

基于 pH 梯度载药技术的咪喹莫特脂质体的制备工艺研究

时军¹, 张慧迪¹, 吴秀君², 陈桂添¹, 吴艳婷¹, 郭思旖¹ (1.广东药科大学中药学院, 广州 510006; 2.广东省妇幼保健院, 广州 511400)

摘要: 目的 根据咪喹莫特的理化性质, 利用 pH 梯度主动载药技术制备脂质体, 考察其性状、粒径、表面电荷及体外释药特征。方法 葡聚糖凝胶滤过法测定脂质体的包封率, 以包封率与成型性为主要指标筛选制备方法, 考察水化液的种类、pH 值、离子强度及 pH 梯度载药、磷脂-胆固醇比例、脂药比、维生素 E 用量对包封率的影响; 正交试验优化咪喹莫特脂质体的处方, 考察脂质体样品在 0~4 ℃ 下的稳定性。结果 按处方咪喹莫特 50 mg、大豆卵磷脂 400 mg、胆固醇 130 mg、油酸 10 mg、维生素 E 5 mg、柠檬酸 pH 2.5 缓冲液 5 mL, 采用薄膜分散法工艺制备脂质体样品, 并进行 pH 梯度主动载药, pH 值调至 7.0。制得的咪喹莫特脂质体呈白色均匀的混悬液, 脂质体微粒圆整, 分散性好, 粒径(347±21)nm, 包封率(81.2±1.9)%, Zeta 电位(-12.19±1.7)mV。结论 pH 梯度主动载药技术适于咪喹莫特脂质体的制备。

关键词: 咪喹莫特脂质体; pH 梯度主动载药技术; 正交试验设计; 体外释药特征

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2018)03-0325-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.03.005

引用本文: 时军, 张慧迪, 吴秀君, 等. 基于 pH 梯度载药技术的咪喹莫特脂质体的制备工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(3): 325-329.

Study of Preparation Technology of Imiquimod Liposomes Based on pH Gradient Active Drug Loading Method

SHI Jun¹, ZHANG Huidi¹, WU XiuJun², CHEN Guitian¹, WU Yanting¹, GUO Siyi¹ (1.Department of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2.Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare imiquimod(Imiq) liposomes using pH gradient active drug loading technology based on the physicochemical properties of Imiq, and investigate the characters, particle size, surface charge and release characteristics *in vitro*. **METHODS** To determine the encapsulation efficiency by gel filtration method, and use encapsulation efficiency and formability as the main index of preparation screening. To study the impact on entrapment efficiency of the factors involving hydration liquid type, pH value, ionic strength and pH gradient drug loading, phospholipid and cholesterol ratio, drug lipid ratio and the dosage of VE. To optimize the prescription composition of imiquimod liposomes by orthogonal test prescription, and then to observe the stability of liposome samples at 0~4 ℃. **RESULTS** The prescription composition of imiquimod liposomes were 50 mg of Imiq, 400 mg of soybean soft phospholipid, 130 mg of cholesterol, 10 mg of oleic acid, 5 mg of vitamin E, 5 mL of citric acid pH 2.5 buffer, and use THF-pH gradient active loading technology, the pH value was adjusted to 7.0. The prepared Imiq liposomes showed white uniform suspension, had round and well dispersed particles, and the particle size was (347±21)nm, encapsulation efficiency was (81.2±1.9)%, Zeta potential was (-12.19±1.7)mV. **CONCLUSION** The pH gradient active drug delivery technique is suitable for the preparation of Imiq liposomes.

KEY WORDS: imiquimod liposomes; pH gradient active drug loading technology; orthogonal experimental design; release characteristics *in vitro*

咪喹莫特(imiquimod, Imiq)是人工合成小分子中唯一的干扰素诱导免疫反应调节剂^[1]。Imiq 通过降低 Toll 样受体 TLR7 和 TLR8 的竞争抑制作用, 刺激多种免疫细胞产生一系列细胞素, 诱导生成多种细胞因子, 从而增强免疫调节作用^[2]。作为外用免疫调节剂, Imiq 临床主要用于瘢痕疙瘩、尖锐湿疣等皮肤疾病的治疗, 现有剂型为软膏剂(油

