

## 复方鸦胆子油脂质体的制备工艺研究

涂颖秋, 蒋杉杉, 李玉清, 黄绳武  
(浙江中医药大学 浙江 杭州 310053)

**摘要** 目的:研究复方鸦胆子油脂质体的处方筛选及制备工艺。方法:采用气相色谱法测定脂质体包封率。以脂质体包封率为主要指标,对制备工艺中可能影响脂质体性质的工艺参数和处方因素进行单因素考察和正交设计,优化制备工艺。用不同冻干保护剂进行冷冻干燥,以筛选合适的保护剂。测定 Zeta 电位、粒径大小及分布。结果:采用乙醇注入法制备复方鸦胆子油脂质体;最佳制备工艺为磷脂浓度为 1.5%,磷脂胆固醇质量比为 5:1,油水两相体积比为 1:10,甘露醇:蔗糖:磷脂质量比为 1:1:1,水相介质为蒸馏水,温度为 50 ℃,搅拌速度为 30 rpm。最佳处方制备的平均包封率为 91.9%, Zeta 电位为 -32.1 mV,平均粒径为 170.3 nm。结论:该实验制备的复方鸦胆子油脂质体具有包封率高、稳定性好、表面带负电等特点,为进一步研究复方鸦胆子油脂质体奠定了基础。

**关键词** 鸦胆子油;蟾酥;复方脂质体;制备工艺

中图分类号 R285.5 文献标识码:A 文章编号:1671-0258(2013)05-0025-05

## Study on Prescription and Preparation of Compound Oleum Fructus Bruceae Liposomes

Tu Yingqiu, Jiang Shanshan, Li Yuqing, Huang Shengwu  
(Zhejiang Chinese Medical University Hangzhou Zhejiang 310053)

**Abstract Objective** To optimize the prescription and preparation of compound oleum fructus bruceae liposomes. **Methods** : The encapsulation efficiency of liposomes was examined by Gas Chromatography. Orthogonal design was adopted and encapsulation efficiency of liposomes was taken as index in observation. Formulation and preparation factors which may influence properties of liposomes were studied. **Result** Compound oleum fructus bruceae liposomes was prepared by ethanol injection method. The optimum preparation conditions were as follows: the concentration of the soybean lecithin was 1.5%, ratio of lecithin to cholesterol was 5:1, volume ratio of water-oil was 10:1, the best proportion for mannitol:sucrose:lecithin was 1:1:1, the aqueous phase was distilled water, the temperature was 50 ℃ and the stirring speed was 30 rpm. The average encapsulation efficiency was 91.9%. The Zeta potential of the liposomes was -32.1 mV and the average size was 170.3 nm. **Conclusion** :The formulation and preparation process were practical to prepare the compound liposomes with good encapsulation efficiency and stability, negative charged surface. It was valuable to be further study for oleum fructus bruceae liposomes.

**Key words** oleum fructus bruceae; Venenum Bufonis; compound liposomes; preparation process

脂质体作为抗癌药物载体,具有增强靶向性、克服耐药性、增加药物摄取率、降低用量、提高疗效、降低毒副作用等特点<sup>[1-3]</sup>。采用冷冻干燥技术,将脂质体以固态形式贮存,不仅克服了脂质体自身不稳定问题,同时防止药物水解氧化,有利于运输和贮存,便于工业化生产,扩大临床应用<sup>[2-3]</sup>。临床实践证明,蟾酥中吲哚类生物碱成分具有抗肿瘤及调节免疫的双重作用<sup>[4-5]</sup>。目前上市制剂如华蟾素注射液,主要有效成分为吲哚类生物碱,已被广泛应用于临床,它的毒副作用小,使用安全可靠,具有广阔的应

用前景。鸦胆子油是细胞周期非特异性抗癌药,上市制剂有鸦胆子油口服乳剂、注射乳剂及软胶囊等。另有研究表明,鸦胆子油对耐药肿瘤细胞的生长有明显抑制作用,可增强细胞对药物的敏感性,能起到减毒增效作用,提高患者机体免疫力<sup>[6-10]</sup>。本课题将两者合用,旨在起到协同作用,减毒增效,降低给药剂量,提高机体免疫力,改善患者生存质量。本文以脂质体包封率为主要指标,对制备工艺中可能影响脂质体性质的工艺参数和处方因素进行单因素考察和正交设计,优化制备工艺。同时就冻干保护剂加入方式、种

