

青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E纳米粒的制备及处方工艺优化

徐红^{1*},高萌²,张成鸿¹,徐静¹,孙艺平¹,王洪刚^{3#}(1.大连医科大学基础医学院,辽宁大连 116044;2.大连医科大学药学院,辽宁大连 116044;3.大连医科大学附属第一医院药剂科,辽宁大连 116011)

中图分类号 R284.62;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0525-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.30

摘要 目的:为了提高青藤碱的稳定性并减慢其释放,制备青藤碱乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E(PLGA-TPGS)纳米粒(SPTN)并对其处方工艺进行优化。方法:以PLGA-TPGS为载体,采用超声乳化-溶剂挥发法制备SPTN,以粒径、载药量和包封率为评价指标,通过单因素考察和正交设计试验优化青藤碱与载体的配比、乳化剂TPGS水溶液的浓度(g/100 ml)、超声功率和超声时间,并对最优处方进行验证。结果与结论:成功制得SPTN。最优处方工艺为青藤碱与载体配比为3:10、TPGS水溶液浓度为0.06 g/100 ml、超声功率为200 W、超声时间为6 min。所制备的3批SPTN的平均粒径、载药量和包封率分别为(194.6±2.8) nm、(9.5±0.7)%、(41.3±1.6)%。

关键词 青藤碱;纳米粒;乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E;粒径;载药量;包封率

Optimization of Preparation and Formula Technique of Sinomenine-loaded Poly(lactic-co-glycolic Acid)/D- α -tocopherol Polyethylene Glycol 1000 Succinate Nanoparticles

XU Hong¹, GAO Meng², ZHANG Cheng-hong¹, XU Jing¹, SUN Yi-ping¹, WANG Hong-gang³(1.College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 2.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3.Dept. of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Sinomenine (SIN)-loaded poly(lactic-co-glycolic acid)/D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (PLGA-TPGS) nanoparticles (SPTN) and optimize its formula technical conditions in order to improve the stability of SIN and slow down the release of it. METHODS: SPTN were prepared by ultrasonic emulsion/solvent evaporation technique using PLGA-TPGS as carrier. Using particle size, drug-loading amount and entrapment efficiency as index, single factor and orthogonal design were adopted to optimize the ratio of SIN to PLGA-TPGS, concentration of TPGS, ultrasonic power and ultrasonic time. The optimal formula was validated. RESULTS & CONCLUSIONS: SPTN is prepared successfully. The optimal formula was as follows with the ratio of SIN to PLGA-TPGS 3:10, concentration TPGS 0.06 g/100 ml, ultrasonic power 200 W, ultrasonic time 6 min. Mean particle size, drug-loading amount and entrapment efficiency were (194.6±2.8) nm, (9.5±0.7)% and (41.3±1.6)%, respectively.

KEYWORDS Sinomenine; Nanoparticles; PLGA-TPGS; Particle size; Drug-loading amount; Entrapment efficiency

青藤碱(Sinomenine, SIN)是从中药青风藤中提取的生物碱单体,临床多用其盐酸盐,具有明显抗炎、抗免疫、镇痛等药

理作用。国内已有盐酸青藤碱片、盐酸青藤碱注射液等用于临床^[1],并有脂质体、微乳、凝胶、微球等新剂型在研究中^[2]。陈

[7] 王秀峰,刘新军,孙继佳,等.基于均匀设计与灰色关联分析的中药碧血胶囊成分配伍组方研究[J].中华中医药杂志,2012,27(4):1 189.

[8] 李殊臻,边洪荣,刘晓龙.均匀设计黄芪桂枝五物汤中不同剂量配伍白芍总苷含量变化比较的研究[J].贵阳中医学院学报,2013,35(4):297.

[9] 贺燕,温富春,纪凤兰,等.均匀设计法筛选三七、山楂有

* 实验师。研究方向:药物新制剂与新技术。电话:0411-86110323。E-mail:859133790@qq.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:药物制剂。电话:0411-83635963-7079。E-mail:13840805901@139.com

效部位组合物剂量配比[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(19):248.

