

Box-Behnken Design-响应面优化法优化芍药总苷脂质体的制备工艺及体外释放研究

张丹¹, 廖芳^{3*}, 周洁¹, 邹林巧¹, 李东芬²

1. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000

2. 成都中医药大学, 四川 成都 611130

3. 成都市新都区中医医院, 四川 成都 610500

摘要: 目的 研究芍药总苷(TGP)脂质体的最佳制备工艺及其体外释放情况。方法 采用逆向蒸发法制备TGP脂质体,以包封率为评价指标,采用Box-Behnken Design-响应面优化法(BBD-RSM)优化最佳制备工艺参数,并对其体外释放情况进行考察。结果 最佳处方为胆固醇与磷脂质量比为1:2.7, TGP与脂类质量比为1:29,水化介质用量5.1 mL,药物的平均包封率为73.0%,体外12 h累积释放率为42.18%。结论 TGP脂质体制备工艺合理可行,包封率高,稳定性好,有良好的缓释作用。

关键词: 芍药总苷; 脂质体; Box-Behnken Design-响应面优化法; 体外释放; 缓释

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)03-0359-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.03.010

Optimization of preparation technology for total glucosides from *Paeonia lactiflora* liposome by BBD-RSM and its *in vitro* release

ZHANG Dan¹, LIAO Fang³, ZHOU Jie¹, ZOU Lin-qiao¹, LI Dong-fen²

1. Department of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China

3. The Traditional Chinese Medicine Hospital of Xindu District, Chengdu 610500, China

Abstract: Objective To optimize the preparation technology for total glucosides from *Paeonia lactiflora* (TGP) liposome and study on its *in vitro* release. **Methods** Liposomes were prepared by reverse-phase evaporation technique. Taking the entrapment efficiency (EE) as indexes, the preparation of liposome was optimized using Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM), and the *in vitro* release was studied. **Results** The optimal formulation was cholesterol-lecithin (1 : 2.7), TGP-lipid (1 : 29), and hydrated medium of 5.1 mL. The average EE were 73.0% and the 12 h *in vitro* accumulative release rate was 42.18%. **Conclusion** The optimized process is rational and feasible, and the TGP liposome has the higher EE and good stability with better sustained release *in vitro*.

Key words: total glucosides from *Paeonia lactiflora*; liposome; Box-Behnken design-response surface method; *in vitro* release; sustained release

芍药总苷(total glucosides from *Paeonia lactiflora*, TGP)为白芍的主要有效部位,是从毛茛科植物芍药 *Paeonia albiflora* Pall. 根部提取而得,主要含芍药苷、芍药内酯苷等化合物,其中以芍药苷的量最高,活性最强^[1]。现代药理研究表明,TGP具有明显的保肝、神经保护、免疫调节、抗炎

镇痛、抗抑郁、改善心肺功能和微循环、抗肿瘤等作用,临床上常用于慢性肝炎、类风湿性关节炎等疾病的治疗^[2-12]。但由于芍药苷属单萜苷类,性质不稳定,光、氧、热、酸等易使其结构发生改变,进而影响到TGP及其制剂的临床疗效,所以提高TGP化学稳定性非常重要。

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 泸州科技局(2012-S-36); 泸州医学院大学生科研项目(201387)

作者简介: 张丹(1975—),女,副教授、博士,四川省泸州医学院药学院,研究方向为中药新制剂、新工艺、中药炮制。

Tel: 18982700067 E-mail: ppkfoot7@163.com

*通信作者 廖芳,副主任中药师。Tel: 18980716118 E-mail: 67077496@qq.com

将药物制备成脂质体,不仅可以提高药物的稳定性,增加药物的治疗指数,减少服用量,提高患者的顺应性,还具备一定的靶向、缓释等优点,现已成为药物靶向传递系统研究的热点^[13]。TGP 制剂有颗粒剂、胶囊、片剂、缓释制剂等剂型,口服生物利用度低,故本课题组将其制备成脂质体,考察了 TGP 脂质体的制备方法,采取单因素结合 Box-Behnken Design-响应面优化法(BBD-RSM)研究 TGP 脂质体制备过程中各影响因素对芍药苷包封率的影响,优化制备工艺参数,并考察其体外释放,为进一步体内研究奠定基础,更好地发挥临床治疗作用。

