

复方鸦胆子油脂质体冻干粉的质量评价

赵丹丹, 李玉清, 黄绳武*

浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 研究复方鸦胆子油脂质体冻干粉的性质, 建立其质量评价方法。**方法** 考察复方鸦胆子油脂质体的形态、粒径分布、Zeta 电位, 采用 TLC 法对其定性鉴别, 并采用溶剂萃取法测定脂质体封装率。同时, 通过 UV 和 GC 的方法测定其有效成分的含量。**结果** 复方鸦胆子油脂质体冻干粉色泽均匀, 质地细腻, 形态饱满, 其平均粒径为 170.3 nm, 多分散系数 (PDI) 为 0.258, Zeta 电位为 -32.1 mV, 带负电, 脂质体 pH 为 5.05。TLC 鉴别中检出蟾酥、鸦胆子油斑点清晰可见。脂质体冻干粉的平均封装率为 91.90%, 吲哚类生物碱的平均质量分数为 5.19 mg/g, 油酸的平均质量分数为 79.08 mg/g, 亚油酸的平均质量分数 50.41 mg/g。脂质体的平均过氧化值为 0.030 5。**结论** 上述方法适用于复方鸦胆子油脂质体冻干粉的质量评价, 可有效反映其各方面的性质。

关键词: 鸦胆子油; 蟾酥; 脂质体; 质量评价

中图分类号: R943.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2014)02-0135-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.02.009

Quality evaluation of liposomes freeze-powder of compound *Brucea Javanica* oil

ZHAO Dan-dan, LI Yu-qing, HUANG Sheng-wu

Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: **Objective** To study the properties of liposomes freeze-powder of compound *Brucea Javanica* oil (LFP-CBO), and to establish the quality evaluation methods. **Methods** The form, particles distribution, and Zeta potential of LFP-CBO were investigated, TLC was used to identify the chemical composition, the encapsulation efficiency was determined by solvent extraction method, and the active ingredients was determined by UV and GC. **Results** The mean particle size of LFP-CBO was 170.3 nm with uniform color, fine texture, and round shape, and the polydisperse index (PDI) was 0.258. The Zeta potential was -32.1 mV with negative charge, and the pH value was 5.05. The spots of *B. Javanica* and *Veneum Bufonis* were clear on TLC. The average encapsulation efficiency of the optimal formulation was 91.9%. The concentration of indole alkaloids, oleic acid, and linoleic acid was 5.19, 79.08, and 50.41 mg/g, and the peroxide value of LFP-CBO was 0.030 5. **Conclusion** The methods above are suitable for the quality evaluation of LFP-CBO, and could effectively demonstrate its properties.

Key words: *Brucea Javanica* oil; *Veneum Bufonis*; liposomes; quality evaluation

鸦胆子为苦木科 (Simaroubaceae) 植物鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr. 的干燥成熟果实, 具有清热解毒、治痢止泻和腐蚀疣瘤的功效。鸦胆子含油率约为 20%, 油中皂化物占 92.47%, 内含油酸 (oleic acid)、亚油酸 (linoleic acid)、硬脂酸 (stearic acid)、棕榈酸 (palmitic acid) 和三酰甘油酯 (triolein), 其中主要有效成分为油酸和亚油酸, 具有抗肿瘤和提高机体免疫功能的作用。另有研究表明^[1-6], 鸦胆子油是细胞周期非特异性抗癌药, 上市制剂有鸦胆

子油口服乳剂、注射乳剂及软胶囊等。鸦胆子油对耐药肿瘤细胞的生长有明显抑制作用, 可增强细胞对药物的敏感性, 能起到减毒增效作用, 提高患者机体免疫力。

蟾酥系蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 或黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* Schneider 的耳后腺及皮肤腺分泌的白色浆液, 经加工干燥而成。中医认为其具解毒止痛、开窍醒神的功效。蟾酥的化学成分比较复杂, 主要

收稿日期: 2013-09-30

作者简介: 赵丹丹 (1990—), 女, 浙江杭州人, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型与新技术研究。

Tel: (0571)86613726 E-mail: sophie8328@163.com

*通信作者 黄绳武, 男, 硕士生导师。Tel: (0571)86613524 E-mail: hsw55@163.com

有蟾蜍类毒素 (bofotoxins)、蟾毒配基类 (bufogenins)、蟾毒色胺类 (bufotenines) 和一些其他成分, 如吗啡与肾上腺素等。研究认为, 蟾酥可抑制肿瘤细胞 DNA 合成、诱导细胞凋亡, 显著增强机体免疫功能。临床实践证明, 蟾酥中吲哚类生物碱成分具有抗肿瘤及调节免疫的双重作用。目前上市制剂如华蟾素注射液, 主要有效成分为吲哚类生物碱, 已被广泛应用于临床, 它的毒副作用小, 使用安全可靠, 具有广阔的应用前景。

