基于TPGs表面修饰的雷公藤甲素固体脂质纳米粒的制备与质量评价

黄苏莉[1, 2]，吴贻明[2]，包 瑞[1]，许 颖[1]

1. 江苏大学 药学院，江苏 镇江 212013

2. 上海市杨浦区精神卫生中心 药剂科，上海 杨浦 200093

摘 要：目的 制备*D*-α-维生素E聚乙二醇1000琥珀酸酯（TPGs）修饰的雷公藤甲素固体脂质纳米粒（TPGs-Tri-SLNs），并评价其质量。**方法** 采用热熔乳化-超声法制备TPGs-Tri-SLNs，并以山嵛酸甘油酯浓度（X_1），大豆磷脂与TPGs比例（X_2）和山嵛酸甘油酯与药物比例（X_3）作为考察因素，以TPGs-Tri-SLNs的粒径分布（Y_1）和药物包封率（Y_2）作为评价指标，通过中心复合设计-效应面法优化TPGs-Tri-SLNs的处方，粒度分析仪测定其粒径分布，透射电镜观察其微观形态，并考察了TPGs-Tri-SLNs的体外药物释放特性。**结果** TPGs-Tri-SLNs的最佳处方组成为：山嵛酸甘油酯浓度为10%，大豆磷脂与TPGs比例4∶1，山嵛酸甘油酯与药物比例为60∶1，按照最优处方制备3批TPGs-Tri-SLNs的平均粒径为（107.8±16.9）nm，包封率为91.4%±1.1%；在透射电镜下可以观察到TPGs-Tri-SLNs呈球型分布，表面光滑；TPGs-Tri-SLNs在前4 h内药物释放较快，后期释药速率较为平稳，24 h药物释放可以达到85%。**结论** 通过中心复合设计-效应面法优化并得到TPGs-Tri-SLNs的最优处方，处方设计合理，制备工艺简单。

关键词：雷公藤甲素；固体脂质纳米粒；*D*-α-维生素E聚乙二醇1000琥珀酸酯；热熔乳化-超声波法；中心复合设计-效应面法

中图分类号：R927.11 **文献标志码：**A **文章编号：**1674-6376（2020）07-1283-06

DOI：10.7501/j.issn.1674-6376.2020.07.012

Preparation and quality evaluation of TPGs surface-modified triptolide solid lipid nanoparticles

HUANG Suli[1, 2], WU Yiming[2], BAO Rui[1], XU Ying[1]

1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. Department of Pharmacy, Yangpu District Mental Health Center, Shanghai 200093, China

Abstract: Objective To prepare *D*-α-vitamin E polyethylene glycol 1000 succinate (TPGs) modified triptolide solid lipid nanoparticles (TPGs-Tri-SLNs) and evaluate their quality. **Methods** TPGs-Tri-SLNs were prepared by hot melt emulsification-ultrasonic method, and the concentration of Compritol-888 ATO (X_1), the ratio of soybean phospholipid to TPGs (X_2) and the ratio of Compritol-888 ATO to triptolide (X_3) were used as the investigation factors, the particle size distribution (Y_1) and encapsulation efficiency (Y_2) of TPGs-Tri-SLNs were used as evaluation indexes, and the formulation of TPGs-Tri-SLNs was optimized by central composite design-response surface methodology (CCD-RSM). The particle size distribution of TPGs-Tri-SLNs were determined by particle size analyzer. The microscopic morphology was observed by transmission electron microscopy, and the *in vitro* drug release characteristics of TPGs-Tri-SLNs were investigated. **Results** The optimal formulation of TPGs-Tri-SLNs as follows: Compritol-888 ATO concentration was 10 %, the ratio of soybean phospholipid to TPGs was 4:1, the ratio of Compritol-888 ATO to triptolide was 60:1. Three batches of TPGs-Tri-SLNs were prepared according to the optimal formulation. The average particle size was (107.8±16.9) nm and the encapsulation efficiency was 91.4%±1.1%. Under the transmission electron microscope, TPGs-Tri-SLNs could be observed to have a spherical distribution with a smooth surface. The drug release of TPGs-Tri-SLNs showed a bursting in the first 4 h, while it was slow and stable in the later stage, and the drug release in 24 h could reach 85%. **Conclusion** This study used central composite design-response surface methodology optimization and obtained the optimal formulation of TPGs-Tri-SLNs. The formulation design was reasonable and the preparation process was simple, which could be further investigated.

