

· 药剂 ·

去氢骆驼蓬碱醇质体的制备及处方优化

马亭云, 姜继宗, 张刘红, 程雪梅, 王长虹*
(上海中医药大学 中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室,
上海市复方中药重点实验室, 上海 201203)

[摘要] 目的:制备去氢骆驼蓬碱醇质体并对其处方进行优化,为该药物的后续研究与开发提供参考。方法:采用乙醇注入法制备去氢骆驼蓬碱醇质体,以乙醇体积分数、卵磷脂用量、卵磷脂与胆固醇的用量比为考察因素,以粒径,Zeta 电位和包封率为评价指标,应用三因素五水平星点设计-效应面法对去氢骆驼蓬碱醇质体的处方进行优化,并考察该制剂的初步稳定性。结果:最佳处方为去氢骆驼蓬碱 0.03%, 蛋黄卵磷脂 1.13%, 卵磷脂-胆固醇(41.55:1),乙醇体积分数 28%。制得的醇质体大小均一、圆整、分散均匀,包封率、粒径及 Zeta 电位平均值分别为 79.0%, 124.8 nm, -57.1 mV。结论:去氢骆驼蓬碱醇质体制备工艺简单、处方设计合理、稳定性较高,为进一步探讨该制剂的皮肤给药奠定了基础。

[关键词] 去氢骆驼蓬碱;醇质体;处方;蛋黄卵磷脂;包封率;稳定性;粒径

[中图分类号] R22;R283.6;R289;R284;R94 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2018)08-0034-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180805

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180123.1541.022.html>

[网络出版时间] 2018-01-25 18:31

Preparation and Formula Optimization of Harmine-loaded Ethosomes

MA Ting-yun, JIANG Ji-zong, ZHANG Liu-hong, CHENG Xue-mei, WANG Chang-hong*
(Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory for
Standardization of Chinese Medicines, Ministry of Education, Shanghai Key Laboratory of
Compound Chinese Medicines, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** In order to provide a certain reference value for the follow-up research and development of harmine, harmine-loaded ethosomes were prepared and its formula was optimized. **Method:** Harmine-loaded ethosomes were prepared by ethanol injection method. With the volume fraction of ethanol, the amount of phospholipids and the ratio of phospholipids/cholesterol (P/C) as factors, the particle size, Zeta potential and encapsulation efficiency as evaluation indexes, central composite design-response surface methodology was used to optimize the prescription of harmine-loaded ethosomes. The preliminary stability of the ethosomes was also evaluated. **Result:** The best prescription for harmine-loaded ethosomes were 0.03% of harmine, 1.13% of lecithin, P/C ratio of 41.55:1 and 28% of ethanol volume fraction. The prepared ethosomes were round with uniform size and well dispersed. The encapsulation efficiency, particle size and Zeta potential of harmine-loaded ethosomes were 79.0%, 124.8 nm and -57.1 mV, respectively. **Conclusion:** The preparation process of harmine-loaded ethosomes is simple. The prescription design is reasonable with good stability, which lays the foundation for the further study on the transdermal delivery of harmine-loaded ethosomes.

[Key words] harmine; ethosomes; prescription; egg yolk lecithin; encapsulation efficiency; stability; particle size

[收稿日期] 20171029(004)

[基金项目] 国家自然科学基金-新疆联合基金重点项目(U1130303)

[第一作者] 马亭云, 硕士, 从事中药新制剂与体内过程研究, E-mail: mtyhappy@163.com

[通信作者] *王长虹, 博士, 教授, 从事中药新制剂与体内过程研究, Tel: 021-51322511, E-mail: wchcxm@shutcm.edu.cn

去氢骆驼蓬碱为 β -吡啶类生物碱,是蒺藜科植物骆驼蓬种子的主要成分之一。该生物碱具有抗肿瘤、抗阿尔茨海默病、抗寄生虫、抗氧化、抗炎、止痒、镇痛^[1]等多方面药理作用,但严重的中枢毒副作用^[2-3]限制了其作为全身作用药物研发的空间。去氢骆驼蓬碱相关上市制剂如复方骆驼蓬子软膏、哈医祛风软膏等已被广泛用于抗炎、止痒、镇痛等^[4-6]。但是,如何提高去氢骆驼蓬碱的透皮性能,充分发挥其抗炎、止痒等药理作用,同时避免全身毒副作用,是该药物新型制剂开发的关键所在。

