



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103565743 B

(45) 授权公告日 2016.06.22

(21) 申请号 201310303855.7

(22) 申请日 2013.07.18

(66) 本国优先权数据

201210256657.5 2012.07.23 CN

(73) 专利权人 上海市徐汇区中心医院

地址 200031 上海市徐汇区淮海中路 966 号

专利权人 中国科学院上海药物研究所

(72) 发明人 郭仕艳 李大宁 甘勇 李梅云

张馨欣 张裕坤 刘进芬

(74) 专利代理机构 北京金信知识产权代理有限

公司 11225

代理人 朱梅 徐琳

(51) Int. Cl.

A61K 9/107(2006.01)

A61K 31/195(2006.01)

A61P 17/00(2006.01)

审查员 于秀培

权利要求书2页 说明书12页 附图2页

(54) 发明名称

氨甲环酸皮肤外用纳米制剂及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明涉及一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂及其制备方法和用途,该纳米制剂由氨甲环酸、药用油、乳化剂、药用添加剂、增稠剂、纯净水配制而成。本发明的氨甲环酸纳米制剂具有良好的皮肤生理相容性,可有效促进氨甲环酸的经皮吸收,提高氨甲环酸预防或治疗色素沉着的作用,避免氨甲环酸全身用药造成的毒副作用。

1. 一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其由下述原料按重量百分比混合而成:

氨甲环酸	1%~15%
药用油	10%~30%
乳化剂	1%~10%
药用添加剂	0.001%~20%
增稠剂	0.1%~1%
纯净水	余量,

其中,所述药用油选自植物油、中链甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯及其混合物,

所述药用添加剂为选自渗透压调节剂、pH调节剂、抗氧剂和防腐剂中的一种或多种,所述防腐剂选自尼泊金酯、苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其盐、苯扎溴铵、醋酸氯己定及其混合物,

所述增稠剂选自卡波姆、透明质酸、聚维酮、西黄蓍胶、纤维素类化合物及其混合物,

所述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径不超过 $0.3\mu\text{m}$,90%粒径累积值不超过 $0.5\mu\text{m}$ 。

2. 一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其由下述原料按重量百分比混合而成:

氨甲环酸	5%~10%
药用油	10%~20%
乳化剂	1%~10%
药用添加剂	0.001%~10%
增稠剂	0.1%~1%
纯净水	余量,

其中,所述药用油选自植物油、中链甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯及其混合物,

所述药用添加剂为选自渗透压调节剂、pH调节剂、抗氧剂和防腐剂中的一种或多种,所述防腐剂选自尼泊金酯、苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其盐、苯扎溴铵、醋酸氯己定及其混合物,

所述增稠剂选自卡波姆、透明质酸、聚维酮、西黄蓍胶、纤维素类化合物及其混合物,

所述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径不超过 $0.3\mu\text{m}$,90%粒径累积值不超过 $0.5\mu\text{m}$ 。

3. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述药用油选自大豆油、茶油、芝麻油、花生油、红花油、橄榄油、蓖麻油、椰子油、辛酸癸酸甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯及其混合物。

4. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述乳化剂选自吐温80、吐温60、麦泽52、硬脂酸甘油酯、聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯氢化蓖麻油、卵磷脂、聚乙二醇硬脂酸酯、磷脂酰乙醇胺、PEG衍生化磷脂酰乙醇胺、双肉豆蔻磷脂酸胆碱及其混合物。

5. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述乳化剂选自聚氧

乙烯蓖麻油、吐温80、蛋黄卵磷脂、Solutol HS15及其混合物。

6. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述增稠剂选自卡波姆、透明质酸、羧甲基纤维素类化合物及其混合物。

7. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述渗透压调节剂选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、丙二醇、丙三醇、甘露醇、蔗糖、山梨醇及其混合物;

所述抗氧化剂选自丁基羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯、没食子酸丙酯、叔丁基对苯二酚、硫代二丙酸二月桂酯、维生素E、D-抗坏血酸钠、L-抗坏血酸棕榈酸酯、亚硫酸盐、L-半胱氨酸盐酸盐、硫丙三醇及其混合物;

所述防腐剂选自尼泊金酯、山梨酸及其盐、苯扎溴铵及其混合物;或

所述pH调节剂选自盐酸、氢氧化钠、氨丁三醇、醋酸-醋酸钠、柠檬酸-柠檬酸钠、枸橼酸-枸橼酸钠和磷酸盐。

8. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的pH为4.0~8.0。

9. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的pH为5.0~7.0。

10. 根据权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其中,所述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径不超过0.15 μm ,90%粒径累积值不超过0.3 μm 。

11. 权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的制备方法,其包括以下步骤:

1) 将氨甲环酸和选自乳化剂、药用添加剂中的水溶性物质溶解于纯净水中,在20~80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌溶解使其混合均匀,得到水相;

2) 将药用油和选自乳化剂、药用添加剂中的油溶性物质,在30~80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下搅拌使其混合均匀,得到油相;

3) 将所述油相、水相混合,采用高剪切或高压均质机在20~80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下制备纳米微乳;

