备及体外透皮实验

陈敏¹, 许丽疆¹, 翁景宁², 上官晓辉³, 严俊⁴, 黄金棋^{5,6,7}, 陈丹娜¹ (莆田学院附属医院, ¹眼科, ⁴血液风湿科, ⁵血液内科, 福建省莆田市 351100; ²福建医科大学附属协和医院眼科, 福建省福州市 350000; ³福建医科大学附属龙岩市第一医院血液风湿科, 福建省龙岩市 364000; ⁶厦门大学药学院转化医学中心, 福建省厦门市 361102; ⁷莆田学院细胞与基因工程研究所, 福建省莆田市 351100)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0715 ORCID: 0000-0002-6528-3633(陈丹娜)

文章快速阅读:



陈敏, 男, 1964年生, 福建省莆田市人, 汉族, 1986年福建医科大学毕业, 主任医师, 主要从事眼科方面的研究。

通讯作者: 陈丹娜, 硕士生, 主治医师, 莆田学院附属医院眼科, 福建省莆田市 351100

中图分类号: R318

文献标识码: B

稿件接受: 2018-01-02



文题释义:

环孢素A微乳: 环孢素A系由11个氨基酸组成的亲脂性环状多肽, 为第3代高效免疫抑制剂, 有较广泛的免疫抑制作用, 主要作用在免疫反应的诱导期, 即抗原识别和增殖克隆阶段, 主要降低胸腺细胞总数, 阻断胸腺内淋巴细胞分化成熟及淋巴因子合成。普通的环孢素经过微乳化改造后即成环孢素A微乳(新山地明), 可有效透过皮肤, 而且具有淋巴靶向的功能。

环孢素A微乳巴布膏: 巴布贴剂又称巴布剂, 是以水溶性高分子聚合物为基质骨架材料的外用贴剂, 属于透皮给药系统或经皮吸收制剂的一种。是经皮肤贴敷方式用药, 药物由皮肤吸收进入全身血液循环并达到有效血药浓度、实现疾病治疗或预防的一类制剂。将治疗免疫性疾病常用的环孢素A微乳制成巴布膏, 借助巴布膏的特性增加环孢素A微乳的透皮性。

摘要

背景: 免疫性眼病如甲亢性突眼、葡萄膜炎等疾病严重危害患者的眼健康, 是眼科的常见病和疑难病, 目前最常见的治疗方法为口服激素和免疫抑制剂, 疗效不佳、反复发作、预后差同时全身不良反应很大。此类疾病多有淋巴细胞直接或间接参与。尝试把免疫抑制剂制作成巴布膏眼贴, 通过局部外用使药物进入体内, 利用环孢素A微乳的淋巴靶向性能, 使环孢素A作用在睑周淋巴结, 从而达到治疗或控制睑周淋巴结参与反应的免疫性眼病。这种方法为局部外用, 不用全身用药, 针对性强, 药物剂量小, 如果治疗效果好, 可以有效治疗免疫性眼病并规避原有药物全身应用及长期应用的不良反应。

目的: 制备环孢素A微乳巴布膏眼贴, 研究环孢素A微乳巴布膏眼贴体外透皮吸收特性。

方法: 将环孢素A微乳与聚丙烯酸钠、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、明胶、桃胶、羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素等的水溶性高分子材料混合物以1 mg/1 mL的比例充分混匀, 涂布于无纺布上制备成巴布膏。Franz扩散池法测定该巴布膏在ICR小鼠腹部皮肤的通透性。高效液相色谱分析法检测环孢素A浓度, 并进行皮肤刺激性和过敏性实验。

结果与结论: 实验成功制备了粘性适宜、透气透水性能良好、敷贴舒适、无皮肤刺激性和过敏反应的环孢素A微乳巴布膏, 环孢素A含量为10 mg/片, 质量浓度为1 g/L。环孢素A微乳透皮的浓度随着时间的增加而增加, 具有较好的透皮效果。证实将环孢素A微乳制备成巴布膏眼贴是可行的。其在透皮性能、黏附能力、皮肤舒适方面表现良好。

关键词:

环孢素A微乳; 巴布膏; 眼贴; 工艺研究; 体外透皮; 免疫性眼病; 甲状腺相关眼病; 局部给药; 生物材料

主题词:

亲环素类; 免疫抑制剂; 免疫毒素类; 组织工程

基金资助:

莆田学院校级课题(2014034); 莆田市科技局课题(2014S06(2))

Chen Min, Chief physician, Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital (Group) of Putian University, Putian 351100, Fujian Province, China

Corresponding author: Chen Dan-na, Master, Attending physician, Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital (Group) of Putian University, Putian 351100, Fujian Province, China

Preparation and *in vitro* transdermal permeation of cyclosporin A microemulsion papua cream eye patch

