

美洛昔康脂质体凝胶剂的研制与质量评价

冯淑华¹, 李可意¹, 张彦文², 李娟¹ (1. 北京联合大学生物化工学院, 北京 100023; 2. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

摘要:目的 制备含有美洛昔康的脂质体凝胶, 并进行质量初步评价。方法 用正交设计优选该脂质体的处方及制备工艺, 并用扫描电镜观测其外观、大小及分布, 用微型凝胶柱测定其包封率, 并进一步制备成凝胶, 初步考察该制剂的稳定性。结果 所得脂质体外观圆整, 分布较均匀, 平均包封率 $(67.8 \pm 1.2) \% (n=3)$, 所得凝胶剂为半透明黏稠状胶体, 稳定性良好。结论 该脂质

作者简介: 冯淑华, 女, 硕士, 教授

Tel: (010) 52072019

E-mail: fsh58@163.com

体凝胶制备工艺可行,具有开发价值。

关键词:美洛昔康;脂质体凝胶;质量评价

中图分类号:R916.63;R944.15 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2008)02-0122-04

Preparation and Quality Evaluation of Liposomal Gel of Meloxicam

FENG Shu-hua¹, LI Ke-yi¹, ZHANG Yan-wen², LI Juan¹ (1. College of Biochemical Engineering, Beijing Union University, Beijing 100023, China; 2 School of pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare liposomal gel of meloxicam, and evaluate its physico-chemical properties. **METHODS** The optimum composition and preparation process of the liposome was selected with orthogonal design. The shape, size and size distribution were observed by scanning electron microscopy. The drug encapsulation efficiency was determined by GC. The gel was then prepared based on the liposome, and the stability of the formulation was also observed preliminarily. **RESULTS** The obtained liposome had a sphere shape with narrow size distribution, and higher encapsulation efficiency (67.8 ± 1.2%). The prepared gel is semitransparent and melicera with good stability. **CONCLUSION** The preparation method of meloxicam liposomal gel is valuable to be further investigated.

KEY WORDS: meloxicam; liposomal gel; preparation; characterization

美洛昔康 (meloxicam, ML)是非甾体抗炎药 (NSAIDs),选择性抑制环氧酶-2(COX-2)。口服吸收缓慢,半衰期为20h,适用于短期治疗急性骨关节炎,长期治疗类风湿性关节炎^[1],主要剂型为片剂、胶囊剂。虽然 ML的安全性优于常规的 NSAIDs,但具有腹痛和消化不良等不良反应,不适用消化性溃疡患者的关节炎治疗。外用制剂可减少上述缺点,该剂型可在作用部位直接发挥药效,避免胃肠道刺激。近年,脂质体 (liposomes, LP)以其良好的生物相容性、生物膜相似性、无毒和促进药物透皮吸收、在皮肤内形成药物储库而维持较恒定的有效浓度等特性引起人们的高度重视。本实验以薄膜超声法制备美洛昔康脂质体 (MLLP),并将其制备成凝胶剂,对脂质体处方、制备工艺、凝胶剂稳定性等进行了研究。

1 仪器与药品

TU-1810PC紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司);高压均质机 (意大利 NIRO-SOAVI公司); Mastersize 2000激光粒度测定仪 (英国 Malvern公司); RE-52C 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); 80-2型离心机 (上海浦东物理光华仪器厂); KQ-250B型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司);电子天平 (METTLER 公司); FEIXL-30场发射环境扫描电子显微镜 (美国);智能透皮实验仪 TP-2A(南京红蓝电子科技中心);美洛昔康原药 (江苏双鹤药业);美洛昔康对照品 (中国药品生物制品检定所);胆固醇 (北京市海淀区微生物培养基制品厂);葡聚糖凝胶 G-50(北京拜尔迪生物公司);大豆卵磷脂 (北京华清美恒天然产物技术开发有限公司);卡波姆 940(上海人民制药厂)。

2 方法与结果

2.1 脂质体的制备

2.1.1 正交试验及结果 依据预试验及参考有关文献,美洛昔康脂质体 (MLLP)拟采用薄膜超声法制备,选择对封装

率 (Y)影响较大的以下 4个因素:大豆卵磷脂与胆固醇的质量比 A(PC/CH, mg·mg⁻¹),水化温度 B(℃),水化溶液 PBS用量 C(mL),有机溶剂氯仿用量 D(mL),每个因素取 3个水平,见表 1,按 L9(3⁴)使用表安排实验,见表 2。

表 1 因素水平表

Tab 1 Factor-level of test				
水平	A (mg/mg) (×200 mg)	B/℃	C/mL	D/mL
1	1.5:1	40	8	30
2	2.0:1	45	10	40
3	2.5:1	50	12	50

