

# PEG 修饰水飞蓟素脂质体的制备及体外释放研究\*

张勇, 李娟\*\*, 肖波, 龚兴艳, 林泽彬

中国药科大学 药剂学教研室, 南京 210009

**摘要 目的:**合成一种 PEG 硬脂酸单酯,应用 Box-Behnken 设计优化 PEG 修饰水飞蓟素脂质体的处方和工艺。**方法:**采用 IR、<sup>1</sup>H-NMR 法表征 PEG 硬脂酸单酯的结构,采用改进的薄膜分散法制备修饰脂质体,血浆透析法比较脂质体与修饰脂质体的体外释放曲线。**结果:**水飞蓟素修饰脂质体最佳处方含大豆磷脂:胆固醇:PEG 硬脂酸单酯:水飞蓟素为 20:4.8:0.9:1(w/w),修饰脂质体的平均粒径为 100.9nm,包封率为 91.2%,体外释放动力学符合 Weibull 方程。**结论:**PEG 修饰水飞蓟素脂质体体外释放缓慢,注射给药体内能达到长循环作用。

**关键词** 水飞蓟素;PEG 修饰脂质体;Box-Behnken 设计;体外释放

**中图分类号** TQ460.6;969 **文献标志码** A **文章编号** 1673-7806(2010)03-239-05

水飞蓟素(Silymarin, SM)是天然黄酮木脂素类化合物,为菊科植物水飞蓟(*Silybum marianum* Gaertn)果实经提取得混合物,主要有效活性成分为水飞蓟宾(Silybin, SB)、异水飞蓟宾(Isosilybin, ISB)、水飞蓟宁(Silydianin, SD)、水飞蓟亭(Silychristin, SC)等。药理毒理研究表明,SM 具有明显的稳定肝细胞膜、有效保护肝脏作用,可治疗由多种有毒物导致肝损害作用<sup>[1]</sup>, SM 具有较强抗肿瘤的活性<sup>[2]</sup>。

SM 为难溶性药物,由于药物在胃中降解,而肠中难以吸收,故市售普通片剂(或胶囊)口服吸收差,生物利用度低<sup>[3]</sup>。文献报道<sup>[4]</sup>有学者将水飞蓟宾研制为葡甲胺盐注射剂,但因该注射剂 pH 值偏高,局部注射产生较大刺激性,体内半衰期短,限制了其在临床应用和推广。PEG 衍生物可有效增加药物的水溶性,增加脂质体膜的稳定性,延长药物在体内的循环时间。本文合成聚乙二醇硬脂酸单酯(PEG-MS),研制聚乙二醇修饰水飞蓟素脂质体(SM-PL)注射剂,通过 PEG-MS 修饰脂质体微粒,使其表面形成电子云结构,亲水性 PEG 可减少脂质体与血浆成分的吸附作用,避免体内易被网状内皮系统识别吞噬作用<sup>[5]</sup>,硬脂酸为人体内源性物质,具有生物降解和生物相容性,本研究通过 Box-

Behnken 设计筛选 PEG 修饰水飞蓟素脂质体的处方,期望新制剂静脉注射给药后体内滞留时间大大延长,达到药物向肝实质细胞靶向的目的。

## 1 仪器与试药

8453 扫描型可见-紫外分光光度计(美国 Agilent 公司);岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津);Zetasizer 3000 HAS 激光粒径测定仪(英国 Malvern 公司);TP-2A 智能透皮试验仪(南京红蓝电子科技中心);Sephadex G-50 凝胶柱(2cm×25cm,台州市路桥四甲生化塑料厂);透析袋(中国医药集团上海化学试剂公司,截留分子量 8000~10000)。

SM(盘锦格林恩生物资源开发有限公司,SB 含量 80%,批号:20080714)、SB 对照品(中国药品生物检验所提供,含量:99.5%);大豆磷脂(SPC,注射级,上海太伟磷脂有限公司,PC 含量>90%);胆固醇(Chol,惠兴生化试剂有限公司);聚乙二醇(PEG, Mn 为 2000, Aldrich 公司);甲醇(色谱纯);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 PEG2000-MS 的合成<sup>[6]</sup>

