

伊维菌素脂质体的制备及其质量评价

朱晓娟¹, 李引乾¹, 侯 勃¹, 刘 磊¹, 刘安刚¹, 熊永洁¹,
张 谨¹, 余永新², 巴桑旺堆²

(1 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100; 2 西藏农牧科学院 畜牧兽医研究所, 西藏 拉萨 850000)

【摘要】 【目的】制备伊维菌素脂质体(IVML), 并对其质量评价。【方法】采用改良薄膜分散法制备 IVML, 选取卵磷脂与胆固醇质量比、伊维菌素(IVM)与卵磷脂质量比、缓冲液 PBS 的 pH 为配方影响因子, 超声裂解时间、蒸发温度、冻融次数为制备工艺的影响因子, 通过设计 $L_9(3^4)$ 正交试验对以上影响因子进行筛选。以筛选的最佳配方和工艺条件制备 IVML, 利用高速冷冻离心法测定其包封率, 并对其理化性质和稳定性进行评价。【结果】IVML 的制备最佳配方和工艺为: 卵磷脂与胆固醇质量比为 9 : 1, IVM 与卵磷脂质量比为 1 : 10, 缓冲液 PBS 的 pH 为 7.0; 超声裂解 5 min, 蒸发温度 40 °C, 冻融 3 次。所制备的 IVML 粒径为 86~115 nm, 平均粒径为 (91.8 ± 1.5) nm, 包封率为 $(90.71 \pm 0.8)\%$ ($n=3$), 对热稳定, 但对光不稳定。【结论】得到了制备 IVML 的最佳配方和工艺, 且制备工艺简单可行; IVML 外观和质量浓度未发生明显变化, 性质稳定。

【关键词】 伊维菌素; 脂质体; 配方和制备工艺; 质量评价

【中图分类号】 S859.79⁺⁵

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)04-0024-07

Preparation and quality evaluation of ivermectin liposome

ZHU Xiao-juan¹, LI Yin-qian¹, HOU Bo¹, LIU Lei¹, LIU An-gang¹, XIONG Yong-jie¹,
ZHANG Jin¹, SHE Yong-xin², BASANG Wang-dui²

(1 College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 China Animal Husbandry Veterinarian's Research Institute of Academy of Sciences of Tibet Agriculture and Animal Husbandry, Lhasa, Tibet 850000, China)

Abstract: 【Objective】The study was to prepare Ivermectin liposome(IVML) and evaluate its quality. 【Method】Modified thin-film dispersion method was adopted to prepare the IVML, which was chosen for influencing factors of formula such as mass ratio of lecithin to cholesterol, mass ratio of Ivermectin(IVM) to lecithin, pH of PBS and of preparation technology such as freeze-thawing times, ultrasonic time, evaporated temperature. These influencing factors were selected by orthogonal design $L_9(3^4)$, of which the optimum factors were adopted to prepare the IVML. High speed freezing centrifugation was used to determine its encapsulation efficiency and its characteristics and stability were evaluated. 【Result】The optimal prescription for preparation of IVML were as follows: $m(\text{Lecithin}) : m(\text{Cholesterol}) = 9 : 1$, $m(\text{IVM}) : m(\text{Lecithin}) = 1 : 10$, pH of PBS 7.0, conducting ultrasonic toward 5 minutes, evaporating at 40 °C, and freezing and thawing 3 times. Its diameter was distributed mainly in 86—115 nm and the average grain size was (91.8 ± 1.5) nm. The encapsulation efficiency of prepared IVML reached $(90.71 \pm 0.8)\%$ ($n=3$), and it was stable for heat, but unstable for light. 【Conclusion】The optimal preparation technology of IVML,

* [收稿日期] 2009-10-13

[基金项目] 西藏农牧科学院科研基金资助项目(10-1)

[作者简介] 朱晓娟(1985—), 女, 河南安阳人, 在读硕士, 主要从事兽医药理学与毒理学研究。

E-mail: zhuxiaojuan2000@yahoo.com.cn

[通信作者] 李引乾(1962—), 男, 陕西岐山人, 教授, 博士, 主要从事兽医药理学与毒理学研究。

which was simple and feasible, was obtained. The outlook and content of IVML didn't change clearly and its quality was stable.

