

文章编号: 1671-9646(2007)08-0012-03

脂质体制备方法的研究进展

王瑞莲^{1, 2}, *刘成梅^{1, 2}, 刘伟^{1, 2}

(1. 南昌大学 食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047; 2. 南昌大学 中德食品工程中心, 江西 南昌 330047)

摘要: 脂质体是磷脂自聚集而形成的双分子层结构, 作为一种重要载体, 具有保护药物、提高药效、减少制剂对机体的毒性和提高药物的靶向性等方面的优越性。概述了薄膜蒸发法、高压乳匀法、逆向蒸发法、乙醇注入法及改良乙醇注入法、微乳冷却法、冻融法和冷冻干燥法等几种脂质体的制备方法, 以及脂质体的评价指标。

关键词: 脂质体; 制备方法; 评价指标

中图分类号: TQ463 文献标志码: A

Research Progress on Preparation Methods of Liposome

Wang Ruilian^{1, 2}, Liu Chengmei^{1, 2}, Liu Wei^{1, 2}

(1. The Key Laboratory of Food Science of MOE, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China;

2. Sino-German Food Engineering Center, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China)

Abstract: Liposome be made from phospholipid self-aggregation, as an important drugs carrier, it has many advantages, such as protecting drugs, increasing drugs effect, minimizing toxicity of drugs, increasing drugs targeting and so on. The evaluation guideline and the preparation methods of liposome such as thin film evaporation method, high-pressure homogenizer method, reverse phase evaporation vesicle method, ethanol injection-extrude and modified ethanol injection-extrude method, microemulsion cooling method, freeze-thawing method and lyophilization method are reviewed in this paper.

Key words: liposome; preparation methods; evaluation guideline

1935年, Bangham^[1]博士曾将药物置于卵磷脂—胆固醇中乳化以便缓慢释放, 并申请专利。然而由于当时检测微观结构的技术较落后, 他并没有发现这一由磷脂自聚集而形成的双分子层结构。直到1965年他才观察到这一特点, 并将其命名为脂质体。自从1970年 Sessa 等人^[2]认为脂质体可以作为药物载体, 1971年 Rymen 等人将脂质体作为药物载体应用以来, 脂质体引起了世界各国学者的关注。随着生物技术的不断发展, 脂质体的制备工艺也不断完善, 脂质体这种新型药物载体, 在医药界和化妆品工业得到了广泛的关注, 并在食品工业中也日益显示出巨大的潜力。本文就脂质体的制备方法以及评价指标作一综述。

1 脂质体的制备方法

脂质体是一种由一个或多个脂质体双层中间包裹微水相的结构, 构成双分子层的类脂分为亲水性的头部和亲油性的尾部, 亲水性的头部形成膜的内外表面层, 而亲油性的尾部处于膜的中间。脂质体的这种结构使其能够携带各种亲水的、疏水的或两亲性的物

质, 脂溶性药物或两亲性药物被包裹在脂质体亲脂基部分或脂质双分子层中, 而水溶性药物则被包裹在脂质体的水层中, 使得水溶性药物的包封率较低, 并且更容易泄露。

1.1 薄膜蒸发法

薄膜蒸发法是先将类脂材料溶于有机溶剂中, 然后减压蒸去有机溶剂, 继而加入缓冲液, 并加入几颗玻璃珠帮助分散, 就形成一种乳白色的分散液, 即为脂质体。

Vobalaboina Venkateswarlu 等人^[3]采用薄膜蒸发法制备了 Clozapine 固体脂质体。吕文莉等人^[4]采用薄膜蒸发法和冷冻干燥法制备了灯盏花素脂质体。熊非等人^[5]采用薄膜—超声法制备了灯盏花素纳米脂质体。张耕等人^[6]利用大豆磷脂为载体, 采用薄膜—超声分散法, 制备了苦参素磷脂纳米粒。王娜等人^[7]采用薄膜分散与探头超声相结合的方法制备砂仁挥发油纳米脂质体。Hodoshima 等人^[8]以合成的聚乙二醇类脂 (PEG-lipid) 与卵磷脂 (phosphatidylcholine, PC) 或 DPPC 为乳化剂, 制备 4-O- 四氢吡喃 - 阿霉素 (THP-ADM) 前体药物的 SLN。

