

• 药剂与工艺 •

基于质量源于设计(QbD)理念优化穿心莲内酯固体脂质纳米粒

张小飞^{1*}, 邢传峰², 果秋婷³

1. 陕西中医学院药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 大连美罗大药厂, 辽宁 大连 116034

3. 咸阳职业技术学院 医学系, 陕西 咸阳 712000

摘要: **目的** 基于质量源于设计(QbD)理念优化穿心莲内酯(And)固体脂质纳米粒(And-SLNs)。 **方法** 采用热熔乳化-高压均质法制备 And-SLNs。以 And-SLNs 的包封率、粒径分布为评价指标, 首先应用 Plackett-Burman 实验设计筛选出对 And-SLNs 性质影响显著的处方和工艺变量, 然后对筛选出的变量应用 Box-Behnken 效应面法进一步优化。采用 Malvern 粒度仪测定 And-SLNs 的粒径分布和 Zeta 电位, 透射电镜考察其形态; 并考察 And-SLNs 的体外释药行为。 **结果** And-SLNs 的包封率为 $(91.4 \pm 3.7)\%$, 粒径为 (258.4 ± 42.1) nm, Zeta 电位为 (-36.1 ± 3.4) mV, 透射电镜显示 And-SLNs 粒径均一, 呈球状分布, 48 h 累积释放度为 52.4%。 **结论** 在 And-SLNs 开发过程中应用 QbD 理念优化是可行的。

关键词: 质量源于设计; 穿心莲内酯; 固体脂质纳米粒; Plackett-Burman 实验设计; Box-Behnken 效应面法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)02-0194-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.02.008

Use of a quality by design approach to optimize andrographolide solid lipid nanoparticles

ZHANG Xiao-fei¹, XING Chuan-feng², GUO Qiu-ting³

1. College of Pharmacy, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Dalian Merro Pharmaceutical Factory, Dalian 116034, China

3. Department of Medicine, Xianyang Vocational College, Xianyang 712000, China

Abstract: **Objective** The aim of this investigation was to use a quality by design (QbD) approach to optimize andrographolide solid lipid nanoparticles (And-SLNs). **Methods** The And-SLNs were prepared by melt-emulsion and followed by high pressure homogenization methods. The And-SLNs with ideal encapsulation efficiency (EE) and particle size distribution were used various experimental statistical design modules. Plackett-Burman design for independent variables was first conducted to prescreen various formulation and process variables during the development of SLNs. Selected primary variables were further optimized by Box-Behnken design. The particle size distribution, Zeta potential, morphology, and *in vitro* drug release behavior of And-SLNs were studied by Malvern Particle Size Analyzer and Transmission Electron Microscope (TEM), respectively. **Results** The EE, particle size, and Zeta potential of And-SLNs were found to be $(91.4 \pm 3.7)\%$, (258.4 ± 42.1) nm, and (-36.1 ± 3.4) mV, respectively. The And-SLNs were found to be small and spherical with uniform particle size and smooth surface as seen in TEM. The *in vitro* accumulated release of And reached up to 52.4% within 48 h. **Conclusion** This study demonstrates that the QbD approach could optimize the formulation and process variables to achieve favorable responses for And-SLNs.

Key words: quality by design (QbD); andrographolide; solid lipid nanoparticles; Plackett-Burman design; Box-Behnken design

穿心莲内酯(andrographolide, And)为爵床科 (Burm. f.) Nees 中提取得到的半日花烷型二萜内酯穿心莲属植物穿心莲 *Andrographis paniculata* 类化合物。据文献报道^[1], And 具有广谱的抗癌活

收稿日期: 2014-07-07

基金项目: 陕西省教育厅科学研究计划项目(2013JK0816); 陕西省中药制药重点学科资助(10080)

*通信作者 张小飞(1982—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事中药新技术与新剂型研究。Tel: (029)38185175 E-mail: zhangxiaofei830@163.com