本研究分别提取鸦胆子油和蟾酥水溶性有效成分, 将两者联合应用, 制成中药抗癌复方脂质体。两者均具有诱导细胞凋亡、抑制肿瘤细胞合成的作用, 相互配伍而发挥协同作用, 降低治疗剂量, 以达到增效减毒、扶正固本的目的。复方鸦胆子油脂质体冻干粉是由鸦胆子油、蟾酥水提物组成的中药复方制剂, 具有抗肿瘤和提高免疫力的功效, 且较普通脂质体相比具有产品外观好、含水量少、性质稳定、便于长期储存的优点。为了控制复方鸦胆子油脂质体冻干粉的质量, 本实验对复方鸦胆子油脂质体冻干粉 (liposomes freeze-powder of compound *Brucea Javanica* oil, LFP-CBO) 进行定性定量研究。

1 材料

1.1 仪器

UV759S 紫外可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司); 激光粒度 Zeta 电势测定仪 (德国马尔文, 型号 Zeta size Nano-ZS90); JEM-1230 型透射电子显微镜 (日本 JEOL 公司, 加速电压 80 kV); GC-14A 气相色谱仪 (日本岛津公司); FID 检测器 (日本岛津公司); 雷磁 pH-S3C 酸度计 (上海精密科学仪器有限公司); KQ5200DE 超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); JA203H、FA2004、XY500C 电子天平 (常州市幸运电子设备有限公司); YXJ-2 型高速离心机 (常州金坛电讯电器厂); HH-S 型水浴锅 (巩义市英峪予华仪器厂)。

1.2 试药

油酸对照品、亚油酸对照品 (中国食品药品检定研究院); 5-羟色胺对照品 (南昌贝塔生物科技有限公司); 复方鸦胆子油脂质体冻干粉 (自制); 三氟化硼乙醚 (瑞鼎化学技术上海有限公司); 对二甲氨基苯甲醛 (国药集团化学试剂有限公司); 浓盐酸 (衢州巨化试剂有限公司); 三氯乙酸 (如皋市金陵试剂厂); 2-巯代巴比妥酸 (上海楷洋生物技术有限公司); 磷钨酸 (国药集团化学试剂有限公司); 氢

氧化钠 (浙江中星化工有限公司)。

2 方法与结果

2.1 形态观察

2.1.1 外观形态 复方鸦胆子油脂质体冻干粉呈淡黄色, 色泽均匀, 质地细腻, 维持原体积, 饱满, 不塌陷, 不皱缩, 西林瓶壁干净, 可整块脱落, 但不散碎。复水性良好。

2.1.2 显微形态 采用负染法制备样品。在室温条件下, 取复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加蒸馏水复溶, 稀释到一定浓度。然后滴在碳膜覆盖的铜网上, 使脂质体混悬液在铜网上停留 2~3 min, 用滤纸吸走多余液体, 用 2% 磷钨酸 (NaOH 调 pH7.4) 染色, 自然干燥, 置于透射电镜下观察, 照相。图 1 为复方鸦胆子油脂质体照片。由透射电镜照片可看出, 所制备的脂质体为球形或类球形, 结构圆整, 大小均一, 表示脂质体形态较好。

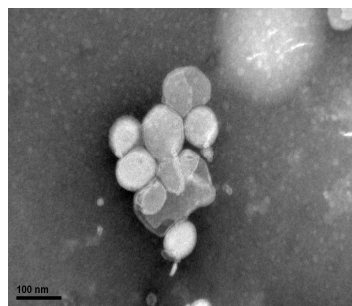


图 1 冻干脂质体透射电镜图

Fig. 1 Transmission electric microscope photographs of freeze-drying liposomes

2.2 粒径及其分布

室温条件下, 取复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加蒸馏水复溶, 稀释到一定浓度, 注入样品池, 激光粒度仪测定平均粒径及其分布。结果表明复方鸦胆子油脂质体冻干粉复溶后平均粒径为 170.3 nm, 多分散系数 (PDI) 为 0.258, 小于 0.4, 可见粒径分布较集中。结果见图 2。

