

星点设计-响应面法优化氯诺昔康纳米结构脂质载体处方^Δ

高珊珊*,李 宁,田宝成,吕青志,史亚楠,李珂珂[#](滨州医学院药学院,山东烟台 264003)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)28-3980-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.28.25

摘要 目的:优化氯诺昔康纳米结构脂质载体(LN-NLC)处方。方法:采用乳化-溶剂挥发法制备LN-NLC,以药脂比、大豆磷脂用量、液脂比(液态脂质占总脂质比例)、乳化剂用量为因素,以粒径、Zeta电位、包封率为指标计算总评归一值作为综合指标,通过星点设计-响应面法优化处方,并考察所制LN-NLC的外观形态和稳定性。结果:最优处方为药脂比1:50,大豆磷脂用量162.5 mg,液脂比25%,乳化剂用量958.2 mg。所制LN-NLC的粒径为(96.9±3.3) nm、Zeta电位为(-16.1±0.3) mV、包封率为(60.1±0.9)%($n=3$),与预测值的相对误差分别为2.47%、-4.55%、-0.17%;LN-NLC呈圆球形,4℃下密封保存30 d后粒径和Zeta电位无明显变化,包封率仅降低了1.2%。结论:成功优化LN-NLC处方,所制LN-NLC稳定性良好。

关键词 星点设计-响应面法;氯诺昔康;纳米结构脂质载体;稳定性

Formulation Optimization of Nanostructured Lipid Carriers Loaded with Lornoxicam by Central Composite Design-response Surface Method

GAO Shanshan, LI Ning, TIAN Baocheng, LYU Qingzhi, SHI Yanan, LI Keke (College of Pharmacy, Binzhou Medical University, Shandong Yantai 264003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the formulation of nanostructured lipid carriers loaded with lornoxicam (LN-NLC). METHODS: Emulsification-solvent evaporation method was used to prepare the LN-NLC. Using drug-lipid ratio, dosage of soy lecithin, liquid-lipid ratio (proportion of liquid lipid to total lipid) and dosage of emulsifier as factors, the overall normalized value was calculated by particle size, Zeta potential and entrapment efficiency as indexes was used as comprehensive index. Central composite design-response surface method was used to optimize the formulation and investigate the appearance and stability of prepared LN-NLC. RESULTS: The optimal formulation were as follows as drug-lipid ratio of 1:50, dosage of soy lecithin of 162.5 mg, liquid-lipid ratio of 25% and emulsifier dosage of 958.2 mg. The particle size of prepared LN-NLC was (96.9±3.3) nm, Zeta potential was (-16.1±0.3) mV, entrapment efficiency was (60.1±0.9)% ($n=3$), which showed relative error of 2.47%, -4.55%, -0.17% with predicted value, respectively. The prepared LN-NLC was spherical. It had no obvious changes in particle size and Zeta potential in sealed storage for 30 d in 4℃, and the entrapment efficiency only declined 1.2%. CONCLUSIONS: The LN-NLC formulation is successfully optimized, and the LN-NLC has good stability.

KEYWORDS Central composite design-response surface method; Lornoxicam; Nanostructured lipid carriers; Stability

氯诺昔康(Lornoxicam, LN)属昔康类非甾体抗炎药,具有较强的镇痛、抗炎作用,临床用于治疗各种急慢性疼痛和风湿性疾病引起的关节疼痛和炎症^[1]。目前上市剂型有片剂和注射剂,但片剂易引起胃痛、恶心、腹泻、血清尿素氮和肌酐升高及肝功能异常等不良反应,个别患者可出现胃溃疡、胃穿孔、消化道出血,且首关效应明显;注射剂给药不方便,安全性、依从性不佳。经皮给药可克服药物的肝脏首关效应,安全性、依从性好,同时可增大药物在靶组织(如肌肉、肌腱、韧带、关节等)的浓度。目前已有LN透皮贴剂、普朗尼克磷脂有机凝胶剂、类脂囊泡凝胶剂、醇质体凝胶剂的初步研究^[2-5]。

