

· 制药与工艺 ·

# PLGA-克班宁纳米粒的制备、表征及体外释药规律分析

程欣<sup>1</sup>, 孔淑君<sup>2</sup>, 王辉<sup>1</sup>, 黄秋艳<sup>1</sup>, 汪红梅<sup>1</sup>, 马云淑<sup>1\*</sup>

(1. 云南中医学院 中药学院, 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 昆明 650500;

2. 迪沙药业集团有限公司, 山东 威海 264205)

**[摘要]** **目的:**制备并表征聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)-克班宁纳米粒(PLGA-Cre-NPs),考察其体外释放特性,为克班宁的体内作用时间延长、毒性降低提供参考。**方法:**以PLGA为载体,采用乳化溶剂扩散法制备PLGA-Cre-NPs。以包封率、粒径、多分散指数(PDI)为评价指标,通过星点设计-效应面法优选PLGA-Cre-NPs的制备工艺。利用膜透析法考察PLGA-Cre-NPs的体外释药规律。**结果:**PLGA-Cre-NPs的最佳制备工艺为有机相与水相体积比(3:10),丙酮-无水乙醇(8:2),PLGA投入量90 mg。PLGA-Cre-NPs的包封率(84.69±2.54)%,粒径(155.3±14.2) nm, PDI=0.095±0.018,扫描电镜显示其呈规则球形结构。PLGA-Cre-NPs体外释放包括速释和缓释2个阶段,0~24 h符合Weibull方程,24~168 h符合Higuchi方程;半衰期18.06 h,168 h时累计释放率达78.77%。**结论:**优选的工艺条件稳定可行。制得的PLGA-Cre-NPs包封率较高、粒径均匀,有望制备成缓释制剂。

**[关键词]** 克班宁; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 纳米粒; 星点设计-效应面法; 缓释制剂; 体外释药性能; 乳化溶剂扩散法

**[中图分类号]** R22;R289;R283.6;R284;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)09-0009-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20180901

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180214.1409.002.html>

**[网络出版时间]** 2018-02-15 14:38

## Preparation and Characterization of PLGA-crebanine Nanoparticles and Analysis of Its *in Vitro* Release

CHENG Xin<sup>1</sup>, KONG Shu-jun<sup>2</sup>, WANG Hui<sup>1</sup>, HUANG Qiu-yan<sup>1</sup>, WANG Hong-mei<sup>1</sup>, MA Yun-shu<sup>1\*</sup>

(1. Yunnan Key Laboratory of Dai and Yi Medicines, College of Pharmaceutical Sciences, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Disha Pharmaceutical Group Co. Ltd., Weihai 264205, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare and characterize poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) -crebanine nanoparticles (PLGA-Cre-NPs), and evaluate its *in vitro* release. **Method:** PLGA-Cre-NPs was prepared by emulsion-solvent diffusion method with PLGA as carrier material. Central composite design-response surface methodology was applied to optimize the preparation procedure of the nanoparticles based on the evaluation indexes of encapsulation rate, particle size and polydispersity index (PDI). The *in vitro* release kinetics of the nanoparticles was investigated by dynamic dialysis system. **Result:** The optimized preparation procedure was as follows; volume of organic phase-aqueous phase of 3:10, acetone-ethanol (8:2), PLGA amount of 90 mg. The encapsulation rate of PLGA-Cre-NPs was (84.69±2.54)% with the particle size of (155.3±14.2) nm and PDI of 0.095±0.018, and it showed a regular spherical structure by scanning electron microscopy. Meanwhile, the

**[收稿日期]** 20171010(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260651,81673682);云南省科技厅-云南中医学院应用基础研究联合专项(2015FB205-003,2017FF117-017);云南省重点实验室培育计划项目(2017DG006)

**[第一作者]** 程欣,博士,讲师,从事纳米医药、药物新剂型研究,E-mail:chengxin920@126.com

**[通信作者]** \*马云淑,博士,教授,硕士生导师,从事药剂学、生物药剂学与药物动力学研究,E-mail:yunshuma2@126.com

release profile of PLGA-Cre-NPs could be well described by two phase dynamic equation, 0-24 h was closer to Weibull equation, 24-168 h was closer to Higuchi equation, and its half life ( $t_{1/2}$ ) was 18.06 h, the cumulative release rate was 78.77% at 168 h. **Conclusion:** PLGA-Cre-NPs has high encapsulation rate and uniform size, which will be expected to become a sustained-release preparation.