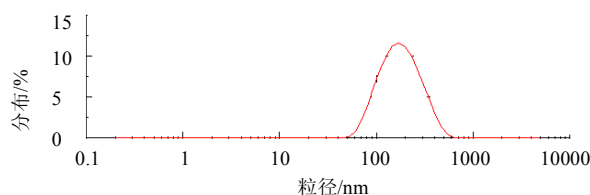


图 2 复方鸦胆子油脂质体粒径分布

Fig. 2 Particle distribution of LFP-CBO

2.3 电位测定

室温条件下, 取复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加蒸馏水复溶, 稀释到一定浓度, 用 Zeta 电位仪测定 Zeta 电位。结果复方鸦胆子油脂质体冻干粉复溶后, Zeta 电位为 -32.1 mV , 其绝对值大于 30 mV , 比较稳定, 脂质体带负电荷。结果见图 3。

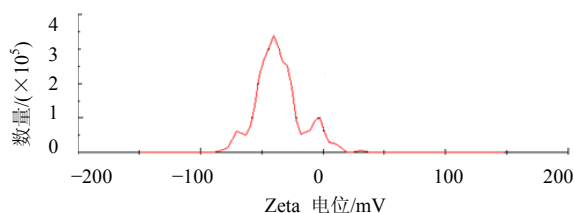


图3 复方鸦胆子油脂质体 Zeta 电位

Fig.3 Zeta potential of LFP-CBO

2.4 pH 值

室温条件下, 取复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加蒸馏水复溶, 稀释到一定浓度, 用 pH 酸度计测定 pH 值。测定 3 批样品平均 pH 为 5.05。

2.5 薄层色谱鉴别

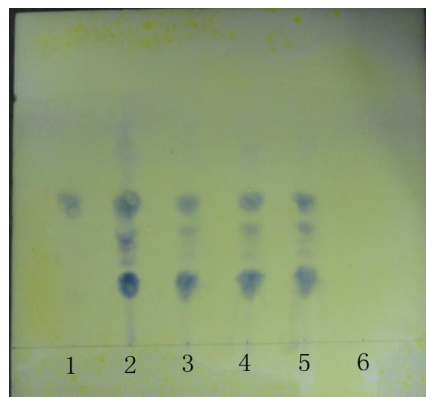
2.5.1 蟾酥的鉴别 对照品溶液的制备: 精密称取 5-HT 对照品 3.1 mg , 置 50 mL 量瓶中, 加水溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得。供试品溶液的制备: 称取复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加入带刻度试管中, 加乙醇超声破乳, 加入适量的氯仿, 涡旋 1 min , 4000 r/min 离心 15 min , 将离心得到的上清液全部取出, 置于 10 mL 量瓶中, 用氮气吹干, 并用水稀释至刻度, 摇匀, 即得。阴性溶液的制备: 称取空白脂质体冻干粉, 加入带刻度试管中, 加乙醇超声破乳, 按照供试液溶液的制备方法处理, 即得。

吸取上述溶液分别点于同一硅胶 G 高效薄层板上, 以正丁醇-醋酸-水 ($4:1:5$) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出晾干, 喷 20% 对二甲氨基苯甲醛盐酸 ($2\rightarrow3$) 溶液, $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中, 在与对照药材、5-HT 色谱相应的位置上, 显相同蓝紫色斑点。结果见图 4。

2.5.2 鸦胆子油的鉴别 对照药材溶液的制备: 取鸦胆子对照药材 1 g , 加石油醚 ($60\sim90\text{ }^{\circ}\text{C}$) 20 mL , 超声处理 0.5 h , 滤过, 滤液补加石油醚 ($60\sim90\text{ }^{\circ}\text{C}$) 使成 20 mL , 即得。对照品溶液的制备: 精密称取油酸对照品 51.6 mg , 置于 10 mL 量瓶中, 加正己烷溶解, 稀释定容, 作为油酸对照品溶液。精密称取亚油酸对照品 51.0 mg , 置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷溶解, 稀释定容, 作为亚油酸对照品溶液。

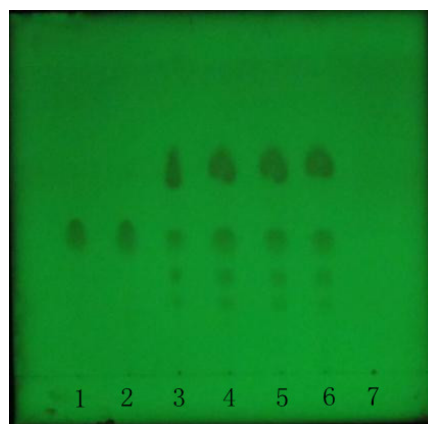
供试品溶液的制备: 称取适量复方鸦胆子油脂质体冻干粉, 加水复溶, 加乙醇超声破乳, 等体积石油醚萃取 3 次, 取上层, 挥干, 2 mL 正己烷溶解即得。阴性溶液的制备: 称取适量空白脂质体冻干粉适量, 按供试品溶液的制备同法处理, 即得。

