膜材比例对柠檬酸铁脂质体稳定性的影响

元琳琳^①, 王琳^①, 李文新^①, 郝振芳^①, 耿丽娜^{①*}, 张建军^{②*}

① 河北师范大学化学与材料科学学院, 石家庄 050024;

② 河北师范大学分析测试中心, 石家庄 050024

* 联系人, E-mail: genglina0102@126.com; jjzhang6@126.com

2016-05-17 收稿, 2016-06-14 修回, 2016-06-15 接受, 2016-08-08 网络版发表

国家自然科学基金(31201305)资助

摘要 采用薄膜旋转蒸发法制备了3种膜材比(卵磷脂与胆固醇质量比为8:1, 10:1, 12:1)的柠檬酸铁脂质体(FAC-Lip). 采用电导法测定了FAC-Lip的相变温度(T_m)、凝聚速率常数(K_{co})、凝聚活化能(E_{co}), 考察膜材比对其稳定性的影响; 通过测定油-水分配系数($P_{o/w}$)和脂质体-水分配系数($P_{lip/w}$)随pH的变化趋势, 考察药物FAC与脂质体膜的相互作用力类型. 结果表明, 随膜材比例增大, T_m 略有减小, K_{co} 先减小后增大, E_{co} 先增大后减小, 膜材比为10:1时FAC-Lip的稳定性最好; 随体系pH的升高, $\lg P_{o/w}$ 减小而 $\lg P_{lip/w}$ 增大, 说明药物与脂质体膜的作用力中以氢键、静电力为主, 疏水作用为辅.

关键词 柠檬酸铁脂质体, 油-水分配系数, 脂质体-水分配系数, 相变温度, 凝聚活化能

铁是人体必需的微量元素之一, 在机体活动和生物代谢中发挥重要作用, 如电子传递、氧的运输、基因调控以及细胞的生成和分化等^[1]. 铁缺乏会导致缺铁性贫血(iron deficiency anemia, IDA), 铁缺乏通常是由于铁摄取不足、对食物中铁的利用度低或铁消耗过多造成的^[2,3]. 目前治疗贫血的常规方法是补充铁剂, 以柠檬酸铁(FAC)为代表的第二代小分子有机酸铁盐的补铁剂, 存在口感差、稳定性差、利用率低等缺点^[4]. 对此研究者找到了一种新型的药物载体-脂质体, 药物经脂质体封装后, 能够提高药物的生物利用率与缓释作用^[5]. 常规补铁剂经脂质体封装后, 可降低其对胃黏膜的刺激, 并延长药物在体内的作用时间^[6], 研究表明, 对贫血模型鼠通过灌胃补充铁脂质体(柠檬酸铁脂质体和血红素铁脂质体)后, 与对照组相比(柠檬酸铁和血红素铁)可明显提高机体中的可利用铁, 缓解贫血症状^[7].

目前, 铁脂质体大都是现用现做, 因为脂质体属

于热力学不稳定体系, 在贮存过程中粒子易聚集导致粒径变大^[8], 同时磷脂中含有不饱和键, 易发生水解氧化, 造成药物渗漏^[9], 这是脂质体应用于临床的主要困难. 载药脂质体的体外研究, 常采用相变温度(T_m , 判断脂质体的释药温度)、油水分配系数($P_{o/w}$, 判断药物与脂质体膜层的作用力类型)、脂水分配系数($P_{lip/w}$, 药物与脂质体膜层的作用力类型)、凝聚速率常数(K_{co} , 判断脂质体凝聚速率快慢)、凝聚活化能(E_{co} , 判断脂质体的稳定性)、吉布斯自由能(ΔG , 判断药物与脂质体膜层结合的难易程度)等热力学和动力学参数判断脂质体的载药特性. 刘春等人^[10]采用电导法测定了灯盏花素脂质体的 T_m 为63℃, E_{co} 为14.66 kJ/mol. 袁松^[11]研究了不同磷脂种类脂质体的凝聚活化能, 发现 E_{co} 值越大, 脂质体越稳定. 陆伟根等人^[12]研究了不同pH条件下草乌甲素的 $P_{o/w}$ 和 $P_{lip/w}$, 通过比较发现二者均随着体系pH的增加而增大, 初步揭示药物与磷脂膜间以疏水作用为主. 钟海军等