Key words: triptolide; solid lipid nanoparticles; *D*-α-vitamin E polyethylene glycol 1 000 succinate; hot melt emulsification-ultrasonic method; central composite design-response surface methodology

收稿日期：2020-02-02

第一作者：黄苏莉（1987—），女，学士，主管药师，研究方向为医院药学。E-mail：goodg358@163.com

雷公藤甲素（Triptolide，Tri）是从卫矛科植物雷公藤根中提取的一种环氧化二萜内酯类化合物，主要用于治疗类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮以及银屑病等自身免疫性疾病[1]，近年来研究报道表明，Tri对胃癌、胰腺癌和肺癌等具有治疗作用[2-3]。由于Tri水溶性较差[4]，而且是*P*-糖蛋白的底物，存在外排作用[5-6]，导致口服生物利用度低（约为60%）[7]，限制了临床应用。为了提高Tri的溶解度以及治疗效果，研究人员通过制剂手段将其制备成脂质体[8]、胶束[9-10]、纳米粒[11]等新型给药系统。固体脂质纳米粒（Solid lipid nanoparticles，SLNs）是由可生物降解的固体脂质作为载体，生物相容性良好的表面活性剂作为稳定剂，将药物包裹在纳米粒内部或吸附在表面所构成的新型纳米给药系统，该给药系统不仅是难溶性药物的良好载体，而且具有物理稳定性良好、可增加药物生物利用度等优点，是极具有开发潜力的新型给药系统[12-13]。*D*-α-维生素E聚乙二醇1 000琥珀酸酯（TPGs）通过维生素E与聚乙二醇1 000酯化反应形成，是一种非离子表面活性剂，文献报道TPGs能够克服多药耐药性和抑制P-糖蛋白转运载体活性，用于提高抗癌药物的口服生物利用度[14-16]，是已被FDA批准的一种安全的药用辅料。为此，本研究将Tri制备成固体脂质纳米粒，并在处方中加入TPGs对其修饰，以抑制*P*-糖蛋白转运载体活性，提高药物口服生物利用度，为Tri的临床应用提供一种有效的解决方案。

1 材料

1.1 仪器

iChrom 5 100高效液相色谱仪（大连依利特分析仪器有限公司）；DF-101Z集热式恒温加热磁力搅拌器（河南巩义科华仪器有限公司）；JY98-IIIDN超声波细胞粉碎机（上海沪析实业有限公司）；JEM 1200EX透射电子显微镜（日本电子株式会社）；Zetasizer Nano ZS90纳米粒径/电位分析仪（英国马尔文公司）；JIDI-4D-WS自动平衡实验室离心机（广州吉迪仪器有限公司）；Ultra-4超滤离心管（截留分子量5×10^4，默克密理博公司）。

1.2 试药与主要试剂

Tri（福建汇天生物药业有限公司，批号20180126，质量分数99.5%）；Tri对照品（中国食品药品检定研究院，批号111567-201404，质量分数99.8%）；山嵛酸甘油酯（Compritol-888 ATO，德国巴斯夫公司，批号F2409221）；注射用大豆磷脂（上海太伟药业有限公司，批号180511）；*D*-α-维生素E聚乙二醇1 000琥珀酸酯（TPGs，上海晶纯生化科技股份有限公司，批号F1420096）；无水乙醇（国药集团化学试剂有限公司，批号20180204）。