[10] 吴秦西,王友利,张燕,等.均匀设计法优化藏药小檗皮的煎煮法提取工艺[J].时珍国医国药,2013,24(7):1 637.

[11] 全欣,陈高峰,陆雁,等.基于均匀设计分析黄芪汤活性组分抗二甲亚硝胺大鼠肝纤维化的配伍作用[J].中国中西医结合杂志,2011,31(10):1 389.

[12] 段晓红,黎奔,陈朝,等.HPLC法测定灯盏生脉胶囊中野黄芩苷的含量[J].临床医学工程,2011,18(10):1 517.

(收稿日期:2014-04-16 修回日期:2014-11-17)

(编辑:刘 萍)

伟毅等^[3]研究发现,青藤碱对肿瘤细胞增殖也有较强的抑制作用,能够抑制多种恶性肿瘤细胞的生长。但由于青藤碱生物半衰期较短,临床治疗一般需长期口服,且用药剂量较大,可引起皮疹、胃肠道等不良反应,加之对光、热均不稳定,限制了其应用。

纳米粒(Nanoparticles, NPs)是一种稳定性好、毒性较小的靶向制剂载体,其能改变药物在体内的药动学特征,增加药物在靶器官的分布量,从而提高疗效、降低毒副作用^[4]。目前用于制备纳米粒的高分子材料较多,本研究采用大连医科大学药剂学教研室自制的材料乳酸羟基乙酸共聚物-水溶性维生素E (Poly(lactic-co-glycolic acid)/D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate, PLGA-TPGS)为载体^[5-7],将青藤碱制成纳米粒,即青藤碱PLGA-TPGS纳米粒(SPTN)。由于材料的包载作用,可望提高青藤碱的体外稳定性,减慢其释放,使其更好地发挥对疾病的治疗作用。

由于青藤碱的水溶性较强,根据其自身的结构和性质特点,本研究采用超声乳化-溶剂挥发法^[7]制备SPTN,以粒径、载药量和包封率为评价指标,通过单因素考察和正交设计试验优化其处方工艺,为制备青藤碱新制剂提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);JY92-II N超声波细胞粉碎机(宁波新芝科技股份有限公司);NanoZS90激光粒度仪(英国Marlvern公司);RW20数显电动搅拌机(日本IKA公司);SCPTOH型离心机(日本Hitachi公司,离心半径:13.5 cm);FD-1C冷冻干燥机(北京德天佑科技发展有限公司);MS105DU型电子天平(瑞士梅特勒-托利多有限公司,精度:0.01 mg)。

1.2 药品与试剂

青藤碱原料药(陕西森弗生物技术有限公司,批号:20130120,纯度:98%);青藤碱对照品(美国Sigma公司,批号:608-05-1,纯度:99%);PLGA-TPGS(大连医科大学药剂学教研室自制,批号:20121018);TPGS(美国Eastman化学公司,批号:20120910,纯度:99%);甲醇(美国Tedia公司,批号:907900,色谱纯);其余辅料均为药用规格,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 粒径的测定

称取干燥的SPTN适量,加入4 ml去离子水中,超声分散后形成纳米粒混悬液,用激光粒度仪测定其平均粒径。

2.2 色谱条件

色谱柱为Hypersil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为甲醇-10 mmol/L磷酸二氢钠(38:62, V/V),流速为1.0 ml/min;检测波长为262 nm^[8];柱温为30 $^{\circ}$ C;进样量为20 μ l。

2.3 系统适用性试验

分别精密称取青藤碱对照品适量,用甲醇溶解制备成质量浓度为40 μ g/ml的溶液;再精密称取SPTN适量,用丙酮溶解后减压回收丙酮,残渣加入流动相涡旋使溶解,制备成质量浓度约为40 μ g/ml的溶液。分别按照“2.2”项下色谱条件进样,记录色谱。结果表明,青藤碱的保留时间约为5.9 min,理论板数以青藤碱计不低于3 000,分离度符合要求。色谱图见图1。