膏)和乳膏剂^[3]。

作为常见纳米给药载体, 脂质体皮肤给药具有独特的优势, 脂质双层膜可加速瘢痕异质化表皮的药物渗透, 增强药物真皮滞留性能, 水性给药环境满足伤口愈合对 O₂ 的需求^[4]。本课题组前期在考察 Imiq 油水分配系数与透皮吸收速率常数的基础上^[5], 考察处方组成, 制备 Imiq 脂质体。

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020212417); 广东省高等学校优秀青年教师培养计划资助项目(YQ2015099)

作者简介: 时军, 男, 博士, 副教授 Tel: (020)39352169 E-mail: shijun8008@163.com

pH 梯度主动载药技术利用药物的两亲性,以电中性形式跨越脂质双层,电离形式却不能跨越,通过形成脂质体膜内、外水相 pH 值差异,促使外水相药物自发向脂质体内部聚集,从而获得较高的药物包封率^[6]。本研究考察 pH 梯度主动载药技术制备 Imiq 脂质体可行性,为其外用纳米经皮制剂开发提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 药物与试剂

胆固醇(CH,分析纯,上海艾韦特医药科技有限公司,批号:B 01221);维生素 E(VE,美国 Sigma 公司,批号:082K1382);大豆卵磷脂(sbPC,磷脂酰胆碱质量分数>94%,德国 Lipoid 公司,批号:57-1140045-10);油酸(OA,海拓国药,批号:20160422);Imiq(标示规格为 98%,武汉胜天宇公司,批号:20151016);Imiq 对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100632-201501;纯度≥98%);Imiq 乳膏(四川明欣药业,批号:161112)。甲醇为色谱纯;HPLC 用水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

DIONEX UltiMate 3000 HPLC 系统[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];JY96-II N 细胞超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);LA-950V2 激光散射粒度测定仪(日本 HORIBA 公司);RE2000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);2-16k 冷冻高速离心机(美国 Sigma 公司);BX51 光学显微镜(日本 Olympus);MS-H280-Pro 磁力加热搅拌器(大龙兴创实验仪器有限公司);PHS-3C 型 pH 计(上海精科科学仪器有限公司);LF-1 脂质体挤出仪(Avestin 公司);透析袋(分子量 8 000~14 000,南京森贝伽生物科技有限公司)。

1.3 Imiq 脂质体包封率测定^[7]

采用葡聚糖凝胶滤过法进行测定包封率,按下式计算包封率(entrapping efficiency, EE/%)。每个样品平行测定 3 次,取其平均值。

$$EE/\% = \left(1 - \frac{C_u}{C_t}\right) \times 100$$

式中, C_u 为游离 Imiq 质量, C_t 为投药量。使用 HPLC 测定 C_u , 色谱条件: 色谱柱 C_{18} -PAQ(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.06%磷酸水(35:65), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 紫外检测波长 318 nm, 理论板数按照 Imiq

计算≥3 000。峰面积(A)与系列对照品质量浓度(ρ)进行回归, 回归方程 $A=0.943 9\rho-0.012 6$, $r=0.999 8$, Imiq 在 0.080 4~4.02 μg·mL⁻¹ 线性关系良好。

1.4 脂质体制备工艺的筛选

为了便于比较,统一处方为 Imiq 50 mg、sbPC 250 mg、CH 50 mg、OA 10 mg、VE 5 mg、柠檬酸 pH 3.0 缓冲液(CBS 3.0) 5 mL, 考察以下 3 种制备工艺。

1.4.1 薄膜分散法 将 Imiq、sbPC、CH、OA、VE 用 10 mL 甲醇-氯仿(1:1)混合溶剂溶解,转移至 500 mL 茄形瓶中,减压下旋转蒸发 60 min,保持水浴温度 30 ℃,将形成的均匀白色薄膜加入 CBS 3.0,水化过夜,超声(50 kHz,每次 2 min,3 次)处理,呈乳白色混悬液后,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

1.4.2 逆向蒸发法 将 Imiq、sbPC、CH、OA、VE 溶于 10 mL 二氯甲烷-甲醇(5:2)混合溶剂,转移至 500 mL 茄形瓶中,加入 3 mL CBS 3.0 振荡,保持水浴温度 30 ℃,超声,共 5 min,每次持续 1 min,2 次之间间歇 1 min,得乳状液,在 45 ℃、50 r·min⁻¹ 下减压旋转蒸去有机溶剂至凝胶状,再加入 2 mL CBS 3.0,继续减压旋转蒸去有机溶剂,超声(50 kHz,每次 2 min,3 次)处理,呈乳白色混悬液后,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