吸取上述溶液分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 板, 以石油醚-醋酸乙酯-冰醋酸 ($8:2:0.1$) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 碘蒸汽熏蒸, 于 254 nm 紫外灯下观察。复方鸦胆子油脂质体与对照品溶液、对照药材相应位置上显相同黄色斑点, 而阴性样品无干扰。结果见图 5。



1-5-HT; 2-蟾酥对照药材; 3-20130101; 4-20130108; 5-20130115;
6-阴性
1- 5-HT; 2- reference crude herb; 3- 20130101; 4- 20130108;
5- 20130115; 6-negative

图4 蟾酥薄层色谱鉴别
Fig. 4 TLC results of *Venenum Bufonis*



1-5-HT; 2-鸦胆子油对照药材; 3-20130101; 4-20130108;
5-20130115; 6-阴性
1- oleic acid; 2- linoleic acid; 3- reference crude herb; 4-20130101;
5- 20130108; 6- 20130115; 7-negative

图5 鸦胆子油薄层色谱鉴别
Fig. 5 TLC results of *B. Javanica* oil

2.6 蟾酥有效成分的测定

2.6.1 线性范围 精密称取 5-HT 对照品 3.1 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加水使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得 5-HT 对照品溶液。精密吸取对照品溶液 0.6、1.0、1.4、1.8、2.2、2.6 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各加水至 5 mL, 精密加入 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸 (2→3) 溶液 5 mL, 摇匀, 室温 (20 ℃ 以上) 放置 30 min, 照紫外-可见分光光度法试验, 以相应的试剂为空白, 在 555 nm 波长处测定吸光度值, 以浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。得线性范围 $Y=0.0507X+0.0634$, $R^2=0.9983$, 即 5-HT 在 3.72~16.12 μg/mL 线性关系良好。

2.6.2 精密度 精密量取低、中、高浓度的 5-HT 对照品溶液 (3.72、8.68、16.12 μg/mL), RSD 值分别为 0.48%、0.47%、0.74%, 表明该法精密度良好。

2.6.3 稳定性 精密吸取 2.0 mL 5-HT 对照品溶液, 在室温下放置不同时间 (20、30、40、50、60 min), 以相应的试剂为空白, 在 555 nm 波长处测定吸光度。表明样品显色后 30 min 的吸光度达到最高值, 因此显色 30 min 进行测定最佳。

2.6.4 回收率 精密吸取适量空白脂质体, 加入对照品溶液 (62.0、86.8、111.6×10⁻³ mg), 在 555 nm 波长处测定吸光度值, 平均回收率为 (97.3±1.88) %, RSD 为 1.94% (n=9), 表明该方法回收率符合要求。

2.6.5 含量测定 测定 3 批样品, 吡啶类生物碱的平均质量分数为 5.19 mg/g。

2.7 鸦胆子油有效成分的测定

2.7.1 色谱条件 色谱柱为 DM-InertWax 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), FID 检测器。柱温 150 ℃, 进样口温度 250 ℃, 检测器温度 250 ℃, 载气为高纯氮, 体积流量 1.0 mL/min; 恒流, 分流比 100:1, 进样量 5 μL。采用程序升温方式, 150 ℃停留 1 min, 20 ℃/min 升至 200 ℃停留 2 min, 10 ℃/min 升至 220 ℃停留 10 min。在此条件下, 各脂肪酸衍生物能够达到基线分离, 且分离度大于 1.5。理论塔板数按油酸峰面积计算, 不低于 40 000。

2.7.2 线性范围 精密称取油酸对照品 51.6 mg, 置于 10 mL 量瓶, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为油酸对照品母液。精密吸取母液 4 mL, 置于 25 mL 量瓶, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为油酸对照品溶液。精密量取油酸对照品溶液

