

脂质体体外释放行为评价方法研究进展

宋波¹, 黄莺¹, 郭盈杉²

(1. 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心, 北京 100044; 2. 河北省药品审评中心, 石家庄 050091)

摘要 活性药物只有从脂质体中释放出来才可能在体内进一步发挥治疗作用, 脂质体释药过程可通过体外释放行为来模拟, 因此, 体外释放行为是脂质体重要质量控制指标。文献报道的常用脂质体释放行为评价方法有取样分离法、透析法、流通池法、Franz 扩散池法、ussing chamber 法以及一些改良优化的方法, 每种评价方法都有特定的优势和应用局限性。《中华人民共和国药典》目前并没有明确脂质体体外释放评价方法, 这在一定程度上阻碍了脂质体的应用, 因此, 研究建立重复性好、操作性强、标准化程度高的体外释放方法是脂质体开发过程中亟待解决的问题。该文概括了近年来脂质体体外释放行为评价方法的研究现状及应用情况, 分析了每种释放方法的特点, 以期对脂质体体外释放行为评价方法的发展和完善提供参考。

关键词 脂质体; 体外释放行为; 评价方法

中图分类号 R943

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2023)03-0384-06

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2023.03.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Research Progress of Evaluation Methods of Liposomes Release Behavior *in Vitro*

SONG Bo¹, HUANG Ying¹, GUO Yingshan² (1. Center for Food and Drug Inspection of NMPA, Beijing 100044, China; 2. Center for Drug Evaluation of Hebei, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT The liposome drug could act its therapeutic effect *in vivo* only when released from liposome. The release process could be stimulated *in vitro*. The commonly used analysis methods of liposome release behavior reported in the literature include sampling separation method, dialysis method, flow cell method, Franz diffusion cell method, and other optimized methods. Each evaluation method has specific advantages and application limitations. However, the Chinese Pharmacopoeia does not contain the evaluation method of *in vitro* release of liposome, which hinders the application of liposome. Therefore, it is an urgent problem to establish an *in vitro* release method with good reproducibility, strong operability, and high standardization in the development of liposome. According to the inherent properties of liposome, the research status and practical application of *in vitro* release behavior analysis methods of liposome in recent years were summarized, and the characteristics of each release method were briefly analyzed. It provided a reference for developing and improving *in vitro* release behavior analysis methods of liposome.

KEY WORDS Liposome; *In vitro* release behavior; Evaluation methods

脂质体是由脂质双分子层所形成的封闭囊泡, 囊泡内水相和双分子层内可以包裹不同类型的活性药物。与其他传统药物载体系统相比, 脂质体基于纳米结构特点, 可改善药物渗透性和溶解性, 提高难溶性药物口服生物利用度, 通过包载活性药物来改善制剂体内稳定性, 提高疗效, 减少毒副作用, 改善患者顺应性^[1]。

鉴于越来越多脂质体产品进行注册申报, 美国、欧盟、中国药品监管机构都针对脂质体开发制定了对应指导原则, 这些指导原则都将体外释放行为作为脂质体的重要质量控制指标, 要求在脂质体开发过程中进

行充分研究, 因为脂质体的药物释放、吸收、体内安全性、有效性和体内外稳定性等都可在体外释放行为中得以体现。

然而, 目前《中华人民共和国药典》标准并没有明确脂质体体外释放度评价方法, 美国食品药品监督管理局(FDA)在《脂质体药物 CMC》、人体药动学和生物等效性研究以及标签管理》仅指出“企业应建立经过验证的体外释放试验分析方法”, 也未明确可参考的方法, 欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)也未发布过脂质体释放行为评价方法。且由于对脂质体释药机制了解不够, 研究人员自行开发的方法^[2-5]往往缺乏科学性、规范性和针对性, 难以准确评价脂质体释药过程, 这在一定程度上影响了脂质体的开发和应用。

笔者在本文主要结合脂质体特性, 对国内外脂质体体外释放行为的评价方法进行概述, 并简要描述具体操作, 分析这些方法应用过程中的注意事项, 提出体外释放方法开发的关注要点, 以期促进脂质体体外释放行为评价方法的完善和发展。

