

# 银杏内酯 B 脂质体的处方与制备工艺研究

邢宇<sup>1</sup>, 李雄<sup>2</sup>, 于颖<sup>1\*</sup>(1.中国药科大学工学院, 南京 210009; 2.苏州恩华生物医药科技有限公司, 江苏 苏州 221000)

**摘要:** 目的 将银杏内酯 B(ginkgolide B, GB)制备成脂质体, 增加 GB 在水中的分散性和稳定性。方法 采用超滤离心法分离脂质体与游离药物, HPLC 测定脂质体中 GB 的含量与包封率, 采用薄膜分散法制备 GB 脂质体; 通过单因素与正交试验分析药脂比、胆固醇用量、装载量、水化温度和水化时间等因素对包封率的影响, 以外观、包封率、粒径为评价指标确定 GB 脂质体的最佳处方和制备工艺。结果 GB 脂质体的最佳处方为 10 mg GB、160 mg 蛋黄卵磷脂、40 mg 胆固醇、8 mg 维生素 E、58 mg DSPE-PEG2000、5 mL PBS 缓冲液; 优化后的工艺条件为 GB 与脂质辅料溶于无水乙醇中, 33 °C 水浴条件下减压旋转蒸发除乙醇, pH 6.5 PBS 缓冲液水化脂质薄膜, 水化温度 35 °C, 时间 120 min, 粗脂质体混悬液冰水浴超声 6 min, 超声功率 120 W。制备的 GB 脂质体混悬液微泛蓝色乳光、可透光, 粒径为(126±4)nm, 包封率>87%, 放置 24 h 无聚集、无沉降。结论 采用薄膜法在实验室阶段成功制备了稳定的 GB 脂质体, 确定了最优制备处方和制备工艺, 为 GB 制剂的剂型研究做出探索和提供参考。

**关键词:** 银杏内酯 B; 脂质体; 超滤离心-HPLC 法; 薄膜分散法

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)06-0697-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.011

引用本文: 邢宇, 李雄, 于颖. 银杏内酯 B 脂质体的处方与制备工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 697-703.

## Study on Formulation and Preparation Process of Ginkgolide B Liposome

XING Yu<sup>1</sup>, LI Xiong<sup>2</sup>, YU Ying<sup>1\*</sup>(1.School of Engineering, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2.Jingsu Enhua Biomedical Technology Co., Ltd, Suzhou 221000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To increase the dispersion and stability of prepared ginkgolide B(GB) in water by prepared GB liposomes. **METHODS** The liposome and free drug were separated by ultrafiltration centrifugation using ultrafiltration tube. The content and encapsulation efficiency of GB liposome were determined by HPLC. The method of film dispersion was used to prepare GB liposome. The influence factors on the encapsulation efficiency such as drug-to-lipid ratio, cholesterol dosage, loading amount, hydration temperature and hydration time were analyzed by single factor and orthogonal experiments. The appearance, encapsulation efficiency and particle size were used as evaluation indicators to determine the best formulation and preparation process of GB liposomes. **RESULTS** The best prescription for GB liposomes were as follows: 10 mg GB, 160 mg egg yolk lecithin, 40 mg cholesterol, 8 mg vitamin E, 58 mg DSPE-PEG2000, 5 mL PBS buffer. The optimized process conditions were as follows: GB and lipid excipients were dissolved in absolute ethanol, and ethanol was removed by rotary evaporation under reduced pressure in a water bath at 33 °C. The lipid film was hydrated with PBS buffer at pH 6.5, and the hydration temperature was 35 °C, 120 min, the crude liposome suspension was ultrasonicated for 6 min in an ice water bath with an ultrasonic power of 120 W. The prepared GB liposome suspension was slightly bluish blue, light transmissive, with a particle size of (126±4)nm, an encapsulation efficiency above 87%, and no aggregation or sedimentation after 24 h. **CONCLUSION** GB is successfully prepared into stable GB liposomes by the thin film method in the laboratory stage. The preparation and preparation process are selected and optimized. A reference method for the formulation of GB preparations was explored and provided.

