

脂质体实验中的若干问题解答

一. 脂质体包裹药物后溶液颜色变深是什么原因？

- 答：1. 卵磷脂容易氧化。磷脂发生氧化，随着放置时间延长，会越来越黄，可以用一些防止氧化的途径来阻止磷脂氧化；
如量大，可加一滴维生素 E，小量的话就不用加了。
为防止氧化，还是用饱和磷脂好！
如用不饱和磷脂(如卵磷脂)，脂质体最好冷冻干燥保存。
2. 脂质体溶液如果长菌也可能变色。
3. 除颜色外，包裹前后药物和脂质体有何变化？你是离子梯度法载药吗？
会不会是内水相不合适？API 降解杂质含量增加了没有,可能是杂质的颜色。

二. 饱和磷脂做脂质体不好做，薄膜分散不容易成，是怎么原因？

1. 现在上市的脂质体大都用饱和磷脂，好做啊！
2. 薄膜分散法是实验室方法，工业化不大合适！南京绿叶思科用这个方法做力朴素费劲，听说他们的力朴素粒径还挺大。
3. 乙醇注入法制备脂质体，可用透析的方法除去乙醇，超滤除乙醇。
透析袋的截留分子量只要比自己想透析除去的物质分子量大，但是又不会让脂质体出来就行；如径高比 1：20，能完全分离透彻。

三. 脂质体成本那么高，药效和安全性如果没有明显改进，很难被接受的！

1. 脂质体在难溶药物解决方案中往往是最后的选择。
2. 脂质体更多是解决靶向性，而不是增溶！增溶有其他更方便的解决方案。做前药修饰改善药物溶解是更好的增溶方法。
3. 增容用表面活性剂好使。
4. 靶向性是脂质体的一个特性，但是在难溶性药物中的应用是现在研究的一个重要方向，增溶可以用表面活性剂，但是现有的增溶剂有这样那样的问题，脂质体的很多特性在增溶中有优势。
5. 用脂质体作为增溶手段真是暴殄天物啊！磷脂辅料太贵了，用作增溶剂真的不值当！

6. polymer-drug conjugate 既可以增溶，又可以有 epr 效应！

各有各的优势，关键在于解决生物利用度，解决疗效。

四. 如果脂质体只作为靶向应用，那么应用面就太窄了，毕竟脂质体还有很多其他重要的特性。

1. 提高靶向性就很好了，捎带就可以减毒和提高疗效！化疗药物最大问题就是不够专一，靶向性太差。

2. 靠脂质体提高靶向性的效果很有限，关键要和其他的化学，生化技术结合才能发挥增效降毒作用

五.关于脂质体冻干：

1. 加常用的冻干保护剂冻了，再分散看形态、粒径、电位结果来选品种和用量。

2. 如一般的冷冻干燥用的赋形剂，乳糖和甘露醇用于脂质体冻干，效果都不行，可试试海藻糖。

3. 海藻糖太贵啦！供应商太少，除了日本林原和美国 JTBaker，还有哪家？还是蔗糖最好，

Ambisome 就用它了。

4. 国产的海藻糖是食品级的，需要自己精制，可以用，需要与产品一起申报。

5. 先试便宜的药用的，再试贵的，如果海藻糖先小试国产的，真需要又值得再选进口的。

6. 脂质体冻干用的蔗糖必须是药用级别的吗？买的那种普通的分析纯的蔗糖能用吗？

答：分析纯的就用于分析，拿去代替药用级的，自己实验室做实验有问题，但用于产品开发申报，不一定能通过。再说药用级蔗糖也不比分析纯贵多少。

7. 注射级别的蔗糖可以看看默克的。

8. 这个需要始终如一！小试研发用国产海藻糖就用国产海藻糖，换成了进口的干嘛呢？任何变化都可能导致意想不到的效果，可能是更好也可能更糟糕！

9. 先很少的，不至于到小试那么多，根据自己认可的成本和具体目的而定吧。

10. 脂质体冻干很麻烦，不要轻易换。

主要是摸索好冻干曲线，而冻干曲线主要有产品的相转变温度以及玻璃化温度确定。所以冻干时先把这些温度确定。

11. 成膜温度应该在相变温度之上还是水化温度？

答：成膜温度和水化温度都应该高于相转变温度。

六. 做脂质体时,磷脂辅料如何选择?

1. 如 DSPC, DOPE 这些磷脂

仿制药没得说,跟 RLD 一致即可。对于新药,这个就需要根据药物分子结构、给药途径、药物释放要求等来确定,没有统一的公式!建议反复实验,copy 其他药物脂质体的处方不见得奏效,需要调整修改.

2. 有人用过磷脂酰丝氨酸 (PS) 做脂质体吗? 磷脂酰丝氨酸是在哪里买的?

NOF、NFC、Lipoid、Cordenpharma 和 Avantipolarlipids 都有卖的,但 PS 超贵!如果必须用,最好还是自己合成吧

3. 那大家除了用 PC 经常用的磷脂还有什么呢?

