

• 药剂与工艺 •

丹参酮 II_A 纳米结构脂质载体的体外评价及其对 HaCaT 细胞增殖的影响郑娟^{1,3}, 沈成英¹, 庞建云^{1,3}, 廖卫波¹, 徐平华^{2,3}, 刘娟³, 连王权¹, 袁海龙^{1*}

1. 空军总医院, 北京 100142

2. 中国人民解放军第三〇二医院, 北京 100039

3. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

摘要: 目的 进一步评价丹参酮 II_A 纳米结构脂质载体 (TII_A-NLC) 的性质, 并考察其对 HaCaT 细胞增殖的影响。方法 采用纳米粒度仪及 HPLC 法对 TII_A-NLC 的粒径和光稳定性进行考察, 透析袋法测定 TII_A-NLC 在 72 h 内的累积释放量并绘制释放曲线, MTT 法考察 TII_A-NLC 对 HaCaT 细胞增殖的影响。结果 TII_A-NLC 的平均粒径为 (178±9) nm, 多分散度指数 (PDI) 为 0.183±0.017, Zeta 电位 (-27.5±5.6) mV, 体外 72 h 累积释放量为 52.28%, TII_A-NLC 能显著降低 TII_A 的光降解速率, TII_A 在一定范围内以剂量依赖性的方式抑制 HaCaT 细胞增殖, 同质量浓度的 TII_A-NLC 对 HaCaT 细胞增殖的抑制作用显著高于 TII_A 溶液。结论 TII_A-NLC 稳定性好, 具有良好的缓释作用, 较好的细胞生物相容性, 能显著提高 TII_A 对 HaCaT 细胞增殖的抑制作用。

关键词: 丹参酮 II_A; 纳米结构脂质载体; 体外释放; 光稳定性; HaCaT 细胞; HPLC; 细胞增殖; 缓释作用; 生物相容性

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)24-4340-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.24.008

Evaluation and effects on HaCaT cells *in vitro* of tanshinone II_A-loaded nanostructured lipid carrierZHENG Juan^{1,3}, SHEN Cheng-ying¹, PANG Jian-yun^{1,3}, LIAO Wei-bo¹, XU Ping-hua^{2,3}, LIU Juan³, LIAN Wang-quan¹, YUAN Hai-long¹

1. The General Hospital of Air Force, Beijing 100142, China

2. 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China

3. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To evaluate TII_A-NLC's quality *in vitro* and study its effects on the HaCaT cells. **Methods** Its particle size, polydispersity index (PDI) and photostability were investigated by Zetasizer analyzer and high-performance liquid chromatography (HPLC). The *in vitro* release of TII_A-NLC within 72 h was measured by dialysis method; Meanwhile MTT assay was used to detect proliferation activity on HaCaT cells. **Results** The average particle size, PDI and Zeta potential of TII_A-NLC was: (178±9) nm, 0.183±0.017 and (-27.5±5.6) mV. The 72 h *in vitro* accumulative release rate was 52.28%, and the degradation velocity of TII_A was significantly slowed down. The TII_A-NLC inhibited the proliferation of HaCaT cells in concentration-dependent mode within a certain range. Compared with TII_A group, TII_A-NLC had more effects on the HaCaT cells. **Conclusion** The prepared TII_A-NLC showed good stability, sustained release of interest, good cell biology intermiscibility, and could obviously increase the effects on the HaCaT cells.

Key words: tanshinone II_A; nanostructured lipid carrier; *in vitro* release; photostability; HaCaT cells; HPLC; cell proliferation; sustained release; biology intermiscibility

收稿日期: 2016-08-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573696)

作者简介: 郑娟 (1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术。Tel: (010)9285557 E-mail: 1259881981@qq.com

*通信作者 袁海龙, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010)66928505 E-mail: yhlpharm@126.com

