

星点设计-效应面法优化丁香苦苷聚乳酸-羟基乙酸纳米粒的制备工艺

张喜武¹, 李秋晗¹, 刘美欣¹, 李永吉¹, 徐坐帝¹, 朱 健¹, 张丽丽¹, 杨斯棋¹, 窦金金^{1*}, 李英鹏^{2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 天津中医药大学, 天津 301617

摘要: 目的 优化丁香苦苷聚乳酸(Syr)-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]纳米粒(Syr-NPs)的处方。方法 采用纳米沉淀法制备Syr-NPs,以包封率、载药量、平均粒径以及总评“归一值”为评价指标,采用星点设计-效应面法考察PLGA质量浓度(A)、丁香苦苷质量浓度(B)、水相与有机相比比例(C)3因素考察对包封率、载药量、平均粒径以及总评归一值的影响,以星点设计-效应面法选取最佳处方条件进行预测分析。结果 最优处方工艺为PLGA质量浓度为9.63 mg/mL, Syr质量浓度为12.88 mg/mL, 有机相与水相的比例为1:9.46, 制得的Syr-NPs的包封率、载药量、平均粒径分别为(27.86±0.87)%、(7.02±0.15)%、(110.0±1.20) nm。结论 该方法稳定可行,可用于优化包载Syr的PLGA纳米粒处方与制备工艺。

关键词: 丁香苦苷; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 星点设计-效应面法; 纳米粒; 包封率; 载药量

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4108-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.015

Optimization of preparation of syringopicrosides PLGA nanoparticles by central composite design-response surface methodology

ZHANG Xi-wu¹, LI Qiu-han¹, LIU Mei-xin¹, LI Yong-ji¹, XU Zuo-di¹, ZHU Jian¹, ZHANG Li-li¹, YANG Si-qi¹, DOU Jin-jin¹, LI Ying-peng²

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To optimize the formulation of syringopicrosides poly (lactic-co-glycolic acid, PLGA) nanoparticles (Syr-NPs). **Methods** Syr-NPs were prepared by nanoprecipitation method. The encapsulation efficiency (EE), drug loading (DL), average particle size and general evaluation “normalized value” were used as evaluation indexes. The central composite design was used to inspect the effects of the concentration of PLGA (A), the concentration of syringopicrosides (B), the ratio of aqueous phase to organic phase (C) on three evaluation indexes mentioned above and the “normalized value” of general evaluation. Prediction and analysis for selecting the best prescription condition were carried out by using the central composite design-response surface method. **Results** The concentration of PLGA, the concentration of syringopicrosides and the ratio of aqueous phase to organic phase according to the optimized prescription were 9.63 mg/mL, 12.88 mg/mL and 1:9.46, respectively; And the EE, drug loading and average particle diameter of Syr-NPs prepared according to the optimized prescription were (27.86±0.87)%, (7.02±0.15)%, and (110.0±1.20) nm, respectively. **Conclusion** This method is stable and feasible and can be used to optimize the formulation and preparation process of syringopicrosides wrapped inside with PLGA nanoparticles.

Key words: syringopicrosides; PLGA; central composite design-response surface methodology; nanoparticles; encapsulation efficiency; drug loading

收稿日期: 2019-05-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81703719); 中国博士后项目(2018W631); 黑龙江省自然科学基金项目(H2018050); 黑龙江省自然科学基金项目(LH2019H102)

作者简介: 张喜武(1982—),男,副研究员,博士,硕士生导师,研究方向为中药纳米靶向技术研究。

Tel/Fax: (0451)87266827 E-mail: 149772105@qq.com

*通信作者 窦金金(1980—),女,副主任医师,博士,研究方向为中西医结合防治心血管疾病。E-mail: doujinjin1980@126.com

李英鹏(1987—),男,讲师,博士,研究方向为中药制剂领域。Tel/Fax: (022)59596221 E-mail: li_ying_peng@hotmail.com