性,可以抑制不同肿瘤细胞(乳腺癌、结肠癌、肝癌、子宫颈癌等)的增殖^[2]。然而 And 在水中溶解度较低,口服生物利用度低,且口感极苦,口服时易致呕吐,患者依从性差,使其临床应用受到极大限制^[3]。鉴于此,有学者对其新型制剂进行了尝试研究^[4]。固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLNs)是近年正在发展的一种新型脂质载药系统,其采用固态的天然或合成的生理相容的高熔点脂质材料为载体,将药物包裹于类脂核中或吸附于纳米粒表面形成固体胶粒给药体系,是一种极有发展前景的新型给药系统的载体,可采用高压均质法进行工业化生产^[5-7]。

近年来,随着药品质量管理研究的深入,质量控制模式也随之不断发生变化,药品质量源于设计(quality by design, QbD)的理念已逐渐被整个工业界所认可并实施。人用药物注册技术要求国际协调会(international conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICHQ8)中讨论了实施 QbD 需要以下 5 个要素:①建立目标产品质量特性(quality target product profile, QTPP);②利用风险分析工具,确定产品的关键质量属性(critical material attributes, CMA)和关键工艺参数(critical process parameter, CPP);③通过实验设计(design of experiment, DoE)建立产品生产工艺的设计空间(design space, DS);④开发出控制策略(control strategy, CS),形成控制空间;⑤大生产开始后,对生产过程进行实时检测和控制,持续改进(continuous improvement, CI),保证质量的稳定。

本研究以 And 为模型药物,采用 QbD 药物开发新理念制备 And-SLNs,希望能够设计出理想的 And 载药系统,提高药物的口服生物利用度。

1 仪器与材料

Agilent-1200 高效液相色谱系统,安捷伦科技有限公司;BP211D 电子天平,德国赛多利斯集团公司;DF2101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,河南巩义英峪予华仪器厂;IKA T18 ULTRA-TURRAX 高速剪切机,德国 IKA 集团公司;Master-sizer 2000 粒度分析仪、AH-100D 高压均质机,加拿大 ATS 工业系统有限公司;Zetasizer Nano 电位分析仪,英国马尔文公司;JM21200EX 透射电镜、GC2120GX 日立冷冻离心机,日本日立公司。

And,批号 20120507-B,质量分数>98.5%,

四川什邡华康药物原料厂;And 对照品,批号 110797-201108,质量分数>99.5%,中国食品药品检定研究院;注射用大豆磷脂,上海太伟药业有限公司;泊洛沙姆 188 (Fluronic F-68)、山嵛酸甘油酯(Compritol-888 ATO),德国巴斯夫公司;聚山梨酯 80 (Tween 80),上海申宇医药化工有限公司;甲醇,色谱纯,天津博迪化工有限公司;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 建立 And-SLNs 的 QTPP

通过文献信息调研^[8],考虑到临床给药特点,确定本制剂的剂型、给药途径、规格、容器密闭系统等信息,建立了 And-SLNs 的 QTPP,见表 1。

表 1 And-SLNs 的 QTPP
Table 1 QTPP of And-SLNs

产品属性	目标
剂型	纳米混悬溶液剂
给药途径	口服
规格	20 mg/支
药物浓度	2 mg/mL
包装材料	西林瓶/胶塞

2.2 And-SLNs 的制备

And-SLNs 采用热熔乳化-高压均质法制备^[7]。称取处方量的 And 和山嵛酸甘油酯,置于 2 mL 无水乙醇中,在恒温(75±1)℃水浴磁力搅拌下溶解,形成油相;称取处方量的大豆磷脂和助表面活性剂(F68 或聚山梨酯 80)置于 20 mL 纯化水中,在恒温(75±1)℃水浴条件下分散均匀,形成水相;在高速剪切机(10 000 r/min)分散条件下,将水相缓慢滴加到油相中,恒温(75±1)℃持续分散 5 min,挥干乙醇,制得初乳。将初乳在保温条件下用高压均质机进一步减小粒径通过调节均质压力和均质次数可得到淡蓝色透明的胶体溶液。采用冰水浴迅速将 SLNs 充分冷却,即得 And-SLNs。