用 PS 是代替 PC 的吗?和 PC 相比有什么好处?

PS 跟 PC 还是不一样的,可能是 PS 带电荷,且一些肿瘤细胞有 PS 受体表达,PS 脂质体靶向性可能更好吧。就是 PS 太贵,目前大多仅限于研究,还没有 PS 脂质体上市.

七. 包裹水溶性药物和脂溶性药物的区别是?

脂质体可用于水溶性药物与脂溶性药物的包裹,其中水溶性药物是包裹在脂质体的内水相中,通常载药量极低,且容易渗漏在外水相中,水溶性药物采用 pH 梯度法包裹率较高,如上市的阿霉素脂质体,其液体长期储存也不会有渗漏,而用常规法制备的水溶性药物脂质体包裹很低,故水溶性药物一般不宜做成脂质体;脂溶性药物是包裹在脂质体的双分子层中,根据相似相容原理进行包裹的,但也存在析出的可能,故一般制备成冻干脂质体,可长期储存。

八. 脂质体的存储条件: 脂质体一般 2-8 °C 冷藏,脂质体注射液或冻干粉。

九. 脂质体的稳定性控制:

利用 PhD 高压均质机,先均质完,再用 NanoAble-150 过滤挤出器,进行挤出,稳定性比较好,空白脂质体,4°C 下储存 40 多天了,无沉淀.

十. 脂质体处方设计: 须有的放矢.可从如下方面考虑:

- 1.看看是脂溶性还是水溶性,规格如何
- 2.靶组织是静脉、眼睛还是肺部给药;
- 3.释放特性要求(半衰期、释药机制)等等,
如果这些清楚了,基础处方就可以设计出来.

十一、包封率的测定：

1. 葡聚糖 G-25 和 G-50 填好的柱子的孔径是多少？

G-50 可以分出 100nm 的脂质体没有问题。

不同粒径，可能包封率不同。应该一步到位，做到目标粒径。

2. 请问脂溶性药物做脂质体用离心法分离的话怎么可以知道分离的效果呢？

可以用 G-50 柱子看看分离效果，最简单，没有仪器的要求，快速分成两条带那就说明还有没有包封的。

脂质体如果做得好，脂溶性或水溶性药物的包封率应该要接近 100%，是不需要分离未包封药物的。处方、工艺和设备都需要科学设计。

3. pH 梯度法载药的时候，脂质体、药物、调节 pH 的缓冲液，这三者加入顺序有要求吗？

脂质体，加入 pH 调节缓冲液，相同温度下，再加入药物溶液。一般情况下是这个顺序。

要注意控制搅拌速度或不搅拌，避免高温下脂质体粒径增大。

以前用过震荡，发现会沉淀。絮状沉淀的原因是局部某一组份过量了，严重的话是不可逆的

答：快速混合后，马上静止，在 60 度~65 度环境下，15 分钟以上沉淀会消失的，

这么少的量，不用额外处理，加入即可，保证两者温度一致。

4. 包药结束后，温度降下来后还产生沉淀怎么办？

包药结束后，温度降下来还沉淀，说明药没有包进去，是不是建立的 pH 梯度有问题呀？

答：空白脂质体和药物溶液的体积，最好控制在 1:2 以内；pH 梯度最少要 2.5 以上；

药物浓度可以做到 10mg/mL, 这样药物溶液体积对载药后脂质体终体积影响要尽可能小。

十二. Phd 高压均质机/过滤挤出器的应用：

美国 Phd [高压均质机](#)在制药领域中常用于均质纳米乳剂、纳米粒、脂质体等，制备工艺一般为先进行初乳制备，再经高压均质得到较小粒径和均匀一致的制剂。

美国 Phd 高压均质机的可控设备参数有均质压力、循环次数（循环时间）和温度等，制剂粒子大小和分布一般随着均质压力增大，和循环次数增多明显下降，到达一定压力和循环次数后渐趋平衡；在制备脂肪乳时需选择合适的均质温度。由于高压均质过程对不同制剂性能的影响各异，因此不同处方和剂型的纳米制剂应对均质参数进行优化，以确定最佳工艺。

美国 Phd 高压均质机因其均质效率高和工艺稳定等优点，在纳米制剂的制备中被日益广泛使用。该法最显著的优势是制得的粒子粒径小和粒度分布窄且均匀，效果显著，但对制剂的其他质量指标如包封率、载药量、释药速度和稳定性等而言，需结合其他各处方和工艺因素的优化以获得良好的制剂理化性能，因此还需深入研究以获得成熟工艺。尽管如此，高压均质机

依然是纳米制剂工业化可采用的最有前途的工艺设备，应用前景广阔。

[鸣谢“脂质体交流群（QQ 群号：41857704），多位脂质体研发人员的贡献与支持]

关键词： 脂质体，pH 梯度法载药，包封率测定，磷脂辅料，薄膜分散，脂质体靶向给药，高压均质机，过滤挤出器