收稿日期 2022-02-10 修回日期 2022-05-26

作者简介 宋波(1989-), 男, 江苏南京人, 工程师, 硕士, 研究方向: 药物制造与药品监管。ORCID: 0000-0001-6182-5856, 电话: 010-68441669, E-mail: songbofcb@163.com。

通信作者 郭盈杉(1980-), 女, 北京人, 高级工程师, 硕士, 研究方向: 药品审评与药品检验。ORCID: 0000-0001-7557-3979, 电话: 0311-67305130, E-mail: guoyingshan1980@163.com。

1 常用体外释放方法

脂质体体外释放行为评价方法优缺点总结见表 1。

表 1 常见脂质体体外释放行为评价方法优缺点

Tab.1 Advantages and disadvantages of common evaluation methods for *in vitro* release behavior of liposomes

方法	优点	缺点
取样分离法	装置常见,取样简单,方法成熟	离心或超滤时可能破坏脂质体结构
透析法	应用广泛,对设备要求较低,取样后无需再进行过滤操作分离脂质体和游离药物	透析袋可能吸附药物
ussing chamber 法	可同时评估药物的透膜能力及在组织中的药物滞留情况	适用范围窄
Franz 扩散池法	装置成本低,取样后无需再过滤分离,可避免药物损失	搅拌效果难以保证,气泡难以去除,可能导致药物在接收室内分布不均匀
流通池法	可有效防止介质挥发,满足了释放度测定在较长时间进行的需求	设备价格高,操作复杂,过滤器易被异物堵塞,过滤器和玻璃珠易吸附药物
结合法	基于产品特点,方法专一	适用范围窄
电化学法	可直接测定药物的含量	仅适用于具有电化学信号活性药物的测定

1.1 取样分离法 取样分离法是参照口服制剂溶出方法,将脂质体直接置于释放介质中,控制搅拌速度和介质温度,定时取样过滤、离心、超滤或离心超滤后测量药物含量,计算药物累积释放量,根据释放曲线来评价脂质体体外释放行为的方法。

取样分离法的影响因素主要有介质温度、搅拌速度及介质类型等。根据给药部位,控制温度在 (37 ± 0.5) 或 (32 ± 0.5) °C 以模拟皮肤温度;合适的搅拌速度可以防止脂质体聚集,使已释放的游离药物在介质中均匀分散;释放介质可能影响药物的稳定性及释放速率,需根据吸收部位及评价方法等进行合理选择。

唐兰如等^[6]采用薄膜超声分散法制备大豆苷元与和厚朴酚复方长循环脂质体,再将脂质体与氢氯噻嗪、钩藤碱及辅料压片制备加味脉君安脂质体片剂,采用取样分离法对比研究加味脉君安脂质体片剂和市售脉君安片的体外释放行为,取样后测定药物含量。研究发现,与市售脉君安片相比,加味脉君安脂质体体外释放缓慢,预期体内具有一定缓释效果,符合高血压用

药特征,有进一步开发潜力。

取样分离法使用的装置较常见,搅拌方式和取样技术简单,方法较成熟。然而,取样过滤尤其是离心或超滤时可能破坏脂质体结构,且过滤时脂质体容易堵塞滤孔,这会影响到测定准确性。因此,选用取样分离法时需注意这些不利因素,操作过程中加以控制。

1.2 透析法 透析袋可截留一定相对分子量物质,透析法是使用透析袋将释放出的游离药物与被脂质体包载的药物进行物理分离,于特定时间点取释放介质,测定药物浓度,评估脂质体释放行为的一种方法^[7]。在脂质体体外释放行为评价方法中,透析法应用比较广泛,根据装置及脂质体加入位置不同,透析法分为正向动态透析法和反向动态透析法。

1.2.1 正向动态透析法 正向动态透析法是将脂质体密封在透析袋中,两端密封后放置于释放介质,按照设定的时间点取出适量释放介质,通过测定药物含量来评价药物体外释放行为的方法。采用该方法,脂质体与介质不直接接触,通过透析袋进行物理隔离,一般透析袋内脂质体溶液体积远小于容器中释放介质体积。

