

芍药苷微囊的制备及其体外释药研究

董自亮, 卢君蓉, 高飞, 郑勇凤, 胡慧玲, 傅超美*

成都中医药大学药学院 中药资源系统研究与开发利用省部级重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

摘要: 目的 研究芍药苷微囊的制备工艺, 并考察其体外释药特性。方法 以包封率、载药量为指标, 采用复凝聚法制备芍药苷微囊, 用 Doehlert 设计法对芍药苷的制备工艺进行优化, 用 HPLC 法测定微囊在 20 h 内溶出的量并做释放度考察曲线, 且采用电镜对其形态与粒径进行考察。结果 芍药苷微囊的囊材囊心比、搅拌速率及体系的 pH 值对微囊的包封率与载药量均有显著影响, 当囊材囊心比为 4.3 : 1、搅拌速率为 305 r/min、pH 值为 4.0 时, 制得的芍药苷微囊圆整光滑, 无粘连, 粒径均匀, 包封率可高达 83.81%, 载药量为 24.24%, 囊径在 200 μm 以下, 且有一定的缓释作用。结论 复凝聚法制备芍药苷微囊工艺简单、可靠, 产品稳定性好; 微囊作为一种新兴剂型, 具有广阔的开发前景。

关键词: 芍药苷; 复凝聚法; 微囊; Doehlert 设计; 体外释药

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2013)13 - 1756 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.011

Preparation of paeoniflorin microcapsule and its *in vitro* release behavior

DONG Zi-liang, LU Jun-rong, GAO Fei, ZHENG Yong-feng, HU Hui-ling, FU Chao-mei

Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines of Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To optimize the preparation technology of paeoniflorin microcapsule (PM), and to study its behavior of *in vitro* release. **Methods** Using encapsulation efficiency and drug loading as indicators, the PM were prepared by complex agglutination method, the preparation technology of PM was optimized by Doehlert design. The dissolution volume of PM within 20 h and the release curve were measured by HPLC, afterwards its morphology and particle size were studied by electron microscopy. **Results** The encapsulation efficiency and drug loading were significantly related to the ratio of coating material, stirring speed, and pH value. The optimal conditions were as follows: the ratio of coating material to paeoniflorin was 4.3 : 1, the stirring speed was 305 r/min, and the pH value was 4.0. The obtained microcapsules were smooth round capsule-shaped, with non-adhesions and uniform particle size, the encapsulation efficiency was up to 83.81%, the drug loading was 24.24%, and the microcapsule diameter was below 200 μm , with sustained-release effect. **Conclusion** The complex agglutination method is simple and reliable to prepare PM, and the product is stable. As a new formulation, microcapsule has a broad prospect for development.

Key words: paeoniflorin; complex agglutination method; microcapsule; Doehlert design; *in vitro* release

芍药苷是白芍总苷和赤芍总苷的主要活性成分, 占白芍总苷的 90% 以上。药理活性研究表明芍药苷具有抗凝、抗动脉粥样硬化、抗血栓、抗组织损伤及抗风湿性关节炎等作用^[1-2]。但是, 芍药苷胃肠吸收差, 体内生物利用度低^[3], 对温度^[2]及光照^[4]不稳定。近年来学者对芍药苷新制剂作了大量的研究, 将其制成微乳^[5]、磷脂复合物^[6]等, 但是未见

芍药苷微囊制剂 (paeoniflorin microcapsule, PM) 的文献报道。微囊化是近年来发展较快的一种提高难溶药物生物利用度的制剂新技术, 药物经微囊化后, 粒径减小且高度分散, 表面积相应增大, 根据 Noyes-Whitney 方程, 其溶出速率也会增加, 从而改善药物吸收, 提高其生物利用度^[7-9]。另一方面药物微囊化后, 可以制备成颗粒剂、胶囊剂、分散片、

收稿日期: 2012-12-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81001638); 四川省科技厅科技支撑计划项目 (2011SZ0063)

作者简介: 董自亮 (1985—), 男, 博士生, 执业药师, 研究方向为药物新剂型、新技术。

Tel: 18225129378 Fax: (023)72801480 E-mail: dzlcutcm@163.com

*通信作者 傅超美 Tel: (028)61800231 E-mail: chaomeifu@126.com

网络出版时间: 2013-05-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130516.1009.004.html>