Chen Min¹, Xu Li-jiang¹, Weng Jing-ning², Shangguan Xiao-hui³, Yan Jun⁴, Huang Jin-qi^{5,6,7}, Chen Dan-na¹ (¹Department of Ophthalmology, ⁴Department of Blood Rheumatology, ⁵Department of Hematology, Affiliated Hospital (Group) of Putian University, Putian 351100, Fujian Province, China; ²Department of Ophthalmology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350000, Fujian Province, China; ³Department of Blood Rheumatology, Longyan First Hospital of Fujian Medical University, Longyan 364000, Fujian Province, China; ⁶Translational Medicine Center, School of Pharmacy, Xiamen University, Xiamen 361102, Fujian Province, China; ⁷Cell and Genetic Engineering Institute, Putian University, Putian 351100, Fujian Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Immune eye diseases such as hyperthyroidism exophthalmos and uveitis seriously endanger the eye health of patients, which are common and difficult eye diseases. Current treatments for these diseases include oral administration of hormones and immunosuppressive agents, with poor efficacy, recurrent attacks and poor prognosis. Meanwhile, these treatments can induce systemic adverse reactions. Lymphocytes are directly or indirectly involved in these diseases. Therefore, we try to make papua eye patch carrying immunosuppressant, and deliver the drug through the topical use. Cyclosporin A microemulsion targeting lymphocytes can treat or control palpebral lymph nodes involved in the immune eye diseases. It is a topical method rather than the systemic medication, which is targeted and has small doses of drugs. If possible, this treatment can effectively treat immune eye diseases and avoid systemic drug adverse reactions and long-term adverse reactions induced by original drugs.

OBJECTIVE: To study the preparation of cyclosporin A microemulsion papua cream eye patch, and its transdermal absorption characteristics *in vitro*.

METHODS: Cyclosporine A microemulsion was fully mixed with water-soluble polymer materials at a ratio of 1 mg:1 mL, including sodium polyacrylate, polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, gelatin, peach gum, sodium carboxymethylcellulose, hydroxypropylcellulose, and then coated onto the non-woven fabric to prepare Babu cream. Permeability of the Babu cream on the abdominal skin of ICR mice was determined by Franz diffusion cell method. High-performance liquid chromatography was used to detect the concentration of cyclosporine A, and skin irritation and anaphylaxis were also measured.

RESULTS AND CONCLUSION: Cyclosporin A microemulsion papua cream eye patch was successfully prepared with appropriate viscosity, good permeability, good permeability, comfortable application, no skin irritation and allergic reaction. The content of cyclosporine A was 10 mg/tablet, and the concentration was 1 g/L. The concentration of cyclosporine A microemulsion increased with the increase of time, and it had good transdermal effect. This study proved that it is feasible to prepare cyclosporine A microemulsion into papua patch. It has good performance in skin permeability, adhesion and skin comfort.

Subject headings: Cyclophilins; Immunosuppressive Agents; Immunotoxins; Tissue Engineering

Funding: the Project of Putian University, No. 2014034; the Project of Putian Municipal Science and Technology Department, No. 2014S06(2)

0 引言 Introduction

眼部发生一系列的免疫病理变化,引起眼部各种免疫性疾病的发生,统称为免疫性眼病^[1]。目前已知眼自身免疫性疾病共几十种,其中甲状腺相关眼病又称Graves眼病,是一种同时累及甲状腺与眼眶等器官的特异性自身免疫性疾病,是最常见的眼眶病。其他免疫性眼病还包括内因性葡萄膜炎、交感性眼炎等^[2-3]。同自身免疫病相似,免疫性眼病的发病由淋巴细胞直接或间接参与^[4-5]。临床上采用的方法包括单独的肾上腺皮质激素或肾上腺皮质激素与免疫抑制剂的联合^[6-9],如环孢素A局部或全身给药的方式进行治疗^[10],以抑制淋巴细胞介导的异常免疫应答,但血-眼屏障使药物难以进入眼内发挥作用,为追求疗效,往往会增加给药剂量,这同时也会导致不良反应的增加。对难治、重症免疫性眼病患者采用放射治疗,甚至手术治疗,疗效较差,且病情反复,致盲率高,严重影响患者的生活^[11-12]。

药物的纳米化和微米化改造可实现药物在淋巴道的靶向分布,并具有缓释特点,在治疗肿瘤淋巴转移或自身免疫病中有潜在的应用价值。环孢素A系由11个氨基酸组成的亲脂性环状多肽,为第3代高效免疫抑制剂,能特异而可逆地作用于淋巴细胞,而不影响造血及吞噬细胞的功能,故对中性粒细胞的影响较小,继发感染的发生率较低^[13-16]。普通环孢素滴眼液以及环孢素脂质体滴眼液已被尝试用于治疗眼表疾病^[17],但其角膜通透性低,难以进入眼内,用