吴斯宇等^[8]采用乙醇注入法制备环肽修饰的姜黄素/黄芩苷靶向共递送纳米脂质体,运用正向动态透析法进行体外释放研究,将该脂质体溶液装入透析袋密封后置于释放介质,开启搅拌,定时取样并补液。研究表明,该脂质体释放平稳,具有一定缓释作用。

林雯等^[9]采用逆向蒸发法制备替莫唑胺脂质体,并运用正向动态透析法进行体外释药行为考察。将脂质体溶液放至透析袋,两端用夹子固定后置于 100 mL 磷酸盐缓冲溶液 (pH 值 5.0) 中,37 °C 水浴保温,振荡速度 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,定时取样并补加空白介质,研究显示该脂质体前 2 h 属于突释阶段,约释放 60%,其后进入缓释阶段,药物释放速度变缓,6 h 时基本释放完毕。

赵笛等^[10]以薄膜分散法制备吸入用瑞德西韦脂质体,运用正向动态透析法考察体外释药行为,将吸入用瑞德西韦脂质体溶液置于透析袋,透析袋截留相对分子质量 3500,溶出介质为 200 mL 模拟肺液,取样体积 1 mL,温度控制在 37 °C,取样后立即补液,研究发现瑞德西韦脂质体在该释放介质中约 4 h 即能够释放 >90%。

正向动态透析法操作简便,对设备要求较低,取样后无需再进行过滤操作分离脂质体和游离药物。但需注意药物与透析袋的相容性及透析袋对药物的吸附性,而且透析袋内水层几乎不流动,会影响脂质体释放速率。此外,搅拌速度不宜过快,否则会导致透析袋转动过快或幅度过大,容易引起破损,导致药物泄露。

1.2.2 反向动态透析法 反向动态透析法是将脂质体与释放介质直接接触,即将测定样品分散在透析袋外体积较大的介质中的一种释放方法。采用该方法可将脂质体进行极大程度的稀释,能更好地模拟脂质体在体内环境中的释放行为。

戴雅彬等^[11]采用薄膜分散法制备雷公藤内酯酮(triptonide,TPN)脂质体,采取反向动态透析法评价TPN脂质体体外释放情况,量取空白介质1 mL装至透析袋内,透析袋截留分子量为 14×10^6 ,然后将透析袋置于烧杯,于烧杯中加入释放介质37 mL,加药前充分平衡透析袋内外环境,取TPN脂质体溶液2 mL加入透析袋外释放介质,控制温度37℃,开启搅拌,定时从透析袋内取样100 μ L测定透析袋内TPN总浓度。研究发现TPN脂质体无突释现象,释放60 min内为快速释放期,360 min时,TPN脂质体基本释放完全。

贾东升等^[12]用乙醇注入法制备淫羊藿苷元(icaritin,IT)脂质体,用反向动态透析法测定IT脂质体释药特性,释放介质为20%甲醇磷酸盐缓冲液,取空白介质1 mL置透析袋,两端封闭后置容器中释放介质,透析袋外介质体积为200 mL,温度控制在37℃,以 $(100 \pm 5) \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 频率振荡2 h进行系统平衡,取适量IT脂质体加至透析袋外释放介质中,在规定时间内取样后测定透析袋内药物浓度,研究显示IT脂质体的体外释放行为呈现缓释性特征,72 h累积释放量>90%。

无论是正向动态透析法还是反向动态透析法,透析袋的使用存在大小及形状各异、截留分子量选择缺乏科学性等缺点,此外容器选用较随意、取样方法不合理、搅拌速度不固定等问题,均会对测定结果的准确性造成影响,这也限制了透析法作为标准化脂质体体外释放评价方法的可行性。

1.3 尤斯灌流室(Ussing chamber)法 脂质体进入体内后通常先进行药物释放,处方工艺等因素均会对药物体内药动学行为产生影响,进而影响脂质体临床使用有效性与安全性,而仅通过常规药理学体外评价指标对比往往不能充分反映不同批次脂质体体内释药行为差异。因此,为充分评估脂质体产品特性,除考虑释药行为外,有必要进行组织药物滞留情况比较研究,以充分研究脂质体在组织中的释放及残留情况。Ussing chamber和Franz扩散池可以满足对释药行为及组织滞留情况研究的需求,这两种装置既可以用于评价脂质体的体外释放情况,也可以评估药物的透膜能力及在组织中的药物滞留情况,因此在非注射用药脂质体,比如脂质体凝胶剂、局部用脂质体等开发中应用较多。