凝胶剂等剂型,方便临床用药^[10-11]。本实验采用微囊化技术制备芍药苷微囊,对其处方及工艺进行优化,并对其体外释药性质、形态及粒径分布等进行初步的研究。

1 仪器与材料

BP2110 电子天平(德国赛多利斯公司);DF-101S 恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂);S-3000N 扫描电子显微镜(日本日立公司);Olympus-CX31 型电子显微镜(日本奥林巴斯株式会社);SPD-20A 液相色谱仪(LC-20AT,日本岛津);pHS-3C 型精密酸度计(上海大普仪器有限公司);ZDF 型低温真空干燥箱(南京天利制药设备有限公司);D-800LS 药物智能溶出仪(天津大学无线电厂)。

芍药苷原料药(自制,经 HPLC 色谱峰面积归一化法计算其质量分数 $\geq 95\%$);芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110736-201024);阿拉伯胶(国药集团化学试剂有限公司);明胶(药用级,天津登峰化学品有限公司);戊二醛(天津市化学试剂六厂);乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定芍药苷^[12]

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相为乙腈-水(16:84);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 230 nm;柱温 30 $^{\circ}$ C。理论塔板数按芍药苷峰计算不低于 2 000。

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称取芍药苷对照品 9.8 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的配制 取适量芍药苷微囊,研细,置圆底烧瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声 20 min,放冷,再称定质量,以甲醇补足损失的质量。滤过,弃去初滤液,取续滤液,以 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,同法制备缺芍药苷的空白溶液。

2.1.4 专属性考察 分别配制空白溶液、对照品溶液、供试品溶液,按“2.1.1”项色谱条件进行试验,结果显示所建立的方法专属性良好,且各成分和溶剂之间无干扰,色谱图见图 1。

2.1.5 线性关系考察 精密量取对照品储备液,分别配成 24.5、49.0、147.0、245.0、343.0、490.0 μ g/mL 的溶液,按“2.1.1”项色谱条件各进样 10 μ L,测定峰面积。以质量浓度为横坐标(X),峰面积积分

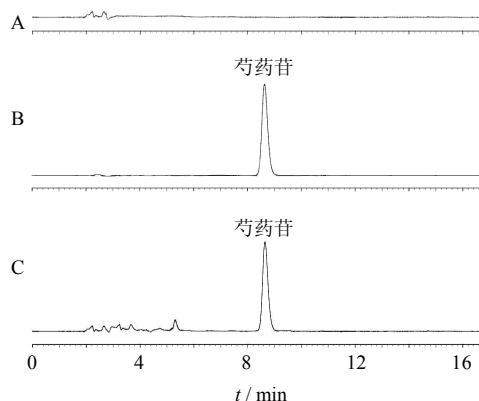


图1 空白样品(A)、芍药苷对照品(B)和样品(C)溶液的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank sample (A), paeoniflorin reference substance (B), and sample solution (C)

值为纵坐标(Y)进行线性回归,得到回归方程 $Y=7\ 139.7 X+30.233$, $r=0.999\ 7$,结果表明芍药苷在 24.5~490.0 μ g/mL 线性关系良好。

2.2 载药量和包封率的测定

精密称取已真空干燥的芍药苷微囊适量,按照该“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,测定芍药苷峰面积,根据回归方程求得其质量浓度,换算出微囊中芍药苷的量,计算载药量和包封率。

载药量=微囊中芍药苷的质量 / 微囊的质量

包封率=微囊中芍药苷的质量 / 投入芍药苷的总量

2.3 数据处理

采用 SAS 8.1 软件对统计数据进行分析。

2.4 微囊的制备工艺设计

2.4.1 微囊的制备 分别称取明胶、阿拉伯胶 2 g,加 50 mL 水溶胀后,分别配成 4% 的溶液,备用。精密称取芍药苷(药粉过 100 目筛) 0.4 g,加入少量阿拉伯胶溶液研磨成混悬液,再加入等量的明胶与阿拉伯胶共 50 mL,混匀后置烧杯中于 50 $^{\circ}$ C 的恒温水浴中以 300 r/min 搅拌,滴加 5% 醋酸溶液调节 pH 值至 3.5~4.5,继续搅拌约 15 min,加入 2 倍量蒸馏水(50 $^{\circ}$ C 温水),待体系自然冷却至 30 $^{\circ}$ C 以下后,冰浴迅速冷却至 10 $^{\circ}$ C 以下,用 4% 戊二醛溶液约 25 mL 固化 15 min,静置使其充分沉降,倾去上清液,微囊滤过,用水洗至无醛味,于 50 $^{\circ}$ C 真空干燥,即得芍药苷微囊。整个实验过程须避光操作。