引用格式: 元琳琳, 王琳, 李文新, 等. 膜材比例对柠檬酸铁脂质体稳定性的影响. 科学通报, 2016, 61: 2717-2723

Yuan L L, Wang L, Li W X, et al. Membrane material ratio influence to the stability of ferric citrate liposome (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 2717-2723, doi: 10.1360/N972016-00581

人^[13]发现灯盏花素在正辛醇-水系统中的分配情况与其在脂质体-水系统中正好相反,表明药物与磷脂膜的作用力中其疏水力作用较小,而其他力(如氢键、静电力等)占优势。

目前,采用上述参数评价铁脂质体稳定性的研究未见报道。本课题组^[7]前期工作考察了铁脂质体(柠檬酸铁脂质体和血红素铁脂质体)对贫血模型鼠的补铁效果,并计算了铁脂质体中药物与脂质体膜层间的吉布斯自由能^[14]。在此基础上,进一步考察柠檬酸铁脂质体中药物与磷脂双分子层间的作用力类型(油-水分配系数和脂质体-水分配系数),测定其 T_m , K_{co} , E_{co} 值。该研究有助于指导载药脂质体的制备,预测药物在体内的吸收,为在体药代动力学研究提供基础。

1 材料和方法

(i) 柠檬酸铁脂质体(FAC-Lip)的制备。按照本实验室例行方法——薄膜旋转蒸发法制备FAC-Lip^[14]。按照卵磷脂和胆固醇质量比分别为8:1, 10:1, 12:1称取膜材,将其溶于适量的无水乙醇中,置于旋转蒸发仪上旋转蒸发成膜。取柠檬酸铁的磷酸缓冲盐溶液(PBS)10 mL,倒入上述圆底烧瓶中,进行水化洗膜、超声,避光透析4~5 h,即可得到不同膜材比的FAC-Lip混悬液。

采用不同pH的PBS进行脂膜水化,可得到不同pH(4.50, 5.01, 5.62, 6.02, 6.50, 7.02, 7.41, 8.03) FAC-Lip, 用于脂质体-水分配系数的测定。

(ii) T_m 的测定。分别量取不同膜材比(8:1, 10:1, 12:1)的FAC-Lip 1 mL于小烧杯,用二次水稀释40倍,将烧杯放入恒温水浴中磁力搅拌,用电导率法测定该混悬液在30~70℃的电导率。

(iii) K_{co} 和 E_{co} 的测定。分别测定不同膜材比(8:1, 10:1, 12:1)的FAC-Lip在40, 50, 60℃温度下,电导率随时间的变化。根据所测得的数据,分别以 $\lg(X_t - X_\infty)$ 对时间 t 作图(X_t 为 t 时间的电导率; X_∞ 为分散度变化达到极限时的电导率),线性回归拟合得出脂质体混悬液在特定温度下的聚集速度方程,得出斜率 b_1 。按式(1),求得各温度下的 K_{co} 。将 $\lg K_{co}$ 对 $1/T$ 进行线性回归,得出斜率 b_2 ,此方程与Arrhenius指数方程相似,因而可以按式(2)求得 E_{co} 。

$$K_{co}=2.303 \times b_1, \quad (1)$$

$$E_{co}=2.303 \times R \times b_2, \quad (2)$$

式中, R 为摩尔气体常数。

(iv) 油-水分配系数的测定。将文献[12]方法稍加改进,精密量取不同pH的(3.03, 4.04, 4.46, 5.01, 5.75, 6.50, 7.40)PBS缓冲溶液(含12 μg柠檬酸铁)和相应pH的正辛醇各2 mL置于小烧杯中,磁力搅拌2 h,室温静置30 min,待其分层后,取下层水相离心(2000×g)15 min,除去残留的正辛醇。用紫外分光光度计测定分配前后水相中柠檬酸铁的浓度,二者之差为柠檬酸铁在正辛醇的浓度。按下式计算 $\lg P_{o/w}$ 值:

$$\lg P_{o/w} = \lg(C_o/C_w), \quad (3)$$

式中, C_o 和 C_w 分别代表油相和水相样品中柠檬酸铁的质量浓度, $\lg P_{o/w}$ 代表正辛醇-水分配系数。

(v) 脂质体-水分配系数的测定。按文献[14]方法,将不同pH(4.50, 5.01, 5.62, 6.02, 6.50, 7.02, 7.41, 8.03)的FAC-Lip放入透析袋,在室温下采用平衡透析法,测试脂质体与透析液的药物浓度,按式(4)求算药物的脂质体/水分配系数 $\lg P_{lip/w}$ 值:

$$\lg P_{lip/w} = \lg \frac{V_l(C_1 - C_2)}{V_L C_2} + 1, \quad (4)$$

式中, V_l 为FAC-Lip的体积(L), C_1 为FAC-Lip封装的质量浓度(g/L), C_2 为透析液中FAC的质量浓度(g/L), V_L 为脂质体磷脂双分子层的体积(L), V_L 按照文献[15]描述的方法进行计算。

2 结果与讨论

2.1 不同膜材比对FAC-Lip的相变温度的影响

用电导法测定3种膜材比(卵磷脂与胆固醇质量比为8:1, 10:1, 12:1)的FAC-Lip在30~70℃电导率,绘制电导率-温度曲线,如图1(a)所示:不同膜材比(8:1, 10:1, 12:1)的FAC-Lip均表现出相同的趋势,即随分散体系温度上升,电导率先升高后降低到某一值,然后再上升。这是由于温度升高引起荷电粒子迁移速度加快;在接近相转化温度时,非电导性分散粒子聚集上浮加快,分散体系的电导率下降,在电导率达到最低值时所对应的温度,即为脂质体混悬液的相变温度^[10],相变温度反映了脂质体的释药温度。图1(a)中,膜材比为8:1, 10:1, 12:1时,FAC-Lip的 T_m 分别为53, 53, 52℃,即 T_m 随着膜材比的增大而略有降低,说明胆固醇的含量可影响脂质体的稳定性。

为了进一步验证脂质体的相变温度,选取膜材比为10:1的FAC-Lip做TG-DSC测试。TG曲线显示,

图1 (网络版彩色)(a) 不同膜材比时, FAC-Lip电导率随温度的变化曲线; (b) 膜材比为 10:1 时, FAC-Lip的TG-DSC曲线

Figure 1 (Color online) The electrical conductivity of FAC-Lip varied with membrane material ratio at different temperatures (a) and the TG-DSC curve of FAC-Lip at membrane material ratio 10:1 (b)

在低于80℃的范围内基本没有失重现象,而在DSC曲线中,53.5℃处有一个向上的吸热峰,由此可以推断这是由于脂质体发生相变而产生的(图1(b)),该温度(53.5℃)与图1(a)中膜材比为10:1时所测得的相变温度(53℃)基本一致。

2.2 FAC-Lip聚集动力学的研究

脂质体属于热力学不稳定体系,在贮存过程中脂质体颗粒可以自发地聚集、沉淀造成脂质体物理形态、结构的不稳定。因此,实验又对不同膜材比(8:1, 10:1, 12:1)FAC-Lip的聚集动力学参数,如稳定时间、凝聚速率、凝聚活化能进行了测试。

(i) 膜材比和温度对FAC-Lip稳定时间的影响。采用电导法测定了3种膜材比的FAC-Lip在不同温度下(40, 50, 60℃)电导率随时间的变化,以判断膜材比和温度对FAC-Lip的物理稳定性的影响(图2)。

