

盐酸丁卡因脂质体凝胶剂的制备与释放度的测定

王学清, 齐宪荣, 刘明辉(北京大学药学院药剂学系, 北京 100083)

摘要:目的 研究盐酸丁卡因脂质体以及脂质体凝胶的制备方法, 并考察脂质体及脂质体凝胶对药物释放的影响。方法 乙醇注入法制备盐酸丁卡因脂质体, 研和法制备脂质体凝胶, 透析法测定盐酸丁卡因脂质体以及脂质体凝胶中药物的释放。结果 采用乙醇注入法制备盐酸丁卡因脂质体, 包封率大于 80%, 脂质体及脂质体凝胶中药物释放均符合 Higuchi 方程, 分别为 $Q_t = -0.7662 + 7.588 t^{1/2}$ 和 $Q_t = -4.4081 + 5.059 t^{1/2}$, 游离药物凝胶中药物释放符合一级方程, 为 $\ln(Q_\infty - Q_t) = 18.53 - 4.899 t$ 。结论 盐酸丁卡因脂质体凝胶剂对药物有缓释作用, 延长药物的作用时间。

关键词: 盐酸丁卡因; 脂质体; 凝胶; 制备; 释放

中图分类号: R944.15 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2003)01-0037-04

Preparation of hydrochloride tetracaine liposome gel and determination of drug release

WANG Xue-qing, QI Xian-rong, LIU Ming-hui (Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical science, Peking University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the methods of preparation of hydrochloride tetracaine liposome and liposome gel and to determine the liberation of drug from them. **METHOD** Prepare the hydrochloride tetracaine liposome by ethanol injection method, prepare hydrochloride tetracaine liposome gel by mixing method, and determine the liberation of drug by dialysis. **RESULTS** The encapsulation ratio of liposome is larger than 80%. The rate of drug release from liposome and liposome gel fitted with Higuchi equation, and from free drug gel fitted with one order equation. The equations are $Q_t = -0.7662 + 7.588 t^{1/2}$, $Q_t = -4.4081 + 5.059 t^{1/2}$ and $\ln(Q_\infty - Q_t) = 18.53 - 4.899 t$ separately. **CONCLUSION** The hydrochloride tetracaine liposome gel has reduced the drug release significantly, it can prolong the function duration.

KEY WORDS: hydrochloride tetracaine; liposome; gel; preparation; drug release

经皮给药局部麻醉具有无痛、无损伤的优点, 适于代替

局部浸润麻醉, 尤其适用于一些不适合采用局部浸润麻醉和

长时间镇痛的情况,临床应用前景广阔。脂质体目前是被人们广泛认可的载体药物制剂。皮肤在使用以脂质体为载体的药物后,很容易穿透角质层而进入皮肤^[1]。更重要的是载药脂质体进入皮肤后,在表皮真皮内形成药物贮库,使药物缓慢释放,直接而持久地对局部发挥作用,从而大大提高治疗指数。又因药物较少地被体内吸收,从而减少全身不良反应^[2]。

盐酸丁卡因(hydrochloride tetracaine)是一种广泛应用的局麻药,具有起效快,作用强的优点。我们制备了盐酸丁卡因脂质体凝胶,并考察其包封率,形态,药物从脂质体凝胶中的释放等问题,并与游离药物凝胶进行了对比,期望开发一种无损伤、作用时间长、不良反应小的制剂。

1 材料

盐酸丁卡因(北京市燕京制药厂),卵磷脂(四川成都英格尔公司),胆固醇(南京生物化学制药厂),卡波普(上海人民制药厂)。UV-755B分光光度计(上海分析仪器总厂),ZRS-4智能溶出仪(天津大学无线电厂)。

2 方法

2.1 盐酸丁卡因标准曲线的制备^[3]

精密称取盐酸丁卡因适量,用异丙醇配制成浓度为 $20\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸丁卡因标准溶液。分别吸取标准溶液0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5 mL至10 mL量瓶中,用异丙醇稀释至刻度,于310 nm处测定吸光度。以吸光度对盐酸丁卡因浓度进行回归,计算标准曲线,用以测定脂质体的包封率。

