

# 淫羊藿苷磁性纳米脂质体的制备及体外释放情况分析

李群芳\*, 王安斌, 周旭美  
(遵义医学院药学院, 贵州遵义 563000)

**[摘要]** **目的:** 优选淫羊藿苷磁性纳米脂质体的处方工艺并考察其体外释放情况, 为改善淫羊藿苷的生物利用度提供参考。**方法:** 采用超声薄膜分散法制备淫羊藿苷磁性纳米脂质体, 以淫羊藿苷包封率为指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察油酸改性磁粉、泊洛沙姆 188 (F-68)、聚乙二醇-2000 (PEG-2000) 投料量及水化介质对方工艺的影响。利用 HPLC 考察淫羊藿苷磁性纳米脂质体在含 30% 甲醇的磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的体外释放率, 流动相乙腈-水 (30:70), 检测波长 270 nm。**结果:** 最优处方为淫羊藿苷-磁粉 (2:1), F-68 200 mg, PEG-2000 40 mg, 水化介质为 PBS (pH 7.4), 大豆卵磷脂 500 mg, 胆固醇 150 mg。淫羊藿苷磁性纳米脂质体包封率 (96.57 ± 0.42)%, 72 h 累积释放率 96.51%; 淫羊藿苷溶液 16 h 释放 99.68%。**结论:** 通过超声薄膜分散法制备的淫羊藿苷磁性纳米脂质体具有较高包封率和良好的缓释效果。

**[关键词]** 淫羊藿苷; 磁性纳米脂质体; 包封率; 体外释放度; 超声薄膜分散法

**[中图分类号]** RR283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0018-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240018

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1405.007.html>

**[网络出版时间]** 2014-11-06 14:05

## Preparation and *in vitro* Release of Icariin Magnetic Nano-liposomes

LI Qun-fang\*, WANG An-bin, ZHOU Xu-mei  
(Pharmacy School of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize formulation of icariin magnetic nano-liposomes and investigate their *in vitro* release. **Method:** Ultrasonic film dispersion method was used to prepare icariin magnetic nano-liposomes, with encapsulation efficiency of icariin as index, based on single factor tests, orthogonal design was adopted to optimize preparation procedure by taking hydration medium and amounts of poloxamer 188 (F-68), PEG-2000, oleic acid-modified magnetic powder. HPLC was employed to investigate *in vitro* release of icariin magnetic nano-liposomes in phosphate buffer solution (PBS) containing 30% methanol, mobile phase consisted of acetonitrile-water (30:70) and detection wavelength was set at 270 nm. **Result:** Optimum formulation was as follows: icariin-magnetic powder (2:1), F-68 of 200 mg, PEG-2000 of 60 mg, lecithin of 500 mg, cholesterol of 150 mg, PBS (pH 7.4) as hydration medium. Entrapment efficiency of icariin magnetic nano-liposomes was (96.57 ± 0.42)%; cumulative release rate of icariin solution was near 99.68% in 16 h, but it was over 96.51% in 72 h for icariin magnetic nano-liposomes. **Conclusion:** Icariin magnetic nano-liposomes have high encapsulation efficiency and a good sustained release by ultrasonic film dispersion method.

**[Key words]** icariin; magnetic nano-liposomes; encapsulation efficiency; *in vitro* release; ultrasonic film dispersion method

淫羊藿苷 (icariin, ICA) 为黄酮类化合物, 是淫羊藿茎叶提取物的主要有效成分, 具有抗肿瘤、抗衰老、机体免疫调节及增加心脑血管血流量等药理学

活性<sup>[1]</sup>。ICA 为水不溶性药物, 口服含 ICA 的相关药物时, ICA 在胃中比较稳定, 但当 ICA 到达肠道时会很快代谢, 致使口服生物利用度较低<sup>[2]</sup>。脂质体