脂质体作为一种经皮给药载体,一直是药学以及化妆品领域研究的热点。然而,传统意义上的脂质体因为粒径较大,不能有效渗透到皮肤深层结构,进而被限制在皮肤表皮外的角质层^[7],在经皮给药系统的应用不甚理想。Touitou 等^[8]首次报道了醇质体,即在脂质体体系中添加高浓度的醇而制备的含醇脂质体。与脂质体相比,醇质体粒径较小、包封率较高。此外,由于小分子醇的加入使其有了更好的柔韧性,可以到达皮肤深层治疗部位。醇质体显著提高了药物透皮速率及皮肤滞留量,具有起效快、作用时间长等优点。处方中的乙醇改变了醇质体表面的荷电性,减少粒子聚集,提高了制剂稳定性。同时,通过醇质体制备的经皮制剂无刺激性、无毒性反应、皮肤耐受性良好^[9-10]。本实验拟制备去氢骆驼蓬碱醇质体,通过星点设计-效应面法优化其处方,从而得到性质稳定、质量可控的局部给药新剂型。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), BT25S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), DZF-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司), Milli-Q 超纯水器和超滤离心管(截留相对分子质量 30 kDa)均购自美国 Millipore 公司, DK-S24 型电热慢温浴锅(上海精宏实验设备有限公司), Zetasizer Nano S90 型高灵敏纳米粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司), RT-10 型多点加热磁力搅拌器(德国 IKA 公司), H-600 型透射电镜(日本日立公司)。

去氢骆驼蓬碱(自制,纯度 98.0%),胆固醇、乙酸铵(国药集团化学试剂有限公司),蛋黄卵磷脂 PL-100M(上海艾韦特医药科技有限公司),水为超纯水,乙酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 去氢骆驼蓬碱的含量测定方法建立

2.1.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×

250 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-乙酸铵缓冲液(准确称取乙酸铵 3.4 g 于适当容器中,加水充分溶解,再移取冰乙酸溶液 3 mL,加水至 500 mL,摇匀,超声脱气,即得)(19:81),检测波长 330 nm,柱温 30 $^{\circ}$ C,流速 1 mL \cdot min⁻¹,进样量 10 μ L^[11]。

2.1.2 去氢骆驼蓬碱储备液的配制 精密称取去氢骆驼蓬碱 20.0 mg,置于 50 mL 量瓶中,加适量甲醇使溶解并稀释到刻度,配成 0.40 g \cdot L⁻¹ 储备液,备用。

2.1.3 线性关系考察 取适量去氢骆驼蓬碱储备液,加入适量甲醇,摇匀、稀释,配制成质量浓度依次为 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 80.0, 100.0 mg \cdot L⁻¹ 的溶液,经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积积分为纵坐标,计算回归方程,得标准曲线方程 $Y = 41.525X - 14.285$ ($r = 1.000$),线性范围 2.5 ~ 100.0 mg \cdot L⁻¹。

2.1.4 专属性考察 分别把适量醇质体与适量空白醇质体移取到适当体积的量瓶中,加入甲醇,超声加热破乳,室温放冷后加甲醇定容并稀释至刻度,过 0.22 μ m 微孔滤膜,分别得到供试品溶液和空白醇质体溶液。取适量去氢骆驼蓬碱储备液,加甲醇稀释,得 80 mg \cdot L⁻¹ 去氢骆驼蓬碱溶液,用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,按 2.1.1 项下色谱条件测定。结果表明空白醇质体对去氢骆驼蓬碱的测定无干扰,提示该方法专属性较好。

2.1.5 精密度考察 精密配制 5.0, 40.0, 80.0 mg \cdot L⁻¹ 去氢骆驼蓬碱溶液,分别按 2.1.1 项下色谱条件连续测定 6 次,计算日内精密度;连续 3 d 进样,计算日间精密度。结果高、中、低 3 个质量浓度的日内、日间精密度的 RSD 均 < 2%,表明去氢骆驼蓬碱日内精密度与日间精密度良好。