1 仪器和材料

BP211D 型十万分之一电子天平,德国 Sartorius 公司;安捷伦 1200 型 HPLC 色谱仪, DAD 检测器,安捷伦公司;BUG25-12 超声清洗器,西化仪(北京)科技有限公司;R-210 型 BUCHI 旋转蒸发器,瑞士步琪公司;透析袋,截留相对分子质量 8 000~14 000,美国联合碳化物公司。

芍药苷对照品,批号 110736-20100919,质量分数 $\geq 98\%$,中国食品药品检定研究院;TGP 提取物,批号 20120518,宁波立华制药有限公司,含芍药苷 $> 90\%$;大豆卵磷脂,药用,西安悦来医药科技有限公司;胆固醇,上海思域化工科技有限公司;乙腈, Fisher HPLC Grade 公司;自制重蒸馏水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定芍药苷

2.1.1 色谱条件 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(14:86);色谱柱为 Diamonsil C₁₈(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 230 nm;柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L。

2.1.2 线性关系考察 取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成含芍药苷 31.6 μ g/mL 的对照品溶液,精密吸取对照品溶液 4、8、12、16、20、24 μ L,按照“2.1.1”项色谱条件依次进样,测定峰面积。以峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行线性回归,得芍药苷回归方程为 $Y=1\ 309.4 X-28.706$, $r=0.999\ 9$,表明芍药苷在 0.126~0.758 μ g 具有良好线性关系。

2.1.3 精密度考察 取同一份对照品溶液,连续进样 6 次,每次 12 μ L,按照“2.1.1”项色谱条件测定峰面积,计算精密度,其 RSD 为 0.78%,表明仪

器精密度良好。

2.1.4 重复性考察 取同一批号脂质体(批号 20130509)6 份,用甲醇破乳,过 0.22 μ m 滤膜后,按“2.1.1”项色谱条件,测定峰面积,计算脂质体中芍药苷的量,其 RSD 为 0.53%,表明该方法重复性良好。

2.1.5 稳定性考察 取同一批号脂质体(批号 20130509),按照“2.1.4”项下方法制备样品溶液,分别于 0、1、2、4、8、12、24 h 按照上述色谱条件测定峰面积,考察稳定性,其 RSD 为 1.53%,表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.6 加样回收率考察 精密称取同一批已测定的脂质体样品(批号 20130509)9 份,分别加入适量对照品,甲醇破乳后,稀释制成新的供试品溶液,按“2.1.1”项色谱条件,测定其峰面积,计算加样回收率,得芍药苷的平均加样回收率为 98.8%,RSD 为 2.37%,表明方法准确度良好。

2.1.7 脂质体包封率的测定 取 TGP 脂质体,用甲醇破乳,过 0.22 μ m 滤膜后,HPLC 法测定芍药苷的质量浓度(C_0)。采用透析法分离脂质体和游离药。另取脂质体于透析袋内,以 100 mL 蒸馏水为透析介质,透析 24 h,HPLC 法测定透析介质中芍药苷的质量浓度(C_1),计算芍药苷的包封率。

$$\text{包封率} = 1 - C_1/C_0$$

C_1 为游离的芍药苷质量浓度, C_0 为芍药苷总质量浓度

2.2 脂质体制备方法的筛选

2.2.1 薄膜分散法^[14] 称取处方量卵磷脂 0.1 g、胆固醇 0.05 g,用 20 mL 氯仿-乙醚(1:1)的混合液溶解,旋蒸至瓶壁形成均匀类脂薄膜。加入含有药物 TGP 的 pH 5.0 磷酸盐缓冲液(PBS)5 mL,搅拌,超声,加 PBS 水化,静置放冷即得脂质体,测其包封率为 55.93%。

2.2.2 逆相蒸发法^[15] 称取处方量卵磷脂 0.1 g、胆固醇 0.05 g,用 20 mL 氯仿-乙醚(1:1)的混合液溶解,再加入含有药物 TGP 的 pH 5.0 PBS 5 mL,超声,旋蒸形成胶态后滴入 PBS,旋蒸至凝胶自然脱落,继续减压除去有机溶剂,制得脂质体混悬液,测其包封率为 62.11%。

2.2.3 乙醇注入法^[16] 称取处方量卵磷脂 0.1 g、胆固醇 0.05 g,溶于 20 mL 无水乙醇(加热至溶),缓慢滴入含有药物 TGP 的 pH 5.0 PBS 5 mL,搅拌 1 h,旋蒸除去乙醇,超声 5 min,制得脂质体,测其包封率为 56.91%。

