磁性纳米颗粒在顺铂脂质体结构中的组装

王 璐, 杨彩琴, 王 静*

(河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017)

摘要: 通过探讨制备过程中磁性颗粒不同的加入顺序对其在脂质体结构中分布的影响, 制备了具有较高包封率的磁性顺铂 (cisplatin, CDDP) 脂质体。本研究采用改良水热合成方法一步制备了表面修饰的 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒并采用薄膜超声法制备了 CDDP 磁性脂质体, 用石墨炉原子吸收分光光度法测定 CDDP 含量。在制备过程中考察两种不同制备程序对脂质体微观结构的影响, 即程序 I: 将磁性颗粒先与磷脂结合再成膜制备脂质体; 程序 II: 将磁性颗粒分散于药物溶液中水合制备脂质体。用透射电镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察磁性脂质体形态。按正交实验设计筛选最优处方制备磁性脂质体, 以程序 I 制备的脂质体磁性颗粒分布于磷脂双层中, 包封率为 34.90%, 而以程序 II 制备的脂质体磁性颗粒分布于脂质体中间水相, 包封率为 28.34%。两者包封率均高于普通脂质体。3 种不同脂质体体外释药均符合一级释药规律。程序 I 制备的磁性脂质体由于磁性颗粒分布于磷脂双层中, 改变了磷脂所形成的双层骨架, 使其释药 $t_{1/2}$ 为 9 h, 比另外两者较短。结果表明, 采用程序 I 实现了纳米磁性颗粒在脂质体中的组装, 用此方法制备的磁性脂质体在药物包封率和磁性颗粒的含量上都优于程序 II, 并且能保证一定的缓释效应。

关键词: 顺铂; 脂质体; 磁性纳米颗粒

中图分类号: R943.4 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870 (2011) 05-0592-07

Assemble of magnetic nanoparticles into the structure of cisplatin liposome

WANG Lu, YANG Cai-qin, WANG Jing*

(*School of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China*)

Abstract: Effects of different procedures of magnetic nanoparticles into the liposome structure on the distribution of magnetic particles in the liposome were investigated. Magnetic liposomes with high-encapsulating rate of cisplatin (CDDP) were obtained. Fe_3O_4 magnetic nanoparticles which was modified by organic functional group on surface was synthesized by an one-step modified hydrothermal method. The CDDP magnetic liposomes were prepared by a film scattering-ultrasonic technique and the concentrations of CDDP in the liposomes were measured by graphite furnace atomic absorbance spectroscopy. Magnetic liposomes with different microstructure were prepared by the two different procedures, where the magnetic particles were combined with phospholipid before the film preparation to form liposome in procedure I, and drug solution and the magnetic particles were mixed before hydrating the lipids film to form liposome in procedure II. The liposome structure was observed by transmission electron microscope (TEM). The CDDP magnetic liposomes were prepared by the optimized method which was selected by orthogonal test. Encapsulation rate of the magnetic particles distributed in the phospholipid bilayer through the procedure I was 34.90%. While liposome, produced by the procedure II technique, contained magnetic particles in the interior aqueous compartment, which encapsulation rate was 28.34%. Encapsulation rates of both I and II were higher than that of conventional liposome. The release

收稿日期: 2010-12-24.
基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C2008001072).
*通讯作者 Tel: 86-311-86265622, E-mail: jingwang@home.ipe.ac.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

profile of all the three different liposomes *in vitro* fitted with a first-order equation. Because of distribution of magnetic particles in the phospholipid bilayer, the skeleton of phospholipid bilayer was changed. The releasing $t_{1/2}$ of magnetic liposomes produced by the procedure I technique is 9 h, which is shorter than that of the other two liposomes. Assemble of magnetic nanoparticles into the structure of liposome was succeeded by the procedure I, which showed superiority than by procedure II whatever in CDDP liposome encapsulation efficiency and content of the magnetic particles and would ensure sustained-release character.