2 方法与结果

2.1 TPGs-Tri-SLNs的制备

通过前期对TPGs-Tri-SLNs制备工艺的筛选，本研究采用热熔乳化超声-低温固化法[17]制备TPGs-Tri-SLNs。工艺操作如下：

①油相溶液配制：称取处方量Tri，加入5 mL乙醇溶解，再称取处方量山嵛酸甘油酯加入到上述溶液中，搅拌溶解，最终形成透明状溶液，70 ℃水浴中保温，备用。

②水相溶液配制：称取处方量大豆磷脂，加入15 mL蒸馏水，高剪切分散，形成乳白色溶液，再称取处方量TPGs加入到上述溶液中溶解，70 ℃水浴中保温，备用。

③初乳溶液制备：将水相溶液放入到磁力搅拌器中，保持水浴温度70 ℃恒定，设置磁力搅拌速度为4 000 r/min，使用带有7号针头的注射器将油相溶液缓慢注入（注入体积流量为5 mL/min）到水相溶液中，形成乳状液，持续搅拌30 min，减压挥发有机溶剂，形成初乳溶液。

④TPGs-Tri-SLNs制备：将初乳溶液转移至超声玻璃管内，并放入到超声波细胞破碎仪中，调节探头高度至液面下1/3处，设置超声参数为：超声功率200 W，超声5 S，间歇5 S，持续超声5 min后，将乳液迅速放入到冰水浴中充分冷却，既得到TPGs-Tri-SLNs溶液，外观呈淡蓝色澄清透明状。

2.2 粒径分布测定

取少量TPGs-Tri-SLNs加入到石英比色杯中，加入适量蒸馏水稀释，混合均匀，放入到Zetasizer Nano ZS90纳米粒径/电位分析仪中（设置检测温度为25 ℃、波长为633 nm、散射角为90°），测定TPGs-Tri-SLNs的粒径分布，每份样品重复测定3次，取平均值。

2.3 包封率测定

参照文献[18]及预实验结果，本研究采用超滤离心法测定TPGs-Tri-SLNs的包封率。精密移取2.0 mL TPGs-Tri-SLNs至超滤离心管中，放入到离心机内，4 000 r/min离心15 min，取超滤液加入到10 mL量瓶中，加入流动相定容，混匀，既得游离药物待测液（$C_{游离}$）；同时精密移取2.0 mL TPGs-Tri-SLNs至50 mL量瓶中，加入5 mL甲醇，溶解样品，再加入流动相定容，混匀，既得总药物待测液（$C_{总}$）。取待测

液按照HPLC法[9]色谱柱:Hypersil ODS C_{18}(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(55∶45);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:218 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL]检测药物含量,药物包封率计算公式:包封率=(1−$C_{游离}/C_{总}$)。

2.4 实验设计

2.4.1 中心复合设计-效应面法优化TPGs-Tri-SLNs的处方 根据单因素实验考察结果,确定以山嵛酸甘油酯浓度(%)(X_1),大豆磷脂与TPGs比例(X_2)以及山嵛酸甘油酯与药物比例(X_3)作为考察因素,以TPGs-Tri-SLNs的粒径分布(Y_1)和药物包封率(Y_2)作为评价指标,通过中心复合设计-效应面法优化TPGs-Tri-SLNs处方,3个因素低、中、高水平值见表1,实验设计随机生成20组实验方案及结果见表2。