称取经脱水处理的 PEG2000 与硼酸(按物质的量之比 3:1)适量,置三颈瓶中,于 120℃回流 2h,抽真空磁力搅拌进行硼酸酯化反应。冷却至室温,加入硬脂酸(SA)适量和 1.0%对甲苯磺酸,加热回流 8h,加入蒸馏水 10mL,无水醋酸钠适量,控制反应温度 100℃水解 1h,即得 PEG2000-MS 粗品。

**基金项目** 国家科技重大专项“新制剂与新释药系统技术平台”(2009ZX09310-004)

**\*作者简介** 张勇,男,硕士生, E-mail:zycpu@163.com

**\*\*通讯作者** 李娟,女,副教授, Tel:025-83271287, Email:lijuanpcu@163.com

**收稿日期** 2010-03-11 **修回日期** 2010-04-27

将 PEG2000-MS 粗品用乙酸乙酯溶解萃取和饱和 NaCl 液洗涤,置分液漏斗中振摇提取 3 次,除去未反应的 PEG2000,薄层分析杂质。收集油层溶于正丁醇适量,静置 4h 抽滤,加冰乙醚沉淀,30℃真空干燥至恒重,收率 76%~82%。

## 2.2 PEG2000-MS 的结构表征和图谱分析

**2.2.1 红外分析** 取 PEG2000、硬脂酸和 PEG2000-MS 适量,加入溴化钾压片进行红外光谱分析。结果见图 1,其中图 1(a)中 3411.24cm<sup>-1</sup> 代表 O-H 的伸缩振动,1701.13cm<sup>-1</sup> 代表 C=O 的伸缩振动,表明硬脂酸中有 -COOH 结构。图 1(b)中 3300~3500cm<sup>-1</sup> 的宽峰代表 O-H 的伸缩振动,1108.48 代表 C-O 醚键的伸缩振动,表明 PEG 中 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 和 -OH 的存在。图 1(c)中,3300~3500cm<sup>-1</sup> 的宽峰代表 O-H 的伸缩振动,1734.92cm<sup>-1</sup> 代表 C=O 的伸缩振动,较硬脂酸羰基峰红移,1111.02cm<sup>-1</sup> 代表 C-O 醚键的伸缩振动,可确定合成产物为 PEG2000-MS。

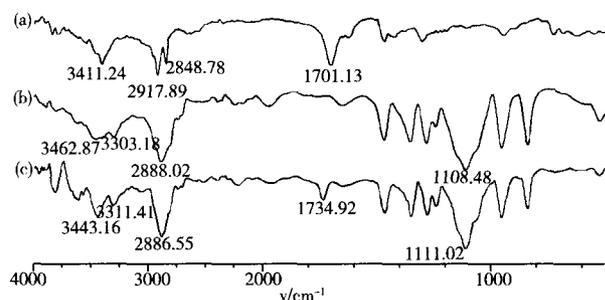


图 1 聚乙二醇硬脂酸单酯的 IR 图谱

(a):硬脂酸;(b):聚乙二醇;(c):聚乙二醇硬脂酸单酯

**2.2.2 核磁共振光谱及分析** 采用氘代氯仿作溶剂,在 BrukerAv300 超导核磁共振仪进 <sup>1</sup>H-NMR 测定,结果见图 2。 $\delta$ 3.51 处的峰为聚乙二醇链中亚甲基 a 的质子, $\delta$ 4.11 处的三重峰为 b 处的质子, $\delta$ 2.29 处的峰为 c 处的质子, $\delta$ 1.51 处的多重峰为 d 处的质子, $\delta$ 1.24 处的峰为硬脂酸中亚甲基 e 处的质子,位于最高场  $\delta$ 0.86 处的三重峰归属于 f 处的质子,端羟基中质子易与氘交换,图中未见端羟基质子峰,核磁共振分析结果表明合成产物是 PEG2000-MS。

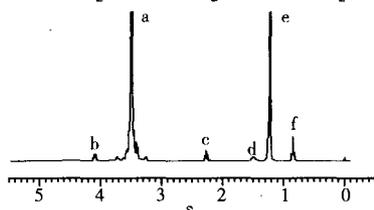
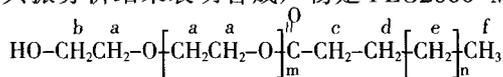