精密称取盐酸丁卡因适量,用水配制成 $20\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 盐酸丁卡因标准溶液,分别吸取标准溶液0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5 mL至10 mL量瓶中,用水稀释至刻度,于310 nm处测定吸光度。以吸光度对盐酸丁卡因浓度进行回归,计算标准曲线,用以测定脂质体的释放度。

2.2 脂质体与脂质体凝胶制备

2.2.1 脂质体的制备^[4] 将卵磷脂、胆固醇、盐酸丁卡因及其稳定剂溶于适量的乙醇中,在剧烈涡旋状态下,缓缓注入到氯化钠水溶液中,得到乳白色的脂质体,并按正交设计表进行处方筛选。见表1。

2.2.2 脂质体凝胶与游离药物凝胶的制备 称卡波普1g于烧杯中,加蒸馏水25 mL放置过夜,使之溶胀,溶解。加2 mol/L NaOH溶液适量调节pH在6~7之间,即得无色透明的空白凝胶基质。将脂质体适量与空白凝胶基质研和均匀,制备脂质体凝胶,使盐酸丁卡因的含量为1%;将盐酸丁卡因游离药物直接与空白凝胶基质研和均匀,制备游离药物凝胶,使盐酸丁卡因的含量为1%。

2.2.3 脂质体包封率^[5] 将脂质体2 mL置10 mL离心管中,用氯化钠水溶液稀释至6 mL, $100,000\times g$ 超速离心90 min,分离上清液和沉淀物,分别用异丙醇破坏脂质体并定容至10 mL,于波长310 nm处测定吸光度,计算上清液与沉淀物中盐酸丁卡因的量,按下述公式计算包封率。

包封率(%) = $\frac{\text{沉淀中药物量}}{(\text{上清液中药物量} + \text{沉淀中药物量})} \times 100\%$

中药物量) $\times 100\%$

2.2.4 脂质体的粒径与形态 用透射电镜和扫描电镜观察脂质体形态,激光散射测定脂质体的粒径。

2.2.5 体外释放 将游离药物凝胶、脂质体、脂质体凝胶适量(分别含主药约200 mg)置于Spectrum(MWCO:12,000-14,000)透析袋中,以1 000 mL水为释放介质,于ZRS-4溶出仪上,用浆法100 r/min在37℃进行释放实验,定时取样,在310 nm处测定吸光度。计算不同时间药物累积释放量,并对时间作图;将药物释放速度对时间作图,得药物释放速度曲线。

3 结果和讨论

3.1 盐酸丁卡因的测定

盐酸丁卡因在波长310 nm处有最大吸收,而且制剂中其它成分对盐酸丁卡因的测定没有影响。异丙醇为溶媒,可以很好地溶解主药与辅料。吸光度与药物浓度线性范围为 $1.0\sim9.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,标准曲线方程为 $A = 0.0986C - 0.0073$ ($r = 0.9999$)。对于脂质体与脂质体凝胶中药物的释放,可采用水为释放介质,盐酸丁卡因在水中有一定的溶解度,能够满足测定所需的漏槽条件。吸光度与药物浓度线性范围为 $1.0\sim9.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,标准曲线方程为 $A = 0.0798C - 0.0022$ ($r = 0.9999$)。

3.2 脂质体处方优化

以超速离心后脂质体的稳定性和包封率为指标,进行脂质体的处方筛选和优化。见表1。若离心后上清液与脂质体沉淀的分离界面清晰,说明脂质体完整性好,较稳定;若发生上清液与脂质体沉淀的分离界面不清晰,说明亲脂相(指卵磷脂、胆固醇等成分)和水相发生分离,脂质体有破裂发生,脂质体稳定性较差。结果表明处方I、V、IX的上清液与沉淀界面清晰;处方II、VI、VII上清液与沉淀界面不清,脂质体有部分破坏,但亲脂相仍在下层;处方III、IV、VIII上清液与沉淀界面不清,亲脂相浮在上层中,脂质体破坏严重,这一现象表明脂质体的稳定性与丙二醇的用量关系密切,在起到保湿作用的前提下应尽量减少丙二醇的用量。在稳定剂与保湿剂的量相同条件下,脂质体的包封率与磷脂的用量有关,磷脂用量增加,包封率增加。