**KEYWORDS:** ginkgolide B; liposome; ultrafiltration centrifugation-HPLC; film dispersion method

银杏叶提取物(ginkgo biloba extract, GBE)是临床治疗脑血管疾病的一线药物, 疗效得到国内外医学界充分肯定。银杏内酯 B(ginkgolide B, GB)是 GBE 中活性最强的成分, 具有高度专属性的血小板活化因子受体拮抗剂, 能有效阻止血小板聚集和血栓形成, 还可减轻脑缺血的脑组织脂质过

氧化反应, 提高自由基清除系统酶的活性, 对脑损伤有明显保护作用<sup>[1-4]</sup>。但 GB 在水中的溶解度较差, 在血液 pH 环境中易开环失活, 导致其生物利用度降低, 成药性变差, 难以在临床上得到应用<sup>[5]</sup>。目前还没有 GB 脂质体上市, 但由于其生物相容性、生物可降解性、无毒和无免疫原性等优

作者简介: 邢宇, 女, 硕士生 Tel: (025)83271056 E-mail: 1316820929@qq.com \*通信作者: 于颖, 女, 博士, 副教授 Tel: (025)83271056 E-mail: yyinga@vip.sina.com

点,近年来,将纳米材料作为药物载体的研究迅速发展,GB混悬剂、滴丸、多晶型、自微乳和纳米脂质体等的开发有效增加稳定性,提高生物利用度<sup>[6-8]</sup>。本研究考察将GB制成脂质体制剂的处方和制备工艺,为GB成药性研究提供方法与参考。

## 1 仪器与试剂

RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化制品厂); SCIENTZ-IIID 超声破碎机(宁波新芝公司); UitiMate 3000 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 微量进样针(上海光正医疗仪器有限公司); TG-W16S 台式高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司); Litesizer 500 激光粒度分析仪(奥地利 Anton Paar 公司); BSA124S 分析电子天平(德国赛多利斯司); 超滤管(Millipore)。

GB(南京景竹医药有限公司,批号:130804;纯度:98%);高纯蛋黄卵磷脂(艾伟拓医药科技有限公司,批号:AL18012);氢化大豆卵磷脂、胆固醇、乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠均为分析纯,均购自国药集团化学试剂有限公司;维生素E(Sigma,批号:T3634);DSPE-PEG2000(批号:012251)、甲醇(色谱纯)均购自上海凌峰化学试剂有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 测定 GB 含量

GB的紫外最大吸收波长220 nm左右,空白脂质在220 nm处也有较大的紫外吸收,为了避免空白脂质体对GB检测的干扰,先将GB与脂质辅料完全分离后再利用HPLC测定。色谱条件:SHIMADZU ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(1:1),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长220 nm,进样量20 μL,柱温30℃。精密移取GB对照品溶液浓度分别为10, 20, 40, 80, 120, 160, 200 μg·mL<sup>-1</sup>,在上述色谱条件下进样20 μL,记录峰面积。以GB对照品溶液浓度为横坐标(X轴),平均峰面积为纵坐标(Y轴),得到回归方程:Y=669.64X+175.63, R<sup>2</sup>=0.999 9, GB浓度在10~200 μg·mL<sup>-1</sup>内峰面积与浓度呈良好的线性关系。分别精密吸取20 μL GB对照品溶液、供试品溶液以及空白脂质体溶液,进行专属性考察。GB的峰与空白脂质体的辅料峰分离度较好,说明制备GB脂质体的辅料对GB的HPLC测定无干扰,测定方法的专属性好。

制备含空白脂质体辅料的低、中、高浓度GB样品溶液,浓度依次为120, 160, 200 μg·mL<sup>-1</sup>。平均回收率分别为99.65%, 101.10%和98.90%,稳定性RSD为0.23%,重复性RSD为1.12%(n=3),结果符合加样回收率要求。精确吸取浓度为120 μg·mL<sup>-1</sup>的GB对照品溶液20 μL在同一天内连续进样6针,记录峰面积,计算日内RSD,用同一个对照品溶液每天进样1针,连续进样6d,记录峰面积,计算日间RSD,测定方法的日间日内RSD分别为0.34%, 0.46%,表明精密度良好。

### 2.2 超滤离心法测定 GB 脂质体包封率

**2.2.1 超滤离心管截留分子量的选择** 精确量取2 mL浓度为200 μg·mL<sup>-1</sup>的GB对照品溶液5组,分别置于截留分子量为3, 10, 30, 50, 100 kDa的超滤管中,在3 000 r·min<sup>-1</sup>下离心20 min,收集滤液,测定滤液中GB的浓度,计算不同截留分子量的透过率,确定截留分子量为100 kDa的超滤管可将GB几乎全部分离。结果见表1。

