

## 芒果苷脂质体的理化性质和体外经皮渗透性能的研究

郑 银<sup>1</sup>, 王亚静<sup>2</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 天津市现代中药重点实验室 - 省部共建国家重点实验室培育基地, 天津 300193

**摘要:** **目的** 考察制备的芒果苷脂质体的理化性质和经皮渗透性能。**方法** 采用薄膜分散法制备芒果苷脂质体, 超速离心法测定包封率, 并对粒径、电位进行表征; 以大鼠皮肤为渗透屏障, 采用 Franz 扩散池比较芒果苷脂质体和水溶液的体外经皮累积渗透量。**结果** 芒果苷脂质体的粒径为  $(97.7 \pm 1.2)$  nm、电位为  $(-10.7 \pm 0.2)$  mV, 包封率为 44.1%。芒果苷脂质体组与水溶液组 24 h 累积渗透量分别为  $(171.9 \pm 13.43)$ 、 $(102.5 \pm 3.97)$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。**结论** 脂质体给药系统可有效促进芒果苷的经皮渗透, 为芒果苷经皮给药新制剂的研究提供了参考。

**关键词:** 芒果苷脂质体; 芒果苷; 经皮渗透

中图分类号: R283.6; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)02-0147-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.02.009

## Physicochemical property and percutaneous permeability *in vitro* of mangiferin liposomes

ZHENG Yin<sup>1</sup>, WANG Ya-jing<sup>2</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Province, State Key Laboratory Breeding Base, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To investigate the physicochemical property and percutaneous permeability of mangiferin liposomes. **Methods** Film dispersion method was used to prepare mangiferin liposomes and entrapment efficiency was determined by ultracentrifugation. Particle size and Zeta potential were characterized. Using rat skin as a permeability barrier, accumulation of percutaneous penetration *in vitro* between mangiferin liposomes and aqueous was compared in Franz diffusion cell. **Results** The particle size, Zeta potential, and encapsulation efficiency of mangiferin liposomes were  $(97.7 \pm 1.2)$  nm,  $(-10.7 \pm 0.2)$  mV, and 44.1%, respectively. The cumulative permeation amount of mangiferin liposome and aqueous was  $(171.9 \pm 13.43)$  and  $(102.5 \pm 3.97)$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . **Conclusion** Liposome delivery system could effectively promote the percutaneous penetration of mangiferin, and provide the experimental reference for new mangiferin transdermal preparations study.

**Key words:** mangiferin liposomes; mangiferin; percutaneous permeation

芒果苷是从漆树科植物芒果 *Mangifera sylvatica* Roxb.、百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 中分离得到的一种多酚羟基二苯并吡喃酮类化合物。现代药理学研究表明芒果苷具有抗氧化、抗炎止痛、抗病毒、免疫调节以及辐射防护等作用<sup>[1-5]</sup>, 在外用制剂及化妆品产品开发中具有良好的应用潜力。然而, 芒果苷的生物药剂学性质不佳, 溶解性、生物膜渗透性均很小, 制约了芒果苷药理作用的发挥。脂质体作为经皮给药载体, 不仅可促

进药物的透皮吸收, 提高局部利用度, 加强局部药理作用, 且制备技术具有产业化前景。本实验将芒果苷制备成脂质体, 并对其理化性质和经皮渗透特性进行考察, 为芒果苷经皮给药新制剂的研究提供依据。

### 1 仪器与试剂

CoMetro 6000 型高效液相色谱仪 (天津市琛航科技仪器有限公司); 旋转蒸发器 (上海爱朗有限公司); 探头超声仪 (宁波新芝科技有限公司); TGL—

收稿日期: 2013-06-17

作者简介: 郑 银 (1987—), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 研究方向为药物新制剂。Tel: 13803055197 E-mail: zhengyin7@163.com

\*通信作者 王亚静, 女, 从事药物新制剂研究工作。Tel: (022) 59596169 E-mail: yajing022@163.com

16B 离心机(海安亭科学仪器有限公司); DG—200A 型马尔文粒径电位分析仪(英国马尔文公司); K—6H 型透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易公司)。