丁香苦苷(syringopicrosides, Syr)是一种从木犀科丁香属植物丁香 *Syringa oblata* Lindl. 的叶中分离出来的环烯醚萜苷类化合物^[1-2]。Syr 的现代药理作用主要包括保肝利胆、抗菌、抗炎、抗病毒等^[3-4],尤其在抗病毒作用上本课题组已经申请了发明专利《丁香苦苷制药新用途》(CN201010566596.3)。Syr 的急毒和长毒实验结果表明^[5],该药对正常肝细胞没有毒副作用,Syr 可以成为抗乙型肝炎的理想药物之一。然而,由于 Syr 体内不稳定、半衰期短,在体内滞留时间很短,及很难进入肝细胞内根除乙型肝炎病毒,限制了治疗乙型肝炎的 Syr 药物开发。寻找一种提高生物利用度,具有缓释作用的给药系统是解决这一问题的关键。近年来,聚合物纳米粒已广泛用于制药领域^[6-7],这类聚合物在体内易于代谢且副作用小,能稳定、缓慢地将包载药物释放出来。目前,聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)在聚合物纳米粒的制备中应用最为广泛,采用 PLGA 制备的药物,粒径可以达到纳米级别,可以降低化疗药物的不良反应;同时,它还可以延长药物在体内的循环时间,并改善药物的药动学性质。具有制备工艺简单,靶向性强等优点^[8-9]。星点设计-效应面法是近年来常用的一种设计方法^[10-15],可以很好地完成二次项拟合工作,具有实验次数相对较少、精确度高、操作简单、优选条件预测性好等优点。因此本实验采用该方法优化丁香苦苷聚乳酸-羟基乙酸纳米粒(Syr-NPs)的处方及制备工艺,并对其相关性质进行了考察,为后续肝细胞内给药抗乙型肝炎病毒研究奠定基础。

1 仪器与材料

赛默飞 UltiMate 3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技有限公司;C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),美国 Dikma 公司;FA2004 电子分析天平,上海良平仪器仪表有限公司;H2050R 台式高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;DF-101Z 集热式恒温加热磁力搅拌器,郑州长城科工贸有限公司;Zetasizer Nano-ZS90 激光粒度分析仪,马尔文仪器有限公司;Tecnaig2 透射电子显微镜,荷兰飞利浦公司。PLGA, 75/25(表示该聚合物有 75% 乳酸和 25% 羟基乙酸组成),相对分子质量 15 000,批号 MAYA-CR-7171,玛雅试剂公司;Syr 对照品,自制,质量分数>98%;Syr 原料药,自制,质量分数>95%;泊洛沙姆 188,批号 WOPG565B,德国 BASF 公司;甲醇为色谱纯,美国 Dikma 公司。

2 方法与结果

2.1 Syr-NPs 与空白 PLGA 纳米粒的制备

采用纳米沉淀法,称取 10 mg 的 PLGA 分散于 1 mL 丙酮中,超声使其溶解,形成有机相,再将 10 mg 的 Syr 加入有机相中,超声溶解。再配制质量分数为 0.4% 泊洛沙姆 188 水溶液 5 mL 为水相,调节磁力搅拌速度为 1 000 r/min,此速度下将有机相缓慢滴加到水相中,室温搅拌直至有机溶剂完全挥发,既得纳米粒溶液(Syr-NPs)。同时按上述方法制备不含 Syr 的空白 PLGA 纳米粒溶液。

2.2 HPLC 分析

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Dikma ODS-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温 30 ℃;甲醇-水(50:50)为流动相;检测波长为 221 nm;体积流量为 1 mL/min;进样量为 10 μL。理论塔板数以 Syr 计算均不低于 3 600。

2.2.2 对照品溶液的制备 称取 Syr 对照品适量,精密称定为 20.02 mg,置于 50 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为 400.4 μg/mL 的 Syr 对照品溶液,作为储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取 Syr-NPs 混悬液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加丙酮 0.5 mL,超声 10 min,使纳米粒内的 Syr 释出,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 依次精密量取上述 Syr 对照品溶液 0.5、1、2、4、6、8、10 mL,置于 10 mL 量瓶中,分别配制成质量浓度为 0.02、0.04、0.08、0.16、0.24、0.32、0.40 mg/mL 的系列溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行检测,记录峰面积。以 Syr 质量浓度(*C*)为横坐标,峰面积(*A*)为纵坐标进行线性回归,并绘制标准曲线得线性回归方程,其线性回归方程为 $A = 254.08 C + 0.398 8$, $r^2 = 0.999 8$,说明 Syr 在 0.02~0.40 mg/mL 其质量浓度与峰面积线性关系良好。

