β-谷甾醇替代胆固醇制备槲皮素脂质体的可行性研究

喻 樊，杨锦明

盐城师范学院药学院，江苏 盐城 224051

摘 要：目的 探讨用 β-谷甾醇替代胆固醇制备槲皮素脂质体的可行性，并筛选最佳制备工艺与处方。**方法** 以卵磷脂和 β-谷甾醇为膜材制备不含胆固醇的槲皮素脂质体；以离心沉淀法测定脂质体的包封率；以包封率和载药量为评定指标，筛选该新型槲皮素脂质体的最佳制备方法；用正交设计优化该脂质体的制备工艺；用粒径、Zeta 电位、AFM 电镜、体外释放表征该新型槲皮素脂质体。**结果** 该新型脂质体的最佳制备方法为薄膜分散法，通过正交设计得最佳工艺为槲皮素与卵磷脂的质量比为 1∶5，卵磷脂与 β-谷甾醇的质量比为 6∶1，PBS 缓冲溶液 pH 值为 6.0，水化时间为 2 h。制备的槲皮素脂质体的包封率为（82.55±1.10）%，载药量为（11.40±1.14）%，粒径为（194.60±4.38）nm，Zeta 电位为（−30.45±0.42）mV；AFM 电镜验证表明该新型脂质体呈规则球形，粒径均一；新型脂质体体外释放与普通脂质体无差异。**结论** 用 β-谷甾醇替代胆固醇制备槲皮素脂质体方法可行，采用最佳工艺制备的槲皮素脂质体包封率高，形态和粒径均较好，重现性好，可应用于工业化生产。

关键词：槲皮素；β-谷甾醇；脂质体；卵磷脂；正交设计

中图分类号：R283.6 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2013)23 - 3303 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.23.009

Feasibility of replacing cholesterol by β-sitosterol to prepare quercetin liposomes

YU Fan, YANG Jin-ming

College of Pharmacy, Yancheng Teachers University, Yancheng 224051, China

Abstract: Objective To study the feasibility of preparing quercetin liposomes with β-sitosterol instead of cholesterol and optimize the prescription and preparation of quercetin liposomes. **Methods** Quercetin liposomes were prepared by film dispersion method with lecithin and β-sitosterol, encapsulation efficiency (EE) was determined by centrifugal precipitation method. EE and drug loading were adopted to evaluate and optimize preparation process as response in orthogonal design. Quercetin liposomes were characterized by particle size, potential, atomic force microscope (AFM) and *in vitro* release. **Results** Film dispersion method was the best method to prepare quercetin liposomes with lecithin and β-sitosterol. The optimum preparation process determined by orthogonal design was as follow: the ratio of quercetin to lecithin was 1∶5, the ratio of lecithin to β-sitosterol was 6∶1, pH value of PBS buffer solution was 6.0, the hydration time was 2 h, the EE was (82.55 ± 1.10)%, drug loading was (11.40 ± 1.14)%, particle size was (194.60 ± 4.38) nm, Zeta potential was (−30.45 ± 0.42) mV, and the prepared quercetin liposomes were verified by AFM with round shape and homogenious particle size. There was no difference between new type liposome and ordinary liposome. **Conclusion** Quercetin liposomes prepared with lecithin and β-sitosterol are practicable. The quercetin liposomes prepared by optimum preparation process have a high EE, good morphology, and reproducibility, and it can be used in industry.

Key words: quercetin; β-sitosterol; liposomes; lecithin; orthogonal design

槲皮素（quercetin）是众多植物中含有的一种典型的黄酮类成分，具有多种重要的生理功能，如降低血压、调血脂、增强毛细血管抵抗力、减少毛细血管脆性、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量、抗炎、抗氧化、祛痰、止咳、止泻等作用[1-2]，临床上可用于冠心病、高血压的辅助治疗。但是，槲皮素溶解度极低（＜3 μg/mL），临床应用困难[3]。

纳米脂质体由于制剂为纳米级别，不仅能显著

收稿日期：2013-07-10

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81102817）；江苏省滩涂生物资源与环境保护重点建设实验室项目（JLCBE09021）；盐城师范学院自然科学基金资助项目（09YCKL010）；盐城师范学院教研项目（13YCTCJY046）；盐城师范学院博士科研启动基金资助项目