4) 将所得纳米微乳与增稠剂水溶液混合,其中,纳米微乳与增稠剂水溶液的比例范围为9:1~6:4,并搅拌均匀,调节pH值至4.0~8.0范围内,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中,步骤4)中,纳米微乳与增稠剂水溶液的比例为7:3。

13. 根据权利要求11所述的方法,其中,步骤4)中,调节pH值至5.0~7.0范围内。

14. 权利要求1或2所述的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂用于制备预防或治疗色斑、抑制酪氨酸酶活性、降低活性黑色素细胞数量、减少黑色素形成、和/或改善局部皮肤黯沉的药物的用途。

15. 根据权利要求14所述的用途,其中,所述色斑为黄褐斑。

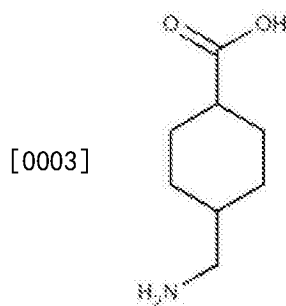
氨甲环酸皮肤外用纳米制剂及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于化学制药领域,更具体地说,涉及氨甲环酸皮肤外用纳米制剂及其制备方法和用途。本发明的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂具有良好的皮肤生理相容性,可有效促进氨甲环酸的经皮吸收,提高氨甲环酸预防或治疗色素沉着的作用,避免氨甲环酸全身用药造成的毒副作用。

背景技术

[0002] 氨甲环酸也称止血环酸、凝血酸,化学名称为反式-4-(氨甲基)环己烷甲酸,分子式: $C_8H_{15}NO_2$,分子量:157.21,具有下述化学结构:



[0004] 氨甲环酸是一种抗纤溶止血药。由于氨甲环酸与参加黑色素代谢的酪氨酸部分结构相似,都有一个羧基,可竞争性抑制酪氨酸酶进而减少黑色素的形成,对色素沉着有良好的疗效,如黄褐斑的临床总有效率为82.3%。但氨甲环酸现有制剂为片剂和注射剂,具有用药量大、刺激性强、疗程长等缺点,而且全身性用药还导致胃肠道反应、中枢神经系统症状等不良反应,严重影响了其临床应用。

[0005] 皮肤外用制剂可直接作用于靶部位,避免肝首过效应,增加药物在作用部位的局部浓度,在更好的发挥疗效的同时降低药物的不良反应;皮肤外用制剂还可以减少给药次数,避免不必要的大量给药;另外,皮肤外用制剂还具有患者顺应性高的优点。但氨甲环酸极性很强,水溶液透皮能力差,直接将氨甲环酸制成简单的皮肤外用制剂严重影响其疗效的发挥。

[0006] 目前,尚无自行研制的氨甲环酸皮肤外用制剂,已有报道将氨甲环酸与其它多种成分的简单组合(中国专利CN99800921.0、中国专利CN200580031837、中国专利CN201110122382.1),用以达到美白或预防色素沉着作用,但是这种组合成分较复杂,机理不明确,对皮肤具有一定的刺激性及损害性,多属于化妆品领域。

[0007] 因此,本发明根据皮肤角质层的组成(类脂、蛋白质、水),以具有良好生物相容性的脂质材料为基质设计制备了氨甲环酸纳米制剂,作为皮肤外用制剂。该制剂可通过脂质材料与细胞膜的融合实现氨甲环酸的深层转运;其中具有纳米尺度的粒子还可通过纳米效应增加药物经皮通透性,增加其疗效;同时局部用药大大减少了其不良反应。故根据本发明的氨甲环酸皮肤外用制剂具有良好的应用前景。

发明内容

[0008] 本发明的一个目的是提供一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其能有效地预防或治疗皮肤色素沉着,具有疗效高、毒性低的特点。

[0009] 本发明的另一个目的是提供上述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的制备方法。

[0010] 本发明的再一个目的是提供上述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的用途。

[0011] 根据本发明的第一个方面,提供了一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其由下述原料按重量百分比混合而成:

[0012]	氨甲环酸	1%~15%
	药用油	10%~30%
	乳化剂	1%~10%
	药用添加剂	0.001%~20%
	增稠剂	0.1%~1%
	纯净水	余量。

[0013] 优选地,本发明提供了一种氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,其由下述原料按重量百分比混合而成:

[0014]	氨甲环酸	5%~10%
	药用油	10%~20%
	乳化剂	1%~10%
	药用添加剂	0.001%~10%
	增稠剂	0.1%~1%
	纯净水	余量。

[0015] 本发明中,所述药用油为药学中可接受的油类,选自植物油、中链甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯及其混合物。所述中链甘油三酯指的是由含有6~12个碳原子组成碳链的中链脂肪酸被甘油酯化形成的甘油三酯,典型的中链甘油三酯例如为饱和辛酸甘油三酯或饱和癸酸甘油三酯或饱和辛酸-癸酸混合的甘油三酯。优选地,可用于本发明的药用油包括:大豆油、茶油、芝麻油、鱼油、花生油、红花油、橄榄油、蓖麻油、椰子油、辛酸癸酸甘油三酯、肉豆蔻酸异丙酯等或其混合物,更优选选自大豆油、辛酸癸酸甘油三酯、蓖麻油、橄榄油及其混合物。

