

5-氟尿嘧啶-蛇葡萄素复方脂质体的制备

赵莉莎, 刘德育^{*}(中山大学药学院, 广州 510006)

摘要: 目的 制备 5-氟尿嘧啶-蛇葡萄素复方脂质体并建立同时测定 2 种药物含量的紫外分光光度法。方法 紫外分光光度法确定 5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素的测定条件。比较几种脂质体的制备方法, 以包封率和粒径为指标, 确定最优制备方法; 采用正交设计进行优化处方和制备工艺。结果 采用紫外分光光度法测定 5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素, 2 种药物的加样回收率均在 99%~102%之间。以薄膜分散超声法为制备方法, 以单因素考察结合正交设计优选出的最佳处方和制备工艺, 主药: 卵磷脂=1:20, 卵磷脂:胆固醇=4:1, 磷脂浓度 50 g·L⁻¹; 维生素 E 的用量为 5%, 磷酸盐缓冲溶液 pH 为 7.4。5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素的包封率分别为(44.79±1.55)%和(75.47±0.91)% (n=3); 复方脂质体的粒径为(142±3.6)nm。5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素的体外 12 h 累积释放率分别为 43.05%和 60.24%。结论 将 5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素同时包封于脂质体制成复方脂质体, 所采用的制备工艺简单可行, 重复性好, 包封率较高。建立的紫外分光光度法可同时测定复方脂质体中的 5-氟尿嘧啶和蛇葡萄素含量。

关键词: 5-氟尿嘧啶; 蛇葡萄素; 复方脂质体; 薄膜分散超声法; 紫外分光光度法

中图分类号: R944.9

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)01-0158-06

Preparation of 5-Fluorouracil and Ampelopsin Compound Liposome

ZHAO Lisha, LIU Deyu^{*} (School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the preparation of 5-fluorouracil and ampelopsin compound liposome and to establish a ultraviolet spectroscopy for simultaneous determination of the two drugs. **METHODS** Based on the test of single factors, the optimized formulation of compound liposome was obtained by the orthogonal methodology. Entrapment ratio and diameter of the liposome were served as index. The entrapment efficiency of compound liposome was determined by means of Sephadex gel chromatography. The contents of 5-fluorouracil and ampelopsin were determined by ultraviolet spectroscopy. **RESULTS** Ultraviolet spectrophotometry was used for analyzing the amount of 5-fluorouracil and ampelopsin. The recovery of 5-fluorouracil and ampelopsin was in a range of 99%–102%. The compound liposomes were prepared by the film-dispersion-ultrasonic technique. The best craft produce was investigated by single factor and the optimal preparation conditions were as follows: drug : lecithin=1 : 20, lecithin : cholesterol=4 : 1, phospholipid concentration 50 g·L⁻¹, vitamin E 5%, pH 7.4 phosphate buffer 16 mL. The entrapment efficiencies of 5-fluorouracil and ampelopsin of compound liposome were (44.79±1.55)% and (75.47±0.91)% (n=3), and the particle size was (142±3.6)nm. The *in vitro* 12 h accumulative release of 5-fluorouracil and ampelopsin were 43.05% and 60.24% of the total drug. **CONCLUSION** Film-dispersion-ultrasonic technique for the compound liposome preparation is simple and efficiency. Compound liposome has high entrapment efficiency and the quality of the liposome is controllable. This ultraviolet spectroscopy can be used for quality control of 5-fluorouracil and ampelopsin in the compound liposome.

KEY WORDS: 5-fluorouracil; ampelopsin; compound liposomes; film-dispersion-ultrasonic technique; ultraviolet spectroscopy

复方脂质体是将 2 种或 2 种以上的具有协同作用的药物同时包封于脂质体给药系统, 起到降低局部刺激性、改善药物体内性质、提高疗效的作用^[1-2]。5-氟尿嘧啶(5-Fu)是临床常用的抗肿瘤药物。蛇葡萄素(Amp)是从我国传统的中草药植物中提取的活性成分, 已有较多的细胞实验和动物体内实验结果显示 Amp 具有显著的抗肿瘤活性^[3]。Amp 对肿瘤细胞的杀伤效应不及经典的肿瘤化疗药物 5-Fu, 但是 Amp 与 5-Fu 联用对肿瘤细胞株

