

# 白芷香豆素脂质体的制备及质量评价

伍永富, 徐瑞超, 彭涛, 官柳, 董自亮\*

(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司, 重庆 408000)

**[摘要]** **目的:**优化白芷香豆素脂质体的处方工艺并考察其释药性能。**方法:**采用薄膜-超声法制备白芷香豆素脂质体, 在单因素试验基础上, 以包封率、载药量为综合评价指标, 利用 Box-Behnken 响应面试验考察脂胆比、脂药比和超声时间对外方工艺的影响, 利用紫外分光光度法测定白芷香豆素含量, 透射电镜观察脂质体的粒径形态及大小。**结果:**白芷香豆素脂质体最佳处方工艺为脂胆比(6:1); 脂药比(5:1), 超声时间 34 min; 制备的脂质体粒径均匀, 呈球形小囊泡, 分散性好, 粒径( $112.08 \pm 1.21$ ) nm, 包封率( $94.02 \pm 1.56$ )%, 载药量( $5.42 \pm 0.35$ )%; 游离白芷香豆素 3 h 的累积释放率达 100%, 空白脂质体与白芷香豆素的混合溶液 12 h 累积释放率 95.3%, 白芷香豆素脂质体 12 h 累积释放率 45.6%。**结论:**该处方工艺稳定可行, 制备的白芷香豆素脂质体包封率较高, 形态和粒径较均匀, 具有明显的缓释效果。

**[关键词]** 白芷香豆素; 脂质体; 制备工艺; Box-Behnken 试验; 响应面分析法; 体外释放

**[中图分类号]** R283.6; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0058-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013190058

## Preparation and Quality Evaluation of Angelicae Dahuricae Radix Coumarin Liposomes

WU Yong-fu, XU Rui-chao, PENG Tao, GUAN Liu, DONG Zi-liang\*

(Chongqing Fuling Pharmaceuticals Co. Ltd, Taiji Group, Chongqing 408000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize formulation technology of Angelicae Dahuricae Radix coumarin liposomes and investigate its release properties. **Method:** Liposomes of coumarin from Angelicae dahuricae Radix were prepared by film dispersion-supersonic method, based on single factor tests, with encapsulation efficiency and drug loading as comprehensive evaluation index, Box-Behnken design-response surface method was adopted to optimize formulation technology with proportion of phosphatidylcholine to cholesterin, ratio of phosphatidylcholine to coumarin and ultrasonic time as factors. The content of coumarin was determined by UV spectrophotometry, appearances and particle size of coumarin liposomes were examined with transmission electron microscopy. **Result:** Optimum formulation technology was as following: proportion of phosphatidylcholine to cholesterin (6:1), proportion of phosphatidylcholine to coumarin (5:1), ultrasonic time 34 min; Prepared coumarin liposomes had uniform size, showed spherical vesicles with good dispersion, particle size was ( $112.08 \pm 1.21$ ) nm, encapsulation efficiency was ( $94.02-1.56$ )%, drug loading was ( $5.42 \pm 0.35$ )%. Cumulative release of coumarin was 100% in 3 h, cumulative release of mixed solution of coumarin and blank liposomes was 95.3% within 12 h, but that of Angelicae dahuricae Radix coumarin liposomes was 45.6% in 12 h. **Conclusion:** This optimized process was stable and suitable for industrial production, prepared coumarin liposomes had high encapsulation efficiency and significant release effects with uniform morphology and particle size.

**[Key words]** coumarin from Angelicae Dahuricae Radix; liposomes; preparation technology; Box-Behnken design; response surface methodology; *in vitro* release

**[收稿日期]** 20130311(025)

**[第一作者]** 伍永富, 硕士, 高级工程师, 从事中药新技术和新剂型研究, Tel:023-72801079, E-mail:five1975@126.com

**[通讯作者]** \* 董自亮, 硕士, 工程师, 从事中药新技术和新剂型研究, Tel:023-72800283, E-mail:dzlcldutem@163.com

白芷始载于《神农本草经》,性温,味苦,归胃、大肠、肺经,具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的功效,用于治疗感冒头痛、眉棱骨痛、鼻渊、牙痛、疮疡肿痛,特别对阳明经头痛具有明显的镇痛效应<sup>[1-2]</sup>。白芷香豆素为主要有效成分<sup>[3]</sup>,但其水溶性及稳定性较差<sup>[4]</sup>,生物利用度较低。本实验拟制备白芷香豆素脂质体,通过单因素试验和 Box-Behnken 响应面试验优选处方工艺,并评价该脂质体的质量特性和释药性能,为白芷香豆素新制剂的开发提供理论依据。