Ussing chamber由丹麦科学家Ussing发明,主要

由灌流室和电路系统构成,灌流室两个溶液贮器分别用来放置释放介质和供试品溶液,灌流方式包括循环式和持续式两种,另有管道系统用来加热和充入特定比例气体(CO_2 、 O_2 或 N_2),电路系统用来测定电压、电流、电容等^[13]。Ussing chamber技术可在脂质体释药过程中维持膜完整性和活性,更真实模拟体内释药环境。

一般来说,载药脂质体口服后,经上消化道时大多数药物已从脂质体中释放或吸收入血。不过,结肠定位给药技术可以实现载药脂质体在结肠部位的释放,这可确保脂质体在到达释药部位前保持结构完整性,以便更好发挥其特色治疗作用,地塞米松磷酸钠为临床常用抗炎药物,常用其溶液剂经灌肠方法来治疗各种结肠炎症。李国锋等^[14]采用二次乳化法制备地塞米松磷酸钠(dexamethasone sodium phosphate,DSP)脂质体,采用Ussing Chamber体外实验法考察DSP脂质体累积透过量及在黏膜内的分布量,将分离好的结肠黏膜固定于Ussing chamber装置,即刻于装置黏膜侧和浆膜侧分别加入介质溶液6 mL,将整个装置置37℃恒温环境,并不断于两侧介质中通入氧气和氮气混合气体至实验结束,30 min后分别于黏膜侧和浆膜侧加入脂质体溶液1 mL,对照组于黏膜侧加入地塞米松磷酸钠溶液1 mL。研究发现,该脂质体能够使地塞米松磷酸钠在结肠黏膜透过量得到延缓和减少。

虽然一些脂质体可用于皮肤、口腔、眼部及直肠等部位,有增加药物在局部黏膜组织中浓度、降低药物吸收入血的速度等优势,但该类脂质体制剂或口服脂质体制剂较少见,而且多数处于实验室研究阶段,所以Ussing chamber用于脂质体体外释放研究并不多。

1.4 Franz扩散池法 Franz扩散池可模拟脂质体跨过半透膜或皮肤、肠壁等屏障的扩散作用,由供给室和接收室组成,两室由膜层分隔开。将一定量脂质体置于供给室内,释放介质置于接收室,药物可透过膜层转移到接收室的释放介质中,释放过程中需控制搅拌速度和介质温度。Franz扩散池使用的膜可以是透析袋、人工模拟膜、细胞以及人类和动物的皮肤或上皮组织。使用Franz扩散池进行体外试验,尤其能够客观反映局部用药脂质体或半固体脂质体的药物释放过程^[15]。

仲博等^[16]采用薄膜蒸发法制备壳聚糖修饰的麻黄碱脂质体凝胶剂,采用Franz扩散装置进行体外释放和透过试验,将供试品溶液置于供给室并将其顶部密封,将处理过的大鼠皮肤固定于供给室和接收室之间,接收室中注入释放介质,控制温度为37℃,介质为pH值6.8的磷酸盐缓冲溶液,在设定时间点取样并补

液。研究表明,与普通剂型相比,脂质体中麻黄碱缓释性能良好,可缓慢释放后透过大鼠皮肤到达接收室。

宋娟等^[17]采用逆向蒸发法制备表没食子儿茶素没食子酸酯-补骨脂脂质体(epigallocatechin gallate psoralen liposome, EGCG-PL),并利用 Franz 扩散装置比较 EGCG-PL 与 EGCG-补骨脂醇溶液组(epigallocatechin gallate psoralen solution, EGCG-PS)体外透皮性质的差异,介质为 20%乙醇溶液,膜材采用处理好的大鼠皮肤,确保介质与鼠皮充分接触,将 EGCG-PL 及 EGCG-PS 加至供给室,将其顶部密封防止溶液挥发,排除气泡干扰。搅拌速度为 $400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,控制温度(32 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,定时取样 5 mL,并立即补等体积空白介质,高效液相色谱法(HPLC)测定不同时间接受液中 EGCG、补骨脂素及异补骨脂素的浓度,研究结果显示 EGCG-PL 中 EGCG、补骨脂素及异补骨脂素 24 h 单位面积累积透过量和组织滞留量明显高于 EGCG-PS。