的生长与增殖的抑制具有明显的协同作用, 同时 Amp 还具有逆转肿瘤细胞对 5-Fu 多药耐药性的作用^[4]。本实验在此前制备蛇葡萄素脂质体的基础上^[5], 拟将 2 种性质不同的抗肿瘤药物 5-Fu 和 Amp 同时包封于脂质体给药系统, 制备成抗癌复方脂质体。

1 材料和方法

1.1 材料

5-Fu(上海邦成化工有限公司, 批号: 20090907,

作者简介: 赵莉莎, 女, 硕士 Tel: 13631458227 E-mail: zls_hxs@163.com
E-mail: liudeyu@mail.sysu.edu.cn

^{*}通信作者: 刘德育, 男, 教授 Tel: 13380055198

含量>98%); Amp(本研究室提供, 纯度>95%); 卵磷脂(注射级, 上海太伟药业有限公司, 批号: 070208); 胆固醇(上海伯奥生物科技有限公司, 生化试剂, 批号: 040109); 维生素 E(广州威佳科技有限公司, 进口分装); 葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 (Pharmacia 进口分装); 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 制备工艺

按处方量称取 Amp、磷脂、胆固醇和维生素 E, 用 30 mL 氯仿和 20 mL 乙醇的混合液溶解, 转移至 1 000 mL 的圆底烧瓶中, 减压蒸发至溶液形成一层均匀薄膜, 通入氮气使溶剂挥发尽。称取处方量的 5-Fu 加入 pH7.4 的 PBS 溶液溶解, 将该溶液加入已成膜的圆底烧瓶中, 37 °C 下减压旋转 2 h, 使薄膜脱落溶解水合成脂质体初悬液, 置于探头式超声仪中 80~100W 超声处理 5 min(每超声 10 s, 停 10 s)。

1.3 5-Fu 及 Amp 含量的测定

1.3.1 测定波长的选择 用甲醇溶解配制 5-Fu 和 Amp 各为 20 mg·L⁻¹ 的溶液。分别称取大豆磷脂、胆固醇等辅料适量, 加甲醇溶解并稀释成相同倍数的溶液。上述溶液用紫外分光光度计进行波长扫描。

1.3.2 工作曲线的绘制 分别精密称取 Amp 或 5-Fu 原料药, 加甲醇溶解并制成浓度分别为 2, 4, 10, 16, 20, 24 mg·L⁻¹ 的标准溶液, 以紫外分光光度法测定 Amp 或 5-Fu 吸收值。

1.3.3 加样回收率试验 按处方量的 80%, 100%, 120% 分别称取 Amp 和 5-Fu 原料药适量, 相同质量的 2 份相混和, 分别加处方比例的辅料, 用甲醇溶解后, 制成浓度分别为 2, 10, 20 mg·L⁻¹ 的 Amp 和 5-Fu 的混和溶液, 以紫外分光光度法测定, 计算 Amp 和 5-Fu 的回收率。

1.4 包封率的测定

1.4.1 Amp、5-Fu 溶液凝胶柱保留行为 用甲醇溶液分别配置 Amp 或 5-Fu 使浓度为 1 g·L⁻¹ 的溶液。分别移取 0.5 mL 上葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 色谱柱, pH 7.4 的磷酸盐缓冲液洗脱, 每 2 mL 为 1 份分段收集洗脱液。按“1.3”项下方法测定 Amp 和 5-Fu 的含量, 绘制洗脱曲线。

取复方脂质体混悬液 0.5 mL 按上述分离条件进行分离。分开收集洗脱液, 每管 2 mL, 白色浑浊部分每管 1 mL, 共收集 40 管。每管加甲醇破乳定容至 5 mL, 按“1.3”项下方法测定 Amp 和 5-Fu

