



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101780039 A

(43) 申请公布日 2010.07.21

(21) 申请号 201010118394.2

A61K 47/28(2006.01)

(22) 申请日 2010.03.05

A61K 47/14(2006.01)

(71) 申请人 南京海陵中药制药工艺技术研究有限公司

A61K 47/22(2006.01)

地址 210049 江苏省南京市栖霞区马群街道青马北街18号

A61K 47/24(2006.01)

申请人 扬子江药业集团南京海陵药业有限公司

A61K 47/18(2006.01)

扬子江药业集团有限公司

A61P 25/04(2006.01)

(72) 发明人 何盛江 刘实 张明明

(74) 专利代理机构 南京众联专利代理有限公司
32206

代理人 张立荣

(51) Int. Cl.

A61K 9/127(2006.01)

A61K 31/135(2006.01)

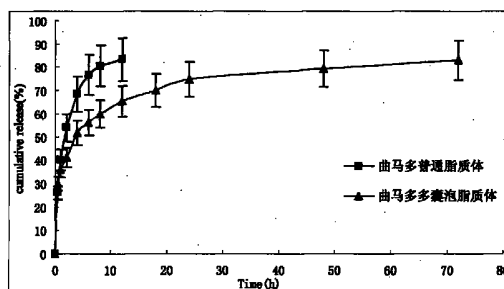
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

曲马多多囊泡脂质体及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种曲马多多囊泡脂质体多囊泡脂质体及其制备方法,该制备方法包括下列步骤:①将磷脂、胆固醇和中性脂质溶于有机溶剂中,作为有机相;②制备 10 ~ 500mmol/L 的曲马多溶液,作为内水相;③将等体积内水相加入有机相中,混合乳化得油包水型初乳;④制备含氨基酸以及渗透压调节物和 / 或表面活性剂的外水相,将 2 ~ 10 倍体积外水相加入所得油包水型初乳中,搅拌形成水包油包水型复乳;⑤将复乳加入氨基酸溶液中,通入氮气或二氧化碳除去复乳中的有机溶剂,制成悬浮液;⑥将悬浮液溶于氨基酸溶液中,离心,取下层脂质体悬浮液,制得曲马多多囊泡脂质体。制得的曲马多多囊泡脂质体具有较高的包封率,较佳的缓释作用,具有更长的镇痛效果。



1. 一种曲马多多囊泡脂质体的制备方法,其特征是,包括以下步骤:

①将天然或人工合成的磷脂、胆固醇、中性脂质溶于有机溶剂中,作为有机相,其中磷脂在有机相中的摩尔浓度为 $5 \sim 50\text{mmol/L}$,中性脂质在有机相中的摩尔浓度为 $1 \sim 10\text{mmol/L}$,磷脂与胆固醇的摩尔比为 $1 : 2 \sim 4 : 1$;

②将曲马多溶于水中使其浓度为 $10 \sim 500\text{mmol/L}$,作为内水相;

③将步骤②中所得内水相加入等体积的有机相中,剪切混合乳化制得油包水型初乳;

④配置 $1 \sim 100\text{mmol/L}$ 的氨基酸溶液,在配置好的氨基酸溶液中添加占其重量的 $0.1 \sim 9\%$ 的渗透压调节物质和 / 或 $0.01\% \sim 10\%$ 的表面活性剂作为外水相,将外水相加入步骤③中制备的油包水型初乳中,混合形成水包油包水型复乳,即 W/O/W 型复乳,其中所述的外水相和油包水型初乳的体积比为 $1 : 1 \sim 10 : 1$;

⑤将得到的水包油包水型复乳加入步骤④中配置的氨基酸溶液中,其中水包油包水型复乳与氨基酸溶液的体积比为 $3 : 1 \sim 1 : 3$,通入氮气或二氧化碳吹干除去复乳中的有机溶剂,得到脂质体的混悬液;