纳米结构脂质载体(Nanostructured lipid carriers, NLC)是在固体脂质纳米粒(SLN)的基础上逐渐发展起来的以一定比例的液态油或混合脂质代替固体脂质而得到的纳米微粒。NLC作为经皮给药系统载体的主要优点是具有较高的载药量;可避免药物的泄漏及降解,增强制剂和药物的稳定性;粒径小,可增强皮肤水合作用,使活性物质更易通过皮肤渗透屏障;对皮肤的刺激和毒性较低;可控制药物释放^[6]。这些优势使得NLC在经皮给药领域应用前景广阔^[7-8]。本文以NLC作为药物载体,采用乳化-溶剂挥发法制备LN-NLC,运用星点设计(Central composite design)-响应面法(Response surface method)^[9]优化处方,并评价其质量。

1 材料

1.1 仪器

TU-1901型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);JEOL100CX-II型透射电子显微镜(日本

^Δ 基金项目:山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2014HL104、ZR2014HQ069);烟台市科技计划项目(No.2010326)

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型与新技术。电话:0535-6913406。E-mail:fly1991s@163.com

[#] 通信作者:副教授,硕士。研究方向:药物新剂型与新技术。电话:0535-6913406。E-mail:like_tju@aliyun.com

电子光学公司);Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度、Zeta 电位和绝对分子量分析仪(英国马尔文公司)。

1.2 药品与试剂

大豆磷脂(上海太伟药业有限公司,批号:20101012);LN 原料药(常州市湖滨医药原料有限公司,批号:20100501,纯度:99.3%);LN 对照品(扬州制药有限公司,批号:20081001,纯度:99.63%);聚山梨酯 80、硬脂酸甘油酯(国药集团工业股份有限公司);辛酸癸酸甘油三酯(法国 Gattefosse 公司);泊洛沙姆 188(P188,德国 Basf 公司,批号:WPC1514B);其余试剂均为市售分析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 LN-NLC 的制备

采用乳化-溶剂挥发法制备 LN-NLC。称定 LN 原料药 7.5 mg 及处方量的硬脂酸甘油酯、大豆磷脂、聚山梨酯 80、辛酸癸酸甘油三酯,加入甲醇 3 mL,加热至 70 ℃,作为油相。将处方量 P188 溶于 30 mL 水中,加热至 70 ℃,作为水相。以 3 mL/min 的速度将水相注入油相中,以 600 r/min 转速搅拌 40 min 后,冰浴 1 h,即得 LN-NLC 混悬液。取适量 LN-NLC 混悬液,以葡萄糖为冻干保护剂,进行冷冻干燥,得到 LN-NLC 冻干粉。

2.2 包封率的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 称取 LN 对照品 5.0 mg,置于 100 mL 量瓶中,加入 pH 7.4 的 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)制成 50 mg/L 的对照品溶液。

2.2.2 方法学考察 采用紫外分光光度法测定,在 378 nm 波长处测定 LN 的吸光度(A)。按方法学相关要求考察。以 A 对质量浓度(c)进行回归分析,得回归方程 $A=0.0484c-0.0036$ ($r=0.9999$),LN 检测质量浓度的线性范围为 2.5~17.5 mg/L;5、10、15 mg/L 的 LN 对照品溶液的日内 RSD 分别为 0.13%、0.03%、0.07% ($n=5$),日间 RSD 分别为 1.22%、1.19%、1.55% ($n=5$),回收率分别为 $(98.26 \pm 0.68)\%$ 、 $(98.32 \pm 0.73)\%$ 、 $(98.97 \pm 0.49)\%$ [RSD 分别为 0.69%、0.74%、0.50% ($n=3$)];10 mg/L 的 LN 对照品溶液 12 h 内稳定性试验的 RSD 为 1.03% ($n=7$),重复性试验的 RSD 为 0.73% ($n=5$)。