1.4.3 乙醇注入法 将 Imiq、sbPC、CH、OA、VE,溶于 5 mL 无水乙醇液中,保温(65±2)℃,在搅拌下匀速注入乙醇液至 5 mL CBS 3.0 中,注入过程中通入 N₂ 除去大部分乙醇。注入完毕后,探头式超声处理(50 kHz,每次 2 min,3 次)减小粒径,呈乳白色混悬液后,过 0.45 μm 的微孔滤膜,即得。

1.5 脂质体水化液考察

按基本处方 Imiq 50 mg、sbPC 250 mg、CH 50 mg、OA 10 mg、VE 5 mg,以脂质体外观性状和包封率为指标,进行脂质体水化液种类、pH 值和离子浓度考察。采用“1.4.1”项下薄膜分散法工艺条件制备脂质体混悬液,选用 5 mL pH 3.0 柠檬酸缓冲液(CBS 3.0)、pH 4.0 醋酸缓冲液(ABS 4.0)和 pH 5.0 磷酸缓冲液(PBS 5.0)3 种水化液。优选最适宜水化液后,考察相对离子浓度为 1, 0.5, 0.1 的水化液,1 对应的水化液为 0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸溶液-0.2 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠溶液(80:20)混合液,0.5 与 0.1 离子浓度分别由 1 稀释 2, 10 倍得到。

1.6 pH 梯度主动载药条件考察^[8-9]

按处方 Imiq 150 mg、sbPC 750 mg、CH 150 mg、OA 30 mg、VE 15 mg、CBS 3.0 15 mL, 采用“1.4.1”项下薄膜分散法工艺条件制备脂质体混悬液, CBS 3.0 水化液相对离子浓度分别控制在 1, 0.1 水平, 从各水化液相对离子浓度水平的脂质体混悬液中分别取 4 份 3 mL 的样品, 置于不同烧杯中, 于室温磁力搅拌下, 以 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液分别将 4 份样品的 pH 值调至 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 分别测定 pH 值调节前后各样品的包封率。

按处方 Imiq 50 mg、sbPC 250 mg、CH 50 mg、OA 10 mg、VE 5 mg、CBS 3.0 5 mL, 采用“1.4.1”项下薄膜分散法工艺制备脂质体混悬液, 分别以 CBS 2.5、CBS 3.0 及 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸溶液为水化液, 并进行 pH 梯度主动载药, 3 份样品的 pH 值均调至 7.0, 分别测定 pH 梯度载药后样品的包封率, 获得 pH 梯度主动载药最佳条件。

1.7 正交试验设计考察处方药量

在以上预实验考察 sbPC-CH 比例(g/g)、脂药比(g/g)、油酸用量(g)和 VE 用量(g)基础上, 确定分散介质为 CBS 2.5(离子强度为 1)5 mL, 按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验, 设定不同的处方药量, 按“1.4.1”项下薄膜分散法制备脂质体, 按功率 20 W(4 °C)下探针式超声处理(固定探头位置, 每次 5 s, 间隔 5 s, 共 1 min), 将所制得的样品利用 pH 梯度主动载药提高包封率, pH 值均调至 7.0。以包封率为考察指标, 优选最佳制备处方。

1.8 性状考察及体外释药性能考察

按优化后处方和制备工艺, 制备 3 批 Imiq 脂质体, 进行性状、显微观察、粒径和 Zeta 电位测定, 并考察体外释药性能。

体外释药性能考察: 分别精密称取含 Imiq 100 mg 脂质体溶液和市售的 Imiq 乳膏, 放入长 3 cm、宽 2.5 cm, 有效扩散面积 15 cm^2 的透析袋中, 溶出介质为 500 mL $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸液, 搅拌桨转速为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度设置为 $(32\pm0.5)^\circ\text{C}$, 分别于 5, 10, 15, 20, 30, 60 min 取样 5 mL, 同时补充 5 mL 等温空白溶出介质, 样品经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过后, HPLC 测定药物浓度。

2 结果

2.1 脂质体制备工艺的确定

利用薄膜分散、逆向蒸发和乙醇注入 3 种方法制得样品, 光学显微镜下观察发现, 薄膜分散

法与逆向蒸发法样品中, 有大量圆球形或近圆球形囊泡结构, 而乙醇注入法制得的样品中存在大量不规则团块, 样品中乙醇难以挥发除去, 用于皮肤给药防治增生性瘢痕, 可能会引起刺激、疼痛, 因此不予采用。对薄膜分散法与逆向蒸发法制得的脂质体分别进行包封率测定, 结果表明前者为 $(44.7\pm1.9)\%(n=3)$, 后者为 $(39.2\pm2.1)\%(n=3)$, 故选用薄膜分散法。