⑥将脂质体的混悬液溶于 $1 \sim 100$ 倍体积步骤④中配置的氨基酸溶液,然后离心处理,倾去上清液,收集下层脂质体混悬液,得曲马多多囊泡脂质体。

2. 如权利要求 1 所述的曲马多多囊泡脂质体的制备方法,其特征是:步骤①中所述磷脂选自卵磷脂、大豆磷脂、氢化卵磷脂、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、磷脂酰甘油中的一种或多种;中性脂质选自油酸甘油酯、三油酸甘油酯、月桂酸甘油酯、三癸酸甘油酯、三辛酸甘油酯、 $3-\alpha$ -氨基丁酸甘油酯、维生素 E 中的一种或多种;有机溶剂选自乙醚、氯仿、二氯甲烷、乙醇、丁醇、四氢呋喃、乙酸乙酯中的一种或多种;步骤④中所述的氨基酸为 L-精氨酸、L-赖氨酸、丝氨酸或门冬氨酸中的一种,渗透压调节物质为葡萄糖、甘露醇或氯化钠中的一种或多种,表面活性剂为吐温 80、司盘 20 或聚乙烯醇中的一种或多种。

3. 如权利要求 2 所述的曲马多多囊泡脂质体的制备方法,其特征是:磷脂为氢化卵磷脂、大豆磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油中的一种或几种;中性脂质为三油酸甘油酯;有机溶剂为氯仿或乙醚-二氯甲烷混合物,其中所述乙醚-二氯甲烷混合物中乙醚与二氯甲烷的体积比为 $1 : 3 \sim 3 : 1$ 。

4. 如权利要求 1、2 或 3 所述的曲马多多囊泡脂质体的制备方法,其特征是:步骤①中的有机相中还加入带电荷的类脂,该带电荷的类脂与所述磷脂的摩尔比为 $1 : 1 \sim 1 : 50$ 。

5. 如权利要求 4 所述的曲马多多囊泡脂质体的制备方法,其特征是:所述的带电荷类脂为磷脂酰丝氨酸、磷脂酸或十八胺中的一种或多种,该类脂与磷脂的摩尔比为 $1 : 3 \sim 1 : 20$ 。

6. 一种曲马多多囊泡脂质体,其特征是,由以下步骤制备:

①将天然或人工合成的磷脂、胆固醇、中性脂质溶于有机溶剂中,作为有机相,其中磷脂在有机相中的摩尔浓度为 $5 \sim 50\text{mmol/L}$,中性脂质在有机相中的摩尔浓度为 $1 \sim 10\text{mmol/L}$,磷脂与胆固醇摩尔比为 $1 : 2 \sim 4 : 1$;

②将曲马多溶于水中使其浓度为 $10 \sim 500\text{mmol/L}$,作为内水相;

③将步骤②中所得内水相加入等体积的有机相中,剪切混合乳化制得油包水型初乳;

④配置 $1 \sim 100\text{mmol/L}$ 的氨基酸溶液,在配置好的氨基酸溶液中添加占其重量的 $0.1 \sim 9\%$ 的渗透压调节物质和 / 或 $0.01\% \sim 10\%$ 的表面活性剂作为外水相,将外水相加入步骤③中制备的油包水型初乳中,混合形成水包油包水型复乳,即 W/O/W 型复乳,其中所述的外水相和油包水型初乳的体积比为 $1 : 1 \sim 10 : 1$;

⑤将得到的水包油包水型复乳加入步骤④中配置的氨基酸溶液中,其中水包油包水型复乳与氨基酸溶液的体积比为 $3 : 1 \sim 1 : 3$,通入氮气或二氧化碳吹干除去复乳中的有机溶剂,得到脂质体的混悬液;

⑥将脂质体的混悬液溶于 $1 \sim 100$ 倍体积步骤④中配置的氨基酸溶液,然后离心处理,倾去上清液,收集下层脂质体混悬液,得曲马多多囊泡脂质体。

7. 如权利要求 6 所述的曲马多多囊泡脂质体,其特征是:步骤①中所述磷脂选自卵磷脂、大豆磷脂、氢化卵磷脂、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、磷脂酰甘油中的一种或多种;中性脂质选自油酸甘油酯、三油酸甘油酯、月桂酸甘油酯、三癸酸甘油酯、三辛酸甘油酯、 $3-\alpha$ -氨基丁酸甘油酯、维生素 E 中的一种或多种;有机溶剂选自乙醚、氯仿、二氯甲烷、乙醇、丁醇、四氢呋喃、乙酸乙酯中的一种或多种;步骤④中所述的氨基酸为 L-精氨酸、L-赖氨酸、丝氨酸或门冬氨酸中的一种,渗透压调节物质为葡萄糖、甘露醇或氯化钠中的一种或多种,表面活性剂为吐温 80、司盘 20 或聚乙烯醇中的一种或多种。