于治疗免疫性眼病,存在一定的限制,而全身用药不良反应明显。有研究发现普通的环孢素经过微乳化改造后可有效透皮并具有淋巴靶向功能^[18-20]。

巴布贴剂又称巴布剂,是以水溶性高分子聚合物为基质骨架材料,选用水溶性高分子材料制成凝胶为基质,将药物与适宜的基质混匀后,涂布于布上制成的外用制剂^[21]。常用于中药制剂的体外透皮给药^[22-24]。属于透皮给药系统或经皮吸收剂的一种生物材料。是经皮肤贴敷方式用药,药物由皮肤吸收进入体内、实现疾病治疗或预防的一类制剂^[25-27]。它可将膏体内药物最大限度地渗透人体皮肤进入局部组织^[28],且给药方便,药力药效持久^[29-30]。将临床上已应用的环孢素A微乳(商品名:新山地明)制成巴布膏眼贴,是因为巴布膏制剂膏体中含有50%-60%的水分,接近人体皮肤含水状况,膏体内药物最大限度地渗透人体皮肤进入局部组织^[31-32],且给药方便,药力药效持久^[33]。

实验拟首次将巴布膏工艺用于眼贴的制备领域,探讨一种可以将环孢素A以眼贴的形式局部给药,利用巴布膏的透皮性能融合环孢素A的药理特征、纳米级微乳的淋巴道靶向特点,考察其治疗免疫性眼病的潜在价值。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年8月在北京东方绿源有

限公司实验室和莆田学院动物实验室完成。

1.3 材料

动物：清洁级健康ICR小鼠15只，鼠龄4.0-5.0周，雌雄各半，体质量18-20 g，用于体外透皮实验。豚鼠40只，体质量200-250 g，鼠龄7或8周，雌雄各半，用于皮肤刺激性和过敏性试验。实验动物均购置于长沙市天勤生物技术有限公司，动物许可证号：SCXK(湘)2014-0011，SCXK(湘)2014-0010。实验经莆田学院附属医院动物实验伦理委员会批准，批准号为201507001。

实验主要试剂与仪器：环孢素A微乳购自北京诺华制药有限公司，聚丙烯酸钠(药用级)购自美国国际特品公司，聚乙烯吡咯烷酮购自天津科密欧化学试剂开发中心，明胶购自青岛国力明胶厂，高岭土购自灵寿县源鸿矿产品加工厂，钛白粉购自上海江沪实业有限公司，氢氧化铝购自广州市涛升化工有限公司，酒石酸、EDTA-2Na、吐温-80购自西安天正药用辅料有限公司，尼泊金甲酯、尼泊金丙酯购自西安悦来医药科技有限公司，甘油购自天津大茂化学试剂厂，DF-3涂布机购自吴江震泽镇八都锦茂机械厂，HY-5L行星动力混合机购自莱州市鲁州化工机械有限公司，XTM-冲切机购自乐清市柳州格尔夫气动元件厂，FS-分散机购自佛山市顺德区苏化几点有限公司，SSE均质机购自上海臻煊机电科技有限公司，BS-10S电子天平购自北京赛多利斯天平有限公司，高效液相色谱仪购自岛津公司，改良式Franz扩散池购自德阳科瑞仪器设备厂，CPP膜购自天津盛世荣康医药生物科技有限公司。

1.4 方法

1.4.1 动物分组 40只豚鼠中随机取20只做皮肤刺激实验，另20只做皮肤过敏实验。20只皮肤刺激实验的豚鼠，随机抽取其中10只在局部麻醉下用细砂纸在脱毛部位造成局部擦伤，其中5只和5只正常豚鼠行单次给药；剩余豚鼠行多次给药。20只皮肤过敏实验豚鼠随机分为基质组和给药组，各10只，基质组所用的是不加环孢素A微乳的巴布膏基质，给药组所用的是加入环孢素A微乳的巴布膏贴。

1.4.2 环孢素A微乳巴布膏的制备 参照接骨巴布膏基质组成的制备工艺^[25, 34]。并在此基础上进行初步基质组分优化^[35]。空白对照组选择不含环孢素A微乳的同上配方进行体外透皮试验。将75 g甘油、500 mg环孢素A微乳、0.125 g尼泊金甲酯、0.125 g尼泊金丙酯、0.75 g氢氧化铝、2.5 g钛白粉和10 g高岭土手工搅拌混合，3 000 r/min搅拌5 min后，加入30 g聚丙烯酸钠，1 000 r/min分散搅拌10 min，得到环孢素A微乳甘油相。将聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮混合溶液以及EDTA-2Na溶液10 r/min搅拌2 min，加入环孢素A微乳甘油相，真空30 r/min搅拌5 min。加入酒石酸、明胶、吐温-80溶液，继续真空搅拌30 r/min搅拌10 min，得到环孢素巴布剂胶体。将其涂布在EW9100无纺布上，然后覆盖CPP膜，切成7 cm×10 cm规格，每片质量约为8 g。

1.4.3 环孢素A微乳巴布膏的质量评价 取环孢素A微乳巴布膏，在室温下，除去盖衬，置于长30 cm且与水平面成15°的斜面，滚球放在中央，膏面向上，中间留出5 cm膏面，将该品种各项规定下的小球，自斜面顶端自由滚下^[28]。

取巴布膏，精密称质量后置于烧杯中，加适量水，加热煮沸至纱布与膏药完全分离后将布取出，用水洗涤至布面无残留膏体，晾干后在105℃烘箱中干燥30 min，移至干燥器中，冷却30 min。再次精密称质量，减失质量即为膏体质量。按标示面积(7 cm×10 cm)换算成每100 cm²含膏量^[36-38]。