的含量。

1.4.2 柱回收率的测定 称取 Amp 和 5-Fu 样品各 3 份, 用甲醇分别配制成高、中、低 3 种浓度, 分别移取 0.5 mL 上 Sephadex G-100 色谱柱, 按“1.4.1”项下条件进行柱层析, 收集 30~54 mL 洗脱下的游离药物组分, 用甲醇定容至 50 mL, 分别测定 Amp 和 5-Fu 的含量记为测得量; 另取 0.5 mL 同一样品溶液, 用甲醇定容至 50 mL, 测定其浓度, 记为加入量。以测得量/加入量分别计算游离 Amp 和 5-Fu 的柱回收率。

1.4.3 加样回收率试验 分别配制高、中、低 3 种浓度的 Amp 和 5-Fu 溶液, 将相同浓度的 2 种溶液各取 1 mL 混合, 再分别与 1 mL 的空白脂质体溶液混和, 用甲醇稀释定容。分别移取 0.5 mL 上 Sephadex G-100 色谱柱, 以下按“1.4.2”项下的测定方法进行。

1.4.4 复方脂质体包封率的测定 精密量取复方脂质体 0.5 mL, 置 Sephadex G-100 色谱柱中, 以 PBS (pH 7.4) 为流动相, 流速 0.5 mL·min⁻¹, 每 2 mL 收集 1 管, 共收集 40 管。分段收集, 8~16 mL 为复方脂质体部分, 30~54 mL 为游离药物部分, 按“1.3”项下方法分别测定 2 部分洗脱液中 Amp 和 5-Fu 的含量, 脂质体中的药物含量记作 $W_{包}$, 游离的药物含量记作 $W_{游}$, 按下式计算包封率: 包封率(%)=脂质体中药物含量/(脂质体中药物含量+游离药物含量)×100%。

1.5 制备方法的选择

按处方量称取 Amp、卵磷脂、胆固醇和维生素 E, 用 30 mL 氯仿与 20 mL 乙醇的混合液溶解作为油相; 称取处方量的 5-Fu 加入 PBS 溶液溶解作为水相。分别按常规的薄膜分散超声法、逆向蒸发法和乙醇注入超声法^[6]制备复方脂质体。

逆向蒸发法: 将油相用超声波短时超声, 形成稳定的乳剂, 置于圆底烧瓶中, 真空旋转除去有机溶剂。将水相溶液加入烧瓶中, 超声乳化 30 min, 即得乳白色脂质体悬液。

乙醇注入超声法: 将水相溶液加热至 37 °C 并保持恒温, 在不断搅拌下匀速注入油相溶液, 加完后继续搅拌 1 h 至有机相挥尽, 得到乳白色脂质体悬液。

薄膜分散超声法见“1.2”项下内容。

1.6 单因素考察

经预实验, 拟定基本处方, 采用薄膜分散超

声法制备复方脂质体,以脂质体包封率和粒径为主要指标,考察磷脂浓度、水相 pH、药脂比、胆固醇与磷脂的比、维生素 E 用量等因素的影响。

1.7 处方的优选

在预实验的基础上结合单因素考察的结果,选择对脂质体包封率影响最为显著的药脂比、磷脂与胆固醇的比以及磷脂的浓度 3 个因素作为考察对象,每个因素取 3 个水平,按正交设计表 $L_9(3^4)$ 安排试验,以包封率为评价指标,对试验结果进行分析。

1.8 复方脂质体的形态

将复方脂质体用蒸馏水水化后稀释 10 倍,取少量混悬液在铜网上停留 2~3 min,然后浸于 2% 的磷钨酸染色剂中染色 2~3 min,自然干燥后置于透射电镜下观察,拍照。

1.9 复方脂质体的体外释放实验

1.9.1 Amp 和 5-Fu 复方脂质体体外释放实验 采用动态膜透析法进行体外释放实验。将透析袋置于蒸馏水中浸泡 24 h,吸取复方脂质体混悬液 5 mL(其中各含 6.25 mg 的 Amp 和 5-Fu),置于截留分子量 14 000 的透析袋中,平行操作 3 份,扎紧口袋,放入装有 500 mL PBS(pH 7.4)释放介质的容器中,透析袋两端系口,于 37 °C 恒温水浴中,转速 100 r·min⁻¹ 的恒温振荡器上预热 30 min 进行释放实验。分别于不同时间点取样 2 mL,同时补加 37 °C 的空白释放介质 2 mL。取出的释放介质用紫外分光光度法测定,分别计算出各时间点的 Amp 和 5-Fu 的累积释放率。