8. 如权利要求 7 所述的曲马多多囊泡脂质体,其特征是:磷脂为氢化卵磷脂、大豆磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油中的一种或几种;中性脂质为三油酸甘油酯;有机溶剂为氯仿或乙醚-二氯甲烷混合物,其中所述乙醚-二氯甲烷混合物中乙醚与二氯甲烷的体积比为 $1 : 3 \sim 3 : 1$ 。

9. 如权利要求 6、7 或 8 所述的曲马多多囊泡脂质体,其特征是:步骤①中的有机相中还加入带电荷的类脂,该带电荷的类脂与所述磷脂的摩尔比比为 $1 : 1 \sim 1 : 50$ 。

10. 如权利要求 9 所述的曲马多多囊泡脂质体,其特征是:所述的带电荷类脂为磷脂酰丝氨酸、磷脂酸或十八胺中的一种或多种,该类脂与磷脂的摩尔比比为 $1 : 3 \sim 1 : 20$ 。

曲马多多囊泡脂质体及其制备方法

技术领域：

[0001] 本发明涉及一种曲马多的缓释脂质体注射制剂及其制备方法，特别涉及一种曲马多多囊泡脂质体及其制备方法。

背景技术：

[0002] 曲马多 (Tramadol) 为中枢性阿片镇痛剂，具有两个相互补充的不同作用机制：对 μ 受体有弱的亲和力，约为吗啡的 1/6000；同时在中枢神经系统 (CNS) 疼痛途径中抑制去甲肾上腺素和 5-羟色胺的再摄取。其 O-去甲基代谢物 (M1) 也有镇痛作用，对 μ 受体的亲和力为母体的 200 倍，曲马多的镇痛强度在同等剂量时，相当于吗啡的 1/5，单剂量口服曲马多 37.5mg，血药浓度于 1.8 小时后达到峰值，右旋和左旋盐酸曲马多血药浓度的峰值分别为 64.3ng/ml 和 55.5ng/ml。目前临床中重度疼痛病人，主要使用的镇痛药为阿片类药物。大多数病人希望尽可能减少给药次数，而在一些情况下，如手术后或年老病人，口服给药不能满足给药方案的要求，因此需要制成缓释注射液，曲马多剂量适中安全范围高，适合制成缓释制剂。

[0003] Kim(Biochim Biophys Acta,1983,728(3)) 最先采用复乳法制备得多囊泡脂质体 (Multivesicular Liposomes, MVLs)，研究表明，MVL 内部是由许多水性腔室以非同心圆的形式构成，各水性腔室之间以脂质双分子层相隔，中性脂质作为支持物分布在相邻水性腔室的交接点处，形成牢固的拓扑结构，其粒径一般为 5 ~ 50 μm 。传统脂质体以现有技术一般难以达到水溶性药物的高包封和低渗漏，多囊泡脂质体与之相比具有包封率高、包封体积大、药物渗漏少等众多优点，尤其适用于包封水溶性小分子和生物活性大分子药物。因其非同心圆的拓扑结构，使得多泡脂质体在注射部位形成药物“储库”，随着磷脂双分子层的不断代谢，包封在囊泡中的药物逐步释放至血液或病变部位，发挥很好的延迟释放作用。通过调节制备过程中的参数和处方比例，可以控制药物释放时间在几天之内。

[0004] 然而，目前存在的问题是：由于不同的药物活性成分有不同的理化性质和作用机理，其制备包封率和药物释放有较大差异，因此针对具体药物及其释放要求，需研究采用特定的处方和工艺。

发明内容：

[0005] 本发明要解决的技术问题即为上述课题，提供一种具有缓释作用的曲马多多囊泡脂质体的制备方法，该制备方法中的工艺参数和处方比例选择合理，制备的药物包封率和缓释效果好。该目的是通过以下步骤实现的：

[0006] ①将天然或人工合成的磷脂、胆固醇、中性脂质溶于有机溶剂中，作为有机相，其中磷脂在有机相中的摩尔浓度为 5 ~ 50mmol/L，中性脂质在有机相中的摩尔浓度为 1 ~ 10mmol/L，磷脂与胆固醇的摩尔比为 1 : 2 ~ 4 : 1；