除了脂质体处方因素外,搅拌速度及膜的材质、来源、结构和厚度,温度和试样体积等因素都会对 Franz 扩散池体外释放曲线造成影响。Franz 扩散池法优势在于装置成本低,操作方便,取样后无需再过滤分离,可避免药物损失,缺点是搅拌效果难以保证,气泡难以去除,可能导致释放的药物在接收室内分布不均匀。Franz 扩散池最初为体外研究无菌半固态制剂的药物释放和透皮效果而发明,因此对于其他剂型或其他给药途径的脂质体适用度并不高。

1.5 流通池法 流通池法是使用恒流泵将释放介质贯通流通池,经上端滤过后测定溶液中药物浓度的方法,主要控制参数包括介质温度、泵流速、介质类型、流动方式等^[18]。流通池有两种类型,包括循环式流通池法和开放式流通池法,其中开放式流通池法释放介质通过流通池后不再返回,而是借助自动取样装置按设置时间点进行取样,这样可保证脂质体与空白的释放介质充分接触,一直保持适宜漏槽条件。

YUAN 等^[19]基于多柔比星(doxorubicin, DOX)脂质体,构建了一种流通池体外评价方法,释放介质为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{HCO}_3$ 、5%蔗糖、 $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} 2$ -(N-吗啉)乙磺酸和 5%羟丙基环糊精溶液,介质体积为 78.4 mL,考察温度分别为 37、45 和 55 $^{\circ}\text{C}$,控制流速 $16 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,采用循环式模式,样品加入量 1.6 mL。研究显示,在释放介质中加入 NH_4HCO_3 可促进 DOX 脂质体释放,但会引起药物沉淀,在释放介质中加入羟丙基-环糊精可避免 DOX 脂质体沉淀,优化后的释放度测定方法可区分不同成分、理化性质和制备方法 DOX 脂质体制剂。

张蓓^[20]以小分子抗肿瘤药物阿糖胞苷(cytarabine, Ara-C)为模型药物,采用薄膜分散法设计制备内部胶凝化的脂质体,采用流通池法评价阿糖胞苷内部胶凝化脂质体(cytarabine gel liposome, Ara-C-GL)和普通脂质体(cytarabine common liposome, Ara-C-CL)体外释放行为,样品池直径 22.6 mm,控制温度(37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,释放介质为 5%葡萄糖(加入 1%叠氮钠)250 mL,取样量 0.5 mL。将脂质体装至透析袋内,密封两端袋口,放入样品池中。样品池尖端放入一颗直径 5 mm 红宝石保护进水管,释放介质被 CY-7 活塞泵从介质放置瓶中转入流通池,计算机控制取样器分别在预定时间取样,HPLC 测定样品浓度。研究结果显示,随着流速增加,Ara-C-GL 释放加快,释放量增加;与 Ara-C-CL 相比,Ara-C-GL 释放初期快于 Ara-C-CL,后期总体释放显著慢于 Ara-C-CL,表现出较好缓释效果。

流通池法是一种可靠的复杂脂质体产品体外释放分析方法,该方法受操作误差影响较小。对于长效脂质体制剂,循环式流通池法可有效防止介质挥发,满足释放度测定在较长时间内进行的需求,能有效降低测量误差,但流通池也存在设备价格高、操作复杂、过滤器易被异物堵塞、过滤器和玻璃珠易吸附药物等缺点。**1.6 结合法** 结合法是指通过对取样分离法、流通池法和透析法等装置进行改进、完善而用于脂质体体外释放行为评价的方法,其中应用最多的是取样分离法与透析法相结合的方法。取样分离与透析结合可以借助常规溶出法的搅拌、控温、自动取样、补液等功能及透析袋对药物的装载、截留功能,更加简洁高效地完成对脂质体体外释放行为的考察。