2.2.3 包封率的测定 吸取“2.1”项下制备的 LN-NLC 混悬液 1 mL,用 pH 7.4 的 PBS 稀释后置于超滤管(截留分子量:10 000)中,于 4 ℃ 下 6 000 r/min(离心半径:107 mm)离心 20 min,采用紫外-可见分光光度计在 378 nm 波长处测定下层水相中 LN 的吸光度,计算含量,即得游离药物量。另取制得的 LN-NLC 混悬液适量,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇破乳并稀释至刻度,同法测得药物总量。计算包封率,包封率=(药物总量-游离药物量)/药物总量 $\times 100\%$ [10]。

2.3 粒径及 Zeta 电位的测定

将样品分别置于粒径比色皿和 Zeta 电位池中,通过

Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度、Zeta 电位和绝对分子量分析仪测定其粒径和 Zeta 电位。

2.4 星点设计-响应面法优化 LN-NLC 的处方

2.4.1 星点设计 单因素试验结果表明,液脂比(液态脂质占总脂质比例)为 10%~30%,药脂比(m/m)为 1:20~1:80,大豆磷脂用量为 50~200 mg,聚山梨酯 80-P188 比例为 3:1,乳化剂用量为 600~1 800 mg 范围内所制备的 LN-NLC 的平均粒径在 130 nm 以内且分布较窄,Zeta 电位绝对值、包封率均较高。在此基础上,参考文献[10-12],以液脂比($X_1, \%$)、药脂比(X_2)、大豆磷脂用量(X_3, mg)、乳化剂用量(X_4, mg)作为因素,根据星点设计原理,每个因素设定 5 个水平,以平均粒径(Y_1)、Zeta 电位(Y_2)、包封率(Y_3)为指标计算总评归一值(Overall desirability, OD) (Y_4),作为综合指标进行处方优化。因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

因素	水平				
	-2	-1	0	1	2
$X_1, \%$	10	15	20	25	30
X_2	1:80	1:45.7	1:32	1:24.6	1:20
X_3, mg	50	87.5	125	162.5	200
X_4, mg	600	900	1 200	1 500	1 800

2.4.2 数据处理 以 Y_1, Y_2, Y_3 为因变量, X_1, X_2, X_3, X_4 为自变量,将各个指标按照优选条件均标准化为 0~1.0 之间的归一值(Desirability),对各指标归一值求算几何平均数,得 $OD^{[11]}$ 。公式如下: $OD = (\prod_{i=1}^n d_i)^{1/n}$,式中 n 为指标数。

对于取值越大越好的指标(如包封率),计算公式如下: $d_{\max} = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$,式中 Y_i 为实测值, Y_{\max} 和 Y_{\min} 分别为各评价指标可接受的最大及最小值。当 $Y_i \geq Y_{\max}$ 时,将 d_i 设为 1;反之, $Y_i < Y_{\min}$ 时设为 0。对于取值越小越好的指标(如粒径、Zeta 电位),计算公式如下: $d_{\min} = (Y_{\max} - Y_i) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 。当 $Y_i > Y_{\max}$ 时, $d_i = 0$;反之, $Y_i \leq Y_{\min}$ 时, $d_i = 1$ 。粒径、Zeta 电位、包封率的取值范围分别为:70~130 nm、-25~0 mV、50%~70%。根据公式计算出各指标 d_i 后,计算 OD 值。星点设计与结果见表 2。