同法制备不含 And 的 SLNs,即得空白 SLNs。

2.3 And-SLNs 的风险分析

本研究采用鱼骨图法评估可能影响 And-SLNs 性质的风险因素,并对各因素进行排列和比较,找出影响 And-SLNs 性质的各种因素,结果见图 1。

2.4 方法学考察

2.4.1 色谱条件^[8] 色谱柱为菲罗门 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(60:40),

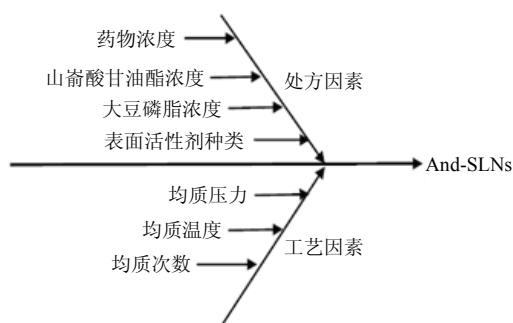


图1 And-SLNs 鱼骨图

Fig. 1 Fishbone diagram of And-SLNs

检测波长 225 nm, 体积流量 1 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 μ L。

2.4.2 对照品溶液的配制 精密称取 And 对照品 10 mg 置 50 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容至 50 mL, 稀释至刻度, 即得 200 μ g/mL And 对照品储备液。取上述储备液 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 以流动相稀释定容至刻度, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 即得 10 μ g/mL And 对照品溶液。

2.4.3 样品溶液的配制 精密称取 And-SLNs 溶液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加入 30 mL 甲醇超声溶解后, 加入纯化水稀释至刻度, 振荡摇匀。取上述溶液 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 以流动相稀释定容刻度, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 即得样品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密量取 And 对照品储备液, 用流动相稀释成 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μ g/mL 的对照品溶液, 摇匀, 滤过, 精密吸取 20 μ L, 按“2.4.1”项色谱条件测定。以 And 质量浓度 (X) 对峰面积积分值 (Y) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=79.416X-116.4$, $r=0.9999$; 可见 And 在 2.0~50.0 μ g/mL 与峰面积线性关系良好。

2.4.5 专属性考察 取按“2.2”项下方法制备的 And-SLNs 溶液、空白 SLNs 溶液以及 And 对照品溶液, 分别照“2.4.1”项下色谱条件测定, 色谱图见图 2。结果表明, 在本色谱条件下, 辅料对 And 测定无干扰; 主峰理论塔板数为 4 000, 拖尾因子在 0.95~1.05, 符合测定要求。

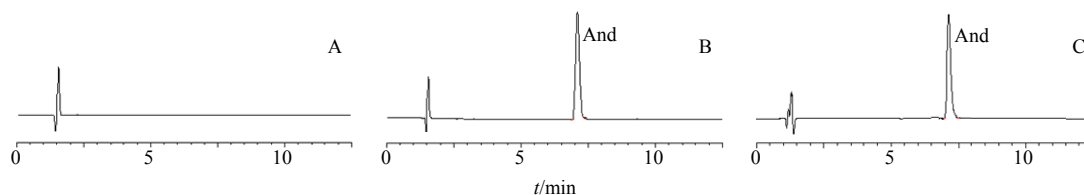


图2 空白辅料 (A)、And-SLNs (B)、And 对照品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of blank excipients (A), And-SLNs (B), and And reference substance (C)

2.4.6 精密度试验 按“2.4.2”项下制备 1 份对照品溶液, 在“2.4.1”项下色谱条件重复进样 6 次, 测定 And 的峰面积, 并计算 6 份对照品溶液峰面积平均值及其 RSD 值。结果其 RSD 为 0.79%, 表明仪器精密度良好, 符合定量测定要求。

