

· 药剂与炮制 ·

盐酸常山碱的理化性质及其脂质体包封率的测定方法考察

王凤玉, 张保献, 张广平, 聂其霞, 臧琛, 马丽娜, 苏萍, 侯红平, 杨依霏,
张钟秀, 马梦, 叶祖光*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**研究盐酸常山碱的理化性质并考察其脂质体包封率的测定方法。**方法:**采用 HPLC 测定盐酸常山碱的含量,流动相乙腈-水-三乙胺-冰乙酸(9:91:0.35:0.75),检测波长 265 nm;通过摇瓶法测定其在不同 pH 范围内的油水分配系数,并考察在 125 °C,30 min 灭菌后盐酸常山碱在不同 pH 磷酸盐缓冲液中的稳定性,利用硫酸铵梯度法制备盐酸常山碱脂质体,分别用葡聚糖凝胶和阳离子交换树脂制备微柱,采用离心法使游离药物和脂质体分离,测定药物含量,计算包封率。运用 SPSS 20.0 软件进行 *t* 检验,比较上述 2 种方法测定结果的差异。**结果:**在 pH 6~9 时,盐酸常山碱的油水分系数随着 pH 的升高而增大,油水分系数处于 0.016~1.44,盐酸常山碱灭菌后回收率在 37.16%~57.91%,葡聚糖凝胶微柱离心法和阳离子交换树脂微柱离心法测得脂质体的包封率结果无显著性差异。**结论:**盐酸常山碱适合制成脂质体,但其稳定性并不理想,故在制备工艺中应严格控制实验温度。葡聚糖凝胶微柱离心法和阳离子交换树脂微柱离心法均可以较好地测定盐酸常山碱脂质体的包封率,但比较后建议选择阳离子交换树脂微柱离心法。

[关键词] 盐酸常山碱; 脂质体; 油水分系数; 稳定性; 包封率; 微柱离心法; 硫酸铵梯度法

[中图分类号] R22;R94;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0177-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182306

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180911.1317.038.html>

[网络出版时间] 2018-9-12 16:31

Investigation of Physicochemical Properties and Determination

Methods of Liposomal Entrapment Efficiency of Dichroa Alkali Hydrochloride

WANG Feng-yu, ZHANG Bao-xian, ZHANG Guang-ping, NIE Qi-xia, ZANG Chen, MA Li-na,
SU Ping, HOU Hong-ping, YANG Yi-fei, ZHANG Zhong-xiu, MA Meng, YE Zu-guang*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the physical and chemical properties of dichroa alkali hydrochloride and to establish a method for the determination of entrapment efficiency of dichroa alkali hydrochloride liposomes. **Method:** HPLC was used to determine the content of dichroa alkali hydrochloride with mobile phase of acetonitrile-water-triethylamine-glacial acetic acid (9:91:0.35:0.75) and detection wavelength at 265 nm. The oil-water partition coefficient of this compound in different pH range was measured by shake flask method. The stability of the dichroa alkali hydrochloride in phosphate buffer solution with different pH after sterilization at 125 °C for 30 min was investigated. Ammonium sulfate gradient method was used to prepare dichroa alkali hydrochloride liposomes. The microcolumn was prepared by dextran gel and cation exchange resin, respectively. Then the free drug and liposome were separated by centrifugation, the drug content was measured, and the encapsulation efficiency was calculated. The *t*-test was performed using SPSS 20.0 software, the differences between these two methods were

[收稿日期] 20180319(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2015ZX09501004,2017ZX09101002-001-006);北京市自然科学基金项目(7174327)

[第一作者] 王凤玉,在读博士,从事中药新剂型研究,E-mail: yiyun1888@163.com

[通信作者] *叶祖光,研究员,从事中药药理及毒理学研究,Tel:010-84252805,E-mail: yezuguang@sina.com

compared. **Result:** In the pH 6-9, the oil-water partition coefficient of dichroa alkali hydrochloride increased with increasing of pH, which was between 0.016 and 1.44; the recovery rate of dichroa alkali hydrochloride after sterilization was 37.16% -57.91%. Between the dextran gel microcolumn centrifugation and the cation exchange resin microcolumn centrifugation, there was no significant difference in the entrapment efficiency of the liposomes.

