

维生素E脂质体的制备

李国锋 周日红 曾 抗 侯连兵 (第一军医大学附属南方医院, 广州 510515)

摘要 用超声波法制备了维生素E脂质体; 测定了脂质体的包封率及放置后的稳定性; 观察了脂质体的形态, 粒度分布。0.2%维生素E脂质体用于治疗老年性角质斑, 试用20例总有效率达95%, 优于1%维生素E乳剂。

关键词 维生素E 脂质体 包封率 稳定性 老年性角质斑

维生素E外用时能促进表皮细胞新陈代谢, 并抑制黑色素的产生, 临床已用于某些衰老性皮肤病的治疗^[1,2]。为能充分发挥维生素E的局部疗效, 我们试制了维生素E脂质体, 并对其性能作了研究。

1 仪器和试剂

岛津 UV-265FW 紫外分光光度计; Sartorius R200D 型电子天平(德国); Multisizer I 全自动粒度分析仪(美国); JEM-1200EX 透射电子显微镜(日本); Olympus-CK₂ 生物显微镜(日本)。

维生素E对照品(中国药品生物制品检定所); 葡聚糖凝胶G-75(瑞士); 大豆磷脂(英国进口分装); 胆固醇(荷兰进口分装); 所用试剂均为AR; 所用辅料符合外用药剂的规定。

2 方法与结果

2.1 脂质体的制备 称取维生素E 0.4 g, 胆固醇 2 g, 大豆磷脂 8 g 于 500 ml 园底烧瓶中, 加二氯甲烷 200 ml 使溶解, 加入 40 ml pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 超声乳化, 至混合液为乳白色, 于旋转薄膜蒸发器中回收溶剂, 至形成凝胶状物, 再向瓶中加入

缓冲液 150 ml, 继续减压挥尽有机溶剂, 得到乳白色脂质体, 加入山梨酸 0.4 g 并用缓冲液调节使脂质体总量为 200 g, 超声数分钟, 待山梨酸完全溶解, 即得试验用脂质体。维生素E在脂质体中浓度为 0.2%(g/g)。

2.2 乳剂的制备 取维生素E 5 g, 吐温-80 50 g, 充分混合均匀, 加入蒸馏水使总量为 250 g 或 500 g, 得到供试验用乳剂, 维生素E在乳剂中浓度为 2% 或 1%(g/g)。

2.3 脂质体的含量测定 参考文献方法^[3], 在本文条件下, 以乙酸乙酯为溶剂, 其它组份在维生素E 287.4 nm 的波谷处的一阶导数光谱与基线基本重叠。测定方式: ABS 范围 -0.5~+0.5, $\Delta\lambda$ 为 2 nm, 狭缝宽度为 1 nm。线性范围 40 μg —120 μg /ml。样品测定方法: 取脂质体约 2 g, 精密称定, 水浴蒸干, 乙酸乙酯分次提取, 合并提取液于 50 ml 量瓶中, 定容至刻度。过滤, 续滤液供测定用, 按随行标准品对照法计算样品中 V_E 含量。

2.4 包封率测定

2.4.1 脂质体流出曲线考察 葡聚糖凝胶用 PBS 液充分膨胀后加到凝胶柱上。取脂质体 1 g 上柱, 用 PBS 液洗脱, 控制流速 1 ml/min, 每 5 ml 收集一份, 进行紫外检测。结果表明脂质体集中在第 16 ml—30 ml 之间, 游离药物于第 50 ml 起检测到, 表明脂质体与游离药物能完全分开。

2.4.2 包封率测定 取脂质体约 1 g, 精密称定, 按 2.4.1 的方法收集脂质体部分, 水浴蒸干, 乙酸乙酯分次提取, 合并提取液并定容至 25 ml, 按 2.3 方法测定, 计算 V_E 的包裹率。实验平行测定 4 份, 测得平均包裹率为 76%。

2.5 稳定性观察 制备的脂质体分别于冰箱(4°C)和室温(18~25°C)密封保存, 并按 2.4.2 测定放置不同时间后的包裹率, 结果见表 1。可见冰箱保存 6 mo 时包裹率下降仅 10%。室温放置的脂质体, 1 mo 时为浅黄色, 6 mo 时已见较深的黄色。而冰箱保存时未见明显色的变化。

表 1 放置时间对包裹率的影响(%)