1.9.2 Amp 和 5-Fu 混和溶液体外释放实验 分别精密称取 Amp 和 5-Fu 各 20 mg,溶解于 16 mL 的 PBS 溶液中,混和均匀,配制成 1.25 g·L⁻¹ 的 Amp-5-Fu 物理混合液作为对照溶液。吸取该混合溶液 5 mL,按“1.9.1”项下方法进行体外释放实验,测定各时间点样品的药物浓度。

2 结果

2.1 5-Fu 及 Amp 含量的确定

Amp 在 292 nm 处有最大吸收;5-Fu 在 265 nm 处有最大吸收,而在 292 nm 和 316 nm 处无吸收;Amp 在 265 nm 处有吸收且等于其在 316 nm 处的吸收值,辅料不干扰 2 种主药含量的测定。吸收光谱见图 1。因此选择 292 nm 为 Amp 的测定波长,选择双波长法测定 5-Fu,测定波长为 265 nm,参比波长为 316 nm。结果表明,Amp 和 5-Fu 在 2.0~

24.0 mg·L⁻¹ 内线性良好,回归方程分别为 $A=0.043\ 26C+0.004\ 18$, $r=0.999\ 6$ 和 $A=0.050\ 05C+0.017\ 39$, $r=0.999\ 8$ 。高、中、低 3 种浓度回收率在 99%~102% 之间, $RSD<1.5\%$ 。

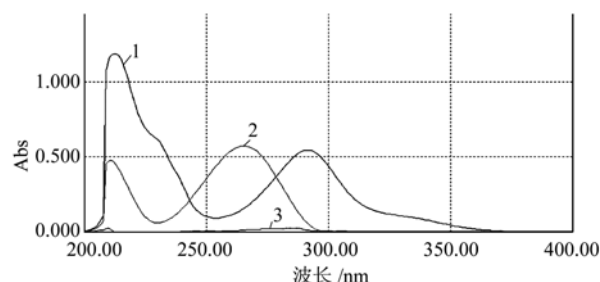


图 1 5-Fu, Amp 及辅料的吸收光谱

1-Amp; 2-5-Fu; 3-辅料

Fig 1 Absorption spectrum of 5-Fu, Amp and auxiliary material

1-Amp; 2-5-Fu; 3-auxiliary material

2.2 包封率的测定

由洗脱曲线可知,利用葡聚糖凝胶柱可以成功地将复方脂质体和游离的 Amp 和 5-Fu 分离。左边的 2 个重叠峰为脂质体中 Amp 和 5-Fu 的洗脱峰,右边的 2 个重叠峰为游离 Amp 和 5-Fu 的洗脱峰,两个流出峰的分离良好。复方脂质体中 Amp 和 5-Fu 的出峰时间基本相同,在 8~16 mL 被洗脱出柱;游离 Amp 和 5-Fu 的出峰时间也基本相同,在 30~54 mL 被洗脱出柱。洗脱曲线见图 2。

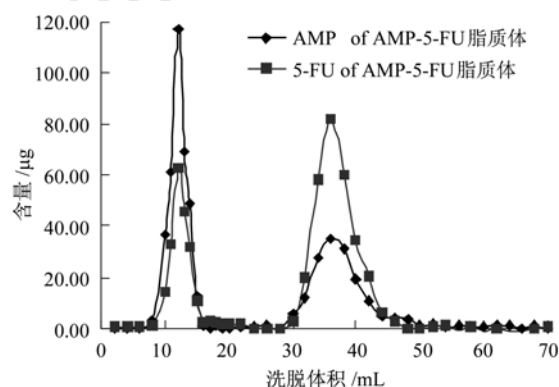


图 2 复方脂质体葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 柱的洗脱曲线

Fig 2 Flow curve of Amp-5-Fu liposome on dextran gel Sephadex G-100 column

柱回收率的测定结果显示,加入 0.8, 1.0, 1.2 g·L⁻¹ 的 Amp 或 5-Fu,测得的柱回收率 Amp 为 97.9%, 98.3%, 98.5%, 5-Fu 为 96.3%, 97.5%, 97.8%,表明 Sephadex G-100 色谱柱对游离的 Amp 和 5-Fu 不会产生吸附作用,2 种药物均可被完全洗脱下来。加入 0.8, 1.0, 1.2 g·L⁻¹ 的 Amp 或 5-Fu