表1 中心复合设计-效应面法中变量及水平

Tabel 1 Variables and levels in central composite design response surface method

自变量	水平		
	低(−1)	中(0)	高(+1)
X_1	7%	10%	13%
X_2	2.5∶1	4∶1	5.5∶1
X_3	40∶1	60∶1	80∶1

表2 实验设计及结果

Table 2 Experimental design and results

编号	自变量			因变量	
	X_1	X_2	X_3	Y_1/nm	Y_2/%
1	10	4∶1	60∶1	116.4	91.5
2	13	2.5∶1	40∶1	392.3	94.4
3	7	2.5∶1	80∶1	113.9	81.6
4	10	4∶1	60∶1	123.2	89.2
5	10	4∶1	93.6∶1	125.2	81.7
6	10	4∶1	26.4∶1	122.9	90.5
7	13	5.5∶1	40∶1	131.1	85.8
8	10	4∶1	60∶1	116.4	89.0
9	10	4∶1	60∶1	116.8	87.6
10	7	5.5∶1	80∶1	95.2	79.2
11	7	2.5∶1	40∶1	117.5	88.3
12	15	4∶1	60∶1	327.2	82.8
13	10	6.5∶1	60∶1	97.1	77.9
14	7	5.5∶1	40∶1	79.4	81.0
15	10	1.5∶1	60∶1	540.8	92.2
16	10	4∶1	60∶1	121.9	90.5
17	13	5.5∶1	80∶1	131.2	81.7
18	13	2.5∶1	80∶1	421.1	86.9
19	10	4∶1	60∶1	118.3	87.9
20	5	4∶1	60∶1	80.6	80.1

2.4.2 方差分析 通过统计软件Design Expert 10.0.3中的“中心复合设计-效应面法”对20组实验数据进行统计分析,结果见表3。TPGs-Tri-SLNs的Y_1和Y_2的两个模型方程的P值均<0.000 1,说明所选模型的拟合度较高;两个模型的失拟项P值分别为0.353 2和0.333 4,说明实验值和预测值之间不存在显著差异,模型拟合具有足够高的可信度。两个模型拟合方程分别为:

Y_1=120.01+79.41 X_1 − 99.15 X_2+3.29 X_3 − 61.79 X_1X_2+2.09 X_1X_3 − 1.16 X_2X_3+22.42 X_1^2+63.09 X_2^2 − 5.81 X_3^2(R^2=0.953 6);

Y_2=89.25+1.70 X_1 − 3.48 X_2 − 2.56 X_3 − 0.51 X_1X_2 − 0.39 X_1X_3+1.04 X_2X_3 − 2.56 X_1^2 − 1.29 X_2^2 − 0.92 X_3^2(R^2=0.937 5)。

根据方差分析结果(表3)可知,X_2、X_3、X_1X_2、X_2^2对Y_1具有显著影响(P<0.05),而X_1、X_2、X_3、X_1^2、X_2^2对Y_2具有显著影响(P<0.05);3个自变量与因变量的效应面图见图1、2。

由图1可知,在大豆磷脂与TPGs比例恒定时,TPGs-Tri-SLNs的粒径随山嵛酸甘油酯浓度的减小而降低,这是由于减小油相浓度,表面活性剂能够更有效降低整个体系的界面张力,可形成更小粒径的TPGs-Tri-SLNs;在山嵛酸甘油酯浓度恒定时,粒径随着大豆磷脂与TPGs比例的增加而降低,这是由于大豆磷脂的乳化能力较TPGs高,降低体系界面张力更明显,提高大豆磷脂用量能够形成更小粒径的TPGs-Tri-SLNs;山嵛酸甘油酯与药物比例对TPGs-Tri-SLNs粒径的影响可以忽略不计。

由图2可知,在大豆磷脂与TPGs比例恒定时,TPGs-Tri-SLNs的包封率随山嵛酸甘油酯浓度的增加而增大,这是由于增加山嵛酸甘油酯浓度可以为药物提供更多溶解空间,增加药物包封率;在山嵛酸甘油酯浓度恒定时,包封率随着大豆磷脂与TPGs比例的增加而降低,这是由于过多的大豆磷脂能够形成大量的载药胶束,降低了药物包封率;在大豆磷脂与TPGs比例恒定时,包封率随着山嵛酸甘油酯与药物比例的增加而减小。