2.2 脂质体水化液考察

ABS 4.0 和 PBS 5.0 为水化液的脂质体包封率较高, 但在 $0\sim4\text{ }^\circ\text{C}$ 、充氮条件下放置数天后两者均有颜色变黄或微浊现象, 说明其稳定性欠佳, 故均不宜采用; CBS 3.0 水化的脂质体放置数月无变色现象, 故选择 CBS。离子强度为 0.1, 0.5, 1.0 时的脂质体包封率分别为 $(50.6\pm2.9)\%$, $(45.3\pm2.7)\%$, $(31.2\pm1.9)\%$, 包封率随 CBS 3.0 离子浓度的增加而降低。

2.3 pH 梯度主动载药条件考察结果

pH 梯度主动载药法可明显提高脂质体药物包封率, 水化液的缓冲盐离子浓度较大时, 相同 pH 梯度包封率提高幅度较大, 结果见表 1。

表 1 不同 pH 梯度下 Imiq 脂质体的药物包封率($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 1 EE of Imiq liposomes under different pH gradients ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

pH 值调节	包封率/%	
	相对离子强度 1	相对离子强度 0.1
调节前(pH 3.0)	38.5±2.3	51.7±2.7
pH 值调至 4.0	41.3±2.9	54.6±3.2
pH 值调至 5.0	50.6±3.1	58.3±2.8
pH 值调至 6.0	61.7±2.8	61.9±3.1
pH 值调至 7.0	69.5±2.3	65.3±2.1

分别以 CBS 2.5、CBS 3.0 及 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸溶液为水化液, 外相 pH 值升高至 7.0, 包封率分别为 $(75.2\pm4.3)\%$, $(70.9\pm3.6)\%$, $(68.2\pm3.1)\%$ ($n=3$), 选择 CBS 2.5 为最终水化液。

2.4 脂质体处方影响因素考察结果

考察 sbPC/CH 在 3:1, 2:1, 1:1, 1:1.5, 随着 CH 用量增加, 包封率上升。但是 CH 作为脂质体膜流动性调节剂, 过量易造成脂质体膜超负荷而破裂。考察脂药比分别为 2:1, 5:1, 8:1, 10:1, 20:1, 包封率随脂药比增大而呈上升趋势, 当脂药比为 10:1 时, 干膜水化困难, 超声后有细小团块状析出, 脂药比为 2:1 时, 药物有

渗漏。OA 对脂质体包封率几乎无影响。加入不同量 VE(2, 5, 8 mg), 随着 VE 用量的增加, 脂质体的包封率有所上升, 但是当 VE 用量为 8 mg 时, 由于 VE 在极性介质中分散性不佳, 脂质体呈较稠厚乳黄色。

2.5 正交试验设计考察处方药量对包封率的影响

按表 2 设定因素和水平, $L_9(3^4)$ 正交试验进行脂质体处方优化。各次实验获得脂质体样品的包封率测定结果见表 2。对数据进行方差分析, 见表 3。

表 2 Imiq 脂质体处方正交实验结果

Tab. 2 Imiq liposomes formulation by orthogonal experimental results

因素	A 磷脂:胆固醇	B 脂药比	C VE 用量/mg	包封率/%
1	1:1	3:1	4	60.5
2	1:1	8:1	5	71.3
3	1:1	5:1	6	62.5
4	2:1	3:1	4	69.3
5	2:1	8:1	6	72.9
6	2:1	5:1	5	71.0
7	3:1	3:1	6	73.6
8	3:1	8:1	4	78.6
9	3:1	5:1	5	75.3
均值 1	64.8	67.8	70.0	
均值 2	71.1	74.3	72.0	
均值 3	75.8	69.6	69.7	
极差	3.7	2.2	0.8	

表 3 方差分析结果

Tab. 3 The results of variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
磷脂:胆固醇	184.9	2	20.2	19.00	*
药脂比	66.8	2	7.3	19.00	
VE 用量	9.2	2	1	19.00	
误差	9.2				