图 2 聚乙二醇硬脂酸单酯的 <sup>1</sup>H-NMR 图谱

## 2.3 PEG 化 SM 脂质体的制备<sup>[7]</sup>

称取一定比例的 SM、SPC、Chol 和 PEG2000-MS,加入甲醇-乙醚(4:1)混合溶剂超声 30min 溶解,置于梨形瓶中(内放几粒玻璃珠),40℃旋转减压蒸发除去有机溶剂,使脂质均匀成膜,加入纯净水适量水化,超声 20min,依次过 0.45、0.22 $\mu$ m 聚碳酸酯膜,即得 SM-PL 混悬液。

将制得的 SM-PL 混悬液于 -20℃ 预冻后进行冷冻干燥,室温避光密闭保存。

## 2.4 修饰脂质体包封率和载药量的测定

**2.4.1 HPLC 方法** 色谱条件:Hanbon-ODS 色谱柱(150mm×4.6mm,5 $\mu$ m);流动相:甲醇-水相(0.05mol·L<sup>-1</sup>磷酸盐缓冲液,pH4.0)=50:55;流速:1.0mL·min<sup>-1</sup>,柱温:30℃;检测波长:288nm;进样量:20 $\mu$ L。

标准曲线绘制:配制浓度分别为 0.25、0.50、1.0、2.5、5.0、10.0、25.2 $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> SB 标准液,吸 20 $\mu$ L 注入 HPLC 分析,理论塔板数按水飞蓟素(SB)计算不低于 5000。以 SB 与其异构体的两峰面积之和(A)对浓度(C)进行线性回归,得标准曲线:A=50278.3C+862.1,r=0.9999。配制浓度分别为 0.50、5.0 和 25.2 $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> SB 标准液,测定回收率为 97.77%、98.19%和 98.18%(n=3),日内精密度为 2.11%、1.17%和 0.27%,日间精密度为 3.15%、1.47%和 0.82%(n=3)。

**2.4.2 包封率(EE)和载药量(LC)的测定** 取葡聚糖凝胶 G-50 适量加纯净水溶胀,凝胶柱(300mm×20mm)。精密吸取 SM-PL 混悬液 0.5mL 上样,以纯净水为洗脱介质,流速 1.0mL·min<sup>-1</sup> 进行洗脱,收集带有乳光的洗脱液于 10mL 量瓶,纯净水定容。取该液 1mL 用甲醇破膜稀释 5 倍,吸 20 $\mu$ L 注入 HPLC 分析,测定峰面积(A<sub>i</sub>)。另取 0.5mL SM-PL 混悬液,甲醇破膜稀释,峰面积(A<sub>0</sub>),按公式计算 EE%=A/A<sub>0</sub>×100%,得 SM-PL 包封率为(91.16±1.47)%(n=3);按公式计算载药量 LC%=W<sub>E</sub>/W<sub>LN</sub>×100%,SM-PL 载药量为(3.35±0.05)%(n=3)。

## 2.5 处方优化

**2.5.1 Box-Behnken 效应面法优化处方<sup>[8]</sup>** 在单因素考察的基础上,确定 SM 的用量为 10mg,成膜溶剂为甲醇-乙醚(4:1),水合介质为纯净水,选择对脂质体性质影响较显著的 3 个因素:大豆磷脂用量(X<sub>1</sub>,mg),胆固醇用量(X<sub>2</sub>,mg),PEG-MS 用量(X<sub>3</sub>,mg)作为考察对象,分别评价脂质体的粒径(Particle Diameter,PD)、包封率(Entrapment Efficiency,EE)、载药量(Loading Content,LC)。包封率定义为包封于脂质体内的药量与总药量之比;载药量定义为包封于脂质体内的药量与脂质体中药物及载体总量之比。实验设计及结果见表 1。