丹参酮 II_A (tanshinone II_A, TII_A) 是从唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎中分离得到的一种二萜醌类化合物, 具有抗氧化、抗菌消炎、抗心脑血管疾病、抗肿瘤、改善微循环、调节免疫等活性^[1-4]。TII_A 已应用于心脑血管病等系统性疾病防治多年^[5-6], 但近年来国内外学者对 TII_A 的药理作用做了进一步探索后发现其在皮肤科疾病如银屑病、痤疮等潜在应用^[7-8]。有文献报道 TII_A 对银屑病的体外模型即人永生角化细胞具有抑制作用, 其机制可能与下调细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (pCDK2) 和细胞周期 A 蛋白, 诱导细胞阻滞在 S 和 G₂/M 期以及破坏线粒体、激活 caspase-3 触发细胞凋亡等有关^[8]。然而, TII_A 水溶性极差、见光易分解、透皮吸收性差, 这严重限制了其在皮肤科外用制剂中的应用^[9-12]。为解决这一难题, 课题组前期已研制出 TII_A 纳米结构脂质载体 (TII_A-NLC), 体外透皮结果显示其具有良好的皮肤滞留量, 能将药物聚集在银屑病的发病部位表皮, 使之充分发挥药物的皮肤治疗效果^[13]。本实验在前期优化 TII_A-NLC 的基础上对其光稳定性、体外释放性能以及其对 HaCaT 细胞的抑制作用做进一步评价。

1 仪器与材料

JHBE-20A 高速匀浆机, 河南金鼎科技发展有限公司; Nano DeBEE 高压均质机, 美国必宜公司; Winner 801 纳米激光粒度仪, 济南微纳颗粒仪器股份有限公司; LC-20A 岛津液相色谱仪, 日本岛津公司; JS94J2Zeta 电位测量仪, 北京中仪远大自动化技术有限公司; KQ-100E 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; ZRS-6 智能溶出仪, 天津市光学仪器厂; CO₂ 培养箱, 3110 Series II 水套, Thermo Fisher 公司; XDS-1B 型倒置生物显微镜, 北京京瑞天下科技有限公司; Multiskan GO 型全波长酶标仪, Thermo Scientific 公司。

TII_A 原料药, 质量分数 98%, 西安鸿生生物技术有限公司, 批号 150301; TII_A 对照品, 中国食品药品检定研究院, 批号 110766-201520, 质量分数 99%; 单硬脂酸甘油酯 (GMS), 阿法埃莎 (天津) 化学有限公司; 泊洛沙姆 188, 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司, 批号 141201; Miglyol[®] 812, 广州威希化工有限公司, 批号 150420; HaCaT 人永生角化细胞, 上海弘顺生物科技有限公司; DMEM 培养液, 美国 Gbico 公司, 批号 1545127;

胎牛血清, 美国 HyClone 公司, 批号 DPEO166; 角质形成细胞生长因子 (KGF), 美国 Peprotech 公司; 双抗四甲基偶氮唑盐 (thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT, 批号 1524B37)、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO, 批号 20150306124) 均购自美国 Amresco 公司; 甲醇, 色谱醇, 加拿大 Promptar 公司; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TII_A-NLC 的制备^[13]

采用高压均质法制备 TII_A-NLC。避光条件下, 分别称取 5.86% GMS 和 2.94% Miglyol[®] 812 水浴加热成熔融状态, 再加入 0.10% TII_A 原料药, 混匀后作为油相。称取 1.00% 泊洛沙姆 188 溶于蒸馏水中, 加热至相同温度, 作为水相。在 70 °C 的条件下, 将同温度的油相滴加到水相中, 滴加完毕后搅拌 (转速为 2 000 r/min) 20 min, 得到 TII_A 乳剂, 即初乳。将得到的初乳在 13 300 r/min 的条件下高速剪切 5 次, 每次 1 min, 在 82.74 MPa (12 000 psi) 条件下均质循环 6 次, 室温下流动水冷却固化, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得载药量为 (0.98 ± 0.18) % 的 NLC 胶体溶液 TII_A-NLC。

采取上述制备方法, 在处方中不加 TII_A, 即得不含 TII_A 的空白 NLC。

2.2 TII_A-NLC 粒径分布与 Zeta 电位测定

取适量 TII_A-NLC, 加蒸馏水稀释。采用激光粒度仪测量 TII_A-NLC 的粒径, 重复 3 次, 结果见图 1。结果表明 TII_A-NLC 平均粒径为 (178 ± 9) nm ($n=3$), 多分散度指数 (PDI) 为 0.183 ± 0.017 ($n=3$), Zeta 电位为 (-27.5 ± 5.6) mV。