2.4.2 预试验及其结果 为了优化芍药苷微囊制备工艺,结合相关文献报道^[13],本课题组对影响成囊

的 5 个因素（囊材囊心比例、胶液的质量浓度、体系的 pH 值、搅拌速率及成囊温度）进行考察，发现胶液质量浓度在 3%~5%、成囊温度在 45~55 ℃ 对其成囊影响均不大，故将其胶液的质量浓度暂定为 4%，成囊温度为 50 ℃。对囊材囊心比考察发现，当囊材囊心比小于 1:1 时，芍药苷无法被完全包裹，包封率低于 20%，当囊材囊心比大于 5:1 时，芍药苷包裹效果较好，但载药量却低于 10%，因此囊材囊心比控制在 1:1~5:1，包封率和载药量均有较好的结果。对搅拌速率考察发现搅拌速率过高，囊泡易破裂，包封率下降明显；而搅拌速率过低，囊泡则易粘连，微囊结块严重，故搅拌速率暂定为 100~400 r/min。体系的 pH 值对成囊也有影响，过高不发生凝聚反应，过低则微囊易粘连，试验显示

pH 值控制在 3.5~4.5 为佳。

2.4.3 Doehlert 设计 根据预试验结果，以直接影响成囊的囊材囊心比 (X_1)、搅拌速率 (X_2) 及 pH 值 (X_3) 为主要因素，每个因素设置 3 个水平；以该 3 因素 3 水平及其设计矩阵编码值来定义 Doehlert 设计矩阵。编码值与真实值之间的关系用公式表示为 $C_i = [(X_i - X_i^0) / \Delta X_i] \alpha$ ，其中 C_i 为因素 i 不同水平的编码值， X_i 为真实值， X_i^0 为因素在水平区域间的中值， ΔX_i 为每个因素水平间的极值与中值的跨距， α 为每个因素编码值的极值。试验次数 (N) 用公式 $N = k^2 + k + C_0$ 计算，其中 k 为因素数， C_0 表示评价模型实验误差的中心点的数目，即试验次数。各因素按设计矩阵选择的水平数及对应的编码值见表 1。

表 1 Doehlert 设计及其编码值
Table 1 Doehlert design and their coding values

试验号	X_1	$X_2 / (\text{r} \cdot \text{min}^{-1})$	X_3	$Y_1 / \%$	$Y_2 / \%$	d_1	d_2	D
1	3:1 (0)	250 (0)	4.0 (0)	75.16	22.04	0.83	0.98	0.90
2	5:1 (1)	250 (0)	4.0 (0)	82.89	21.34	1.00	0.94	0.97
3	4:1 (0.5)	400 (0.866)	4.0 (0)	75.30	22.18	0.83	0.99	0.91
4	4:1 (0.5)	300 (0.289)	4.5 (0.817)	75.56	22.32	0.83	1.00	0.91
5	1:1 (-1)	250 (0)	4.0 (0)	53.91	14.23	0.35	0.48	0.41
6	2:1 (-0.5)	100 (-0.866)	4.0 (0)	38.51	6.84	0.00	0.00	0.00
7	2:1 (-0.5)	200 (-0.289)	3.5 (-0.817)	54.08	11.58	0.35	0.31	0.33
8	4:1 (0.5)	100 (-0.866)	4.0 (0)	58.49	10.88	0.45	0.26	0.34
9	4:1 (0.5)	200 (-0.289)	3.5 (-0.817)	73.29	12.56	0.78	0.37	0.54
10	2:1 (-0.5)	400 (0.866)	4.0 (0)	50.65	21.20	0.27	0.93	0.50
11	3:1 (0)	350 (0.577)	3.5 (-0.817)	71.43	20.79	0.74	0.90	0.82
12	2:1 (-0.5)	300 (0.289)	4.5 (0.817)	72.86	21.48	0.77	0.95	0.86
13	3:1 (0)	150 (-0.577)	4.5 (0.817)	64.57	17.58	0.59	0.69	0.64