芒果苷对照品(天津中新药业集团股份有限公司提供, 批号 110505-11, 质量分数 >98%); 芒果苷原料药(天津中新药业集团股份有限公司提供, 批号 100523, 质量分数 90%); 蛋黄卵磷脂(上海艾韦特医药科技有限公司, 批号 EL-10001, 质量分数 80%); 胆固醇(郑州利伟生物实业有限公司, 批号 120712-16); 甲醇和乙腈均为色谱级, 其余试剂均为分析级。

雄性 SD 大鼠, 由北京大学医学部实验动物科学部提供, 许可证编号 SCXK(京)2011-0012。

## 2 方法与结果

### 2.1 芒果苷脂质体的制备<sup>[6]</sup>

采用薄膜分散法制备芒果苷脂质体。称取处方量的芒果苷、蛋黄卵磷脂、胆固醇置于茄型瓶中, 加入甲醇并超声 30 min, 待其完全溶解后旋转蒸发除去有机溶剂, 形成类脂薄膜。加入 10 mL 磷酸盐缓冲溶液(PBS)(pH 6.5)洗脱膜材并水化 15 min, 将得到的混悬液放入冰水浴探头超声 3 min, 过 0.45 μm 滤膜后, 即得芒果苷脂质体。

### 2.2 理化性质的考察

**2.2.1 水中分散形态的考察** 将芒果苷脂质体用水分散, 滴至铜网(2.5 mm)烘干, 用 1%磷钨酸染色 5 min, 置 55 °C 烘箱烘干。置于 270 000 倍透射电镜下观察, 见图 1。可见脂质体外观圆整, 呈近圆球状。

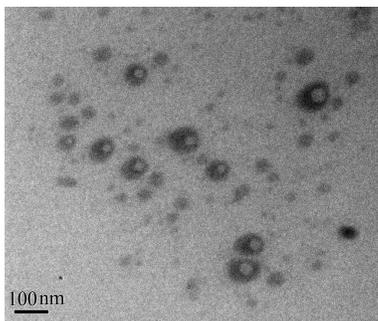


图 1 芒果苷脂质体在水中的分散形态

Fig.1 Dispersion morphology of mangiferin liposomes in water

**2.2.2 粒径、电位的测定** 移取 1 mL 芒果苷脂质体, 以去离子水稀释 3 倍, 测定其粒径分布和 Zeta 电位, 结果见图 2。可见芒果苷脂质体的粒径为  $(97.7 \pm 1.2)$  nm、Zeta 电位为  $(-10.7 \pm 0.2)$  mV。

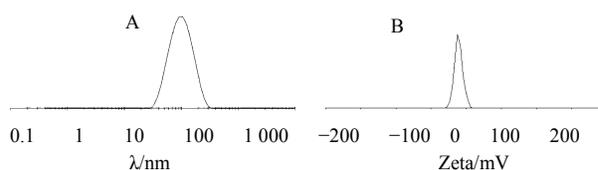


图 2 芒果苷脂质体的粒径分布(A)和 Zeta 电位(B)  
Fig.2 Particle size distribution(A) and Zeta potential(B) of mangiferin liposomes

**2.2.3 包封率的测定<sup>[6]</sup>** 包封率的测定 准确移取芒果苷脂质体 1 mL 置超滤离心管中, 4 000 r/min 离心 20 min, 测定上清液中芒果苷的质量浓度, 计算质量  $W_{游}$ 。另取芒果苷脂质体 1 mL, 用甲醇稀释至 10 mL, 超声 15 min 破乳, 0.45 μm 滤膜滤过, 测定芒果苷的质量浓度, 计算质量  $W_{总}$ , 并计算包封率, 结果芒果苷脂质体的包封率为 44.1%。

$$\text{包封率} = (W_{总} - W_{游}) / W_{总}$$

### 2.3 体外经皮渗透实验

**2.3.1 色谱条件** Venusil MP C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.1% 甲酸水(17:83); 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 35 °C; 检测波长: 260 nm。