表 2 L9(3⁴)实验设计表

Tab 2 Design of orthogonal test					
实验号	因素				Y/%
	A/(mg/mg)	B/℃	C/mL	D/mL	
1	1(300:200)	1(40)	1(8)	1(30)	51.85
2	1(300:200)	2(45)	2(10)	2(40)	50.88
3	1(300:200)	3(50)	3(12)	3(50)	63.75
4	2(400:200)	1(40)	2(10)	3(50)	75.32
5	2(400:200)	2(45)	3(12)	1(30)	68.78
6	2(400:200)	3(50)	1(8)	2(40)	75.16
7	3(500:200)	1(40)	3(12)	2(40)	60.83
8	3(500:200)	2(45)	1(8)	3(50)	53.49
9	3(500:200)	3(50)	2(10)	1(30)	62.59
K1	55.49	62.67	60.17	61.07	
K2	73.09	57.72	62.93	62.29	
K3	58.97	67.17	64.45	64.19	
R	17.60	9.45	4.28	3.12	

实验结果显示以封装率为指标的最佳工艺条件为:A2, B3, C3, D3,即卵磷脂 400 mg;胆固醇 200 mg,水化温度 50℃,水化溶液 PBS用量 12 mL,氯仿用量 50 mL。其中卵磷脂与胆固醇的比例影响最为显著。

2.1.2 MLLP的制备工艺 精密称取卵磷脂 400 mg,胆固醇 200 mg,美洛昔康 150 mg,维生素 E 10 mg,置于 500 mL茄形瓶中,加入 50 mL氯仿使溶,将茄形瓶置于 50℃ 恒温水浴中用旋转蒸发仪在转速 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 及减压条件下蒸除氯仿,使膜材在瓶壁上形成均匀的一类脂薄膜,向瓶中加入 50℃ 的 PBS(pH 7.3) 12 mL,以浴式超声波仪,50℃ 间断水合 5 min,使溶液转变为半透明状,即得 MLLP 悬液,将其在高压均质机上,在 90.3 kPa 压力下循环 12 次,置棕色瓶中密闭保存。

2.2 MLLP的质量评价

2.2.1 显微观察 MLLP 混悬液在 FEIXL-30 场发射环境扫描电子显微镜 40 000 倍下观察并拍照,可见粒子呈球形或类圆形,表面圆滑、规整、连续,分散性良好。结果见图 1。

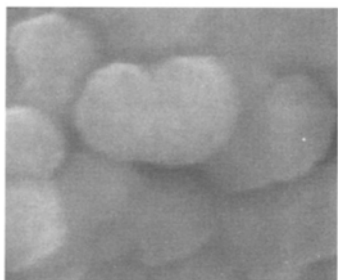


图 1 MLLP 电子显微镜照片

Fig 1 Picture of MLLP by electron microscope

2.2.2 粒径与粒度分布 MLLP 混悬液用 Mastersizer 2000 激光粒度测定仪进行粒度分布测定,粒径集中分布在 40~110 nm 内。

2.2.3 包封率的测定^[2] 采用微型柱离心法测定包封率。取 5 mL 塑料注射针筒,填上滤纸作衬片,加入用 PBS 溶液溶胀的 0.5 g 葡聚糖 G-50 凝胶,将针筒置离心机以 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速离心 3 min,定量加入 MLLP 悬液 1 mL,离心 3 min,收集离心液,再加 PBS 溶液 1~2 mL 依上法离心,与前 1 次离心液合并。进一步用 PBS 溶液反复洗脱 2~3 次,另外收集离心液,此时药物被洗脱进入离心液中。分别精密量取经无水乙醇破膜的含有脂质体的溶液和含有游离药物的溶液,按“2.4.3”项下方法测得 W_1 和 W_2 ,包封率 $Y = W_1 / (W_1 + W_2) \times 100\%$, (W_1 :包封在脂质体内的药物的量; W_2 :未被包封的游离药物的量) 结果包封率为 $(67.8 \pm 1.2)\%$ ($n=3$)。

2.3 MLLP凝胶剂 (MLLPG)的制备

称取 0.3 g 卡波姆 940,甘油 10 mL,加入 PBS 溶液 5 mL 充分搅拌,溶胀过夜,滴加三乙醇胺调整 pH 为 6.0~6.5。取 MLLP 混悬液 8 mL,加入适量 PBS 稀释后,滴加到溶胀好的凝胶基质,加山梨酸 0.1 g,最后加 PBS 至 100 g,搅匀,置于棕色瓶密闭贮存。本品为均匀、细腻、黏稠的半透明胶体。pH 为 6.0~6.5。