[0007] ②将曲马多溶于水中使其浓度为 10 ~ 500mmol/L，作为内水相；

[0008] ③将步骤②中所得内水相加入等体积的有机相中，剪切混合乳化制得油包水型初

乳；

[0009] ④配置 1 ~ 100mmol/L 的氨基酸溶液,在配置好的氨基酸溶液中添加占其重量的 0.1 ~ 9% 的渗透压调节物质和 / 或 0.01% ~ 10% 的表面活性剂作为外水相,将外水相加入步骤③中制备的油包水型初乳中,混合形成水包油包水型复乳,即 W/O/W 型复乳,其中所述的外水相和油包水型初乳的体积比为 1 : 1 ~ 10 : 1 ;

[0010] ⑤将得到的水包油包水型复乳加入步骤④中配置的氨基酸溶液中,其中水包油包水型复乳与氨基酸溶液的体积比为 3 : 1 ~ 1 : 3,通入氮气或二氧化碳吹干除去复乳中的有机溶剂,得到脂质体的混悬液 ;

[0011] ⑥将脂质体的混悬液溶于 1 ~ 100 倍体积步骤④中配置的氨基酸溶液,然后离心处理,倾去上清液,收集下层脂质体混悬液,得曲马多多囊泡脂质体。

[0012] 其中,步骤①中所述磷脂选自卵磷脂、大豆磷脂、氢化卵磷脂、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、磷脂酰甘油中的一种或多种,优选氢化卵磷脂、大豆磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油中的一种或几种 ;中性脂质选自油酸甘油酯、三油酸甘油酯、月桂酸甘油酯、三癸酸甘油酯、三辛酸甘油酯、3- α -氨基丁酸甘油酯、维生素 E 中的一种或多种,优选三油酸甘油酯 ;有机溶剂选自乙醚、氯仿、二氯甲烷、乙醇、丁醇、四氢呋喃、乙酸乙酯中的一种或多种,优选氯仿或乙醚 - 二氯甲烷混合物,其中乙醚二氯甲烷混合物中乙醚与二氯甲烷的体积比为 1 : 3 ~ 3 : 1 ;步骤④中所述的氨基酸为 L- 精氨酸、L- 赖氨酸、丝氨酸或门冬氨酸中的一种,渗透压调节物质为葡萄糖、甘露醇或氯化钠中的一种或多种,优选氯化钠和 / 或葡萄糖,表面活性剂为吐温 80、司盘 20 或聚乙烯醇中的一种或多种。

[0013] 该步骤①的有机相中还可以含有带负电荷或正电荷的类脂,带电荷类脂可有效调节脂质体表面电荷,使脂质体带负电或正电,以增强制剂稳定性。该类脂与中磷脂的重量比可为 1 : 1 ~ 1 : 50,本发明优选 1 : 3 ~ 1 : 20。曲马多在水中溶解度较高,水溶液 pH 值显酸性,当脂质体表面带负电荷时更有利于曲马多的包封,从而提高曲马多脂质体的包封率。因此本发明的类脂优选磷脂酰丝氨酸、磷脂酸或十八胺等带负电荷的类脂中的一种或几种。

[0014] 上述步骤③中所述混合乳化可采用现有技术,如通过搅拌、振荡、超声处理、乳匀机等装置和方法来处理 ;本发明优选采用高速乳匀机及超声。

[0015] 而上述步骤④中混合形成复乳和步骤⑤中的除去有机溶剂方法均可采用现有技术,其中除去有机溶剂方法包括但不限于气流吹干、减压蒸发等,通常选用氮气、二氧化碳等气体除去有机溶剂,常用的是氮气。

[0016] 本发明的另一目的是提供一种曲马多多囊泡脂质体,其是由上述制备方法制得。

[0017] 本发明的有益效果 :

[0018] 1、在磷脂中加入胆固醇,会对脂质体性质产生下列影响 :增加脂质体在体内的稳定性,不易发生破裂药物泄漏 ;减少水溶性分子对脂质体脂膜的通透性 ;增加脂质体的稳定性,延长在血液循环中的时间。

[0019] 2、相对传统脂质体,多囊泡脂质体的脂质成分中加入了一种中性脂质,如三油酸甘油酯,三辛酸甘油酯,3- α -氨基丁酸甘油酯。所加入的中性脂质无成膜能力,但其能填充