2.2.5 专属性考察 在相同的液相条件下,测定 Syr、Syr-NPs 及空白 PLGA 纳米粒的色谱图中主药峰面积及出峰时间,考察空白 PLGA 纳米粒对 Syr 的影响,结果(图 1)显示空白 PLGA 纳米粒对 Syr 没有影响,说明本方法专属性良好。

2.2.6 中间精密度试验 精密称取适量供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,在同 1 日内连续进样 6 次,计算日内精密度;相同条件下连

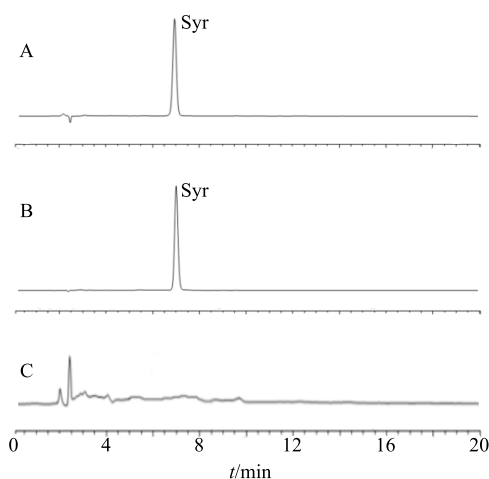


图1 Syr对照品(A)、Syr-NPs(B)、空白PLGA纳米粒(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC of Syr reference (A), Syr-NPs (B) and blank-PLGA NPs (C)

续进样6 d, 计算日间精密度。日内精密度的RSD值和日间精密度RSD值分别是0.89%和1.28%。

2.2.7 重复性试验 取同一批Syr-NPs混悬液6份, 按“2.2.3”项方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 计算Syr质量浓度的RSD值为1.02%。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液在0、2、4、6、8、12 h下, 按照“2.2.1”项下方法进行测定, 结果峰面积的RSD值为0.74%, 表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.2.9 加样回收率试验 精密量取已测定的供试品溶液1 mL 9份, 分成3组, 置于10 mL量瓶中, 每组分别精密加入1 mL的低、中、高质量浓度的Syr (0.13、0.16、0.19 mg/mL) 对照品溶液, 用甲醇定容至刻度, 按“2.2.1”项下方法进行测定, 测定Syr的含量, 计算回收率。结果平均回收率分别为100.02%、98.86%、99.21%, RSD值分别为1.34%、1.51%、0.96%。

2.3 Syr-NPs包封率和载药量的测定

2.3.1 测定方法 采用低温超速离心法测定Syr-NPs的包封率和载药量, 在高速离心力作用下(4℃, 转速18 000 r/min, 离心时间30 min), 将纳米粒沉淀于底部, 收集上清液, 沉淀加蒸馏水分散, 继续离心, 重复3次, 合并上清液, HPLC法测定上清液中药物的含量。

$$\text{包封率} = (W_{\text{total}} - W_{\text{free}}) / W_{\text{total}}$$

$$\text{载药量} = (W_{\text{total}} - W_{\text{free}}) / W_{\text{NP}}$$

W_{total} 为加入Syr的总质量, W_{free} 为上清液中Syr的质量,

W_{NP} 为纳米粒总质量

2.3.2 加样回收试验 精密吸取1 mL空白纳米粒9份, 分为3组, 每组分别精密加入1 mL的低、中、高质量浓度(0.13、0.16、0.19 mg/mL)的Syr对照品溶液, 混匀后于18 000 r/min, 离心30 min, 取上清液1 mL, 按照“2.2.1”项下色谱条件, 测定Syr峰面积, 并带入线性回归方程计算游离Syr的质量浓度即为测得量, 以测得量/加入量计算加样回收率。结果可见游离Syr在空白纳米粒中的平均回收率为99.38%, 平均RSD值为1.04%, 证明低温超速离心30 min可较好的分离游离药物与纳米粒, 故本实验所采用低温超速离心法测定Syr-NPs的包封率快速、可靠。