Conclusion: Dichroa alkali hydrochloride is suitable for preparation of liposomes. However, its stability is not ideal, so the experimental temperature should be strictly controlled in the preparation process. Dextran gel microcolumn centrifugation and cation exchange resin microcolumn centrifugation can be used to determine the entrapment efficiency of dichroa alkali hydrochloride liposomes, and the cation exchange resin microcolumn centrifugation is suggested after comparison.

[**Key words**] dichroa alkali hydrochloride; liposomes; oil-water partition coefficient; stability; encapsulation efficiency; microcolumn centrifugation method; ammonium sulfate gradient method

根据 2017 年世界卫生组织最新发布的世界疟疾报告,全球疟疾控制工作已停滞不前。2016 年,91 个国家的疟疾病例估计数为 2.16 亿例,比 2015 年增加了约 500 万例,死亡人数达 44.5 万例^[1]。近几十年,疟原虫对青蒿素、氯喹等抗疟药都产生了耐药性,使得疟疾防治工作形势更加严峻^[2-3]。目前抗疟药物的研发主要依赖于对原有药物的结构改造及经验筛选,而多重耐药虫株的一个特点就是对于结构类似的同类抗疟药极易产生耐药性^[4],鉴于此,新型结构的新一代抗疟药物的研发迫在眉睫。

盐酸常山碱是将盐酸气体通入虎耳草科植物黄常山 *Dichroa feberifuga* 的总生物碱乙醇溶液中反应得到的常山碱盐酸盐,其稳定性与抗疟效果都显著强于常山碱,但该药物胃肠道毒性大、半衰期短,严重限制了其推广与应用^[5-6]。脂质体作为一种新型的给药系统,具有一定的缓释和靶向作用,可延长药物在体内的循环时间,改变药物的体内分布,提高药物治疗指数并降低药物的毒副作用^[7-9]。故考虑将盐酸常山碱制成脂质体,以期起到减毒增效的目的。为了考察盐酸常山碱脂质体制备的可行性,并保证该制剂的安全、有效、稳定,本实验拟对盐酸常山碱的理化性质进行研究,采用 HPLC 测定样品含药量,通过摇瓶法测定油水分配系数,考察盐酸常山碱磷酸盐溶液灭菌前后在不同 pH 条件下的稳定性;同时,建立了葡聚糖凝胶微柱离心法及阳离子交换树脂微柱离心法测定该制剂包封率的方法,并对上述 2 种方法的测定结果进行比较。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Scientz II D 型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司),FiveEasy 型 pH 计和 ME204E 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),3-18K 型离心

机(美国 Sigma 公司),THZ-82 型气浴恒温振荡器(江苏省金坛市医疗仪器厂),LS-75HD 型高压蒸汽灭菌锅(山东博科科学仪器有限公司)。

葡聚糖凝胶 G-50(粒径 50 ~ 150 μm , Solarbio 公司),732 型阳离子交换树脂和胆固醇(上海源叶生物科技有限公司),大豆磷脂(PC $\geq 95\%$, 上海太伟药业有限公司,批号 201611022),盐酸常山碱(自制,经 HPLC 检测纯度 $> 99\%$),曲拉通 X-100(北京索莱宝科技有限公司),水为自制纯水,乙腈、三乙胺及冰乙酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 盐酸常山碱脂质体的制备^[10-13] 按质量比 3:1 称取大豆磷脂、胆固醇,加入适量无水乙醇,于 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴搅拌使溶解,挥除乙醇。加入 0.25 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴搅拌 20 min,得空白脂质体初品。将该初品用超声波细胞粉碎机进行超声,超声条件为 200 W 处理 2 min,400 W 处理 6 min,分别用孔径为 0.8,0.22 μm 的微孔滤膜各过滤 3 次,得空白脂质体混悬液。取空白脂质体混悬液在 2 L 生理盐水中透析 12 h,调整大豆磷脂质量浓度 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,按药脂比 1:30 加入盐酸常山碱溶液,混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min,得盐酸常山碱脂质体。