[0016] 本发明中,所述乳化剂为能使其它物质变成乳化状态的药用辅料。常用的乳化剂是表面活性剂,其主要作用是通过在油-水界面上吸附,从而降低界面能同时在液珠表面形成一层具有一定强度的保护膜。例如,可用于本发明纳米制剂中的乳化剂包括:非离子或阴离子乳化剂,例如,吐温80、吐温60、麦泽52、硬脂酸甘油酯、聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯氢化蓖麻油、卵磷脂(如大豆卵磷脂、蛋黄卵磷脂)、聚乙二醇硬脂酸酯、磷脂酰乙醇胺、PEG衍生化磷脂酰乙醇胺、双肉豆蔻磷脂酸胆碱等或其混合物。本发明中,优选的乳化剂选自聚氧乙烯蓖麻油、吐温80、蛋黄卵磷脂、聚乙二醇硬脂酸酯15(Solutol HS15)及其混合物。

[0017] 本发明中,所述增稠剂选自卡波姆、透明质酸、聚维酮、西黄蓍胶、纤维素类化合物(如羧甲基纤维素钠、羟丙纤维素、羟丙甲纤维素)及其混合物,优选选自卡波姆、透明质酸、羧甲基纤维素类化合物(如羧甲基纤维素钠)及其混合物。本发明中,所述增稠剂以水溶液的形式使用,其水溶液的浓度范围可优选为0.1%~10%。

[0018] 本发明中,所述药用添加剂为选自渗透压调节剂、pH调节剂、抗氧化剂和防腐剂中的一种或多种。

[0019] 本发明中,所述渗透压调节剂用于调节制剂的渗透压,对其种类没有限制,只要可使制剂稀释3倍后渗透压在200~600mOsmol范围内即可,优选选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、丙二醇、丙三醇、甘露醇、蔗糖、山梨醇及其混合物,更优选选自葡萄糖、丙三醇、氯化钠及其混合物。

[0020] 本发明中,所述抗氧化剂用于延缓或防止制剂中易氧化物质的氧化,对其种类没有限制,只要具有抗氧化作用即可,优选选自丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)、没食子酸丙酯(PG)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、硫代二丙酸二月桂酯等多元酚类物质、维生素E(VE)、D-抗坏血酸钠、L-抗坏血酸棕榈酸酯、亚硫酸盐、L-半胱氨酸盐酸盐、硫丙三醇等常用抗氧化剂及其混合物,更优选选自维生素E、D-抗坏血酸钠、二丁基羟基甲苯及其混合物。

[0021] 本发明中,所述防腐剂用于延迟微生物生长或化学变化引起的制剂腐败变质,对其种类没有限制,只要可抑制药物腐败即可,优选选自尼泊金酯防腐剂(如尼泊金甲酯、尼泊金丙酯)、苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其盐、苯扎溴铵、醋酸氯己定等常用防腐剂及其混合物,更优选为尼泊金酯防腐剂、苯扎溴铵、山梨酸及其盐。

[0022] 本发明中,所述pH调节剂用于调节制剂的pH值,对其种类没有限制,只要可调节制剂的pH值至所需范围内即可,优选选自盐酸、氢氧化钠、氨丁三醇以及各类缓冲盐体系(如醋酸-醋酸钠、柠檬酸-柠檬酸钠、枸橼酸-枸橼酸钠、磷酸盐等),更优选为氢氧化钠、磷酸盐或氨丁三醇。

[0023] 从制剂的稳定性、防止皮肤刺激性等角度考虑,本发明的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的pH通常可为4.0~8.0,并优选为5.0~7.0。

[0024] 根据本发明的第二个方面,提供了上述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的制备方法,其包括以下步骤:

[0025] 1)将氨甲环酸和选自乳化剂、药用添加剂中的水溶性物质溶解于纯净水中,在20~80℃条件下搅拌溶解使其混合均匀,得到水相;

[0026] 2)将药用油和选自乳化剂、药用添加剂中的油性物质,在30~80℃条件下搅拌使其混合均匀,得到油相;

[0027] 3)将所述油相、水相混合,采用高剪切或高压均质机在20~80℃条件下制备纳米微乳;

[0028] 4)将所得纳米微乳与增稠剂水溶液按一定比例(纳米微乳与增稠剂水溶液的比例范围优选为9:1~6:4(w/w),更优选比例为7:3(w/w))混合并搅拌均匀,调节pH值至4.0~8.0(优选5.0~7.0)范围内,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

[0029] 本发明的氨甲环酸皮肤外用制剂具有优异的吸收性。为确保皮肤对其较好的吸收,本发明的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径应不超过0.5 μm ,90%粒径累积值应不超过0.8 μm ;优选地,平均粒径应不超过0.3 μm ,90%粒径累积值应不超过0.5 μm ;最优选地,平