Key words: cisplatin; liposome; magnetic nanoparticle

顺铂 (cisplatin, CDDP) 是一种强效抗癌药, 抗瘤谱较广, 可与多种抗肿瘤药物配伍产生协同作用且无交叉耐药性, 因此成为治疗黑色素瘤、头颈部癌和非小细胞肺癌等癌症化疗的首选药物[1]。目前临床应用多为 CDDP 粉针剂, 但其溶解后对光不稳定, 易氧化和水解, 给药后在体内半衰期短, 并易引起严重的胃肠道反应、肾毒性、耳毒性等毒副反应而影响临床应用[2]。

近年来磁性脂质体作为具有磁定位功能的靶向给药系统, 采用体外磁场导向靶部位使其随血液循环选择性地到达并定位于肿瘤靶区且具有特有的局部热疗作用。与普通的脂质体相比, 磁性脂质体在一定程度上弥补了靶向性分布欠佳等不足[3−5], 使药物对病理部位具有选择性, 可以大幅度降低用药剂量及其对非病理组织产生的毒副作用, 提高了治愈率, 从而显示出良好的应用前景[6, 7]。

目前磁性顺铂脂质体的研究在国内还未见报道, 为获得具有磁靶向作用的 CDDP 新剂型, 本研究采用改良的水热合成方法制备了粒径小、分布均匀、磁性强的磁性纳米颗粒, 探讨了磁性颗粒进入脂质体的两种方法对磁性颗粒在脂质体中分布和药物包封率的影响, 并对脂质体的质量进行了初步评价, 以提高药物靶向性和疗效, 降低毒副作用。

材料与方法

实验材料与仪器　CDDP (昆明贵研药业有限公司); 蛋黄卵磷脂 (egg phosphatidylcholine, EPC, Lipoid GmbH); 胆固醇 (cholesterol, CH, 北京奥博星生物技术责任有限公司); SephadexG-50 (Pharmacia Fine Chemicals); 无水乙醇、正己烷和三氯甲烷等均为分析纯。

水热釜 (上海羌强仪器设备有限公司); EYELA N-1001 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); SHD-Ⅲ型循环水式多用真空泵 (保定高新区阳光科教仪器厂); Z-2000 型原子吸收分光光度计 (flameless atomic absorbance spectroscopy, FAAS), TEM (HITACHI H-7650) (日本日立); NANOPHOX 粒径测定仪 (Sympatec GmbH, 德国); FTIR-8400S 傅里叶红外光谱仪 (日本岛津)。

改良水热法制备 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒　取 $FeCl_3·6H_2O$ 4.6 g, 溶于 7 mL 蒸馏水中, 加入浓氨水 7 mL, 制得 $Fe(OH)_3$ 胶体后加入有机介质 15 mL (正己烷 5 mL, 无水乙醇 5 mL, 油酸 5 mL), 再加入铁粉 0.6 g, 搅拌均匀。将其放入水热釜中于 120 ℃下反应 3～4 h, 反应结束后将所得磁性混悬液磁性分离, 用无水乙醇反复洗涤, 真空干燥 5 h, 研磨, 即得磁性颗粒。产物进行 X-射线衍射分析及红外分析, 透射电镜观察粒径和形态。

CDDP 磁性脂质体处方筛选　参照薄膜超声法制备 CDDP 磁性脂质体, 根据单因素预实验, 确定了影响磁性脂质体包封率和稳定性的 4 个考察因素, 即 EPC 浓度 (A, $mg·mL^{-1}$), EPC/CH (B, *w*/*w*), EPC/磁性颗粒 (C, *w*/*w*) 和 CDDP 浓度 (D, $mg·mL^{-1}$), 确定了正交实验设计的因素和水平数 (表 1), 按 $L_9(3^4)$ 进行正交实验, 以药物包封率为评价指标筛选最佳实验条件。

Table 1　Factors and levels of uniform design.　A: Concentration of egg phosphatidylcholine (EPC, $mg·mL^{-1}$); B: EPC/CH (*w*/*w*); C: EPC/magnetic nanoparticle (*w*/*w*); D: Concentration of CDDP ($mg·mL^{-1}$)

Level	Factor			
	A	B	C	D
1	100	2∶1	3∶1	1
2	125	4∶1	5∶1	1.5
3	150	6∶1	10∶1	2

以磁性颗粒的不同加入顺序制备 CDDP 磁性脂质体　程序 I: 称取处方量 EPC 和 CH, 加入适量三氯甲烷溶解, 将磁性颗粒分散于适量三氯甲烷中, 超声分散 5 min, 将分散好的磁性颗粒加入磷脂溶液中, 超声 5 min, 45 ℃旋转蒸发 30 min 去除三氯甲烷, 使瓶壁上形成均匀的磁性磷脂薄膜, 真空过夜, 除去残留溶剂, 加入含有 CDDP 的 0.9% 氯化钠溶液洗膜,