**[收稿日期]** 20140630(005)

**[基金项目]** 贵州省科技厅科学技术基金项目 (黔科合 J 字 [2010] 2214 号)

**[通讯作者]** \* 李群芳, 博士, 副教授, 从事药物分析相关研究, Tel: 0852-8609337, E-mail: slindar809@126.com

作为药物载体,具有良好的生物相容性,在降低药物毒性的同时还可保护被包封药物。故本实验从制剂学角度出发,采用新型纳米材料作为药物载体,将ICA制备成纳米脂质体,同时加入油酸改性纳米四氧化三铁,将ICA纳米脂质体制成ICA磁性纳米脂质体。磁性纳米脂质体作为一种磁导向新型药物传递系统,可利用固定磁场的引导来改变药物在体内的分布,提高其治疗部位的药物浓度,并降低其他非治疗部位的药物浓度,达到靶向治疗的效果。说明ICA磁性纳米脂质体在提高ICA生物利用度的同时,还可增强ICA的靶向治疗作用<sup>[3-4]</sup>。

## 1 材料

1200系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),TGL16M型台式高速冷冻离心机(长沙迈佳森仪器设备有限公司),DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司)。透析袋(截留相对分子质量8~14 kDa)、胆固醇、聚乙二醇-2000(PEG-2000)均购自国药集团化学试剂有限公司,淫羊藿苷原料药(纯度>98%,南京泽朗医药有限公司),淫羊藿苷对照品(纯度>98%,中国食品药品检定研究院,批号110737-200415),大豆卵磷脂、泊洛沙姆188(F-68,上海源叶生物科技有限公司),三氯化铁(天津市大茂化学试剂厂),氯化亚铁(天津市光复精细化工研究所),油酸(成都市科龙化工试剂厂),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水或去离子水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 油酸改性的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性纳米粒子制备<sup>[5]</sup>** 取0.1 mol·L<sup>-1</sup>的FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O溶液和FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O溶液各40 mL置于250 mL三口烧瓶中,电动搅拌使其充分混匀,于30℃边搅拌边缓慢滴加1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH溶液直至pH 11,加热至60℃,搅拌反应1 h,使Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>颗粒熟化,停止搅拌后冷却至室温,用水和无水乙醇反复交替洗直至pH 7。加热至60℃时逐滴加入油酸对Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>颗粒进行改性,搅拌反应1 h,反应停止后冷却至室温,用水反复洗涤油酸包覆的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>直至pH 7,于200℃真空干燥,即得黑色的磁性纳米粒子。

**2.2 淫羊藿苷磁性纳米脂质体的制备<sup>[6-8]</sup>** 称取处方量大豆卵磷脂、胆固醇,加入适量无水乙醇使溶解,超声10 min,置于磨口圆底烧瓶中,55℃旋蒸除去无水乙醇,使其在烧杯壁上形成均匀类脂薄膜;将溶于无水乙醇的处方量淫羊藿苷溶解于类脂膜中,混匀振荡,加入一定量油酸改性的Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>磁性纳米

粒,F-68,PEG-2000及适量磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4),超声30 min,置于旋转蒸发仪中55℃旋蒸以除去有机溶剂,待达到较浓稠状态,即得。

## 2.3 淫羊藿苷含量及包封率的测定

**2.3.1 色谱条件** Agilent-EclipseXDB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(30:70),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量20 μL,检测波长270 nm,柱温25℃。

**2.3.2 标准曲线绘制** 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇配成4.8,48,96,192,288,384,480 mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液,按2.3.1项下色谱条件测定,以峰面积对质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y = 37.442X + 74.326$ ( $r = 0.9998$ )。