张辛宁等^[21]采用薄膜分散法制备紫杉醇衍生物脂质体,按照篮法与正向透析结合方法进行体外释放测定,将脂质体溶液置于透析袋,两端封闭扎紧后置于溶出转篮,然后放入溶出杯,杯中已加入释放介质 1000 mL,尽量保证有效释放透析袋长度一致,释放介质为 0.5%聚山梨酯-80 溶液,转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,取样体积 10 mL,取出溶液经孔径 $0.45 \mu\text{m}$ 有机微孔滤膜过滤后检测。研究表明,该脂质体有一定缓释效果,释放速率显著低于对照组。

李武超等^[22]采用乙醇注入法制备了一种 D-甘露糖修饰的黄芩苷阳离子脂质体,采用取样分离的浆法与正向透析法结合,释放介质为 pH 值 7.4 磷酸盐缓冲液,将脂质体装入透析袋,两端夹紧密封,放入溶出杯,控制温度(37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$,搅拌速度 $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,按预定时间取样 1 mL 并补液,测定药物含量。研究发现,该

脂质体具有明显体外缓释特性,体外释药行为符合 Ritger-Peppas 方程。

罗盼生等^[23]以硫酸铵梯度法制备多柔比星长循环脂质体,采用取样分离小杯桨法与透析法结合法考察该脂质体体外释放行为,释放介质为磷酸盐缓冲液,介质用量为 50 mL,将脂质体溶液装于透析袋,两端扎紧密封,置于溶出仪桨叶底部,控制温度 37 °C,转速 50 r · min⁻¹,取样体积 3 mL。研究发现,该脂质体体外释放具备良好缓释效果。

结合法一般需基于脂质体特点,充分利用实验室设备,并对构建的新的体外溶出方法进行适当验证,以评估该方法的科学性和适用性。因此,结合法并不是普适方法。应用过程中,需注意透析袋材质、截留分子量、搅拌速度、控制温度、释放介质体积、不同方法的结合方式对脂质体释放行为造成的影响。

1.7 其他方法

1.7.1 电化学法 自动化在线监测可直接测定释放介质中的药物浓度,不会损失药物或制剂,从而避免误差,电化学法就是一种自动化在线监测方法,其可快速在线评估体外释放情况。

MORA 等^[24]采用伏安法通过测定多柔比星盐酸盐脂质体的氧化还原反应时产生的化学信号,实时在线评价多柔比星体外释放度。研究发现,多柔比星盐酸盐脂质体在前 1 h 内为突释阶段,此后药物缓慢释放。尽管这种方法可直接测定药物的含量,但其仅适用于具有电化学信号活性药物的测定,且每种药物的敏感性和响应性差异较大,因此该方法的应用具有较大局限性。

1.7.2 树脂吸附法 金沙^[25]在一系列脂质体体外释放方法研究的基础上,开发出一种新的树脂吸附法,并用模型药物进行了验证,该方法原理是利用树脂吸附释放的游离药物,而树脂不溶于水,因此免除了分离释放介质中药物和树脂上吸附的药物的步骤。相较于常规的透析方法和离心分离法,树脂吸附法能快速分离已释放的药物,节约测定时间和成本,并且能较好地区分不同处方工艺的丙泊酚脂质体。在该研究中,金沙选取了脂溶性的羟基积雪草酸(madecassic acid, MD)以及水溶性的氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)作为模型药物。研究发现,MD 氢化大豆卵磷脂(hydrogenated soybean phosphatidylcholine, HSPC)脂质体和 MD 海藻酸钠壳聚糖层自组装脂质体具有明显的缓释作用,在超过 MD 漏槽条件下,树脂吸附法也能较好地测定脂质体释放速率,一定程度上解决了难溶性药物无法达到漏槽条件的问题。

该方法创新点在于将一定量树脂加入到释放介质中,优化了释放方法,树脂可以起到吸附游离药物的作用,该法对其他药物的适用性有待进一步研究。

1.7.3 溶出改进方法 溶出改进方法主要基于取样分离法、结合法测定的仪器装置,改善这些方法中影响检测结果的不可控因素,对装置进行改进优化,并在此基础上设计出一套规范、标准化的改良体外释放测定装置。