均粒径应不超过 $0.15\mu\text{m}$,90%粒径累积值应不超过 $0.3\mu\text{m}$ 。

[0030] 本发明氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的优点在于:(1)根据皮肤角质层的组成(类脂、蛋白质、水),以具有良好生物相容性的脂质材料为基质制备氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,该制剂可通过脂质材料与细胞膜的融合实现氨甲环酸的深层转运;(2)氨甲环酸皮肤外用纳米制剂中具有纳米尺度的粒子还可通过纳米效应增加氨甲环酸的经皮通透性,进而增加其疗效;(3)氨甲环酸皮肤外用纳米制剂通过局部用药大大减少了其全身用药的不良反。故根据本发明的氨甲环酸皮肤外用制剂具有良好的应用前景。

[0031] 根据本发明的第三个方面,提供了上述氨甲环酸皮肤外用纳米制剂用于制备预防或治疗色斑和黄褐斑、抑制酪氨酸酶活性、降低活性黑色素细胞数量、减少黑色素活性形成、和/或改善局部皮肤黯沉的药物的用途。

[0032] 本发明的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂具有预防或治疗色素沉着的作用,可用于治疗色斑和黄褐斑、抑制酪氨酸酶活性、降低活性黑色素细胞数量、减少黑色素活性形成以及改善局部皮肤黯沉。

附图说明

[0033] 图1是显示根据本发明的制备实施例1和2制备的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂离体皮肤组织Franz扩散考察结果的曲线图($n=3$)。

[0034] 图2是显示根据本发明的制备实施例1和2制备的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂离体皮肤组织Franz扩散考察结果前6h放大图($n=3$)。

[0035] 图3是显示根据本发明的制备实施例1和2制备的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂离体皮肤组织渗透考察结果的曲线图($n=3$)。

具体实施方式

[0036] 下面结合具体的实施例,并参照数据进一步详述本发明。应理解,这些实施例只是为了举例说明本发明,旨在说明本发明的具体配方组成、制备方法及其功能和效果,而非以任何方式限制本发明的范围。

[0037] 在以下实施例中,未详细描述的各种过程和方法是本领域中公知的常规方法。

[0038] 本发明中,所用试剂、设备的来源和商品名,均在首次出现时标明,其后所用相同试剂如无特殊说明,均与首次标明的内容相同。其中,氨甲环酸原料药购于湖南洞庭药业有限公司。

[0039] 制备实施例

[0040] 制备实施例1

[0041] 处方1:

[0042]

成分	重量百分比
氨甲环酸	5%
大豆油	10%
聚氧乙烯蓖麻油	5%
甘油	2%
维生素 E (VE)	0.001%
尼泊金乙酯	0.2%
1%卡波姆水溶液	30%
NaOH	调节 pH 至 5~7
纯净水	余量

[0043] 制备方法:

[0044] ①称取处方量氨甲环酸、甘油(汕头市紫光古汉氨基酸有限公司制造)溶解于纯净水中,在 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 条件下采用磁力搅拌(IKA公司制造,型号:RET Basic C)于300rpm搅拌约10min,至氨甲环酸完全溶解得水相。

[0045] ②称取处方量的尼泊金乙酯(湖南尔康制药有限公司制造)、大豆油(铁岭北亚药用油有限公司制造),预热至 $70 \pm 10^\circ\text{C}$,采用磁力搅拌于300rpm搅拌约10min,至尼泊金乙酯完成溶解后加入处方量的聚氧乙烯蓖麻油(德国BASF公司制造,商品名:Cremophor EL)和VE(帝斯曼维生素(上海)有限公司制造),继续搅拌使溶液混合均匀得油相。

[0046] ③将油相、水相于 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 水浴,高剪切机(IKA公司制造,型号T25digital)剪切10min形成初乳。

[0047] ④将此初乳通过高压均质机(ATS Engineering Inc.制造,型号:AH100D),调整压力为700~1200bar,循环5~15周得到氨甲环酸浓缩纳米微乳。

[0048] ⑤将浓缩纳米微乳与1%卡波姆(美国Lubrizol公司制造,型号:980NF)增稠剂水溶液按7:3(w/w)比例室温条件下缓慢搅拌混匀,对纳米微乳进行增稠,以NaOH调节pH至5.0~7.0,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

[0049] 所制得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径为105.0nm,多分散系数为(Polydispersity Index,PI)0.069。

[0050] 制备实施例2

[0051] 处方2:

[0052]

成分	重量百分比
氨甲环酸	5%
辛酸癸酸甘油三酯	18%
蛋黄卵磷脂	1%
甘油	2%
D-抗坏血酸钠	0.025%
尼泊金丙酯	0.2%
2%羟丙纤维素水溶液	30%
磷酸二氢钠	调节 pH 至 5~7
纯净水	余量

[0053] 制备方法:

[0054] ①称取处方量氨甲环酸、甘油、D-抗坏血酸钠(国药集团化学有限公司制造)溶解于纯净水中,在 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 条件下采用磁力搅拌于300rpm搅约拌10min,至氨甲环酸完全溶解得水相。