作者简介：喻 樊（1979—），男，讲师，博士，研究方向为药剂学。Tel: (0515)88258773 E-mail: pharmyufan@163.com

增大难溶药物的溶解度，改善难溶性药物的吸收，而且还具有靶向、缓释、增效、减毒等优点，已成为药物靶向传递系统中备受关注的热点[4]。普通脂质体由磷脂和胆固醇所构成，虽然磷脂具有调血脂的功效，但胆固醇则易导致心血管疾病[5]，严重限制了脂质体这种剂型在高血脂、冠心病、高血压等疾病治疗中的应用。本课题组开展了用植物甾醇替代胆固醇制备脂质体的研究[6]。本实验以槲皮素为模型药物，探讨了由卵磷脂和 β-谷甾醇为膜材制备脂质体的可行性。

1 仪器与材料

SHB—III 循环水式多用真空泵（郑州长城科工贸有限公司）；HZQ—X280 恒温振荡培养箱（太仓市华美生化仪器厂）；Model RE—52A 型旋转蒸发仪（上海亚荣生物仪器公司）；XL—100 低温超速离心机（Beckman 公司）；KBS—150 型数控超声波细胞粉碎机（昆山市超声仪器有限公司）；原子力显微镜 AFM（Veeco 公司）；Zetaplus Laser Particle Size Analyzer（Malvern 公司）；SCZL—A 型数字智能控温磁力搅拌器（郑州长城科工贸有限公司）；BS210S 型电子天平（赛多利斯科学仪器有限公司）；LC—10Avp 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；SK5200H 超声波清洗机（上海科导超声仪器有限公司）；MWCO 5000 型透析袋（上海源叶生物科技公司）。

槲皮素（质量分数 95%，批号 QB0801，西安小草植物科技有限公司）；蛋黄卵磷脂（质量分数 95%，批号 EK10028，日本丘比株式会社）；β-谷甾醇（质量分数 97%，批号 20100420，杭州大阳化工有限公司）；胆固醇（质量分数 98%，批号 D100325，阿拉丁试剂）；槲皮素对照品（批号 100081-200806，质量分数 98%，中国药品生物制品检定所），甲醇（色谱纯，天津大茂化学仪器供应站），其他试剂均为分析纯，水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 槲皮素脂质体（卵磷脂-β-谷甾醇）测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Turner Kromasil^{TM}（250 mm×4.6 mm，5 μm）；以甲醇-0.05%磷酸溶液（60∶40）为流动相；检测波长为 372 nm；进样量 20 μL，体积流量 1 mL/min。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密吸取槲皮素脂质体 10 mL，置于离心管中，1 000 r/min 离心 10 min，沉淀未被包封的槲皮素结晶。然后从中取脂质体 1.0 mL，经 PBS 缓冲液稀释后 30 000 r/min 离心 30 min，沉淀，在沉淀后的脂质体溶液中加入甲醇稀释定容至 100 mL 量瓶中，即得供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品 20 mg，置 250 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即为对照品储备液。

2.1.4 系统适应性考察 分别量取槲皮素对照品溶液、空白脂质体、槲皮素脂质体溶液注入色谱仪，记录色谱图（图 1）。空白脂质体在槲皮素对照品色谱峰位置处无相应色谱峰，说明脂质体制备所用辅料能与槲皮素峰较好分离，对槲皮素测定无干扰。

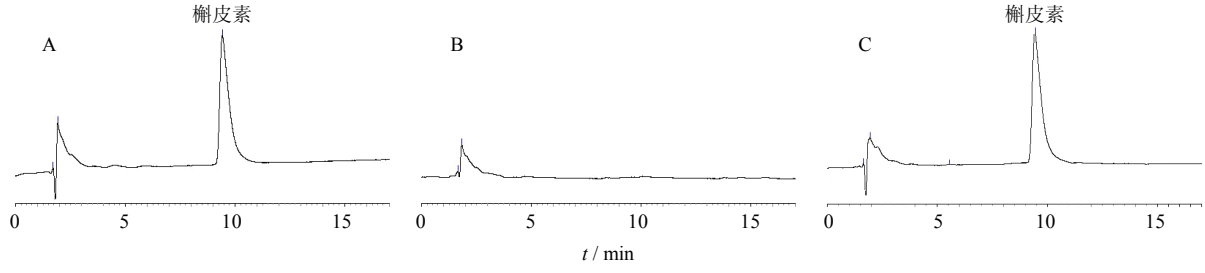

图 1 槲皮素对照品 (A)、空白脂质体 (B) 和槲皮素脂质体 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of quercetin reference substance (A), blank liposomes (B), and quercetin liposomes (C)