2.4.3 模型预测与验证 研究设计的TPGs-Tri-SLNs的处方应粒径分布“最小”,包封率“最大”,通过“中心复合设计-效应面法”优化得到TPGs-Tri-SLNs的最优处方组成为:山嵛酸甘油酯浓度为10%,大豆磷脂与TPGs比例4∶1,山嵛酸甘油酯与

表3 拟合方程中各项系数及方差分析结果

Table 3 Coefficient and variance analysis results in fitting equation

因变量	来源	平方和	平均值	F值	P值	因变量	来源	平方和	平均值	F值	P值
Y_1	模型	315 000.00	34 995.92	22.83	＜0.000 1	Y_2	模型	421.46	46.83	16.68	＜0.000 1
	X_1	86 109.78	86 109.78	56.18	＜0.000 1		X_1	39.55	39.55	14.08	0.003 8
	X_2	134 300.00	134 300.00	87.59	＜0.000 1		X_2	165.56	165.56	58.95	＜0.000 1
	X_3	148.07	148.07	0.097	0.762 3		X_3	89.19	89.19	31.76	0.000 2
	X_1X_2	30 541.56	30 541.56	19.92	0.001 2		X_1X_2	2.10	2.10	0.75	0.407 3
	X_1X_3	34.86	34.86	0.023	0.883 1		X_1X_3	1.20	1.20	0.43	0.527 8
	X_2X_3	10.81	10.81	0.007 1	0.934 7		X_2X_3	8.61	8.61	3.07	0.110 5
	X_1^2	7 241.97	7 241.97	4.72	0.054 8		X_1^2	94.79	94.79	33.75	0.000 2
	X_2^2	57 367.93	57 367.93	37.43	0.000 1		X_2^2	24.05	24.05	8.56	0.015 1
	X_3^2	487.18	487.18	0.32	0.585 3		X_3^2	12.21	12.21	4.35	0.063 6
	残差	15 328.68	1 532.87				残差	28.08	2.81		
	失拟项	15 283.94	3 056.79	0.67	0.353 2		失拟项	16.85	3.37	1.50	0.333 4
	纯误差	44.73	8.95				纯误差	11.23	2.25		
	总和	330 300.00					总和	449.54			

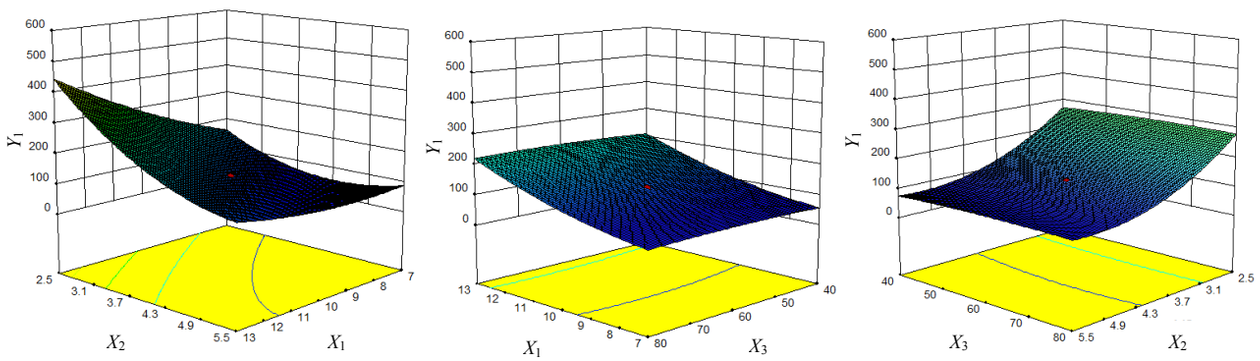

图1 山嵛酸甘油酯浓度(X_1)、大豆磷脂与TPGs比例(X_2)以及山嵛酸甘油酯与药物比例(X_3)对TPGs-Tri-SLNs的粒径分布(Y_1)的效应面图

Fig. 1 Effect of behenic acid glyceride concentration (X_1), soybean phospholipid to tpgs ratio (X_2) and behenic acid glyceride to drug ratio (X_3) on the particle size distribution (Y_1) of tpgs tri SLNs