**2.3.2 标准曲线的绘制** 精确吸取芒果苷对照品储备液适量, 用水稀释成 1.19、2.79、10.89、81.96、136.15 μg/mL 对照品溶液, 进样 20 μL, 测定峰面积。以质量浓度对峰面积进行线性回归, 得回归方程  $A = 31\,249\,C + 49\,481$  ( $r = 0.999\,6$ ), 结果表明在 1.186~136.15 μg/mL 时芒果苷测定峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。

**2.3.3 专属性试验** 取芒果苷对照品溶液、空白接收液、芒果苷脂质体溶液按上述色谱条件进样测定, 色谱图见图 3。可见空白接收液对测定无干扰。

**2.3.4 精密度试验** 精密称取芒果苷原料药适量, 配制 9、40、80 μg/mL 溶液, 分别每日进样 3 次, 连续测定 3 d, 记录芒果苷的峰面积, 计算得日内、日间 RSD 值分别为 0.3%、1.9%。

**2.3.5 稳定性试验** 精密称定芒果苷原料药, 加入接收液, 配制 9 μg/mL 溶液, 放置 0、4、8、12、24 h, 分别进样测定, 记录芒果苷的峰面积, 计算得 RSD 值为 1.7%。

**2.3.6 回收率试验** 取空白透皮接收液适量, 分别加入一定量的芒果苷贮备浓溶液, 制得 11.86、47.44、94.88 μg/mL 芒果苷溶液, 分别进样 3 次,

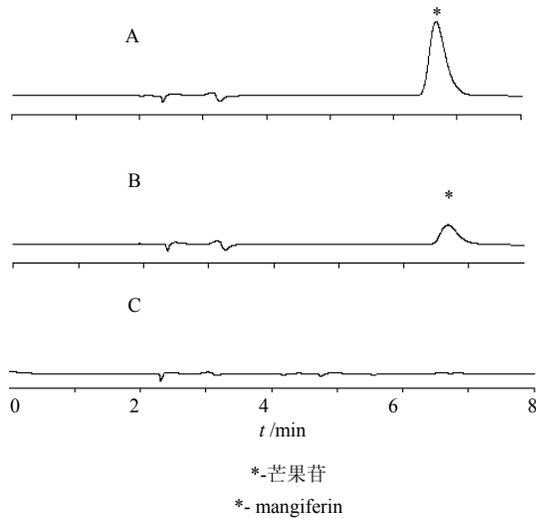


图 3 芒果苷对照品 (A)、芒果苷脂质体 (B) 和空白接收液 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of mangiferin reference substance (A), mangiferin liposomes (B), blank (C)

计算回收率, 结果平均回收率为 99.1%。

**2.3.7 接收液的选择** 取 SD 大鼠, 脱颈处死, 剥取腹部皮肤、剪去毛发及剔除皮下脂肪, 用蒸馏水冲洗干净。将处理好的鼠皮置于 Franz 立式扩散池上, 在接收池中分别注入生理盐水、PBS (pH 7.4)、10%乙醇、20%乙醇、20% PEG 400、40% PEG 400 生理盐水溶液为接收液<sup>[7]</sup>。将接收池置于透皮扩散池中, 将等量的芒果苷溶液和芒果苷脂质体置于鼠皮上, 分别于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 时取样 1 mL, 并及时补充等量新鲜接收液。样品溶液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 测定峰面积, 带入回归方程计算芒果苷的质量浓度, 计算累积渗透药量。不同接收介质的累积渗透曲线见图 4。可以看出 10%乙醇、20%乙醇、20% PEG 400 生理盐水溶液满足接收液漏槽条件, 考虑到乙醇溶液可能改变皮肤结构, 易产生假阳性结果, 故最终选择 20% PEG 400 生理盐水溶液为接收液。

$$Q_n = Q_n = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

$Q_n$  为累积渗透量  $C_n$  和  $C_i$  分别为第  $n$ 、 $i$  个取样点测得的药物质量浓度,  $V$ 、 $V_i$  分别为接收池体积和取样体积,  $A$  为渗透面积。