2.4.7 重复性试验 取 And-SLNs 溶液 6 份, 按“2.4.3”项下配制样品溶液, 以“2.4.1”项下色谱条件进样测定。结果 And-SLNs 溶液中药物质量浓度的 RSD 为 1.25%, 表明重复性较好。

2.4.8 加样回收率试验 按制剂处方量的 80%、100%、120%比例精密移取 And 对照品溶液至 20 mL 量瓶中, 各 3 份, 分别加入 5 mL 空白 SLNs, 加流动相稀释至刻度, 振荡摇匀, 制成高、中、低质量浓度的回收率试验溶液, 进样测定, 计算 And 的回收率, 结果表明高、中、低 3 个质量浓度的平均回收率为 99.4%, RSD 为 0.94%, 回收率良好。

2.4.9 稳定性试验 取 And 样品溶液, 分别在 0.4、

8、12、24、36、48、72 h 进样测定, 记录峰面积。结果 And 峰面积的 RSD 为 1.94%, 表明样品溶液在 72 h 内稳定。

2.5 包封率的测定

采用低温超速离心法测定 And-SLNs 中 And 的包封率。取 2.0 mL And-SLNs 加到超速离心管中, 在 50 000 r/min 的条件下离心 1 h, 吸取上清液; 同时精密移取 And-SLNs 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇破坏 And-SLNs 并定容稀释至刻度, 采用“2.4.1”项下色谱条件测定 And-SLNs 中 And 的总质量浓度。利用公式计算 And 在 And-SLNs 中的包封率。

包封率=(And 在 And-SLNs 中的总质量浓度-游离 And 的质量浓度)/And 在 And-SLNs 中的总质量浓度

2.6 实验设计

2.6.1 Plackett-Burman 实验设计筛选变量 通过对 And-SLNs 处方及制备工艺的分析, 以药物质量浓

度 (X_1 , mg/mL)、山嵛酸甘油酯质量浓度 (X_2 , mg/mL)、大豆磷脂质量浓度 (X_3 , mg/mL)、表面活性剂种类 (X_4)、均质压力 (X_5 , MPa)、均质温度 (X_6 , $^{\circ}\text{C}$)、均质次数 (X_7) 为考察对象, 以包封率 (Y_1 , %)、粒径分布 (Y_2 , nm) 为评价指标, 利用 Plackett-Burman 实验设计筛选出对 And-SLNs 性质影响较显著的因素。因素水平、筛选试验安排及结果见表 2。

由 Pareto 图 (图 3) 可知, 山嵛酸甘油酯质量分数、大豆磷脂质量分数对 And-SLNs 包封率有显著影响 ($P < 0.05$); 均质压力对 And-SLNs 的粒径分布有显著影响 ($P < 0.05$)。因此, 固定药物质量分数、表面活性剂种类、均质次数和均质温度不变, 采用山嵛酸甘油酯质量浓度为 50~100 mg/mL, 大豆磷脂质量浓度为 40~80 mg/mL, 均质压力为 60~100 MPa, 应用 Box-Behnken 效应面法进一步优化。