2.1.6 加样回收率考察 精密移取空白醇质体 10 mL 于 100 mL 量瓶中,分别精密移取去氢骆驼蓬碱储备液 5.0, 10.0, 15.0 mL 于 100 mL 量瓶中,各平行 3 份,加甲醇适量,超声 5 min 并加热破乳,室温放冷后加甲醇定容至刻度,经 0.22 μ m 滤膜滤过,按 2.1.1 项下色谱条件测定。结果表明去氢骆驼蓬碱低、中、高 3 个质量浓度样品的加样回收率分别为 101.35%, 100.11%, 103.89%, RSD 依次为 1.5%, 0.1%, 0.1%, 表明该方法准确度较高。

2.2 去氢骆驼蓬碱醇质体的制备 前期对醇质体的制备方法和载药量进行了考察,结果表明载药量

0.03% 时,适合采用乙醇注入法进行醇质体的制备。取处方量的蛋黄卵磷脂、胆固醇、去氢骆驼蓬碱及乙醇于西林瓶中,密封,于 60 °C 使其完全溶解,作为有机相。将水(水相)密封于西林瓶中,注射器与西林瓶密封连接(防止注入时乙醇挥发),置于磁力搅拌器上,磁力搅拌器的转速设定 700 r·min⁻¹,温度控制在(50±2) °C。将已经溶解均匀的有机相用注射器注入到水相中,注意需要缓慢匀速。搅拌后放冷,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,4 °C 密封保存,备用。

2.3 包封率的测定 采用超滤离心法测定醇质体的包封率。准确移取醇质体样品 500 μL 于超滤管中,于转速 6 000 r·min⁻¹ 离心 30 min,取出下层滤液,适当稀释,置于液相小瓶中,按 2.1.1 项下色谱条件测定,记为游离药物的质量($W_{游}$)。取不同醇质体制剂 1 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加入一定量甲醇破乳,加热,超声,当溶液澄清透明时,冷却后定容,取适量过 0.45 μm 微孔滤膜,按 2.1.1 项下色谱条件测定,记为总药物的质量($W_{总}$)。按包封率 = ($W_{总} - W_{游}$)/ $W_{总}$ × 100% 计算。

2.4 粒径与 Zeta 电位的测定 取一定量去氢骆驼蓬碱醇质体,适当倍数稀释,用高灵敏纳米粒度分析仪测定粒径与 Zeta 电位。

2.5 星点设计-效应面法优化处方

2.5.1 试验设计 采用 Design-Expert 试验设计软件,运用星点设计方法,选择乙醇体积分数、卵磷脂用量、卵磷脂-胆固醇为考察因素,以粒径,Zeta 电位和包封率为评价指标,星点设计为三因素五水平进行优化。代码 α 取 1.732,试验安排及结果见表 1。精密称取去氢骆驼蓬碱 3 mg,共 20 份,根据处方安排制备去氢骆驼蓬碱醇质体,测定不同处方制剂的平均粒径,Zeta 电位及包封率。选 3 个因素中任意 2 个自变量作效应面三维图及等高线图,判断选取的因素的最优取值范围,以得出最优处方,见图 1。

由图 1 可知,随着卵磷脂质量分数的增加,醇质体的粒径也相应增大;同时,粒径随着乙醇体积分数的增加而减小。而处方中卵磷脂与胆固醇的比例对醇质体粒径影响不大,表明胆固醇不是影响醇质体粒径大小的关键因素。随着乙醇体积分数的增加,醇质体 Zeta 电位的绝对值先升高后降低,而卵磷脂的含量对 Zeta 电位影响不显著。当卵磷脂-胆固醇的比例降低时,体系 Zeta 电位略微降低。有研究表明当体系的绝对 Zeta 电位 > 15 mV 时,可避免醇质体凝聚,即可维持体系稳定^[12]。所以控制好处方中乙醇体积分数及胆固醇用量有利于制剂在储存过程

表 1 去氢骆驼蓬碱醇质体处方优选的星点试验分析

Table 1 Analysis of central composite design for optimizing formula of harmine-loaded ethosomes