欧婷^[26]使用新的桨杆部件,设计和改进了透析袋装置,使透析管与桨杆相连,采用自行设计的透析装置 E2 建立了释放度透析检测方法,利用该方法测定了盐酸多柔比星脂质体注射液的体外释放情况。研究发现,该新方法普适性良好,改良的释放装置在稳定性、重现性、可操作性、规范性等方面达到了预期效果。ABDEL-MOTALEB 等^[27]将转篮改造成底部为透析袋的玻璃篮,用其对比研究布洛芬脂质体、脂质纳米囊的体外释放行为。研究发现与常规透析法相比,玻璃篮透析法能显著区分不同脂质体体外释放行为的差异。

2 结束语

合适的释放介质种类、温度、转速等均是脂质体体外释放行为方法建立过程中的技术挑战,另外需注意透析袋材质、截留分子量、形状、大小、预处理方法等产生的影响。透析袋可能吸附药物,因此,需注意透析袋的材质。常用的透析袋包括醋酸纤维素酯膜和再生纤维素膜两种。其中,醋酸纤维素酯膜疏水性强,适合亲水性药物释放时使用;透析袋另一重要参数是截留分子量,选择合适截留分子量的透析袋,可保证游离药物的透膜速度;适当的前处理方法可以使透析袋得到充分溶胀,更利于游离药物透过,常用前处理方法是将透析袋在释放介质中浸泡或煮沸。

不同脂质体药物品种有不同的释放度检查方法,尤其是新兴或改进的方法,规范性差、缺乏研究验证、适用范围窄,给质量控制与评价等带来不确定性。因此,建立重复性好、操作性强、标准化程度高的释放度方法是脂质体体外释放行为开发中的重大技术难点。

在进行脂质体体外释放行为测定时,需详细记录所用的方法、试验条件和设备型号、介质类型、搅拌速度、控制温度等关键参数,充分考虑释放方法的适用性。此外,需绘制完整的脂质体体外释放曲线,释放的终点确定要合理,至少确保释放已达平台期,或累积释放超过 80%。无论是使用现有方法或修订、完善的新方法,均应经过充分验证,以确保释放方法的准确性和重现性。此外,释放方法区分性要好,处方和生产工艺的变化能在释放曲线中得到体现。