1.4.4 环孢素A巴布膏的体外透皮实验 将ICR小鼠颈椎脱臼法处死，通过脚掌充气至皮肤鼓起，用医用剪刀去除腹部皮肤，剃净腹部毛发，无菌棉签粘除皮下残留组织，迅速放入生理盐水保存。实验采用改良Franz扩散池进行环孢素A微乳巴布膏眼贴的体外透皮吸收实验^[29, 39]，实验所用的接受液是含体积分数30%乙醇的生理盐水混合液^[40]。

采用高效液相色谱法检测样品环孢素A浓度^[41]。用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(柱前连接φ0.25 mm×1 000 mm的不锈钢管)；以乙腈-水-叔丁基甲醚-磷酸(430:520:50:1)为流动相；检测波长为210 nm；不锈钢管和柱温70℃。

称取环孢素A标准品0.023 4 g，溶于2 mL甲醇(质量浓度为11.7 g/L)，从中取0.1 mL加0.9 mL甲醇稀释(质量浓度为1.17 g/L)，从中取0.1 mL加0.9 mL甲醇稀释(质量浓度为0.117 g/L)，并分别取2, 4, 8, 12, 20 μL采用高效液相色谱仪检测环孢素A标准品峰面，得到环孢素A各标准品的峰面积值，根据标准品浓度绘制标准曲线(图1)。

以横坐标X代表浓度，纵坐标Y代表峰面积，列出线性方程式 $Y=1.134\times 10^5+2.522\times 10^9\times X$ ，浓度 $X=(Y-1.134\times 10^5)/2.522\times 10^9$ ，线性相关系数 $R=0.999\ 87$ 。

根据改良Franz扩散池的瓶口大小剪取巴布剂样品，取出事先准备好的离体ICR小鼠鼠皮，生理盐水洗净，用滤纸吸干表面水分，将同等面积的供试环孢素A微乳巴布剂贴于皮肤角质层面，贴在瓶口，夹好上口漏槽和夹板(贴药面朝向供给室，皮肤面朝向接受室)，接受室内加入含体积分数30%乙醇的生理盐水混合液，操作中避免气泡产生。模拟眼表皮肤温度，循环水温度控制在33℃，搅拌速度控制在50 r/min进行试验^[40]。分别在2, 5, 8, 12, 24 h时取2 mL样品，取完补足等量的接受液。所得样品经过滤膜过滤，留取1 mL待行液相色谱分析。再取环孢素A微乳巴布膏眼贴接受液待测样品0.2 mL加1 mL甲醇稀释，并取20 μL进行高效液相色谱检测，平行测定3次，求取平均峰面积，代入线性方程式计得计算浓度^[42-48]。

1.4.5 皮肤刺激性及过敏性实验 取豚鼠40只，参照巴布贴剂剂皮肤刺激实验研究和过敏性实验研究行皮肤刺激及过敏性实验^[49-50]，实验组为环孢素A微乳巴布膏眼贴，对照组为不含环孢素A微乳的空白巴布膏眼贴的基质。给药前24 h将豚鼠背部脊柱两侧用8%硫化钠脱毛，面积约9 cm²，其中10只(5只用于单次给药实验，5只用于多次给药实验)予强效止痛膏(购自广州市国励贸易有限公司)涂抹0.5 h后(强效止痛膏是涂在皮肤上的局部麻醉药物，可用于纹眉或纹身等的麻醉，涂抹半小时后达到麻醉效果，细砂纸擦伤时无明显痛觉)用细砂纸在脱毛部位造成局部擦伤。分脊柱左右两个区，左侧为给药区，右侧为对照区。对照区皮肤

贴不加环孢素A微乳的巴布膏即对照组巴布膏。

单次给药对豚鼠完整皮肤和受损皮肤的刺激性实验:

在给药区贴相应面积的环孢素A微乳巴布膏, 右侧贴相同面积的对照组巴布膏, 药物与皮肤接触24 h后用清水轻轻洗去药膏及基质, 于去除受试物后1, 12, 24, 48, 72 h观察其皮肤刺激反应, 包括有无红斑、水肿、隆起、焦痂形成等, 并对每只动物的皮肤反应强度进行评分(表1), 观察药物对皮肤刺激情况。

表1 皮肤刺激性和过敏性反应评分标准
Table 1 Skin irritation and allergic reaction scoring criteria

皮肤反应	分值
红斑	
无红斑	0
轻度红斑(勉强可见)	1
中度红斑(明显可见)	2
重度红斑	3
紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
水肿	
无水肿	0
轻度水肿(勉强可见)	1
中度水肿(边缘高出周围皮肤)	2
重度水肿(皮肤隆起约1 cm, 轮廓清晰)	3
严重水肿(皮肤隆起超过1 cm, 并范围扩大)	4
总分	8

多次给药对豚鼠完整皮肤和受损皮肤的刺激性实验:

在给药区贴相应面积的环孢素A微乳巴布膏, 右侧贴相同面积的基质, 每天1次, 连续7 d。每日密切观察皮肤反应情况。观察其皮肤刺激反应, 看有无红斑、水肿、隆起、焦痂形成等, 并对每只动物的皮肤反应强度进行评分, 观察药物对皮肤刺激情况。

过敏性实验: 给药前24 h将豚鼠背部脊柱两侧用8%硫化钠脱毛, 面积约9 cm², 将环孢素A微乳巴布膏和基质各涂于豚鼠左侧脱毛区, 6 h后除去受试物。第7天、第14天以同样方法重复致敏接触1次。在最后一次给受试物致敏后14 d, 将环孢素A微乳巴布膏和基质各涂于豚鼠右侧脱毛区, 6 h后除去受试物, 即刻观察, 然后于24, 48, 72 h再次观察皮肤过敏反应情况。

1.5 主要观察指标 高效液相色谱法检测样品环孢素A浓度; 改良Franz扩散池进行环孢素A微乳巴布膏眼贴的体外透皮吸收实验; 高效液相色谱法检测透过小鼠皮肤的环孢素A浓度。

1.6 统计学分析 使用SPSS 20.0(美国IBM公司)进行组间比较, 组间比较采用t检验。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 所有实验动物全部进入结果分析, 无脱失。

2.2 环孢素A微乳巴布膏眼贴的性质 制得的巴布膏眼贴粘性合适, 透气透水性良好, 敷贴舒适, 每贴大小7 cm×10 cm, 每片质量约为8 g(图2), 每贴含环孢素A微乳10 mg, 质量浓度为1 g/L。环孢素A微乳巴布膏能粘住的

最大球号为3号钢球, 说明粘性适合。环孢素A微乳巴布膏含膏量为6.83 g。

2.3 环孢素A微乳巴布膏眼贴的透皮实验结果 根据标准品透皮图谱(图3A), 环孢素A透皮峰面积计算起始时间为(10.53±0.188) min, 达峰时间为(12.78±0.104) min, 计算结束时间为(15.57±0.172) min, 透皮时间与峰面积为正相关关系。环孢素A微乳巴布膏眼贴2, 5, 8, 12, 24 h时透过的环孢素A浓度分别为(0.052 2±0.009 53)、(0.134 1±0.014 19)、(0.232 5±0.007 86)、(0.252 3±0.002 05)、(0.488 1±0.015 51) g/L(图3B-F), 并得出样品浓度与时间的曲线变化(图4)。

2.4 环孢素A微乳巴布膏眼贴的皮肤刺激性及过敏性结果 环孢素A微乳巴布膏对完整皮肤无刺激性, 去除受试药物后1, 12, 24, 48, 72 h后均无红斑及水肿, 且动物精神状态、外观、摄食量、体质量、呼吸、尿便、肤色、外观等未见明显异常, 破损皮肤给药后也未见明显的皮肤刺激性, 其他也未见明显异常(表2)。眼贴对豚鼠完整皮肤单次和连续给药均无刺激性; 而破损皮肤其保护屏障受到破坏, 连续给药时有轻度刺激性。豚鼠完整皮肤及破损皮肤经连续给药均未出现毒性反应。过敏性实验中, 未见豚鼠红斑、水肿等皮肤过敏反应(表2)。

3 讨论 Discussion

为减少药物全身给药后的不良反应的发生, 随着科学技术的不断发展, 新的给药途径不断出现, 例如经皮给药途径、靶向给药途径、植入给药途径等。经皮给药系统是指经皮肤敷贴方式给药, 药物由皮肤吸收进入全身血液循环并达到有效血药浓度, 实验疾病预防或治疗的一类制剂^[51]。巴布贴剂是经皮肤敷贴方式用药, 药物由皮肤吸收进入全身血液循环并达到有效血药浓度、实现疾病治疗或预防的一类制剂。巴布贴剂的优势在于: 可避免肝脏的首过效应和药物在胃肠道的灭活, 药物的吸收不受胃肠道因素的影响; 减少用药的个体差异; 维持恒定有效血药浓度或生理效应, 避免口服给药引起的血药浓度峰谷现象, 降低毒副作用; 减少给药次数, 提高治疗效能, 延长作用时间, 避免多剂量给药, 使大多数患者易于接受; 使用方便, 患者可以自主用药, 也可以随时撤销用药; 靶向性强, 可直接作用于病患处, 最大发挥药物疗效; 保湿透气耐老化, 载药量大、无刺激性过敏性, 是中药外用贴剂的适宜剂型^[33, 52]。局部给药不同于口服、静脉注射等全身给药方式, 药物在局部发挥作用, 相关的肝肾毒性等不良反应相应减少, 给药方便, 增加患者对治疗的依从性。实验就如何实现眼周局部给药进行了相应探讨。