| No. | X_1 乙醇 体积分数 /% | X_2 卵磷脂 用量/% | X_3 卵磷脂- 胆固醇 | 粒径 (Y_1) /nm | Zeta 电位(Y_2) /mV | 包封率 (Y_3) /% |
|-----|------------------------|----------------------|----------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|
| 1 | 24.23 | 1.13 | 18.45:1 | 140.5 | -41.6 | 77.0 |
| 2 | 35.77 | 1.13 | 18.45:1 | 103.8 | -56.4 | 43.6 |
| 3 | 24.23 | 2.87 | 18.45:1 | 226.7 | -47.6 | 85.6 |
| 4 | 35.77 | 2.87 | 18.45:1 | 144.8 | -57.7 | 57.9 |
| 5 | 24.23 | 1.13 | 41.55:1 | 133.1 | -49.8 | 82.6 |
| 6 | 35.77 | 1.13 | 41.55:1 | 101.9 | -49.5 | 44.3 |
| 7 | 24.23 | 2.87 | 41.55:1 | 224.1 | -43.1 | 79.5 |
| 8 | 35.77 | 2.87 | 41.55:1 | 148.3 | -42.2 | 60.3 |
| 9 | 20.00 | 2.00 | 30.00:1 | 241.4 | -33.8 | 87.5 |
| 10 | 40.00 | 2.00 | 30.00:1 | 125.9 | -51.3 | 42.6 |
| 11 | 30.00 | 0.50 | 30.00:1 | 81.4 | -56.9 | 42.5 |
| 12 | 30.00 | 3.50 | 30.00:1 | 172.7 | -50.2 | 64.6 |
| 13 | 30.00 | 2.00 | 10.00:1 | 149.5 | -58.8 | 74.5 |
| 14 | 30.00 | 2.00 | 50.00:1 | 139.8 | -51.8 | 72.5 |
| 15 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 140.8 | -52.8 | 75.2 |
| 16 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 145.6 | -50.4 | 75.4 |
| 17 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 143.7 | -50.4 | 76.8 |
| 18 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 148.0 | -50.8 | 78.2 |
| 19 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 147.3 | -56.5 | 74.1 |
| 20 | 30.00 | 2.00 | 30.00:1 | 157.9 | -55.1 | 73.2 |

中的稳定性。影响醇质体包封率的主要因素为卵磷脂用量和乙醇体积分数。随着乙醇体积分数的增加,其包封率逐渐降低,而随着卵磷脂用量的增加,其包封率呈先增大后减小的趋势。这是由于在制备醇质体的过程中,随着卵磷脂的浓度增大,卵磷脂可以包载更多的药物,故包封率增大;当卵磷脂浓度过高时会形成多层结构,导致稳定性变差,在静置后出现沉淀,导致包封率降低。

2.5.2 模型拟合 运用 Design-Expert 8.0.6 软件,以包封率对自变量进行多元线性回归和二项式拟合,选择有较大复相关系数(r)的拟合方程,并以方程的 $P < 0.05$ 代表具有显著性差异的标准进行方程优化。数学模型方程有多元线性拟合 $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3$ 和二项式拟合 $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1X_2 + b_5X_1X_3 + b_6X_2X_3 + b_7X_1^2 + b_8X_2^2 + b_9X_3^2$ 。结果多元线性拟合方程分别为 $Y_1 = 243.769 - 5.267X_1 + X_2 - 0.155X_3$ ($r = 0.910$), $Y_2 =$