表1 不同截留分子量的透过率

Tab.1 Transmittance of different molecular weight cut off

截留分子量/kDa	透过率/%
3	62.15
10	80.64
30	89.90
50	95.50
100	98.12

**2.2.2 离心时间的确定** 精确量取2 mL浓度为200 μg·mL<sup>-1</sup>的GB对照品溶液3组,分别置于截留分子量为100 kDa的超滤管中,在3 000 r·min<sup>-1</sup>下依次离心10, 20, 30, 40 min收集滤液,与母液浓度相比计算得到透过率,当离心时间>30 min,GB的透过率>99%,而离心时间过长会造成脂质体混悬液温度升高,使脂质体的稳定性受到影响,确定30 min作为离心时间不仅可以达到透过率要求,还可保持脂质体的稳定。结果见表2。

表2 不同离心时间下的透过率

Tab.2 Transmittance at different centrifugation times

离心时间/min	透过率/%
10	96.45
20	98.12
30	99.50
40	99.61

**2.2.3 包封率的测定** 精确吸取 2 mL 脂质体混悬液于试管中,再吸取 2 mL 甲醇加入试管,将试管置于超声波清洗机中,超声 10 min 破乳,测定 GB 脂质体混悬液中 GB 的总量,记为  $W_{总}$ ;精确吸取 2 mL 制备好的脂质体混悬液于截留分子量为 100 kDa 的超滤管内,在  $3\ 000\ r\cdot\min^{-1}$  下离心 30 min,取 2 mL 磷酸缓冲溶液(pH=7.5)于超滤管内重新分散脂质体, $3\ 000\ r\cdot\min^{-1}$  下再次离心 30 min,收集 2 次离心的滤液,调节 pH 至中性,再加入甲醇,将滤液试管置于超声波清洗机中,超声 10 min 破乳,测定游离的 GB 浓度。根据滤液的体积与 GB 浓度,计算 GB 脂质体混悬液中游离的 GB 量,记为  $W_{游}$ 。包封率的计算公式:

$$\text{包封率}(\%) = \frac{W_{总} - W_{游}}{W_{总}} \times 100\%$$

式中: $W_{游}$ 为游离药物的质量(g); $W_{总}$ 为药物的总质量(g)。

### 2.3 GB 脂质体处方的筛选

**2.3.1 卵磷脂的用量** 脂质体主要由药物与磷脂组成,最常用的磷脂为卵磷脂,经筛选比较采用进口的蛋黄卵磷脂(PC-98T)作为主要膜材来制备 GB 脂质体。脂溶性药物分散在磷脂双分子层中,过少的磷脂使药物不能完全包埋,造成包封率降低以及药物浪费,而过量的磷脂将造成磷脂的浪费、脂质体粒径增大以及脂质体聚集沉降。在保证脂质体包封率的情况下,磷脂的用量应尽可能减少<sup>[9-10]</sup>。当药物的用量保持固定时,磷脂的用量体现为药物与磷脂的比例,脂溶性药物与磷脂的比例一般在 1:5~1:25,通过单因素试验考察 GB 脂质体在药脂比为 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25 时的包封率,结果发现当药脂比在 1:15 左右时,包封率达到了一个较高的数值,此时再增加磷脂的用量,对提高脂质体的包封率帮助不大。结果见图 1。

**2.3.2 胆固醇的用量试验** 用天然蛋黄卵磷脂相变温度较低,在常温下呈液晶态,分子流动性较快,用其制备的脂质体稳定性不高,常温下容易造成药物泄露。为调整蛋黄卵磷脂制备的脂质体脂膜流动性与刚性,需在处方中加入胆固醇<sup>[11]</sup>。通过单因素试验考察磷脂与胆固醇比例在 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 和 1:5 时脂质体的包封率,发现随着胆固醇比例的下降,包封率持续上升,但