收稿日期: 2007-06-05

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目 (IRT0540)。

作者简介: 王瑞莲 (1982-), 女, 山东人, 在读硕士, 研究方向: 食品科学。E-mail: wrl4081@163.com。* 为通讯作者。

1.2 高压乳匀法

将熔融的脂质前药加到溶有表面活性剂的水相中,旋涡振荡形成初乳后,利用高压流经过精确规限的微细通道,使流体被加速,在特制的反应室内产生强大的剪切,在冲击及空化的作用下,形成精细密集均匀的脂质体。高压乳匀法的优点是避免使用对人体有害的附加剂和有机溶剂,且这种方法的重复性好,可大规模生产;制备的脂质体颗粒均匀,稳定性好。

张小宁等人^[9]用高压乳匀法制备了莪术油纳米脂质体。Volkhard Jenning 等人^[10]用高压乳匀法制备了 Compritol 纳米粒。Muller 等人^[11]将类脂加热融化后,加入含表面活性剂的蒸馏水中,通过机械搅拌形成初乳,然后在 100 MPa 压力下循环乳匀 3 次,制成脂质体。Heiata 等人^[12]以不同比例的三月桂酸甘油酯 (trilaurin, TL) 和磷脂为载体材料,制备了齐多夫定 (azidothymidine, AZT) 的亲脂性前体药物——齐多夫定棕榈酸酯 (AZT2Palmitate, AZT2P) 的脂质体。

1.3 逆相蒸发法

先将类脂溶于有机溶剂中,然后加入水溶性介质以形成油包水型的乳液,真空下蒸发溶剂,得到脂质体胶。此法包封率高,可形成大的单层球,颗粒较均匀、稳定,制备方法简单。

陈亮等人^[13]采用逆相蒸发法制备了天麻素脂质体。胥传来等人^[14]通过逆相蒸发法制备 PST 脂质体。穆筱梅等人^[15]以高纯度大豆卵磷脂为包封材料,用反相蒸发法制备出果酸脂质体。作文英等人^[16]用逆相蒸发法制备黄芩苷脂质体。吴正红等人^[17]采用逆相蒸发法制得胰岛素脂质体,并用壳聚糖进行包覆。陈小军等人^[18]以乙醚为有机溶剂,运用逆相蒸发法制备了硫酸阿米卡星脂质体。Cortesi 等人^[19]利用反相蒸发法和薄膜挤压法,制备脂类成分不同的中性 CPT 脂质体、阳离子 CPT 脂质体和阴离子 CPT 脂质体。戚明等人^[20]采用反相蒸发法制备了平均粒径为 122.7 nm 的胰岛素脂质体。周威^[21]比较了在相同条件下用反相蒸发法、研磨法和冻融法制备溶菌酶脂质体,他发现反相蒸发法包裹率最高,适用于大工业生产。

1.4 乙醇注入法和改良乙醇注入法

乙醇注入法是将含药的乙醇溶液恒温慢速注入水溶液中,改良法则是将水溶液快速加至含药的乙醇溶液中。两种方法制备的脂质体,粒子均较小且均匀,而且改良法操作简单,无需恒温慢速注入。井水泉等人^[22]采用改良乙醇注入—挤出法制备了黄芪有效部位脂质体。

1.5 微乳冷却法

该法是先先将乳化剂、脂质和水在温度 65~70 °C 搅拌,制成透明混合液,再在搅拌下将热微乳加入到冷水中,即可制成。此法不适用热敏性物质,但可避

免使用有机溶剂,适用于工业化大生产。毛世瑞等人^[23]采用微乳化技术制备了固体脂质纳米粒 (SLN)。

1.6 冻融法

冻融技术可提高脂质体的包封率,增加脂质体的稳定性,且设备简单、操作方便,可避免直接接触有机溶剂。王健松等人^[24]采用薄膜—冻融法制备了阿奇霉素脂质体。夏书芹等人^[25]采用冻融法制备微胶囊化硫酸亚铁脂质体。

1.7 冷冻干燥法

采用低温干燥技术,通过反复包封、冻干和重新融合来实现较高的包封率。冻干法为提高脂质体储存期的稳定性提供了较好的解决方法,它改变了液态脂质体不稳定和易氧化的缺点,具有工艺稳定、适合于工业化生产、质量易于控制和产品稳定性好等特点。冻干法存在的问题是:制备工艺较复杂,成本相对较高。胥传来等人^[26]研究了冷冻 PST 脂质体的制备及其物理稳定性,表明冻干后的 PST 脂质体总体物理稳定性提高,置于室温下的保质期大大延长。