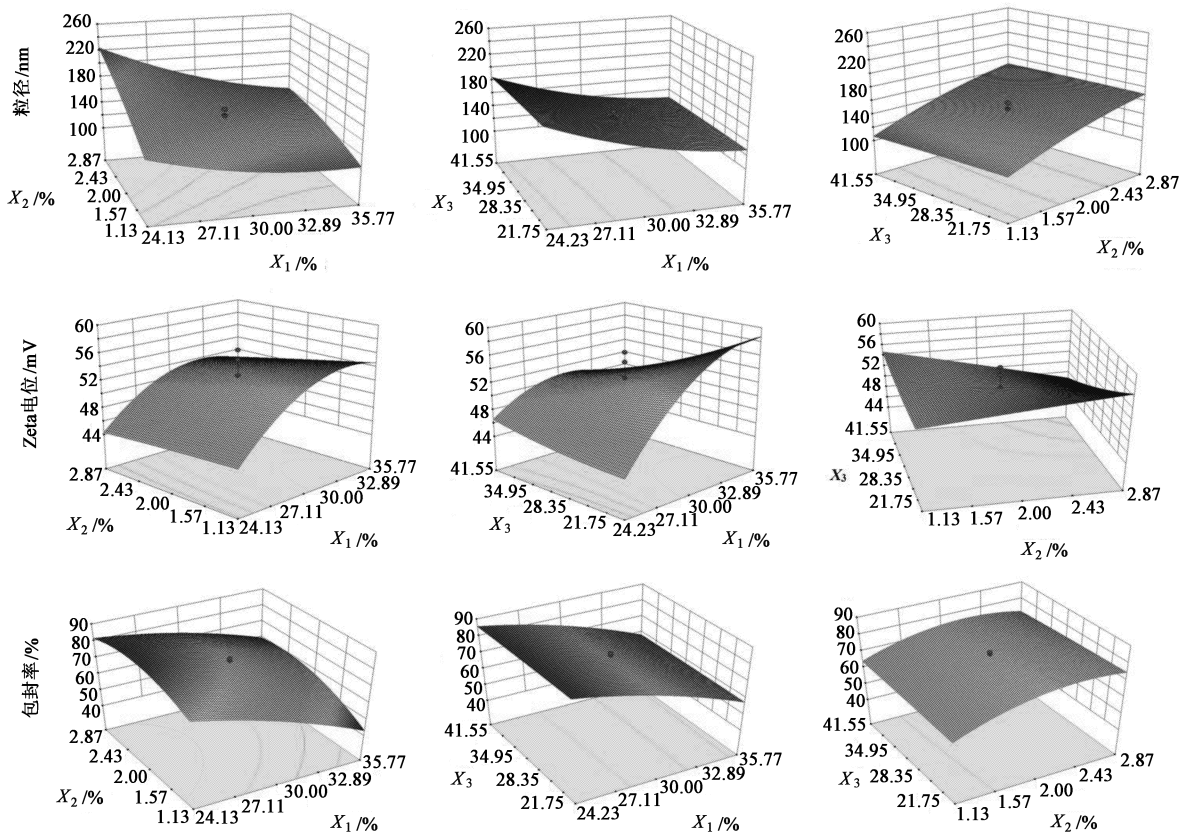


图 1 各因素对去氢骆驼蓬碱醇质体处方工艺影响的效应面

Fig.1 Response surfaces of effect of different factors on prescription process of harmine-loaded ethosomes

$39.029 + 0.668X_1 - 1.510X_2 - 0.191X_3$ ($r = 0.632$), $Y_3 = 129.214 - 2.430X_1 + 6.112X_2 - 5.170 \times 10^{-3}X_3$ ($r = 0.870$); 二项式拟合方程分别为 $Y_1 = 427.254 - 23.679X_1 + 133.124X_2 - 0.769X_3 - 2.245X_1X_2 + 0.0216X_1X_3 + 0.126X_2X_3 + 0.371X_1^2 - 8.668X_2^2 - 4.774 \times 10^{-3}X_3^2$ ($r = 0.993$), $Y_2 = -124.887 + 9.149X_1 + 10.892X_2 + 1.584X_3 - 0.132X_1X_2 - 0.0489X_1X_3 - 0.266X_2X_3 - 0.112X_1^2 - 0.110X_2^2 + 3.756 \times 10^{-3}X_3^2$ ($r = 0.953$), $Y_3 = 52.615 + 1.563X_1 + 27.792X_2 + 0.135X_3 + 0.623X_1X_2 + 6.881 \times 10^{-3}X_1X_3 - 0.125X_2X_3 - 0.0907X_1^2 - 9.155X_2^2 - 1.616 \times 10^{-3}X_3^2$ ($r = 0.990$).

从二项式方程与多元线性拟合结果可知, 3 个因变量的二次方程拟合结果比线性拟合方程的 r 要大, 说明二次方程拟合度更高。统计分析发现各因素的失拟项均 > 0.05 , 表明拟合的方程具有良好的准确性, 得到的数据真实可靠, 且每个因素的每个 r 均 > 0.8 ^[13]。经优化后最终筛选处方为 $X_1 = 28\%$, $X_2 = 1.13\%$, $X_3 = 41.55:1$ 。

2.5.3 验证试验 称取去氢骆驼蓬碱 3 mg, 按优

化的工艺条件制备 3 批醇质体, 结果计算得包封率、粒径及 Zeta 电位分别为 $(79.0 \pm 6.3)\%$, (124.8 ± 9.4) nm, (-57.1 ± 1.5) mV, 与相应预测值 $(72.6\%, 123.5$ nm, -53.3 mV) 的偏差分别为 8.8%, 1.1% 和 7.1%, 预测值与实测值的偏差较小, 说明所建立的数学模型预测性较好。最优处方的醇质体电镜图与粒径分布图见图 2。结果显示所制备的醇质体呈类球状囊泡结构, 部分可见指纹状结构, 粒径在 100 nm 左右, 分布较为均一。