2.4 粒径与Zeta电位测定

取纳米粒溶液超声数分钟, 0.45 μm微孔滤膜滤过, 测定粒径与Zeta电位, 平行3次。

2.5 Syr-NPs的处方优化

2.5.1 因素水平的确定 在预实验的基础上, 选择对Syr-NPs性质影响较为显著的因素作为考察对象, 即PLGA质量浓度(A)、Syr质量浓度(B)、水相与有机相比例(C)。因素水平见表1。以包封率(Y_1)、载药量(Y_2)、平均粒径(Y_3)为评价指标, 采用Hassan方法, 选择综合指标总评归一值(overall desirability, OD)来考察各个指标的综合效果, 采用Design-Expert 8.0.7统计学软件进行试验设计, 试验设计见表1。

2.5.2 模型拟合及效应面优化 采用Design-Expert 8.0.7统计学软件对数据进行处理及效应面处方优化, 以OD为因变量, 以PLGA质量浓度(A)、Syr质量浓度(B)、水相与有机相比例(C)为自变量进行模型拟合, 结果表明各因变量与自变量以2项式方程拟合时相关系数(R)最大。OD的拟合方程为 $OD = -12.441\ 93 + 0.753\ 75\ A + 0.584\ 71\ B + 1.268\ 09\ C + 0.010\ 000\ AB + 4.375\ 00 \times 10^{-3}\ AC - 6.875\ 00 \times 10^{-3}\ BC - 0.048\ 496\ A^2 - 0.023\ 747\ B^2 - 0.064\ 406\ C^2$ ($r^2 = 0.996\ 2$, $P < 0.000\ 1$)。

对OD进行方差分析, 结果见表2, 结果表明OD通过二项式方程拟合时的模型具有显著性差异($P < 0.01$), 其中A、B、C、AB、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 为模型的显著项, 对于OD值来说, PLGA质量浓度、Syr质量浓度和有机相与水相比比例都是影响OD值的主要因素。采用Design-Expert 8.0.7统计学软件绘制的三维效应面图, 见图2。根据OD值的

表 1 星点设计-效应面法试验设计及效应值

Table 1 Central composite design-response surface methodology experimental design and effect value

试验号	A/(mg·mL ⁻¹)	B/(mg·mL ⁻¹)	C	Y ₁ /%	Y ₂ /%	Y ₃ /nm	OD 值
1	8 (-1)	10 (-1)	8 (-1)	16.20	3.89	103.2	0.49
2	12 (+1)	10 (-1)	8 (-1)	19.42	4.23	159.9	0.18
3	8 (-1)	14 (+1)	8 (-1)	18.78	6.17	110.3	0.69
4	12 (+1)	14 (+1)	8 (-1)	23.54	6.97	150.9	0.50
5	8 (-1)	10 (-1)	12 (+1)	14.25	2.48	108.6	0.28
6	12 (+1)	10 (-1)	12 (+1)	16.58	2.69	161.5	0.00
7	8 (-1)	14 (+1)	12 (+1)	15.92	3.83	142.5	0.33
8	12 (+1)	14 (+1)	12 (+1)	17.10	3.84	154.8	0.25
9	6.64 (-1.682)	12 (0)	10 (0)	17.42	4.29	112.1	0.53
10	13.36 (+1.682)	12 (0)	10 (0)	23.87	5.09	160.6	0.19
11	10 (0)	8.64 (-1.682)	10 (0)	21.63	3.57	121.1	0.51
12	10 (0)	15.36 (+1.682)	10 (0)	25.09	7.16	128.2	0.77
13	10 (0)	12 (0)	6.64 (-1.682)	15.77	4.92	145.6	0.36
14	10 (0)	12 (0)	13.36 (+1.682)	10.20	1.89	123.2	0.00
15	10 (0)	12 (0)	10 (0)	27.23	6.13	109.7	0.87
16	10 (0)	12 (0)	10 (0)	28.31	6.36	110.4	0.90
17	10 (0)	12 (0)	10 (0)	28.07	6.31	109.6	0.89
18	10 (0)	12 (0)	10 (0)	28.10	6.32	110.2	0.89
19	10 (0)	12 (0)	10 (0)	28.68	6.44	111.3	0.90
20	10 (0)	12 (0)	10 (0)	28.92	6.49	108.9	0.92