[**Key words**] crebanine; poly (lactic-co-glycolic acid); nanoparticles; central composite design-response surface methodology; sustained-release preparation; *in vitro* release; emulsion-solvent diffusion method

克班宁(Cre)是一种从云南地不容块根中提取的异喹啉类阿朴菲型生物碱,具有多种生理活性,尤其对多种实验性心律失常具有较强的对抗效果,且作用迅速<sup>[1]</sup>。克班宁注射液在家兔体内的药动学数据显示<sup>[2]</sup>,克班宁半衰期较短,在血液及组织中消除迅速,分布相的生物半衰期( $3.25 \pm 0.22$ ) min,消除相的生物半衰期( $36.67 \pm 5.52$ ) min,而且其毒性较大、治疗指数较小、水溶性较差,这些均影响了克班宁的成药性。本课题组前期研究将克班宁制备成脂质体<sup>[3-4]</sup>,虽然包封率较高,但磷脂类材料容易聚集,甚至发生自身氧化现象,进而影响其稳定性及后期使用。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)是一种生物可降解的缓控释高分子材料,降解产物为乳酸和羟基乙酸,在医药和生物材料中应用时毒副作用较小且稳定性好<sup>[5]</sup>,适用于包载脂溶性较强的药物<sup>[6]</sup>。星点设计-效应面法是一种既可以进行线性模拟又可以进行非线性模拟的设计方法<sup>[7]</sup>,近年来常被药学工作者用于优化制剂处方工艺,是一种集数学和统计学于一体、可减少实验次数、精度较高的实验设计方法<sup>[8]</sup>。本实验选择 PLGA 为载体,采用乳化溶剂扩散法制备 PLGA-克班宁纳米粒(PLGA-Cre-NPs),以包封率、粒径、多分散指数为评价指标,通过星点设计-效应面法优化其制备工艺条件,并对该制剂的形貌进行表征,采用膜透析法考察 PLGA-Cre-NPs 的体外释药规律,拟合体外释放曲线的药动学方程,为制备稳定的克班宁缓释制剂提供参考。

## 1 材料

1260 Infinity 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), BT25S 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司], HJ-4B 型多头磁力加热搅拌器(常州国华电器有限公司), WZ-50C6 型微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司), WINNER-801 型纳米激光粒度仪(济南微纳颗粒技术有限公司), MS2000 型激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司), ST2100 型 pH 计[奥豪斯仪器(上海)有限公司], Quanta 200 型扫描电镜(FEI 公司), RCZ-1A 型

溶出实验仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

克班宁(自制,纯度 99.2%,提取自云南地不容 *Stephania yunnanensis* 的块根),葡聚糖 T-70 (Biotopped 公司,截留相对分子质量 70 kDa),聚山梨酯-80(tween-80,国药集团化学试剂有限公司,批号 20141123),聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA,济南岱罡生物科技有限公司,截留相对分子质量 20 kDa,批号 20140921),普朗尼克 F68 (Pluronic F68,德国 BASF 公司,批号 20140319),透析袋(Biosharp 公司,截留相对分子质量 14 kDa,批号 20141203),水为超纯水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

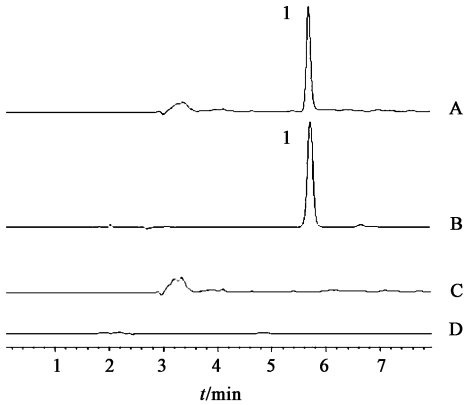
**2.1 克班宁纳米粒的制备** 采用乳化溶剂扩散法制备克班宁纳米粒。精密称取一定量的 tween-80 和 Pluronic F68 作为乳化剂,二者的质量分数均为 1.5%,0.1% 葡聚糖 T-70 作为附加剂,加水配成一定浓度的溶液,在磁力搅拌作用下混合均匀,氢氧化钠调节 pH 9,作为水相,备用;精密称取克班宁 15 mg 和一定量 PLGA,溶解于丙酮-无水乙醇(8:2)混合溶剂中,在磁力搅拌作用下混合均匀,作为油相,备用;将油相在搅拌作用下用微量注射泵快速滴加至水相中,磁力搅拌过夜,除去有机溶剂,盐酸调节 pH 7,即得 PLGA-克班宁纳米粒(PLGA-Cre-NPs)混悬液。