曾有学者报道普通的环孢素经过微乳化改造后可有效透皮^[53-54], 作者将治疗免疫性眼病的常用免疫抑制剂药物环孢素A微乳借用现代制剂技术制备成环孢素A微乳巴布膏眼贴, 为环孢素A微乳由全身应用改为局部应用, 借助环孢素A微乳的淋巴靶向及经皮给药治疗免疫性眼病的可行性做了铺垫。把口服药改为巴布膏, 借助环孢素A微乳的淋巴靶向及经皮给药治疗免疫性眼病的可行性做了铺垫。

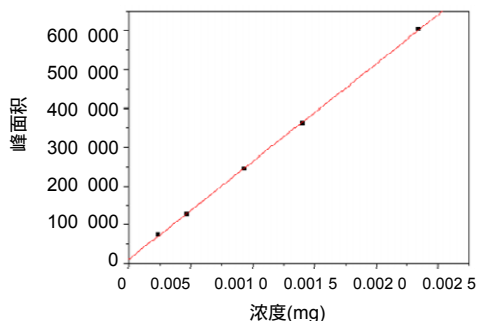


图1 环孢素A标准曲线
Figure 1 Cyclosporine A standard curve

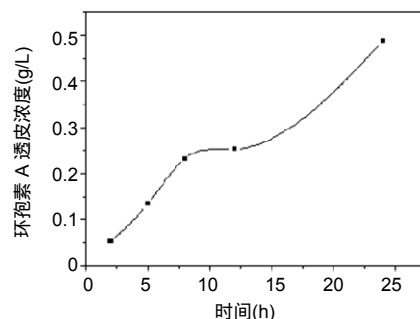


图4 环孢素A微乳巴布膏眼贴中环孢素A透皮浓度与时间关系
Figure 4 The concentration of cyclosporine A transdermal concentration with the increase of time



图2 巴布膏眼贴外观
Figure 2 The appearance of papua cream eye patch

表2 环孢素A微乳巴布膏眼贴给药对皮肤刺激性及过敏性实验分值
Table 2 Scores on the skin irritation and the anaphylaxis of cyclosporine A microemulsion

实验	实验组	对照组
刺激实验	0分	0分
过敏实验	0分	0分

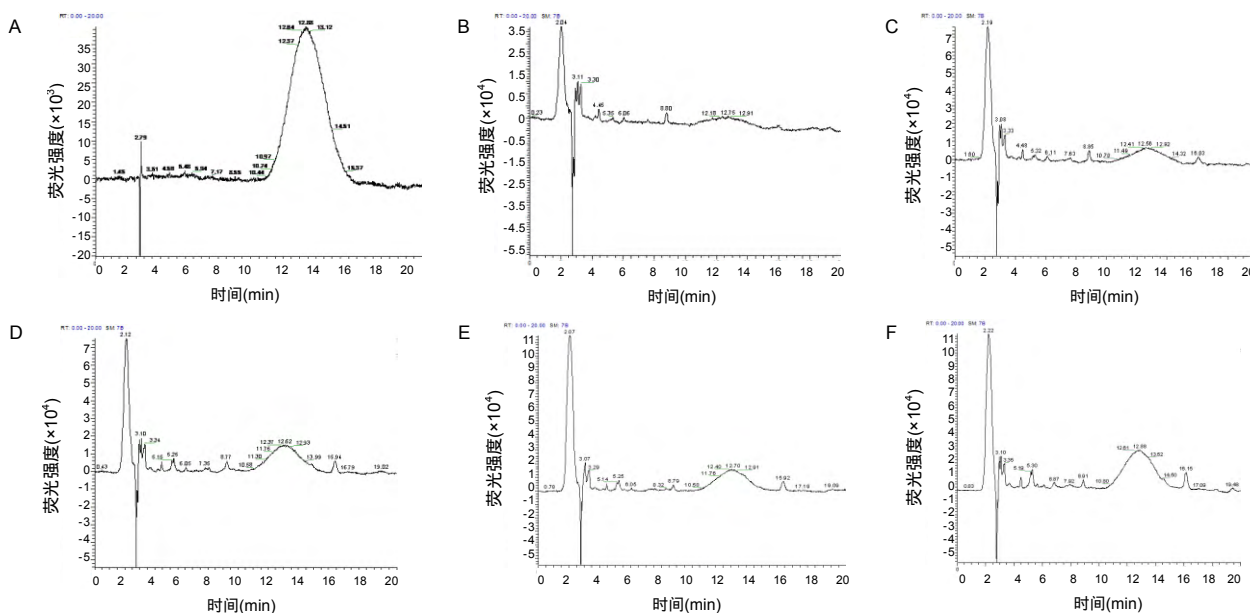


图3 环孢素A微乳巴布膏眼贴的透皮实验图谱

Figure 3 The permeable test map of cyclosporin A microemulsion papua cream eye patch

图注：图中A为环孢素A标准品，B为巴布膏眼贴2h时，C为巴布膏眼贴5h时，D为巴布膏眼贴8h时，E为巴布膏眼贴12h时，F为巴布膏眼贴24h时。环孢素A特征峰在12min左右。