Key words: Ivermectin; liposome; prescription and preparation technology; quality evaluation

脂质体是磷脂分散在水中形成的具有类似生物膜结构的双分子小囊。大量试验证明,脂质体作为药物载体可控制药物释放,提高药物靶向性,以降低药物毒性、减少药物副作用及有效延长药物在体内的停留时间,提高药物疗效^[1]。同时脂质体作为载体将药物包裹后,可改善药物理化性质,降低刺激性和耐药性,脂质体与细胞膜间的亲和作用可成功地将药物送达细胞内部,提高疗效^[2-3]。

伊维菌素(Ivermectin, IVM)是美国 Merck 公司对 IVM B1 的 C22 与 C23 之间的双键采用 Wilkinson 催化,在均相体系中加氢处理后得到的第一个阿维菌素类药物衍生物^[4],是一种新型、高效、广谱、较安全的抗生素,对多种体内外寄生虫有良好的杀灭效果,并与其他抗寄生虫药无交叉耐药性^[5]。但 IVM 在家畜体内清除率较低,在动物体内仍有一定的残留^[6]。有研究报道,IVM 的安全范围比较窄,且动物进药量一旦超过 2~3 mg/kg 就有中毒的危险^[7]。将 IVM 制备成脂质体(IVML),可改善 IVM 存在的不足,提高其疗效,而目前关于 IVML 的制备工艺尚不完善,其包封率远远低于 90%^[7-8]。为此,本试验采用改良薄膜分散法制备 IVML,将多个因素列入正交试验中对其配方和制备工艺进行优化,并对制备的 IVML 理化性质及质量进行考察,以为 IVML 在兽医临床的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 伊维菌素(IVM)标准品,河北

华天动物保健品有限责任公司生产,批号:20080923;胆固醇,分析纯,国药集团化学试剂有限公司生产,批号:69008214;蛋黄卵磷脂,购自 Sigma 公司,批号:20090320;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 主要仪器有 JEM1230 型透射电子显微镜(日本日立电子公司)、Zetasizer Nano ZS 型激光粒度分析仪(英国 Malvern Instrument 公司)、RE 52-98 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 IVML 制备方法的筛选 (1)薄膜分散法。按一定比例(质量比 1:10:1.1)称取 IVM、卵磷脂、胆固醇,添加维生素 E(约占总质量的 0.3%)于圆底烧瓶中,加入乙醚使其充分溶解为止;在 40 °C 水浴条件下,旋转蒸发使之成为均匀薄膜,加入 pH 7.0 的 PBS 液 25 mL 洗膜,直至成为牛奶状液体,停止洗膜,超声处理 5 min,充 N₂ 排除乙醚,密封避光,置 4 °C 冰箱中保存。

(2)改良薄膜分散法。薄膜的制备方法同(1),停止洗膜后,置低温冰箱中冷冻,然后取出于室温条件下完全融化,充分振荡,反复冻融 3 次,超声处理 5 min,充 N₂ 密封避光置 4 °C 冰箱中保存。

1.2.2 正交试验设计 参考文献[9-10],选取卵磷脂与胆固醇质量比、IVM 与卵磷脂质量比、缓冲液 PBS 的 pH 为影响因素,以包封率为考察指标,设计 L₉(3⁴) 正交试验方案(表 1),优化 IVML 配方;以优化后的配方再对冻融次数、蒸发温度和超声裂解时间等工艺条件进行优化(表 2)。每处理重复 2 次,取平均值进行方差分析。

表 1 IVML 配方的影响因素及其水平

Table 1 Level and affecting factors of IVML prescription

水平 Level	A 卵磷脂与胆固醇质量比 Mass ratio of lecithin to cholesterol	B IVM 与卵磷脂质量比 Mass ratio of IVM to lecithin	C 缓冲液 PBS 的 pH pH of PBS
1	8:1	1:8	6.5
2	9:1	1:9	7.0
3	10:1	1:10	7.4

表 2 IVML 制备工艺的影响因素及其水平

Table 2 Level and affect technics factors of IVML

水平 Level	A' 冻融次数 Freeze-thawing times	B' 蒸发温度/°C Evaporated temperature	C' 超声裂解时间/min Ultrasonic time
1	2	35	3
2	3	40	5
3	4	45	7

1.2.3 IVM 标准曲线的绘制 精密称取 IVM 标准品 0.01 g, 加入甲醇配制成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准液, 分别吸取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL IVM 标准液于 25 mL 容量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 充分摇匀。以甲醇为对照, 于 245 nm 波长下测定 IVM 的吸光度, 重复 5 次, 取其平均值。根据所得数据, 以 IVM 质量浓度对吸光度进行线性回归, 得回归方程。