表1 脂质体处方优化设计与结果

Tab 1 The optimized design and result of liposome formulations

因素	处方								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
磷脂(%)	4	4	4	6	6	6	8	8	8
稳定剂(%)	0.4	0.55	0.7	0.4	0.55	0.7	0.4	0.55	0.7
保湿剂(%)	6	9	12	12	6	9	9	12	6
包封率(%)	62.8	46.1	52.1	62.8	74.5	54.8	67.8	66.2	276.2
离心后外观	++	-↓	-↑	-↑	++	-↓	-↓	-↑	++

注: + : 界面清晰; - : 界面不清; ↑ : 亲脂相浮于上层; ↓ : 亲脂相在下层

Notices: + : with clear interface; - : with blurry interface; ↑ : phosphatide in the upper layer; ↓ : phosphatide in the lower layer

3.3 体系 pH 对包封率的影响

用上述方法制备脂质体后,体系的 pH 在 4.23 ~ 4.85 之间。盐酸丁卡因为弱碱($pK_a = 8.45$)。对于脂质体来说,pH 升高,包封率增加,同时皮肤表面的 pH 为 5.5,故以 Na_2CO_3 - $NaHCO_3$ 缓冲液为外水相,用处方 IX 各成分的比例制备体系 pH 在 6 ~ 7 之间的脂质体 3 批(处方 X),并测定其包封率,结果分别为 84.4%,85.5%,84.8%。脂质体的包封率均在 80% 以上,且重现性良好。与表 1 处方 IX 比较,说明脂质体的包封率与体系的 pH 值关系较大。选择改进后的处方 X 作为脂质体处方,制备脂质体凝胶,盐酸丁卡因的含量为 1%;同样制备游离药物的凝胶,盐酸丁卡因的含量也为 1%。

3.4 形态学观察

从透射电镜照片中可见,脂质体混悬液中有粒径分布较均匀的椭圆型的脂质体,扫描电镜观察凝胶内有椭圆型的脂质体存在,表面覆盖着基质,经激光散射测定体积平均粒径为 433nm,跨距 $[(D_{90} - D_{10}) / D_{50}]^{61}$ 为 1.50。见图 1。

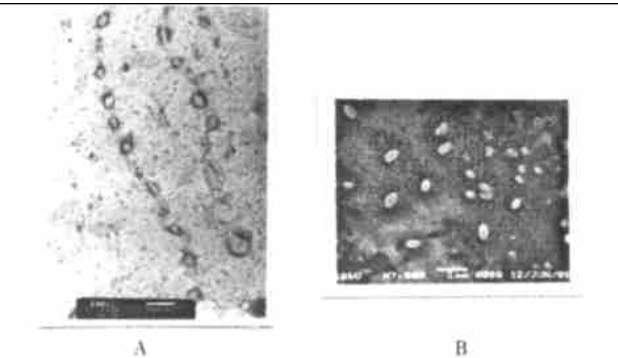


图 1 盐酸丁卡因脂质体的电镜照片

Fig 1 Electron micrographs of liposome and liposome gel
A. 脂质体中透射电镜照片; B. 脂质体凝胶中扫描电镜照片
A. Transmission electron micrograph of liposome; B. Scanning electron micrograph of liposome gel

3.5 体外累计释药曲线

游离药物凝胶、脂质体、脂质体凝胶在透析袋中,以水为释放介质的体外累计释药曲线见图 2A,游离药物凝胶中的药物释放非常快,5h 后释放基本达到 100%,而脂质体和脂质体凝胶中的药物释放缓慢,50h 释放量分别达到 50% 和 30%,说明脂质体对药物的释放有缓释作用。将游离药物凝胶、脂质体、脂质体凝胶的体外累计释药曲线分别按零级、一级和 Higuchi 方程拟和,结果见表 2。游离药物凝胶的释放符合单指数方程,脂质体和脂质体凝胶的释放符合 Higuchi 方程。