0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL, 分别置于 10 mL 具塞试管中, 用氮气吹干, 加 0.5 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL, 摇匀, 置 60 ℃ 水浴皂化 25 min, 每隔数分钟振摇一次, 待油珠全部消失, 取出, 放冷。加入 15% 三氟化硼乙醚甲醇溶液 2 mL, 摇匀, 置 60 ℃ 水浴酯化 2 min, 放冷。精密加入正己烷 2 mL, 充分振摇, 加饱和氯化钠溶液适量, 使溶液上浮至瓶颈, 立即吸取上层有机溶液, 加 0.5 g 无水硫酸钠振摇脱水。0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 进样 5 μL, 以峰面积对油酸质量进行线性回归, 得回归方程 $Y=156837X+7580.5$, $R^2=0.9992$, 表明油酸在 0.165~1.156 mg 线性关系良好。

精密称取亚油酸对照品 51.0 mg, 置于 25 mL 量瓶, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为亚油酸对照品母液。精密吸取母液 10 mL, 置于 25 mL 量瓶, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为亚油酸对照品溶液。精密量取亚油酸对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL, 同法操作制备样品。以峰面积对亚油酸质量进行线性回归, 得回归方程 $Y=159576X+7916.9$, $R^2=0.9991$, 表明亚油酸在 0.163~1.142 mg 线性关系良好。

2.7.3 精密度 精密吸取不同量的油酸对照品溶液 (0.495、0.826、1.156 mg), 经衍生化处理后, 于日内重复进样分析, RSD 值分别为 1.33%、1.16% 和 0.94% (n=6)。

精密吸取不同含量的亚油酸对照品溶液 (0.326、0.653、0.979 mg), 经衍生化处理后, 于日内重复进样分析, RSD 值分别为 0.83%、1.70% 和 0.88% (n=6)。

2.7.4 稳定性 精密吸取同一新制备供试品, 经衍生化处理后, 别于 0、2、6、8、12、24 h 进样, 油酸峰面积 RSD 值为 2.57%, 亚油酸峰面积 RSD 值为 2.27%。

2.7.5 回收率 精密吸取适量空白脂质体, 加入油酸对照品溶液 (0.502、0.628、0.754 mg), 经衍生化处理后进样分析, 平均回收率为 100.35%, RSD 值为 2.12% (n=9)。

精密吸取适量空白脂质体, 加入油酸对照品溶液 (0.205、0.307、0.410 mg), 经衍生化处理后进样分析, 平均回收率为 99.69%, RSD 值为 2.83% (n=9)。

2.7.6 含量测定 测定 3 批样品, 油酸平均质量分数为 79.08 mg/g, 亚油酸平均质量分数 50.41 mg/g。

2.8 包封率的测定

采用萃取法进行包封率的测定。精密量取复方鸭胆子油脂质体,加入破膜剂,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得脂质体中所含的鸭胆子油 $W_{\text{总}}$ 。精密量取复方鸭胆子油脂质体,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得脂质体中所含的鸭胆子油 $W_{\text{游}}$;取下层,加入破膜剂,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得包封入脂质体中的鸭胆子油 $W_{\text{包}}$ 。衍生化处理,按照色谱条件进样。根据下列公式计算包封率:包封率 = $(W_{\text{包}}/W_{\text{总}}) \times 100\%$, 其中 $W_{\text{总}}$ 为总药量, $W_{\text{包}}$ 为包入脂质体的药量, $W_{\text{游}}$ 为游离药量。

为避免脂质体受到破坏,分离前应进行脂质体在萃取液中的回收率,鉴定方法的可行性。按照上述方法进行测定。根据下列公式计算回收率:回收率 = $(W_{\text{包}} + W_{\text{游}})/W_{\text{总}} \times 100\%$ 。平均回收率为 $(99.58 \pm 2.31)\%$, RSD 值为 2.32%。说明该方法回收率符合要求。萃取法适合作为复方鸭胆子油脂质体的包封率测定方法。按照脂质体包封率测定方法测定 3 批样品,平均包封率为 91.90%。

2.9 脂质体过氧化值 (POV) 的测定

磷脂分子中含有不饱和脂肪酸链,化学性质不稳定,易氧化水解,使膜流动性降低,药物渗漏加快,生成过氧化产物,如丙二醛、脂肪酸等,会对人体产生毒性。丙二醛 (MDA) 在酸性条件下可与硫代巴比妥酸反应,生成的红色产物 (TBA-pigment),在 535 nm 处有吸收,测定其吸收值即可得出丙二醛的含量,从而可以考察磷脂的氧化程度。本课题采用丙二醛测定法考察脂质体的氧化程度。