2.2.4 复乳法^[17] 称取处方量卵磷脂 0.1 g、胆固醇 0.05 g，用 20 mL 氯仿-乙醚 (1:1) 的混合液溶解，加入含有药物 TGP 的 pH 5.0 PBS 5 mL，超声呈均匀乳剂，加缓冲盐溶液超声至 W/O/W 复乳，旋蒸除去有机溶剂，再加入少量的 PBS 水化，静置放冷制得脂质体，测其包封率为 58.34%。

以上 4 种方法中以逆相蒸发法制备 TGP 脂质体包封率最高，而且水溶性药物多用此法制成大单室脂质体，故选择逆相蒸发法制备 TGP 脂质体，并进行工艺优化。

2.3 TGP 脂质体的单因素考察

以芍药苷包封率为考察指标，采用逆相蒸发法制备脂质体，对影响脂质体质量较大的因素进行单因素考察。

2.3.1 胆固醇与卵磷脂质量比的考察 固定药物与脂类质量比为 1:20，水化介质为 3 mL 蒸馏水，选取胆固醇与卵磷脂质量比为 1:1、1:2、1:4、1:6 制备脂质体，测得包封率分别为 57.4%、68.6%、65.2%、59.3%。结果表明，随着卵磷脂用量的增加脂质体包封率呈现先增大后减小的趋势，胆固醇与卵磷脂质量比在 1:2 时包封率最大。

2.3.2 药物 TGP 与脂类质量比的考察 固定胆固醇与大豆卵磷脂质量比 1:2，水化介质为 3 mL 蒸馏水，选取药物 TGP 与脂类质量比为 1:5、1:10、1:20、1:40 制备脂质体，测得包封率分别为 37.8%、55.7%、70.3%、58.3%。结果表明，药物与脂类质量比过大或过小包封率都较低，在 1:20 时包封率最大，可达 70%。

2.3.3 水化介质用量的考察 固定胆固醇与大豆卵磷脂质量比 1:2，药物 TGP 与脂类质量比为 1:20，以蒸馏水为水化介质，选取水化介质的用量为 2、3、5、8 mL 制备脂质体，测得包封率分别为 62.9%、70.3%、71.5%、64.4%。结果表明，水化介质为 5 mL 时脂质体的包封率最佳。

2.4 BBD-RSM 优化 TGP 脂质体处方

2.4.1 试验设计及结果 在单因素试验考察的基础上，固定处方及其制备工艺条件不变，选取对脂质体包封率影响较为显著的 3 个因素设为自变量：胆固醇与卵磷脂质量比 (A)、药物 TGP 与脂类质量比 (B)、水化介质的用量 (C)，采用 Dsign-Expert 8.0.7.1 软件对这 3 个因素分别在 3 个水平上进行设计，以包封率 (Y) 作为响应值，共设计了 17 组试验对方程中各项回归系数进行回归拟合，为减小误

差，其中取 5 组中心点，析因部分实验则为 12 组，因素水平及实验结果见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计及响应值

Table 1 Values of Box-Behnken design

序号	A	B	C/mL	Y/%
1	1:2.5	1:25.0	5.5	71.2
2	1:2.5	1:25.0	5.5	74.5
3	1:1.0	1:10.0	5.5	47.9
4	1:1.0	1:25.0	8.0	58.6
5	1:4.0	1:25.0	8.0	59.1
6	1:2.5	1:25.0	5.5	73.8
7	1:2.5	1:40.0	3.0	63.4
8	1:1.0	1:25.0	3.0	60.5
9	1:4.0	1:40.0	5.5	64.3
10	1:1.0	1:40.0	5.5	62.5
11	1:4.0	1:10.0	5.5	54.4
12	1:4.0	1:25.0	3.0	66.2
13	1:2.5	1:10.0	3.0	60.1
14	1:2.5	1:25.0	5.5	72.7
15	1:2.5	1:40.0	8.0	64.6
16	1:2.5	1:10.0	8.0	52.9
17	1:2.5	1:25.0	5.5	74.2