于脂质双分子层中的疏水空间,稳定交叉处的连接,使多囊泡脂质体包封药物后形成不连续的药物溶液囊泡,因此中性脂质是形成多泡(多囊)脂质体的决定性因素之一。

[0020] 3、该脂质体的内水相中脂质成分中还可以含有带负电荷或正电荷的类脂,带电荷类脂可有效调节脂质体表面电荷,使脂质体带负电或正电,以增强制剂稳定性。曲马多在水中溶解度较高,水溶液 pH 值显酸性,当脂质体表面带负电荷时更有利于曲马多的包封,从而提高曲马多脂质体的包封率。

[0021] 4、本发明的曲马多多囊泡脂质体具有高的包封率,在体内、体外试验中均显示有良好的缓释作用,从而较现有制剂有更佳的止痛效果,并由此降低了用药次数及总用量。

附图说明:

[0022] 图 1 为本发明曲马多多囊泡脂质体的体外释放-时间曲线图。

具体实施方式:

[0023] 下面用实施例来进一步说明本发明,但本发明并不受其限制。

[0024] 下面实施例中曲马多多囊泡脂质体粒径采用激光散射仪检测;包封率测定方法为:

[0025] 取多囊泡脂质体混悬液 5ml,4000r/min 离心 30min。取上清液,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,稀释后,HPLC 法测定游离曲马多的含量;另取多囊泡脂质体混悬液 1ml,加入 5% Triton X-100 乙醇溶液 1ml,置振荡器上振荡 10min,使膜材完全破裂,过滤,取续滤液适量,稀释后,测定混悬液中曲马多的总量,根据以下公式计算包封率。

[0026]
$$\text{包封率} = (1 - W_{\text{游离}} / W_{\text{总}}) \times 100\%$$

[0027] 实施例 1

[0028] 1. 按比例称取大豆磷脂 50 μmol ,二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)80 μmol ,二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)50 μmol ,胆固醇(CH)100 μmol ,三油酸甘油酯(To)12 μmol ,置于容量瓶中,加入氯仿 5ml 使其完全溶解,成为有机相;

[0029] 2. 配制浓度为 500mmol/L 的盐酸曲马多溶液 5ml,作为内水相;

[0030] 3. 取内水相 5ml 缓慢滴入步骤 1 的有机相 5ml 中,混合乳化并超声 5min,成油包水型(W/O)的初乳,观察为乳白色半透明的粘性液体;

[0031] 4. 制备含 3%的葡萄糖,0.2%的司盘 20,摩尔浓度为 40mmol/L 的精氨酸的溶液作为外水相,向制得的 W/O 的初乳中注入 25mL 外水相,乳化并超声 5min 得水包油包水型(W/O/W)的复乳;

[0032] 5. 将制得的 W/O/W 的复乳转移倒入 250ml 的三角烧瓶中,加入 40mmol/L 的精氨酸 50ml,恒温 40℃通入氮气到溶液底部,震荡,除尽氯仿,得脂质体混悬液;

[0033] 6. 加入 100ml 的 20mmol/L 的 L-赖氨酸溶液稀释多囊泡脂质体混悬液,用 3000 转离心 10min,倾去上清液,分离出脂质体混悬液,除去外水相中游离药物,得曲马多多囊泡脂质体。

[0034] 测得曲马多多囊泡脂质体粒径为 1 ~ 50 μm ;包封率为 78 ~ 85%。

[0035] 实施例 2

[0036] 1. 按比例称取氢化大豆磷脂 80 μmol ,二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)50 μmol ,二棕榈

酰磷脂酰甘油 (DPPG) 200 μmol , 胆固醇 (CH) 120 μmol , 三油酸甘油酯 (To) 10 μmol , 置于容量瓶中, 加入乙醚: 氯仿 (体积比 1 : 1) 5ml 使其完全溶解, 成为有机相;

[0037] 2. 配制摩尔浓度为 10mmol/L 盐酸曲马多溶液 5ml, 成为内水相;

[0038] 3. 取上述内水相 5ml 缓慢滴入步骤 1 的有机相 5ml 中, 混合乳化并超声 10min, 成油包水型 (W/O) 的初乳, 观察为乳白色半透明的粘性液体;