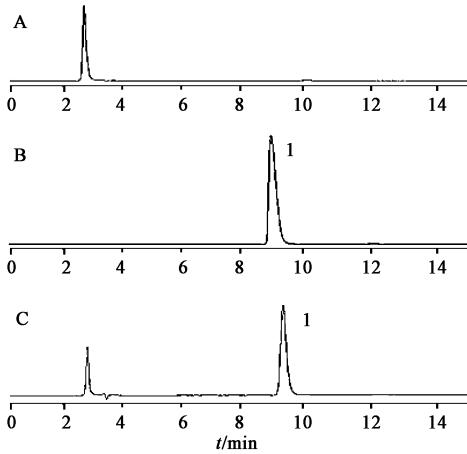
2.2 分析方法的建立

2.2.1 溶液配制 精密称定盐酸常山碱对照品适量,加水定容得 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对照品溶液。分别精密量取空白脂质体和盐酸常山碱脂质体 100 μL ,置于 5 mL 量瓶中,加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳,用水定容至刻度,摇匀,分别得空白样品溶液和供试品溶液。

2.2.2 色谱条件 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm),流动相乙腈-水-三乙胺-冰乙酸(9:91:0.35:0.75),检测波长 265 nm,流速

1 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 柱温 30 ℃。

2.2.3 专属性考察 分别取对照品溶液、供试品溶液、空白样品溶液适量, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 结果发现在此条件下, 色谱峰峰形良好, 辅料对药物的测定无干扰, 见图 1。



A. 空白脂质体; B. 对照品; C. 供试品; 1. 盐酸常山碱

图 1 盐酸常山碱脂质体的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of dichroa alkali hydrochloride liposomes

2.2.4 线性范围考察 精密移取 100 mg·L⁻¹ 盐酸常山碱对照品储备液适量, 用水配成质量浓度分别为 1, 5, 10, 20, 30, 40 mg·L⁻¹ 的系列对照品溶液, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程 $Y = 9.777 6X - 3.571$ ($r = 0.999 8$), 线性范围 1 ~ 40 mg·L⁻¹。

2.2.5 精密度试验 取低、中、高质量浓度 (5, 20, 40 mg·L⁻¹) 的盐酸常山碱对照品溶液, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 记录色谱峰的峰面积, 计算日内精密度的 RSD 分别为 0.4%, 0.4%, 0.3%。连续测定 5 d, 每天测定 1 次, 记录色谱峰的峰面积, 计算日间精密度的 RSD 分别为 1.2%, 0.8%, 0.5%。表明仪器的日内精密度和日间精密度均较为良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 h 进样, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 计算盐酸常山碱峰面积的 RSD 1.1%, 说明盐酸常山碱在破乳后的脂质体溶液中至少可以稳定 18 h。

2.2.7 重复性试验 取同一批盐酸常山碱脂质体样品, 按 2.2.1 项下方法制备 6 份供试品溶液, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 计算盐酸常山碱的平均质量浓度 1.01 g·L⁻¹, RSD 1.0%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密量取空白脂质体 100 μL 于 5 mL 量瓶中, 分别加入低、中、高质量浓度 (25, 50, 100 mg·L⁻¹) 的盐酸常山碱对照品溶液 1 mL, 混匀后加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳, 加水稀释至刻度, 摇匀, 按 2.2.2 项下色谱条件测定, 根据峰面积计算回收率。结果盐酸常山碱的回收率分别为 101.02%, 99.08%, 99.81%, RSD 依次为 1.4%, 1.1%, 0.7%。