于空白脂质体中,测得柱加样回收率 Amp 为 95.5%, 96.0%, 96.9%, 5-Fu 为 96.7%, 98.2%, 98.3%。结果表明,药物与空白脂质体的物理混合样中,脂质等辅料的加入不影响游离药物的洗脱。

2.3 脂质体制备方法

比较 3 种制备方法,其中薄膜分散超声法制得的脂质体的包封率最高,粒径也较小。结果见表 1。

表 1 不同制备方法对复方脂质体的包封率和粒径的影响 (n=3)

Tab 1 Effect of different preparation technique on entrapment efficiency and particle size of the compound liposome(n=3)

制备方法	包封率 (Amp)/%	包封率 (5-Fu)/%	粒径/nm	Zeta 电位/mV
薄膜分散超声法	56.2	28.4	142±83.1	-42.8±11.2
逆向蒸发法	17.54	18.47	152±72.4	-32.1±8.9
乙醇注入超声法	26.2	10.4	120±56.4	-30.4±14.5

2.4 脂质体制备条件

单因素试验结果显示,磷脂浓度增加,包封率上升,当磷脂浓度达到 40 g·L⁻¹ 时,包封率变化不多。采用氯仿:乙醇=1:1 的混合溶剂制成的脂质膜最好,水化后脂质混悬液最稳定。药脂比试验结果表明,随着药脂比的增加,Amp 和 5-Fu 的包封率呈现明显的增加趋势,当达到 1:20 时,包封率最大。当增加到 1:25 时又呈现下降的趋势,当药脂比>1:25 时,脂质体放置数天即析出结晶。卵磷脂与胆固醇的比例对包封率影响较大,采用卵磷脂与胆固醇的比分别为 2:1、4:1、6:1 和 8:1。结果显示,当卵磷脂与胆固醇的比为 4:1 时,包封率最高,当其比例超过 6:1 时脂质体出现絮凝沉淀。其比例继续增加时,包封率下降。结果还表明,维生素 E 的用量以及水相 pH 对包封率的影响不大。

2.5 处方正交试验结果

正交试验结果及方差分析分别见表 2 和表 3。由结果可知,以复方脂质体中 Amp 的包封率为评价指标,各因素重要程度依次为 A>B>C,最佳制备工艺为 A₃B₃C₃。以复方脂质体中 5-Fu 的包封率为评价指标,各因素重要程度依次为 A>B>C,最佳制备工艺为 A₃B₂C₃。2 个制备工艺方案相近,仅有因素 B 不同。综合考虑,选择的最佳制备工艺为 A₃B₂C₃,即药脂比为 1:20,磷脂与胆固醇的比为 4:1,磷脂浓度为 50 g·L⁻¹。

表 2 Amp-5-Fu 脂质体正交试验结果

Tab 2 The tests and results of orthogonal design for optimization of Amp-5-Fu liposome

No.	A 药脂比	B 磷脂: 胆固醇	C 磷脂浓度/ g·L ⁻¹	D 误差	包封率 (Amp)/ %	包封率 (5-Fu)/ %	粒径/ nm
1	1:10	3:1	30		37.02	33.94	155
2	1:10	4:1	40		48.73	27.77	163
3	1:10	5:1	50		59.68	34.29	163
4	1:15	3:1	40		56.52	30.49	132
5	1:15	4:1	50		65.98	40.75	143
6	1:15	5:1	30		64.75	29.78	181
7	1:20	3:1	50		68.54	32.32	142
8	1:20	4:1	30		71.45	40.52	146
9	1:20	5:1	40		72.12	44.70	145
Amp							
k1	48.48	54.03	57.74	58.37			
k2	62.42	62.05	59.12	60.67			
k3	70.70	65.52	64.73	62.55			
R	22.23	11.49	6.99	4.18			
5-Fu							
k1	32.00	32.25	34.75	39.80			
k2	33.67	36.35	34.32	29.96			
k3	39.18	36.26	35.79	35.10			
R	7.18	4.10	1.47	9.84			