2.5 模型处理与优化

渴求函数 (d) 是将响应值 (Y_i) 转换为渴求值 d_i ($0 \leq d_i \leq 1$)。当 $d_i = 0$ 时，结果不可接受，而当 $d_i = 1$ 时，结果最佳。对取值越大越好的指标 (I) 和取值越小越好的指标 (II)， d 分别用下列公式表示：I 若 $Y_i \leq Y^-$ ， $d_i = 0$ ；若 $Y_i \geq Y^+$ ， $d_i = 1$ ；若 $Y^- < Y_i < Y^+$ ， $d_i = [(Y_i - Y^-) / (Y^+ - Y^-)]^r$ 。II 若 $Y_i \geq Y^+$ ， $d_i = 0$ ；若 $Y_i \leq Y^-$ ， $d_i = 1$ ；若 $Y^- < Y_i < Y^+$ ， $d_i = [(Y_i - Y^+) / (Y^- - Y^+)]^r$ 。式中 Y^- 、 Y^+ 分别为相应的最小值和最大值， r 为用来调整渴求函数形状的转化因素。

整体渴求函数 (D)：假定某优化过程有 n 个响应，第 i 次响应已经选定了 1 个渴求函数 d_i ($i = 1, \dots, n$)，则整体渴求函数可表示为 $D = (d_1 d_2 \dots d_n)^{1/n}$ ，即

为 d_i 的几何平均数。由此可见，能使 D 最大化的因素水平设计矩阵即为最优化条件^[14]。

本实验以芍药苷微囊的包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2) 为考察指标，渴求值分别为 d_1 、 d_2 ； Y_1 相对应的极值 Y^+ 、 Y^- 分别为 82.89%、38.51%； Y_2 相对应的极值 Y^+ 、 Y^- 分别为 22.32%、6.84%； $r = 1$ ， Y_1 、 Y_2 分别转化为相应渴求值 d_1 、 d_2 ；再计算 d_1 、 d_2 的几何平均数得到相应的 D 。结果见表 1。

运用统计分析软件 SAS 8.1 中的 Proc RsReg 命令对试验数据进行多元回归和二次项方程拟合，通过负相关系数 (r) 判断模型的优劣，得回归方程： $Y_1 = -3.524 + 0.013 X_1 + 0.713 X_2 + 0.347 X_3 - 0.000 02 X_1^2 + 0.000 8 X_1 X_2 - 0.028 X_2^2 - 0.001 X_3 X_1 - 0.153$

$X_2X_3+0.076 X_3^2 (P=0.002 3, r=0.995 5); Y_2=-229.138+0.347 X_1+7.214 X_2+89.343 X_3-0.000 3 X_1^2-0.005 X_1X_2-1.064 X_2^2-0.04 X_3X_1+0.44 X_2X_3-9.382 X_3^2(P=0.011 8, r=0.986 5); D=-11.4+0.019 X_1+0.786 X_2+3.927 X_3-0.000 02 X_1^2+0.000 2 X_1X_2-0.053 X_2^2-0.002 X_3X_1-0.092 X_2X_3-0.362 X_3^2 (P=0.039, r=0.969 4)。$

由拟合方程可以看出 $Y_1、Y_2、D$ 的 r 值均 >0.96 , P 值均 <0.05 , 说明二次项方程拟合效果较好。为进一步确定因素最佳取值, 通过中值法对非线性回归模型求一阶偏导, 并设其为 0, 由此得出各因素的最佳条件: 囊材囊心比 4.32、搅拌速率 304.86 r/min 及 pH 值 4.0。此时 D 值为 1.04, $Y_1、Y_2$ 分别为 83.81%、24.24%。

2.6 验证试验

为了验证该模型方程对该实验工艺优化的适用性, 通过进一步的试验对模型拟合结果进行验证, 兼顾操作的可行性, 对各因素取值进行调整, 即在囊材囊心比 4.3、搅拌速率 305 r/min 及 pH 值 4.0 水平上, 按照优化的最佳工艺制备 3 批芍药苷微囊, 并测定其载药量和包封率, 结果见表 2, 得到芍药苷微囊的包封率、载药量均较高, 平均分别为 83.44%、23.86%, 且质量稳定。与模型预测值吻合度较好, 说明利用 Doehlert 设计矩阵分析法所得工艺参数真实可靠、具有实用价值。

表 2 最佳工艺验证 ($n=3$)

Table 2 Verification of optimal technology ($n=3$)

批号	包封率 / %	载药量 / %
120901	84.43 ± 1.62	25.08 ± 1.08
120902	82.35 ± 2.14	22.89 ± 1.27
120903	83.54 ± 1.30	23.62 ± 0.96