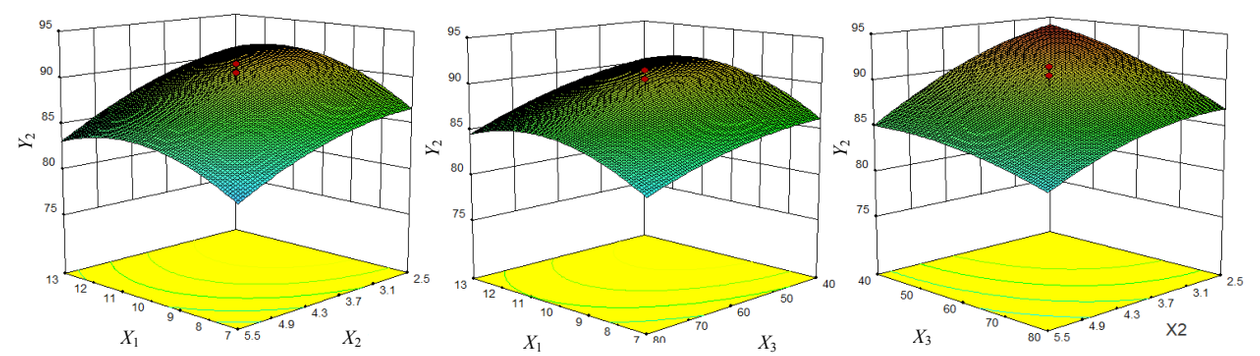

图2 山嵛酸甘油酯浓度(X_1),大豆磷脂与TPGs比例(X_2)以及山嵛酸甘油酯与药物比例(X_3)对TPGs-Tri-SLNs的包封率(Y_2)的效应面图

Fig. 2 Effect of concentration (X_1), ratio of soybean phospholipid to tpgs (X_2) and ratio of behenate to drug (X_3) on encapsulation efficiency (Y_2) of tpgs tri SLNs

药物比例为60∶1，软件预测TPGs-Tri-SLNs的粒径为112.7 nm，包封率为90.9%（图3）。根据TPGs-Tri-SLNs的最优处方制备3批样品，经测定粒径为（107.8±16.9）nm，包封率为91.4%±1.1%，实测值

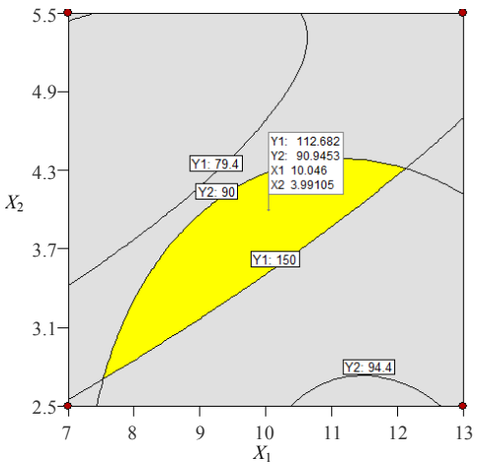

图3 TPGs-Tri-SLNs处方设计叠加图

Fig. 3 Overlay of TPGs-Tri-SLNs prescription design

与预测值接近，模型预测可靠性较高。

2.5 形态观察

取少量TPGs-Tri-SLNs加入适量蒸馏水稀释，混合均匀，取一滴TPGs-Tri-SLNs均匀铺展到碳覆膜铜网上，再滴加5%磷钨酸钠溶液负染10 min，挥干水分，在透射电镜下观察其微观形态并拍照。TPGs-Tri-SLNs呈球型分布，表面光滑，无聚集，没有观察到有药物晶体析出。见图4。