1.2.4 IVM 的回收率试验 分别精密称取 IVM 10, 20, 30 mg 分散于 1.0 mL 空白脂质体中, 配制高、中、低 3 个不同质量浓度的溶液(溶液均稀释在 4~28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度), 以不加 IVM 标准液的空白脂质体稀释液为对照, 于 245 nm 波长下测定吸光度, 计算回收率: 回收率 = 测定质量浓度/配制质量浓度 $\times 100\%$ 。

1.2.5 IVM 包封率的测定^[11] 取 IVM 及空白脂质体稀释液各 1.0 mL 于离心管中, 分别加入甲醇 1 mL 破膜, 涡旋 5 min, 之后于 3 000 r/min 离心 20 min, 取上清液于 10 mL 容量瓶中, 加入甲醇定容, 以离心后的空白脂质体调 0, 于 245 nm 波长下测其吸光度, 代入 1.2.3 中所提及的回归方程, 计算脂质体中总药量 C_1 。另外吸取经 10 000 r/min 离心 60 min 后的 IVM 的全部上清液, 加入甲醇定容至一定倍数, 以离心后的空白脂质体调 0, 于 245 nm 波长下测其吸光度。代入回归方程计算脂质体中游离的药量 C_2 。按照下式计算包封率 E :

$$E = (1 - \frac{C_2}{C_1}) \times 100\%$$

1.2.6 IVM 理化性质的测定 (1) 外观。肉眼观察 IVM 的外观, 观察其有无浑浊、絮状、分层等情况出现。

(2) 形态。取 IVM 滴至载玻片上, 用体积分数 2% 磷钨酸于铜网上负染 5 min, 自然挥干, 在透射电镜下观察其形态并拍照^[12]。

(3) 粒径。用 0.1 mol/L、pH 为 7.4 的 PBS 液稀释 IVM, 在 Malvern Zetasizer Nano ZS 粒度测定仪下测其粒径及分布。

1.2.7 IVM 稳定性的测定 (1) 热稳定性。将 2 个批次的 IVM 样品分别于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱、40 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱、室温(25 $^{\circ}\text{C}$) 放置 0, 5, 10 d, 对其外观变化、含量进行观测^[13]。

(2) 光稳定性。将 2 个批次的 IVM 样品(每批 3 份) 装入 5 mL 安瓿瓶内, 在光照强度为 (4 500 \pm 500) lx、2.0~5.0 $^{\circ}\text{C}$ 的低温光照仪中放置 10 d, 于第 0, 5 和 10 天取样, 对其外观变化、含量进行观测^[14]。

2 结果与分析

2.1 IVM 制备方法的筛选

用薄膜分散法和改良薄膜分散法分别制备 IVM, 经计算其包封率分别为 87.40% 和 90.71%, 结果显示改良薄膜分散法的包封率更高, 故选择改良薄膜分散法制备脂质体, 且同法制备空白脂质体。

表 3 IVM 配方优化的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 3 Optimization for data of $L_9(3^4)$ of orthogonal experiments of IVM prescription

试验号 Number	A 卵磷脂与胆固醇 质量比 Mass ratio of lecithin to cholesterol	B IVM 与卵磷脂 质量比 Mass ratio of IVM to lecithin	C 缓冲液 PBS 的 pH pH of PBS	D 空列 Nulllist	包封率/% Encapsulation efficiency
1	1 (8 : 1)	1 (1 : 8)	1 (6.5)	1	50.26
2	1 (8 : 1)	2 (1 : 9)	2 (7.0)	2	75.38
3	1 (8 : 1)	3 (1 : 10)	3 (7.4)	3	69.26
4	2 (9 : 1)	1 (1 : 8)	2 (7.0)	3	80.56
5	2 (9 : 1)	2 (1 : 9)	3 (7.4)	1	89.17
6	2 (9 : 1)	3 (1 : 10)	1 (6.5)	2	84.77
7	3 (10 : 1)	1 (1 : 8)	3 (7.4)	2	67.18
8	3 (10 : 1)	2 (1 : 9)	1 (6.5)	3	66.71
9	3 (10 : 1)	3 (1 : 10)	2 (7.0)	1	87.79
T_1	194.90	198.00	201.74	227.22	671.08
T_2	254.50	231.26	243.73	227.33	
T_3	221.68	241.82	225.61	216.53	
\bar{x}_1	64.97	66.00	67.25	75.74	
\bar{x}_2	84.83	77.09	81.24	75.78	
\bar{x}_3	73.89	80.61	75.20	72.18	
R	19.86	14.61	13.39	3.60	