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

室温振荡 2 h 使脂质体充分溶胀水化形成多室脂质体, 水浴超声 30 min, 得到单室 CDDP 磁性脂质体混悬液。程序 II: 先将磷脂溶液旋转蒸发成膜后, 使磁性颗粒与 CDDP 的氯化钠溶液混悬, 加入到磷脂膜中水化形成磁性脂质体, 其他处理过程同上。

CDDP 含量的测定 CDDP 分子中含铂 (Pt), 通过石墨炉原子吸收分光光度计检测铂, 对 CDDP 定量, 分析条件如下: 工作电流 6 mA, 波长 265.9 nm, 狭缝 0.4 nm, 载气为氩气, 流量 200 $mL·min^{-1}$, 间断载气流量 30 $mL·min^{-1}$, 检测信号 (P/H) 峰高, 自动进样, 进样量为 10 μL。

加热程序: 采用斜坡升温以消除基质干扰。干燥 I: 60～80 ℃, 30 s; 干燥 II: 80～120 ℃, 30 s; 灰化: 120～1 300 ℃, 30 s; 原子化: 2 700 ℃, 3 s; 清除: 2 800 ℃, 3 s。

标准曲线的绘制 精密称取 CDDP, 用三蒸水溶解配制质量浓度为 1 $mg·mL^{-1}$ 的标准储备液。准确移取储备液稀释成质量浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 $μg·mL^{-1}$ 的一系列 CDDP 溶液, 用石墨炉原子吸收分光光度计在 265.9 nm 处测量吸收度 (A), 并以 A 对质量浓度 (C, $μg·mL^{-1}$) 进行线性回归。

回收率实验 精密量取空白磁性脂质体溶液 0.2 mL, 分别加入适量 CDDP 标准溶液, 在线性范围内配制成低、中、高 3 种浓度, 摇匀, 甲醇破膜后定容, 微孔滤膜过滤, 分别测定吸收度, 计算回收率与 RSD。

药物包封率测定 用 SephadexG-50 葡聚糖凝胶柱层析法进行包封率测定。SephadexG-50 凝胶用蒸馏水充分溶胀, 填充到柱子 (20 cm×1.5 cm) 中, 并用蒸馏水平衡后备用。精密吸取 CDDP 磁性脂质体 0.2 mL 上样于已平衡的凝胶柱中, 用三蒸水以 1 $mL·min^{-1}$ 的流速洗脱, 每 2 mL 收集 1 份, 共收集 35 mL, 分别测定各管 CDDP 浓度, 绘制洗脱曲线。从曲线上看出, 前 10 mL 为磁性脂质体中 CDDP 的含量, 后 25 mL 为游离 CDDP 的含量, 从标准曲线分别求得药物浓度再计算出药物含量, 按以下公式求得包封率:

包封率 (EN%) = $(C_t - C_f / C_t) \times 100\%$ (C_f: 过柱后游离的 CDDP 含量; C_t: 磁性脂质体中 CDDP 含量)

磁性颗粒的含量测定 采用基于二价铁的邻菲罗啉染色法[8]测定制剂中包载的铁磁性物质的量。

脂质体形态及粒径分布 取少量 CDDP 磁性脂质体样品, 稀释后置 NANOPHOX 粒径测定仪中测定脂质体粒径的大小及粒度分布。将 CDDP 磁性脂质体用蒸馏水稀释 50 倍左右, 取一滴于专用铜网上, 静置后用 0.25% 磷钨酸负染 30 s, 用滤纸吸去多余的染色液后, 在透射电镜下观察粒子形态。

体外磁场响应性研究 在装有 CDDP 磁性脂质体的玻璃瓶旁放置铷铁硼稀土磁铁, 观察磁性脂质体的磁场响应性。取一定量的磁性脂质体, 干燥制成粉末, 在室温下测定磁性颗粒的磁滞回线。