磷脂与胆固醇比例不能过高,否则脂质体的稳定性将得不到保障。结果见图 2。

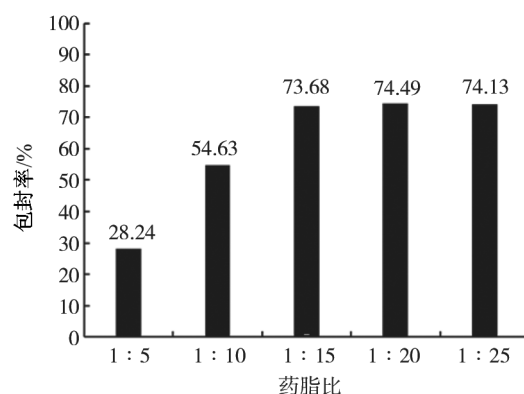


图 1 药脂比对脂质体包封率的影响

Fig. 1 Effect of drug-to-lipid ratio on liposome encapsulation efficiency

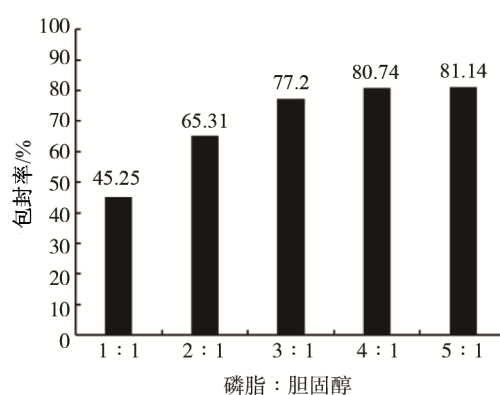


图 2 磷脂与胆固醇比对脂质体包封率的影响

Fig. 2 Effect of phospholipid to cholesterol ratio on liposome encapsulation efficiency

**2.3.3 抗氧化剂与表面活性剂的使用** 天然磷脂分子的不饱和度较高,在超声或辐射下易被氧化,造成药物泄露,产生乙醛等有害物质。为避免 GB 脂质体在制备和存储过程中发生氧化,需在处方中加入抗氧化剂,根据 GB 脂质体的制备方法以及实验室的储备,选择脂溶性的维生素 E 为抗氧化剂。抗氧化的用量与磷脂的用量有关,一般为磷脂用量的 5%左右,试验发现少量的维生素 E 在制备过程中对包封率不会造成直接影响,但过量的维生素 E 包封率下降,其机理与胆固醇相似。因此确定了维生素 E 的用量为磷脂用量的 5%。

表面活性剂通常也是两亲性物质,其亲脂端插入磷脂层,亲水端伸入脂质体外水相中,在脂质体外层形成水化保护层,增强了脂质体的稳定性,防止存储中的脂质体融合、聚集及沉降,并且表面活性剂较大的亲水头基可防止脂质体在体

循环内被巨噬细胞吞噬,有效延长了脂质体在体内的循环时间<sup>[12]</sup>。本实验制备的 GB 脂质体想要发挥应有的药效需要良好的稳定性以及足够的体内循环时间,需要在处方中加入一定量的表面活性剂,经比较发现 DSPE-PEG2000 的生物相容性较好,在体内易降解、安全可靠、用量小,确定采用 DSPE-PEG2000 为表面活性剂,用量为磷脂用量的 10%(物质的量比),经换算后质量比约为 36%。

#### 2.4 GB 脂质体制备工艺条件的考察

预试验比较薄膜法<sup>[13]</sup>与乙醇注入法<sup>[14]</sup>的制备过程和结果发现,两者在实验室的制备规模下,制备步骤和制备难度相差无几,薄膜法制备得到的脂质体包封率相对较高,外观方面,薄膜法制备的脂质体相对稳定,无明显沉淀,而乙醇注入法制备的脂质体在放置 12 h 后有不同程度的结晶物与沉淀,可能原因为注入法包封率偏低,游离药物析出并吸附一部分脂质体使其沉降。综合比较 2 种制备方法所得到的脂质体外观,包封率及粒径,确定采用薄膜分散法制备 GB 脂质体。

**2.4.1 圆底烧瓶的装载量** 圆底烧瓶的装载量是指溶解了处方成分之后的乙醇溶液体积占圆底烧瓶容积的百分比,通过试验发现此数值对形成的脂质膜厚度,均匀度有较大影响,考察了圆底烧瓶的装载量分别为 5%, 10%, 15% 时的薄膜质量。结果发现装载量 < 5% 时,脂质薄膜薄,有利于水化,但会在一定程度上浪费瓶底空间;装载量 > 10% 时,形成的脂质薄膜厚,均匀度差,有部分脂质堆积,即使长时间旋蒸也能看到明显的乙醇残留;确定装载量为 10% 保证瓶底空间的充分利用,且不影响脂质薄膜的水化。结果见表 3。