2.1.5 标准曲线的制备 精密吸取对照品储备液（80 μg/mL）0.5、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL，置于 25 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，配成系列质量浓度的对照品溶液。取 20 μL 注入液相色谱仪，测定峰面积值，以峰面积值为纵坐标（Y），槲皮素质量浓度为横坐标（X）进行线性回归，得回归方程为 Y＝89 259 X＋13 929，r＝0.999 3。结果表明槲皮素在 1.60～32.0 μg/mL 与峰面积值呈良好的线性关系。

2.1.6 精密度试验 取同一供试品溶液连续测定 6 次，进样量为 20 μL，测量槲皮素峰面积，计算其峰面积的 RSD 为 1.53%，结果表明精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液，分别在 2、4、8、12、24 h，按“2.1.1”项条件下进样分析，

以供试品中槲皮素的量计算 RSD 为 1.96%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 同一批的样品，按供试品溶液的制备方法制备 5 份供试品溶液，按上述色谱条件进行测定，以供试品中槲皮素质量浓度计算的 RSD 为 1.45%，结果表明方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 精密量取质量浓度为 32.0 μg/mL 的槲皮素对照品溶液 6.0、6.0、8.0、8.0、10.0、10.0 mL，氮气吹干，分别加入空白脂质体 6 份，每份 25 mg，甲醇溶解稀释定容于 50 mL 量瓶中。按上述供试品溶液制备方法和色谱条件测定，计算回收率，结果平均加样回收率为 97.10%，RSD 为 1.42%。

2.1.10 槲皮素脂质体（卵磷脂-β-谷甾醇）包封率的测定 用低速离心法分离脂质体与未包封入脂质体的药物。按供试品的制备项下进行样品的制备和测定包封药物量，结合药物总投料量计算槲皮素的包封率和载药量。

包封率＝被包封的槲皮素的量 / 槲皮素的总投药量

载药量＝脂质体中槲皮素的量 / 脂质体的总量

2.2 槲皮素脂质体（卵磷脂-β-谷甾醇）的制备方法筛选

2.2.1 薄膜分散法 称取 12 mg 槲皮素、60 mg 卵磷脂、15 mg β-谷甾醇，溶于 25 mL 乙醚，旋转蒸发至形成均匀的薄膜。加入 20 mL pH 7.0 的 PBS 缓冲液，45 ℃恒温振摇 2 h，冰浴条件下探头超声 10 min，过 0.45 μm 微孔滤膜即得槲皮素脂质体[7-8]。按“2.1.10”项下方法测定，得其包封率为 74.26%，载药量为 10.35%。

2.2.2 乙醇注入法 称取 12 mg 槲皮素、60 mg 卵磷脂、15 mg β-谷甾醇溶于 100 mL 烧杯中，加入 20 mL 乙醇使之完全溶解。取 20 mL pH 7.0 的 PBS 缓冲液，预热到 45 ℃，搅拌下用针头匀速注入烧杯中，恒温搅拌 2 h 以除去乙醇，冰浴条件下探头超声 10 min，过 0.45 μm 微孔滤膜即得槲皮素脂质体[9]。按“2.1.10”项下方法测定，得其包封率为 63.12%，载药量为 9.68%。

2.2.3 逆向蒸发法 称取 12 mg 槲皮素、60 mg 卵磷脂、15 mg β-谷甾醇溶于 25 mL 乙醚，将混合液倒入 5 mL pH 7.0 的 PBS 缓冲液中。冰浴条件下探头超声 10 min，形成均匀乳剂，旋转蒸发除去乙醚，形成胶态后加入 pH 7.0 的 PBS 缓冲液 20 mL，继续减压蒸发 30 min，冰浴条件下探头超声 10 min，过 0.45 μm 微孔滤膜即得槲皮素脂质体。按“2.1.10”项下方法测定，得其包封率为 41.39%，载药量为 6.13%。