2.6 去氢骆驼蓬碱醇质体的初步稳定性考察 将按最优处方制备的去氢骆驼蓬碱醇质体于 4 ℃ 避光放置 30 d, 分别从粒径、Zeta 电位和包封率方面初步考察该制剂的稳定性, 见表 2。结果发现所制备的醇质体粒径和 Zeta 电位、包封率放置 30 d 内无明显变化, 表明在 4 ℃ 且密封的环境中, 去氢骆驼蓬碱醇质体在 30 d 内的稳定性良好。

3 讨论

在经皮给药系统中, 与传统脂质体相比, 醇质体具有高包封率和优良的透皮性能等优点。由于小分子醇的存在, 使其粒径减小的同时, 增加了柔性与变形性, 可以透过排列紊乱的角质细胞间脂质, 携带药

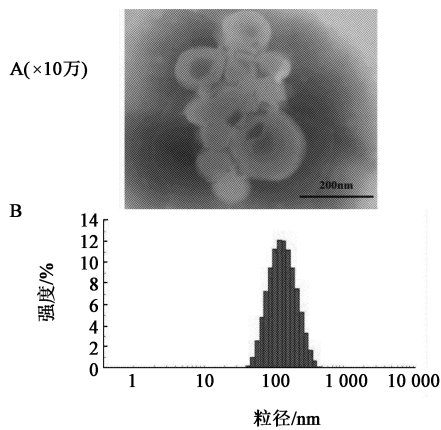


图 2 去氢骆驼蓬碱醇质体的透射电镜 (A) 与粒径分布 (B)
Fig. 2 Transmission electron microscope (A) and particle distribution (B) of harmine-loaded ethosomes

表 2 去氢骆驼蓬碱醇质体的初步稳定性考察
Table 2 Preliminary stability of harmine-loaded ethosomes

| 放置时间 /d | 平均粒径 /nm | Zeta 电位 /mV | 包封率 /% |
|---------|---------------|-------------|--------------|
| 1 | 119.17 ± 2.50 | -50.2 ± 0.5 | 85.75 ± 2.51 |
| 30 | 124.50 ± 1.71 | -47.9 ± 2.0 | 83.18 ± 0.37 |

物较好地透过皮肤屏障,从而更加有效地发挥药物治疗作用。经过处方优化所制去氢骆驼蓬碱醇质体的粒径小,这也易于药物透过皮肤角质层,到达皮肤深处,进而发挥药效。同时,该醇质体的 Zeta 电位绝对值较高,表明其具有一定的稳定性,这为该制剂的实际应用奠定了良好的基础。

文献报道中常用的卵磷脂有蛋黄卵磷脂、大豆磷脂及氢化大豆磷脂^[14-16]。预试验中选用大豆卵磷脂、氢化大豆磷脂及高纯度蛋黄卵磷脂作为载体材料,结果均出现黄色去氢骆驼蓬碱晶体析出,仅蛋黄卵磷脂 PL-100M 静置后未出现析出现象,原因可能是此类生物碱与不同磷脂亲和力不同,这与化合物极性及相关。本文还考察了不同的包封率测定方法,包括离心法、透析法、反透析法^[17]及超滤离心法^[18],结果发现上述方法测得的包封率非常低。可能是因为这些方法均会破坏所制醇质体的结构,导致药物会从醇质体中游离。其中离心法在较高的离心力下,不能将游离药物与醇质体分离;透析法会破坏所制醇质体的结构,导致药物游离,包封率在透析开始时迅速降低;而超滤离心法可快速有效的将醇质体与游离药物分离。在前期实验中,游离去氢骆驼蓬碱可 100% 透过超滤膜(截留相对分子质量 30 kDa)。表明超滤离心法对去氢骆驼蓬碱的