表 3 圆底烧瓶的装载量考察

Tab. 3 Investigation of the loading of the round bottom flask

装载量/%	厚度	均匀度
5	较薄	少部分瓶底无脂质
10	适中	较均匀
15	较厚	部分瓶底脂质有堆积,形状不规则,有明显乙醇残留

**2.4.2 旋转蒸发仪转速与水浴温度** 旋转蒸发仪的转速对脂质薄膜的形成也有较大的影响,转速

太慢无法使整个瓶底布满乙醇溶液,不仅蒸发速度过慢,还会使脂膜不均匀;转速太快造成乙醇溶液湍流,形成的脂质薄膜极度不均匀且溶剂残留较多,经过试验发现当转速为  $0.5 \text{ r}\cdot\text{s}^{-1}$  时,乙醇溶液刚好布满整个瓶底,且溶液表面平静,形成的脂质薄膜较均匀。减压浓缩时水浴温度影响乙醇的挥发速率,挥发速度直接影响脂质薄膜的质量,在试验采用的旋转蒸发仪所提供的真空度下,乙醇的沸点约为  $45^\circ\text{C}$ ,为保证合适的挥发速率,需要将水浴温度控制在  $40^\circ\text{C}$  以下,通过试验发现将水浴温度控制在  $30\sim 40^\circ\text{C}$  时脂质薄膜的均匀度较好,水浴温度保持在  $33^\circ\text{C}$  时,乙醇的挥发速率对薄膜均匀度的影响较为合适。

**2.4.3 水化介质与水化温度** 脂质薄膜需要加入水化介质才能使其形成脂质体,而水化介质的种类与 pH 会对脂质体的形成造成一定的影响,一般来说以纯水为水化介质,就能形成形状较好的脂质体,但是脂质体在水中会发生水解,产生对人体有害的溶血卵磷脂,在水中存储的时间越长,水解程度越大,而当  $\text{pH}=6.5$  时,磷脂的水解速率最小,所以需要将水化介质的 pH 保持在 6.5 左右。PBS 是一种常用的缓冲溶液,以它为水化介质能保持脂质体混悬液的 pH 稳定,经过试验发现高浓度的 PBS 缓冲溶液会使脂质薄膜水化时产生絮状沉淀,阻碍了脂质体的形成,而当浓度  $< 0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, PBS 对脂质体的形成影响基本可忽略。最终确定了水化介质为  $\text{pH}=6.5$  浓度为  $0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PBS 溶液。

水化温度对脂质体的形成有较大的影响,水化温度原则上需要高于所用磷脂的相变温度,这样才能使磷脂双分子层从凝胶态转变为液晶态,膜的流动性加强,有利于脂质薄膜的吸水溶胀,形成薄层脂质小管,在外力的作用下脱离瓶壁,小管破裂,疏水边缘重新闭合形成脂质体。试验采用的磷脂为蛋黄卵磷脂,其相变温度较低,在常温下处于液晶态,但加入胆固醇之后,其膜的流动性降低,所以适当提高水化温度有利于脂质体的形成。通过单因素控制试验考察水化温度分别在  $30, 35, 40, 45, 50^\circ\text{C}$  时脂质体的水化时间与包封率,水化过程结束的判断以脂质薄膜完全脱离瓶壁且脂质体混悬液中无明显大颗粒存在为

依据,随着温度的升高,水化时间会较快地缩短,当温度 $>40^{\circ}\text{C}$ 时,GB 脂质体包封率会显著下降,因此脂质薄膜的水化温度控制在  $35\sim 40^{\circ}\text{C}$ 之间最佳,结果见表 4。

表 4 水化温度对水化时间与包封率的影响

Tab. 4 Effect of hydration temperature on hydration time and encapsulation efficiency

水化温度/ $^{\circ}\text{C}$	水化时间/min	包封率/%
30	150	85.80
35	120	86.45
40	90	82.59
45	50	73.60
50	25	55.01

**2.4.4 超声时间** 薄膜水化后的粗脂质体,粒径在几百纳米至几微米之间,不利于长时间存放。需通过超声破碎机减小粒径,根据实验室超声破碎仪的探头型号与脂质体混悬液的体积,确定超声的功率为整机功率的 20%,约 120 W,有效的超声时间为 50%。考察超声时间对脂质体的粒径与包封率的影响,将粗脂质体分别在超声时间 3, 5, 8, 10, 15 min 时取样稀释,用激光粒度分析仪与超滤离心法测量粒径与包封率,当超声时间  $> 3$  min 时,脂质体的平均粒径降至  $< 200$  nm,当超声时间  $> 8$  min 时,包封率显著下降,所以超声时间应当控制在 5~8 min。结果见表 5。