[0055] ②称取处方量的尼泊金丙酯(湖南尔康制药有限公司制造)、辛酸癸酸甘油三酯(铁岭北亚药用油有限公司制造)、蛋黄卵磷脂(日本丘比公司制造),预热至 $70 \pm 10^\circ\text{C}$,采用磁力搅拌于300rpm搅拌约10min,使各物质溶解得油相。

[0056] ③将油相、水相于 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 水浴,高剪切机剪切10min形成初乳。

[0057] ④将此初乳通过高压均质机,调整压力为700~1200bar,循环5~15周得到氨甲环酸浓缩纳米微乳。

[0058] ⑤将浓缩纳米微乳与2%羟丙纤维素(日本信越株式会社制造,型号:HPC-H)增稠水溶液液按7:3(w/w)比例室温条件下缓慢搅拌混匀,对纳米微乳进行增稠,以磷酸二氢钠调节pH至5.0~7.0,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

[0059] 所制得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径为99.2nm,多分散系数为(Polydispersity Index,PI)0.130。

[0060] 制备实施例3

[0061] 处方3:

[0062]

成分	重量百分比
氨甲环酸	8%
蓖麻油	20%
吐温 80	1%
甘油	2%
二丁基羟基甲苯	0.015%
苯扎溴铵	0.02%
1%透明质酸水溶液	30%
氢氧化钠	调节 pH 至 5~7
纯净水	余量

[0063] 制备方法:

[0064] ①称取处方量氨甲环酸、甘油、苯扎溴铵(太仓制药厂制造)溶解于纯净水中,在 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 条件下采用磁力搅拌于300rpm搅拌约10min,至氨甲环酸完全溶解得水相。

[0065] ②称取处方量的二丁基羟基甲苯(北京凤礼精求商贸有限公司提供)、蓖麻油(湖南尔康制药有限公司制造)、吐温80(上海申宇医药化工有限公司制造),预热至 $70 \pm 10^\circ\text{C}$,采用磁力搅拌于300rpm搅拌约10min,使各物质溶解得油相。

[0066] ③将油相、水相于 $70 \pm 10^\circ\text{C}$ 水浴,高剪切机剪切10min形成初乳。

[0067] ④将此初乳通过高压均质机,调整压力为700~1200bar,循环5~15周得到氨甲环酸浓缩纳米微乳。

[0068] ⑤将浓缩纳米微乳与1%透明质酸(山东福瑞达生物化工有限公司制造)增稠剂水溶液按7:3(w/w)比例室温条件下缓慢搅拌混匀,对纳米微乳进行增稠,以氢氧化钠溶调节pH至5.0~7.0,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

[0069] 所制得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径为90.1nm,多分散系数为(Polydispersity Index,PI)0.100。

[0070] 制备实施例4

[0071] 处方4:

[0072]

成分	重量百分比
氨甲环酸	10%
橄榄油	20%
Solutol HS15	6%
氯化钠	0.9%
VE	0.001%
山梨酸	0.1%
2%羧甲基纤维素钠水溶液	30%
柠檬酸-柠檬酸钠水溶液 (0.1mol/L, pH6.6)	调节 pH 至 5~7
纯净水	余量

[0073] 制备方法:

[0074] ①称取处方量氨甲环酸、Solutol HS15(德国BASF公司制造)、氯化钠(江苏省勤奋药业有限公司制造)、山梨酸(湖南尔康制药有限公司制造)溶解于纯净水中,在 $70 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 条件下采用磁力搅拌于300rpm搅拌10min,至完全溶解得水相。

[0075] ②称取处方量的橄榄油(西安藻露堂药业集团康复医药有限公司)、VE,预热至 $70 \pm 10^{\circ}\text{C}$,采用磁力搅拌于300rpm搅拌约10min,使各物质溶解得油相。

[0076] ③将油相、水相于 $70 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 水浴,高剪切机剪切10min形成初乳。

[0077] ④将此初乳通过高压均质机,调整压力为700~1200bar,循环5~15周得到氨甲环酸浓缩纳米制剂。

[0078] ⑤将浓缩纳米制剂与2%羧甲基纤维素钠(安徽山河药用辅料有限公司制造)增稠剂水溶液按7:3(w/w)比例室温条件下缓慢搅拌混匀,对纳米制剂进行增稠,用柠檬酸-柠檬酸钠水溶液调节pH至5.0~7.0,即得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂。

[0079] 所制得氨甲环酸皮肤外用纳米制剂的平均粒径为115.6nm,多分散系数为(Polydispersity Index,PI)0.060。

[0080] 实验实施例

[0081] 实验实施例1

[0082] 根据化学药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则,采用如下方法对氨甲环酸皮肤外用纳米制剂进行皮肤刺激性考察。