体外释放度测定 按照中华人民共和国药典 2005 年版规定的溶出度第三法测定释放度[9]。精密吸取定量 CDDP 溶液, 普通脂质体和磁性脂质体混悬液转移至预先处理好的透析袋中, 排尽空气, 将袋口扎紧, 固定于溶出仪的桨上, (37 ± 0.5) ℃循环水浴, 恒速 100 $r·min^{-1}$ 搅拌, 分别于 30 min 和 1、3、7、9、12、24、48 h 定时取样, 并及时补充等量恒温的释放介质。测定释放部分的 CDDP 的浓度, 计算累计释药百分率。

结果

1 改良法制备的纳米 Fe_3O_4 磁性颗粒的表征

图 1 是磁性纳米颗粒的 X-射线衍射谱图和透射电镜照片。从 X-射线衍射谱图可以看出, 产物是单一的 Fe_3O_4 的物相, 且半峰宽大, 表明产物的粒径小, 应用 Schemer 公式计算颗粒的平均粒径为 8.9 nm。通过透射电镜观察形态可知, 磁性颗粒粒径均匀, 分散性好。采用振动样品磁强计测得的样品饱和磁化强度为 62.8 $emu·g^{-1}$, 其矫顽场 Hc 几乎为 0, 说明纳米磁性颗粒具有超顺磁性质。图 2 是磁性颗粒的红外谱图, 由图可见, 580 cm^{-1} 的吸收峰源于 Fe_3O_4 中 Fe-O 键的振动吸收, 而 1 500、2 800～2 900 和 3 300 cm^{-1} 左右的吸收峰来自油酸分子中的有机基团, 说明磁性颗粒被有机基团修饰, 可以改变其表面性质, 提高亲脂性, 增加其与磷脂的结合能力。

2 脂质体性质评价

2.1 测定 CDDP 的标准曲线 质量浓度为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 和 1.0 $μg·mL^{-1}$ 的 CDDP 标准液用 FAAS 法在 265.9 nm 处测定其吸收度, 以吸收度 (A) 对 Pt 质量浓度 (C, $μg·mL^{-1}$) 进行线性回归: $A = 0.000\,2C - 0.000\,3$, $r = 0.999\,9$。低、中、高浓度的平均回收率分别为 98.84%, 100.66%, 103.57%, RSD 分别为 0.71%, 1.84%, 1.05% ($n = 5$)。

2.2 正交实验 L_9 (3^4) 根据处方因素对 CDDP 磁性脂质体包封率的影响, 筛选最佳实验条件。确定了 $A_3B_3C_2D_1$ 为较优处方, 即 EPC 浓度 = 150 $mg·mL^{-1}$; EPC/CH = 6∶1 (w/w); EPC/磁性颗粒 = 5∶1 (w/w);

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

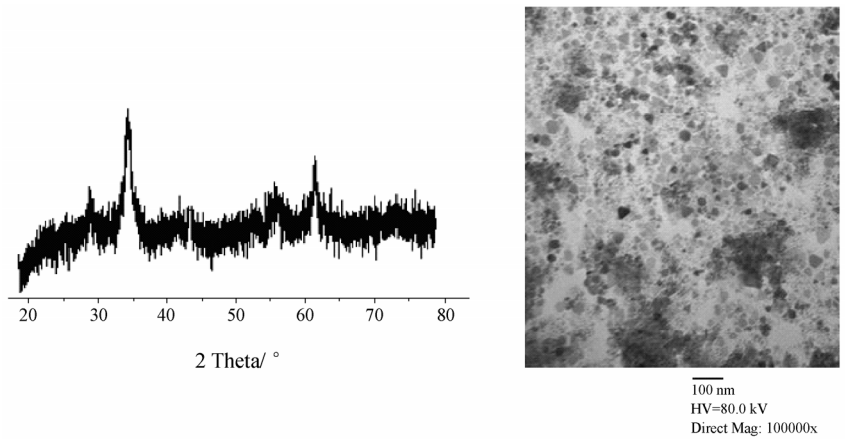

Figure 1　XRD pattern and TEM micro-photo of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles

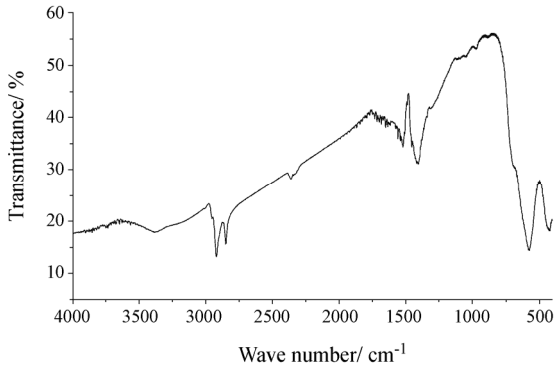

Figure 2　Infrared spectrum of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles

CDDP 浓度 = 1 mg·mL^{-1}。通过极差分析确定主次因素顺序为 D > A > B > C。由分析结果可知, 影响脂质体形成的主要因素是 CDDP 浓度, 其次为 EPC 浓度和 EPC 与 CH 的比例, 磁性颗粒的影响因素最小。

2.3　脂质体药物包封率测定　按上述正交实验筛选的最佳条件制备脂质体并测定药物包封率, 普通脂质体包封率为 17.89%, 程序 I 制备的磁性脂质体包封率为34.90%, 程序II制备的磁性脂质体包封率为28.34%。

2.4　磁性颗粒含量　本实验建立了二价铁–邻菲罗啉络合显色的紫外分光光度法, 其标准曲线为 $A = 213.04C - 0.000\ 4$ ($r = 0.999\ 9$)。其中 A 为吸收度, C 为 Fe^{2+}的质量浓度 (mg·mL^{-1})。该方法在低、中、高 3 个浓度的回收率分别为 100.75%、100.19% 和 100.31%。通过上述方法测得程序 I 和程序 II 所得的磁性脂质体中所包载的 Fe_3O_4 的质量浓度分别为 4.193 和 3.048 mg·mL^{-1}。

2.5　体外磁场响应性研究　在装有 CDDP 磁性脂质体的玻璃瓶旁施加磁场后, 磁性脂质体在 10 min 内迅速聚集在磁铁一侧, 说明制备的磁性脂质体具有磁场响应性。20 min 后, 程序 I 制备的磁性脂质体在磁铁附近的聚集量较程序 II 脂质体多。为了考察两种磁性脂质体在确定磁场中的磁性响应, 测定两者磁滞曲线 (图 3), 由图可见, 程序 I 和程序 II 制备的磁性脂质体其饱和磁化强度分别为 0.012 3 和 0.004 5 emu·g^{-1}, 该磁滞曲线显示出超顺磁性, 进一步证明了程序 I 制备的磁性脂质体中磁性颗粒的含量高于程序 II, 这与含量的测定结果一致。

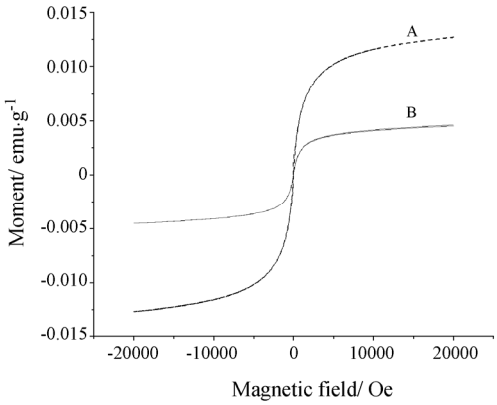

Figure 3　Magnetization loop of magnetic liposomes at room temperature.　A: Procedure I magnetic liposomes; B: Procedure II magnetic liposomes

2.6　CDDP 磁性脂质体粒径分布　制备的 CDDP 磁性脂质体为黄褐色, 均匀的半透明胶体溶液。用 NANOPHOX 粒径测定仪测得磁性脂质体粒径结果如下: 普通脂质体 3 批样品的粒径分布于 410～450 nm, 平均粒径 442.4 nm; 采用程序 I 制备的磁性脂质体样品粒径分布于 545～700 nm, 平均粒径 694.1 nm; 采用程序 II 制备的磁性脂质体样品粒径分布于 316～1 099 nm, 平均粒径为 762.7 nm。由粒径分析可知, 脂质体在粒径的均匀性上优先顺序依次为: 普通脂质体 > 程序 I 样品 > 程序 II 样品。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