**2.3.3 包封率的测定** 采用聚结离心法测定<sup>[9]</sup>。取淫羊藿苷磁性纳米脂质体200 μL溶于1 mL甲醇中,涡旋1 min,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液,按2.3.1项下色谱条件测定,计算药物总量,记为W<sub>总</sub>。取淫羊藿苷磁性纳米脂质体1 mL,加入0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸溶液200 μL,4℃冷藏过夜,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液,按2.3.1项下色谱条件测定,计算游离药物质量,记为W<sub>游</sub>,按 $(W_{总} - W_{游})/W_{总} \times 100\%$ 计算包封率。

## 2.4 处方工艺优选

**2.4.1 单因素试验** 在预试验基础上,采用单因素试验考察大豆卵磷脂和胆固醇加入量对磁性脂质体中淫羊藿苷包封率和载药量的影响,结果确定大豆卵磷脂、胆固醇加入量分别为500,150 mg,见表1。

表1 大豆卵磷脂、胆固醇加入量对磁性脂质体中淫羊藿苷包封率的影响

No.	大豆卵磷脂 /mg	胆固醇 /mg	载药量 /mg	包封率 /%
1	300	150	0.91	80.5
2	500	150	1.20	86.4
3	600	150	1.04	84.1
4	700	150	0.40	83.2
5	500	50	0.94	78.5
6	500	150	1.20	86.4
7	500	200	1.13	85.6
8	500	300	0.86	88.1

注:淫羊藿苷,PEG-2000及F-68的加入量分别为10,50,100 mg。

**2.4.2 正交试验** 以淫羊藿苷包封率为评价指标,选择油酸改性磁粉,F-68,PEG-2000及水化介质投料量为考察因素,通过正交试验优选淫羊藿苷磁性纳米脂质体的制备工艺,试验安排及结果见表2。

由直观分析可知,各因素对淫羊藿苷磁性纳米脂质体影响顺序为淫羊藿苷-磁粉 > 水化介质 > F-68 > PEG-2000。确定处方为淫羊藿苷-磁粉(2:1), F-68 200 mg, PEG-2000 40 mg, 水化介质为 PBS (pH 7.4), 大豆卵磷脂 500 mg, 胆固醇 150 mg。

表 2 淫羊藿苷磁性纳米脂质体处方工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 淫羊藿苷-磁粉	B F-68 /mg	C PEG-2000/mg	D 水化介质	包封率 /%
1	1:1	50	40	PBS (pH 4.5)	94.35
2	1:1	100	60	PBS (pH 7.4)	96.01
3	1:1	200	80	水	95.89
4	2:1	50	60	水	95.43
5	2:1	100	80	PBS (pH 4.5)	95.75
6	2:1	200	40	PBS (pH 7.4)	96.57
7	4:1	50	80	PBS (pH 7.4)	95.14
8	4:1	100	40	水	94.80
9	4:1	200	60	PBS (pH 4.5)	94.05
$K_1$	95.417	94.973	95.240	94.717	
$K_2$	95.917	95.520	95.163	95.907	
$K_3$	94.663	95.503	95.593	95.373	
R	1.254	0.547	0.430	1.190	

**2.5 体外磁响应性考察** 制备的淫羊藿苷脂质体为均匀淡黄色溶液,在试管的一侧放置磁铁后溶液中淫羊藿苷纳米脂质体无向磁铁聚集和运动的趋势;而磁性淫羊藿苷脂质体为棕褐色溶液,当在试管一侧放置磁铁后,可清楚地观察到该纳米脂质体会快速向磁铁方向运动并聚集,数秒钟后液滴中脂质体便可全部聚集在磁铁一侧。

**2.6 体外释放特性** 参照 2010 年版《中国药典》<sup>[10]</sup>,取制备好的淫羊藿苷磁性纳米脂质体与淫羊藿苷溶液各 5 mL,分别置于透析袋中,封好两端后置于盛有 200 mL 释放介质的溶出杯中,以含 30% 甲醇的 PBS (pH 6.8) 为释放介质,在 (37 ± 0.5) °C, (100 ± 5) r·min<sup>-1</sup> 下透析,于 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 h 各取样 3 mL,并及时补充等量同温度的溶出介质,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.3.1 项下色谱条件测定释放液中游离淫羊藿苷含量,计算不同时间点药物的累积释放率,绘制累积释放曲线,见图 1。结果显示淫羊藿苷在释放介质中一直以较快速度释放,16 h 内累积释放率达 99.68%;而 ICA 磁性纳米脂质体在释放介质中前 10 h 释放速度较快,10 h 后以较缓和的速度释放并逐渐趋于匀速释放,72 h 内累积释放率达 96.51%。