2.3 盐酸常山碱的理化性质考察

2.3.1 油水分配系数^[14-16] 取正辛醇 100 mL 置于具塞锥形瓶中, 加入等体积水, 磁力搅拌 24 h, 静置分层后分离两相, 储存备用。分别精密称取适量盐酸常山碱置 15 mL 离心管中, 分别加入 pH 为 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 的磷酸盐缓冲液和水 5 mL, 以及水饱和的正辛醇 5 mL, 放入恒温振荡器中, 于 37 ℃ 振摇 48 h 平衡, 于 4 600 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离油相与水相。分别吸取水相和油相, 适当稀释后取 10 μL 进行 HPLC 分析, 测定药物浓度, 得到水相中的药物浓度 (C_w) 和油相中的药物浓度 (C_o), 按公式 $P = C_o/C_w$ 计算油水分配系数 (P)。结果盐酸常山碱在水及 pH 为 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 的磷酸盐缓冲液中的 P 分别为 0.001 86, 0.016, 0.135, 0.728, 1.44; 磷酸盐缓冲液 pH 为 4.0, 5.0 时, 药物在油相中含量太低, 低于检测限。说明随着 pH 增大, 药物的脂溶性增大, 药物逐渐由电离状态变为分子状态。提示盐酸常山碱适合采用能获得较高包封率的主动载药法制备脂质体。

2.3.2 在不同 pH 条件下的热稳定性^[17-18] 分别以 pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 的 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液配制质量浓度为 0.20 g·L⁻¹ 的盐酸常山碱溶液, 分装并密封于 1 mL 的安瓿瓶中, 于 120 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min。对比灭菌前后盐酸常山碱的含量变化。计算盐酸常山碱的回收率分别为 44.89%, 39.04%, 37.89%, 37.16%, 47.11%, 57.91%。说明盐酸常山碱在 pH 4.0 ~ 9.0, 热稳定性较差, 在后续的制备工艺中应严格控制温度。

2.4 盐酸常山碱脂质体的包封率测定方法研究

2.4.1 微柱的制备^[19-20] 将葡聚糖凝胶 G-50 浸泡在水中, 沸水煮 1 h, 待其充分溶胀冷却后装于 2.5 mL 注射器内 (底部填入双层滤纸圆片以防凝胶泄漏)。待水分自然流下后离心 (2 000 r·min⁻¹, 3 min, 下同), 使凝胶微柱失水皱缩, 微柱高约 3.6 cm, 备用。将阳离子交换树脂用 0.5 mol·L⁻¹ 盐酸溶液浸泡 2 h, 水洗至中性, 用 0.5 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液

浸泡 2 h,水洗至中性后装于 2.5 mL 注射器内,离心除水,柱高约 4 cm,备用^[20]。

2.4.2 微柱对空白脂质体的吸附试验^[21-25] 精密吸取空白脂质体 100 μL ,缓缓加于微柱顶部,离心,收集洗脱液,用水定容至 5 mL,于 500 nm 处测定吸光度 A_0 。继续由柱顶部加水 200 μL ,离心,收集洗脱液,用水定容至 5 mL,重复以上操作 4 次,于 500 nm 处测定 A ,分别记为 A_1, A_2, A_3, A_4 。精密量取空白脂质体混悬液 100 μL ,用水定容至 5 mL,摇匀,同样在 500 nm 处测定 A' 。空白脂质体回收率(R)根据公式 $R_n = \sum_{i=0}^n A_n / A' \times 100\%$ 计算,式中 n 为洗脱次数。结果 R_0, R_1, R_2, R_3, R_4 分别为 1.18%, 45.35%, 83.04%, 100.70%, 100.91%。说明空白脂质体经 3 次洗脱后即可从柱上全部洗脱下来,回收率近 100%。阳离子交换树脂微柱离心法 R_0, R_1, R_2, R_3, R_4 分别为 0.84%, 98.94%, 100.12%, 100.23%, 100.32%,说明空白脂质体经 2 次洗脱后即可从微柱上全部洗脱下来,回收率近 100%。