[0083] 实验方法:取受试物0.5g(上述制备实施例1制备的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂)直接涂布于一侧已去毛的皮肤(动物:家兔,来源:上海药物研究所实验动物中心)上,然后用二层纱布(2.5cm×2.5cm)和一层玻璃纸或类似物覆盖,再用无刺激性胶布和绷带加以固定;另一侧涂布空白制剂(制备方法同制备实施例1,处方组成除不含氨甲环酸外其余同制备实施例1)作对照。贴敷4小时。贴敷结束后,除去受试物并用温水或无刺激性溶剂清洁给

药部位。多次给药皮肤刺激性试验应连续在同一部位给药,每次给药时间相同,贴敷期限为4天。

[0084] 结果观察:在自然光线或全光谱灯光下观察皮肤反应。按表1给出的评分标准对皮肤红斑和水肿进行评分。

[0085] 在每次去除药物1h后以及再次贴敷前观察及记录红斑及水肿、涂敷部位是否有色素沉着、出血点、皮肤粗糙或皮肤菲薄情况及其发生时间及消退时间,并对红斑及水肿进行评分。末次贴敷后,在去除药物后30-60分钟、24小时、48小时和72小时肉眼观察并记录涂敷部位有无红斑和水肿等情况。

[0086] 结果评价:

[0087] 多次给药皮肤刺激性试验,首先计算每一观察时间点各组积分均值,然后计算观察期限内每天每只动物积分均值,按表2进行刺激强度评价。

[0088] 表1皮肤刺激反应评分标准

	刺激反应	分值
	红斑	
	无红斑	0
[0089]	轻度红斑(勉强可见)	1
	中度红斑(明显可见)	2
	重度红斑	3
	紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
	水肿	
	无水肿	0
	轻度水肿(勉强可见)	1
[0090]	中度水肿(明显隆起)	2
	重度水肿(皮肤隆起1mm,轮廓清楚)	3
	严重水肿(皮肤隆起1mm以上并有扩大)	4
	最高总分值	8

[0091] 表2皮肤刺激强度评价标准

	分值	评价
	0-0.49	无刺激性
[0092]	0.5-2.99	轻度刺激性
	3.0-5.99	中度刺激性
	6.0-8.0	强刺激性

[0093] 家兔刺激性考察结果见表3及表4。

[0094] 表3空白制剂家兔刺激性实验结果(n=4)

[0095]

评价标准	时间				停药后	停药后	停药后
	1d	2d	3d	4d	24h	48h	72h
红斑	0	0	0	0	0	0	0
水肿	0	0	0	0	0	0	0
刺激性	无	无	无	无	无	无	无

[0096] 表4氨甲环酸皮肤外用纳米制剂给药组家兔刺激性实验结果(n=4)

[0097]

评价标准	时间				停药后	停药后	停药后
	1d	2d	3d	4d	24h	48h	72h
红斑	0	0	0	0	0	0	0
水肿	0	0	0	0	0	0	0
刺激性	无	无	无	无	无	无	无

[0098] 整个实验过程中未观察到有色素沉着、出血点、皮肤粗糙或皮肤菲薄等情况。由此可见,所制得的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂无刺激性,安全性良好。

[0099] 实验实施例2

[0100] 选择上述制备实施例1及制备实施例2中所述处方制备氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,考察其对新生大鼠背部皮肤的离体扩散/渗透性。

[0101] 离体扩散实验方法:新生大鼠背部皮肤(动物:SD大鼠,来源:上海药物研究所实验动物中心),去除脂肪、肌肉、粘膜等组织后,夹在改良Franz扩散池中间,32℃水浴。供给池给予0.5ml考察制剂:处方1、处方2;接收池装2ml生理盐水,搅拌子搅拌。于时间点0.5、1、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、20.0、24.0h从接收池取样品0.5ml,同时补0.5ml生理盐水。24h后取下皮肤组织,清洗干净,称重,加3ml生理盐水匀浆,离心,取上清液以HPLC测定药物含量。实

验结果见图1和图2。

[0102] 离体渗透实验方法:取新生大鼠背部皮肤,去除脂肪、肌肉、粘膜等组织后,平铺于培养皿中,32℃水浴。皮肤角质层面分别给予考察制剂:处方1、处方2(保持制剂/组织在同一质量比);于时间点1.0、2.0、6.0、8.0h取出组织,清洗干净,称重,加3ml生理盐水匀浆,离心,取上清液以HPLC测定药物含量。实验结果见图3。

[0103] 由图1、图2及图3可见,上述两个处方对新生大鼠背部皮肤的离体扩散/渗透性总体呈现持续扩散的趋势,表明根据本发明的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂透皮效果良好。

[0104] 实验实施例3

[0105] 选择上述制备实施例1及制备实施例2中所述处方制备的氨甲环酸皮肤外用纳米制剂,考察其在黄褐斑实验动物模型中对黄褐斑的疗效。

[0106] 实验方法详述如下:

[0107] 小鼠黄褐斑动物模型的建立:取雌性小鼠(动物:昆明种小鼠,来源:上海药物研究所实验动物中心)50只,体重25~35g,以10%Na₂S(国药集团化学试剂有限公司)水溶液脱毛去背部右侧毛,裸露出皮肤1块,面积约1.5cm×1.5cm,以0.4%的黄体酮注射液(上海通用药业股份有限公司,规格1ml:20mg)按0.02g/kg剂量于小鼠后肢肌肉注射,每周注射6d,连续4周,每周脱毛一次。正常组按0.02g/kg剂量于小鼠后肢肌肉注射灭菌注射用水。