由此可知，薄膜分散法制备的槲皮素脂质体包封率和载药量最高，因此选择此法制备槲皮素脂质体，并进行工艺优化。

2.3 槲皮素脂质体（卵磷脂-β-谷甾醇）处方及工艺优化

2.3.1 正交试验 在预试验研究基础上，发现药脂比（槲皮素与卵磷脂质量比）、膜材比（卵磷脂与 β-谷甾醇质量比）、缓冲液 pH 值、水化时间对脂质体的制备影响较大，因此，以药脂比（A）、膜材比（B）、缓冲液 pH 值（C）、水化时间（D）为考察因素，以脂质体包封率和载药量为指标，采用渴求函数（desirability function，DF）来进行综合评分，用 $L_9(3^4)$ 正交试验对脂质体的制备工艺进行优化。试验设计与结果见表 1，方差分析见表 2。

为了综合全面地评价该脂质体的制备工艺，本实验采用 DF 来进行综合评分[10-11]，评价指标（d_i）包括脂质体的包封率（d_1）和载药量（d_2），d_i 和 DF 分别按公式计算，包封率和载药量的最小值（Y_{min}）和最大值（Y_{max}）分别为 30%、100%，0、20%。

$$d_i=(Y_i-Y_{min})/(Y_{max}-Y_{min})$$

$$DF=(d_1+d_2)/2$$

由正交试验分析可知，影响脂质体综合评分（DF）的因素顺序为 A＞C＞D＞B，其中 A 为主要因素，具有显著性差异（$P<0.05$）。最佳优化的处方和工艺为 $A_1B_3C_1D_2$，即槲皮素与卵磷脂质量比为 1∶5，卵磷脂与 β-谷甾醇的比例为 6∶1，缓冲液 pH 值为 6.0，水化时间为 2 h。

2.3.2 验证试验 根据上述筛选得到的最佳工艺，制备 3 批脂质体样品，测得其包封率分别为 82.32%、81.58%、83.74%，平均包封率为（82.55±1.10）%；载药量分别为 11.37%、10.27%、12.55%，平均载药量为（11.40±1.14）%。3 次验证试验的结果基本一致，说明所确定的优化工艺合理可行，稳定可靠，具有可操作性和重现性。

2.4 脂质体粒度分布及 Zeta 电位测定

采用动态光散射粒径仪检测脂质体平均粒径和 Zeta 电位。激光束波长为 633 nm，入射与散射光束夹角为 173°，温度为 25 ℃。取 100 μL 脂质体溶液用水稀释至 10 mL，摇匀平衡 3 min 后测定。粒径与电位图（图 2、3）表明，槲皮素脂质体平均粒径

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D / h	包封率 / %	载药量 / %	DF
1	1∶5 (1)	2∶1 (1)	6.0 (1)	1 (1)	80.81	9.73	0.606 1
2	1∶5 (1)	4∶1 (2)	7.0 (2)	2 (2)	71.24	10.23	0.550 4
3	1∶5 (1)	6∶1 (3)	8.0 (3)	3 (3)	63.13	9.77	0.480 8
4	1∶10 (2)	2∶1 (1)	7.0 (2)	3 (3)	68.39	4.36	0.383 2
5	1∶10 (2)	4∶1 (2)	8.0 (3)	1 (1)	67.74	5.14	0.398 1
6	1∶10 (2)	6∶1 (3)	6.0 (1)	2 (2)	88.43	7.05	0.593 5
7	1∶15 (3)	2∶1 (1)	8.0 (3)	2 (2)	60.27	2.61	0.281 4
8	1∶15 (3)	4∶1 (2)	6.0 (1)	3 (3)	65.26	3.36	0.335 9
9	1∶15 (3)	6∶1 (3)	7.0 (2)	1 (1)	62.35	3.44	0.317 1
K_1	1.637 2	1.270 8	1.535 5	1.321 3			
K_2	1.374 8	1.284 4	1.250 7	1.425 3			
K_3	0.934 5	1.391 4	1.160 3	1.200 0			
R	0.702 8	0.120 6	0.375 2	0.225 4			