### 2.2 克班宁体外分析方法的建立

**2.2.1 色谱条件** Thermo Hypersil BDS  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相甲醇-0.3% 三乙胺溶液(81:19),流速设定 1 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 280 nm,柱温 30  $^{\circ}$ C,进样量 10  $\mu$ L。

**2.2.2 标准曲线的制备** 精密称取克班宁 10 mg,加流动相溶解并定容至 100 mL,得 100 mg · L<sup>-1</sup> 储备液。精密吸取该储备液适量,加流动相稀释不同倍数,按 2.2.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 35.097X + 2.6583$  ( $R^2 = 0.9999$ ),结果显示克班宁在 0.2 ~ 30.0 mg · L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.2.3 HPLC 可行性考察** 为防止空白纳米制剂对游离药物测定有干扰,分别制备 PLGA-Cre-NPs, PLGA 空白纳米粒、空白透析液与克班宁对照品,按 2.2.1 项下色谱条件测定,结果发现 PLGA-Cre-NPs 中克班宁的出峰时间与对照品基本一致,峰型对称性较好,分离度 > 1.5,拖尾因子在 0.95 ~ 1.05,且 PLGA 空白纳米粒和空白透析液在相同位置无杂峰干扰;理论板数以克班宁计 > 8 000,见图 1。结果表明此测试方法稳定可行。



A. 供试品; B. 对照品; C. PLGA 空白纳米粒; D. 空白透析液; 1. 克班宁

图 1 PLGA-Cre-NPs 的 HPLC

Fig. 1 HPLC of PLGA-Cre-NPs

**2.3 包封率与载药量的测定** 通过透析法分离游离克班宁。精密量取 PLGA-Cre-NPs 混悬液 2 mL 于透析袋内,悬置于盛有生理盐水(含 1% tween-80)透析液 100 mL 的具塞锥形瓶中,室温下恒速磁力搅拌(100 r·min<sup>-1</sup>)4 h,取样,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,得含游离药物的待测液。按 2.2 项下方法测定游离克班宁质量浓度(C),PLGA-Cre-NPs 混悬液总体积记为 V,则游离药物量(W<sub>游离</sub>) = 51C × V,制备时加入的药物量记为 W<sub>投入</sub>,载药纳米粒的总质量记为 W<sub>NP</sub>,分别按 ER = (W<sub>投入</sub> - W<sub>游离</sub>)/W<sub>投入</sub> × 100% 和 DL = (W<sub>投入</sub> - W<sub>游离</sub>)/W<sub>NP</sub> × 100% 计算包封率(ER)和载药量(DL)。

**2.4 星点设计-效应面法优化处方**<sup>[8-9]</sup> 根据单因素试验及预试验的结果,选择对纳米粒制备影响较大的 3 个因素为自变量,即 PLGA 投入量、有机相与水相的体积比、丙酮占有有机相(无水乙醇 + 丙酮)中的比例,以 PLGA-Cre-NPs 的多分散指数(PDI, Y<sub>1</sub>), ER(Y<sub>2</sub>)和粒径(Y<sub>3</sub>)为评价指标,采用三因素五水平效应面法进行试验设计,试验安排及结果见表 1。根据试验结果,应用 Design-Expert® 8.0.6 软件进行二次多项式逐步回归拟合,得 3 个评价指标的回

归方程分别为  $Y_1 = 8.02 - 0.07X_1 - 13.21X_2 - 0.13X_3 + 0.17X_1X_2 + 7.33 \times 10^{-4}X_1X_3 + 0.09X_2X_3 + 5.68 \times 10^{-5}X_1^2 + 10.16X_2^2 + 5.99 \times 10^{-4}X_3^2 - 2.13 \times 10^{-3}X_1X_2X_3$  ( $R_1^2 = 0.9543$ ),  $Y_2 = -46.50 - 0.07X_1 - 409.34X_2 + 3.61X_3 + 3.39X_1X_2 + 2.21 \times 10^{-3}X_1X_3 + 3.16X_2X_3 + 2.04 \times 10^{-4}X_1^2 + 220.34X_2^2 - 0.021X_3^2 - 0.05X_1X_2X_3$  ( $R_2^2 = 0.9332$ ),  $Y_3 = 2234.28 - 16.06X_1 - 3176.25X_2 - 30.16X_3 + 20.07X_1X_2 + 0.17X_1X_3 + 18.71X_2X_3 + 0.029X_1^2 + 3666.13X_2^2 + 0.12X_3^2 - 0.37X_1X_2X_3$  ( $R_3^2 = 0.9765$ )。