[0108] 动物给药及指标检测:取上述模型动物,随机分为5组,每组10只。正常组、模型组、处方1、处方2、氢醌乳膏阳性对照组(上海长海医院,规格20g:0.4g)。氨甲环酸皮肤外用制剂治疗组分别在小鼠造模当日皮肤局部用药,每日1次,每周6次,连续用药30天。正常组和模型组于相应时间给予蒸馏水局部涂抹;氢醌乳膏阳性药对照组于造模当日开始局部用药,时间和疗程同氨甲环酸皮肤外用制剂治疗组。用药30天后,记录模型动物给药部位皮肤色素沉着状态,颈椎脱臼处死小鼠,背部去毛,迅速取涂药部位的皮肤组织,用冰冷的生理盐水冲洗,除去血液,滤纸吸干,切取皮肤0.5g,放入2.0ml预冷生理盐水的烧杯中,剪碎组织,再倒入试管中,以高速分散器匀浆两次,每次10秒;再以3500r/min转速离心15分钟,取上清液。采用黄嘌呤氧化酶法,按SOD(超氧化物歧化酶)试剂盒(南京建成生物工程研究所)检测说明书方法测定上清液中的SOD值;采用硫代巴比妥酸法,按MDA(丙二醛)试剂盒(南京建成生物工程研究所)检测说明书方法测定上清液中的MDA值。

[0109] 小鼠局部涂抹氨甲环酸皮肤外用制剂后,皮肤组织液中SOD酶活性、MDA的测定结果及色素沉着状态见表5。

[0110] 表5各组小鼠皮肤组织SOD、MDA含量测定($\bar{x} \pm s$)

[0111]

组别	n	SOD (nU/g)	MDA (nmol/g)	色素沉着状态
正常组	10	0.478 ± 0.056**	0.062 ± 0.021**	无
模型组	10	0.373 ± 0.045	0.098 ± 0.019	色素沉着显著
阳性组	10	0.433 ± 0.055*	0.073 ± 0.021*	色素显著淡化
处方1	10	0.423 ± 0.055*	0.075 ± 0.017*	色素显著淡化
处方2	10	0.430 ± 0.047*	0.078 ± 0.015*	色素显著淡化

[0112] 备注:与模型组比较* $P < 0.05$,** $P < 0.01$, \bar{x} :平均值, s :标准差

[0113] 从表5可见:正常组的各项指标与模型组相比较,具有极显著性差异($P < 0.01$),说明复制黄褐斑小鼠动物模型是成功的。模型组小鼠皮肤组织中SOD酶活性含量显著低于正常组,而治疗后,阳性组、处方1组、处方2组小鼠皮肤组织中SOD酶活性含量明显增加,且阳性组、处方1组和处方2组与模型组相比均具有显著性差异($P < 0.05$)。此外,模型组小鼠皮肤组织中丙二醇含量显著高于正常组($P < 0.01$),而治疗后,阳性组、处方1组、处方2组小鼠皮肤组织中丙二醛含量明显降低,且阳性组、处方1组和处方2组与模型组相比均具有显著性差异($P < 0.05$)。再次,模型组小鼠皮肤明显出现色素沉着现象,而阳性组、处方1组和处方2组色素均显著淡化。

[0114] 上述结果表明,本发明的氨甲环酸皮肤外用制剂能提高局部皮肤组织中SOD酶活性和降低丙二醛含量,显著改善皮肤的色素沉着情况,与阳性对照氢醌组比较无显著性差异。可见,本发明的氨甲环酸皮肤外用制剂可显著改善色素沉积,对黄褐斑具有明显的治疗作用。