表 1 Box-Behnken 设计表及结果

No	$X_1$	$X_2$	$X_3$	PD/nm	EE/%	LC/%
1	240	80	9	106.30	88.29	5.09
2	200	20	13	99.60	89.10	7.10
3	200	20	5	100.50	88.62	7.30
4	160	20	9	110.40	63.91	6.33
5	200	50	9	102.30	90.47	6.53
6	240	50	5	94.60	92.86	5.92
7	240	50	13	100.50	93.18	5.79
8	200	50	9	98.80	89.96	6.50
9	160	50	13	114.80	65.17	5.52
10	160	80	9	125.30	61.84	4.73
11	200	80	13	113.80	86.58	5.58
12	200	50	9	99.80	91.42	6.59
13	240	20	9	89.20	92.63	6.44
14	200	80	5	108.90	86.34	5.71
15	200	50	9	101.60	91.08	6.57
16	200	50	9	100.10	90.56	6.54
17	160	50	5	120.20	64.52	5.66

2.5.2 模型拟合 采用 Design-Expert7.0.3(试用版)软件对各因素进行拟合,根据计算得出的各指标进行 F 检验,删除不显著因素后,得拟合方程如下:

$$PD=100.52-10.01X_1+6.83X_2+0.56X_3+2.83X_1X_2+4.55X_1^2+2.73X_2^2+2.45X_3^2$$

( $r^2=0.9784$ )

$$EE=90.54+13.94X_1-1.4X_2+0.21X_3-0.57X_1X_2-11.4X_1^2-2.67X_2^2$$

( $r^2=0.99891$ )

$$LC=3.37+0.084X_1-0.4X_2-0.038X_3+0.025X_1X_2-0.44X_1^2-0.054X_2^2$$

( $r^2=0.9983$ )

2.5.3 效应面优化和预测 采用 Design-Expert 7.0.3(试用版)软件,绘制各指标与影响较显著的 2 个自变量的三维曲面图(另一自变量设为中心点值)见图 3(A~C),设计各指标权重,得到优化后的处方曲面,见图 3(D)。

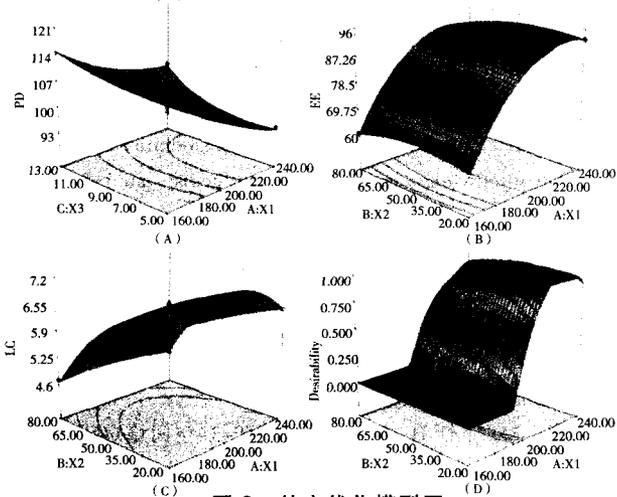


图 3 处方优化模型图

(A)粒径;(B)包封率;(C)载药量;(D)期望值

曲面最高点即为理论最佳处方 ( $X_1=208.93\text{mg}$ ,  $X_2=43.50\text{mg}$ ,  $X_3=9.51\text{mg}$ )。

### 2.6 透射电子显微镜和粒径测定

取 SM-PL 混悬液稀释 5 倍,滴至铺有碳膜的铜网上静置 5min,滴加 2%磷钨酸染色,自然晾干,于透射电子显微镜下观察修饰脂质体形态。结果见图 4A,SM-PL 粒子均匀,PEG 环绕脂质体形成核-壳结构,为球形或类球形小单室脂质体。

另将脂质体样品经纯净水稀释 5 倍,置激光粒度仪测定 SM-PL 粒径及粒径分布,结果见图 4B。修饰脂质体的平均粒径为  $(100.9\pm 3.5)\text{nm}$ ,多分散性指数为 0.251;修饰脂质体粒径分布较窄,符合 Gaussian 分布,卡方( $\chi^2$ )值小于 3。