(ii) 膜材比对凝聚速率的影响。根据图2,以稳定期后 $\lg(X_t - X_\infty)$ 的数据对时间 t 进行线性回归,可得出3种膜材比的FAC-Lip在特定温度下的聚集速度方程(表1)。图2(a)~(c)是对不同膜材比的FAC-Lip的稳定温度(40, 50, 60℃)的考察,从图中可以看出, (a)~(c)有相同的变化趋势:在40和50℃时,起初FAC-Lip的电导率几乎不变,出现一个平台即脂质体的稳定期,随时间增加,电导率值迅速降低;而在60℃时, FAC-Lip的电导率随时间增加一直降低,无稳定期。在温度为40, 50, 60℃下,膜材比为8:1的FAC-Lip稳定时间分别是15, 10, 0 min; 10:1的为25, 15, 0 min; 12:1的为10, 5, 0 min。对比数据发现,随着体系温度的升高,稳定期均逐渐减小,这是由于温

度升高,引起脂质体磷脂膜由胶晶相到液晶相的转变,膜分子间隔加大,流动性和通透性显著增加,从而导致稳定性变差。因此, FAC-Lip脂质体在低温(40, 50℃),即低于相变温度 T_m 时较稳定,而在高温时(60℃)高于 T_m ,不稳定。图2(d)~(f)是在特定温度下,膜材比对FAC-Lip的稳定时间的影响。40℃时,膜材比为8:1, 10:1, 12:1的FAC-Lip的稳定时间分别为15, 25, 10 min; 50℃为10, 15, 5 min; 60℃时均无稳定期。对比数据发现,随着膜材比的增加脂质体稳定时间先增大后减小,由此可知, FAC-Lip的最佳膜材比为10:1,这与我们的前期报道相一致^[14]。

根据表1中 $\lg(X_t - X_\infty) - t$ 关系式的斜率 b_1 ,同时结合式(1),可计算求得 K_{co} (图3)。 K_{co} 的大小可反映分散体系粒子凝聚速率的快慢,其值越大说明凝聚的越快,脂质体越不稳定。由图3可知,3种膜材比的FAC-Lip,其 K_{co} 值均随体系温度升高而增大,在高于相变温度后,体系聚集速率更大,稳定性更差,所以低温有助于贮存脂质体。随温度升高,3种膜材比(8:1, 10:1, 12:1)的FAC-Lip其 K_{co} 值均是先减小后增大,在膜材比为10:1时, K_{co} 值最小,说明此时FAC-Lip的凝聚速率最慢,脂质体最稳定,这与图2得到的结论相一致,即FAC-Lip的最佳膜材比为10:1。

(iii) 膜材比对凝聚活化能的影响。 E_{co} 为分散粒子聚集时所需要克服的能垒,此值越高,分散体系越稳定。根据表1中 $\lg K_{co} - 1/T$ 关系式的斜率 b_2 ,同时结合式(2),可计算出 E_{co} (图4)。如图4所示,随膜材比增加, E_{co} 值先增大后减小,膜材比为10:1时, E_{co} 值最大,即体系粒子聚集所需要克服的能垒最高,体系最稳定。这与图2和3所得结论相一致。

图2 (网络版彩色)不同膜材比8:1(a), 10:1(b), 12:1(c)的FAC-Lip在温度40℃(d), 50℃(e)和60℃(f)下, 电导率随时间的变化
Figure 2 (Color online) The electrical conductivity of FAC-Lip varied with time at different membrane material ratio 8:1 (a), 10:1 (b), 12:1 (c) and temperature 40℃(d), 50℃(e) and 60℃(f)

表1 不同膜材比FAC-Lip在40, 50, 60℃的聚集速度方程

Table 1 Aggregate velocity equation of the different membrane material ratio of FAC-Lip at the temperature of 40, 50 and 60℃