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	841.030	2	28.885	$P<0.05$
C	255.620	2	8.779	
D	84.844	2	2.914	
B（误差）	29.117	2		

为（194.6±4.38）nm（n=3），多分散系数（PDI）为 0.116±0.005（n=3），说明该脂质体粒径均一。平均 Zeta 电位为（−30.45±0.42）mV（n=3），表明该脂质体稳定性较好。

2.5 槲皮素脂质体（卵磷脂-β-谷甾醇）原子力显微电镜（AFM）观察

吸取槲皮素脂质体适量，将其吸附于盖玻片上，自然晾干后置 AFM 下观察，结果见图 4。结果表明，槲皮素脂质体外形均匀圆整，为球形或近球形。

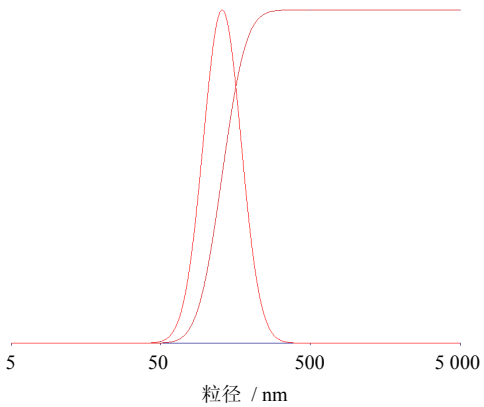

图 2 槲皮素脂质体的粒径图

Fig. 2 Size distribution of quercetin liposomes

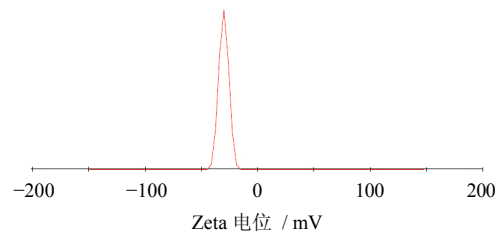

图 3 槲皮素脂质体的 Zeta 电位图

Fig. 3 Zeta potential of quercetin liposomes

2.6 体外释放研究

精密称取槲皮素普通脂质体及其β-谷甾醇脂质体（含等量槲皮素），分别置透析袋（截留相对分子质量为 5 000）中，1%十二烷基硫酸钠的 7%乙醇溶

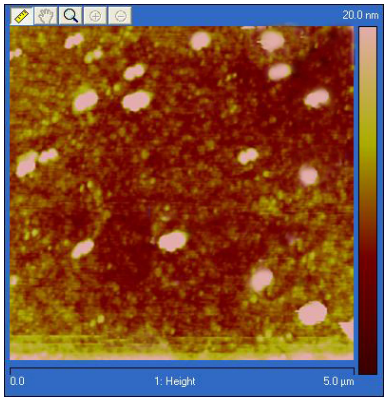

图 4 槲皮素脂质体的 AFM 照片

Fig. 4 AFM photograph of quercetin liposomes

液为溶出介质[12]，按《中国药典》2010 年版测定 I 法测定溶出度，分别于 0.5、1、2、4、8、16、24、36、48 h 时取 5.0 mL，立即补充 5.0 mL 溶出介质，样品液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，除去初滤液，取续滤液 1 mL 加入适量的流动相稀释，混匀，用 HPLC 法测定槲皮素的量，计算累积溶出率（图 5）。槲皮素普通脂质体与其 β-谷甾醇脂质体的溶出度相似因子（f_2）为 79.073，槲皮素从普通脂质体中与 β-谷甾醇脂质体的释放相类似，表明用 β-谷甾醇替代胆固醇制备脂质体可行。