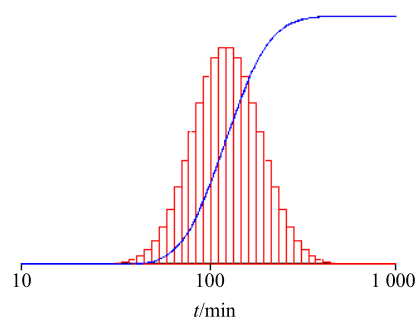


图 1 TII_A-NLC 的粒径分布

Fig. 1 Particle size distribution of TII_A-NLC

2.3 光稳定性评价

将 TII_A-NLC 水分散液、TII_A 乳剂及 TII_A 乙醇溶液置于透明西林瓶中 (4 500 lx) 下照射, 于不同时间点取样, 甲醇破乳处理后采用 HPLC 法

测定 TII_A 量^[13]。结果见表1。结果表明,光照24 h后 TII_A -NLC 中药物 TII_A 量仅下降7.04%,乳剂和乙醇溶液中药物 TII_A 量分别下降21.79%和43.80%。说明 TII_A -NLC 能够显著提高 TII_A 对光的稳定性。

表1 光稳定性实验结果
Table 1 Results of light stability study

照射时间/h	TII_A 量/%		
	NLC	乳剂	醇溶液
0	100	100	100
0.5	98.45±0.15	97.25±0.26	94.48±1.98
1.0	98.27±1.35	96.32±2.23	90.16±2.92
1.5	98.53±2.61	92.71±3.33	84.43±3.46
2.0	95.18±2.94	90.61±3.64	80.92±3.75
4.0	94.13±3.13	86.28±3.88	70.60±2.88
6.0	96.32±2.05	83.14±4.01	62.54±5.43
8.0	95.38±2.82	78.28±4.12	59.28±4.98
12.0	94.47±2.16	76.47±4.46	56.47±5.49
24.0	92.96±1.38	78.21±3.85	56.20±3.99

2.4 TII_A -NLC 体外释放行为考察

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水溶液 (85:15), 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 270 nm; 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。

2.4.2 对照品溶液的制备 称取 TII_A 对照品适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 得 1.536 mg/mL TII_A 对照品储备液。精密量取 TII_A 对照品储备液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得 15.36 $\mu\text{g/mL}$ TII_A 对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 取 TII_A -NLC 适量于已处理好的透析袋中 (截留相对分子质量为 7 000), 密封两端, 其中一端固定在溶出仪的搅拌桨下端, 置于盛有 300 mL 含 1% SDS 的磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 的溶出杯中, 转速为 100 r/min, 2 h 时取样 1 mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4.4 专属性考察 取 TII_A 对照品溶液、 TII_A -NLC 供试品溶液、阴性对照溶液 (不含 TII_A 的空白 NLC 溶于释放介质后的溶液), 按照“2.4.1”项下色谱条件进行测定, 结果显示, 阴性对照溶液在与对照品相同保留时间处未见色谱峰, 说明其他成分对 TII_A 的测定无干扰, 其色谱图见图2。

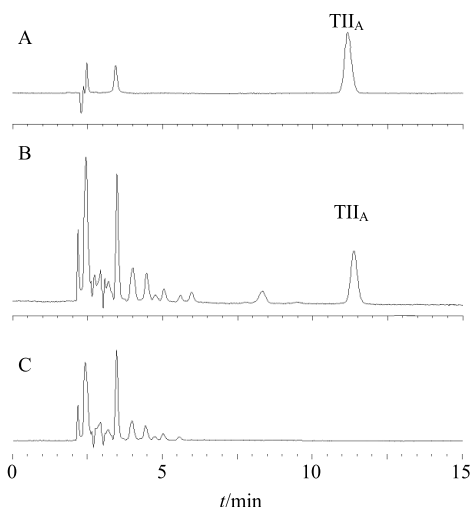


图2 TII_A 对照品 (A)、 TII_A -NLC 供试品 (B) 和阴性对照溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of TII_A reference substance (A), TII_A -NLC sample (B), and negative reference solution (C)

2.4.5 线性关系考察 精密吸取质量浓度为 15.36 $\mu\text{g/mL}$ 的 TII_A 对照品溶液适量, 用甲醇稀释得质量浓度为 0.768、3.84、7.68、11.52、15.36 $\mu\text{g/mL}$ 系列对照品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件进行测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 色谱峰面积为纵坐标 (Y), 得到回归方程 $Y=21\ 805\ X+617.97$, $r=0.999\ 9$, 表明 TII_A 在 0.768~15.36 $\mu\text{g/mL}$ 呈良好线性关系。