2.4.2 模型拟合 采用 Design-Expert 对表 1 数据进行分析，以 Y 对自变量进行模型拟合，并通过相关系数 (R^2) 和方差分析对拟合模型进行评价，通过比较各拟合方程的拟合度，得到二次多项式回归方程 $Y=73.28+1.81 A+4.94 B-1.88 C-1.17 AB-1.30 AC+2.10 BC-7.58 A^2-8.43 B^2-4.60 C^2$ ($R^2=0.9797$, $P<0.0001$, $F=37.60$, 失拟度检验 $F=0.2108>0.05$, $F=2.38$)。

由拟合结果可知模型 F 值较高 (37.60), $P<0.0001$, 说明拟合模型高度显著; 失拟项 F 值较小 (2.38), $P>0.05$, 失拟项不显著性, 说明模型在回归区域拟合良好, 符合实验要求, 可用该回归模型对实验结果进行统计分析。该模型的信噪比高 (18.356), 即可用于预测; 方程的决定系数 $R^2=0.9797>0.95$, 表明实测值与预测值间有高度的相关性, 能准确地预测实际情况; 其校正决定系数 R_{adj}^2 为 0.9537, 表明模型响应值的变化有 95.37% 来源于所选自变量, 该实验误差较小, 较好地描述各因素与响应值之间的真实关系, 因此可以用该模型对 TGP 脂质体的制备进行分析与预测。

2.4.3 工艺参数预测和优化 根据二次多项回归方

程拟合结果, 固定其中一个因素水平, 绘出 Y 与其他 2 个因素的等高线图和三维效应曲面图, 预测 TGP 脂质体得最佳处方配比, 见图 1。

由图 1 和方差分析结果 (表 2) 可知, 对 Y 影响显著的是 A ($P=0.0195$)、B ($P<0.0001$)、C ($P=0.0168$)、BC ($P=0.0428$)、 A^2 ($P<0.0001$)、

B^2 ($P<0.0001$)、 C^2 ($P=0.0009$), 说明各因素与响应值之间并不是简单的线性关系; B 对 Y 影响极为显著 ($P<0.01$), A、C 对 Y 影响显著 ($P<0.05$), 影响 Y 的因素主次顺序为 $B>C>A$, BC 对 Y 的影响显著 ($P<0.05$), 而且图中两曲面坡度较陡, 表明 BC 对响应值有较强的交互作用。

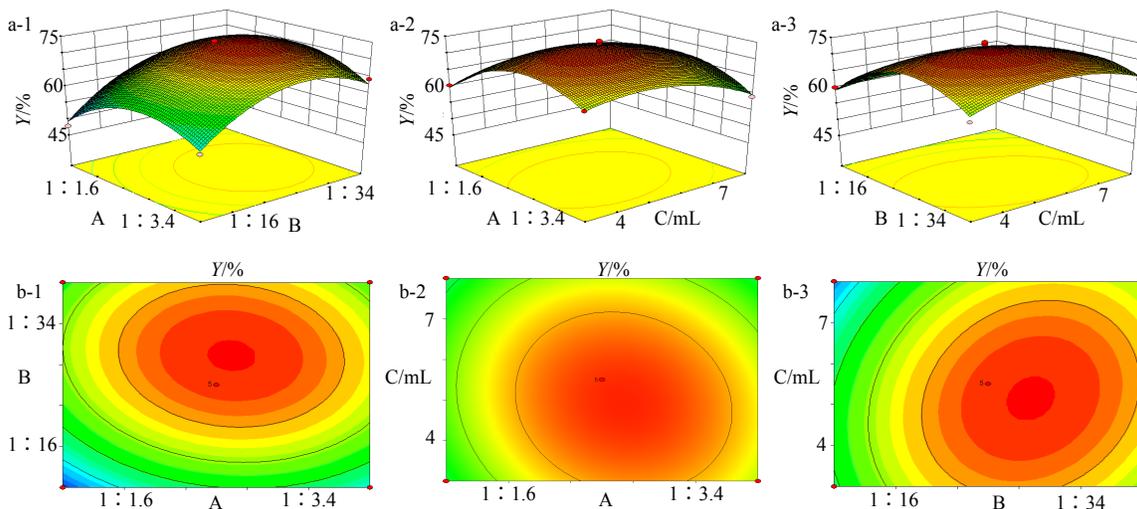


图 1 Y 与 (A 和 B, 1)、(A 和 C, 2)、(B 和 C, 3) 3 因素的三维效应面图 (a) 和等高线图 (b)

