

阿西美辛脂质体凝胶剂的研制

李冬梅¹, 路绪文¹, 苏芳² (1. 解放军第 251 医院药材科, 河北 张家口 075000; 2. 解放军白求恩医学院 99 级药剂专业实习生, 河北 石家庄 050081)

摘要:目的 研制阿西美辛脂质体凝胶剂, 并进行评价。方法 采用不同方法、不同药-脂比处方制备脂质体, 然后对其包封率进行比较, 从而优选出最佳制备方法与最佳处方, 并进一步制备成脂质体凝胶剂; 采用 HPLC 测定制剂中阿西美辛的含量, 葡聚糖凝胶柱结合 HPLC 测定制剂中阿西美辛的包封率, 考察了制剂的皮肤刺激性与初步稳定性。结果 制剂的含量控制在 0.09% ~ 0.110% 范围之内; 平均包封率为 (58.76 ± 12.47)%; 无皮肤刺激性; 不易高温贮存, 对光不稳定。结论 经初步评价, 所制备的阿西美辛脂质体制备方法可行、简便、质量稳定。

关键词:阿西美辛; 脂质体; 凝胶剂; 质量控制

中图分类号: R976; R944.15 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2004)04-0290-03

Study on a kind of acemetacin liposome hydrogel

LI Dong mei¹, LU Xu wen¹, SU Fang² (The 251 st Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, China; 2. PLA Norman Bethune College of Medical Sciences)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare and evaluate a liposome hydrogel ace metacin(ACM) . **METHOD** Ace metacin liposome hydrogel was prepared by different method and different prescriptions , the best method and prescription was screened out by comparison the entrapment efficiency . The content and entrapment efficiency of ACM were determined by HPLC and sepharose X-100 combining HPLC, respectively . The stability and dermal irritation were also studied . **RESULTS** The content of ACM in its preparation was in the range of 0.09% ~ 0.110% (w/w) ; the average encapsulated efficiency of ACM was 58.76 ± 12.47% ; the preparation has no effect of skin irritation and unstable in the light and high temperature . **CONCLUSION** By primary study the ace metacin liposome hydrogel is feasible .

KEY WORDS: ace metacin ; liposome ; hydrogel ; quality control

阿西美辛(ace metacin, ACM)是一种新型非甾体抗炎药,它是吡咯美辛酯类在提高抗炎效果和降低治疗药物诱发率最理想的药物,对其透皮给药系统的研究,国外已有研究报道^[1],而国内尚未见研究报道。近几年来,非甾体抗炎药的皮肤应用使其在克服胃肠道刺激性减少全身给药的不良反应,增加药物疗效方面发挥了很好的作用。而将脂质体作为药物载体,在皮肤内形成药物储库而维持较恒定的有效血药浓度,从而降低全身性不良反应^[2-4]。为此,本实验进行了 ACM 脂质体凝胶剂的研制,即将 ACM 包封于脂质体中,并进一步制备成卡泊姆的凝胶剂,现将结果报道如下。

1 材料与仪器

1.1 材料

ACM(石家庄制药一厂,批号 970523,含量 99.83%);胆固醇(Sigma 公司);卵磷脂(日本油脂株式会社);卡泊姆(上海化学试剂采购供应站试剂厂);所用其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

高效液相色谱仪-紫外检测器, HEWLETT1100(USA); ZFQ85A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); JC3 探针式超声处理机(通化市超声设备厂)。

2 实验方法及结果

2.1 ACM 脂质体的制备^[5]

2.1.1 制备方法的筛选

2.1.1.1 薄膜分散法 精密称取卵磷脂、胆固醇及药物适量,置梨形瓶中,加适量氯仿溶解,于 40℃ 水浴旋转真空蒸发使成透明脂质膜。精密吸取磷酸盐缓冲液(pH7.4)适量,置上述形成脂膜的梨形瓶中,于 50℃ 水浴探针超声 10 min,即得。