表 1 PLGA-Cre-NPs 处方优选的星点试验分析

Table 1 Central composite test analysis of formulation of PLGA-Cre-NPs

No.	X <sub>1</sub> PLGA 投入量 /mg	X <sub>2</sub> 有机相与水相的体积比	X <sub>3</sub> 丙酮体积分数 /%	PDI (Y <sub>1</sub> )	ER (Y <sub>2</sub> ) /%	粒径 (Y <sub>3</sub> ) /nm
1	90.00	0.30	80.00	0.021	85.3	149.2
2	120.00	0.20	90.00	0.493	92.7	334.0
3	60.00	0.20	90.00	0.274	91.2	218.6
4	120.00	0.40	70.00	0.371	85.2	193.2
5	60.00	0.40	70.00	0.339	73.3	263.3
6	90.00	0.30	80.00	0.033	86.3	144.6
7	90.00	0.30	80.00	0.042	81.1	157.9
8	60.00	0.40	90.00	0.189	83.3	200.0
9	90.00	0.30	80.00	0.021	82.1	157.0
10	120.00	0.40	90.00	0.089	76.7	157.4
11	60.00	0.20	70.00	0.285	82.5	268.2
12	120.00	0.20	70.00	0.138	91.5	267.5
13	90.00	0.30	80.00	0.022	86.9	144.7
14	90.00	0.13	80.00	0.180	92.5	243.2
15	90.00	0.47	80.00	0.272	84.0	192.6
16	90.00	0.30	96.82	0.244	80.4	180.7
17	90.00	0.30	63.18	0.118	76.2	170.8
18	39.55	0.30	80.00	0.190	79.3	229.3
19	140.45	0.30	80.00	0.113	90.4	202.0
20	90.00	0.30	80.00	0.030	87.50	152.6

一般情况下,粒径 < 150 nm 的纳米粒可以分布于全身各个器官,并能透过血脑屏障,且能起到缓释的效果<sup>[10]</sup>;但粒径过小,细胞毒性可能增大<sup>[11]</sup>。PDI 越小,粒径分布范围越窄,药物含量均匀度越好,一般均匀稳定的纳米粒 PDI < 0.2<sup>[12]</sup>。根据各指标的拟合方程,固定 1 个因素水平,采用 Design-

Expert® 8.0.6 软件分别绘制各评价指标与另外 2 个考察因素的三维曲面关系图,见图 2。根据对三维曲面关系图的分析,预测各因素的最佳取值点,见表 2。结果得到 PLGA-Cre-NPs 的最优处方为  $X_1 = 90 \text{ mg}$ ,  $X_2 = 0.3$ ,  $X_3 = 80\%$ 。根据该优化处方制备 5 批样品,结果包封率 ( $84.69 \pm 2.54$ )%,载药量

( $12.10 \pm 0.36$ )%,粒径 ( $155.3 \pm 14.2$ ) nm,与预测值(包封率 83.27%,粒径 150.2 nm)比较的偏差均  $< 5\%$ 。实测  $\text{PDI} = 0.095 \pm 0.018$ ,虽然与预期值(0.042)相比较偏差较大,但两值均  $< 0.2$ ,仍然具有单分散特点。说明拟合方程所建立的模型具有很好的预测性,工艺稳定可行。