2.4.6 精密度试验 精密吸取质量浓度为 7.68 $\mu\text{g/mL}$ 的 TII_A 对照品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件进样, 平行测定 6 次, 计算精密度。结果显示 TII_A 峰面积 RSD 为 0.55%。

2.4.7 重复性试验 取同一批次的 6 份 TII_A -NLC, 按“2.4.3”项下方法配制供试品溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件进样分析, 记录 TII_A 峰面积, 计算 TII_A 量。结果 TII_A 质量浓度稳定, RSD 为 1.74%。

2.4.8 稳定性试验 取供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、24、36 h 进样分析, 测定 TII_A 峰面积。结果 RSD 为 0.83%, 表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.4.9 加样回收率试验 精密称取已测定 TII_A 质量浓度的 TII_A -NLC 6 份, 分别加入一定量的含 1% SDS 的磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4), 加入精密量取的 TII_A 对照品溶液适量, 超声充分溶解, 混匀, 按“2.4.1”项下色谱条件进样分析, 计算加样回收率。结果回收率为 97.13%~102.31%, RSD 为 1.82%, 表明该方法准确度良好。

2.4.10 体外释放度的测定 采用透析袋法初步研

究 TH_A-NLC、TH_A 乳剂、TH_A 溶液（乙醇溶解）的体外释放。分别取 5 mL 新制备的 TH_A-NLC、TH_A 乳剂、TH_A 溶液于活化好的透析袋中，两端夹紧，置于盛有 300 mL 含 1% SDS 的 PBS（pH 7.4）的溶出杯中，温度为 37 ℃，转速为 100 r/min，分别于 0、0.25、0.5、0.75、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、48.0、72.0 h 取样 1 mL，同时补加同温同体积的溶出介质，样品用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过，HPLC 法测定其 TH_A 量，并计算 TH_A 累积释放量。结果见图 3。由图 3 可知，在 72 h 时，TH_A 溶液的累积释放量达 96.27%，TH_A 乳剂的累积释放量达 70.83%，而 TH_A-NLC 的累积释放量仅 52.28%，说明 NLC 能延缓 TH_A 的释放。

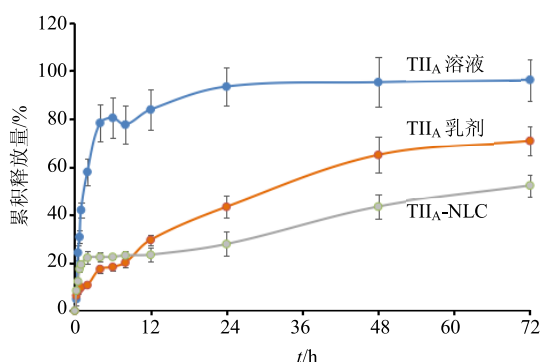


图 3 TH_A-NLC、TH_A 乳剂及 TH_A 溶液在 PBS（pH 7.4，含 1% SDS）中释放曲线（ $\bar{x} \pm s, n = 3$ ）

Fig. 3 *In vitro* release of TH_A-NLC, TH_A-SUS and TH_A solution in pH 7.4 PBS buffer solution with (1% SDS) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 MTT 法检测 TH_A-NLC 对 HaCaT 细胞增殖的作用

2.5.1 细胞培养 HaCaT 细胞购自上海弘顺生物科技有限公司，将复苏后的细胞接种于 DMEM 培养液中（含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素），培养于 37 ℃、5% CO₂ 细胞培养箱中。

2.5.2 检测方法 选择对数生长期的 HaCaT 细胞，0.25% 胰蛋白酶消化，制备细胞悬液，细胞计数后调整为 2×10^5 个/mL，接种于 96 孔板中，每孔 100 μL，于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内培养使细胞贴壁。当细胞贴壁量达到 80% 左右时，吸出各孔上清液及未贴壁细胞，加入终质量浓度分别为 0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 μg/mL 的 TH_A-NLC 和 TH_A 溶液（DMSO 溶解，10% DMEM 稀释使 DMSO 体积分数均不超过 0.1%）。每一质量浓度设 6 个复孔，同时