表 3 方差分析

Tab 3 Results of variance analysis

	方差来源	离差平方和	自由度	F 比	P
Amp	A	757.02	2	28.83	<0.05
	B	208.44	2	7.94	>0.05
	C	82.29	2	3.13	>0.05
	误差	26.26	2		
	5-Fu				
5-Fu	A	84.68	2	0.583	>0.05
	B	32.84	2	0.226	>0.05
	C	3.415	2	0.023	>0.05
	误差	145.3	2		

注: F_{0.05(2,2)}=19.00

Note: F_{0.05(2,2)}=19.00

按所得的最优处方,即主药:卵磷脂=1:20,卵磷脂:胆固醇=4:1,磷脂浓度 50 g·L⁻¹;维生素 E 的用量为 5%,分别制备 3 批复方脂质体,测定脂质体的包封率、载药量[载药量(%)=(脂质体中所含药物重/膜材的总重量)×100%]、粒径等,结果见表 4。

表 4 优化处方制备的复方脂质体

Tab 4 Experimental verification results of the compound liposome

样品批次	1	2	3	$\bar{x} \pm s$
包封率(Amp)/%	76.52	74.87	75.02	75.47±0.91
包封率(5-Fu)/%	46.31	44.87	43.21	44.79±1.55
载药量/%	6.07	5.49	6.51	6.02±0.51
粒径/nm	138±88.3	143±44.0	145±55.4	142±3.6
Zeta 电位/mV	-26.6±9.5	-30.3±15.3	-31.7±7.9	-29.5±2.63

2.6 复方脂质体的形态

用 10×100 倍油镜观察多个视野, 可见粒子呈现布朗运动, 外观圆整, 粒子均匀, 且粒径较小, 有少量的不规则磷脂块。采用透射电镜进一步观察, 结果见图 3。

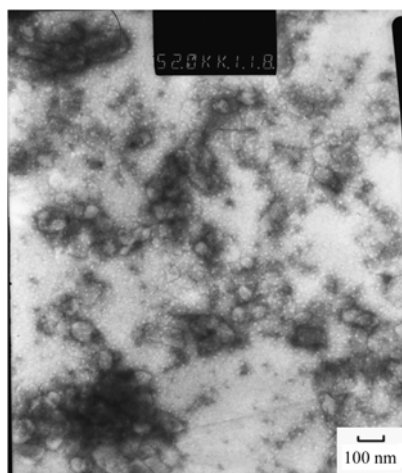


图 3 Amp-5-Fu 脂质体的透射电镜图片(52000×)

Fig 3 TEM Photos of Amp-5-Fu liposome(52000×)

2.7 体外释放结果

以时间 $t(h)$ 为横坐标, 累积释放率 $Q(\%)$ 为纵坐标, 绘制释放曲线。结果见图 4 和图 5。

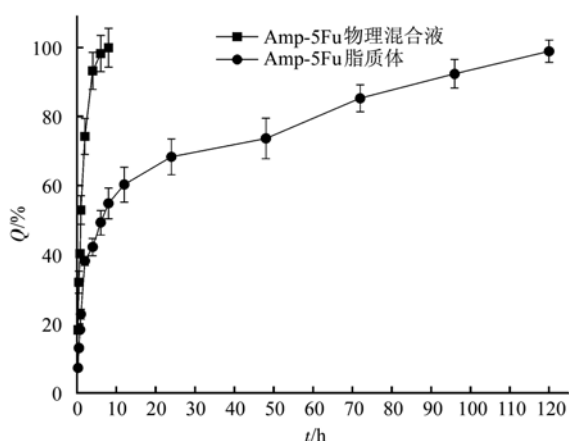


图 4 Amp-5-Fu 脂质体和 Amp-5-Fu 物理混合物在 pH7.4 磷酸盐缓冲液中 Amp 的释放曲线

Fig 4 The *in vitro* release curve of Amp in Amp-5-Fu liposome or Amp-5-Fu mixture at pH 7.4 PBS