吸附作用小,测量的包封率较为准确,相比其他包封率测定方法,这大大缩短了醇质体包封率测定的时间,具有快捷、稳定等优点。

本文采用星点设计-效应面法优选去氢骆驼蓬碱醇质体的处方工艺^[19],通过相应的数学模型拟合对应的三维图,优化考察因素,从比较直观的效应面选取期望的区域,从而选取期望的自变量取值范围,本实验中二项式模型拟合的 r 均 >0.9 ,模型可信度非常高,通过处方验证也确定了所建数学模型具有良好的预测性。所得最优处方工艺的包封率较高、粒径较小、稳定性较强、重复性好。由于去氢骆驼蓬碱水溶性差、生物利用度低,并且该药物具有一定的中枢神经毒性^[1],将其纳米化制备成醇质体作为外用制剂,既能增加药物的吸收,又能避免神经毒性等毒副作用,这与去氢骆驼蓬碱性质相似的其他药物的应用提供了制剂基础。

[参考文献]

[1] LI S P, CHENG X M, WANG C H. A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the genus *Peganum* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 203: 127-162.
 [2] Aday M H. Embryotoxicity of harmaline and harmalol hydrochloride on pregnant rats [J]. *J Mater Environ Sci*, 2014, 5(1): 127-132.
 [3] Louis E D, JIANG W, Gerbin M, et al. Relationship between blood harmine and harmine concentrations in familial essential tremor, sporadic essential tremor and controls [J]. *Neurotoxicology*, 2010, 31(6): 674-679.
 [4] 曾灿丽, 马桂芝, 滕亮, 等. 骆驼蓬生物碱对银屑病模型小鼠的作用 [J]. *中成药*, 2013, 35(2): 219-225.
 [5] 李宇晶, 陈蔚如, 王根厚. 去氢骆驼蓬碱软膏对小鼠上皮细胞有丝分裂及表皮角化的影响 [J]. *新疆医科大学学报*, 2000, 23(1): 8-9.
 [6] 丁志荣, 滕亮, 戴秀勇, 等. 盐酸去氢骆驼蓬碱乳膏处方筛选及其止痒药效学研究 [J]. *中成药*, 2010, 32(5): 753-757.
 [7] Pandey V, Golhan D, Shukla R. Ethosomes: versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(8): 988-1002.
 [8] Touitou E, Godin B, Dayan N, et al. Intracellular delivery mediated by an ethosomal carrier [J]. *Biomaterials*, 2001, 22(22): 3053-3059.
 [9] Martins S, Sarmiento B, Ferreira D C, et al. Lipid-based colloidal carriers for peptide and protein delivery: liposomes versus lipid nanoparticles [J]. *Int J*

- Nanomedicine, 2007, 2(4):595-607.
- [10] Dubey V, Mishra D, Jain N K. Melatonin loaded ethanolic liposomes: physicochemical characterization and enhanced transdermal delivery [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 67(2):398-405.
- [11] 杨雅迪,程雪梅,王长虹,等. 维药骆驼蓬子药材质量标准研究[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(2):106-112.
- [12] FANG J Y, HWANG T L, HUANG Y L, et al. Enhancement of the transdermal delivery of catechins by liposomes incorporating anionic surfactants and ethanol [J]. Int J Pharm, 2006, 310(1/2):131-138.
- [13] Inqvarsson P T, YANG M S, Mulvad H. Engineering of an inhalable DDA/TDB liposomal adjuvant: a quality-by-design approach towards optimization of the spray drying process [J]. Pharm Res, 2013, 30(11):2772-2784.
- [14] 黄苏苏,谢波,凌家俊,等. 二氢吡吩 e6 磁性声敏纳米脂质体的制备及质量评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(8):21-26.
- [15] Jain S, Tiwary A K, Sapra B, et al. Formulation and evaluation of ethosomes for transdermal delivery of lamivudine [J]. AAPS PharmSciTech, 2007, 8(4):E111.
- [16] Sinico C, Manconi M, Peppi M, et al. Liposomes as carriers for demal delivery of tretinoin; *in vitro* evaluation of drug permeation and vesicle-skin interaction [J]. J Control Release, 2005, 103(1):123-136.
- [17] 钟萌,尹华峰,滕永真,等. 反透析法测定阿奇霉素囊泡的包封率 [J]. 光谱实验室, 2012, 29(5):2940-2943.
- [18] 吕青志,李珂珂,张晓帆,等. 醋酸泼尼松龙醇质体药物含量及包封率的测定 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3):498-502.
- [19] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用 [J]. 国外医学·药学分册, 2000, 27(5):292-298.

[责任编辑 刘德文]