2.2 IVML 配方和制备工艺的正交试验结果

2.2.1 IVML 配方 表 3 中 D 为空列,计算其 R 值来判断各因素的可靠性,若各影响因素的 R 值均大于空列 D,说明各因素对指标的影响是可靠的,反之不可靠。

由表 3 的 R 值可知,因素 A(卵磷脂与胆固醇质量比)影响最大,因素 B(IVM 与卵磷脂质量比)影响

次之,因素 C(缓冲液 PBS 的 pH)影响最小。比较 \bar{x}_1 、 \bar{x}_2 、 \bar{x}_3 可知,IVML 最佳配方为 $A_2B_3C_2$,即卵磷脂与胆固醇质量比为 9:1,IVM 与卵磷脂质量比为 1:10,缓冲液 PBS 的 pH 为 7.0。方差分析结果(表 4)表明,A 因素的 F 值大于 $F_{0.05(2,2)}$,影响显著($P < 0.05$);B 因素和 C 因素的影响均不显著($P > 0.05$)。

表 4 IVML 配方影响因素的方差分析结果

Table 4 Variance analysis of affecting factors of IVML prescription

因素 Factor	平方和 SS	自由度 df	均方 Ms	F
卵磷脂与胆固醇质量比(A) Mass ratio of lecithin to cholesterol	594.053 4	2	297.026 7	23.152 2*
IVM 与卵磷脂质量比(B) Mass ratio of IVM to lecithin	348.659 3	2	174.329 7	13.588 4
缓冲液 PBS 的 pH(C) pH of PBS	295.696 8	2	147.848 4	11.524 3
误差 Error	25.658 7	2	12.829 3	
总和 Total	1264.068 2	8		

注: $F_{0.05(2,2)}=19.00$;标*者表示影响显著。下表同。

Note: $F_{0.05(2,2)}=19.00$; signal * means notable effect. The following table is same.

2.2.2 IVML 制备工艺 表 5 中 D' 为空列,计算其 R 值来判断各因素的可靠性,若各影响因素的 R

值均大于空列 D',说明各因素对指标的影响是可靠的,反之不可靠。

表 5 IVML 制备工艺优化的 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 5 Optimization for data of $L_9(3^4)$ of orthogonal experiments to technical factors

试验号 Number	A' 冻融次数 Freeze-thawing times	B' 蒸发温度/℃ Evaporated temperature	C' 超声裂解时间/min Ultrasonic time	D' 空列 Nulllist	包封率/% Encapsulation efficiency
1	1 (2)	1 (35)	1 (3)	1	59.35
2	1 (2)	2 (40)	2 (5)	2	84.44
3	1 (2)	3 (45)	3 (7)	3	78.68
4	2 (3)	1 (35)	2 (5)	3	86.87
5	2 (3)	2 (40)	3 (7)	1	88.90
6	2 (3)	3 (45)	1 (3)	2	70.86
7	3 (4)	1 (35)	3 (7)	2	74.58
8	3 (4)	2 (40)	1 (3)	3	78.67
9	3 (4)	3 (45)	2 (5)	1	79.66
T_1	222.47	220.80	208.88	227.91	702.01
T_2	246.63	252.01	250.97	229.88	
T_3	232.91	229.20	242.16	244.22	
\bar{x}_1	74.16	73.60	69.63	75.97	
\bar{x}_2	82.21	84.00	83.66	76.63	
\bar{x}_3	77.64	76.40	80.72	81.41	
R	8.05	10.40	14.03	5.44	

表 6 IVML 制备工艺影响因素的方差分析结果

Table 6 Variance analysis of affecting factors of IVML preparation technics

因素 Factor	平方和 SS	自由度 df	均方 Ms	F
超声裂解时间(A') Ultrasonic time	97.882 0	2	48.941 0	1.852 5
蒸发温度(B') Evaporated temperature	173.880 0	2	86.940 0	3.290 9
冻融次数(C') Freeze-thawing times	328.527 0	2	164.263 5	6.217 8
误差 Error	52.836 9	2	26.418 4	
总和 Total	653.125 9	8		