2.4.3 模型拟合 根据表 2 结果,采用 Design Expert 8.0.6 软件,以 Y_4 为因变量,将 X_1, X_2, X_3, X_4 (自变量)对 Y_4 进行二项式方程拟合,得二项式拟合方程为 $Y_4 = 1.074 - 0.02932X_1 + 22.32X_2 - 4.738 \times 10^{-3}X_3 - 1.052 \times 10^{-3}X_4 - 0.08502X_1X_2 + 1.987 \times 10^{-4}X_1X_3 - 2.483 \times 10^{-5}X_1X_4 - 0.1125X_2X_3 + 0.03476X_2X_4 - 2.175 \times 10^{-7}X_3X_4 + 9.684 \times 10^{-4}X_1^2 - 861.1X_2^2 + 2.371 \times 10^{-5}X_3^2 + 3.271 \times 10^{-7}X_4^2$ ($R^2 = 0.9252, P < 0.0001$)。对该模型进行方差分析,结果见表 3。

由表 3 可知,回归模型的 $P < 0.0001$,具有极显著性。失拟项 $P > 0.05$,表明差异无统计学意义,说明数据中没有异常点。 X_1, X_1X_2, X_3X_4 和 X_1^2 对 Y_4 的影响不显著,

表2 星点设计与结果

Tab 2 Central composite design and results

序号	$X_1, \%$	X_2	X_3, mg	X_4, mg	Y_1, nm	Y_2, mV	$Y_3, \%$	Y_4
1	15	1:24.6	87.5	900	75.30	-22.0	50.10	0.158 9
2	25	1:24.6	87.5	1 500	76.90	-6.3	56.29	0.412 4
3	15	1:45.7	162.5	1 500	92.00	-11.9	63.50	0.588 2
4	15	1:45.7	87.5	1 500	73.98	-10.0	53.95	0.419 4
5	20	1:32	50	1 200	49.64	-11.3	54.40	0.510 7
6	15	1:24.6	87.5	1 500	52.70	-11.4	57.41	0.601 5
7	20	1:32	125	1 200	84.02	-11.0	54.84	0.433 7
8	20	1:32	125	1 200	84.77	-10.6	53.33	0.376 1
9	25	1:45.7	162.5	900	87.40	-17.7	61.80	0.666 9
10	25	1:45.7	162.5	1 500	88.40	-12.3	61.26	0.577 0
11	20	1:32	125	600	91.90	-17.7	51.90	0.349 6
12	20	1:32	200	1 200	100.90	-14.7	59.20	0.508 1
13	25	1:24.6	87.5	900	73.50	-26.5	50.03	0.114 4
14	25	1:24.6	162.5	1 500	85.20	-14.1	61.80	0.628 7
15	20	1:32	125	1 200	77.70	-10.2	54.84	0.441 5
16	30	1:32	125	1 200	67.40	-10.3	55.70	0.496 7
17	20	1:32	125	1 200	84.32	-11.3	54.18	0.415 9
18	25	1:24.6	162.5	900	105.10	-17.3	51.90	0.301 0
19	20	1:32	125	1 200	76.00	-15.4	51.42	0.340 2
20	25	1:45.7	87.5	1 500	48.61	-11.1	51.22	0.332 4
21	20	1:32	125	1 800	52.70	-7.0	64.40	0.638 0
22	25	1:45.7	87.5	900	73.70	-12.7	52.49	0.390 1
23	20	1:80	125	1 200	128.40	-7.4	58.00	0.146 7
24	15	1:24.6	162.5	1 500	74.90	-12.7	58.30	0.578 5
25	15	1:24.6	162.5	900	99.60	-17.2	50.04	0.088 7
26	20	1:32	125	1 200	90.90	-10.7	53.95	0.380 5
27	10	1:32	125	1 200	94.30	-14.1	55.40	0.449 1
28	20	1:20	125	1 200	71.60	-11.6	42.70	0.000 0
29	15	1:45.7	162.5	900	93.50	-15.8	59.10	0.559 3
30	15	1:45.7	87.5	900	97.30	-12.8	52.07	0.306 8