据世界卫生组织预测，在未来20-30年内，有30%左右的药物将改成经皮给药制剂，势必掀起一个新的制药工艺研发高潮。巴布剂将促进中国传统外用制剂的二次开发，可应用于现有膏药、酒剂、配剂、软膏剂等传统剂型的改进。而在眼科领域，将巴布膏用于眼贴，暂属首次，希望后续用于对免疫性眼病的治疗将有所作用。

作者贡献：陈敏、陈丹娜、黄金棋进行实验设计，实验实施为陈丹娜，实验评估为翁景宁，资料收集为上官晓辉，陈丹娜、黄金棋成文，许丽疆、严俊审校，陈敏、陈丹娜对文章负责。

经费支持：该文章接受了“莆田学院校级课题(2014034)”、“莆田市科技局课题(2014S06(2))”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对

研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题：实验方案经莆田学院附属医院动物实验伦理委员会批准，批准号为201507001。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在强效镇痛膏表面麻醉下进行所有的手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《动物实验体内实验研究报告规范指南》(ARRIVE指南)。

文章查重：文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审：文章经国内小同行外审专家双盲外审，符合本刊发稿宗旨。

作者声明：第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁，可接受核查。

文章版权：文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Rajaii F, McCoy AN, Smith TJ. Cytokines are both villains and potential therapeutic targets in thyroid-associated ophthalmopathy: From bench to bedside. *Expert Rev Ophthalmol.* 2014;9(3):227-234.
- [2] Jang SY, Lee KH, Oh JR, et al. Development of Thyroid-Associated Ophthalmopathy in Patients Who Underwent Total Thyroidectomy. *Yonsei Med J.* 2015;56(5):1389-1394.
- [3] Salvi M. Immunotherapy for Graves' ophthalmopathy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(5):409-414.
- [4] Kavoussi SC, Giacometti JN, Servat JJ, et al. The relationship between sex and symmetry in thyroid eye disease. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:1295-1300.
- [5] 居红格, 谢建兰, 郭新建, 等. 眼结膜粘膜相关淋巴组织边缘带B细胞淋巴瘤临床病理分析[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(8):840-843.
- [6] 张庆, 邵毅, 关晏星, 等. 标准剂量泼尼松联合谷氨酰胺对1131治疗后Graves眼病的保护作用[J]. 重庆医学, 2017, 46(13):1775-1778.
- [7] 张祎, 张险峰, 韩辉, 等. 中小剂量甲泼尼龙联合甲氨蝶呤与硒酵母对Graves眼病的疗效观察[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(1):24-26.
- [8] 唐宇光. 甲疏咪唑联合左甲状腺素治疗甲亢性突眼的临床效果分析[J]. 黑龙江医药, 2016, 29(2):279-280.
- [9] 张道武. 醋酸泼尼松龙联合环磷酰胺治疗甲亢突眼的疗效观察[J]. 医学信息, 2014(36):261.
- [10] 张楠, 卢弘. 环孢素A在非感染性葡萄膜炎治疗中的应用[J]. 眼科新进展, 2017, 37(3):293-297.
- [11] 李敏, 崔雪娇, 李玉铎, 等. Graves眼病患者生活质量及眼病特异性生活质量的相关性[J]. 中国医科大学学报, 2016, 45(5):445-447, 451.
- [12] 俞丹洋, 魏锐利, 李玉珍, 等. 儿童及青少年Graves眼病的临床特点及疗效分析[J]. 中国实验眼科杂志, 2016, 34(8):716-719.
- [13] Di Tommaso C, Valamanesh F, Miller F, et al. A novel cyclosporin a aqueous formulation for dry eye treatment: in vitro and in vivo evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(4):2292-2299.
- [14] Junghanss C, Rathsack S, Wacke R, et al. Everolimus in combination with cyclosporin a as pre- and posttransplantation immunosuppressive therapy in nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18(7):1061-1068.
- [15] Afonso M, Perrotti V, Rapani M, et al. Immunoexpression of angiogenesis and proliferation markers in patients treated with cyclosporin A. *Minerva Stomatol.* 2014;63(3):59-67.
- [16] Kim SY, Shim MS, Kim KY, et al. Inhibition of cyclophilin D by cyclosporin A promotes retinal ganglion cell survival by preventing mitochondrial alteration in ischemic injury. *Cell Death Dis.* 2014;5:e1105.
- [17] Fuhrmann A, Lopes P, Sereno J, et al. Molecular mechanisms underlying the effects of cyclosporin A and sirolimus on glucose and lipid metabolism in liver, skeletal muscle and adipose tissue in an in vivo rat model. *Biochem Pharmacol.* 2014;88(2):216-228.
- [18] Cheng M. Hartmann Stahelin (1925-2011) and the contested history of cyclosporin A. *Clin Transplant.* 2013;27(3):326-329.
- [19] Mori M, Inoue D, Arima H, et al. Therapeutic efficacy of cyclosporin A for refractory angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Rinsho Ketsueki.* 2010;51(5):332-338.