表 5 超声时间对 GB 脂质体粒径与包封率的影响

Tab. 5 Effect of ultrasonic time on GB liposome size and encapsulation efficiency

超声时间/min	平均粒径/nm	包封率/%
2	310.70	82.45
3	197.30	81.94
5	134.70	81.60
8	112.50	79.98
10	105.40	74.31
15	98.20	62.40

## 2.5 GB 脂质体制备条件的优化

通过上述的单因素试验发现药脂比、磷脂与胆固醇比、水化温度及超声时间对脂质体的包封率影响较大。为了进一步研究这些因素对脂质体制备的影响,将其他条件固定,以上述 4 个影响因素为考察目标,采用正交设计优化 GB 脂质体的

制备,每个因素选 3 个水平,设计了  $L_9(3^4)$ 正交试验,结果见表 6。

表 6  $L_9(3^4)$ 正交设计优化 GB 脂质体制备工艺

Tab. 6  $L_9(3^4)$  orthogonal design to optimize the preparation technology of GB liposome

水平	因素			
	A (药脂比)	B (卵磷脂:胆固醇)	C (水化温度/ $^{\circ}\text{C}$ )	D (超声时间/min)
1	1 : 12	2 : 1	35	6
2	1 : 14	3 : 1	37	7
3	1 : 16	4 : 1	39	8

按表 7 进行试验,记录每个批次试验的包封率并以此为依据进行条件优选,以获得优化后的处方与工艺条件。

根据结果  $R_A > R_B > R_C > R_D$ ,直观分析法得 GB 脂质体包封率影响因素的主次顺序  $A > B > C > D$ ,最佳制备条件为  $A_3B_3C_1D_1$ 。最佳处方与工艺为药脂比 1 : 16、磷脂胆固醇比 4 : 1、水化温度  $35^{\circ}\text{C}$ 、超声时间 6 min。优化后的脂质体处方与制备工艺:最佳优化处方为 GB 10 mg、蛋黄卵磷脂 160 mg、胆固醇 40 mg、维生素 E 8 mg、DSPE-PEG2000 58 mg、PBS 5 mL。通过对 GB 脂质体制备方法的选择,制备处方和工艺参数的优化后,最终确定了 GB 脂质体的制备工艺,工艺流程见图 3。

表 7 正交设计优化 GB 脂质体制备试验结果

Tab. 7 Experimental results of orthogonal design optimization of GB liposome preparation

序号	A	B	C	D	包封率/%
1	1	1	1	1	59.06
2	1	2	2	2	61.51
3	1	3	3	3	64.87
4	2	1	2	3	63.65
5	2	2	3	1	69.26
6	2	3	1	2	78.46
7	3	1	3	2	75.29
8	3	2	1	3	82.60
9	3	3	2	1	87.96
$K_1$	185.44	198.00	220.12	216.28	
$K_2$	211.37	213.37	213.12	215.26	
$K_3$	245.85	231.29	209.42	211.12	
$k_1$	61.81	66.00	73.37	72.09	
$k_2$	70.45	71.12	71.04	71.75	
$k_3$	81.95	77.10	69.81	70.37	
$R$	20.14	11.10	2.56	1.72	