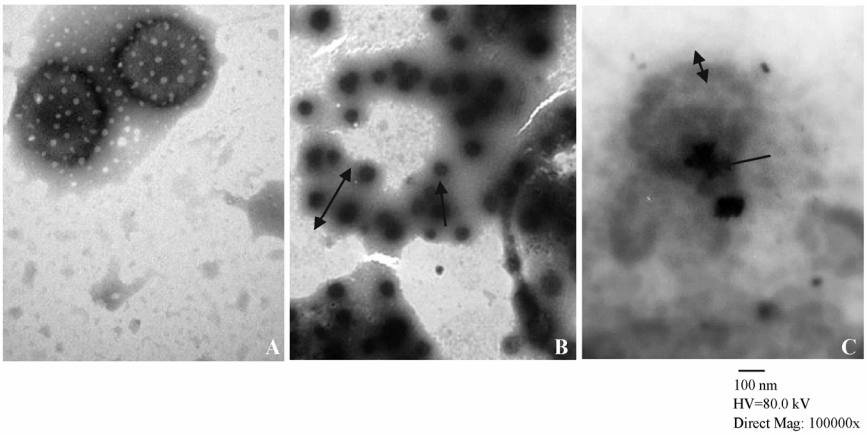

Figure 4 The TEM micro-photo of CDDP magnetic liposomes. A: Conventional liposome; B: Procedure I magnetic liposomes; C: Procedure II magnetic liposomes. ↔ Phospholipid bilayer; → Magnetic nanoparticles

2.7 CDDP 磁性脂质体形态 在透射电镜下观察粒子形态, 结果见图 4。图中双箭头所指为磷脂双层, 单箭头所指为磁性颗粒。由图可见, 脂质体规整均一, 呈圆形或椭圆形的球体。普通脂质体可见明显的磷脂层结构 (图 4A), 程序 I 制备的磁性脂质体样品, 磁性颗粒大部分分布于磷脂双层中 (图 4B), 而程序 II 制备的磁性脂质体样品, 大部分磁性颗粒分布于脂质体内部水相中 (图 4C)。

2.8 CDDP 磁性脂质体的体外释药特性 CDDP 磁性脂质体的体外释药曲线如图 5。由图可见, CDDP 溶液释药的 $t_{1/2}$ 为 2 h, 而普通脂质体、程序 I 制备的磁性脂质体和程序 II 制备的磁性脂质体释药的 $t_{1/2}$ 分别为 14、9 和 16 h。3 种脂质体释药曲线均符合一级动力学, 一级动力学方程及相关系数如表 2 所示。由此可见, 无论是否加入磁性颗粒脂质体均具有明显的缓释作用。

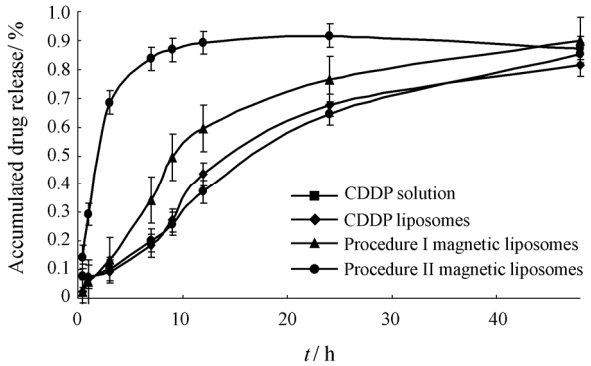

Figure 5 The release profile of CDDP from the liposomes and solution *in vitro* ($n = 3$, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Regression equation of liposomes release *in vitro*

Sample	Regression equation	R^2
Conventional liposomes	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.036\,5t - 0.035\,9$	0.968 4
Procedure I magnetic liposomes	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.048\,9t - 0.109\,7$	0.968 3
Procedure II magnetic liposomes	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.040\,1t - 0.003\,2$	0.993 9

讨论

CDDP 水溶液不稳定, 能逐渐水解和转化为反式结构, 生成 DPPC 水合物-1 和水合物-2, 进一步水解生成无抗肿瘤活性且具有剧毒的低聚物-1 和低聚物-2, 但低聚物在 0.9% 氯化钠溶液中稳定, 可转化为 CDDP, 因此临床上不会导致中毒。唐星等[10]发现氯化钠浓度愈高 CDDP 水溶液愈稳定。当氯化钠浓度低于 0.9% 时, 稳定性迅速下降, 在氯化钠浓度为 0.9%～1.5% 时 CDDP 浓度变化较小。因此在制备工艺中, 将 CDDP 溶解于 0.9% 氯化钠溶液中, 利用氯离子的同离子效应, 可防止其水解, 增加其稳定性。此外 CDDP 水溶液对光十分敏感, 随着光照时间延长, 浓度迅速下降。因此, 在制备和储存过程中要求避光。