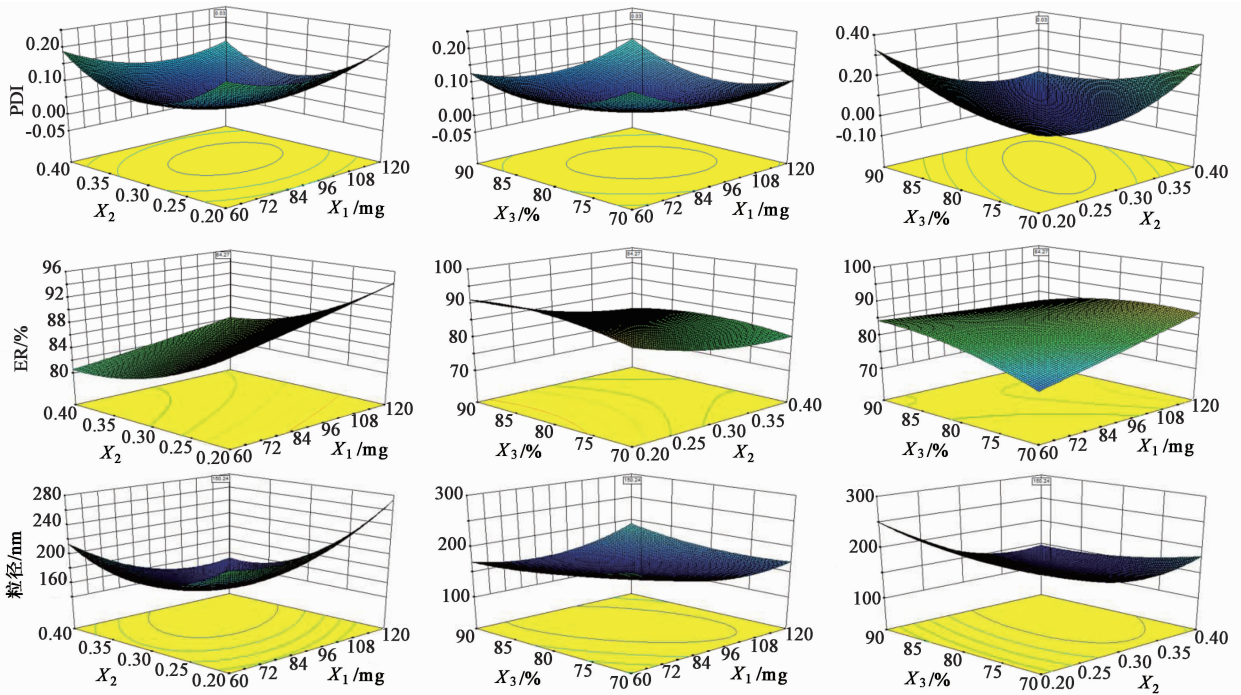


图 2 各因素对 PLGA-Cre-NPs 的 PDI,ER 和粒径影响的三维响应曲面

Fig. 2 Three-dimensional response surfaces of effect of independent variables on PDI,ER and particle size of PLGA-Cre-NPs

表 2 PLGA-Cre-NPs 各考察因素的预测最佳取值点

Table 2 Predicted best point of value about independent variables of PLGA-Cre-NPs

评价指标	$X_1/\text{mg}$	$X_2$
PDI	84 ~ 96	0.25 ~ 0.35
ER/%	90 ~ 120	0.20 ~ 0.30
粒径/nm	84 ~ 96	0.30 ~ 0.40

注: $X_3$  的取值均为 75% ~ 85%。

**2.5 PLGA-Cre-NPs 的粒径及 Zeta 电位的检测** 取适量制备的 PLGA-Cre-NPs 混悬液,加适量水稀释,熔封于安剖瓶内,观察外观;采用激光粒度仪测定纳米粒的粒径,PDI 及 Zeta 电位。结果发现纳米粒混悬液稀释后具有蓝色乳光,平均粒径 ( $155.3 \pm 14.2$ ) nm,  $\text{PDI} = 0.095 \pm 0.018$ ,Zeta 电位 ( $26.73 \pm 4.20$ ) mV。

**2.6 PLGA-Cre-NPs 纳米粒的形态观察** 取 PLGA-Cre-NPs 滴于硅片上,干燥后,放于扫描电镜样品台上,喷金,加速电压 25 kV,见图 3。结果发现纳米粒

呈规则的球状结构,表面较光滑,粒径约 150 nm,分散较均匀,无明显的粘连现象,与激光粒度仪测定结果相近。

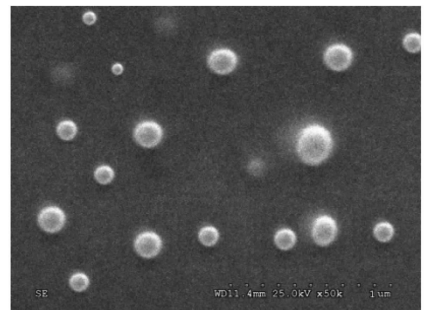


图 3 PLGA-Cre-NPs 的扫描电镜 ( $\times 50\,000$ )