表 2 Plackett-Burman 实验设计与效应值

Table 2 Plackett-Burman experimental design and effect values

试验号	$X_1/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$X_2/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$X_3/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	X_4	X_5/MPa	$X_6/^{\circ}\text{C}$	X_7	$Y_1/\%$	Y_2/nm
1	5 (-1)	50 (-1)	40 (-1)	聚山梨酯 80 (+1)	100 (+1)	80 (+1)	6 (-1)	85.5	413.5
2	5	100 (+1)	40	F68 (-1)	60 (-1)	80	10 (+1)	76.2	752.4
3	20 (+1)	50	40	F68	100	80	10	83.5	329.8
4	20	100	80 (+1)	F68	100	80	6	82.0	379.5
5	20	100	40	聚山梨酯 80	100	60 (-1)	10	74.6	337.0
6	20	50	80	F68	60	60	10	90.1	428.7
7	5	100	80	聚山梨酯 80	60	80	10	80.0	739.1
8	20	100	40	聚山梨酯 80	60	60	6	77.5	1 274.5
9	5	100	80	F68	100	60	6	82.7	527.8
10	5	50	80	聚山梨酯 80	100	60	10	95.3	214.1
11	20	50	80	聚山梨酯 80	60	80	6	88.9	473.6
12	5	50	40	F68	60	60	6	85.3	637.8

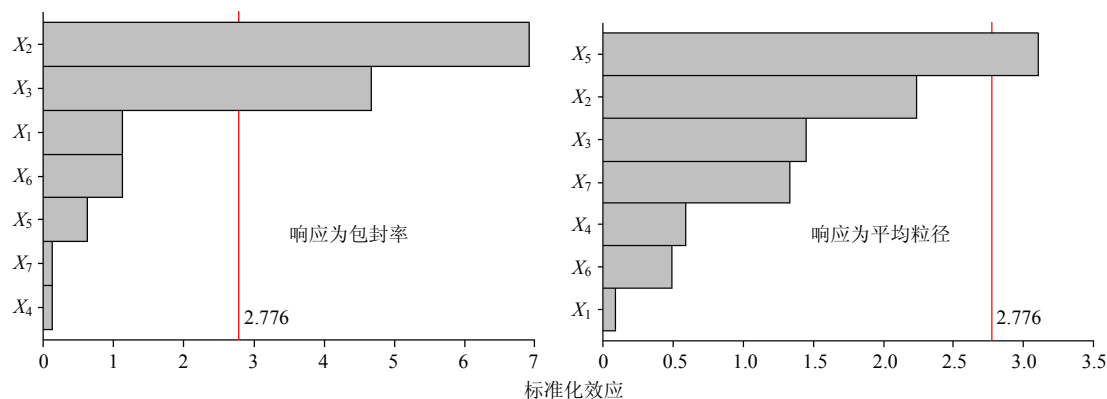


图 3 Plackett-Burman 实验设计变量筛选时标准化效应的 Pareto 图 ($\alpha = 0.05$)

Fig. 3 Pareto charts of standardized effect values on variable screening by Plackett-Burman experimental design ($\alpha = 0.05$)

2.6.2 Box-Behnken 效应面法优化 通过 Plackett-Burman 实验设计, 筛选出对 And-SLNs 性质影响较显著的 3 个因素: 山嵛酸甘油酯质量浓度 (X_1 , mg/mL), 大豆磷脂质量浓度 (X_2 , mg/mL)、均质压力 (X_3 , MPa)。以该 3 个因素为考察对象, 以包封率 (Y_1 , %)、平均粒径 (Y_2 , nm) 为评价指标, 利用 Box-Behnken 效应面法对 And-SLNs 处方和工

艺进行优化。因素水平、处方优化试验安排及结果见表 3。试验过程中固定的处方和工艺参数为药物质量浓度 15 mg/mL, 表面活性剂种类 F68, 均质次数 8 次, 均质温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 。

由表 4 中数据结果可知, 方程中 X_1 、 X_2 、 X_1X_2 、 X_1^2 、 X_3^2 对包封率影响较显著, 由相关系数可知, 包封率与山嵛酸甘油酯质量浓度成正相关, 与大豆

磷脂质量浓度呈负相关(图4)。

由表4中数据结果可知,方程中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对平均粒径影响较显著,由相关系数可知,平均粒径与山嵛酸甘油酯质量浓度呈正相关,与大豆磷脂质量浓度、均质压力呈负相关(图5)。