由表 5 的 R 值可知,因素 C'(超声裂解时间)影响最大,因素 B'(蒸发温度)影响次之,因素 A'(冻融

次数)影响最小;比较 \bar{x}_1 、 \bar{x}_2 、 \bar{x}_3 ,可得 IVMI 制备的最佳工艺为 $A'_2B'_2C'_2$,即冻融 3 次,蒸发温度为

40 ℃, 超声裂解 5 min。方差分析结果(表 6)显示, 制备工艺 3 个影响因素的 F 值均小于 $F_{0.05(2,2)}$, 表明以上 3 个因素的影响均不显著($P>0.05$)。

按照以上最佳配方及其工艺制备 3 批 IVML, 其包封率平均达(90.71±0.8)%。

2.3 IVM 标准曲线的绘制

对 IVM 溶液进行紫外吸收扫描可知, 其在 245 nm 处有最大吸收峰, 而经离心分离后的空白脂质体溶液在此处无吸收峰, 因此以 245 nm 为其测定波长。

以甲醇为对照, 配制不同质量浓度的 IVM 溶液, 在 245 nm 波长下测其吸光度, 重复 5 次, 取其平均值。根据所得数据, 以 IVM 质量浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归, 得到回归方程如下:

$$A = -0.0171 + 0.0376C, n=7, R^2=0.9975。$$

结果表明, IVM 在 4~28 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内线性关系良好。

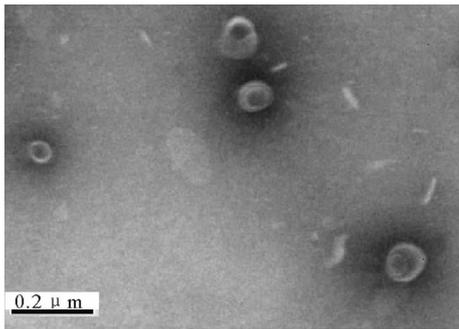


图 1 IVML 的电镜照片($\times 60\ 000$)

Fig. 1 Transmission electron micrograph of IVML ($\times 60\ 000$)

2.7 IVML 的稳定性

2.7.1 热稳定性 将 3 个批次的 IVML 样品, 分别于 4 ℃冰箱、40 ℃恒温箱、室温(25 ℃)放置一段时间后观测, 结果(表 7)显示, 在不同条件下放置 0,

2.4 IVML 回收率试验的结果

结果显示, 配制的高、中、低 3 个不同质量浓度 IVML 溶液的回收率分别是 98.58%, 93.77%, 98.99%, 平均回收率为(97.49±3.11)%, 变异系数为 0.03%, 说明此方法测定结果准确可靠。

2.5 IVML 包封率的测定

用最佳配方和工艺制备的 3 批 IVML 样品, 其包封率分别为 91.03%, 90.97% 和 90.13%, 表明 IVML 的包封率较高。

2.6 IVML 的理化性质

2.6.1 外观 IVML 外观为乳白色牛奶状液体, 无浑浊、絮状、分层等现象, 表明其比较稳定。

2.6.2 形态 IVML 在透射电镜下呈球形, 脂质体分布均匀(图 1)。

2.6.3 粒径 由图 2 可知, IVML 粒径多数分布在 86~115 nm, 平均粒径为(91.8±1.5) nm, 粒径分布范围窄, 粒径比较均匀。

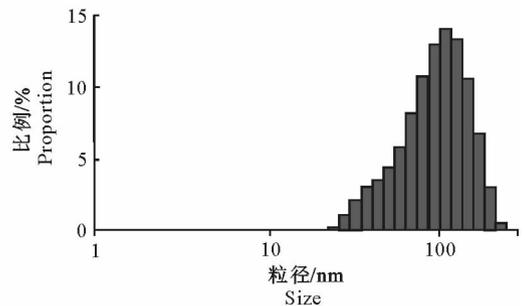


图 2 IVML 的粒径分布

Fig. 2 The distribution of IVML

表 7 IVML 的热稳定性

Table 7 Results of heat stability of IVML

条件 Condition	时间/d Time	分层 Demixing	沉淀 Sediment	色泽 Colour	包封率/% Encapsulation efficiency	IVML 质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) Content
4 ℃冰箱 Refrigerator	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	91.02	10.32
	10	—	—	乳白色 Milky white	90.89	10.22
40 ℃ 恒温箱 Calorstat	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	89.35	9.75
	10	—	—	乳白色 Milky white	85.69	8.69
室温 Room temperature	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	90.09	9.89
	10	—	—	乳白色 Milky white	88.73	8.79