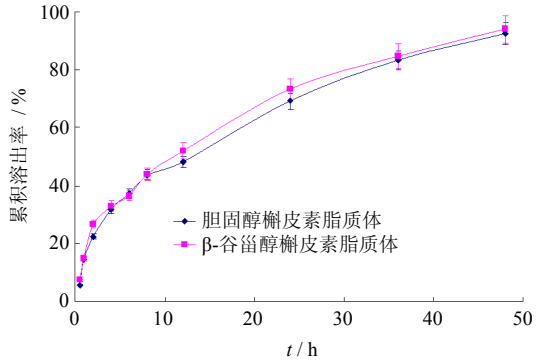

图 5 不同种类的槲皮素脂质体累积释放率结果

Fig. 5 Cumulative release of different types of quercetin liposomes

3 讨论

本课题组采用与胆固醇结构相似，在中药中广泛存在的且具有降胆固醇作用的 β-谷甾醇来制备新型脂质体，并通过实验验证了 β-谷甾醇与卵磷脂制备槲皮素脂质体的可行性。槲皮素脂质体的高包封率表明 β-谷甾醇与卵磷脂制备脂质体是可行的，AFM 也证实了该新型脂质体的存在。体外释放实验表明采用 β-谷甾醇制备的脂质体不会影响药物的释放，也表明 β-谷甾醇与卵磷脂制备脂质体是可行的。

制备脂质体的方法有多种，常用的有逆向蒸发法、乙醇（乙醚）注入法、薄膜分散法等。逆向蒸发法制备的脂质体为大单层脂质体，粒径较大，制备的脂质体包裹在囊泡中的水相体积很大，适合包裹亲水性药物，可以得到较高的包封率。乙醇注入法制备的脂质体中小单层脂质体比例较高，方法简单快速，条件温和，不易使敏感成分变性，但乙醇难以从磷脂膜中去除造成溶剂残留。薄膜分散法多形成多层脂质体，对脂溶性药物（lg$P$＜−0.3）往往有较高的包封率，但粒径较大[13]。本实验对这几种常用的制备方法进行了筛选，根据实验的结果最终选择了经典的薄膜分散法来制备槲皮素脂质体。从结果上来看，由于槲皮素脂溶性好，故包封率较高（＞80%），能满足《中国药典》2010 年版中对脂质体包封率的要求，有工业化大生产的可能性。

薄膜分散法制备的脂质体往往粒径较大，而较大的粒径易被体内的吞噬细胞作为异物而吞噬排出，不利于药物起到治疗作用。因此，本实验增加了减小粒径的步骤，以得到小粒径的脂质体。实验过程中，首先采用了高压匀质机来减小槲皮素脂质体纳米粒的粒径，虽高压匀质机明显改善了脂质体的粒径，但在测定匀质后的粒径时发现粒径呈双峰，表明匀质后粒径不均匀。而后又尝试了采用探头超声来减小粒径，结果表明，探头超声处理后粒径较小且呈单峰，表明探头超声较高压匀质效果好，所以最终选用探头超声法减小脂质体的粒径。

正交试验的结果表明，pH 值为 6.0 的酸性条件中的包封率较 pH 值为 8.0 的碱性环境下要高，这可能是因为碱性条件时，槲皮素能与碱性溶液成盐，成盐后的槲皮素溶解度增加，不易被脂质体包封，而酸性条件不仅没有酸碱中和，还能抑制槲皮素在水中的解离，非解离型槲皮素多，故包封率升高。

脂质体是一种被动靶向制剂，因而具有靶向到肝、脾的性质。从粒径的结果来看，制备出的脂质体粒径为（194.6±4.38）nm，PDI 为 0.116±0.005，表明制备出的脂质体粒径小，具有被动靶向肝、肺、脾组织的性质[14]，适合槲皮素发挥其调血脂、化痰的治疗作用。

Zeta 电位能反映纳米系统的稳定性，Zeta 电位绝对值越高（＞15 mV），则粒子间的静电斥力越大，越稳定，该槲皮素脂质体 Zeta 电位为（−30.45±0.42）mV，表明该纳米制剂具有较好的稳定性[15]。

AFM 常用于磷脂生物膜等大分子的研究[16]。本实验用 AFM 对用卵磷脂和 β-谷甾醇为膜材制备出的槲皮素脂质体进行了观察，结果表明该脂质体外形圆整、粒径均一，充分说明用卵磷脂和 β-谷甾醇制备槲皮素脂质体是可行的。