2.4.3 微柱对盐酸常山碱溶液的吸附试验 精密吸取 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸常山碱 100 μL ,缓缓加于微柱顶部,离心,收集洗脱液,用水定容至 5 mL,采用 HPLC 测定峰面积,求算药物浓度(C_0)。继续由柱顶部加入水 200 μL ,离心,收集洗脱液,重复以上操作 4 次,求算药物浓度(C_1, C_2, C_3, C_4)。精密吸取 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸常山碱 100 μL ,用水定容至 5 mL,求算药物浓度(C')。药物吸附率(R')根据公式 $R'_n = \sum_{i=0}^n C_n / C' \times 100\%$ 计算,式中 n 为洗脱次数。结果葡聚糖凝胶树脂微柱离心法的 $R'_0, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$ 分别为 100%, 100%, 100%, 97.84%, 92.34%。说明 $n \leq 2$ 时,葡聚糖凝胶微柱对 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸常山碱溶液完全吸附, $n > 2$ 时,吸附率逐渐减小。而阳离子交换树脂微柱离心法中,每次过柱洗脱后均检测不到药物色谱峰,说明阳离子交换树脂柱对 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸常山碱溶液完全吸附。

2.4.4 微柱对空白脂质体和游离药物混合液中盐酸常山碱的吸附试验 精密量取空白脂质体和 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸常山碱溶液各 1 mL 于 2 mL 离心管中,混合均匀,得盐酸常山碱和空白脂质体的物理混合物。精密吸取该物理混合物 100 μL ,缓缓加于柱顶部,离心,收集洗脱液于 5 mL 量瓶中,加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳,用水定容至刻度,利用 HPLC 测定峰面积,计算药物浓度(C_0)。继续由柱顶部加入水 200 μL ,离心,收集洗脱液于 5 mL 量瓶中,加

入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳,用水定容至刻度,重复以上操作 3 次,求算药物浓度(C_1, C_2, C_3, C_4)。精密吸取物理混合物 100 μL 于 5 mL 量瓶中,加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳后用水定容至刻度,求算药物浓度(C'')。药物吸附率(R'')根据公式 $R''_n = \sum_{i=0}^n C_n / C'' \times 100\%$ 计算,式中 n 为洗脱次数。结果 $R''_0, R''_1, R''_2, R''_3, R''_4$ 分别为 100%, 100%, 100%, 97.65%, 93.38%。说明当 $n \leq 2$ 时,葡聚糖凝胶微柱对空白脂质体和游离药物混合液中盐酸常山碱完全吸附;当 $n > 2$ 时,吸附率逐渐降低。在阳离子交换树脂微柱离心法中,每次过柱洗脱后均检测不到药物色谱峰,说明阳离子交换树脂柱对空白脂质体和游离药物混合液中的盐酸常山碱完全吸附了。

2.4.5 包封率的测定 精密移取同一批盐酸常山碱脂质体溶液 100 μL ,平行 3 份,缓缓加于葡聚糖凝胶微柱或阳离子交换树脂柱顶部,离心,继续加水 200 μL 于柱顶端,离心洗脱,连续操作 2 次,合并洗脱液,加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳,用水稀释至 5 mL,混合均匀,运用 HPLC 测定峰面积,计算脂质体内药量($W_{\text{洗脱}}$)。另精密移取盐酸常山碱脂质体 100 μL ,加入 10% 曲拉通 X-100 溶液破乳,用水稀释至 5 mL,利用 HPLC 测定峰面积,计算脂质体内药量($W_{\text{总}}$),计算包封率。并对 2 种方法测得的包封率用 SPSS 20.0 软件进行独立样本 t 检验,见表 1。结果发现这 2 种方法的测定结果无显著性差异,且 RSD 均 $< 1.0\%$,说明测定方法的重复性良好。

表 1 不同方法测定的盐酸常山碱脂质体包封率

Table 1 Entrapment efficiency of dichroa alkali hydrochloride liposomes measured by different methods