2.1.1.2 反相蒸发法 精密称取卵磷脂、胆固醇及药物适量,置梨形瓶中,加有机相(氯仿:异丙醚=1:1),40℃ 水浴旋转蒸发,蒸去有机溶剂,形成凝胶。精密加入适量磷酸盐缓冲液,旋涡 1 min,50℃ 水浴超声 5 min。

2.1.2 ACM 脂质体处方的筛选

2.1.2.1 脂质体包封率的测定方法 精密量取脂质体约 1.0 mL,上 Sephadex-75 葡聚糖凝胶柱(15 mm × 150 mm),用 pH7.4 的 PBS 溶液洗脱,流速控制在 1.0 mL/min。观察收集各部分洗脱液 2 mL/份,分别依次收集空白洗脱液,ACM 脂质体,空白洗脱液,游离 ACM。合并脂质体部分,加入定量 10% TritonX-100 溶液,将脂质体溶解,照含量测定方法采用 HPLC 法测定脂质体中 ACM 的含量,以及游离 ACM 的含量,计算包封率。

2.1.2.2 药物-脂成分重量比以及制备方法对药物包封率的

影响 药物与卵磷脂按表 1 投料比实验,用薄膜分散法与反相分散法制备脂质体,同时测定每个处方的包封率,实验结果见表 1。从实验结果可以看出薄膜分散法与反相蒸发法在不同药-脂比的情况下显示较大的不同,其中薄膜分散法显著优于反相蒸发法。对于薄膜分散法,药-脂比为 1:8 时包封率最大。即薄膜分散法的处方 2 为较优处方。

表 1 药-脂成分重量比对 ACM 脂质体凝胶剂药物包封率的影响($n=5$)

Tab 1 Effects of the weight ratio of ACM to lipids on the entrapment efficiency of the ACM liposome gel($n=5$)

方法	处方号	药脂重量比 (W/W)	药物包封率 (%)
薄膜分散法	1	1:4	37.83
	2	1:8	64.71
	3	1:12	57.83
	4	1:16	48.96
	5	1:20	50.21
反相蒸发法	1	1:4	5.63
	2	1:8	8.53
	3	1:12	2.43
	4	1:16	6.53
	5	1:20	5.68

2.1.2.3 对最优处方进一步进行验证实验

按处方 2 药脂比,用薄膜分散法制备脂质体,重复 5 次,测定 5 次实验的药物包封率,实验结果见表 2。从表中结果可以看出,前面实验所得出的结果较客观,且该工艺,该处方比制备的脂质体比较稳定。制备方法较可靠。

表 2 处方 2 实验结果

Tab 2 Test results of prescription 2

实验号	药物包封率 (%)	平均包封率 ($\bar{x} \pm s, \%$)
1	59.63	58.76 \pm 12.47
2	64.71	
3	66.59	
4	53.62	
5	49.23	

2.1.2.4 脂质体的大小和形态 用光学显微镜和透射电镜观察,ACM 脂质体的形状呈圆球形或类圆形,结构完整。ACM 脂质体的粒径大小 $4\mu\text{m}$,脂质体的粒径分布较宽。

2.2 ACM 脂质体凝胶剂的制备

精密称取 ACM 0.2g,卵磷脂 1.6g,胆固醇 0.16g,维生素 E 30mg 置于 500 mL 烧瓶中,加入氯仿 100 mL 使之溶解,在 50 °C 水浴,以旋转蒸发仪减压制得薄膜,加入 pH7.4 磷酸盐缓冲液 200 mL,超声至乳化完全,制备成脂质体,再在上述制备的脂质体中加入 0.4g 的山梨酸钾及 3g 的卡泊姆,搅匀,即得 ACM 脂质体凝胶。该制剂中 ACM 的含量应为 0.1% (g/g),合格范围应在标示量(90%~110%)。