## 1 材料

TU-1810 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),DZF 型真空干燥器(南京神威制药设备有限公司),THZ-82 型气浴恒温振荡器(江苏金坛恒丰制造有限公司),BP2110 型电子天平(德国赛多利斯公司),JEOL 型透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司),Nano-ZS90 型激光散射粒径仪(英国 Malvern 公司)。白芷香豆素(自制,纯度 >80%),欧前胡素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110826-200712),大豆卵磷脂(SIGMA 公司),胆固醇(上海季蓝生物科技有限公司),试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 白芷香豆素的测定**<sup>[6]</sup> 采用 UV 测定。取不同质量浓度的欧前胡素对照品甲醇溶液,于 300 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程  $Y = 0.048X - 0.0112$  ( $r = 0.9997$ ,  $n = 5$ ),线性范围 5.05 ~ 15.15 g·mL<sup>-1</sup>,该方法的回收率(100.2 ± 0.5)%。

### 2.2 脂质体的制备

<sup>[7-9]</sup>

**2.2.1 空白脂质体** 分别取大豆卵磷脂、胆固醇 2.5,0.5 g,置于 250 mL 圆底烧瓶中,加适量三氯甲烷使充分溶解,将圆底烧瓶置于旋转蒸发仪上,40 °C 水浴减压蒸发 1 h 后真空干燥 2 h,加 pH 7.2 的 PBS 振摇,水合 2 h,超声处理(300 W,50 kHz)30 min,使干膜充分溶解,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得空白脂质体混悬液。

**2.2.2 含药脂质体** 精密量取白芷香豆素与卵磷脂、胆固醇适量,置于同一圆底烧瓶中,按 2.2.1 项下方法制备乳白色、均匀的白芷香豆素脂质体混悬液。

**2.3 包封率、载药量的测定**<sup>[7]</sup> 将制备好的白芷香豆素脂质体混悬液倒入 125 mL 梨形分液漏斗中,加入石油醚(30 ~ 60 °C)20 mL,振摇,使其与脂质体

充分混匀,静置分层,收集石油醚层,减压回收石油醚,残渣用甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,吸取 100 μL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,作为供试品溶液。用空白脂质体同法制得空白对照液,分别于 300 nm 处测定 A,计算包封率和载药量。

包封率 = [(总加入药物量 - 游离药物量) / 总加入药物量] × 100% ;

载药量 = [脂质体中药物量 / (脂质体中药物量 + 载体总量)] × 100%

**2.4 单因素试验考察**<sup>[10]</sup> 在预试验基础上,选择脂胆比、脂药比、超声时间及 PBS 的 pH 为考察因素,进行单因素试验考察,结果见表 1,表明 PBS 的 pH 对脂质体包封率、载药量的影响均最小。

表 1 白芷香豆素脂质体处方工艺单因素试验考察

因素	水平	包封率/%	载药量/%
脂胆比/倍	5	87.12	5.11
	6	92.34	5.52
	7	85.41	5.01
脂药比/倍	4	68.27	3.97
	5	74.87	4.39
	6	76.68	4.59
超声时间/min	20	76.15	4.47
	30	78.60	4.61
	40	67.95	3.99
	pH	6.0	71.04
	6.5	72.10	4.23
	7.0	72.63	4.26

**2.5 处方工艺的响应面优化** 在单因素试验基础上,以包封率、载药量的“归一值”(OD)<sup>[11]</sup>为评价指标,选取脂胆比、脂药比和超声时间为考察因素,采用 Box-Behnken 设计优选处方工艺,进行三因素三水平共 17 个试验点(5 个中心点)的响应面分析试验,因素水平见表 2。

$$d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min});$$

$$OD = (d_1 d_2 d_3 \cdots d_n)^{1/n}$$

其中  $Y_i$  为实测值, $Y_{\min}$  和  $Y_{\max}$  分别为各指标可以接受的最小值和最大值,试验安排及结果见表 3。

采用 Design Expert 7.1 软件对表 3 中数据进行多元回归拟合,得脂胆比、脂药比、超声时间与响应值的二次多项回归方程为  $Y_1 = 38.514 + 7.966X_1 + 144.538X_2 + 100.824X_3 - 11.607X_1X_2 - 22.918X_2X_3 - 1.098X_1^2 - 170.172X_2^2 - 91.838X_3^2$  ( $R^2 = 0.953$ ,  $P < 0.01$ ,失拟度 = 0.169), $Y_2 = 81.41 + 6.02X_1 +$