**2.3.8 体外透皮实验** 将处理后的鼠皮置于 Franz 立式扩散池上, 在接收池中注满 20% PEG 400 生理盐水溶液, 分别在供给池中加入等量的芒果苷溶液和芒果苷脂质体, 于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 取样 1 mL 并及时补充等量新鲜接收液。样品溶液

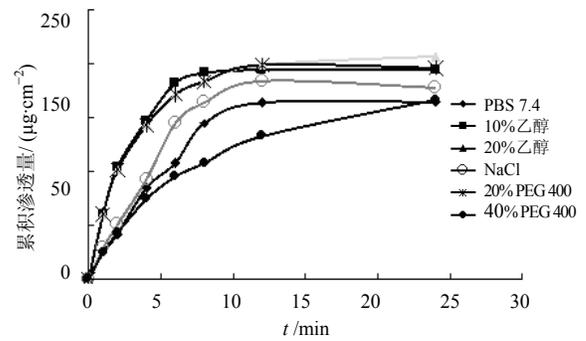


图 4 芒果苷在不同介质中的累积渗透曲线 (n=3)

Fig. 4 Accumulated permeation amount of mangiferin in various media

经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 测定峰面积, 带入回归方程计算芒果苷的质量浓度, 计算累积渗透药量。经皮渗透系数稳态透皮速率 ( $J_s$ )、渗透系数 ( $K_p$ )<sup>[8]</sup> 见表 1, 累积渗透曲线见图 5, 拟合方程见表 2。芒果苷脂质体组 24 h 累积渗透量为 (171.9±13.43) μg/cm<sup>2</sup>, 为溶液组 (102.5±3.97) μg/cm<sup>2</sup> 的 1.68 倍, 且  $J_s$ 、 $K_p$  等经皮渗透参数均较溶液组有所提高。从方程拟合优度结果看, 芒果苷溶液和脂质体的透皮行为均符合二次曲线模型。将芒果苷制备成脂质体虽然并未改变其透皮行为, 但增加了其累积透皮量。

表 1 经皮渗透系数 (n=3)

Table 1 Percutaneous permeability coefficient (n=3)

组别	$J_s / (\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$K_p / (\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$	$Q_{24\text{h}} / (\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$
溶液	25.03 ± 0.79	0.055 ± 0.003	102.5 ± 3.97
脂质体	35.55 ± 1.27**	0.079 ± 0.002**	171.9 ± 13.43**

与溶液组比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs solution group

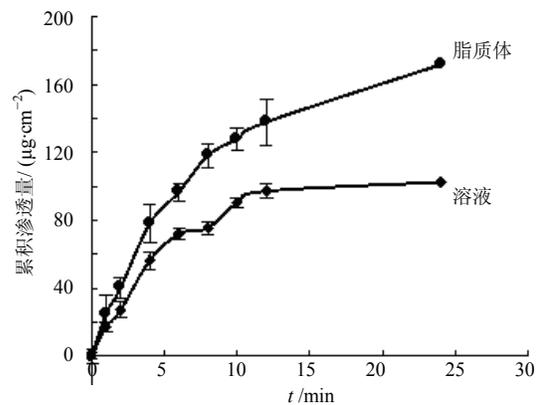


图 5 不同处方中的芒果苷累积渗透曲线 (n=3)

Fig. 5 Accumulated permeation curves of mangiferin in various prescriptions (n=3)

表 2 拟合方程  
Table 2 Fitting equations

数学模型	拟合方程	
	芒果苷溶液	芒果苷脂质体
零级动力学	$Q=3.565\ 3\ t+37.513\ 0\ (R^2=0.69)$	$Q=6.147\ 2\ t+48.090\ 0\ (R^2=0.83)$
一级动力学	$\ln Q=0.065\ 2\ t+3.516\ 3\ (R^2=0.55)$	$\ln Q=0.071\ 3\ t+3.846\ 4\ (R^2=0.63)$
Higuchi 方程	$Q=23.749\ 0\ t^{1/2}+4.267\ 0\ (R^2=0.87)$	$Q=39.368\ 0\ t^{1/2}-4.838\ 9\ (R^2=0.96)$
二次曲线	$Q=-0.309\ 5\ t^2+11.282\ t+9.286\ 0\ (R^2=0.98)$	$Q=-0.364\ 2\ t^2+15.228\ 0\ t+14.876\ 0\ (R^2=0.99)$