Fig. 1 3D response surface (a) and contour (b) plots of Y and (A and B, 1), (A and C, 2), and (B and C, 3) factors

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	977.78	9	37.60	<0.000 1
A	26.28	1	9.10	0.019 5
B	195.03	1	67.50	<0.000 1
C	28.13	1	9.73	0.016 8
AB	5.52	1	1.19	0.209 3
AC	6.76	1	2.34	0.170 0
BC	17.64	1	6.11	0.042 8
A^2	241.76	1	83.67	<0.000 1
B^2	299.04	1	103.50	<0.000 1
C^2	89.19	1	30.87	0.000 9
残差	20.23	7		
失拟值	12.96	3	2.38	0.210 8
纯误差	7.27	4		

由图 1 可知, 固定 C, 绘制 A 和 B 2 因素的交互图, 随着 A 和 B 质量比的增加, 响应值均为一曲面, 均呈现先升后降的趋势。TGP 包封率在 A 为 1:2.67 时存在极大值, 这是因为胆固醇可以增加脂质体膜中双分子排列的紧密程度, 起到稳定脂质体膜的作用, 随着胆固醇的相对用量减少, 在相同质量

的脂质中, 脂质体膜的刚性降低, 总表面积增大, 所包裹的药物量增加, 包封率增加, 但随着磷脂用量的进一步增大, 脂质双分子膜不对称性和通透性增大, 药物渗漏较多, 导致包封率又下降; B 为 1:29 时也存在极大值, 这可能因为在相同质量的脂质中, 当药物用量过大, 超过脂质膜的承载限度, 导致药物渗漏, 包封率降低; 当药物用量过小, 由于脂质体膜内外药物浓度差较小, 也不利于药物的包裹, 导致包封率又进一步降低。

固定 B, 绘制 A 和 C 2 因素的交互图, 随着 A 的质量比和 C 用量的增加, 响应值仍为一曲面, 均呈现先升后降的趋势, A 在 1:2.67、C 在 5.1 mL 时, 响应值最高。

固定 A, 绘制 B 和 C 2 因素的交互图, 随着 B 的质量比和 C 用量的增加, 响应值仍为一曲面, 均呈现先升后降的趋势, B 在 1:29、C 在 5.1 mL 时, 响应值最高。

2.5 验证试验

按照优化的处方剂量, 考虑实际操作的可性, 各因素值保留一位小数, 制备 3 批 (批号 20130507、20130509、20130512) TGP 脂质体样品 (胆固醇与磷脂质量比 1:2.7, TGP 脂质体提取物与脂类质量

比 1 : 29, 水化介质用量 5.1 mL), 测定包封率分别为 74.2%、71.3%、73.5%, 实测平均包封率为 73.0%, RSD 为 2.07%。为检查试验结果与拟合模型是否相符, 将优化的因素结果代入方程得到包封率的预测值为 74.2%, 包封率实测值与预测值相差不大, 相对偏差低于 3%, 表明该模型预测性好, 可信度高, 该工艺稳定可行。

2.6 体外释放度测定和释放模型的建立

以 pH 5.0 的 PBS 为释放介质, 对 TGP 脂质体进行体外释药研究。精密吸取 5 mL TGP 脂质体, 置于已处理好的透析袋中, 加入到 100 mL 释放介质中, 于 37 °C 水浴以 120 r/min 动态透析, 分别在 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、10、12 h 吸取 1 mL 释放介质(同时补加等量、同温的释放介质), HPLC 法测定芍药苷的质量浓度, 计算 TGP 脂质体的累积释放率。制备 TGP 水溶液(药物 TGP 质量浓度与 TGP 脂质体中的相当), 按上述方法计算游离药物的累积释放率, 见图 2。结果表明游离药物 8 h 释放率达到 100%, 而脂质体 12 h 累积释放率 42.18%, 释药速率较慢, 表明 TGP 制成脂质体后具有一定的缓释效应。