常见的制备 Fe_3O_4 纳米颗粒大多采用 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的盐溶液在碱性环境中制备, 制备过程中需要 N_2 保护防止 Fe^{2+} 氧化且产物有 Fe(III) 的氧化物杂质。水热还原法制备 Fe_3O_4 是利用有机溶剂中的固−固反应, 需要 180 ℃高温[11], 因此本实验改良了水热法制备 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒的方法。改良方法不需要通入 N_2 保护, 并且不需要高温, 3～4 h 反应生成的粒子粒径同样能保持在 10 nm 左右, 具有超顺磁性, 饱和磁化强度达 62 $emu \cdot g^{-1}$, 且表面被有机基团所修饰, 从而可以改变其表面性质, 提高亲脂性, 增加其与磷脂的结合能力。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

载体材料磁性物质的粒径应为 10～20 nm, 最大不超过 100 nm。研究表明, 磁性靶向的过程就是血管内血流对磁性脂质体产生的力和磁场对其产生的磁力的竞争过程。当磁力大于动脉线性血流速率 (0.05 $cm \cdot s^{-1}$) 时, 粒径小于 1 μm 的磁性脂质体被截留在靶区, 并可被靶区内皮细胞吞噬[12]。水热法制备的磁性纳米粒的直径为 10 nm 左右, 以此为载体制备磁性脂质体平均粒径在 500～700 nm, 符合以上描述的粒径要求。无论是程序 I 或程序 II 制备的脂质体其药物包封率均大于不含磁性颗粒的普通脂质体, 这是由于单室脂质体和多室脂质体都为同心囊结构, 膜一旦破裂, 药物即漏出。而磁性颗粒的加入, 使得脂质体之间相互吸引, 形成类似能够较均匀分布的多囊脂质体即具有不连续的药物溶液囊泡的结构[13]。这些囊泡被连续的非同心的类脂双分子磷脂膜所分隔, 具有更多的包封容积和较大的粒径。当某个囊泡破裂时, 药物只从破裂囊泡释出, 完整的囊泡仍然可以保持原状, 从而提高了药物包封率并有良好的缓释效应。

在磁性脂质体制备过程中, 磁性颗粒的加入顺序不同使磁性颗粒在脂质体中的位置有差异, 同时会影响脂质体中磁性颗粒含量和药物包封率。目前, 人们多采用将磁性悬浊液加入到含脂质薄膜的茄形瓶中水合制备磁性脂质体的方法[14, 15], 但通过透射电镜看到该方法制备的脂质体其磁性颗粒占据了中间水相的大部分空间, 且磁性颗粒在脂质体内容易团聚。在磁性脂质体的磁响应性不减弱的情况下使磁性颗粒均匀分散于脂质体中, 同时将脂质体内部空间释放以提高药物包封率是本研究的目的。Giri 等[16]在利用共沉淀方法制备磁性颗粒的过程中将不同比例的磷脂酰胆碱加入到铁离子溶液中, 制成了磷脂酰胆碱包裹的磁性颗粒, 从而提高了其稳定性及在有机溶剂中的分散性并用其制备了磁性脂质体。Gonzales 等[17]通过将油酸加入到五碳铁中制备成表面活性剂修饰的均匀的单分散磁性颗粒以用于制备脂质体。由此可见, 磁性颗粒可以与磷脂结合也可以利用表面活性剂修饰从而提高其稳定性及分散性。基于此, 本实验通过改良水热合成法制备了表面修饰的 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒, 按照程序 I 使其先与磷脂结合后再制成脂质体, 从而使磁性颗粒能均匀分散于脂质层中或在脂相与水相接触面上形成一层磁性膜, 以减少其在水相中的聚集, 释放载药空间, 并将这种方法和程序 II 制备的脂质体在微观结构、药物的包封率以及磁性颗粒的载量上进行比较。由透射电镜照片可以看到, 由程序 I 制备的脂质体, 大部分磁性颗粒分布于脂质双分子层中, 而程序 II 制备的脂质体, 大部分磁性颗粒分布于脂质体中间水相, 药物包封率分别为 34.90%和 28.34%, 而且程序 I 的脂质体中磁性颗粒含量大于程序 II 脂质体中的含量。由此可见, 虽然前者所包裹的磁性颗粒量大于后者, 但药物的包封率并没有因此而下降。这是由于前者磁性颗粒分布于磷脂双层中, 使磁性脂质体内腔有更多的空间来装载药物, 从而较后者磁性颗粒分布于脂质体中间水相的药物包封率略高。通过磁性脂质体的粒径分析和透射电镜观察, 还发现程序 I 制备的脂质体粒径分布较后者均匀, 且形态规则, 这是因为磁性颗粒分布于磷脂双层中, 由于磁性作用使脂质体在形成多囊结构的同时也在一定程度上防止了磁性颗粒在中间水相的团聚。此外, 由于磁性颗粒对药物的静电吸引作用, 也使两种程序制备的磁性脂质体对药物的包封率优于未加磁性颗粒的普通脂质体。