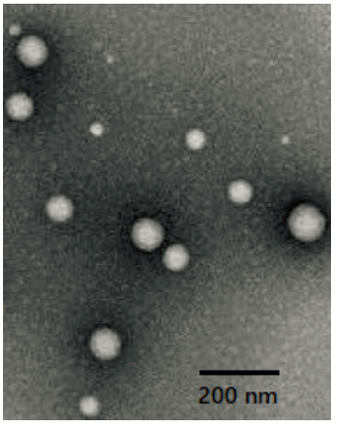

图4 TPGs-Tri-SLNs透射电镜照片

Fig. 4 TEM of TPGs-Tri-SLNs

2.6 药物体外释放考察

采用透析扩散法考察TPGs-Tri-SLNs和Tri乙醇溶液在pH 6.8磷酸盐缓冲液中的体外释药行为。移取2 mL TPGs-Tri-SLNs（含Tri为3.2 mg）至透析袋内，排除气泡，用夹子夹紧透析袋两端，放入到98 mL含吐温80含量为0.5%的pH 6.8磷酸盐缓冲液中（烧杯使用封口膜密封，防止释放介质蒸发），维持水浴温度为37 ℃，依次在0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 h取出5 mL释放介质（同时补加相同量介质溶液），经过滤、稀释后进样检测药物含量[19]；另外，取3.2 mg Tri原料药使用2 mL乙醇溶解，转移至透析袋中，扎紧透析袋，按照上述方法操作。通过绘制时间-累积释放度曲线比较TPGs-Tri-SLNs与Tri乙醇溶液的释药行为。见图5。

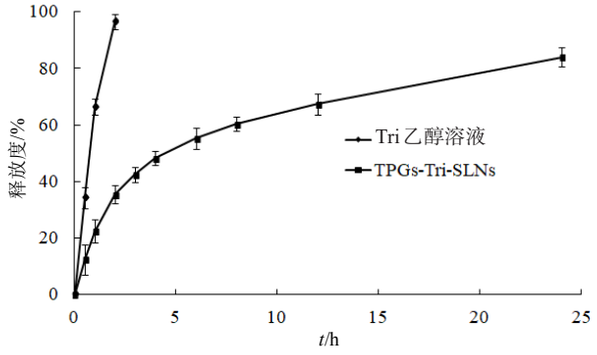

图5 TPGs-Tri-SLNs和Tri乙醇溶液的体外释放曲线（*n*=6）

Fig. 5 *In vitro* release curve of TPGs-Tri-SLNs and triptolide ethanol solution（*n* = 6）

体外药物释放曲线显示，Tri乙醇溶液在2 h内药物可完全释放；TPGs-Tri-SLNs中的药物在前4 h内释放较快，达到了50%左右，而后期药物释放较平缓，24 h释放达到85%左右。

3 讨论

包封率是纳米给药系统重要的质量评价指标之一，目前文献报道[20]测定纳米粒包封率的方法主要包括：透析法、葡聚糖凝胶法、低温超速离心法、超滤离心法等。透析法设备要求较为简单，但是耗时较长，另外由于吸附在纳米粒表面的药物容易解吸附，导致包封率测定结果偏低；葡聚糖凝胶法需要较多凝胶填柱，成本较高，另外与透析法相似，包封率测定结果偏低，且实验重现性较差；低温超速离心法需要超速离心机，设备较为昂贵；超滤离心法具有操作简便，测定时间较短，实验耗材成本较低，超滤离心管可以反复使用，实验重现性较好，本研究选择超滤离心法测定TPGs-Tri-SLNs的包封率。

本研究通过中心复合设计-效应面法得到了TPGs-Tri-SLNs最佳处方：山嵛酸甘油酯浓度为10%，大豆磷脂与TPGs比例4∶1，山嵛酸甘油酯与药物比例为60∶1，制备得到TPGs-Tri-SLNs的粒径为（107.8±16.9）nm，包封率为91.4%±1.1%，呈球型分布，表面光滑；药物释放显示，TPGs-Tri-SLNs在前4 h内药物释放较快，达到了50%左右，而后期药物释放较平缓，24 h释放达到85%左右。本研究制备的TPGs-Tri-SLNs可用于动物体内实验以评价生

物利用度。

参考文献

[1] 崔 进, 陈 晓, 苏佳灿. 雷公藤甲素药理作用研究新进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(14): 2655-2658.