2.4 标准曲线的制备

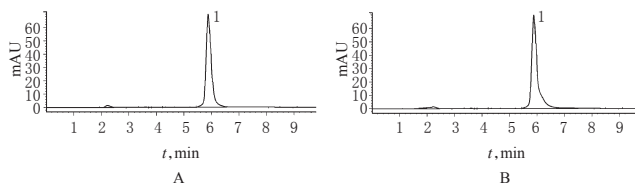


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. SPTN; 1. 青藤碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. SPTN; 1. SIN

精密称取干燥至恒质量的青藤碱对照品0.025 g,置于50 ml量瓶中,加甲醇适量,振摇使溶解,再加甲醇定容至刻度,得质量浓度为500 μ g/ml的对照品贮备液。分别精密量取对照品贮备液100、200、400、800、1 600、3 200、6 400 μ l,置于10 ml量瓶中,加甲醇定容至刻度,配制成质量浓度依次为5、10、20、40、80、160、320 μ g/ml的系列对照品溶液。按照“2.2”项下色谱条件进样,记录峰面积,以峰面积(A)为纵坐标、质量浓度(c)为横坐标进行线性回归分析,得回归方程为 $A=15.88c-0.5818$ ($r=0.9999, n=7$)。结果表明,青藤碱检测质量浓度在5~320 μ g/ml范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.5 检测限与定量限考察

将已知质量浓度的对照品溶液稀释,分别以信噪比为3和10时对应的质量浓度为本试验条件的检测限和定量限。结果表明,青藤碱的检测限为0.2 μ g/ml、定量限为0.6 μ g/ml。

2.6 回收率试验

精密称取SPTN(批号:20130301)3.00 mg,共9份,用适量丙酮溶解后减压回收丙酮,加入适量流动相涡旋混匀,转移至10 ml量瓶中,每3份分别精密加入500 μ g/ml青藤碱对照品贮备液600、2 400、3 800 μ l,再用流动相定容至刻度。按照“2.2”项下色谱条件进样,记录峰面积,计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

样品量,mg	加入量,mg	检测量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
0.29	0.03	0.32	100.4		
0.29	0.03	0.32	99.3		
0.29	0.03	0.32	100.4		
0.29	0.12	0.41	101.6		
0.29	0.12	0.40	99.2	100.1	1.0
0.29	0.12	0.40	98.7		
0.29	0.19	0.48	100.3		
0.29	0.19	0.48	99.6		
0.29	0.19	0.49	101.4		

2.7 精密度试验

精密量取青藤碱对照品贮备液适量,加甲醇配制质量浓度分别为32、40、48 μ g/ml的对照品溶液各1份,按“2.2”项下色谱条件进样,每日测定5次,考察日内精密度;另每日同一时间进样,连续测定5 d,考察日间精密度。结果峰面积的日内RSD分别为1.2%、1.1%、1.0%($n=5$),日间RSD分别为1.3%、1.4%、1.2%($n=5$),表明本方法精密度良好。

2.8 重复性试验

精密称取SPTN(批号:20130301)4.20 mg,共5份,分别用适量丙酮溶解后减压回收丙酮,残渣加入适量流动相涡旋使溶解,转移至10 ml量瓶中,再用流动相定容至刻度。按“2.2”

项下色谱条件进样,测定峰面积。结果RSD为0.8% ($n=5$),表明该方法重复性好。

2.9 稳定性试验

精密称取SPTN(批号:20130301)3.36、4.20、5.05 mg,各1份,按“2.2.5”项下方法制备成低、中、高质量浓度的样品溶液,分别放置0、1、2、4、6、12、18、24、30 d,照“2.2”项下色谱条件进样,测定峰面积。结果RSD分别为1.6%、1.4%、1.5% ($n=9$),表明样品溶液在30 d内稳定。

2.10 载药量和包封率的测定

分别精密称取SPTN(批号:20130301)4.20 mg,共6份,按“2.8”项下方法制备成溶液,照“2.2”项下色谱条件进样,测定峰面积,计算含量。按公式计算载药量和包封率:载药量(%)=纳米粒中的药物质量/纳米粒取样质量 $\times 100\%$,包封率(%)=纳米粒中的药物质量/制备时的投药质量 $\times 100\%$ 。