通过药物体外释放实验看出, 程序 I 制备的脂质体的释放比程序 II 快, 这是由于程序 I 制备的磁性颗粒分布于磷脂双层中, 改变了磷脂所形成的双层骨架, 增加了其通透性, 从而使脂质体释放药物 $t_{1/2}$ 小于普通脂质体和程序 II 制备的磁性脂质体, 但该方法制备的磁性脂质体仍能保证起到良好的缓释作用。

References

[1] Depierre A. Effiacy of ondansetron in acute and delayed cisplatin-induced nausea and vomiting [J]. Bull Cancer, 1996, 83: 147−153.

[2] Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002, 42: 317−325.

[3] Li TF, Deng YJ, Wang YQ. Progress in study on magnetoliposomes [J]. Prog Pharm Sci (药学进展), 2002, 26: 5−10.

[4] Zhou PJ, Deng SQ, Gong QF. Recent development of targeted drug delivery system [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2010, 45: 300−306.

[5] Nobuto H, Sugita T, Kubo T, et al. Evaluation of systemic chemotherapy with magnetic liposomal doxorubicin and a dipole external electromagnet [J]. Int J Cancer, 2004, 109: 627−635.

[6] Abraham SA, Edwards K, Karlsson G, et al. Formation of transition metal-doxorubicin complexes inside liposomes [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1565: 41−54.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[7] Zhang JQ, Zhang ZR, Yang H, et al. Lyophilized paclitaxel magnetoliposomes as a potential drug delivery system for breast carcinoma *via* parenteral administration: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Pharm Res, 2005, 22: 573−583.

[8] Kiwada H, Sato J, Yamada S, et al. Feasibility of magneticliposomes as a targeting device for drugs [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34: 4253−4258.

[9] Chinese Pharmacopoeia: Vol Ⅱ (中国药典: 第二部) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005, 1, Appendix73.

[10] Tang X, He ZG, Yu YL, et al. A study on the stability of the cisplatin aqueous solution [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2000, 11: 405−407.

[11] Si SF, Li CH, Wang X, et al. Magnetic monodisperse Fe_3O_4 nanoparticles [J]. Crystal Growth Design, 2005, 5: 391−393.

[12] Fan XS, Zhang DS, Zheng J. Application of magentic liposomes in curing tumor [J]. Foreign Med Sci (Cancer Sect) (国外医学肿瘤学分册), 2003, 30: 147−149.

[13] Katre NV, Asherman J, Schaffer H, et al. Multivesicularliposome (DepoFoam) technology for the sustained delivery of insulin-like growth factor-I (IGF-I) [J]. J Pharm Sci, 1998, 87: 1341−1346.

[14] Dandamudi S, Campbell RB. The drug loading, cytotoxicty and tumor vascular targeting characteristics of magnetite in magnetic drug targeting [J]. Biomaterials, 2007, 28: 4673−4683.

[15] Wu Y, Zhang FC, Wu C, et al. Pharmacokinetics of epirubicin hydrochloride long-circulating thermosensitive liposomes in rat plasma [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2010, 45: 365−370.

[16] Giri J, Thakurta SG, Bellare J, et al. Preparation and characterization of phospholipid stabilized uniform sized magnetite nanoparticles [J]. J Magn Magn Mater, 2005, 293: 62−68.

[17] Gonzales M, Krishnan KM. Synthesis of magnetoliposomes with monodisperse iron oxide nanocrystal cores for hyperthermia [J]. J Magn Magn Mater, 2005, 293: 265−270.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net