5, 10 d, IVML 无分层、沉淀现象发生, 色泽均呈乳白色, 包封率和质量浓度均未发生明显变化, 说明制备的 IVML 热稳定性好。

2.7.2 光稳定性 由表8可以看出,3批IVML在光照强度为(4 500±500) lx、温度为2.0~5.0 ℃的条件下分别放置0,5和10 d,其外观均未发生明显

变化,为乳状均一的液体,无絮凝、药物析出现象,但IVML的包封率和质量浓度有所降低,说明IVML的光稳定性较差。

表8 IVML的光稳定性

Table 8 Results of light stability of IVML

批次 Batch	时间/d Time	分层 Demixing	沉淀 Sediment	色泽 Colour	包封率/% Encapsulation efficiency	IVML质量浓度 /(mg·mL ⁻¹) Content
1	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	89.34	9.42
	10	—	—	白色 White	85.13	8.34
2	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	88.69	9.56
	10	—	—	白色 White	85.32	8.45
3	0	—	—	乳白色 Milky white	91.06	10.55
	5	—	—	乳白色 Milky white	88.27	9.36
	10	—	—	白色 White	85.33	8.29

3 讨论

3.1 IVML的制备

制备脂质体的方法有很多种,但脂质体的包封率是评定制备方法的主要参数,影响包封率的因素有很多,但最主要是由所包裹药物的性质决定的。薄膜分散法适用于包封脂溶性药物,且制作工艺简单,所需成本低,故本试验以包封率为指标选用此法制备IVML;同时采用水浴式超声,避免了探头式超声可能对样品产生的金属污染^[15]。制备脂质体时,主要采用卵磷脂和胆固醇这2种类脂,其中卵磷脂具有形成脂质双层的作用,胆固醇可以改变磷脂在脂质双层中的排列次序及流动性,从而加固脂质体膜的稳定性^[16]。

本研究在优化IVML配方的正交试验中发现,随着IVM与卵磷脂质量比的增加(1:8→1:10),即随着IVM含量的降低,包封率随之增加,这与前人报道的研究结果相一致^[17-18],但是IVM含量的降低将给临床用药带来不便。经过优化,本研究得到IVML的最佳配方及制备工艺为:卵磷脂与胆固醇质量比为9:1,IVM与卵磷脂质量比为1:10,缓冲液PBS的pH为7.0,超声裂解时间为5 min,蒸发温度40 ℃,冻融3次,所制备的3批IVML的包封率平均达(90.71±0.8)%。

3.2 IVML的质量评价

天然磷脂中含有不饱和化学键,在较高的温度或光照条件下会发生脂质氧化,加入抗氧化剂如维生素E等,可保护天然磷脂不被氧化,从而提高脂质体的稳定性。穆筱梅等^[18]研究表明,适量维生素E可明显抑制大豆磷脂脂质体的过氧化反应,含量

越高,抑制作用越强。

本试验制备的IVML为乳白色、均一的液体;在透射电镜下其液滴呈球形,粒径86~115 nm,且分布均匀;在4 ℃冰箱、40 ℃恒温箱、室温放置一段时间后,其外观和质量浓度未发生明显变化;但经光照后,其包封率和质量浓度降低,说明其在光照下不稳定,应避光保存。

[参考文献]

- [1] 张灵芝. 脂质体制备及其在生物医学中的应用 [M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998.
Zhang L Z. Preparation and application of liposome in biological medicine [M]. Beijing: Beijing Medical University and China Concord Medical Science University Affiliated Publications, 1998. (in Chinese)
- [2] Trotta M, Pattarino F, Ignoni T. Stability of drug-carrier emulsions containing phosphatidyl choline mixtures [J]. Eur J Pharm Biop-harm, 2002, 53(4): 203-208.
- [3] Allent M, Cullis P R. Drug delivery systems: entering the mainstream [J]. Science, 2004, 303(5665): 1818-1822.
- [4] 冯明教, 马满堂, 岳磊, 等. 伊维菌素研究进展 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2006(6): 15.
Feng M J, Ma M T, Yue L, et al. Progress in ivermectin [J]. Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2006(6): 15. (in Chinese)
- [5] Mckellar Q R, Benchaoui H I. Avermectins and milbermycins [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1996, 19: 331-351.
- [6] 刘明春, 吴延飞, 王学强, 等. 伊维菌素研究进展及其在我国兽医临床中的应用 [J]. 辽宁畜牧兽医, 2001, 25(8): 35-37.
Liu M C, Wu Y F, Wang X Q, et al. Progress in ivermectin and clinical application of ivermectin in veterinary [J]. Liaoning Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2001, 25(8): 35-37. (in Chinese)