时间(mo)	0	1	3	6
室 温	76	69	60	45
冰 箱	76	74	72	67

2.6 显微镜观察

2.6.1 生物显微镜观察 取脂质体置 Olympus-CK2 型生物显微镜下观察, 拍照, 可见脂质体形态, (图略)。冰箱保存 6 mo 时未见明显变化。

2.6.2 电子显微镜观察 取脂质体, 按文献法制样^[4], 以透射电镜观察, 拍照, 可见脂质膜较厚, 其水层与脂质双分子层相间排列, (图略)。冰箱保存 6 mo 时未见明显变化。

2.7 粒度测定 取脂质体适量以 2% 氯化钠溶液稀释, 用库尔特计数仪测定粒度及分布, 结果多数脂质体粒径在 0.58 μm —1.57 μm 之间, (图略)。

2.8 临床应用 确诊为老年性角化斑的患者随机分成 3 组, 分别给予 0.2% V_E 脂质体, 1% V_E 乳剂和 2% V_E 乳剂, 每日涂布 4 次, 使用时间为一个月, 治疗结果见表 2。卡方分析表明, 0.2% V_E 脂质体疗效同 2% V_E 乳剂, 但优于 1% V_E 乳剂, 相差显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 目前, 用于局部皮肤病治疗的药物制剂存在的

表 2 脂质体和乳剂对老年性角化斑的疗效比较

剂 型	例数	显效	有效	总有效率(%)
0.2% 脂质体	20	8	11	95
1% 乳剂	18	5	9	78
2% 乳剂	30	7	20	90

主要问题包括: (1) 药物不易透过角质层; (2) 加入氮酮等皮肤渗透剂, 使药物易透过角质层, 同时也增加了药物进入血循环的可能。由于皮肤真皮层中有效药物浓度低, 影响疗效的发挥。为解决上述问题, 国内外不少学者多方寻找突破口。令人鼓舞的是脂质体在治疗皮肤病的研究中显示了良好的苗头。例如维甲酸脂质体能明显提高局部效果并减少全身吸收^[5]; 脂质体包裹氢化考的松等药物可成功地增加皮肤靶细胞的药物浓度且全身吸收性毒副作用减少^[6]。

3.2 我们的实验结果提示, V_E 制成脂质体给药时, 疗效较好。但局部浓度的增加趋向需借助同位素标记法作进一步研究。

3.3 用超声波法制备脂质体, 先以开始形成的 W/O 乳剂中的小水滴为核心, 脂质膜材再将其逐渐包裹形成脂质体, 包裹率较高, 故本文采用此法。制备好的脂质体加入山梨酸超声数分钟, 可完全溶解, 避免先用乙醇溶解再加入时对脂质膜的影响。

3.4 V_E 脂质体放置 6 mo 时仍稳定(冰箱), 这同文献报道 V_E 能增加脂膜的稳定性, 减少包入脂质体中药物的渗漏具一致性^[7]。

参 考 文 献

- 1 张石革, 何木兰. 维生素 E 霜剂的制备及应用. 中国医院药学杂志, 1985; 5(2):28
- 2 王志朝, 夏众源, 张宜, 等. 超氧化歧化酶霜的研制及临床疗效观察. 中国医院药学杂志, 1993; 13(8):357
- 3 李国锋, 庄志铨, 周日红, 等. 一阶导数光谱法在测定维生素 E 霜中维生素 E 含量时的应用. 第一军医大学学报, 1995; 15(2):153
- 4 朱丽霞主编. 生物学中的电子显微镜技术. 第一版. 北京, 北京大学出版社, 1983:73
- 5 Masini V, Bonte F, Macco A, et al. Cutaneous bioavailability in hairless rats of tretinoin in liposomes or gel. J Pharm Sci 1993; 82(1), 17

6 Plessis J., The influence of in vivo treatment of skin with liposomes on the topical absorption of a hydrophilic and a hydrophobic drug in vitro. *Int J Pharm* 1994, 103, R₁—R₅

7 Hernandez CT, Villalain J, Gomez JC. Stability of liposomes on long term storage. *J Pharm Pharmacol* 1990, 6, 397

收稿日期: 1997—03—04

The Preparation of Vitamin E Liposome

Li Guo-feng, Zhou Ri-hong, et al

(The Pharmaceutical Department of Nan Fang Hospital, First Military
Medical University, Guangzhou, 510515)

Abstract Vitamin E liposome was prepared by two emulsification processes. The entrapment rate of Vitamin E liposome and the stability after storage at room and refrigerator temperature for 6 months were determined. The appearance of the liposome was observed and the particle size analysis was done. 0.2% of Vitamin E liposome on senile keratosis shows more effective than 1% Vitamin E emulsion ($p < 0.05$).

Key words Vitamin E, liposome, entrapment rate, stability, senile keratosis

(on page 18)