10.  $19X_2 + 6.50X_3 - 0.580X_1X_2 + 2.48X_1X_3 + 1.45X_2X_3 - 7.48X_1^2 - 3.57X_2^2 - 4.12X_3^2$  ( $R^2 = 0.963$ ,  $P < 0.01$ , 失拟度 = 0.257),  $OD = 0.81 + 0.21X_1 + 0.23X_2 + 0.21X_3 - 0.013X_1X_2 - 0.011X_1X_3 + 0.02X_2X_3 - 0.23X_1^2 - 0.13X_2^2 - 0.10X_3^2$  ( $R^2 = 0.972$ ,  $P < 0.01$ , 失拟度 = 0.061), 3 个模型方程均高度显著, 模型失拟性检验均无显著性差异, 模型拟合效果均较好, 该方程可较为准确地反映实际情况。模型预测最大响应值  $Y_1$  和  $Y_2$  分别为 94.11%, 5.54%, 为进一步确定因素最佳取值, 通过中值法对非线性回归模型求一阶偏导, 并设其为零, 同时兼顾操作可行性, 得最佳处方工艺为脂胆比 6:1, 脂药比 5:1, 超声时间 34 min。

表 2 白芷香豆素脂质体处方工艺 Box-Behnken 试验因素水平

水平	$X_1$ 脂胆比/倍	$X_2$ 脂药比/倍	$X_3$ 超声时间/min
-1	5	4	20
0	6	5	30
1	7	6	40

表 3 白芷香豆素脂质体处方工艺 Box-Behnken 试验安排

No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	包封率( $Y_1$ )/%	载药量( $Y_2$ )/%	OD
1	6	5	40	85.60	4.24	0.51
2	7	5	20	83.53	3.50	0.85
3	6	5	30	92.98	5.03	0.93
4	6	4	40	93.07	5.21	0.76
5	7	5	40	90.15	4.78	0.88
6	5	5	20	84.59	3.88	0.57
7	5	4	30	92.72	4.92	0.86
8	6	5	30	81.27	4.58	0.00
9	6	4	20	93.03	4.78	0.77
10	6	5	30	92.63	4.89	0.00
11	6	5	30	76.01	3.67	0.21
12	6	6	40	81.07	3.30	0.59
13	6	6	20	84.41	4.17	0.49
14	7	6	30	91.39	4.04	0.48
15	7	4	30	87.24	5.50	0.80
16	5	6	30	93.36	5.32	0.36
17	6	5	30	92.46	5.26	0.95

2.6 验证试验 按最佳处方工艺重复试验 3 次, 制

备的脂质体包封率、载药量分别为  $(94.02 \pm 1.56)\%$ ,  $(5.42 \pm 0.35)\%$ , 与预测值无显著性差异, 说明优选的工艺稳定可靠。

2.7 白芷香豆素脂质体形态观察 取按最优处方制备的白芷香豆素脂质体混悬液适量, 滴至喷碳铜网表面, 用 1.0% 磷钨酸负染, 自然晾干, 使粒子尽量铺满整个铜网, 于透射电子显微镜下观察, 拍照, 见图 1。显示白芷香豆素纳米脂质体形态均匀, 圆球形规则, 呈均匀乳白色, 分散性好, 粒径  $(112.08 \pm 1.21)$  nm。

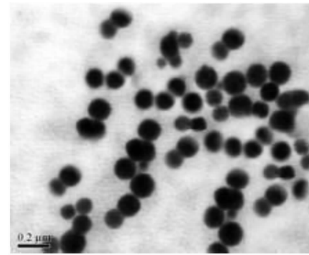


图 1 白芷香豆素脂质体电镜

2.8 白芷香豆素脂质体的释放性能考察 精密吸取白芷香豆素水溶液(与脂质体中白芷香豆素质量浓度相当)1 mL, 置已处理的透析袋内, 扎紧后吊于溶出仪的小杯中, 加入释放介质(0.9% 氯化钠溶液)100 mL, 于 37 °C 水浴中以  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  恒速旋转, 分别于 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 180 min 各吸取释放介质 1 mL(同时补加等量等温的释放介质), 测定白芷香豆素的质量浓度, 计算累积释放率。另分别取空白脂质体与白芷香豆素的混合溶液、白芷香豆素脂质体 1 mL 置于透析袋内, 分别于 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h 吸取释放介质, 计算累积释放率。结果表明, 游离白芷香豆素 3 h 的累积释放率达 100%, 空白脂质体与白芷香豆素的混合溶液 12 h 累积释放率 95.3%, 白芷香豆素脂质体 12 h 累积释放率 45.6%, 表明白芷香豆素脂质体具有明显的缓释效果。