2 脂质体的评价指标

2.1 外观形态及粒度分布

脂质体的外观形态,一般采用透射电子显微镜 (TEM) 或扫描电子显微镜 (SEM) 照相后进行直观观察。粒径大小及其分布对评价脂质体具有重要的意义。脂质体的一些生物学性质与粒径有关,如被动靶向性、口服吸收和黏膜吸收等。旷英姿等人^[27]采用透射电镜观察了 TP-VitE 脂质体的外观形态,可以观察到 TP-VitE 脂质体为单室或多室脂质体。徐波等人^[28]用扫描电镜观察了两性霉素 B 脂质体的外观形态。

2.2 Zeta 电位测定

测量 Zeta 电位可以预测脂质体的稳定性,通常 Zeta 电位的绝对值越大,体系越稳定。Zeta 电位测定常用的两种方法是电泳法和 Zetamaster 仪器测定。徐颖等人^[29]采用电泳法测得 ACV-PLGA-NP 的 Zeta 为 -15.27 mV。熊非等人^[30]采用 Zetamaster 光子相关光谱仪测得灯盏花素前体纳米脂质体的 Zeta 电位为 -74.5 mV。

2.3 包封率与载药量

包封率 (ER) 和载药量 (LC) 分别反映药物被包封的百分率和药物与载体材料之间量的关系,测定 ER 和 LC 的关键在于测定包封的或未被包封药物的量测定。离心法、葡聚糖凝胶柱法和超滤法等常用来分离包封与未包封的药物。潘妍等人^[30]用离心分离法测定了胰岛素乳酸—羟基乙酸共聚物纳米粒的包封率。张学农等人^[31]采用葡聚糖凝胶柱法,测定了阿苯达唑口服纳米球的包封率。

其他还有体外释药、体内药物动力学和体内分布、药效学试验等评价指标。

3 脂质体存在的问题和前景展望

脂质体制备过程中的关键“软件”技术,国外都是作为绝密高新知识产权加以保护的。目前,商品化的脂质体产品主要是脂溶性药物,而亲水性药物存在包封率低的问题。我国尚无较成熟的脂质体制备技术,也没有形成产业规模,而且关于脂质体的研究大部分还停留在试验阶段,主要原因在于常规工艺生产规模难以放大,且需大量使用有机溶剂,难以保证产品的安全性。

脂质体作为一种载体,具有自己的特点。随着科学技术的不断发展和人们对脂质体基本原理及生产方法研究的不断深入,脂质体的应用领域被不断拓宽,今后脂质体将向着温度敏感脂质体、光敏脂质体、pH值敏感脂质体、前体脂质体、免疫脂质体、聚合膜脂质体、掺入糖汁的脂质体和磁性脂质体等新型脂质体发展。发展起来的新型脂质体改进了原来脂质体在包封率、稳定性和靶向性等方面存在的问题。随着科学技术的发展,相信能够创造出更多更好的脂质体,使脂质体得到更广泛的应用。

参考文献:

- [1] Bangham ad. diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids [J]. *Mol. Biol*, 1965, 13: 238-252.
- [2] 于维平, 牟小莹, 孙萍. 脂质体不同给药系统的研究 [J]. *齐鲁药事*, 2004, 23 (6): 36-38.
- [3] Vobalaboina Venkateswarlu, Kopparam Manjunath. Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles [J]. *Journal of Controlled Release*, 2004, 95: 627-638.
- [4] 吕文莉, 郭健新, 平其能. 灯盏花素脂质体的制备及其理化性质的测定 [J]. *中国天然药物*, 2004, 2 (5): 289-292.
- [5] 熊非, 朱家璧, 汪豪, 等. 灯盏花素前体纳米脂质体的质量评价 [J]. *中国药科大学学报*, 2004, 35 (6): 513-516.
- [6] 张耕, 易以木. 苦参素磷脂纳米粒的研制 [J]. *中国医院药学*, 2004, 24 (9): 573-574.
- [7] 王娜, 施利毅, 吴敏, 等. 砂仁挥发油纳米脂质体的制备及其稳定性 [J]. *上海大学学报 (自然科学版)*, 2005, 11 (5): 513-517.
- [8] Hodoshima N, Udagawa C, Ando H, et al. Lipid nanoparticles for delivering antitumor drugs [J]. *Int J Pharm*, 1997, 146 (1): 81.
- [9] 张小宁, 张郁, 姬海红, 等. 微射流法制备莪术油纳米脂质体的研究 [J]. *中国药学*, 2004, 39 (5): 356-358.
- [10] Volkhard Jenning, Andreas F. Thunemann, Sven H. Gohla. Characterisation of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 199: 167-177.
- [11] Muller RH, Dorte R, Stephan AR. Bioegradation of solid lipid nanoparticles as a function of lipase in cubation time [J]. *Int J Pharm*, 1996, 144 (1): 115.
- [12] Heiata H, Rashad T, Richard RS, et al. Solid lipid nanoparticles as drug carriers Incorporation and retention of the lipophilic prodrug 3'-azido-3'-deoxythymidine palmitate [J]. *Int J Pharm*, 1997, 146 (1): 123.
- [13] 陈亮, 江远明. 天麻素脂质体的研制 [J]. *中国生化药物*, 2002, 23 (6): 295-296.
- [14] 胥传来, 乐国伟, 姚惠源, 等. 冷冻干燥对 PST 脂质体包封率的影响 [J]. *中国油脂*, 2002, 27 (4): 58-60.
- [15] 穆筱梅, 钟振声, 杨梅, 等. 果酸脂质体的制备 [J]. *华南理工大学学报 (自然科学版)*, 2002, 30 (5): 64-66.
- [16] 作文英, 薛红安, 席枝侠, 等. 黄芩苷脂质体的制备及在小鼠体内的分布 [J]. *中国生化药物*, 2004, 25 (5): 282-283.
- [17] 吴正红, 平其能, 魏易, 等. 壳聚糖包覆胰岛素脂质体处方与工艺优化 [J]. *中国医药工业*, 2003, 34 (2): 76-80.
- [18] 陈小军, 孙志良, 唐小武, 等. 硫酸阿米卡星脂质体的制备及包封率测定 [J]. *中国兽医科技*, 2004, 34 (12): 38-41.
- [19] Cortesi R, Esposito E, Marietti A, et al. Formulation study for the antitumor drug camptothecin: liposomes, micellar solutions and a microemulsion [J]. *Int J Pharm*, 1997, 159 (1): 95-103.
- [20] 戚明, 蒋国强, 丁富新. 胰岛素脂质体的制备及在电致孔下的经皮渗透 [J]. *中国医药工业*, 2005, 36 (12): 751-753.
- [21] 周威. 脂质体不同制备方法对其包裹率的影响 [J]. *武汉工业学院学报*, 2001 (2): 28-29.
- [22] 井水泉. 黄芪有效部位脂质体的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.
- [23] 毛世瑞, 王燕芝, 纪宏宇, 等. 微乳化技术制备固体脂质纳米粒 [J]. *药学学报*, 2003, 38 (8): 624-626.
- [24] 王健松, 朱家璧. 阿奇霉素脂质体的制备及其包封率测定 [J]. *中国药科大学学报*, 2004, 35 (6): 499-502.
- [25] 夏书芹, 许时婴. 微胶囊化硫酸亚铁脂质体的制备及其在液态奶中的应用 [J]. *食品科技*, 2003 (8): 24-27.
- [26] 胥传来, 乐国伟, 姚惠源. 冻干 PST 脂质体的制备及物理稳定性的研究 [J]. *中国油脂*, 2001, 26 (6): 54-57.
- [27] 旷英姿, 马全红, 郝小祯, 等. 茶多酚脂质体的制备研究 [J]. *中国生化药物*, 2006, 27 (1): 29-31.
- [28] 徐波, 田宋九, 吴如今, 等. 两性霉素 B 脂质体粒度测定方法研究 [J]. *药物分析*, 2004, 24 (3): 308-309.
- [29] 徐颖, 周世文. 阿昔洛韦乙交酯-丙交酯共聚物毫微粒制备工艺的优化选择 [J]. *第三军医医科大学学报*, 2002, 33 (3): 200.
- [30] 潘妍, 徐晖, 赵会英, 等. 胰岛素乳酸/羟基乙酸共聚物纳米粒的制备及口服药效学研究 [J]. *药学学报*, 2002, 37 (5): 374.
- [31] 张学农, 苗爱东, 王国荃, 等. 阿苯达唑口服纳米球的制备及释药动力学研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2002, 19 (4): 114.