2.11 综合评分的计算

以粒径、载药量和包封率为主要评价指标,设定综合评分为30分,分别为平均粒径10分(分数=200 nm/平均粒径 $\times 10$)、载药量10分(分数=实际载药量/理论载药量 $\times 10$)、包封率10分(分数=包封率/100% $\times 10$)。

2.12 SPTN的制备^[7]

精密称取青藤碱原料药适量,用2 ml纯化水溶解;再精密称取PLGA-TPGS 100 mg,用8 ml乙酸乙酯溶解。200 W超声条件下将青藤碱水溶液滴加到PLGA-TPGS乙酸乙酯溶液中,形成W/O型一级乳;200 W超声条件下将上述乳液滴加到200 ml 0.06% TPGS水溶液(精密称取TPGS 60 mg,纯化水加至100 ml溶解,即得)中,继续超声6 min,形成W/O/W型二级乳;电动搅拌12 h充分挥发乙酸乙酯后,20 000 r/min高速离心15 min,去离子水洗3次,每次20 000 r/min离心15 min,将离心后的沉淀物用适量去离子水分散均匀,冷冻干燥24 h,得SPTN。

2.13 单因素考察^[8-10]

2.13.1 青藤碱与载体的配比 将青藤碱与载体PLGA-TPGS以不同比例混合,其他条件同“2.12”项下方法制备成SPTN,考察其粒径、载药量和包封率,计算综合评分。结果显示,青藤碱与载体的配比为3:10时,综合评分最高,故选择该比例制备SPTN。青藤碱与载体不同配比对SPTN制备的影响见表2。

表2 青藤碱与载体不同配比对SPTN制备的影响

Tab 2 Effects of different ratio of SIN to carrier on the preparation of SPTN

青藤碱-载体(m:m)	粒径,nm	载药量,%	包封率,%	综合评分
1:10	185.4	2.2	24.2	15.6
2:10	198.3	5.3	31.8	16.4
3:10	190.4	9.4	40.7	18.7
4:10	325.2	9.2	32.2	12.6
5:10	452.1	9.1	27.3	9.9

2.13.2 TPGS水溶液的浓度 将青藤碱与PLGA-TPGS以3:10比例混合,改变乳化剂TPGS水溶液的浓度,其他条件同“2.12”项下方法制备成SPTN,考察其粒径、载药量和包封率,计算综合评分。结果显示,当TPGS水溶液浓度为0.06 g/100 ml时,综合评分最高,故选择0.06 g/100 ml TPGS水溶液制备SPTN。不同浓度的TPGS水溶液对SPTN制备的影响见表3。

表3 不同浓度的TPGS水溶液对SPTN制备的影响

Tab 3 Effects of different concentration of TPGS on the preparation of SPTN

TPGS水溶液浓度,g/100 ml	粒径,nm	载药量,%	包封率,%	综合评分
0.02	271.2	6.2	26.9	12.7
0.04	226.4	8.1	35.1	15.9
0.06	192.3	9.5	41.2	18.6
0.08	221.3	9.1	41.2	16.9
0.10	324.3	8.8	38.1	13.8

2.13.3 超声功率 将青藤碱与PLGA-TPGS以3:10比例混合,改变超声功率,其他条件同“2.12”项下方法制备成SPTN,考察其粒径、载药量和包封率,计算综合评分。结果表明,当超声功率为200 W时,综合评分最高,故选择200 W超声制备SPTN。不同超声功率对SPTN制备的影响见表4。

表4 不同超声功率对SPTN制备的影响

Tab 4 Effects of different ultrasonic power on the preparation of SPTN

超声功率,W	粒径,nm	载药量,%	包封率,%	综合评分
50	493.2	2.5	10.8	6.2
100	372.1	4.9	21.2	9.6
150	242.3	6.2	26.9	13.6
200	188.3	9.6	41.6	18.9
250	323.1	9.3	40.3	14.3

2.13.4 超声时间 将青藤碱与PLGA-TPGS以3:10比例混合,改变超声时间,其他条件同“2.12”项下方法制备成SPTN,考察其粒径、载药量和包封率,计算综合评分。结果表明,当超声时间为6 min时,综合评分最高,故选择超声6 min制备SPTN。不同超声时间对SPTN制备的影响见表5。