表 2 OD 值的方差分析

Table 2 ANOVA for response surface quadratic model of OD values

模型来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.89	9	0.21	293.99	<0.000 1	极显著
A	0.15	1	0.15	210.35	<0.000 1	极显著
B	0.12	1	0.12	162.19	<0.000 1	极显著
C	0.19	1	0.19	264.46	<0.000 1	极显著
AB	0.013	1	0.013	17.94	0.001 7	极显著
AC	2.450×10 ⁻³	1	2.450×10 ⁻³	3.43	0.093 6	不显著
BC	6.050×10 ⁻³	1	6.050×10 ⁻³	8.48	0.015 5	显著
A ²	0.54	1	0.54	759.89	<0.000 1	极显著
B ²	0.13	1	0.13	182.21	<0.000 1	极显著
C ²	0.96	1	0.96	1 340.27	<0.000 1	极显著
残差	7.136×10 ⁻³	10	7.136×10 ⁻⁴			
失拟项	5.786×10 ⁻³	5	1.157×10 ⁻³	4.29	0.068 1	不显著
纯误差	1.350×10 ⁻³	5	2.700×10 ⁻⁴			
总值	1.90	19				

二维等高线和三维效应面图,可以得到优化的最优处方为 PLGA 质量浓度为 9.63 mg/mL, Syr 质量浓度为 12.88 mg/mL,有机相与水相的比例为 1:9.46,

此条件下制备的 Syr 纳米粒包封率的预测值为 28.04%,载药量的预测值为 6.87%,平均粒径为 109.8 nm。

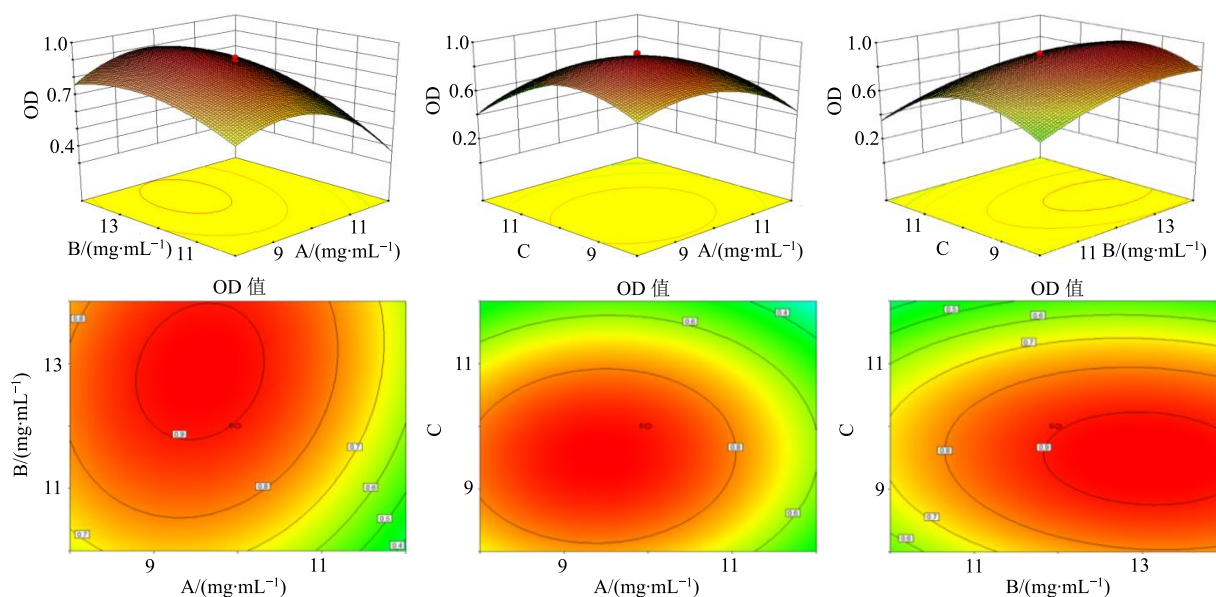


图 2 各因素响应面图

Fig. 2 Response surface plots for various factors

2.5.3 验证试验 按“2.5.2”项下最优工艺制备 3 批纳米粒,测定包封率、载药量和平均粒径,并将预测值与实测值进行比较,计算偏差 [偏差=(预测值-实测值)/预测值],结果见表 3,结果表明测定值与预测值的相对偏差较小,各项指标偏差均小于 $\pm 5\%$,说明优化后的处方验证试验所测出的包封率、载药量和粒径的测定值与预测值基本一致,证明星点设计-效应面法有良好的预测效果,能很好地描述效应面与各因素之间的关系。