$m_{pc}:m_{cholesterol}^a$	温度(℃)	聚集速度方程	凝聚速率常数
8:1	40	$\lg(X_t-X_\infty)=-9.22\times10^{-4}t+2.68(t>15\text{ min})$	$\lg K_{co}=-1600.53\times1/T+2.44$
	50	$\lg(X_t-X_\infty)=-1.30\times10^{-3}t+2.74(t>10\text{ min})$	
	60	$\lg(X_t-X_\infty)=-1.87\times10^{-3}t+2.83(t>0\text{ min})$	
10:1	40	$\lg(X_t-X_\infty)=-5.33\times10^{-4}t+2.66(t>25\text{ min})$	$\lg K_{co}=-1639.73\times1/T+2.33$
	50	$\lg(X_t-X_\infty)=-7.95\times10^{-4}t+2.72(t>15\text{ min})$	
	60	$\lg(X_t-X_\infty)=-1.10\times10^{-3}t+2.79(t>0\text{ min})$	
12:1	40	$\lg(X_t-X_\infty)=-9.77\times10^{-4}t+2.67(t>10\text{ min})$	$\lg K_{co}=-1577.15\times1/T+2.40$
	50	$\lg(X_t-X_\infty)=-1.46\times10^{-3}t+2.73(t>5\text{ min})$	
	60	$\lg(X_t-X_\infty)=-1.96\times10^{-3}t+2.80(t>0\text{ min})$	

a) $m_{pc}:m_{cholesterol}$ 为卵磷脂与胆固醇的质量比

图3 膜材比对凝聚速率的影响

Figure 3 The influence of membrane material ratio on aggregation rate constant

图4 膜材比对凝聚活化能的影响

Figure 4 The influence of membrane material ratio on coagulation activation energy

2.3 pH对药物 $\lg P_{o/w}$ 和 $\lg P_{lip/w}$ 的影响

为了考察柠檬酸铁与脂质体间的作用力类型,

实验测定了柠檬酸铁在不同pH介质中的油-水分配系数和脂质体-水分配系数. 图5(a)为柠檬酸铁在不同pH缓冲溶液中的油-水分配系数, 从图中可知, $\lg P_{o/w}$ 值随pH的增加而减小, 这是由于在低pH时中性分子(柠檬酸铁)占的比例较大, 随着pH升高柠檬酸铁的离子形式(柠檬酸根)所占比例增多, 中性分子能分配到正辛醇而离子不能分配到正辛醇中, 说明药物与正辛醇间的相互作用为疏水作用. 图5(b)为柠檬酸铁在不同pH介质中的脂质体-水分配系数, 与图5(a)趋势相反, $\lg P_{lip/w}$ 随着pH的增加而增加. 柠檬酸铁与脂质体膜间除疏水作用外, 还有氢键和离子间力等相互作用. 脂质体-水分配系数反映的是多种力的综合作用, 包括疏水作用、氢键、静电作用等. 通过比较图5(a)和(b)的变化趋势可知, 随着pH的增加, $\lg P_{o/w}$ 值减小而 $\lg P_{lip/w}$ 值增大. 这说明柠檬酸铁与磷脂膜的作用力中疏水作用较小, 而其他力(如氢键、静电作用)等占主导, 这与我们的前期结果相一致^[14].

3 结论

本文采用薄膜旋转蒸发法制备了不同膜材比的FAC-Lip脂质体, 并测试其热力学参数(T_m , K_{co} , E_{co})、油-水分配系数($P_{o/w}$)和脂质体-水分配系数($P_{lip/w}$). 结果显示, 随膜材比增大, T_m 值略有降低, 说明胆固醇可影响脂质体的稳定性; K_{co} 呈现出先减小后增大的趋势, 膜材比为10:1时, FAC-Lip的凝聚速率最慢、最稳定; E_{co} 先增大后减小, 膜材比为10:1时, FAC-Lip的稳定性最好. 本文以膜材比为10:1的FAC-Lip为例, 测定了FAC-Lip的 $P_{o/w}$ 和 $P_{lip/w}$ 值, 结果表明, 随着体系pH升高, $\lg P_{o/w}$ 增大, $\lg P_{lip/w}$ 减小, 二者趋势相反, 说明FAC与脂质体间的相互作用力以