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.808 248	14	0.057 732	13.251 17	<0.000 1
X_1	0.001 955	1	0.001 955	0.448 76	0.513 1
X_2	0.065 029	1	0.065 029	14.925 95	0.001 5
X_3	0.064 804	1	0.064 804	14.874 36	0.001 6
X_4	0.188 858	1	0.188 858	43.348 31	<0.000 1
X_1X_2	0.000 254	1	0.000 254	0.058 33	0.812 4
X_1X_3	0.022 217	1	0.022 217	5.099 51	0.039 3
X_1X_4	0.022 192	1	0.022 192	5.093 76	0.039 4
X_2X_3	0.025 039	1	0.025 039	5.747 28	0.030 0
X_2X_4	0.152 914	1	0.152 914	35.098 19	<0.000 1
X_3X_4	0.000 096	1	0.000 096	0.022 00	0.884 1
X_1^2	0.016 078	1	0.016 078	3.690 35	0.073 9
X_2^2	0.157 080	1	0.157 080	36.054 39	<0.000 1
X_3^2	0.030 479	1	0.030 479	6.995 91	0.018 4
X_4^2	0.023 762	1	0.023 762	5.454 05	0.033 8
残差	0.065 351	15	0.004 357		
失拟项	0.057 733	10	0.005 773	3.788 97	0.077 2
纯误差	0.007 619	5	0.001 524		
总误差	0.873 599	29			

可以舍去。采用Design Expert 8.0.6软件进行分析,新生成二项式拟合方程为 $Y_4=0.803 3+23.08X_2-4.816 49 \times 10^{-3}X_3-1.051 \times 10^{-3}X_4+2.204 \times 10^{-4}X_1X_3-2.159 \times 10^{-5}X_1X_4-0.112 5X_2X_3+0.034 76X_2X_4-900.4X_2^2+2.125 \times 10^{-5}X_3^2+$

$2.886 \times 10^{-7}X_4^2(R^2=0.904 2, P<0.000 1)$ 。模型的一次项 X_2, X_3, X_4 及二次项 X_2X_1, X_2^2 对 Y_4 的影响极显著, $X_1X_3, X_1X_4, X_2X_3, X_3^2, X_4^2$ 的影响达到显著水平。

2.4.4 响应面优化与预测 Y_4 与 X_1, X_2, X_3, X_4 的响应面图见图1。

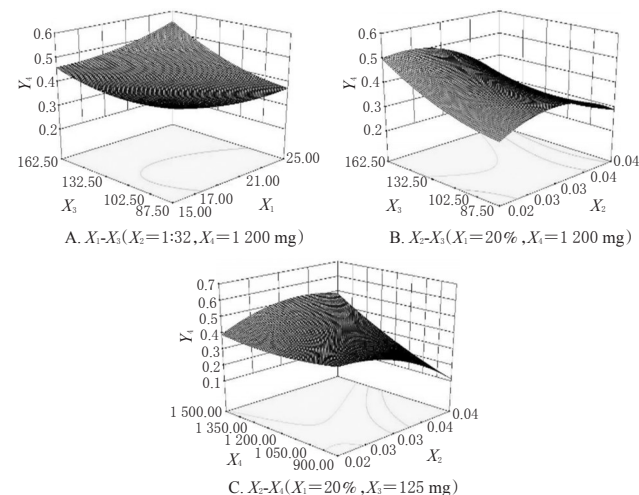


图1 Y_4 与 X_1, X_2, X_3, X_4 的响应面图

Fig 1 Response surface plot of Y_4 and X_1, X_2, X_3, X_4

由图1A可知,在 X_2 为1:32、 X_4 为1 200 mg时,随着 X_1 及 X_3 的增加, Y_4 逐渐增大;由图1B可知,在 X_1 为20%、 X_4 为1 200 mg时,随着 X_2 的增大, Y_4 有先增大后减小的趋势。因此,可求得 Y_4 最高时的各因素取值,结果最优处方如下: X_1 为25%, X_2 为1:50, X_3 为162.5 mg, X_4 为958.2 mg。