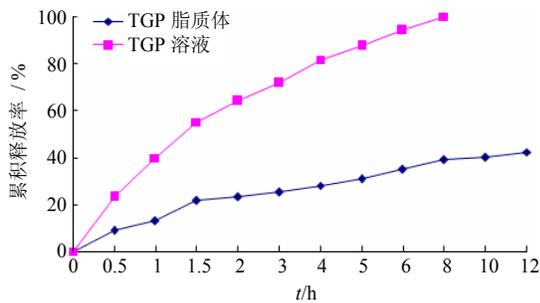


图 2 TGP 脂质体和溶液释放曲线

Fig. 2 Accumulative release of TGP liposome and solution

采用零级、一级、Higuchi 模型对脂质体的体外释药数据进行拟合, 得到的回归方程如下: 零级方程 $Y=2.6526t+15.113$, $r=0.9310$; 一级方程 $Y=-0.0373t-0.1576$, $r=0.9522$; Higuchi 方程 $Y=-0.1181t^{1/2}+0.0403$, $r=0.9773$ 。从方程的相关系数 r 值可知, TGP 脂质体的体外释药以 Higuchi 模型拟合最好。

2.7 脂质体的形态、粒径和 Zeta 电位

取脂质体适量, 稀释至一定量, 采用磷钼酸染色法-透射电子显微镜观察 TGP 脂质体, 脂质体为圆球状的囊泡, 外观圆整规则, 大小均匀。采用激光粒径分析仪分别测定脂质体的平均粒径和 Zeta

电位, 结果表明, 其粒径为 (488 ± 12) nm, Zeta 电位为 (-115.7 ± 8.3) mV, 见图 3。

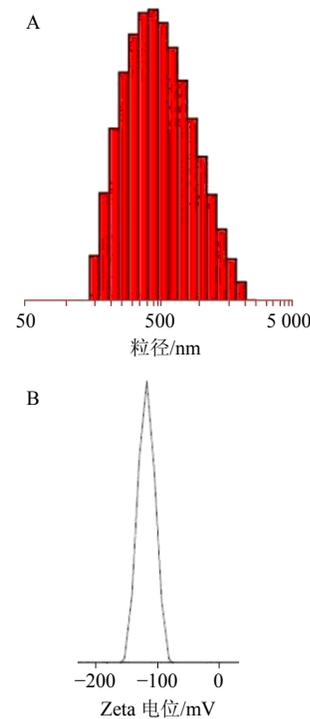


图 3 TGP 脂质体的粒径分布 (A) 和 Zeta 电位 (B)

Fig. 3 Size distribution (A) and Zeta potential (B) of TGP liposome

3 讨论

药物要制成脂质体, 需要有适宜的脂溶性和水溶性, 芍药苷有较好的水溶性, 故在实验中考察了 TGP 在不同介质及 pH 值溶液中的油水分配系数, 其值在 $-0.98 \sim -0.47$, 为水溶性药物 ($\lg P < -0.3$), 能形成稳定、较高包封率的脂质体^[18]。芍药苷在蒸馏水中油水分配系数最大 (-0.47), 其次为 pH 5.0 PBS (-0.50), 但芍药苷显一定的弱酸性, 在 pH 3~5 内较稳定^[19], 对芍药苷在不同介质中溶解度的考察也发现, 芍药苷在 pH 5.0 PBS 中的溶解度最大 (51.4 mg/mL), 故选择 pH 5.0 PBS 作为溶解药物的水相。

制备脂质体的影响因素较多, 实验采用单因素方法考察了有机相种类和用量、胆固醇与卵磷脂质量比、药物与脂类质量比、水化介质的种类和用量、水化时间、水浴温度几个主要因素。结果以有机相为 10 mL 乙醚, 水化时间为 2 min 时脂质体的包封率最大; 水化介质为蒸馏水, 虽然以蒸馏水为水化介质制得脂质体包封率要小于以 PBS, 但脂质体放置过夜后是均匀的乳状液, 而以 PBS 制得的脂质体

放置过夜后分为 2 层, 经振摇后不能形成均匀的乳状液, 故选择以蒸馏水为水化介质; 水浴温度为 45 °C 时包封率略小于 38、50 °C 时的包封率, 但制得的脂质体稳定性较好, 放置过夜后仍然是均匀的乳状液, 38、55 °C 时下制得的脂质体放置过夜后分层, 经振摇后不能形成均匀的乳状液, 故选择水浴温度 45 °C。但以上因素对制备 TGP 脂质体的影响较小, 故只进行了单因素考察, 对影响较大的胆固醇与卵磷脂质量比、药物与脂类质量比、水化介质的用量这 3 个因素进行 BBD-RSM 优化, 考察最佳工艺条件参数。BBD-RSM 建立的连续变量曲面模型, 使所有的试验点都落在安全操作区域内, 比正交和均匀设计具有更高的精确度和预测性, 是一种优化试验条件的数学统计方法^[20]。