由表 2 直观分析和表 3 方差分析结果可知, 处方因素 A 和 B 对 Imiq 脂质体包封率有显著性影响, 最优组合为 $A_3B_2C_2$, 确定 Imiq 脂质体最佳处方: 磷脂-胆固醇用量比 3:1, 脂药比为 8:1, VE 用量为 5 mg。

2.6 Imiq 脂质体的质量评价

按处方 Imiq 50 mg、sbPC 400 mg、CH 130 mg、OA 10 mg、VE 5 mg、CBS 2.5 mL, 采用“1.4.1”项下薄膜分散法工艺制备脂质体样品, 并进行 pH 梯度主动载药, pH 值调至 7.0。制得 3 批 Imiq 脂质体, 外观为白色均匀的混悬液, 分散性好; 在显微镜下观察, 可以观察到大量的囊泡结构, 近似圆形, 见图 1A; 药物包封率为 $(81.2 \pm 1.9)\%$ ($n=3$); 以激光散射粒度测定仪测得脂质体的平均粒径为 $(347 \pm 21)\text{nm}$ ($n=3$), 多分散指数为 0.268 ± 0.083 , Zeta 电位为 $(-12.19 \pm 1.7)\text{mV}$ ($n=3$), 粒径分布见图 1B, Zeta 电位图见图 1C。

将脂质体混悬液置于 0~4 °C 冰箱保存, 分别于 0, 7, 14 d 测定脂质体的各项质量指标, 结果见表 4, 表明样品的外观性状、显微形态、包封率、粒径与 Zeta 电位等均未发生明显变化, 说明样品稳定性良好。

2.7 体外释药性能考察结果

将药物浓度计算得各时间点药物累积释放百分数, 以累积释放百分数对时间作图, 见图 2。

由图 2 可知, Imiq 脂质体中药物 1 h 内全部释放, 与 Imiq 软膏相比, 药物释放呈缓释效应, 这与形成脂质双层膜从而延缓药物释放有关。

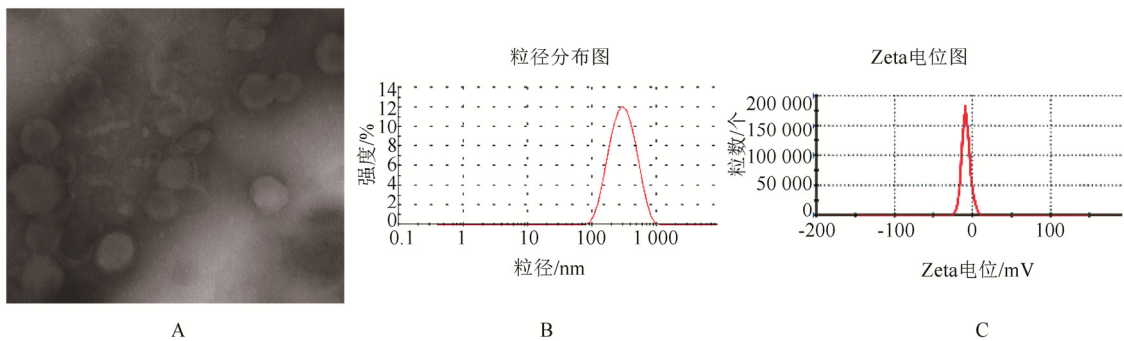


图 1 Imiq 脂质体的质量评价图

A-显微照片($\times 20\,000$); B-粒径分布图; C-Zeta 电位图。

Fig. 1 Quality estimation figure of Imiq liposomes

A-Microscopic picture($\times 20\,000$); B-Particle size distribution; C-Zeta potential.

表 4 成品 Imiq 脂质体稳定性测定结果

Tab. 4 Stability of Imiq liposomes products

t/d	外观性状	显微观察	包封率/%	粒径/nm	Zeta 电位/mV
0	白色混悬液, 流动性良好	大量囊泡状结构, 近似圆形	81.2	347	-12.19
7	白色混悬液, 流动性良好	大量囊泡状结构, 近似圆形, 有轻微聚集	80.7	365	-11.53
14	白色混悬液, 流动性良好	大量囊泡状结构, 近似圆形, 有轻微聚集	79.6	379	-11.26