2.3 ACM 脂质体凝胶剂的质量控制

2.3.1 性状 本品为淡黄色透明状凝胶剂

2.3.2 含量测定方法的建立

2.3.2.1 色谱条件:色谱柱:色谱柱为 Hypersil C₁₈(5 μm ,4.6 mm \times 250 mm);流动相:甲醇:0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(63:37:1);检测波长:250nm;流速:1.0 mL/min。

2.3.2.2 样品测定分离图,见图 1。

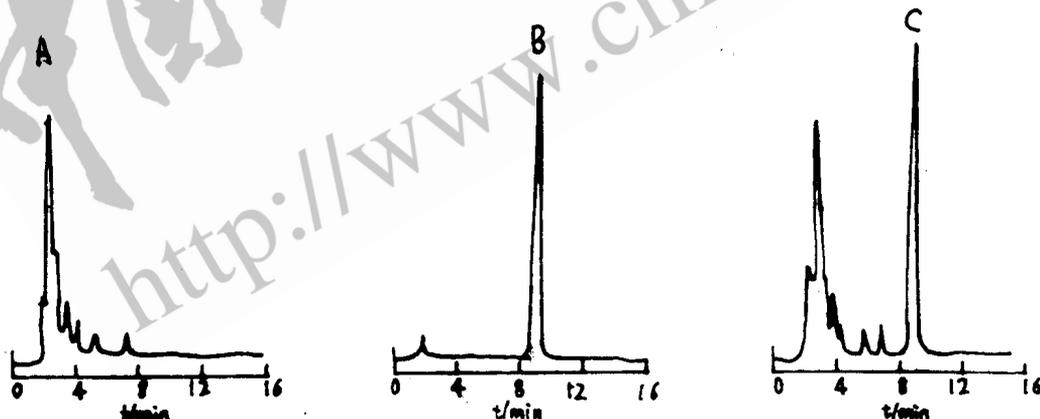


图 1 ACM 脂质体凝胶剂样品含量测定色谱图

Fig 1 Chromatograms of content determination of ACM liposome gel

A.空白样品分离图;B.对照原料色谱图;C.样品分离图

A. blank sample, B. material for preparation of ACM, C. sample

2.3.2.3 线性实验 精密吸取 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的 ACM 标准贮备液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 分别置 100 mL 量瓶中,加 10% Triton X-100 5.0 mL,加 pH7.4 PBS 溶液至刻度,摇匀,配成相当于 ACM 10~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的溶液,用 HPLC 法测定标准曲线,得回归方程 $A=0.01324+0.71136C$, $r=0.9997$ 。从实验结果可见,ACM 浓度与测得的 A 值之间有良好的线性关系。以下

具体测定以一点对照法进行。

2.3.2.4 回收率实验

分别精密称取 ACM 原料约 3mg 5 份,置于 100 mL 量瓶中,按处方比例加入基质,加 10% Triton X-100 5.0 mL,用 pH7.4 的磷酸盐缓冲液稀释至刻度,用 0.25 μm 微孔滤膜过滤少许样品,依法分析测定 ACM 的峰面积 A,并代入标准曲线计算浓

度求得回收率,考察 ACM 脂质体凝胶剂中 ACM 对照原料的测定回收率。试验结果见表 3。从实验结果可以看出,该含量测定方法,回收率高,方法重现性好。

表 3 回收率测定结果($n = 5$)

Tab 3 Results of recovery test

样品量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
30.41	30.34	100.23		
31.06	30.62	101.44		
31.23	30.75	101.56	100.44	1.02
30.56	30.71	99.52		
32.45	32.63	99.45		

2.3.2.5 样品测定

精密称取样品 5 份,依法测定含量,计算相当于标示量的百分数,5 批制剂含量均在合格范围之内。结果见表 4。

表 4 样品测定结果($n = 5$)

Tab 4 Content of ACM in preparation measured by HPLC($n = 5$)

批号	含量($\text{g}/100\text{g}$)	标示量(%)
000305	0.0985	98.50
000311	0.1085	108.5
000315	0.1025	102.5
000415	0.0961	95.10
000416	0.9216	92.16