- [20] Liu H, Wang Y, Han F, et al. Gelatin-stabilised microemulsion-based organogels facilitates percutaneous penetration of Cyclosporin A in vitro and dermal pharmacokinetics in vivo. *J Pharm Sci.* 2007;96(11):3000-3009.
- [21] 刘洪卓. 环孢素A皮肤给药系统的设计与评价[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [22] 王黎. 中药巴布膏剂的研究概况[J]. 中华实用中西医杂志, 2007, 20(17):1544-1546.
- [23] 王雪, 高建德. 中药巴布剂的研究进展[J]. 中医儿科杂志, 2007, 3(2):54.
- [24] 庞武耀, 李明亚, 谢青春. 巴布剂的研究现状[J]. 亚太传统医药, 2008, 4(12):133-136.
- [25] 宋文娟. 接骨巴布膏的制备及临床应用[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(11):2236-2237.
- [26] 朱庆文, 李海燕, 杜红. 中药经皮给药物理促透技术与发展思路研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2015, 38(4):253-256.
- [27] 冯金鹰. 蟾酥巴布膏的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [28] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2000年版. 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [29] 刘方艺. 经络贴巴布剂的制备工艺与体外经皮渗透研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.
- [30] 梁媛媛, 马琳, 崔黎丽, 等. 正极性驻极体和氮酮对环孢素A的体外透皮促透作用[J]. 第二军医大学学报, 2012, 33(6):617-620.
- [31] 王岚, 刘淑芝, 王彦礼, 等. 莫连巴布膏抗消化性溃疡的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):194-197.
- [32] 戎宽. 肿痛消巴布膏对LDH大鼠TNF- α 、IL-1影响的实验研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [33] 望开鹏. 环孢素A纳米粒丝素蛋白-聚乙烯醇共混膜剂的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [34] 刘先继, 王永强, 刘先锋, 等. 乳癖消巴布膏制备工艺[J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(8):126-127.
- [35] 徐晖, 王绍宁, 谷野, 等. 巴布膏剂研制的一些问题[J]. 中医外治杂志, 2005, 14(6):3-4.
- [36] 庞丹梅. 万灵五香巴布膏的研制[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [37] Domingo-Chiva E, Ruiz-Ramos J, Marqués-Miñana MR, et al. Drug Interaction Between Oral Cyclosporine Modified and Iron. *Ann Pharmacother.* 2014;48(7):932-935.
- [38] 杜茂波. 莫连巴布膏的药学研究与评价[D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [39] 张韻慧, 王春杰, 晋兴华, 等. 吡啶美辛水凝胶贴剂小鼠体外透皮性能研究[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(34):6619-6622, 6706.
- [40] 杜丽娜, 金义光. 经皮给药系统研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2013, 40(4):379-385.
- [41] 王海东, 倪善红, 孙增先. 液相色谱-质谱联用和酶增强免疫分析法测定人全血环孢素A浓度比较[J]. 医药导报, 2016, 35(10):1064-1068.
- [42] 黄培池, 王娟. HPLC法测定环孢素滴眼液中环孢素的含量[J]. 淮海医药, 2015, 33(4):382-383.
- [43] 沙波, 齐永贵, 叶启发, 等. 肝肠联合移植后的免疫抑制治疗体会[J]. 中国器官移植杂志, 2000, 21(5):283-284.
- [44] 袁成, 王景祥, 贾暖, 等. 兔角膜环孢素A含量测定及其经时过程[J]. 中国临床药理学杂志, 1998, 7(6):287-290.
- [45] 周晓庆, 张秀华, 黄学孙, 等. 环孢素A滴眼液的制备及治疗控制[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(6):574-575.
- [46] 王延东, 陈茂玲, 叶成添, 等. 环孢素眼用乳剂的制备及质量控制[J]. 中国实用医药, 2010, 12(5):7-9.
- [47] 陈洁, 杨利平, 刘春雨, 等. 高效液相色谱法测定环孢素滴眼液中环孢素的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(3):372-373.
- [48] 章元沛. 药理学实验[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996:222.
- [49] 胡楠楠, 王雪峰, 赵雪, 等. 敷胸巴布贴剂对健康家兔皮肤刺激实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(6):1168-1169.
- [50] 王秋菊, 吕娟, 张予阳, 等. 乳癖消巴布膏的刺激性、过敏性及经皮毒性研究[J]. 药学实践杂志, 2008, 26(1):31-34.
- [51] Garcovich S, Garcovich C, Cassano N, et al. Cyclosporine A microemulsion in dermatological practice: is oral solution better tolerated than soft gelatin capsules? *G Ital Dermatol Venereol.* 2015;150(4):473-474.
- [52] Wendlow SH, Campa E, Harris NL. WHO Classification Tumors of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC, Press. 2008:214.
- [53] 薛彬, 张晴, 郑占伟, 等. HPLC法同时测定环孢素A和其衍生物的含量[J]. 化学与生物工程, 2016, 33(3):68-70.
- [54] Frušić-Zlotkin M, Soroka Y, Tivony R, et al. Penetration and biological effects of topically applied cyclosporin A nanoparticles in a human skin organ culture inflammatory model. *Exp Dermatol.* 2012;21(12):938-943.