参考文献

- [1] LI Y N , CONG H L , WANG S , et al. Liposomes modified with bio-substances for cancer treatment [J]. *Biomater Sci* , 2020 , 8(23) : 6442-6468.
- [2] KHAN S , MADNI A , RAHIMH M A , et al. Enhanced *in vitro* release and permeability of glibenclamide by liposomes: development , characterization and histopathological evaluation [J]. *J Drug Deliv Sci Tec* , 2021 , 63 (15) : 102450.
- [3] KATOZIAN I , TAHERI R A. Preparation , characterization and release behavior of chitosan-coated nanoliposomes (chitosomes) containing olive leaf extract optimized by response surface methodology [J]. *J Food Sci* , 2021 , 58(9) : 1-14.
- [4] ZHU L , KUANG Z , SONG P , et al. Gold nanorod-loaded thermosensitive liposomes facilitate the targeted release of ruthenium(II) polypyridyl complexes with anti-tumor activity [J]. *Nanotechnology* , 2021 , 32(45) : 455103.
- [5] 祝侠丽 , 李玲华 , 王莎莎 , 等. 近红外光响应性多烯紫杉醇主动靶向脂质体的制备及其体外抗肿瘤活性 [J]. *医药导报* , 2021 , 40(8) : 1094-1099.
- [6] 唐兰如 , 王俏 , 刘文锦 , 等. 加味脉君安脂质体片剂的制备及体外同步释放研究 [J]. *湖北大学学报(自然科学版)* , 2022 , 44(1) : 106-112.
- [7] MAZED H , HAMIDUZZA M , SHRAT J , et al. Formulation development , characterization and *in-vitro* evaluation of tamoxifen loaded liposomes [J]. *J Pharm Sci* , 2020 , 32(6) : 64-82.
- [8] 吴斯宇 , 曾盈蓉 , 唐聘 , 等. RGD 环肽修饰的姜黄素/黄芩苷靶向共递送纳米脂质体的制备工艺优化及表征 [J]. *中草药* , 2021 , 52(22) : 6834-6844.
- [9] 林雯 , 廖翔茹 , 史琼枝 , 等. T7/A7R 肽修饰的替莫唑胺脂质体制备与表征 [J]. *中国药师* , 2021 , 24(11) : 1978-1982.
- [10] 赵笛 , 李菁菁 , 张凯 , 等. 吸入用瑞德西韦脂质体的制备及其体外评价 [J]. *中国药科大学学报* , 2021 , 52(5) : 547-554.
- [11] 戴雅彬 , 黄慧 , 张月芬 , 等. 雷公藤内酯酮脂质体的体外释放特性及体外抗肿瘤活性 [J]. *海峡药学* , 2021 , 33(8) : 14-17.
- [12] 贾东升 , 贾晓斌 , 施峰 , 等. 淫羊藿苷元脂质体的制备及其对大鼠骨髓基质细胞增殖分化影响的研究 [J]. *中国药理学杂志* , 2010 , 45(5) : 353-358.
- [13] AGUANNO D , POSTAL B G , CARRIERE V. Use of ussing chambers to measure paracellular permeability to macromolecules in mouse intestine [J]. *Method Enzymol* , 2021 , 2367: 1-11.
- [14] 李国锋 , 陈建海 , 杨静 , 等. 地塞米松磷酸钠脂质体经兔结肠黏膜的体外 Ussing chamber 渗透研究 [J]. *第一军医大学学报* , 2004 , 24(1) : 11-14.
- [15] EMAN A , GOMES J , SALES C C , et al. Deformable liposomes as enhancer of caffeine penetration through human skin in a Franz diffusion cell test [J]. *Int J Cosmetic Sci* , 2020 , 43(1) : 1-10.
- [16] 仲博 , 张岭 , 张莉 , 等. 麻黄碱壳聚糖修饰脂质体凝胶剂的制备及体外透皮研究 [J]. *中草药* , 2012 , 43(1) : 70-73.
- [17] 宋娟 , 吕成志 , 王栋 , 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯-补骨脂脂质体的制备及体外透皮性质研究 [J]. *中国麻风皮肤病杂志* , 2019 , 35(6) : 342-345.
- [18] NAMITA P , JIE S , DEREK J , et al. Flow-through cell-based *in vitro* release method for triamcinolone acetonide poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres [J]. *Int J Pharmaceut* , 2020 , 579: 119-130.
- [19] YUAN W M , KUAI R , DAI Z P , et al. Development of a flow-through usp-4 apparatus drug release assay to evaluate doxorubicin liposomes [J]. *AAPS J* , 2017 , 19(1) : 150-160.
- [20] 张蓓. 内部胶凝化脂质体作为药物递送载体的研究 [D]. 上海: 复旦大学 , 2009: 45-106.
- [21] 张辛宁 , 刘杨佳 , 吴悦 , 等. 紫杉醇衍生物 (TAH) 脂质体的处方工艺优化及初步质量评价研究 [J]. *中国药理学杂志* , 2021 , 19(4) : 110-122 , 135.
- [22] 李武超 , 张平 , 王元 , 等. D-甘露糖修饰黄芩苷阳离子脂质体的制备及其对肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用 [J]. *现代生物医学进展* , 2021 , 21(4) : 625-628 , 658.
- [23] 罗盼生 , 贾莉. 多柔比星长循环脂质体的理化性质及体内药动学研究 [J]. *菏泽医学专科学校学报* , 2019 , 31(4) : 1-3 , 10.
- [24] MORA L , CHUMBIMUNI T , CLAWSON C , et al. Real-time electrochemical monitoring of drug release from therapeutic nanoparticles [J]. *J Control Release* , 2009 , 140(1) : 69-73.
- [25] 金沙. 脂质药物递送制剂体外释放方法开发及其机理研究 [D]. 广州: 华南理工大学 , 2019: 43-77.
- [26] 欧婷. 脂质体释放度检查方法的标准化研究 [D]. 北京: 中国食品药品检定研究院 , 2017: 13-70.
- [27] ABDEL-MOTTALEB M , LAMPRECHT A. Standardized *in vitro* drug release test for colloidal drug carriers using modified USP dissolution apparatus I [J]. *Drug Dev Ind Pharm* , 2011 , 37(2) : 178-184.