图5 柠檬酸铁在不同pH介质中的油-水分配系数 $\lg P_{o/w}$ (a)和脂质体-水分配系数 $\lg P_{lip/w}$ (b)

Figure 5 The *n*-octanol/water coefficients $\lg P_{o/w}$ (a) and the liposome/water coefficients $\lg P_{lip/w}$ (b) of FAC at different pH conditions

氢键和静电作用力为主. 该研究通过判断载药脂质体的稳定性, 有助于指导载药脂质体的制备, 预测药物在体内的释放, 为补铁脂质体制剂的开发提供基础.

参考文献

- 1 Femke A M, Jichael B V H. Anemia, iron deficiency and susceptibility to infections. *J Infect*, 2014, 69: 23–27
- 2 Xia Y, Huang K D, Zhang X Z, et al. The cause of iron deficiency anemia to investigate reasons and study on the community preventive measures (in Chinese). *Guide Chin Med*, 2013, 11: 615 [夏芸, 黄坤丹, 张新征, 等. 缺铁性贫血的病因调查原因及社区预防措施研究. *中国医药指南*, 2013, 11: 615]
- 3 Chaitra G, Prince C, Summit A, et al. Iron microencapsulation with blend of gum Arabic, maltode-xtrin and modified starch using modified solvent evaporation method e Milk fortification. *Food Hydrocoll*, 2015, 43: 622–628
- 4 Yang Z, Luo H J. The development on iron deficiency anemia and iron agents (in Chinese). *Archie's Foreign Med (Health)*, 2006, 33: 90–93 [杨真, 罗海吉. 缺铁性贫血及补铁剂研究进展. *国外医学(卫生学分册)*, 2006, 33: 90–93]
- 5 Chen X, Xiao Y Y, Chen Y N, et al. Preparation and pharmacokinetics of curcumin nanostructured lipid carriers in rats (in Chinese). *J Chin Pharm Univ*, 2012, 43: 412–417 [陈曦, 肖衍宇, 陈祎楠, 等. 姜黄素纳米脂质载体的制备及大鼠体内药代动力学. *中国药科大学学报*, 2012, 43: 412–417]
- 6 David L E. Liposomal delivery of camptothecins. *Pharm Sci Technol Today*, 2000, 3: 205–209
- 7 Li Y, Geng L N, Ge L, et al. Effect of iron liposomes on anemia of inflammation. *Int J Pharm*, 2013, 454: 82–89
- 8 Chen C J, Han D D, Cai C F, et al. An overview of liposome-philization and its future potential. *J Controlled Rel*, 2010, 142: 299–311
- 9 Grit M, Underberg W J M, Crommelin D J A. Hydrolysis of saturated soybean phosphatidyl choline in aqueous liposome dispersions. *J Pharm Sci*, 1993, 82: 362–366
- 10 Liu C, Yan C Y, Xiong F, et al. Study on preparation of breviscapine Liposomes and chemophysical properties (in Chinese). *J Chin Med Mater*, 2014, 37: 1262–1265 [刘春, 闫彩云, 熊非, 等. 灯盏花素脂质体冻干粉制备及性质研究. *中药材*, 2014, 37: 1262–1265]
- 11 Yuan S. The studies on the lecithin and liposome quantitative structure function (in Chinese). Master's Thesis. Beijing: National Institutes for Food and Drug Control, 2011 [袁松. 卵磷脂与脂质体定量结构功能关系研究. 硕士学位论文. 北京: 中国食品药品检定研究院, 2011]
- 12 Lu W G, Chen T T, Wang P Q, et al. Oil-water and liposome-water partition coefficients of Bulleyaconitine A (in Chinese). *Chin J Pharm*, 2008, 39: 591–594 [陆伟根, 陈亭亭, 王培全, 等. 草乌甲素的油-水分配系数和脂质体-水分配系数的研究. *中国医药工业杂志*, 2008, 39: 591–594]
- 13 Zhong H J, Deng Y J, Wang L J, et al. Study on the liposome/water partition coefficient for breviscapine and its application (in Chinese). *J Shenyang Pharm Univ*, 2005, 22: 110–114 [钟海军, 邓英杰, 王丽君, 等. 灯盏花素脂质体/水分配系数的研究与应用. *沈阳药科大学学报*, 2005, 22: 110–114]
- 14 Li N N, Geng L N, Wang L, et al. Determination of iron liposome/water partition coefficients and identification of influencing factors (in Chinese). *Acta Phys Chim Sin*, 2015, 31: 2043–2048 [李妮娜, 耿丽娜, 王琳, 等. 铁脂质体/水分配系数测定及影响因素考察. *物理化学学报*, 2015, 31: 2043–2048]
- 15 Huang C, Mason J T. Geometric packing constraints in egg phosphatidylcholine vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978, 75: 308–310