表3 Box-Behnken 实验设计与效应值

Table 3 Box-Behnken experimental design and effect values

试验号	$X_1/$ (mg·mL ⁻¹)	$X_2/$ (mg·mL ⁻¹)	X_3 /MPa	$Y_1/\%$	Y_2 /nm
1	50 (-1)	80	80 (0)	69.2	256.4
2	75 (0)	40 (-1)	60 (-1)	85.1	465.2
3	75	80 (+1)	100 (+1)	76.1	289.1
4	100 (+1)	60 (0)	60	91.2	465.3
5	75	80	60	82.2	312.3
6	75	60	80	88.4	265.4
7	100	60	100	83.7	383.6
8	75	60	80	90.6	281.5
9	50	40	80	82.6	341.9
10	75	40	100	87.4	314.3
11	100	40	80	91.5	531.1
12	50	60	60	63.5	369.1
13	50	60	100	65.6	282.5
14	100	80	80	92.5	317.7
15	75	60	80	88.4	257.1

表4 拟合方程中各项的系数及显著性检验结果

Table 4 Each coefficient in fitting equation and its significant test results

项目	对 Y_1 的拟合结果			对 Y_2 的拟合结果		
	相关系数	F 值	P 值	相关系数	F 值	P 值
常数项	89.13	26.12	0.001 1	286.00	22.04	0.001 7
X_1	9.75	141.68	<0.000 1	55.97	50.33	0.000 9
X_2	-3.29	16.11	0.010 2	-59.63	57.11	0.000 6
X_3	-1.19	2.10	0.206 8	-42.80	29.43	0.002 9
X_1X_2	3.60	9.66	0.026 6	-31.97	8.21	0.035 2
X_1X_3	-2.40	4.29	0.093 0	1.23	0.01	0.016 8
X_2X_3	-2.18	3.53	0.119 3	31.93	8.19	0.035 4
X_1^2	-5.98	24.59	0.004 3	61.84	28.35	0.003 1
X_2^2	0.80	0.44	0.538 4	31.94	7.56	0.040 3
X_3^2	-7.15	35.21	0.001 9	45.29	15.21	0.011 4

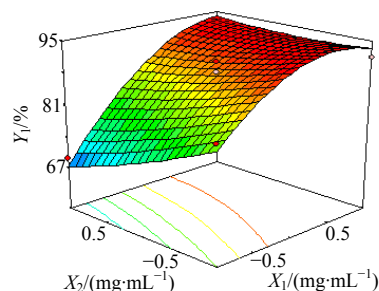


图4 自变量 X_1 、 X_2 与因变量 Y_1 的3D效应面图

Fig. 4 3D Response surface of independent variables X_1 and X_2 and dependent variable Y_1

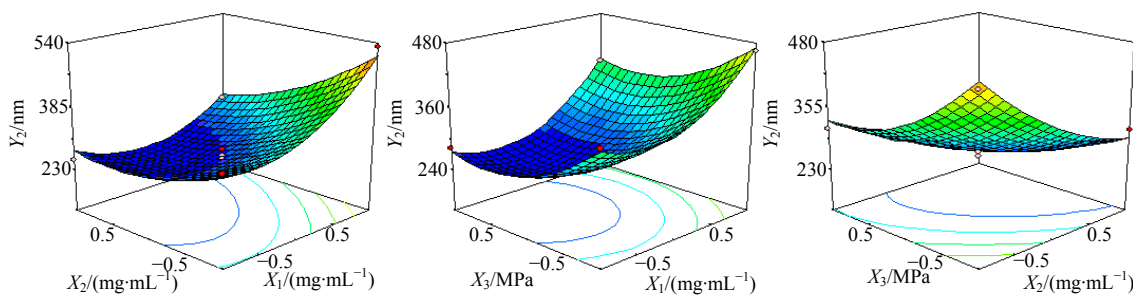


图5 各自变量(X_1 、 X_2 、 X_3)与因变量 Y_2 的3D效应面图

Fig. 5 3D Response surface of independent variables X_1 , X_2 , and X_3 and dependent variable Y_2