[0039] 4. 制备含 0.9% 的氯化钠, 0.01% 的吐温 80, 摩尔浓度为 50mmol/L 的精氨酸的溶液作为外水相, 向制得的 W/O 的初乳中注入外水相 25ml, 乳化并超声 5min 得水包油包水型 (W/O/W) 的复乳;

[0040] 5. 将制得的 W/O/W 的复乳转移倒入 250ml 的三角烧瓶中, 加入 50mmol/L 精氨酸溶液 100ml, 恒温 40°C 通入氮气到溶液底部, 震荡, 除尽有机相, 得脂质体混悬液;

[0041] 6. 加入 250ml 的 50mmol/L 精氨酸溶液稀释多囊泡脂质体混悬液, 用 3000 转离心 10min, 倾去上清液, 分离出脂质体混悬液, 除去外水相中游离药物, 得曲马多多囊泡脂质体。

[0042] 测得曲马多多囊泡脂质体粒径为 1 ~ 45 μm ; 包封率为 83 ~ 88%。

[0043] 实施例 3

[0044] 1. 按比例称取卵磷脂 30 μmol , 二油酰磷脂酰乙醇胺 80 μmol , 二棕榈酰磷脂酰甘油 50 μmol , 磷脂酰甘油 10 μmol , 胆固醇 30 μmol , 三油酸甘油酯 12 μmol , 磷脂酰丝氨酸 10 μmol , 磷脂酸 10 μmol , 置于容量瓶中, 加入氯仿 5ml 使其完全溶解, 成为有机相。

[0045] 2. 配制浓度为 500mmol/L 的盐酸曲马多溶液 5ml, 作为内水相。

[0046] 3. 取内水相 5ml 缓慢滴入步骤 1 的有机相 5ml 中, 混合乳化并超声 5min, 成油包水型 (W/O) 的初乳, 观察为乳白色半透明的粘性液体;

[0047] 4. 制备含 3% 的甘露醇, 0.1% 的聚乙烯醇, 摩尔浓度为 20mmol/L 的 L- 赖氨酸溶液作为外水相, 向制得的 W/O 的初乳中注入 25ml 外水相, 乳化并超声 5min 得水包油包水型 (W/O/W) 的复乳;

[0048] 5. 将制得的 W/O/W 的复乳转移倒入 250ml 的三角烧瓶中, 加入 20mmol/L 的 L- 赖氨酸溶液 50ml, 恒温 40°C 通入氮气到溶液底部, 震荡, 除尽氯仿, 得脂质体混悬液。

[0049] 6. 加入 100ml 的 20mmol/L 的 L- 赖氨酸溶液稀释多囊泡脂质体混悬液, 用 3000 转离心 10min, 倾去上清液, 分离出脂质体混悬液, 除去外水相中游离药物, 得曲马多多囊泡脂质体。

[0050] 测得曲马多多囊泡脂质体粒径为 1 ~ 35 μm ; 包封率为 81 ~ 89%。

[0051] 以上实施例中所用卵磷脂为德固赛公司产品; 二油酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酸和二棕榈酰磷脂酰甘油购于 Sigma 公司; 胆固醇购于南京新百制药有限公司; 三油酸甘油酯购于国药集团化学试剂有限公司; 其余试剂均为常规市售产品。

[0052] 试验实施例 1: 曲马多多囊泡脂质体的体外释放测定

[0053] 取实施例 1 的曲马多多囊泡脂质体混悬液 20ml, 用 80ml 生理盐水稀释, 精密量取曲马多多囊泡脂质体混悬液 3ml 置于经预处理的 8 万相对分子量的透析袋中, 扎紧, 置于溶出仪小篮中, 在溶出仪小杯中加入 900ml 氯化钠溶液为溶出介质, 37°C 水温, 转速 50r • min, 分别于 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6, 12, 24h 用注射器取样 1ml, 每个时间点的药物释放百分比用以下

公式计算：

[0054] 药物释放百分比(%) = (上清液中游离曲马多的量 / 多囊泡脂质体中包封的曲马多原始量) × 100%

[0055] 结果表明在第3天(72小时)时,药物释放达到了80%以上,包封的曲马多基本释放完全(如图1所示),而普通脂质体在12小时就释放完全,说明本发明曲马多的多泡脂质体具有明显的缓释效果。