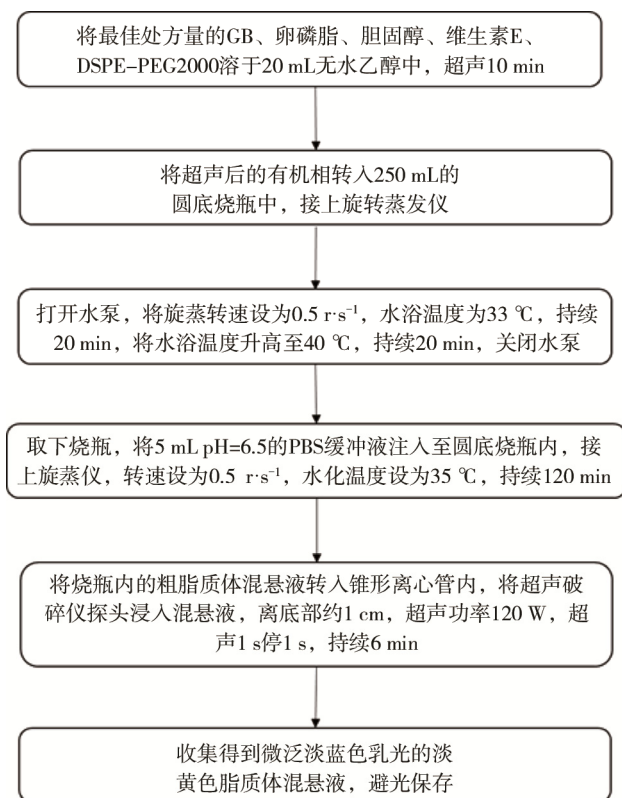


图3 GB脂质体的制备工艺流程图  
Fig. 3 Flow chart of preparation of GB liposome

## 2.6 GB脂质体的理化性质评价

**2.6.1 制备工艺的验证** 根据优化后的处方与工艺条件,分别制备4个批次的GB脂质体,以包封率、粒径、稳定性、外观为考察目标,验证优化后的处方与工艺,结果显示制备的GB脂质体在外观上、稳定性上基本一致,包封率及粒径可能由操作误差带来的少许差异,基本保持在符合规定的范围内。结果见表8。

表8 优化后的处方与工艺验证结果表  
Tab. 8 Optimized prescription and process verification results table

批次	外观	粒径/nm	包封率/%	稳定性
1	微泛蓝色乳光、可透光、淡黄色液体	122.80	88.61	放置24 h 无聚集、无沉降
2	微泛蓝色乳光、可透光、淡黄色液体	127.40	89.75	放置24 h 无聚集、无沉降
3	微泛蓝色乳光、可透光、淡黄色液体	125.70	87.43	放置24 h 无聚集、无沉降
4	微泛蓝色乳光、可透光、淡黄色液体	129.10	88.30	放置24 h 无聚集、无沉降

**2.6.2 外观** GB脂质体外观为微泛蓝色乳光、可透光的淡黄色液体,激光粒度分析仪测得平均粒

径为128.7 nm,聚合物分散性指数(PDI)为18.64%,结果见图4,透射电镜GB脂质体形态见图5,大小均匀与粒度仪测得结果没有太大差别。

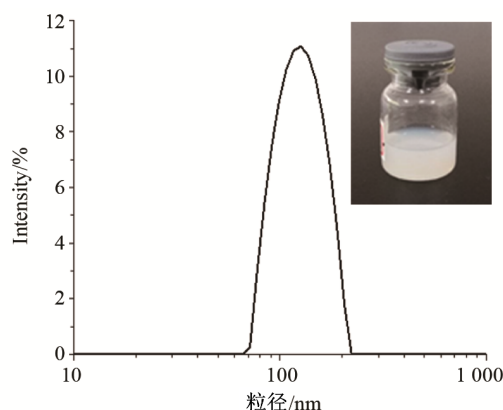


图4 GB脂质体外观与激光粒度分析仪测量结果  
Fig. 4 GB liposome appearance and laser particle size analyzer measurement results

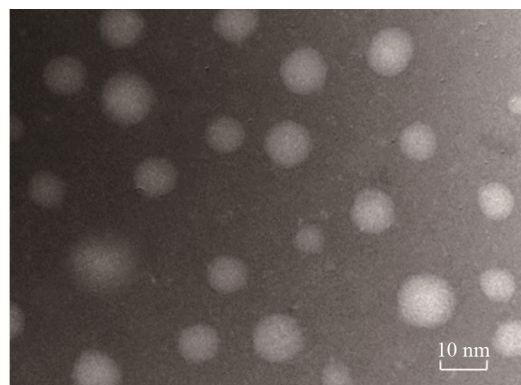


图5 GB脂质体透射电镜形态图  
Fig. 5 GB liposome projection electron microscopy

## 3 讨论

国内外长期以来对脂质体作为药物载体进行了广泛的研究,主要集中在抗肿瘤药物、抗菌药物、抗病毒药物、抗原虫药物、心血管药物,中枢神经系统药物、生物技术药物等领域<sup>[15-17]</sup>。本研究采用薄膜分散法成功制备的GB脂质体的最佳处方为10 mg GB、160 mg 蛋黄卵磷脂、40 mg 胆固醇、8 mg 维生素E、58 mg DSPE-PEG2000、5 mL PBS缓冲液。制备得到的GB脂质体混悬液微泛蓝色乳光、可透光,粒径为(126±4)nm,包封率>87%,放置24 h无聚集、无沉降。该GB脂质体,粒径均一,外观形态良好,包封率高,制备方法简便,具备脂质体特性的良好生物可降解性与生物相容性,提高药物在体外和体内的稳定性,降低用药剂量,为GB制剂的剂型研究提供参考与借鉴。