- [7] 符华林,吴 蕾.伊维菌素脂质体的制备及质量控制研究[J].动物医学进展,2004,25(6):102.
Fu H L,Wu L. Preparation and quality evaluation of ivermectin liposome [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2004, 25(6): 102. (in Chinese)
- [8] 徐 霞,刘增再,刘 毅,等.伊维菌素脂质体的制备工艺[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2005,31(3):300-303.
Xu X,Liu Z Z,Liu Y,et al. Preparation technology of ivermectin liposome [J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences Edition,2005,31(3):300-303. (in Chinese)
- [9] 杨亚军,李引乾,谢 运,等.甲矾霉素脂质体制备和体外抑菌效果[J].西北农业学报,2007,16(4):213-215.
Yang Y J,Li Y Q,Xie Y,et al. Preparation of thiamphenicol liposome and pharmacodynamics *in vitro* [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2007,16(4):213-215. (in Chinese)
- [10] 扶亚祥,何湘蓉,苏建明,等.奥比沙星纳米脂质体制备工艺及处方优化研究[J].动物医学进展,2009,30(4):31-35.
Fu Y X,He X R,Su J M,et al. Preparation technology of orbifloxacin nanometer liposome and study on recipe optimization [J]. Progress in Veterinary Medicine,2009,30(4):31-35. (in Chinese)
- [11] 高 琨,冯安吉,万明习,等.柔红霉素脂质体的制备[J].第四军医大学学报,2006,27(20):1850-1851.
Gao K,Feng A J,Wan M X,et al. Preparation of daunorubicin liposome [J]. Journal of the Fourth Military Medical University,2006,27(20):1850-1851. (in Chinese)
- [12] 叶海英,张忠义.法莫替丁微乳的研制及其质量评价[J].第一军医大学学报,2003,23(1):68-70.
Ye H Y,Zhang Z Y. Preparation and quality evaluation of famotidine nanoemulsion [J]. Journal of the First Military Medical University,2003,23(1):68-70. (in Chinese)
- [13] 中国兽药典委员会.中国兽药典一部[S].2005版.北京:中国农业出版社,2006:附录 225-229.
Codex Committee of Chinese Veterinary drug. Veterinary codex of China [S]. 2005 Ed. Beijing: The Publishing Company of Chinese Agriculture,2006: appendix 225-229. (in Chinese)
- [14] Mehnert W, Mader K. Solid lipid nanoparticles production, characterization and applications [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001,47(2/3):165-196.
- [15] 张 蓓,王东凯,宋 扬,等.细辛脑脂质体的制备及包封率的测定[J].中国中药杂志,2007,32(1):67-68.
Zhang B,Wang D K,Song Y,et al. Preparation of asarin liposome and mensuration of entrapment efficiency [J]. Chinese Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(1): 67-68. (in Chinese)
- [16] 徐丽洒,邓树海,孙 勇,等.左旋多巴脂质体的制备及影响因素[J].齐鲁药事,2005,24(15):305-307.
Xu L S,Deng S H,Sun Y,et al. Preparation of Levodopa Liposome and influence factor [J]. Qilu Pharmaceutical Affairs, 2005,24(15):305-307. (in Chinese)
- [17] 任卫琼,陈维旗,廖建萍.正交试验优选冰片脂质体制备工艺的研究[J].湖南中医药导报,2005,11(1):67-68.
Ren W Q,Chen W Q,Liao J P. Study on the preparation craft selecting liposome of borneolum syntheticum with orthogonal design [J]. Hunan Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology,2005,11(1):67-68. (in Chinese)
- [18] 穆筱梅,钟振声.维生素E、维生素C和BHT对大豆磷脂脂质体的抗氧化作用[J].大豆科学,2006(4):434-437.
Mu X M,Zhong Z S. Antioxidation effects of vitamin E, vitamin C and BHT on the soybean phospholipid liposome [J]. Soybean Science,2006(4):434-437. (in Chinese)