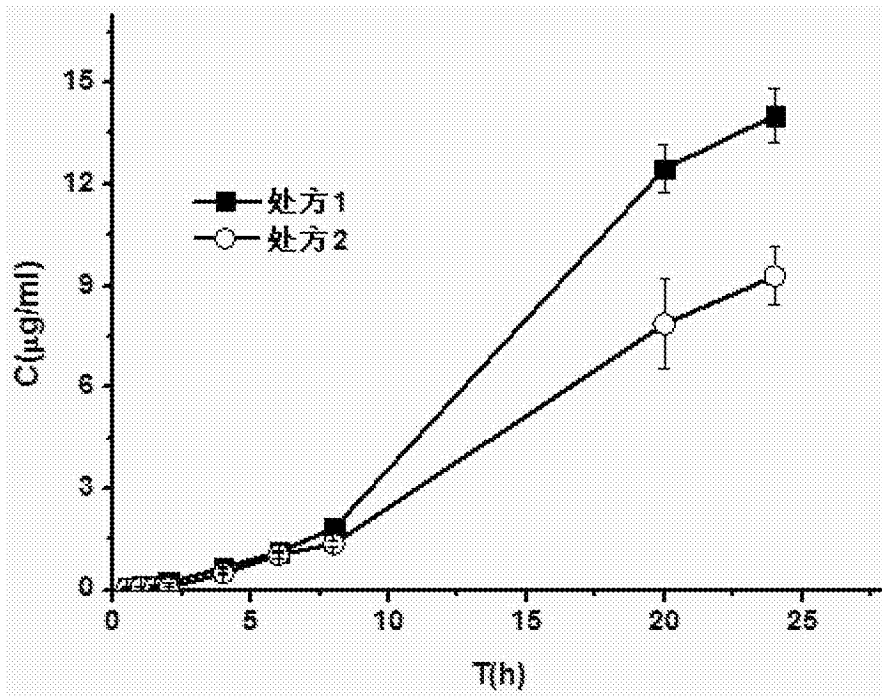


图1

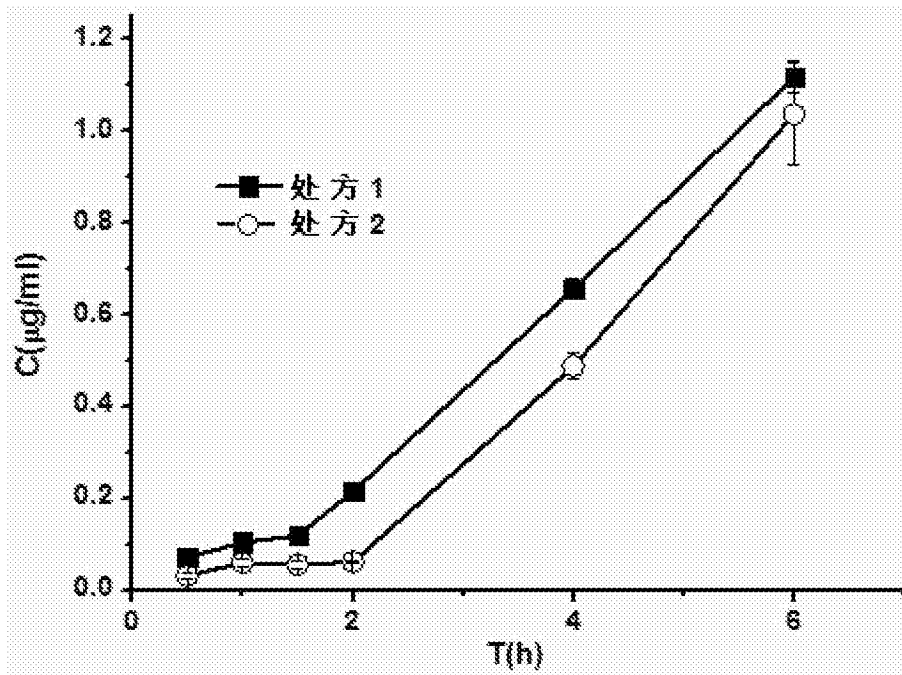


图2

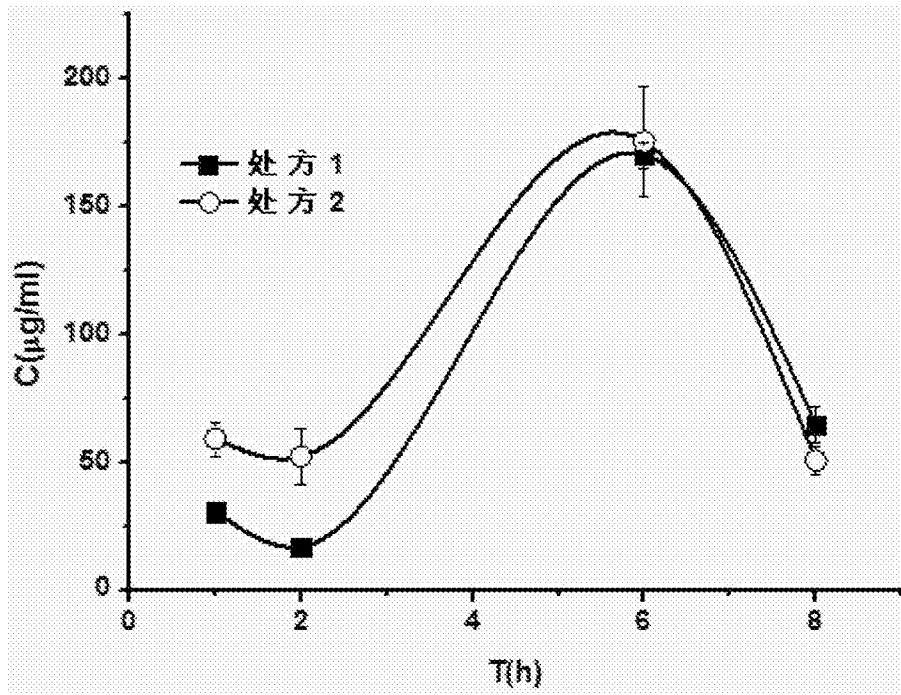


图3