2.4.5 处方验证 将各因素最佳水平代入二项式拟合模型,求得各指标最佳预测值;并根据最优处方,按照“2.1”项下方法制备LN-NLC,测定其粒径、Zeta电位和包封率。结果,粒径的预测值为99.35 nm,Zeta电位的预测值为-15.4 mV,包封率的预测值为60%;所制LN-NLC的粒径的实测值为 (96.9 ± 3.3) nm,Zeta电位的实测值为 (-16.1 ± 0.3) mV,包封率的实测值为 $(60.1 \pm 0.9)\%$ ($n=3$),与预测值的相对误差分别为2.47%、-4.55%、-0.17%。各指标相对误差的绝对值均小于5%,说明本试验所建立的模型拟合效果、预测性及重现性较好,可用于预测和优化LN-NLC处方。LN-NLC的粒径分布和Zeta电位分布见图2。

2.5 外观形态

通过透射电镜观察所制LN-NLC的外观形态。结果显示,LN-NLC呈圆球形。LN-NLC的透射电镜图见图3。

2.6 初步稳定性考察

将所制备的3批次LN-NLC冻干粉置于4℃密闭保存30 d,测定其复溶后各指标的变化。结果显示,粒径由 (189.6 ± 2.1) nm变为 (194.3 ± 2.9) nm,Zeta电位由 (-17.1 ± 0.3) mV变为 (-15.6 ± 0.2) mV,包封率由 $(61.4 \pm 0.6)\%$ 变为 $(60.2 \pm 1.1)\%$ 。在1个月内,LN-NLC

冻干粉的粒径、Zeta电位均变化不大,其包封率仅降低了1.2%,表明LN-NLC冻干粉在该贮存条件下具有良好的稳定性。

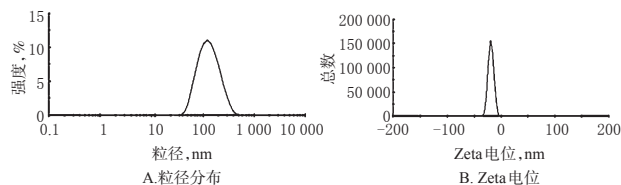


图2 LN-NLC的粒径分布和Zeta电位分布

Fig 2 Distribution of particle size and Zeta potential of LN-NLC

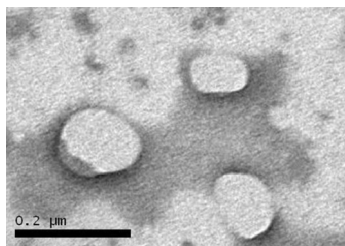


图3 LN-NLC的透射电镜图(×100 000)

Fig 3 TEM photograph of LN-NLC(×100 000)

3 讨论

由于LN是一种难溶性药物,因此将LN溶解于含有乳化剂的油相中,采用乳化-溶剂挥发法制备LN-NLC。NLC包封率的测定方法有超速离心法、透析法、葡聚糖微柱离心法等。透析法所用时间较长,且需要大量透析介质;采用葡聚糖微柱离心法测定包封率时,由于LN溶解性差,游离药物较难洗脱。本试验采用超速离心法测定包封率,具有简便快速、数据精确度高等优点^[13]。

本研究采用星点设计-响应面法优化制剂处方,但LN-NLC受多种因素影响。为保证试验的最佳条件,首先采用单因素试验筛选出对LN-NLC质量影响显著的因素并确定因素水平,以减少试验次数和误差;再进行星点设计,并通过OD值考察各指标的综合效果。结果表明,乳化剂及大豆磷脂用量、药脂比、液脂比对LN-NLC影响显著;通过模型拟合与响应面优化,能得到最优LN-NLC处方。