微柱类型	样品	包封率/%	RSD/%
葡聚糖凝胶 G50	1	91.38	0.6
	2	90.31	
	3	90.85	
阳离子树脂	1	89.37	0.5
	2	90.36	
	3	89.65	

3 讨论

药物的油水分配系数和稳定性是影响药物制剂工艺、体内作用的重要因素,是药物制剂前必须了解的参数。尤其在脂质体的制备工艺中,油水分配系数的大小会直接影响药物在脂质体中的定位、包封率及释药行为^[26-27]。本实验测定了盐酸常山碱在

不同 pH 条件下的油水分配系数及稳定性,结果表明盐酸常山碱的油水分配系数随着 pH 变化较大,较适合以 pH 梯度法或硫酸铵梯度法等主动载药法制备脂质体;而盐酸常山碱在不同 pH 条件下的热稳定性并不理想,所以在后续脂质体处方筛选及制备工艺的考察中应尽量降低温度,缩短加热时间,以降低药物损失。

包封率是评价脂质体制备工艺的主要指标,在制备脂质体之前,选择合适的包封率测定方法对研究脂质体具有重要意义^[28]。脂质体包封率的测定方法有凝胶柱色谱法、超滤法、高速离心法、鱼精蛋白凝聚法、透析法、荧光淬灭反应法、微型柱离心法等^[29]。其中凝胶柱色谱法最为经典,但操作繁琐、耗时较长、回收率低。超滤法简便快捷,但所使用的超滤膜价格昂贵,且对药物存在吸附。曾尝试利用高速离心法和透析法测定包封率,结果也不理想。而采用微柱离心法分离脂质体与游离药物,脂质体样品不会被稀释,可以降低稀释所带来的药物渗漏以及药物含量检测困难,而且所用脂质体量少、操作耗时短,故选择微柱离心法作为包封率的测定方法。

本文考察了葡聚糖凝胶和阳离子树脂这 2 种填料所制备微柱的测定效果,结果表明葡聚糖凝胶微柱离心法和阳离子交换树脂离心法均可用于测定盐酸常山碱脂质体的包封率,而且二者均操作快捷、简便,重复性良好,且包封率测定结果无显著性差异。但在操作过程中发现,与阳离子交换树脂比,葡聚糖凝胶微柱在装柱时平衡时间较长,离心时容易裂柱,使得实验误差增大。而且相对于葡聚糖凝胶,阳离子交换树脂价格低廉,操作误差小,故建议采用阳离子树脂微柱离心法测定盐酸常山碱脂质体的包封率。本实验研究了盐酸常山碱的基本理化性质及其脂质体包封率的测定方法,为后续脂质体的处方工艺筛选、稳定性和体外释放动力学研究等奠定了实验基础。

[参考文献]

[1] World Health Organization. *World malaria report 2017* [M]. Geneva: World Health Organization, 2017.

[2] Imwong M, Suwannasin K, Kunasol C, et al. The spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in the Greater Mekong subregion: a molecular epidemiology observational study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(5): 491-497.

[3] Grigg M J, William T, Menon J, et al. Efficacy of artesunate-mefloquine for chloroquine-resistant

plasmodium vivax malaria in Malaysia: an open-label, randomized, controlled trial [J]. *Clin Infect Dis*, 2016, 62(11): 1403-1411.

[4] Mishra M, Mishra V K, Kashaw V, et al. Comprehensive review on various strategies for antimalarial drug discovery[J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 125: 1300-1320.

[5] 叶祖光, 李春, 李思迪, 等. 常山碱盐酸盐及其制备方法和医药应用: 中国, CN105535045A [P]. 2016-05-04.

[6] 李思迪, 李春, 叶祖光, 等. 常山碱盐急性毒性及其与青蒿素类药物联合用药增效减毒作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, 30(8): 808-814.

[7] Bozzuto G, Molinari A. Liposomes as nanomedical devices[J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 975-999.