包封率的测定要结合药物的理化性质来进行考察，本实验中槲皮素与紫杉醇一样，均为水不溶性药物，水中溶解度极低，仅为 3 μg/mL，本实验参照杨涛等[17]研究结果，根据游离槲皮素在水溶液中溶解度低而易析出结晶的特点，先用低速离心法分除溶液中未包封的槲皮素，再用高速离心法沉淀槲皮素脂质体。由于脂质体的平均粒径仅 200 nm[17]，实验结果表明 4 ℃、1 000 r/min 不会导致脂质体沉

淀，但该方法中用到了高转速的离心机，后来尝试省略掉用高速离心机离心沉淀脂质体，直接将低速离心后的上层液体进行包封率测定，结果与高速离心后的结果差别不大，因为槲皮素在水中的溶解度极低，溶解在上清中的槲皮素量占包封入脂质体的比例极小（＜1%），可忽略不计。一般情况下，可采用低速离心后过 0.45 μm 滤膜后进行脂质体包封率的测定。

本实验采用薄膜分散法，以卵磷脂与 β-谷甾醇制备槲皮素脂质体，拓宽了脂质体的应用领域，具有很好的开发前景。

参考文献

[1] 罗 玲, 吴凯南. 槲皮素的癌化学预防作用研究进展 [J]. 中草药, 2001, 32(4): 378-379.

[2] 金 越, 吕 勇, 韩国柱, 等. 槲皮素及异槲皮素、芦丁抗自由基活性的比较研究 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 408-412.

[3] 喻 樊. 复凝聚法制备槲皮素微囊的工艺 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(15): 18-20.

[4] 范云鹏, 王德云, 胡元亮, 等. 正交试验优选黄芪多糖脂质体的制备工艺 [J]. 中草药, 2011, 42(6): 470-473.

[5] Vladimir P T, Volkmar W. *Liposomes: A Practical Approach* [M]. New York: Oxford University Press, 2003.

[6] 喻 樊. 绞股蓝总皂苷脂质体的制备与表征 [J]. 中草药, 2013, 44(18): 2526-2530.

[7] 梅丹宇, 刘 楠, 高会乐, 等. Angiopep-2 修饰载盐酸多柔比星脂质体的制备与评价 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(5): 364-368.

[8] 郭海燕, 莫穗林. 脂质体物理稳定性和包封率的影响因素 [J]. 中国新药杂志, 2004, 13(6): 498-501.

[9] 张彦青, 解军波. 正交试验优选石杉碱甲脂质体的制备研究 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 896-898.

[10] Hassan E E, Parish R C, Gallo J M. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole [J]. *Pharm Res*, 1992, 9: 390-397.

[11] Yu F, He C H, Waddad A Y, *et al*. *N*-octyl-*N*-arginine-chitosan (OACS) micelles for gambogic acid oral delivery: Preparation, characterization and its study on *in situ* intestinal perfusion [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, doi: 10.3109/03639045, 2013.

[12] 阮婧华, 肖吉娇, 朱 迪, 等. 口服槲皮素纳米结构脂质载体的制备及体外评价 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(4): 403-405.

[13] 孙庆雪, 邵 伟, 黄桂华. 脂质体制备方法的选择 [J]. 中成药, 2010, 32(8): 1397-1401.

[14] 霍美蓉, 张 勇, 周建平, 等. *N*-辛基-*O*, *N*-羧甲基壳聚糖聚合物胶束对紫杉醇的增溶、缓释及其安全性初步评价 [J]. 药学学报, 2008, 43(8): 855-861.

[15] Dong Y, Feng S S. Methoxy poly (ethylene glycol)-poly (lactide) (MPEG-PLA) nanoparticles for controlled delivery of anticancer drugs [J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 2843-2849.

[16] Li J, Huo M R, Wang J, *et al*. Redox-sensitive micelles self-assembled from amphiphilic hyaluronic acid deoxycholic acid conjugates for targeted intracellular delivery of paclitaxel [J]. *Biomaterials*, 2011, 33: 2310-2320.

[17] 杨 涛, 金大德, 崔福德. 紫杉醇脂质体药物含量及包封率的测定 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(2): 231-234.