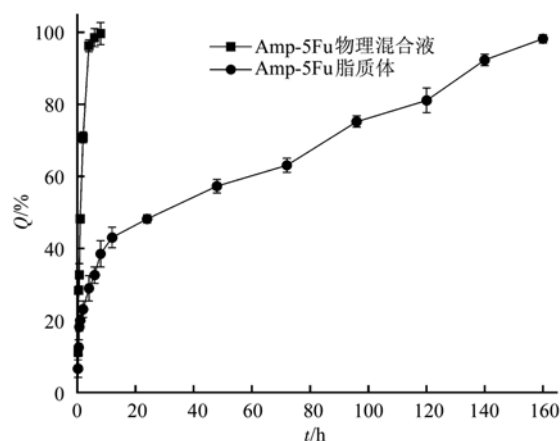


图 5 Amp-5-Fu 脂质体和 Amp-5-Fu 物理混合物在 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中 5-Fu 的释放曲线

Fig 5 The *in vitro* release curve of 5-Fu in Amp-5-Fu liposome or Amp-5-Fu mixture at pH 7.4 PBS

由结果可知, Amp-5-Fu 物理混合物(与复方脂质体中主药量相同的物理混合液)中 Amp 和 5-Fu 在释放介质中释放较快, 4 h 的累积释放率二者都达到了 90% 以上, Amp 和 5-Fu 分别在 6 h 内和 12 h 内基本达到完全释放。Amp-5-Fu 脂质体中 Amp 从脂质体中缓慢释放出来, 在 120 h 才达到 98.91%; 而 5-Fu 则在 160 h 才达到 98.25%。在 2 h 内, Amp-5-Fu 脂质体中的 Amp 和 5-Fu 分别释放了 38.27% 和 23.15%, 显示出无明显的突释现象。而在 12 h 的累积释放率 Amp 为 60.24%, 5-Fu 为 43.05%。

3 讨论

脂质体的制备方法很多, 如薄膜分散法、逆向蒸发法、超声法、熔融法、注入法、冷冻干燥法等, 其中薄膜分散法是最简单的制备方法之一。本实验采用了 3 种制备方法分别制备脂质体, 发现用薄膜分散法制备的脂质体包封率较高, 脂质体最稳定, 再结合超声法可以大大减小脂质体的粒径, 且可提高水合的效率和样品的均一性^[7], 方法简便、设备简单、重复性好。

根据单因素考察的结果, 发现影响脂质体制备的因素有磷脂和胆固醇的比例、磷脂的浓度、药脂比、维生素 E 的用量、水相介质的 pH 值和超声时间。在此基础上采用正交设计法对复方脂质体的处方工艺进行优化, 充分考察了 3 个主要因素不同水平对药物包封率的影响, 从数据处理的结果来看, 优化的制备条件重现性好, Amp 的包封率达 76.52%, 5-Fu 的包封率达 46.31%, 制备的

脂质体稳定, 重复性良好。

包封率是评价脂质体制剂质量好坏的最重要指标, 也是其能否发挥较普通制剂高效、低毒特点的关键。测定包封率时通常将游离药物与脂质体进行分离, 分别测定游离药物量和制剂中总药物量, 计算包封率。常见的分离方法有透析法、超速离心法、葡聚糖凝胶法、超滤膜过滤法等^[8]。透析法不适用于除去大分子药物, 透析过程缓慢, 而且使用的透析液的渗透压应与脂质体混悬液的渗透压相同, 否则会引起脂质体的体积发生变化, 导致药物泄漏^[9]。由于该脂质体粒径较小, 采用较长时间的超速离心也不能完全分离脂质体和游离药物, 而且长时间的超速离心, 难以避免脂质双分子层严重破坏。本实验采用葡聚糖凝胶法测定包封率, 可以使复方脂质体和游离药物达到有效分离, 柱回收率达 95%以上。本法方便快捷、容易操作、重复性好, 更适用于生产过程中的质量控制。