随着科技的进步, 研究手段的不断完善以及脂质体制备的新方法、新技术的应用, 脂质体药物研究中存在的困难会逐步解决, 例如将 GB 脂质体表面经过分子修饰增加其靶向性; 还可考虑将 GB 脂质体制备成固体制剂, 冻干粉针剂, 气雾剂, 贴剂等多种剂型, 实现临床验证, 相信在不久的将来, 会有更多的脂质体药物被批准上市, 减轻更多患者的病痛。

## REFERENCES

- [1] WANG G, LIU Z B, LI M H, et al. Ginkgolide B mediated alleviation of inflammatory cascades and altered lipid metabolism in HUVECs via targeting PCSK-9 expression and functionality[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 7284767. Doi: 10.1155/2019/7284767.
- [2] CHANG J, XUE X, SONG C L, et al. Ginkgolide B promotes cell growth in endothelial progenitor cells through miR-126 and the Akt signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 5627-5632.
- [3] MA W, HU J, CHENG Y, et al. Ginkgolide B protects against cisplatin-induced ototoxicity: Enhancement of Akt-Nrf2-HO-1 signaling and reduction of NADPH oxidase[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015, 75(5): 949-959.
- [4] WU C, WANG R. Protective effects of ginkgolide B on hepatic fibrosis in rats by regulating Nrf2/HO-1 and Bcl-2/Bax signaling pathway[J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2018, 27(22): 2686-2692.
- [5] LI H H, ZHANG W C, WU Z Y, et al. Theoretical design, preparation, and evaluation of Ginkgolide B molecularly imprinted polymers[J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(2): 514-523.
- [6] WANG G, LIU Z, LI M, et al. Ginkgolide B mediated alleviation of inflammatory cascades and altered lipid metabolism in HUVECs via targeting PCSK-9 expression and functionality[J]. *BioMed Res Int(中国药理学杂志)*, 2019, 17(4): 100-106.
- [7] WANG J, ZHU J J, SHEN B D, et al. Preparation and quality evaluation of orodispersible film containing ginkgolide B novel nanosuspension lyophilized powder[J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2020, 45(22): 5504-5510.
- [8] ZHOU Y, GU Y, ZHANG S Y, et al. Clinical pharmacokinetics of Ginkgolides Dropping Pills in healthy subjects[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2020, 51(9): 2472-2480.
- [9] CHEN X, CHEN Y, ZOU L, et al. Plant-based nanoparticles prepared from proteins and phospholipids consisting of a core-multilayer-shell structure: Fabrication, stability, and foamability[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(23): 6574-6584.
- [10] SHI J, ZHANG H D, WU X J, et al. Study of preparation technology of imiquimod liposomes based on pH gradient active drug loading method[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2018, 35(3): 325-329.
- [11] BRIUGLIA M L, ROTELLA C, MCFARLANE A, et al. Influence of cholesterol on liposome stability and on *in vitro* drug release[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2015, 5(3): 231-242.
- [12] AWASTHI V D, GARCIA D, GOINS B A, et al. Circulation and biodistribution profiles of long-circulating PEG-liposomes of various sizes in rabbits[J]. *Int J Pharm*, 2003, 253(1/2): 121-132.
- [13] GUO J Y, WANG P, HU M, et al. Excipient formula research of nicotinate-curcumin nanoparticles prepared by film ultrasonic method[J]. *Chin Pharm J(中国药理学杂志)*, 2017, 52(6): 462-467.
- [14] XU H F, XIAO W H, ZHANG G, et al. Study on the experiment for screening preparation process of lappaconitine liposome gel[J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2019, 39(16): 1650-1654.
- [15] AGRAWAL M, AJAZUDDIN, TRIPATHI D K, et al. Recent advancements in liposomes targeting strategies to cross blood-brain barrier(BBB) for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *J Control Release*, 2017(260): 61-77.
- [16] TORCHILIN V P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(2): 145-160.
- [17] VAN ROOIJEN N, HENDRIKX E. Liposomes for specific depletion of macrophages from organs and tissues[J]. *Methods Mol Biol*, 2010(605): 189-203.

收稿日期: 2020-03-04  
(本文责编: 蔡珊珊)