[0056] 试验实施例2:曲马多多囊泡脂质体扭体法镇痛作用试验

[0057] 取昆明种小鼠若干,雌雄各半,随机分成3组,每组10只。一组给生理盐水作为对照(空白组)、一组给曲马多注射液(对照组)和一组给曲马多多囊泡脂质体(试验组),注射后5min腹腔注射冰醋酸(0.6%冰醋酸注射量为0.2ml/10g)致痛,观察动物扭体情况,记录致痛后15min内各组小鼠的扭体次数,结果如表1。

[0058] 抑制率 = (空白组小鼠扭体数 - 对照组 or 试验组小鼠扭体数) / 空白组小鼠扭体数 × 100%

[0059] 表1 扭体法测曲马多多囊泡脂质体对小鼠不同时间扭体次数的影响

[0060]

	第1天		第2天		第3天	
	扭体次数	抑制率%	扭体次数	抑制率%	扭体次数	抑制率%
空白组	31.3±3.9	0	/	/	/	/
对照组	9.9±2.2	68.4±3.5	29.3±4.2	6.4±4.2	33.3±3.8	0
试验组	11.1±4.2	64.5±12.6*	15.5±2.9	50.5±11.3**	17.1±3.4	45.4±9.9**

[0061] 与空白组比较,对照组小鼠扭体次数到第2,3天变化不明显;试验组与对照组小鼠扭体次数减少明显(*p < 0.05);试验组小鼠扭体次数在第2,3天减少的更加明显(**p < 0.01)。

[0062] 试验实施例3:曲马多多囊泡脂质体热板法镇痛作用试验

[0063] 取昆明种小鼠若干,雌雄各半,随机分成3组,每组10只。恒温显水箱(55.0±0.5)℃,各组小鼠用药前测痛2次,每次间隔10分钟,取其平均值为基础痛阈(从小鼠放入到舔后足的时间作为该鼠的痛阈值,剔除痛阈大于30秒或小于5秒的小鼠)。一组给生理盐水作为对照(空白组)、一组给曲马多注射液(对照组)和一组给曲马多多囊泡脂质体(试验组),并于注射后第5min测痛。以后均每隔10min测痛1次,共测4次,结果如表2。

[0064] 表2 热板法测曲马多多囊泡脂质体对小鼠不同时间痛阈提高率的影响

	组别	例数	小鼠不同时间痛阈提高率				
			1 小时	12 小时	24 小时	48 小时	72 小时
[0065]	空白组	10	14.3±49.6	17.1±36.4	15.1±49.3	12.1±34.7	12.7±33.2
	对照组	10	70.1±46.3	41.1±58.2	31.1±31.7	21.1±69.2	11.1±41.1
	试验组	10	66.1±52.0	50.1±46.6*	56.1±75.2*	45.1±51.9**	33.1±50.3**

[0066] 与空白组比较,对照组小鼠痛阈提高率数到第 1 小时差异明显;试验组与对照组小鼠痛阈提高率在 12 ~ 24 小时差异明显 (* $p < 0.05$);试验组小鼠扭体次数 48 ~ 72 小时差异更加明显 (** $p < 0.01$)。

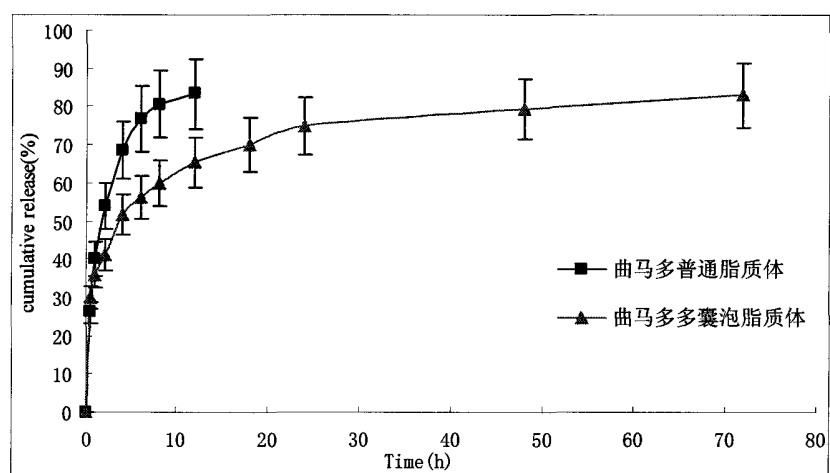


图 1.