5-Fu 和 Amp 单一成分的含量测定方法有多种。本实验采用紫外分光光度法直接对二者进行测定, 方法简便、快速, 而且准确, 可适用于常规分析和质量控制。

粒径大小及其分布是影响脂质体在体内靶向性、物理稳定性及临床安全性的重要指标, 因此, 粒径大小成为该脂质体质量控制的关键之一^[11]。本实验采用了激光粒度仪对 Amp-5-Fu 脂质体的粒径及分布进行了测定, 结果表明, 粒径<145 nm, 大小均匀, 呈正态分布。

体外释药实验表明, Amp-5-Fu 脂质体的前期释药较快, 后期释药缓慢。未包封的游离药物先迅速释放出来, 而包封于脂质体中的药物释放缓

慢, 起到了长效缓释作用。

本实验成功将两种抗肿瘤药物 5-Fu 和 Amp 同时包封于脂质体给药系统制备成复方脂质体, 所采用的制备工艺简单可行, 重复性好, 包封率较高。体外释药实验表明, 复方脂质体具有一定的缓释作用, 延长药物的释放时间。

REFERENCES

- [1] LEUCUTA S E. Nanotechnology for delivery of drugs and biomedical applications [J]. *Curr Clin Pharmacol*, 2010, 5(4): 257-280.
- [2] AJAZUDDIN S S. Applications of novel drug delivery system for herbal formulations [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 680-689.
- [3] LIU D Y, LUO M, XIE B F, et al. Antitumor effects of ampelopsin [J]. *Chin J Cancer(癌症)*, 2001, 20(12): 1372-1375.
- [4] YE J T, ZHENG Y L, LIU D Y. Reversal effect and its mechanism of ampelopsin on multidrug resistance in K562/ADR cells [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2009, 34(6): 761-765.
- [5] HE Z F, LIU D Y, ZENG S, et al. Study on preparation of ampelopsin liposomes [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2008, 33(1): 27-30.
- [6] SAMAD A, SULTANA Y, AQIL M. Liposomal drug delivery systems: an update review [J]. *Curr Drug Deliv*, 2007, 4(4): 297-305.
- [7] GAO J K, FAN K, HOU Z J, et al. Preparation and evaluation of liposome-encapsulated recombinant human ciliary neurotrophic factor [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2011, 28(2): 146-149.
- [8] DENG Y J. *Liposomes Techniques(脂质体技术)* [M]. Beijing: People's Medical Press, 2007: 70.
- [9] CHEN Z H, LIU B Y, WEI Y C. Progress of research on methods for determination of liposomal encapsulation efficiency [J]. *Pharm J Chin PLA(解放军药学报)*, 2011, 27(1): 79-82.
- [10] QU J J, FENG S H, LI K Y. Preparation and quality evaluation of artemisinin liposomes [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2011, 28(3): 251-256.

收稿日期: 2012-03-23

硫酸长春新碱固体脂质纳米粒的制备及其性质考察

夏爱晓¹, 宋倩倩², 孙渊¹, 周鹏¹, 杜有功¹, 李范珠^{2*} (1.浙江省台州医院药剂科, 浙江 临海 317000; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

摘要: 目的 以单硬脂酸甘油酯为载体材料, 采用复乳溶剂挥发法制备硫酸长春新碱固体脂质纳米粒(VCR-SLN), 并考察其理化性质。方法 采用复乳溶剂挥发法制备 VCR-SLN, 以正交设计优化处方及制备工艺, 并考察其形态、粒径、Zeta 电位、包封率、载药量和体外释放。结果 VCR-SLN 为类球形实体粒子, 平均粒径为(144.83±2.71)nm, Zeta 电位为

作者简介: 夏爱晓, 女, 硕士, 药师 Tel: (0576)85199450 E-mail: aixiao13579@163.com *通信作者: 李范珠, 男, 博士, 教授, 博导 Tel: (0571)86633030 E-mail: Lifanzhu@zjtcn.net