Zeta电位用于表征胶体分散体系的稳定性,本研究中LN-NLC的Zeta电位绝对值在16 mV左右,为避免微粒间发生聚集,将LN-NLC进行冻干处理。稳定性试验表明,LN-NLC的冻干粉在4℃保存1个月具有较好的稳定性。

纳米制剂冻干复溶后粒径会有不同程度的增加^[14-15]。LN-NLC混悬液冻干粉复溶后粒径增加至190 nm左右,笔者用复溶后的样品进行体外经皮渗透试验,其表现出较好的经皮渗透性,此部分内容将另文发表。

参考文献

[1] Amin S, Yosry M, El DI. The effect of the addition of lornoxicam (xefocam) intrarticularly on the WOMAC scale

in patients undergoing arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction[J]. *Middle East J Anaesthesiol*, 2011, 21(1):15-21.

[2] Gulgun Y, Melike U, Umit G, et al. Design of meloxicam and lornoxicam transdermal patches: preparation, physical characterization, ex vivo and in vivo studies[J]. *Chem Pharm Bull: Tokyo*, 2010, 58(11):1466-1473.

[3] Stationwala R, Patidar A, Main P, et al. Transdermal delivery of lornoxicam from pluronic lecithin organogel[J]. *Int J Chem Pharm Sci*, 2011, 6(2):32-37.

[4] Singla K, Rao R, Saini V. Preparation and evaluation of lornoxicam niosomal gel[J]. *Int Res J Pharm*, 2012, 3(4):378-383.

[5] 李珂珂,吕青志,孙居峰,等.氯诺昔康醇质体凝胶剂的制备及其体外经皮渗透研究[J]. *中国药学杂志*, 2014, 49(4):309-315.

[6] Pinto MF, Moura CC, Nunes C, et al. A new topical formulation for psoriasis: development of methotrexate-loaded nanostructured lipid carriers [J]. *Int J Pharm*, 2014, 477(1/2):519-526.

[7] Gonullu Ü, Üner M, Yener G, et al. Formulation and characterization of solid lipid nanoparticles, nanostructured lipid carriers and nanoemulsion of lornoxicam for transdermal delivery[J]. *Acta Pharm*, 2015, 65(1):1-13.

[8] Tung NT, Huyen VT, Chi SC. Topical delivery of dexamethasone acetate from hydrogel containing nanostructured liquid carriers and the drug[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(11):1999-2007.

[9] 姜英,王晓敏,王艳红,等.星点设计-效应面法优化转铁蛋白修饰粉防己碱与硫酸长春新碱脂质体的处方[J]. *中国药房*, 2015, 26(31):4399-4401.

[10] 李瑶,韩翠艳,李津明,等.星点设计-效应面法优化葫芦素B纳米结构脂质载体处方[J]. *中国医药工业杂志*, 2014, 45(11):1042-1045,1077.

[11] 韩飞,尹然,詹晓亮,等.星点设计效应面法优化氟比洛芬纳米结构脂质载体的处方[J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(12):938-942.

[12] 鞠健锋,朱宗敏,杜忠科,等.星点设计-效应面法优化重楼皂苷类成分的提取工艺[J]. *中国药房*, 2015, 26(28):3967-3969.

[13] 周恺,姚亮,戴浩志,等.超速离心法测定银杏内酯B纳米结构脂质载体包封率[J]. *安徽中医药大学学报*, 2015, 34(2):78-81.

[14] Barman RK, Iwao Y, Funakoshi Y, et al. Development of highly stable nifedipine solid-lipid nanoparticles[J]. *Chem Pharm Bull*, 2014, 62(5):399-406.

[15] Ji P, Yu T, Liu Y, et al. Naringenin-loaded solid lipid nanoparticles: preparation, controlled delivery, cellular uptake, and pulmonary pharmacokinetics[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, doi:10.2147/dddt.S97738.

(收稿日期:2016-12-26 修回日期:2017-02-16)

(编辑:邹丽娟)