[2] 黄 宇, 马全鑫, 凌 云. 雷公藤甲素抗肿瘤药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 328-333.

[3] 宋基正, 刘宇灵, 林龙飞, 等. 雷公藤甲素抗肿瘤新型给药系统研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1269-1275.

[4] 曹佳薇, 冯 珺, 蔡鑫君, 等. 雷公藤甲素自微乳给药系统的制备及其质量评价 [J]. 中国药师, 2017, 20(4): 638-642.

[5] Gong X M, Chen Y, Wu Y. Absorption and metabolism characteristics of triptolide as determined by a sensitive and reliable LC-MS/MS method [J]. Molecules, 2015, 20 (5): 8928-8940.

[6] Zhang Y C, Li J, Lei X L, et al. Influence of verapamil on pharmacokinetics of triptolide in rats [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2016, 41(4): 449-456.

[7] 林君容, 林 兵, 宋洪涛. 雷公藤甲素与雷公藤红素的体内药动学研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 528-532.

[8] 居星耀. 雷公藤甲素脂质体制备及体内抗肿瘤实验研究 [J]. 中国现代应用药学, 2007, 24(4): 271-274.

[9] Xu L Y, Chen H B, Xu H B, et al. Anti-tumour and immunomodulation effects of triptolide-loaded polymeric micelles [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 70(3): 741-748.

[10] Zheng S Z, Löw K, Wagner S, et al. Cytotoxicity of triptolide and triptolide loaded polymeric micelles *in vitro* [J]. Toxicol In Vitro, 2011, 25(8): 1557-1567.

[11] Chen X Y, Chen W L, Ma M, et al. The potential of follicle-stimulating hormone peptide-modified triptolide-loaded nanoparticles to induce a mouse model of premature ovarian insufficiency [J]. Int J Nanomedicine, 2015, 10: 2765-2774.

[12] 薛 梅, 李学军, 刘素嬛, 等. 固体脂质纳米粒在中药研究中的进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(6): 597-600.

[13] 夏爱晓, 宋倩倩, 孙 渊. 固体脂质纳米粒制备及应用研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2012, 30(5): 331-333, 368.

[14] Collnot E M, Baldes C, Schaefer U F, et al. Vitamin E TPGS P-glycoprotein inhibition mechanism: influence on conformational flexibility, intracellular ATP levels, and role of time and site of access [J]. Mol Pharm, 2010, 7(3): 642-651.

[15] Duan Y W, Zhang B M, Chu L J, et al. Evaluation *in vitro* and *in vivo* of curcumin-loaded mPEG-PLA/TPGS mixed micelles for oral administration [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016, 141: 345-354.

[16] Guo Y Y, Luo J, Tan S W, et al. The applications of vitamin E TPGS in drug delivery [J]. Eur J Pharm Sci, 2013, 49(2): 175-186.

[17] Hao J F, Fang X S, Zhou Y F, et al. Development and optimization of solid lipid nanoparticle formulation for ophthalmic delivery of chloramphenicol using a Box-Behnken design [J]. Int J Nanomedicine, 2011, 6: 683-692.

[18] 佟 玲, 李志宝, 陈 静, 等. 麦角甾苷眼用固体脂质纳米粒制备及其体外释药的研究 [J]. 天津中医药, 2015(6): 368-371.

[19] 曹 琛, 王延东, 苏映雪. HPLC法测定雷公藤甲素滴眼液的含量 [J]. 今日药学, 2018, 28(5): 316-319.

[20] 陈召红, 刘皈阳, 魏亚超. 脂质体包封率测定方法研究进展 [J]. 解放军药学学报, 2011, 27(1): 79-82.