**3 讨论**

淫羊藿苷在水中溶解度较小,口服生物利用度较低,制备成制剂难度较大。近年已有一些关于抗

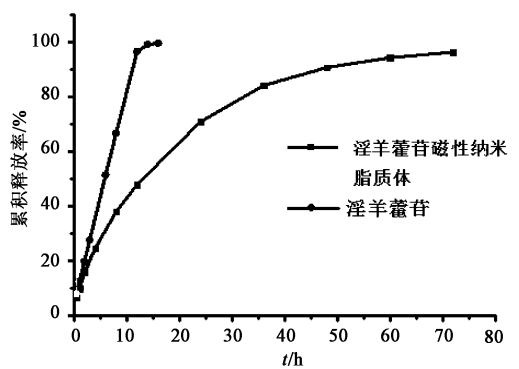


图 1 淫羊藿苷与淫羊藿苷磁性纳米脂质体的体外释放曲线

肿瘤中草药制成磁性纳米制剂的研究,制备的中药纳米制剂均具有相应的靶向治疗作用<sup>[11]</sup>。本文拟将淫羊藿苷制备成磁性纳米脂质体,一方面希望探索淫羊藿苷纳米脂质体加入磁粉后是否能形成较好的磁性纳米脂质体;另一方面期望随着对淫羊藿苷药理作用研究的深入,淫羊藿苷磁性纳米脂质体能在相应疾病的治疗中起到治疗作用,为淫羊藿苷的制剂开发与应用提供参考。

**[参考文献]**

[1] 刘雪琴,何燕.淫羊藿苷药理作用的研究进展[J].中国中医药科技,2012,9(4):379.  
 [2] 叶丽卡,陈济民,刘四海,等.淫羊藿苷在大鼠体内的药代动力学[J].中国药理学杂志,1999,34(1):33.  
 [3] Huang J, Gou G J, Xue B, et al. Preparation and characterization of “dextran-magnetic layered double hydroxide-fluorouracil” targeted liposomes [J]. Int J Pharm, 2013, 450(1/2):323.  
 [4] Béalle G, Dupuis V, Kolosnjaj-Tabi J, et al. Ultra magnetic liposomes for MR imaging, targeting, and hyperthermia[J]. Langmuir, 2012, 28(32):11843.  
 [5] 朱春山,宋佳,邱莉,等.油酸低温水洗改性磁性四氧化三铁纳米粒子[J].化工进展,2011,30(7):1552.  
 [6] 王阳,张晓娟,刘科攀,等.淫羊藿苷隐形固体脂质纳米粒的制备及体外释放度研究[J].中成药,2011,33(11):1905.  
 [7] 戴俊东,陈浩,王玉蓉,等.薄膜超声法制备槲皮素脂质体研究[J].药学实践杂志,2012,30(1):32.  
 [8] 周伟华,郭枝权,何剪太,等.洛莫司汀磁性脂质体的制备[J].中国现代医学杂志,2013,23(30):8.  
 [9] 郭涛,刘丛丛,张琦,等.星点设计-效应面法优化淫羊藿苷固体脂质纳米粒制备工艺[J].解放军药学报,2012,28(4):300.  
 [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:附录 XC.  
 [11] 肖超,吴新荣.紫杉醇磁性脂质体的制备与抗肿瘤作用研究[J].医药导报,2010,29(11):1401.

[责任编辑 刘德文]