2.7 微囊形态及粒径分布

制得的芍药苷微囊呈白色略泛黄色。采用扫描电子显微镜观察其表面形态, 结果见图 2。微囊形态圆整, 表面光滑, 无粘连, 囊壁清晰。用带有标尺的光学显微镜测得 100 个芍药苷微囊的粒径, 以粒径为横坐标, 频率为纵坐标, 绘制柱形图, 结果见图 3, 可见微囊粒度主要分布在 100 μm 左右, 最大粒径不超过 200 μm 。

2.8 微囊的体外释药特性

按《中国药典》2010 年版二部溶出度测定 (转篮法) 微囊的体外释药特性。取芍药苷及已制备的

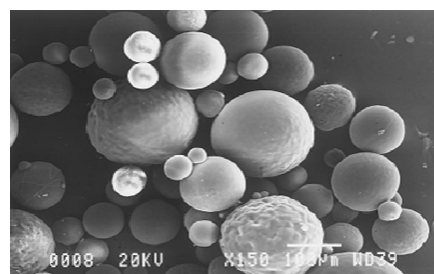


图 2 微囊电镜扫描照片

Fig. 2 Photographs of microcapsule by SEM

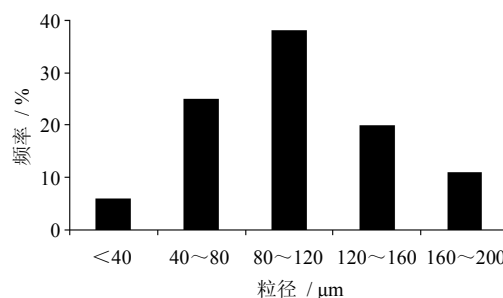


图 3 芍药苷微囊粒径分布图

Fig. 3 Particle diameter distribution of PM

载药微囊约 50 mg, 分别置于盛有 900 mL、pH 6.8 的磷酸盐缓冲液的溶出度仪转篮中, 调节转速为 100 r/min, 加热至缓冲液的温度恒定在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。分别于 0.5、1、2、4、6、8、12、16、20 h 时吸取 5 mL 释放液, 并补加等量等温的空白缓冲液, 释放液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 测定, 计算不同时间芍药苷及其微囊中药物的累积释药率, 结果见图 4。

由图 4 可见, 芍药苷微囊在体外有较好的缓释效果, 延长了药物的作用时间。释药曲线前部分较陡直, 释药较为迅速, 3 h 累积释药量已达 50% 以

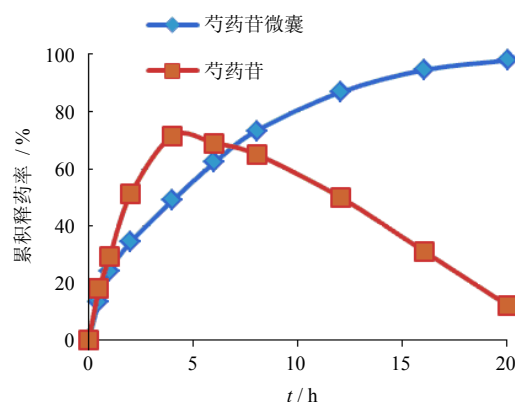


图 4 芍药苷及其微囊的体外累积释药曲线

Fig. 4 Cumulative curves for *in vitro* release of paeoniflorin and PM

上, 后部分曲线平缓, 释放较慢。采用线性回归法分别对芍药苷微囊体外释放曲线按照零级动力学方程、一级动力学方程及 Higuchi 方程进行模型拟合, 拟合方程分别为 $M_t=5.95 t+24.97$, $r=0.805$; $\ln(1-M_t)=-0.272 t-0.017$, $r=0.992$; $M_t=30.032 t^{1/2}-0.383$, $r=0.982$ 。可见芍药苷微囊体外释放按照一级动力学模型释药。

3 讨论

本研究采用 Doehlert 试验设计确定了囊材囊心比、搅拌速率及 pH 值 3 个自变量与指标微囊包封率及载药量间的回归方程, 并通过回归方程确定自变量的最佳取值, 优化芍药苷微囊的制备工艺, 进一步的验证试验表明筛选的最佳工艺适合于芍药苷微囊的制备, 制得的微囊粒径圆整、大小均匀, 且制备工艺简单, 重复性好。体外释放度试验表明, 芍药苷制备成微囊后释药缓慢, 符合一级释药模型, 有利于延长其在体内的药效时间, 为进一步制备成缓释胶囊、缓释片等制剂奠定了基础。