设定空白溶剂组（培养液）和空白对照组（培养液加细胞）。细胞分别培养 24、48、72 h 后，加入 MTT 10 μL，37 ℃ 孵育 4 h，弃上清液，酶标仪 570 nm 波长下测吸光度（A）值，计算生长抑制率（IR）。

$$IR = 1 - (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白溶剂}}) / (A_{\text{空白对照}} - A_{\text{空白溶剂}})$$

2.5.3 实验结果 结果见表 2。从结果可以看出，TH_A 溶液和 TH_A-NLC 对 HaCaT 细胞均具有一定的抑制作用，且在一定范围内，呈剂量依赖性，低质量浓度的 TH_A 对 HaCaT 细胞抑制作用不强，而过高质量浓度的 TH_A 也不能进一步增强对细胞的抑制作用，可能是因为 TH_A 对 HaCaT 细胞并非直接杀伤，而是呈细胞周期依赖性地触发细胞发生内源性线粒体依赖性凋亡，而同质量浓度的空白 NLC 无明显的毒性。随着处理时间的延长，TH_A 对 HaCaT 细胞的抑制作用有所下降，可能是 HaCaT 细胞对 TH_A 产生了一定的适应性所致。

表 2 TH_A-NLC 和 TH_A 溶液对 HaCaT 细胞生长抑制作用（ $\bar{x} \pm s, n = 6$ ）

Table 2 Proliferation activity of TH_A-NLC and free TH_A solution on HaCaT cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	质量浓度/ (μg·mL ⁻¹)	抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
空白脂质载体	—	4.32 ± 1.61	3.72 ± 2.30	4.07 ± 1.36
TH _A 溶液	0.625	26.81 ± 4.92	24.33 ± 3.40	20.72 ± 4.37
	1.25	33.22 ± 7.06	31.34 ± 4.65	28.19 ± 3.83
	2.5	40.96 ± 5.24	36.31 ± 4.03	32.07 ± 3.47
	5.0	48.05 ± 4.95	42.25 ± 6.06	38.32 ± 2.72
	10.0	47.45 ± 6.57	40.97 ± 3.49	34.03 ± 4.12
TH _A -NLC	0.625	35.57 ± 4.63	32.57 ± 4.56	30.96 ± 4.09
	1.25	47.56 ± 5.88	45.80 ± 6.18	42.65 ± 3.61
	2.5	62.43 ± 5.92	47.39 ± 7.09	45.40 ± 4.12
	5.0	73.01 ± 2.38	64.58 ± 4.22	61.24 ± 6.07
	10.0	70.83 ± 3.38	64.77 ± 6.88	52.62 ± 5.52

细胞实验结果表明，与 TH_A 溶液相比，随着时间和浓度的增加，TH_A-NLC 组对 HaCaT 细胞具有更强的抑制作用，且 TH_A-NLC 对细胞的抑制率是 TH_A 溶液的 1.52 倍（5.0 μg/mL 处理 24 h），其原因可能是 NLC 粒径较小，易吸附在表面，能更有效地通过膜融合、胞饮等方式进入细胞^[14]；TH_A 包裹在 NLC 中，增加了溶解性，更好地发挥了药效。

3 讨论

光稳定实验结果表明，NLC 能够显著提高 TH_A

对光的稳定性。推测其原因可能是 NLC 将药物包裹于固体脂质或液体小室中,减少了外界环境中的光照、温度因素等对药物的影响,提高了药物的稳定性^[15-16],其次是因为纳米粒子对光有散射作用,减少了光与药物的接触。

NLC 是在固体脂质纳米粒 (SLN) 的基础上发展起来的第 2 代新型胶体载药系统,是一种由固液脂质和表面活性剂组成的具有晶格缺陷的纳米载药系统^[17-19]。其不同之处在于将化学性质差异很大的液态脂质加入到固态脂质中,打破了 SLN 原有的整齐规则的晶格排列,从而使得载体具有较高的晶体缺陷,可提供更多的空间容纳药物,包封率高,药物不易泄漏,提高了载体的载药能力且可控制药物的释放,同时也保持了 SLN 给药系统较好的生理相容性和皮肤靶向性^[20-21]。