测定脂质体包封率的方法有超速离心法、超滤法、凝胶过滤法、透析法等。本实验分别对以上方法进行了考察, 超速离心低速时脂质体分离不完全, 高速易使脂质体被破坏而影响包封率的测定; 超滤法测得包封率与实际相差较大, 可能是因为芍药苷为水溶性药物, 制得的多为大单室脂质体, 实验中选择 0.22 μm 的微孔滤膜滤过, 粒径较大的脂质体可能被破坏, 而较小粒径的脂质体又直接通过滤孔进入到滤液中造成误差较大; 凝胶柱滤过虽测定的包封率较准确, 但操作繁琐, 要求较高, 消耗时间长; 透析法简单、易行, 重复性好, 实验结果也较准确, 故本实验选择透析法测定包封率。综上, 本研究增加了芍药苷制剂的新品种, 不仅为中药有效部位脂质体的制备提供参考, 还为临床提供安全有效、生物利用度高的新型给药系统的研究打下良好的基础。

参考文献

- [1] 张莹, 方勇飞, 王勇. 白芍总甙治疗类风湿关节炎药理作用研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(27): 4364-4365.
- [2] 崔广智. 芍药苷抗抑郁作用的实验研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(4): 231-233.
- [3] Liu D F, Wei W, Song L H. Protective effect of paeoniflorin on immunological liver injury induced by bacillus calmette-guerin plus lipopolysaccharide: modulation of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 mRNA [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, 33(4): 332-339.
- [4] Liu D Z, Zhu J, Jin D Z, et al. Behavioral recovery following sub-chronic paeoniflorin administration in the striatal 6-OHDA lesion rodent model of Parkinson's disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 112(2): 327-332.
- [5] 马伟, 马卫东, 苗珍花, 等. 芍药苷神经保护作用的实验研究 [J]. 宁夏医科大学学报, 2011, 33(2): 132-135.
- [6] 高崇凯, 吴雁, 王勇, 等. 白芍总苷粉针剂的抗炎、镇痛作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(3): 163-165.
- [7] 王丽雯, 袁昉, 魏伟. 重组人白细胞介素对人外周血淋巴细胞功能的影响及芍药苷的作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2009, 25(2): 129-133.
- [8] Mao Q Q, Xian Y F, Ip S Po, et al. Protective effects of peony glycosides against corticosterone-induced cell death in PC12 cells through antioxidant action [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(3): 1121-1125.
- [9] 杨煜, 吕文伟, 宋瑛士, 等. 白芍总苷抗血栓形成作用 [J]. 中草药, 2006, 37(7): 1066-1068.
- [10] 韩蕾, 周晓辉, 王维伟, 等. 白芍总苷对腹主动脉结扎所致大鼠心肌重构的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(2): 330-334.
- [11] 方申存, 戴伟, 吴昊, 等. 芍药苷对人胃癌 SGC7901/VCR 细胞增殖抑制作用及其机制研究 [J]. 南京医科大学学报, 2010, 35(5): 636-640.
- [12] 王世宏, 魏伟, 许杜娟, 等. 白芍总苷对 SMMC-7721 细胞增殖的抑制作用 [J]. 安徽医药, 2006, 10(1): 8-9.
- [13] 杨秀伟, 郝美容, 服部正雄. 中药成分代谢分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.
- [14] 王永利, 王立华, 李维爽, 等. 大黄酚脂质体的制备及其质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1119-1121.
- [15] 张丽红, 张志荣, 韩丽妹, 等. 丹参总酚酸脂质体的制备和药剂学性质 [J]. 复旦学报: 医学版, 2007, 34(3): 391-395.
- [16] 郭波红, 程怡, 林绿萍. 甘草次酸脂质体的制备及其药剂学性质的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 380-383.
- [17] 陶昱斐, 姚瑶, 丁燕飞, 等. 酪丝亮肽多囊脂质体的制备和体外释放研究 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(3): 228-232.
- [18] 陆彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [19] 罗娟, 呼延玲, 刘晓玲. 溶液 pH 对芍药苷稳定性的影响 [J]. 中国药业, 2011, 20(2): 26-27.
- [20] 马伟, 尹莉芳, 周建平, 等. Box-Behnken 中心组合设计优化甘草酸二铵缓释片的处方 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1086-1090.