Fig. 3 SEM of PLGA-Cre-NPs ( $\times 50\,000$ )

**2.7 PLGA-Cre-NPs 的体外释药规律分析** 参照 2015 年版《中国药典》(四部)溶出度与释放度测定法的要求,分别采用动态膜透析法、浆法进行测定。将释放介质生理盐水(含 1% tween-80)250 mL 加入溶出杯内,预温至  $37\text{ }^\circ\text{C}$ ,分别精密量取 3 批 PLGA-

Cre-NPs (质量浓度  $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和克班宁注射液 (质量浓度  $1.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 将克班宁用 10% 柠檬酸溶解, 用  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液调 pH 4.5 ~ 5.5, 即得<sup>[2]</sup>) 各 5 mL 于透析袋内扎紧两端, 悬置于释放介质中, 于转速  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  开始搅拌并定时取样 1 mL, 取样后补充等量  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  释放介质。吸取的样品经孔径  $0.22 \text{ }\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 按 2.2 项下方法测定, 计算药物累计释放率, 绘制体外释放曲线, 见图 4。

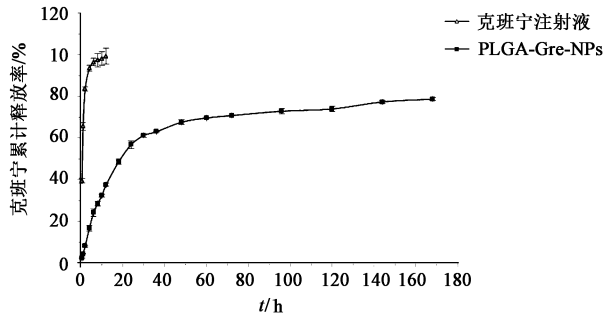


图 4 克班宁注射液与 PLGA-Cre-NPs 的体外释放曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 4 *In vitro* release profiles of crebanine injection and PLGA-Cre-NPs ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

表 3 克班宁不同制剂体外释药模型的最佳拟合数据 ( $n=3$ )

Table 3 Optimum fit data of *in vitro* release model of crebanine injection and PLGA-Cre-NPs ( $n=3$ )

制剂	t/h	模型	方程	R <sup>2</sup>
PLGA-Cre-NPs	0 ~ 24	Weibull 方程	$\ln\{1/[1-F(t)]\} = 0.9314 \ln t - 3.062$	0.997 7
	24 ~ 168	Higuchi 方程	$F(t) = 0.0247 t^{1/2} + 0.4813$	0.982 6
克班宁注射液	0 ~ 12	一级方程	$\ln[1-F(t)] = -0.0485t - 0.0125$	0.998 9

### 3 讨论

克班宁是从天然植物中提取的生物碱类成分, 不仅具有较强的心血管药理活性, 还有一定的镇痛、镇静以及体外抗肿瘤活性, 但克班宁仅易溶于盐酸、乙醇、三氯甲烷中, 几乎不溶于水<sup>[2]</sup>, 这些均限制了克班宁的应用, 因此本文研制的粒径适中、包封率较高的单分散 PLGA-Cre-NPs 有望提高克班宁的成药性, 以期更好的发挥疗效。

纳米粒作为新型药物载体, 具有延长药物释放时间、降低药物毒性、增强药物疗效的作用, 特别适用于半衰期较短、毒性较大、治疗指数低的药物。PLGA 是近年来被美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧盟药品管理局 (EMA) 批准的可用于注射给药的载体材料, 具有生物相容性好、体内可控降解、免疫原性低、易于靶向修饰等特点, 而且 PLGA 可以包载亲水性及疏水性的小分子或大分子, 防止药物降解, 延长药物释放时间, 因此常被作为制备纳米粒的载体