[8] Aliu H, Rask C, Brimnes J, et al. Enhanced efficacy of sublingual immunotherapy by liposome-mediated delivery of allergen [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 8377-8388.

[9] Allen T M, Cullis P R. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(1): 36-48.

[10] 陈斯泽, 汪森明, 张积仁. 盐酸洛拉曲克长循环脂质体制备及其抑瘤特性研究[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(3): 403-405.

[11] 张慧慧, 聂淑芳, 李想, 等. 马来酸噻吗洛尔眼用脂质体的研制及其离体角膜透过试验[J]. *中国新药杂志*, 2009, 18(16): 1556-1559.

[12] 黄园, 段逸松, 于波涛, 等. 硫酸铵梯度法制备米托蒽醌长循环脂质体[J]. *中国药学杂志*, 2002, 37(12): 917-919.

[13] 胡鹏翼, 郑琴, 杨明, 等. 主动载药法制备槐定碱脂质体[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(13): 5-8.

[14] 余昕, 陈斯玮, 欧雨兰, 等. 芍药总苷的理化性质及其脂质体包封率的测定方法[J]. *中成药*, 2016, 38(6): 1260-1264.

[15] 康传哲, 张明珠, 陈岩, 等. 10-甲氧基喜树碱平衡溶解度和表观油水分配系数的测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(9): 133-136.

[16] 吴玉强, 王志萍, 熊万娜, 等. 秋水仙碱油水分配系数和平衡溶解度的测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(5): 64-66.

[17] 张琪, 黄娟, 薛鸿娇, 等. 乙酰天麻素平衡溶解度、油水分配系数及稳定性的测定[J]. *中国医院药学杂志*, 2017, 37(9): 819-821.

[18] 郝朵, 谷福根. pH 值对富马酸比索洛尔化学稳定性及油水分配系数的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(3): 208-211.

[19] 李文静, 杨志强, 王杏林. 两种硫酸长春新碱脂质体

- 包封率测定方法的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14):71-75.
- [20] 张玲,黄微崑,邓意辉,等. 重酒石酸长春瑞滨脂质体包封率测定方法比较[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(2):105-109.
- [21] 周金幸,顾开龙,胡海洋,等. Box-Behnken 效应面法优化制备主动载药盐酸小檗碱脂质体[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(11):856-861.
- [22] 郑杭生,张亚军,徐真,等. 全缘千里光碱脂质体包封率测定方法的研究[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(14):1075-1078.
- [23] 陈孝储,郭一沙,宋菲,等. 微柱离心结合胆固醇浓度变化测定水溶性药物脂质体包封率[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(11):851-855.
- [24] 聂华,赵莹,叶小玲,等. 葡萄糖修饰脑靶向紫杉醇脂质体包封率测定方法的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(23):15-19.
- [25] 赵妍,于彬,邓意辉,等. 主动载药法制备硫酸长春新碱脂质体及其包封率的测定[J]. 中国药学杂志, 2005, 39(20):1559-1562.
- [26] Tamaru S, Igura N, Shimoda M. Effectiveness of water-air and octanol-air partition coefficients to predict lipophilic flavor release behavior from O/W emulsions[J]. Food Chem, 2018, 239:712-717.
- [27] BAO Q Y, LIU A Y, MA Y, et al. The effect of oil-water partition coefficient on the distribution and cellular uptake of liposome-encapsulated gold nanoparticles[J]. Colloid Surface B, 2016, 146:475-481.
- [28] Yamamoto E, Miyazaki S, Aoyama C, et al. A simple and rapid measurement method of encapsulation efficiency of doxorubicin loaded liposomes by direct injection of the liposomal suspension to liquid chromatography[J]. Int J Pharm, 2018, 536(1):21-28.
- [29] 陈召红,刘皈阳,魏亚超. 脂质体包封率测定方法研究进展[J]. 解放军药理学学报, 2011, 27(1):79-82.

[责任编辑 刘德文]