Membrane material ratio influence to the stability of ferric citrate liposome

YUAN LinLin¹, WANG Lin¹, LI WenXin¹, HAO ZhenFang¹, GENG LiNa¹ & ZHANG JianJun²

¹ College of Chemistry and Material Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China;

² Testing and Analysis Center, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China

Iron is one of the essential trace elements, participating in many biological metabolism processes and playing an important role in maintaining the body's normal activities. Iron deficiency can lead to iron deficiency anemia (IDA). The conventional iron agent such as ferric citrate (FAC) has many disadvantages, such as poor taste, weak stability and low bioavailability. Liposomes are artificial bilayer membranes with similar structures as cellular membranes. They have non-toxic and non-immunogenic properties and can be used as carriers for drugs, plasmids, peptides, proteins, viruses and bacteria. Our previous work has confirmed that the ferric citrate liposomes (FAC-Lip) possessed sustained release time, improved absorption rate and good bioavailability. However, liposomes are unstable thermodynamic systems and are easy to cause the leakage of drugs during the storage process. Therefore, how to obtain the drug loading liposome with high stability is worth to study. In this work, three kinds of ferric citrate liposomes with different membrane material ratios (the mass ratios of lecithin to cholesterol were 8:1, 10:1 and 12:1, respectively) were prepared by the rotary-evaporated film-ultra sonication to investigate the influence of membrane material ratio on the stability of FAC-Lip. The phase transition temperature (T_m), aggregate rate constant (K_{co}) and coagulation activation energy (E_{co}) were measured by electrical conductance method to determine the properties of FAC-Lip. The variety trends of oil/water partition coefficient ($P_{o/w}$) and liposome/water partition coefficient ($P_{lip/w}$) along with pH changes were also measured to determine the types of interaction force between the drug (FAC) and liposome's membrane. Our results showed that, with the increase of membrane material ratio (from 8:1 to 12:1), T_m changed from 53 to 52°C, suggesting that the mass of cholesterol in membrane may influence the stability of liposome; K_{co} decreased firstly and increased subsequently, meaning that FAC-Lip had the slowest aggregation speed at the membrane material ratio of 10:1; E_{co} value was the largest at the membrane material ratio of 10:1, which indicated that membrane material ratio of 10:1 had the best stability. With the pH increasing, $P_{o/w}$ decreased but $P_{lip/w}$ increased, which indicated that the main interaction forces between the drug and the membrane of liposome were hydrogen bonding and electrostatic force, while the hydrophobic interaction was weaker. Our study on evaluating the stability of liposomes through T_m , K_{co} , E_{co} , $P_{o/w}$ and $P_{lip/w}$ may guide the preparation of drug loading liposomes, predict the release property of the drug *in vivo*, and establish the basis for the application of iron liposomes.

ferric citrate liposome, oil/water partition coefficient, liposome/water partition coefficient, phase transition temperature, coagulation activation energy

doi: 10.1360/N972016-00581