由图 4 可知, 克班宁注射液 1 h 累计释放率达  $(65.63 \pm 1.81)\%$ , 6 h 可达  $(96.56 \pm 1.75)\%$ ; 而 PLGA-Cre-NPs 的 1 h 累计释放率仅  $(4.44 \pm 0.25)\%$ , 24 h 的累计释放率  $(56.94 \pm 1.77)\%$ 。计算 PLGA-Cre-NPs 的半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 18.06 h, 168 h 时累计释放率达  $(78.77 \pm 0.75)\%$ , 说明相对于克班宁注射液, PLGA-Cre-NPs 体外具有较明显的缓释作用。分别采用零级方程, 一级方程, Higuchi 方程和 Weibull 方程等对 2 种制剂释放过程进行曲线拟合, 见表 3。结果发现克班宁注射液体外释放更接近一级方程, 释放速度较快, 6 h 累计释放率  $>95\%$ , 这与前期体内研究结果一致<sup>[2]</sup>。而 PLGA-Cre-NPs 体外释放包括速释和缓释 2 个阶段, 0 ~ 24 h 符合 Weibull 方程, 释放速率较大, 可能是由于吸附、镶嵌在纳米粒表层或表面的克班宁释放所致<sup>[13-14]</sup>; 24 ~ 168 h 符合 Higuchi 方程, 释放速率缓慢, 在这段时间内, 可能包裹在纳米粒内部的克班宁通过聚合物材料的降解或通过骨架从内向外缓慢扩散溶出而引起药物释放<sup>[14]</sup>, 这与其他纳米粒的释放类似<sup>[15]</sup>。

材料使用<sup>[16-17]</sup>。本文利用 PLGA 包载克班宁制备纳米粒, 通过星点设计-效应面法优选了 PLGA-Cre-NPs 的制备工艺。体外释药结果表明与克班宁注射液相比, PLGA-Cre-NPs 缓释效果较好, 明显延长了克班宁释放时间, 有望制备成稳定的克班宁缓释制剂; 但 PLGA-Cre-NPs 的体内释放特点及分布机制、药效、毒性等体内药代动力学还有待进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 马云淑, 武鸿萍, 张壮丽. 克班宁急性毒性与抗心律失常活性的初步研究[J]. 中国现代应用药学, 2005, 22(5): 369-370.

[2] 商庆节. 克班宁注射液的非临床药物动力学研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2006.

[3] 刘娜, 陈凌云, 马云淑, 等. 克班宁长循环脂质体的制备工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(12): 1076-1079.

[4] 刘娜, 陈凌云, 马云淑, 等. 克班宁脂质体的制备工艺

- 研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(6): 1385-1387.
- [5] 陈红丽, 刘瑞, 南文滨. 乳酸-羟基乙酸共聚物微球、纳米粒载药体系的研究进展[J]. 中国药房, 2012, 23(37): 3525-3527.
- [6] 龚道琼, 尹宗宁, 宋相容, 等. 盐酸维拉帕米 PLGA 纳米粒的成型工艺及制剂学性质研究[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(6): 583-586.
- [7] 孙晶, 程晓波, 宋艳志, 等. 星点设计效应面法优化耐冻融茵三硫口服纳米乳剂的处方[J]. 沈阳药科大学学报, 2015, 32(12): 918-924.
- [8] 周昌妮, 冯青云, 徐如冰, 等. 星点设计-效应面法优化复方葛黄微孔渗透泵片的处方组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(10): 20-24.
- [9] 臧巧真, 唐涛, 龙凯花, 等. 星点设计-效应面法优化 $\alpha$ -细辛脑纳米粒原位凝胶的处方及其体外释放性能考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(13): 7-10.
- [10] 张瑞华, 李丽琴, 石童, 等. 不同粒径石杉碱甲纳米粒的制备及其在小鼠体内分布特性研究[J]. 解放军药学学报, 2014, 30(2): 100-106.
- [11] 高玮, 翁小斌, 胡海洋, 等. 不同粒径多西他赛固体脂质纳米粒制剂及其细胞毒活性[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(12): 940-945.
- [12] 陈庆华, 张强. 药物微囊化新技术及应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 107-108.
- [13] 陈蜀. 长循环阿柔比星 A PELGE 纳米粒的研究[D]. 成都: 四川大学, 2005.
- [14] Silva A T C R, Cardoso B C O, Freitas R F S, et al. Synthesis, characterization, and study of PLGA copolymer *in vitro* degradation [J]. J Biomater Nanobiotechnol, 2015, 6(1): 8-19.
- [15] 陆瑾, 展冠军, 郭立玮, 等. PLA- $\alpha$ -细辛脑纳米粒的制备、表征及其对鼻黏膜的毒性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 22-28.
- [16] Danhier F, Ansorena E, Silva J M, et al. PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications [J]. J Control Release, 2012, 161(2): 505-522.
- [17] Vasir J K, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(8): 718-728.

[责任编辑 刘德文]