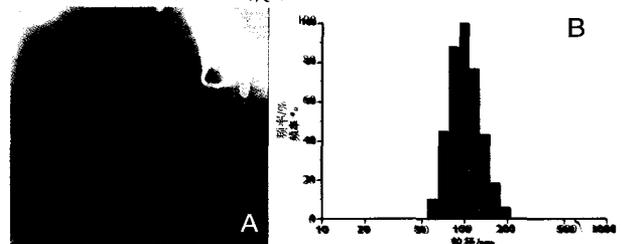


图 4 SM 长循环脂质体 (A)透射电镜图;(B)粒径分布图

### 2.7 体外释放研究

选择 SM 普通脂质体 (SM-L)、PEG 修饰脂质体 (SM-PL)和 SM 溶液 (SM-S),取上述制剂各 4mL 置透析袋扎紧,释放介质为 pH6.8 磷酸盐缓冲液 (含 0.25%吐温液),释放液体积 50mL,水浴温度 37℃,搅拌转速  $300\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,分别于 0.5、1、2、4、6、8、12、18、24h 取样 1mL,补充 1mL 释放介质。另取 SM-L 和 SM-PL 4mL 与等体积空白血浆混合装入透析袋后同上操作,研究三种制剂透析法和两种脂质体血浆透析法体外释药情况,评价血浆蛋白对脂质体释放的影响。以累积释放率(Q)对时间(t)作图,释放曲线见图 5。

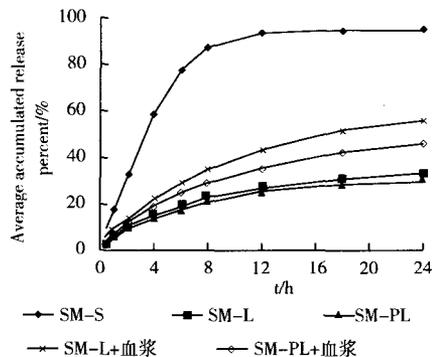


图 5 SM 长循环脂质体体外释放曲线(n=3)

结果表明,SM 游离药释放快,12h 达 92.3%。SM-L 和 SM-PL 释药缓慢,24h 释放率无显著性差异 ( $P>0.05$ );血浆透析法结果表明,SM-L 和 SM-PL 释药率明显加快,24h 累积释药率有显著性差异 ( $P<$

0.05), 分别为 56.7% 和 45.7%。

采用 Origin 8.0 软件, 将 SM-L 和 SM-PL 体外释放数据进行拟合, SM-PL 体外释放符合 Weibull 方程, SM-L 拟合结果符合 Higuchi 或 Weibull 方程。两种方法的拟合结果见表 2。

表 2 SM 长循环脂质体体外释放拟合方程

数学模型	SM-PL+血浆		SM-L+血浆	
	回归方程	$r^2$	回归方程	$r^2$
零级方程	$Q=0.0973+0.0175t$	0.901	$Q=0.1192+0.0213t$	0.917
一级方程	$\ln(1-Q)=-0.0940-0.0243t$	0.942	$\ln(1-Q)=-0.1096-0.0330t$	0.963
Higuchi 方程	$Q=-0.0201+0.1033t^{1/2}$	0.989	$Q=-0.0219+0.1252t^{1/2}$	0.992
Weibull 方程	$\ln[-\ln(1-Q)]=-2.5975+0.7044\ln t$	0.991	$\ln[-\ln(1-Q)]=-2.2955+0.6809\ln t$	0.999

### 3 讨论

PEG 与硬脂酸(物质的量之比达 4:1 以上)反应易生成双酯, 且仍有烯、醛等副产物生成。为避免双酯和副产物生成, 提高单酯产率, 本研究通过间接酯化-硼酸酯化法合成了聚乙二醇-硬脂酸单酯(PEG-MS)材料, 利用硼酸保护 PEG 结构中的一个羟基, 再通过水解得到硬脂酸单酯, 本研究纯度高达 90%。

本研究采用 Box-behnken 设计法优化 PEG 修饰脂质体的处方, 通过调节各指标权重, 得到 SM-PL 的优化模型。从效应面图可看出, 随脂质膜材料大豆磷脂用量增加, 脂质体的包封率增大, 载药量也相应增加; 但大豆磷脂用量过多, 载药量有所降低, 脂质体容易聚集融合, 导致药物泄露。胆固醇具有稳定 SM 脂质双分子膜的作用。大豆磷脂与水飞蓟素最佳比例为 20:1。大豆磷脂与胆固醇最佳比例 4.2:1。应用 PEG-MS 修饰 SM 脂质体, PEG-MS 具有表面活性, 可与 SM 主要有效成分形成胶束, 大大增加难溶性药物溶解度, 并能减小脂质体粒径, 提高脂质体膜稳定性, PEG 硬脂酸单酯与药物最适宜比例为 0.9:1。结果表明, 建立的数学模型预测值与实验测定数据相符。