表5 不同超声时间对SPTN制备的影响

Tab 5 Effects of different ultrasonic time on the preparation of SPTN

超声时间,min	粒径,nm	载药量,%	包封率,%	综合评分
2	408.3	3.1	13.4	7.6
4	322.6	6.8	29.5	12.1
6	191.3	9.5	41.2	18.7
8	364.3	9.4	40.7	13.6
10	484.3	8.6	37.3	11.6

2.14 正交设计试验^[11]

结合单因素试验考察结果和实际,以SPTN处方工艺中青藤碱与载体的配比(A, m:m)、乳化剂TPGS水溶液的浓度(B, g/100 ml)、超声功率(C, W)和超声时间(D, min)为因素,粒径、载药量和包封率计算综合评分为指标,采用正交设计试验进行优化。正交设计试验因素与水平见表6,结果与极差分析见表7,方差分析见表8。

表6 正交设计试验因素与水平

Tab 6 Factors and levels of orthogonal design

水平	因素			
	A	B	C	D
1	1:10	0.04	150	4
2	2:10	0.06	200	6
3	3:10	0.08	250	8

由表7、表8结果可知,4个因素对SPTN制备影响大小依次为B>C>A>D,且各因素不同水平之间差异均有统计学意义。

表7 正交设计试验结果与极差分析

Tab 7 Results of orthogonal design and analysis of range

序号	因素				评价指标			
	A	B	C	D	粒径, nm	载药量, %	包封率, %	综合评分
1	1	1	1	1	352.1	2.9	31.9	12.1
2	1	2	2	2	208.5	3.7	40.7	17.7
3	1	3	3	3	376.3	4.9	53.9	16.1
4	2	1	2	3	346.3	5.6	33.6	12.5
5	2	2	3	1	338.3	7.8	46.8	15.3
6	2	3	1	2	395.3	7.1	42.6	13.6
7	3	1	3	2	243.1	7.4	32.1	14.6
8	3	2	1	3	254.3	8.5	36.8	15.2
9	3	3	2	1	231.3	8.7	37.7	16.2
\bar{K}_1	15.3	13.1	13.6	14.5				
\bar{K}_2	13.8	16.1	15.5	15.3				
\bar{K}_3	15.4	15.3	15.3	14.6				
极差	1.6	3.0	1.8	0.8				
R	4.9	8.6	5.7	2.4				

表8 正交设计试验方差分析

Tab 8 Results of orthogonal design and analysis of variance

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
总分	26.94	17			
A	4.76	2	2.38	238.05	<0.01
B	14.64	2	7.32	732.11	<0.01
C	6.36	2	3.18	318.20	<0.01
D	1.17	2	0.59	58.62	<0.05
误差	0.01	9	0.001		

注: $F_{0.01}(2, 2) = 99.00, F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

Note: $F_{0.01}(2, 2) = 99.00, F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

义($P < 0.05$)。通过直观分析可知,最优处方工艺为 $A_3B_2C_2D_2$, 即青藤碱-载体配比为 3:10(m:m), 0.06%TPGS 水溶液为乳化剂, 在 200 W 下超声 6 min。按照上述最优处方工艺制备 3 批次的 SPTN, 通过考察其粒径、载药量和包封率进行验证。结果表明, 所制备的 SPTN 的粒径较小、载药量较高、包封率较大, 该处方工艺条件稳定可控。验证试验结果见表 9。

表9 验证试验结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 9 Results of validation tests($\bar{x} \pm s$)

批次	粒径, nm	载药量, %	包封率, %
1	193.2±2.8	9.5±0.5	40.2±0.9
2	197.4±1.3	9.9±0.7	42.9±1.2
3	193.2±1.4	9.1±0.4	40.8±1.4
平均值	194.6±2.8	9.5±0.7	41.3±1.6