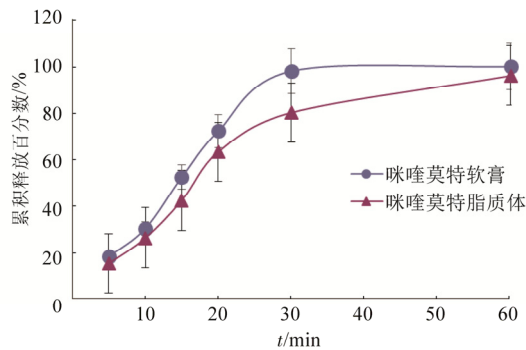


图 2 Imiq 脂质体与软膏中药物累积释放百分数-时间图

Fig. 2 Release profiles of Imiq liposomes and cream *in vitro*

3 讨论

本实验比较了薄膜分散法、逆相蒸发法、乙醇注入法 3 种制备工艺, 从而确定选用薄膜分散法工艺。薄膜分散法在无水状态下除去有机溶剂, 迅速且完全, 可保证制剂有机溶剂残留量符合限量要求, 形成的薄膜均匀稳定, 故从脂质体实际应用的安全性及工艺研究结果的可靠性考虑, 薄膜分散法工艺具有较大优势。本实验筛选了 CBS 3.0、ABS 4.0、PBS 5.0 3 种水化液, 后两者制得的脂质体均在数天内有颜色变黄的现象, 而前者制得的脂质体可以长时间稳定存放, 这可能与 CBS 中柠檬酸的协同抗氧化作用有关。

研究脂质体电势, 在防止脂质体微粒聚集、融合, 以及脂质体与药物之间的作用方面有一定的作用。荷电脂质体微粒之间存在斥力, 能够减少相互间的聚集和融合, 增加稳定性。 ξ 电位是衡量电荷多少的一个重要指标, 当 Zeta 电位绝对值 >10 mV 时, 荷电粒子比较稳定, 不易聚集^[10]。脂质体载体因具有与皮肤角质层高度的结构相似和生理相容特性, 易于渗透角质层进入皮肤组织内部, 同时其中的主要组成成分-磷脂可加速皮肤表皮水化, 可防止药物引起的皮肤干燥。局部应

用脂质体制剂, 还可使药物相对集中于病灶部位, 减少药物的全身吸收^[11]。

REFERENCES

- [1] WILLIAMS H C, BATH-HEXTALL F, OZOLINS M, et al. Surgery versus 5% imiquimod for nodular and superficial basal cell carcinoma: 5-year results of the SINS randomized controlled trial [J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(3): 614-619.
- [2] GIACOMASSI C, BUANG N, LING G S, et al. Complement C3 exacerbates imiquimod-induced skin inflammation and psoriasiform dermatitis [J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(3): 760-763.
- [3] PURWAR R, BAUMER W, NIEBUHR M, et al. A protective role of complement component 3 in T cell-mediated skin inflammation [J]. *Exp Dermatol*, 2011, 20(9): 709-714.
- [4] SUN X, CHENG L, ZHU W, et al. Use of ginsenoside Rg3-loaded electrospun PLGA fibrous membranes as wound cover induces healing and inhibits hypertrophic scar formation of the skin [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 115(3): 61-70.
- [5] SHI J, ZHANG H D, HUANG S H, et al. Study on the correlation between partition coefficient of imiquimod and transdermal absorption rate constant [J]. *J Guangdong Pharm Univ*(广东药学院学报), 2016, 32(6): 671-674.
- [6] ZHENG H S, HUANG S W, LI F Z, et al. Preparation technology of sinomenine hydrochloride liposomes [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2013, 44(4): 408-413.
- [7] LIU Y, GUO W Y. Determination of entrapment efficiency of oxaliplatin liposomes by sephadex microcolumn combined with HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2014, 31(1): 74-77.
- [8] GUBERNATOR J, CHWASTEK G, KORYCIŃSKA M, et al. The encapsulation of idarubicin within liposomes using the novel EDTA ion gradient method ensures improved drug retention *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2010, 146(1): 68-75.
- [9] ESTHER S, ZHANG W L, LIU J P, et al. Physicochemical characterization of asulacrine towards the development of an anticancer liposomal formulation via active drug loading: Stability, solubility, lipophilicity and ionization [J]. *Int J Pharm*, 2014, 473(1/2): 528-535.
- [10] HRURTAULT B, SAULNIER P, PECH B, et al. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(23): 4283-4300.
- [11] ZHANG H, RAN X, HU C L, et al. Therapeutic effects of liposome- enveloped ligusticum chuanxiong essential oil on hypertrophic scars in the rabbit ear model [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31157.

收稿日期: 2017-05-24

(本文责编: 李艳芳)