采用血浆透析与透析两种方法研究 SM-L 和 SM-PL 体外释放, 结果表明, 两制剂释放速率均明显加快, 其主要机理可能由于血浆蛋白与脂质体载体磷脂发生相互作用, 影响了磷脂双分子的膜稳定性, 导致药物通透性有所增加; 血浆成分如酶也可能促进 SM 从脂质体中的释放速度。SM-PL 与血浆混合释放率降低的原因, 可能是 PEG 硬脂酸单酯载体嵌入到脂质体的表面, 形成绒毛状亲水性保护层, 避免了微粒之间的聚集, 使修饰脂质体膜更加稳定性。

PEG-MS 结构中保留的一个羟基, 还可与某些

配体半乳糖或抗体结合, 进一步合成 PEG 修饰新衍生物, 兼有长循环和肝靶向作用。本文拟进行 SM-PL 和 SM-PL 体内动力学研究, 证明水飞蓟素修饰脂质体具有长循环作用; 拟合成半乳糖修饰 PEG-MS 载体, 期望开发的水飞蓟素修饰脂质体注射剂能达到肝实质细胞靶向作用。近年来, 脂质体与 PEG 衍生物结合的方法已被广泛应用于长循环脂质体。本研究通过硼酸酯化法合成了新型体内生物降解材料: 聚乙二醇硬脂酸单酯(PEG-MS), 并首次应用于 SM 脂质体的制备。PEG-MS 的加入能明显减小脂质体的粒径, 提高脂质体的包封率, 可能与其具有表面活性, 形成胶束与脂质体的混合液有关, 此方面的研究有待进一步开展; PEG-MS 保留一个羟基, 可进一步与某些抗体或配体结合, 合成兼具长循环及靶向性的修饰材料。

致谢: 衷心感谢国家科技重大专项及中国药科大学大学生创新实验资金对本课题的资助。

### 参考文献

- [1] 孙铁民, 李 锐. 水飞蓟素药理研究进展 [J]. 中草药, 2000, 31(3): 229-32.
- [2] Yang SH, Lin JK, Chen WS, et al. Anti-angiogenic effect of silymarin on colon cancer LoVo cell line[J]. *J Surg Res*, 2003, 113(1): 133-8.
- [3] Chopra S, Motwani SK, Iqbal Z, et al. Optimisation of polyherbal gels for vaginal drug delivery by Box-Behnken statistical design[J]. *J Pharmacokinet Biopharm*, 2007, 67(1): 120-31.
- [4] 厉英超, 董 蕾, 贾 皓, 等. 水飞蓟宾固体脂质纳米粒的制备及抗肝纤维化作用[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2007, 28(5): 517-20.
- [5] Santos ND, Allen C, Doppen AM, et al. Influence of poly(ethylene glycol) grafting density and polymer length on liposomes: relating plasma circulation lifetimes to protein binding [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768(6): 1367-77.
- [6] Hamid SBA, Abdullah FZ, Ariyanchira S, et al. Polyoxyethylene esters of fatty acids: an alternative synthetic route for high selectivity of monoesters [J]. *Catalysis Today*, 2004, 97(4): 271-6.
- [7] Xiao YU, Song YM, Ping QN, et al. Preparation of silymarin proliposome: A new way to increase oral bioavailability of silymarin in beagle dogs [J]. *Int J Pharm*, 2006, 319(1-2): 162-8.
- [8] 潘 鸿, 王恬力, 陆伟跃. chTNT-3-空间稳定脂质体的制备及理化性质考察 [J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(5): 318-21.