2.5.4 Syr-NPs 物理性质考察 取适量最优工艺条件下制得的 Syr-NPs,经 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,将其滴在覆盖有支持膜的铜网上并自然干燥 2~3 min,用滤纸吸去多余的液体,滴入浓度为 2% 磷钨酸溶液,染色吸去多余的磷钨酸溶液,自然干燥后,用透射电子显微镜观察 Syr-NPs 的形态并拍摄照片。结果见图 3,结果可见 Syr-NPs 呈现类球形,分布较均匀。采用 Nano-ZS90 粒径分析仪分别测定平均粒径及 Zeta 电位,结果见图 4。

3 讨论

目前,PLGA 纳米粒子的制备方法有多种,如

表 3 处方验证结果 ($n=3$)Table 3 Comparison of predictive value and actual value ($n=3$)

指标	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/nm
预测值	28.04	6.87	109.8
实测值	27.86 ± 0.87	7.03 ± 0.15	110.0 ± 1.20
偏差/%	0.64	-2.33	-0.18

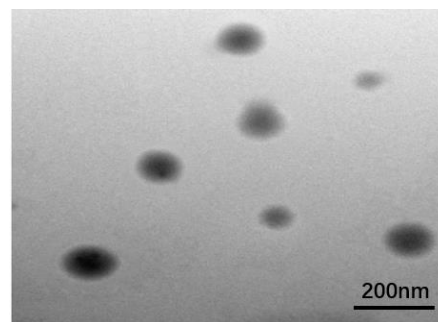
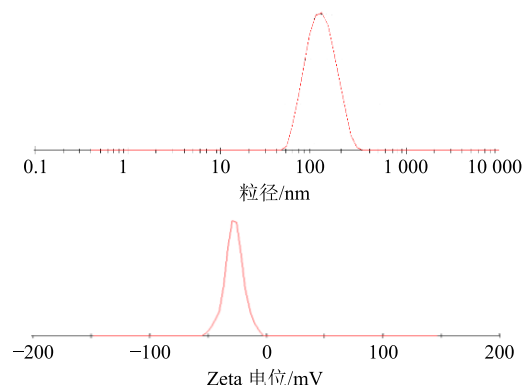
图 3 Syr-NPs 透射电镜照片 ($\times 40\ 000$)Fig. 3 Picture of Syr-NPs by TEM ($\times 40\ 000$)

图 4 Syr-NPs 的粒径和 Zeta 电位图

Fig. 4 Size and zeta potential distribution of Syr-NPs

乳化溶剂挥发法,溶剂扩散法,盐析法,纳米沉淀法,喷雾干燥法等^[8]。其中,乳化溶剂挥发法和纳米沉淀法是最常用的的制备方法。本实验前期曾用复乳-溶剂挥发法制备包载 Syr-NPs,但在制备初乳的过程中,药物水溶液滴加到还有载体的有机溶剂中后,会出现分层现象,导致初乳滴加到水相时,

有少量白色沉淀析出,导致粒径偏大,包封率较小。虽然采用复乳法也成功制备出过较高包封率的 Syr-NPs,但是需要控制的变量多,操作繁琐,重现性较差。采用纳米粒沉淀法所制备纳米粒外观呈现均一的淡蓝色乳光,粒径较小,并且粒径分布较窄,包封率较高,操作方法简单,影响因素少,重现性好,故本实验采用该法进行制备。

本实验是在国家课题和新药指导思想下完成基于 Syr 治疗乙型肝炎疾病,由于乙肝病毒在肝细胞内复制,治疗药物很难进入肝细胞内,或者进入肝细胞的量不足以抑制乙肝病毒,从而很难达到令人满意的水平。纳米给药制剂的粒度与靶向性相关,尤其是对被动靶向制剂影响较大,一般认为,粒径在 50~100 nm 的纳米粒可以进入肝细胞内^[16-17],虽然有研究制备出了较高包封率的 Syr PLGA 纳米粒,但粒径偏大,不能有效地靶向于肝细胞内^[18],本实验粒径控制在 100 nm 左右,目的是使药物进入肝细胞内,为纳米给药系统细胞内靶向研究提供了科学依据。