### 3 讨论

芒果苷具有多种药理作用, 其中抗炎作用尤其显著。小鼠体内研究表明, 同等剂量下与地塞米松相比, 芒果苷抗炎作用较弱, 但当剂量提高至 5~10 倍时, 即能达到抗炎消肿药效相当<sup>[9]</sup>, 并且无地塞米松激素类副作用, 因此在外用药中极具开发潜力和应用前景。

良好的经皮渗透特性是药物能维持局部或全身有效浓度、发挥药效作用的前提, 并主要取决于药物的溶解性。然而, 芒果苷属于生物药剂学分类系统中的第 4 类药物, 油、水中溶解度均较差, 影响其经皮药理作用的发挥。脂质体能增加药物的脂溶性, 并且作为经皮给药载体, 对皮肤组织具有相对靶向性, 能使药物集中于病灶, 并形成药物贮库持久地作用于病灶部位。另外, 脂质体对局部应用的药物有良好的促透作用, 能增加药物在皮肤中的分布和降低其在全身血液循环中的浓度<sup>[10-11]</sup>, 从而提高经皮给药的生物利用度。实验结果表明, 芒果苷脂质体 24 h 累积透皮量是溶液组的 1.68 倍, 且其他主要经皮渗透系数均优于溶液组, 因此脂质体给药系统可有效地改善芒果苷的经皮渗透性质, 为芒果苷经皮给药制剂的研究提供了参考。

#### 参考文献

- [1] 廖洪利, 王伟新, 赵福胜, 等. 知母化学成分研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2005, 23(1): 12-14.  
[2] Gilberto L P, Junqueira D D, René D, et al. Vimang

(*Mangifera indica* L. extract) induces permeability transition in isolated mitochondria, closely reproducing the effect of mangiferin, Vimang's main component [J]. *Chem Biol Interact*, 2006, 159(2): 141-148.

- [3] 秦怀洲, 王木梁, 赵振伟, 等. 芒果苷对小鼠免疫功能影响的初步研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(8): 931-934.  
[4] Lei J, Zhou C, Hu H, et al. Mangiferin aglycone attenuates radiation-induced damage on human intestinal epithelial cell [J]. *Cell Biochem*, 2012, 113(8): 2633-2642.  
[5] 卫智权, 阎莉, 邓家刚, 等. 芒果苷对脂多糖诱导的慢性炎症大鼠 MAPK 通路及血清细胞因子的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 52-58.  
[6] 马金鹏, 舒乐新, 刘志东. 丹酚酸 B 脂质体的制备及其体外释药的研究 [J]. 中草药, 2011, 42 (1): 65-68.  
[7] 魏敏, 周莉玲, 黄春青, 等. 以主药溶解性能筛选体外经皮渗透试验中的接收液 [J]. 中药材, 2005, 28(4): 332-334.  
[8] 周彦杉. 剂型对复方苯海拉明的体外经皮渗透行为及有效性影响研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2010.  
[9] 李学坚, 杜正彩, 邓家刚, 等. 3 个芒果苷酰化衍生物的化学合成及抗炎作用研究 [J]. 中国实验方剂学, 2012, 18(24): 185-189.  
[10] 吴宏霞, 何文, 蔡鸿生, 等. 8-甲氧补骨脂素脂质体凝胶的皮肤渗透性研究 [J]. 中国药房, 2003, 14(11): 655-657.  
[11] 旷英姿, 马全红. 茶多酚脂质体体外透皮实验研究 [J]. 株洲工学院学报, 2006, 20(2): 28-31.