药物的包封方式是影响其释放的一个重要因素,NLC 的包封方式主要有吸附和包合 2 种。包合模式中,药物主要包封在缺陷性结晶和脂质层中,而脂药比和溶解度的不同又可以使药物分布在固体脂质、液体脂质或整个无定形的基质中。吸附模式下,药物主要集中脂质表面的乳化剂层中^[22]。根据释放结果,在前 2 h TII_A-NLC 的释放速度较 TII_A 乳剂快,可能是在 70 °C 下制备的 TII_A-NLC,大部分液态脂质 Miglyol® 812 集中在 NLC 的外壳,导致药物出现了突释现象,而 72 h 的累积释放量低,推测可能是药物包裹在纳米骨架中缓慢释放所致。

参考文献

- [1] 李墨灵,张泽曦,杜天乐,等.丹参在皮肤科中的应用[J].中国美容医学,2015,24(14):79-82.
- [2] 续洁琨,栗原博,郑洁静,等.丹参酮类化合物对小鼠应激性肝损伤的保护作用[J].药学报,2006,14(7):631-635.
- [3] 楼招欢,杨波,沈炜,等.丹参二萜醌部位高速逆流色谱制备工艺及体外抗肿瘤活性研究[J].中草药,2015,46(5):679-682.
- [4] 李德川,鲍秀琦,孙华,等.丹参酮 II_A 对缺血性脑中风的神经保护作用研究进展[J].药学报,2015,50(6):635-639.
- [5] 王卉.硒与丹参酮 II_A 并用对兔心肌缺血再灌注的保护作用[D].大连:辽宁中医药大学,2008.
- [6] 丁夏峰.稳心颗粒联合丹参酮 II_A 磺酸钠治疗冠心病心律失常 90 例[J].浙江中医杂志,2015,50(2):153.
- [7] Li F L, X R, Zeng Q C, *et al.* Tanshinone II_A inhibits growth of keratinocytes through cell cycle arrest and apoptosis: Underlying treatment mechanism of psoriasis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi:10.1155/2012/927658.
- [8] Dai J P, Zhu D X, Sheng J T, *et al.* Inhibition of tanshinone II_A, salvianolic acid A and salvianolic acid B on areca nut extract-induced oral submucous fibrosis *in vitro* [J]. *Molecules*, 2015, 20(4): 6794-6807.
- [9] 林珈好,王秀丽,王玉蓉,等.甘草次酸-丹参酮 II_A 复方脂质体处方优化及制备工艺研究[J].中草药,2013,44(7):816-819.
- [10] 李玉萍,顾兵,刘建涛,等.丹参酮 II_A 的研究进展[J].时珍国医国药,2010,21(7):1770-1772.
- [11] 刘其媛,张振海,蒋艳荣,等.基于壳聚糖的丹参酮 II_A 固体分散体的研究[J].中草药,2013,44(4):420-423.
- [12] Hao H, Wang G, Cui N, *et al.* Pharmacokinetics, absorption and tissue distribution of tanshinone II_A solid dispersion [J]. *Planta Med*, 2006, 72(14): 1311-1317.
- [13] 郑娟,沈成英,庞建云,等.丹参酮 II_A 纳米结构脂质载体的处方优化及其体外透皮研究[J].中国中药杂志,2016,41(17):3232-3238.
- [14] Zhang W, Liu J, Zhang Q, *et al.* Enhanced cellular uptake and anti-proliferating effect of chitosan hydrochlorides modified genistein loaded NLC on human lens epithelial cells [J]. *Int J Pharm*, 2014, 471(1/2): 118-126.
- [15] 姜霞,陈思渊,刘卫.辅酶 Q10 纳米结构脂质载体的制备及皮肤靶向性评价[J].中国医院药学杂志,2012,32(12):932-936.
- [16] 许贤会.阿维菌素纳米脂质体的制备及质量控制[D].杨凌:西北农林科技大学,2015.
- [17] 李静静,贾运涛,田睿,等.柚皮素纳米结构脂质载体的处方优化和初步评价[J].中草药,2015,46(2):211-215.
- [18] 殷悦.异甘草素纳米结构脂质载体的制备及大鼠体内药动学研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2015.
- [19] 赵莹莹.芳樟醇纳米结构脂质载体的制备及药动药效研究[D].镇江:江苏大学,2016.
- [20] Das S, Ng W K, Tan R B H, *et al.* Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47(1): 139-151.
- [21] 袁菱,周蕾,陈彦,等.雷公藤红素纳米结构脂质载体的制备及其体外透皮研究[J].中草药,2012,43(8):1514-1518.
- [22] 刘凯,孙进,何仲贵.新型纳米结构脂质载体系统的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2008,25(3):236-242.