Doehlert 设计与星点设计、Box-Behnken 等方法相比, 具有因素水平设置灵活、实验次数较少、效率高等特点; 与正交设计、均匀设计等相比, 具有预测性好的优点。本研究采用 Doehlert 设计方法, 建立用多元回归数据模型, 通过模型拟合及回归方程确定最佳工艺参数, 以此参数制备的微囊各项指标实测值与预测值相差较小, 模型预测性良好。因此, 以 Doehlert 试验设计作为多指标的优化方法, 能较客观地反映各因素对工艺条件的影响。

复凝聚法制备微囊是由 2 种带有相反电荷的囊材相互交联而凝聚成囊, 故成囊温度、pH 值等环境因素均会影响微囊的性质^[15-16]。本实验采用明胶和阿拉伯胶为囊材凝聚成囊, 两者的质量分数宜在 3%~5%, 且比例为 1:1, 研究中首先考察了囊材的质量浓度, 质量浓度过高, 微囊不规则、易粘连; 质量浓度过低则包封率低, 影响产能。微囊制备过程中, 在匀速搅拌下调好 pH 值后立即用 2 倍量的水稀释并搅拌使微囊快速分散以免微囊粘连。此外, 在制备中必须加入交联剂固化以保证不变形, 由于芍药苷在碱性环境下不稳定, 本实验采用戊二醛而非甲醛作为微囊固化剂。包封率能很好地反应制备工艺对产品的影响, 载药量是产品应用时需要考虑的重要指标, 合理的载药量需要结合制剂、药理等指标综合评价。

芍药苷及芍药苷微囊的溶出度实验结果表明, 在 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液中, 微囊中芍药苷释药缓慢, 可见芍药苷微囊在体内生理环境下可产生缓释的药效。

参考文献

- [1] 韩 珍, 贺 弋. 白芍总苷的药理作用及其毒性研究进展 [J]. 宁夏医学院学报, 2008, 30(4): 538-541.
- [2] 解江纯, 刘志东, 田 慧, 等. 芍药苷稳定性研究 [J]. 天津中医药, 2010, 27(4): 344-345.
- [3] 丁光超, 王芳芳, 叶肖栗. 芍药苷在大鼠体内的药动学和生物利用度研究 [J]. 西北药学杂志, 2009, 24(2): 124-125.
- [4] 罗 娟, 呼延玲, 刘晓玲. 光照对芍药苷稳定性的影响 [J]. 中国药师, 2011, 14(1): 87-88.
- [5] 凌 琳, 陈镜宇, 包 旻, 等. 芍药苷微乳与芍药苷对大鼠佐剂性关节炎作用的比较 [J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(3): 240-244.
- [6] 周海滨, 杨海玲, 俞 伟. 芍药苷磷脂复合物制备工艺研究 [J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(9): 28-29.
- [7] 程 亮, 韩腾飞, 李莎莎, 等. 盐酸青藤碱微囊的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 880-884.
- [8] Sansone F, Picerno P, Mencherini T, et al. Flavonoid microparticles by spray drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability [J]. *J Food Eng*, 2011, 103(2): 188-196.
- [9] 胡 荣, 罗先钦, 励 娜, 等. 丹参酮缓释微囊的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2173-2176.
- [10] 许钟炜. 药物微囊化 [J]. 中国药事, 2003, 17(3): 196.
- [11] 陈 钢, 张 晓, 卢 刚, 等. 鸦胆子油微囊-原位凝剂的制备及体外释药机制的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1306-1309.
- [12] 王承华, 郑 蕊. HPLC 法测定祛风解毒颗粒中芍药苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 20-21.
- [13] Wang G J, Chu L Y, Zhou M Y, et al. Effects of preparation conditions on the microstructure of porous microcapsule membranes with straight open pores [J]. *J Membrane Sci*, 2006, 284(1/2): 301-312.
- [14] 汪冬庚, 刘文英. Doehlert 设计矩阵及其在药学中的应用 [J]. 药学进展, 2005, 29(11): 497-502.
- [15] Chu L Y, Park S H, Yamaguchi T, et al. Preparation of micron-sized monodispersed thermoresponsive core-shell microcapsules [J]. *Langmuir*, 2002, 18(5): 1856-1864.
- [16] Akamatsu K, Yamaguchi T. Novel preparation method for obtaining pH-responsive core-shell microcapsule reactors [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2007, 46(1): 124-130.