2.4 MLLPG含量测定

2.4.1 标准曲线的绘制^[3] 测定波长的确定 取 ML 对照品适量,加 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠配制成浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液,取适量用 95% 乙醇稀释至 $30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,在 200~400

nm 波长范围扫描,在 362 nm 处有吸收峰。同法测定 ML 原药,与对照品相同的波长有吸收,故选定此波长为含量测定波长。

精密称取干燥至恒重的 ML 对照品,加 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠制成 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 样品储备溶液。精密吸取 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中,用 95% 乙醇稀释至刻度,分别从中吸取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加 95% 乙醇定容,在 262 nm 波长处测定吸光度,以吸光度与浓度为坐标,绘制标准曲线,求得回归方程: $A = 4.507 \times 10^{-2} C + 0.647 \times 10^{-2}$, $r = 0.9999$,结果表明 ML 在 $10 \sim 60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.4.2 回收率与精密度试验 分别定量称取 10 g 脂质体凝胶所含 ML 的 80%、100%、120% 的原药,加入相应的空白脂质体凝胶,按“2.4.3”项下测定,每个浓度各做 3 份,结果 3 种浓度的平均回收率为 101.96%, $\text{RSD} = 2.73\%$ ($n=9$)。

2.4.3 样品含量测定 将大豆卵磷脂、胆固醇、卡波姆 940 分别按制备脂质体的优化处方和凝胶处方配比制备成阴性溶液,按标准曲线项下操作,在 200~400 nm 波长范围扫描,在 362 nm 无吸收峰,说明所用辅料对主药的吸收无干扰作用。

按处方制备 3 批 MLLPG 样品 (批号: H060503, H060506, H060508),各取样品 5.0 g,精密称定,加无水乙醇适量,充分振摇 5 min,加适量 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠,振摇,加 95% 乙醇稀释至刻度,依法测定,计算其含量,结果 3 批样品中 ML 的含量分别为标示量的 100.54%, 100.44%, 99.20%; RSD 分别为 1.57%; 0.82%; 0.66% ($n=5$)。

2.5 局部透皮试验

以自制 ML 凝胶剂 (MLG) 为对照组,进行离体鼠皮局部透皮试验,ML 脂质体凝胶累积透皮率 14.82%,皮内滞留量 75.62%。ML 凝胶累积透皮率 33.76%,皮内滞留量 19.62%。实验证明,制成脂质体凝胶后,累积透皮率减小,皮内滞留量显著增加,提高了药物在皮肤局部的生物利用度。

2.6 皮肤刺激性实验

选用家兔 4 只,体重 $(2.0 \pm 0.6)\text{ kg}$,于给药前 24 h 将兔背部脊柱两侧对称脱毛,每侧约 $5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$,正常饲养,一侧涂不含药脂质体凝胶剂,另一侧涂 ML 脂质体凝胶剂 0.3 g,每日一次连续给药一周,观察皮肤变化,未出现红斑和水肿等情况。

2.7 MLLP凝胶剂初步稳定性试验

2.7.1 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 10 d,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 3。

2.7.2 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 4000 lx 的条件下光照 10 d,第 0、5、10 天取出测定各项指标,结果见表 3。

2.7.3 湿度影响试验 精密称取 3 批样品,于相对湿度

(RH)分别为 75%和 92.5%,恒温 25 ℃的密闭容器内放置 10 d,定时取样测定各项指标,结果见表 3。

表 3 MLLP凝胶稳定性试验结果 ($n=3$)

Tab 3 Results for the stability tests of MLLPG ($n=3$)

条件	时间 /d	外观	包封率 /%	含量 /(g/100g)
20℃	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	无变化	65.28	0.103 2
	10	无变化	64.92	0.105 7
40℃	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	无变化	66.48	0.105 4
	10	无变化	65.84	0.106 5
60℃	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	颜色变深	62.98	0.098 9
	10	颜色更深	56.06	0.095 7
4000 lx	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	颜色变深	62.52	0.096 6
	10	颜色更深	55.36	0.092 3
RH 75%	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	无变化	66.56	0.105 8
	10	无变化	65.90	0.104 6
RH 92.5%	0	乳白色	66.50	0.104 8
	5	无变化	66.26	0.106 5
	10	无变化	65.46	0.103 2

3 讨论

3.1 脂质体凝胶剂作为外用制剂可增加药物在皮肤内的滞留量,与普通凝胶比较,提高了局部组织药物浓度,生物利用度更高(另文发表)。

3.2 初步稳定性试验表明光和热对脂质体凝胶的稳定性影响较大,在高温(60 ℃)和光照条件下,5 d内包封率下降了约 4%,10 d下降了约 11%,因此应避光低温储存。

3.3 因为凝胶剂本身为含水制剂,所以湿度对稳定性影响不明显。

REFERENCES

- [1] CHEN X Q, JIN Y Y, TANG G. New Pharmaceutics(新编药理学)[M]. 15th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:195.
- [2] MEI J G. Pharmaceutics of Biotechnologic Drug(生物技术药物)[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 242.
- [3] GE S R, AN F R, CAO H M. Investigation on the dissolution of meloxicam tablets and evaluation to the *in vivo* and *in vitro* correlation[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2004, 24(11): 687-689.

收稿日期: 2006-08-26