称取适量复方鸭胆子油脂质体冻干粉,用蒸馏水复溶后,精密吸取复方鸭胆子油脂质体溶液 1 mL,置 10 mL 离心管中,加入 TTH 试液 (三氯醋酸 30 g,硫代巴比妥 0.75 g,加 0.25 mol/L 的盐酸 200 mL,温热至溶解,放冷后滤过) 5 mL,混匀,置 100 °C 水浴加热 30 min,冷却至室温,加 4.0 mL TTH 试液,混匀以后 4 000 r/min 离心 10 min。取上清液,并以 TTH 试液为空白对照,测定 535 nm 处吸光度,记作过氧化值。测定 3 批样品,平均过氧化值为 0.030 5。

3 讨论

Zeta 电位是评价脂质体性质的重要指标。因为

带电脂质体能减少相互间的聚集和融合,增加稳定性,而 Zeta 电位可以衡量电荷的多少。当 Zeta 电位绝对值大于 60 mV 时,荷电粒子相当稳定;Zeta 电位绝对值在 30~60 mV 时,荷电粒子比较稳定;当 Zeta 电位绝对值小于 30 mV 时,荷电粒子较不稳定,容易聚集^[3]。带电荷脂质体能够减少相互间的聚集和融合,增加稳定性。所制备的复方鸭胆子油脂质体的 Zeta 电位平均值为 -32.1 mV,较为稳定,便于长期储存。

在预试验中,先后考察了非极性、中极性和强极性毛细管柱对鸭胆子油分离情况的影响。结果表明,非极性柱和中极性柱均不能使药物达到有效分离,并产生严重的拖尾现象。而强极性柱,能够将鸭胆子油各成分达到基线分离,且峰形尖锐,符合要求。

包封率测定方法较多,如柱色谱^[4]、超滤法^[5]、微柱离心法^[7]、高速离心法^[8]、透析法^[9]、鱼精蛋白凝聚法^[10]等。在预试验中,对包封率的测定方法进行了考察。经多次重复实验表明,高速离心法不足以完全沉淀脂质体,脂质体未能完全分离,该方法对机器的要求较高,随着离心时间的延长,离心机发热,可能使脂质体渗漏。采用葡聚糖凝胶 G-50 色谱柱法,处理过程繁多,耗时较长,需要预装柱、柱平衡、预饱和等多个程序,柱长、葡聚糖用量、流速等因素显著影响洗脱效果。洗脱过程中出现流动相流速过缓等问题,导致游离药物峰与脂质体峰不能完全分离,使脂质体分离效果不佳。因此高速离心与柱色谱法均不适合复方鸭胆子油脂质体包封率的测定。萃取法简便易行,成本低,对仪器要求不高,尤其适合脂溶性药物脂质体的分离,因此确定该方法作为包封率的测定方法。

参考文献

- [1] 丁雨钦,曲杰,张晶晶,等. 鸭胆子油乳联合 siRNA-ERCC1 对肺腺癌 A549/DDP 细胞的耐药逆转作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 235-239.
- [2] 孙珊珊,王慧云,陆爱华. 全反式维甲酸前体脂质体的制备及磷脂过氧化值的测定 [J]. 中国当代医药, 2010, 17(14): 114.
- [3] 张阳德,曹政科,张峰. 苯磺酸氨氯地平柔性纳米脂质体冻干工艺研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(14): 2111-2113.
- [4] Suganami A, Toyota T, Okazaki S, et al. Preparation and characterization of phospholipid-conjugated indocyanine green as a near-infrared probe [J]. Bioorg Med Chem Lett,

- 2012, 22(24): 7481-7485.
- [5] 庄英华, 张中文, 韩伟. 超滤离心法测定连翘酯苷脂质体包封率 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(18): 2209-2216.
- [6] 陈钢, 张晓, 卢刚, 等. 鸦胆子油微囊-原位凝胶的制备及体外释药机制的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1306-1309.
- [7] 陈召红, 刘皈阳, 魏亚超. 微柱离心高效液相色谱法测定盐酸阿霉素磁性热敏脂质体包封率 [J]. 解放军药学报, 2010, 26(6): 496-499.
- [8] Cadena P G, Pereira M A, Cordeiro R B, *et al.* Nanoencapsulation of quercetin and resveratrol into elastic liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1828(2): 309-316.
- [9] 白兰, 赵明琴, 尹蓉莉, 等. 龙胆苦苷脂质体含量测定及包封率考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 48-50.
- [10] 贾献慧, 唐文照, 闫军. 丹皮酚脂质体的研制及其体外释放研究 [J]. 中成药, 2011, 33(2): 255-258.