2.6.3 优化处方验证 根据 Design expert 7.0 实验设计软件综合评价后给出的最佳制备条件: 山嵛酸甘油酯质量浓度为 80 mg/mL、大豆磷脂质量浓度为 60 mg/mL、均质压力为 85 MPa。以优化的最优处方按照“2.2”项下制备 3 批 And-SLNs, 按照“2.5”和“2.7”项下测定固体脂质纳米粒包封率和平均粒径, 实测值与模型预测值见表 5, 由表可知实验观

察值和模型预测值比较接近,说明模型预测性良好。

2.7 And-SLNs 粒径分布及 Zeta 电位测定

取 And-SLNs 溶液适量,用蒸馏水稀释适量倍数,采用 Malvern 粒度测定仪测定固体脂质纳米粒的粒径分布和 Zeta 电位。由图 6 可见,And-SLNs 平均粒径为 (258.4 ± 42.1) nm,多分散指数(PDI)为 0.215 ± 0.025 ,Zeta 电位为 (-36.1 ± 3.4) mV。

表 5 各指标预测值和实测值

Table 5 Predicted and observed response values for each index

优化指标	预测值	实测值	偏差*/%
$Y_1/\%$	89.8	91.4 ± 3.7	1.8
Y_2/nm	245.4	258.4 ± 42.1	5.3

*偏差=(实测值-预测值)/预测值

*deviation = (observed - predicted)/predicted

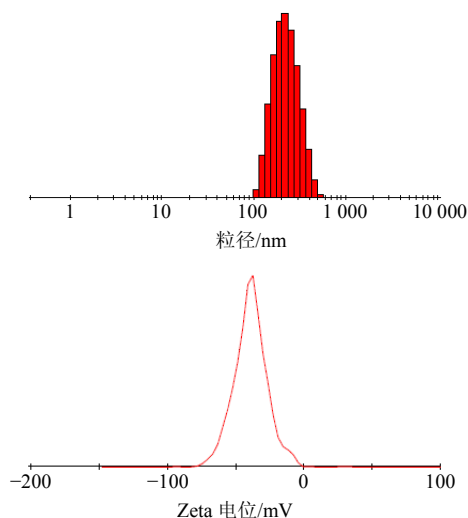


图 6 And-SLNs 粒径分布和 Zeta 电位

Fig. 6 Particle size distribution and Zeta potential of And-SLNs

2.8 And-SLNs 形态观察

采用磷钨酸负染法制备透射电镜样品。取 And-SLNs 适量，加入重蒸馏水稀释适当倍数，滴加在憎水基质的表面，将附 Formvar 膜的铜网放入固体脂质纳米粒中浸泡 15 min，用滤纸吸除大部分水分，滴加 2% 的磷钨酸水溶液，染色 5 min，用滤纸吸去水分，将铜网取出，待干后用透射电镜观察固体脂质纳米粒的形态结构。由图 7 可见，And-SLNs 大小均匀，成球形或椭球形，大部分粒子的粒径在 200 nm 左右，未见到过大的粒子，透射电镜观察进一步确证了粒度测定的结果。

2.9 体外释放行为考察

采用透析法^[9]考察 And-SLNs 在 PBS (pH 7.4) 中的释放行为。释放介质为 0.5% 聚山梨酯 80 的 PBS 可以保证药物释放在漏槽状态下进行。精密吸取固体脂质纳米粒 2 mL 置于处理好的透析袋内，平行 3 份，扎紧后置于溶出仪的桨叶底部，移取 48 mL 释放介质于溶出仪的小杯中，于 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 水浴中以 50 r/min 恒速旋转，分别于 1、2、4、6、8、12、16、20、24、30、36、42、48 h 吸取 1 mL 释放介