表 2 药物释放拟和曲线方程

Tab 2 The fitted equations of drug releasing from free drug gel, liposome and liposome gel

分 类	释放曲线方程	相关系数
游离药物凝胶	$\ln(Q_{\infty} - Q_t) = 18.53 - 4.899t$	0.941
脂质体	$Q_t = -0.7662 + 7.588t^{1/2}$	0.998
脂质体凝胶	$Q_t = -4.4081 + 5.059t^{1/2}$	0.997

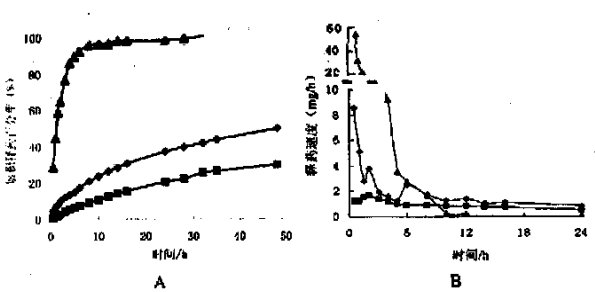


图 2 药物的释放

Fig 2 The drug release profile of free drug gel, liposome and liposome gel

A: 药物累积释放曲线; B: 药物释放速度曲线。

A: The cumulative amount released curve; B: The rate of drug releasing

- ■ - 脂质体凝胶, - ◆ - 脂质体, - ▲ - 游离药物凝胶
- ■ - liposome gel, - ◆ - liposome, - ▲ - free drug gel

3.6 药物的体外释放速度

图 2-B 为药物分别从游离药物凝胶、脂质体、脂质体凝胶中的释放速度-时间图,游离药物的初始释放速度为 $57 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$,说明卡波普对药物释放的阻滞能力很弱,脂质体中药物释放的初始速度为 $8.5 \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1}$,说明脂质体膜对药物的释放有缓释作用。对释药曲线的分析表明药物在脂质体内存在的状态由三部分组成,第一部分为游离药物,它是造成药物突释部分;第二部分为吸附状态,主要造成释药曲线拐点前部分;第三部分为绝大部分,包封于脂质体内部,即释药平缓的后半区。

4 结论

以上结果说明采用乙醇注入法,通过调节外水相的 pH 值,可以制备包封率在 80% 以上的盐酸丁卡因脂质体,进一步制备成适合临床需要的凝胶剂。脂质体对药物的释放有缓释作用,这是由于大部分药物在脂质体内以吸附和包埋的形式存在。我们可以根据临床需要制备含一定游离药物的脂质体凝胶,达到既可以迅速达到治疗浓度,又可以持续发挥药效的目的。

参考文献

[1] Sch ~ fer Korting M., Korting H. C., Braur Falco O.. Liposome preparations: A step forward in topical drug therapy for skin disease? [J]. American Academy of Dermatology, 1989, 21:1271.
[2] Korting H. C., Blecher P., Sch ~ fer Korting M.. Topical liposome drugs to come: what the patent literature tells us [J]. American Academy of Dermatology, 1991, 25:1068.
[3] 黄道秋. 紫外分光光度法测定 1% 盐酸丁卡因注射液含量 [J]. 华西药理学杂志, 1995, 10(2):114.
[4] Peters H., Moll F. Pharmacodynamics of a liposomal Preparation for local anaesthesia [J]. Arzneimittel - Forsch. / Drug Res. 1995, 45 (II), Nr 12:1253.
[5] Foldvari M., Gesztes A., Mezei M., et al. Topical Liposomal local anesthetics: Design, optimization and evaluation of Formulations [J]. Drug Dev Ind Pharm, 1993, 19(19): 2499.