### 3 讨论

脂质体的制备方法主要有注入法、逆相蒸发法、超声波分散法、薄膜分散法、冷冻干燥法等, 薄膜-超声法操作简单, 性质较温和, 适用于香豆素类热敏性药物脂质体的制备。制备的脂质体包封率高达 94.11%, 成型均匀性好, 将其置 4 °C 冰箱中保存 3 个月后, 性状仍未见明显改变, 证明其稳定性良好。体外释放试验表明, 白芷香豆素脂质体中白芷香豆素在前 6 h 释放速度较快, 之后趋于缓慢, 12 h 累积释放率 45.6%。

# 苦参碱固体脂质纳米粒的制备

吕佳, 刘冰, 张振秋\*, 袁子民  
(辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:** 优选苦参碱固体脂质纳米粒的处方工艺并考察其外观性状、粒径分布。**方法:** 采用超声分散法制备苦参碱固体脂质纳米粒, 以苦参碱包封率为指标, 通过正交试验考察苦参碱-硬脂酸质量比、硬脂酸-大豆卵磷脂质量比、泊洛沙姆质量浓度、油-水相体积比对方工艺的影响。**结果:** 优选的处方工艺为硬脂酸-大豆卵磷脂(1:1), 苦参碱-硬脂酸(1:6), 泊洛沙姆质量浓度  $12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 油-水相体积比(1:5)。制备的苦参碱固体脂质纳米粒为乳状溶液, 呈乳白色, 晃动后可能会产生白色絮状物, 有光泽, 平均包封率 82.8%, 平均载药量 5.5%。该纳米粒呈不规则类球形或椭球形, 分布较均匀, 平均粒径 155 nm。**结论:** 优选的处方工艺稳定可靠, 具有很大的应用前景。

**[关键词]** 苦参碱; 固体脂质纳米粒; 处方工艺; 正交试验; 粒径; 包封率

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0061-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013190061

## Preparation of Solid Lipid Nanoparticles Loading Matrine

LV Jia, LIU Bing, ZHANG Zhen-qiu\*, YUAN Zi-min

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize formulation technology of matrine solid lipid nanoparticles and investigate its appearance and particle size distribution. **Method:** Matrine solid lipid nanoparticles were prepared ultrasonic dispersion method, with entrapment efficiency of matrine as index, orthogonal test was adopted to investigate effects of ratio of matrine-stearic acid, ratio of stearic acid-soybean lecithin, poloxamer concentration

**[收稿日期]** 20130228(013)

**[基金项目]** 大连市科技局科学技术基金项目(2008J21JH007)

**[第一作者]** 吕佳, 副教授, 博士, 从事中药制药技术研究, Tel:0411-87586010, E-mail:lvjiaemail@163.com

**[通讯作者]** \* 张振秋, 教授, 博士, 从事药物质量控制研究, Tel:0411-87586058, E-mail:zhangzhenqiu@sina.com

### [参考文献]

[1] 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.

[2] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 文苑出版社, 1998:98.

[3] 王春梅, 崔新颖, 李贺. 白芷香豆素的抗炎作用研究[J]. 中草药, 2003, 34(9):837.

[4] 张跃珍, 林军. 天然药物脂质体制备研究进展[J]. 中国药房, 2007, 18(21):1671.

[5] 李学涛, 赵琳, 程岚. 异长春花碱脂质体的制备及其在小鼠体内的组织分布[J]. 中国药房, 2012, 23(9):778.

[6] 董自亮, 张小维, 肖丹. 微波预处理提取白芷中总香

豆素的研究[J]. 食品与药品, 2011, 13(1):21.

[7] 禹玉洪, 李雪春, 吴涛, 等. 注射用柴胡挥发油脂质体制备工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(6):521.

[8] 陈燕军, 贾燕, 金日显, 等. 黄芩苷柔性纳米脂质体的制备[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):1.

[9] 程岚, 李学涛, 唐凌. 异长春花碱脂质体的制备及安全性评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20):241.

[10] 成琪, 吕世明, 谭艾娟, 等. 丁香酚脂质体的制备及其质量评价[J]. 中国农学通报, 2011, 27(26):79.

[11] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8):530.

[责任编辑 仝燕]