2.4 皮肤刺激性实验

选用家兔 4 只,体重(3.0 ± 0.6) kg,于给药前 24hr 将兔背部脊柱两侧对称脱毛,每侧约 $6\text{cm} \times 6\text{cm}$,正常饲养,一侧涂不含药脂质体凝胶剂,另一侧涂 ACM 脂质体凝胶剂 0.3g,每日依次连续给药一周,观察皮肤变化,未出现红斑和水肿等情况。

2.5 ACM 脂质体凝胶剂的稳定性影响因素试验

2.5.1 温度实验

精密称取一定量样品,密封于棕色玻璃瓶中,置 20,40,60℃ 恒温干燥器中放置 10d,分别于第 0,5,10 天取出,观察外观,并依前述含量测定方法及包封率测定方法测定制剂的含量及包封率,结果见表 5。

2.5.2 光照实验

精密称取一定量样品,密封于无色玻璃瓶中,于照度为 4500Lx 的条件下光照 10d,第 0,5,10 天取出测定各项指标,结果见表 5。

2.5.3 稳定性影响因素试验结果

温度试验结果表明:20,40℃ 时,ACM 脂质体凝胶剂的性状无明显变化,为淡黄色透明凝胶剂,包封率和药物含量变化较小。60℃ 时,ACM 脂质体凝胶剂在 5d 时开始变黄,并随着

时间逐渐加深,制剂变得浑浊,10d 时测定药物包封率下降达 16.7%,说明温度升高能引起脂质体的变化;光照试验结果表明:制剂在光照 5d 时,颜色变深,并随着时间逐渐加深,10d 时测定药物含量已近下限,药物包封率下降达 26.49%,说明该制剂贮存时应避光。

表 5 ACM 脂质体凝胶剂稳定性影响因素实验结果($n = 3$)

Tab 5 Factors influenced on stability of ACM($n = 3$)

条件	时间	外观	包封率(%)	含量($\text{g}/100\text{g}$)
20℃	0d	淡黄色	59.63	0.1045
	5d	无变化	60.23	0.1013
	10d	无变化	60.98	0.1087
40℃	0d	淡黄色	59.63	0.1045
	5d	无变化	59.66	0.1056
	10d	无变化	60.25	0.1045
60℃	0d	淡黄色	59.63	0.1059
	5d	颜色变深	52.13	0.09876
	10d	颜色更深	49.68	0.09569
4500lx	0d	淡黄色	59.63	0.1045
	5d	颜色变深	48.69	0.09643
	10d	颜色更深	42.36	0.09123

3 讨论

3.1 本制剂在 ACM 脂质体的基础上结合了凝胶的特点,既使活性物质容易透过皮肤,提高局部组织药物浓度,又清凉,无污染,易于使用,且在脂质体中加入卡泊姆形成凝胶后,对脂质体起到立体稳定作用,减少脂质体的凝聚而增加了稳定性。

3.2 制剂中维生素 E 可增加脂膜的稳定性和抗氧化性,减少被包裹药物的渗漏。山梨酸钾是防腐剂。

3.3 ACM 脂质体凝胶剂的动物药效学实验已经实验完毕,效果理想。将另文发表。

参考文献

- [1] Ito Y, Ogiso T, Iwaki M, et al. Percutaneous absorption of ace metacin from a membrane controlled transdermal system and prediction of the disposition of the drug in rats[J]. 1993,16(6):583.
- [2] 马守栋,李国锋,任重远,等.脂质体靶向脂质体研究综述[J]. 中国药业,1997,(4):14.
- [3] 刘辉,吴菡子,盛利.皮肤用脂质体的研究[J]. 药学进展,2000,24(3):141.
- [4] Schhreiber H, Bouwstra J. Liposome and noisomes as topical drug carriers: dermal and transdermal drug delivery[J]. J Controlled Release, 1994,30(1):1.
- [5] 陆彬. 药物新技术与新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社:115.

收稿日期:2003-09-30