(下转 246 页)

特此感谢江苏德峰医药化工有限责任公司对本项目的资金支持。

### 参考文献

- [1] Siusarchyk WA, Applegate HE, Funke P. Synthesis of 6-methylthiopenicillins and 7-heteroatom-substituted cephalosporins[J]. *J Org Chem*, 1973, (5): 38, 943-50.
- [2] Schultz AG, Lee YK, Berger MH. Mixed-metal clusters via metal hydride coupling. New rhenium-osmium clusters and the crystal structure of eicosacarbonyl(dihydrotriosmium) dirhenium[J]. *J Am Chem Soc*, 1977, 99(24): 8065-6.
- [3] Murai S, Kuroki Y, Hasegawa K. Silyl alkenyl ethers as the synthetic equivalent of enols. New syntheses of  $\alpha$ -keto-sulphides and 1,3-diketones [J]. *Chem Commun*, 1972, (16): 946-7.
- [4] Kuehen ME. Reactions of enamines with electrophilic sulfur compounds[J]. *J Org Chem*, 1963, 28(8): 2124-8.
- [5] 程传玲. 脯氨酸酰肼小分子催化的环己酮的直接  $\alpha$ -硫代反应[J]. *有机化学*, 2009, 29(11): 1840-2.
- [6] Wang W, Li H, Wang J. Direct, organocatalytic  $\alpha$ -sulfenylation of aldehydes and ketones [J]. *Tetrahedron Lett*, 2004, 45(44): 8229-31.
- [7] Evans DA, Campos KR, Tedrow JS. Application of chiral mixed phosphorus/sulfur ligands to palladium-catalyzed allylic substitutions [J]. *J Am Chem Soc*, 2000, 122(33): 7905-20.
- [8] Mohammad B, Josep EK. Alkyl and aryl sulfenimides[J]. *J Org Chem*, 1969, 34(1): 51-5.

## Asymmetric $\alpha$ -Sulfenylation of Ketones Catalyzed by Proline

LI Chang-si<sup>1</sup>, YUAN Fei-peng<sup>1</sup>, YU Jian-jun<sup>1</sup>, DAI Zhen-ya<sup>1\*</sup>, YOU Qi-dong<sup>1\*</sup>, WANG De-feng<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

<sup>2</sup>Jiangsu Defeng Pharmaceutical & Chemical Co., Ltd., Nantong 226531;

<sup>3</sup>Jiangsu Engineering Center for Heterocyclic Compounds Containing Multiple Heteroatoms, Nanjing 210009, China

**ABSTRACT** The direct  $\alpha$ -sulfenylation reaction of ketone catalyzed by proline was studied. The effect of three different cyclic ketones, seven different sulfenylation reagents, four solvents and the temperature on the reactivity, yield and ee value were investigated. The high yield was achieved up to 90% in dipolar solvents, such as DMF, DMSO, and when the temperature was lower to  $-40^{\circ}\text{C}$ , the highest ee value 20% was achieved. The direct  $\alpha$ -sulfenylation of ketones catalyzed by organocatalyst has rarely been reported. Not only high chemical yields can be achieved, but also the asymmetric  $\alpha$ -sulfenylation of ketones can be realized with proline as catalyst.

**KEY WORDS** Proline;  $\alpha$ -sulfenylation of ketones; Asymmetric catalysis

(上接 242 页)

## Preparation and in vitro Release of Silymarin-loaded Polyethylene Glycol Modified Liposomes

ZHANG Yong, LI Juan\*, GONG Xing-yan, LIN Ze-bin

Department of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**ABSTRACT** **Objective:** Polyethylene glycol monostearate (PEG-MS) was synthesized using a boric acid esterification method. Box-Behnken design was adopted to optimize the PEG modified silymarin liposome formulations and to evaluate their physicochemical properties. **Methods:** The structures were validated by IR and  $^1\text{H-NMR}$  methods. Silymarin Liposomes (SM-PL) were prepared by the modified film dispersion technique. Their drug release properties in vitro were evaluated by plasma-dialysis method. **Results:** The optimal formulation had the composition of soybean phospholipids (SPC): Cholesterol (CH): PEG-MS: Silymarin in weight ratio (20:4.8:0.9:1). The encapsulation efficiency and particle diameter were 91.16% and 100.90nm respectively. The release curve was fitted well with Weibull equation. **Conclusion:** The mean encapsulation efficiency and particle diameter of prepared SM-LCLP were desirable and the sustained-release rate desired was obtained.

**KEY WORDS** Silymarin; Poly(ethylene glycol)modified liposomes; Box-Behnken design; In vitro release