3 讨论

药物与载体配比对粒径和载药量影响较大。配比为 1:10 时, 由于包载的药物较少, 所以粒径较小, 但载药量也很小, 不利于临床应用; 随着药物与载体配比的增加, 药物被包载的较多, 粒径增大较明显, 而粒径越大, 越不利于纳米粒在体内靶器官的分布; 当药物与载体配比为 3:10 时, 载药量、包封率相对较大, 而粒径相对较小, 故选择该配比为制备 SPTN 的最佳配比。

TPGS 在 W/O/W 型复乳中作为二级乳的乳化剂, 其浓度对 SPTN 的形成影响较大^[5]。因为乳化剂量越多, 粒径越小, 被包进复乳中的药物越多, 故 TPGS 的浓度越低, 在外水相中的量就越少, 导致粒径增大、载药量减小、包封率降低; 但是当

TPGS 水溶液浓度大于 0.06 g/100 ml 时, 又由于外水相黏度随着 TPGS 浓度的增加而增大, 产生较大的阻力, 不利于 W/O 型一级乳小液滴在外水相中的分散, 粒径反而增大, 载药量、包封率也随着减小。故 0.06 g/100 ml 的 TPGS 水溶液是制备 SPTN 的最佳浓度。

在制备工艺中, 超声功率和时间对 SPTN 的制备影响也较大。超声功率越高, 液滴被分散时的能量越大, SPTN 的粒径越小, 包封率和载药量也越高; 但超声功率高于 200 W 时, 包封率和载药量变化较小。而且超声功率较大时, 也增加了小液滴合并碰撞的机会, 粒径反而增大; 同时功率越大, 能量消耗越多, 生产成本增大, 故选择 200 W 作为制备 SPTN 的超声功率。超声时间越长, SPTN 的粒径越小, 在 W/O 型一级乳中 SIN 水溶液被 PLGA-TPGS 乳化得越完全, SIN 在 PLGA-TPGS 中分布得越多, 纳米粒越易成形, 载药量和包封率越高; 但是当超声时间超过 6 min 后, 同样又增加了小液滴合并碰撞的机会, 粒径反而增大; 同时超声时间越长, 能量消耗越多, 也增大了生产成本, 而包封率和载药量又没有明显增大, 故 6 min 为制备 SPTN 的最佳超声时间。

有关 SPTN 进一步的质量评价、体外对肝癌细胞的抑制作用以及体内药效学等试验有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 李乐, 张彩玲, 宋必卫. 青藤碱药理研究与临床应用[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(4): 310.
- [2] 乔明艳, 李全斌. 青藤碱新剂型研究进展[J]. 医学理论与实践, 2010, 23(3): 275.
- [3] 陈伟毅, 秦春宏, 银晓刚. 青藤碱抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国药师, 2013, 16(12): 1 902.
- [4] 方晓玲. 药剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 370-371.
- [5] Ma YD, Zheng Y, Liu KX, et al. Nanoparticles of poly(lactide-co-glycolide)-d- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cancer treatment[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2010, 5(7): 1 161.
- [6] Ma YD, Huang LQ, Song CX, et al. Nanoparticle formulation of poly(ϵ -caprolactone-co-lactide)-d- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cervical cancer treatment[J]. *Polymer*, 2010, 51(25): 5 952.
- [7] 顾晓华, 王轩, 安磊, 等. 齐墩果酸/PLGA-TPGS 纳米粒的制备及其体外释放行为研究[J]. 中国药房, 2012, 23(29): 2 726.
- [8] 侯鹏伟, 王东, 范娇, 等. RP-HPLC 法测定盐酸青藤碱 PLGA 纳米粒的包封率及载药量[J]. 中国医院用药评价与分析, 2010, 10(8): 719.
- [9] 顾晓华, 秋泽文, 徐红, 等. 齐墩果酸 PCL-PLA-TPGS 纳米粒的工艺优化及体外细胞抑制试验研究[J]. 中国药房, 2012, 23(37): 3 497.
- [10] 高萌, 张成鸿, 鲍旭, 等. 瘤内注射用姜黄素温敏凝胶的处方筛选及 pH 值的确定[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1 380.

(收稿日期: 2014-10-31 修回日期: 2014-11-24)

(编辑: 邹丽娟)