正交试验设计有实验次数少、数据处理及操作较方便等优点,已在药学领域中应用广泛,但是正交试验是基于线性模型所设计的,一般不适用二次项以上的拟合,由于受线性模型的限制,只能指出某一因素的取值范围,不能求得极值,精确度不高。星点设计-效应面法就可以很好完成二次项拟合工作,精确度高,操作简单,所以本实验采用星点设计-效应面法进行设计安排,能得出较好的拟合结果,通过建立数学模型并绘制出效应面图,得出所选因素与指标之间的关系,从而确定最佳的制备工艺^[19-20]。因此,本实验选用星点设计实验对纳米粒只制备工艺的处方进行优化,经验证该优化处方实测值与预测值吻合良好且符合设计要求,说明此方法有效、可行。

参考文献

- [1] 张树军,时志春,王丹,等.紫丁香树叶化学成分研究[J].中草药,2018,49(16):3747-3757.
- [2] 赵明,韩晶,吕嵩岩,等.紫丁香树枝化学成分研究[J].中草药,2012,43(2):251-254.
- [3] 管庆霞,于欣,吕邵娃,等.包载丁香苦苷和羟基酪醇的 mPEG-PLGA 纳米粒处方与制备工艺的优化[J].中成药,2017,39(12):2508-2512.
- [4] 李永吉,吕邵娃,王艳宏,等.丁香叶药用研究进展[J].中医药信息,2003(1):22-24.
- [5] 方鉴,张喜武,李永吉,等.丁香苦苷抗鸭乙肝病毒的实验研究[J].中医药信息,2011,28(3):133-134.
- [6] 蒋刚彪,冯英,赵慧,等.聚合物纳米粒子作为抗肿瘤药物载体的应用[J].中草药,2007,38(8):1265-1269.
- [7] 吴芸,严国俊,蔡宝昌.纳米技术在中药领域的研究进展[J].中草药,2011,42(2):403-408.
- [8] 张丽,赵春云,郑彩虹.聚乳酸-羟基乙酸纳米粒及其修饰应用[J].中国药理学杂志,2015,50(16):1369-1373.
- [9] 邱瀚弘,朱志军,张雪洁,等.药载比对和厚朴酚-分枝状聚乙二醇聚合物 G2 纳米粒形态及体外抗肿瘤活性的影响[J].药物评价研究,2018,41(11):1951-1957.
- [10] 王博,李洪起,连潇嫣,等.星点设计-效应面法优化阿德福韦-β-环糊精包合物制备工艺的研究[J].现代药物与临床,2014,29(11):1227-1230.
- [11] 严春临,张季,刘敏,等.星点设计-效应面法优化吴茱萸次碱固体脂质纳米粒处方[J].中草药,2015,46(9):1307-1313.
- [12] Zhang W L, Wang Y J, Gao X M, et al. Optimization of Jiawei Qing'e Oral Fast Disintegrating Tablets based on response surface-central composite design [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(2): 138-144.
- [13] 王婴,李木生,吴瑞婵,等.星点设计-效应面法优化青藤碱聚乳酸-羟基乙酸纳米粒的制备工艺[J].中药新药与临床药理,2017,28(2):232-237.
- [14] 杨金艳,吴诗惠,罗明霞.星点设计-效应面法优化黄芩苷乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒制备工艺研究[J].成都中医药大学学报,2010,33(4):75-80.
- [15] 马盼盼,冯青云,马政瑶,等.星点设计-效应面法优化舒肺原位凝胶的制备工艺及体外评价[J].中草药,2018,49(12):2826-2832.
- [16] Liu Y, Li J F, Shao K, et al. A lipin derived 30-amino-acid peptide modified PEGylated poly-L-lysine dendrigraft for brain targeted gene delivery [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(19): 5246-5247.
- [17] Minamimura T, Sato H, Kasaoka S, et al. Tumor regression by inductive hyperthermia combined with hepatic embolization using dextran magnetite-incorporated microspheres in rats [J]. *Int J Oncol*, 2000, 16(6): 1153-1158.
- [18] 李梦雪,吕邵娃,杨志欣,等.丁香苦苷-PLGA 纳米粒制备工艺的优选[J].中医药学报,2012,40(6):40-43.
- [19] 李颖,曾茂贵,郑笈,等.星点设计-效应面法优化鱼腥草挥发油-β-环糊精包合物的制备工艺[J].中草药,2014,45(13):1855-1862.
- [20] 吴伟,崔光华.星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J].国外医学:药学分册,2000,27(5):292-298.