质（同时补加等量、同温的释放介质），采用“2.4”项下方法测定 And 的量，并计算游离药物的累积释放度。

体外释放研究结果（图 8）表明，固体脂质纳米粒中药物开始出现突释，主要是由于固体脂质纳米粒中游离药物以及吸附在纳米粒表面的药物首先释放，在 6 h 后药物释放较平缓，48 h 累积释放度为 52.4%，表明固体脂质纳米粒有延缓 And 释放的作用。

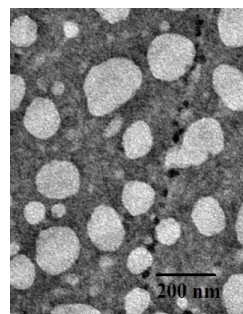


图 7 And-SLNs 透射电镜照片

Fig. 7 TEM photo of And-SLNs

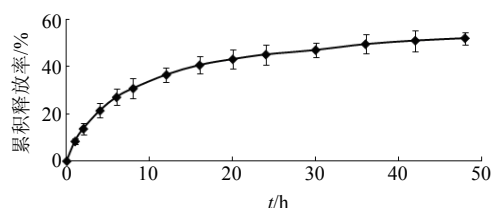


图 8 And-SLNs 体外释放曲线 ($n=3$)

Fig. 8 *In vitro* release profile of And-SLNs ($n=3$)

3 讨论

QbD 的基本内容是以预先设定的目标产品质量特性作为研发的起点，在了解关键物质属性和关键工艺参数的基础上，通过实验设计，研究产品的关键质量属性。在多个影响因素下，建立能满足产品性能且工艺稳健的设计空间，并根据设计空间，建立质量风险管理，确立质量控制策略和药品质量体系。实施 QbD 是将过程分析技术与风险管理综合应用于药品工艺开发的过程，其目的不是消灭生产过程中的偏差，而是建立一种可以在一定范围内调节偏差来保证产品质量稳定性的生产工艺。

实验设计 (DoE) 是研究正确的实验计划和分析实验数据的理论和方法，通过改变过程的输入因素，观察其相应的输出响应变化，从而获取关于这个过程的知识，确定各个输入因素的重要性以及各输入因素如何影响输出响应，并如何达到最优化过程的目的。本研究首先通过 Plackett-Burman 实验设

计筛选出对 And 固体脂质纳米性质影响较为显著的 3 个因素 (山嵛酸甘油酯、大豆磷脂浓度和均质压力), 然后通过 Box-Behnken 效应面法优化得到最优制备处方和工艺。

参考文献

- [1] 杨 静. 穿心莲内酯的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1168-1170.
- [2] Varma A, Padh H, Shrivastava N. Andrographolide: A new plant-derived antineoplastic entity on horizon [J]. *Evid Based Complment Altermat Med*, 2011, doi: 10.1093/ecam/nep135, 2011-02-10.
- [3] Ye L, Wang T, Tang L, *et al.* Poor oral biolavailability of a promising anticancer agent andrographolide is due to extensive metabolism and efflux by P-glycoprotein [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(11): 5007-5017.
- [4] 王 芳, 翟文婷, 李艳丽, 等. Box-Behnken 效应面法优化穿心莲内酯-PLGA 微球处方研究 [J]. 中草药, 2013, 44(13): 1743-1747.
- [5] Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(2/3): 165-196.
- [6] 瞿 文, 陈庆华, 朱宝泉. 固体脂质纳米粒的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(9): 424-429.
- [7] Müller R H, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled delivery-a review of the state of the art [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(1): 161-177.
- [8] 王 芳, 翟文婷, 李艳丽, 等. Box-Behnken 效应面法优化穿心莲内酯-PLGA 微球处方研究 [J]. 中草药, 2013, 44(13): 1743-1747.
- [9] Hao J F, Fang X S, Zhou Y F. Development and optimization of solid lipid nanoparticle formulation for ophthalmic delivery of chloramphenicol using a Box-Behnken design [J]. *Int J Nanomed*, 2011, 47(6): 683-692.