[基金项目]浙江省自然科学基金重点项目(LZ13H280001)  
[作者简介]涂颖秋,硕士研究生,E-mail:yingqiu281@163.com  
[通讯作者]黄绳武,硕士研究生导师,E-mail:hsw55@163.com  
[收稿日期]2013-02-24

类及用量等进行了考察,筛选最佳冻干保护剂。

## 1 实验材料

### 1.1 实验仪器

脂质体挤出器(默格机械上海有限公司) GC-14A 气相色谱仪(日本岛津) FID 检测器(日本岛津); KQ5200DE 超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); JA203H 电子天平(常州市幸运电子设备有限公司); XY500C 电子天平(常州市幸运电子设备有限公司); HH-S 型水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂) DF101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂) 冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); -86 °C 超低温冰箱(美国 Thermo Forma 型号:725)。

### 1.2 试药

蟾酥水提物(自制,每毫升相当于 0.01 g 生药量); 鸭胆子油(自制); 大豆磷脂(注射剂,上海太伟药业有限公司); 胆固醇(阿拉丁); 甘露醇(中国上海康捷生物科技发展有限公司); 蔗糖(江苏强盛功能化学股份有限公司); 葡萄糖(江苏强盛功能化学股份有限公司); 山梨醇(上海强顺化学试剂有限公司); 海藻糖(上海强顺化学试剂有限公司); 乳糖(上海恒信化学试剂有限公司); 激光粒度 Zeta 电势测定仪(德国马尔文 型号 Zeta size Nano-ZS90); JEM-1230 型透射电子显微镜(日本 JEOL 公司,加速电压 80 kV)。

## 2 方法与结果

### 2.1 脂质体包封率的测定

#### 2.1.1 油酸的测定

2.1.1.1 色谱条件 色谱柱:DM-Inert Wax 毛细管柱(30 mm×0.25 mm×0.25 μm) FID 检测器。柱温 150 °C,进样口温度 250 °C,检测器温度 250 °C,载气为高纯氮,流速:1.0 mL/min,恒流,分流比 100:1,进样量 5 μL。采用程序升温方式,150 °C(停留 1 min)–200 °C(20 °C/min,停留 2 min)–220 °C(10 °C/min,停留 10 min)。在此条件下,各脂肪酸衍生物能够达到基线分离,且分离度大于 1.5。理论塔板数按油酸峰面积计算,不低于 40 000。

2.1.1.2 线性范围 精密称取油酸对照品 0.051 6 g,置于 10 mL 容量瓶,加正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,作为油酸对照品母液。精密吸取母液 4 mL,置于 25 mL 容量瓶,加正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,作为油酸对照品溶液。精密量取油酸对照品溶液 0.2 mL,0.4 mL,0.6 mL,0.8 mL,1.0 mL,1.2 mL,1.4 mL,分别置于 10 mL 具塞试管中,用氮气吹干,加

0.5 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL,摇匀,置 60 °C 水浴皂化 25 min,每隔数分钟振摇 1 次,待油珠全部消失,取出,放冷。加入 15% 三氟化硼乙醚甲醇溶液 2 mL,摇匀,置 60 °C 水浴酯化 2 min,放冷。精密加入正己烷 2 mL,充分振摇,加饱和氯化钠溶液适量,使溶液上浮至瓶颈,立即吸取上层有机溶液,加 0.5 g 无水硫酸钠振摇脱水。0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,进样 5 μL,以峰面积对油酸含量进行线性回归,得回归方程  $y=156.837x+7580.5$ ,  $R^2=0.9992$ ,表明油酸在 0.165 mg~1.156 mg 线性关系良好。

2.1.1.3 精密度 精密吸取不同含量的油酸对照品溶液(0.495 mg,0.826 mg,1.156 mg),经衍生化处理后,于日内重复进样分析,RSD 分别为 1.33%、1.16% 和 0.94%  $n=6$ 。

2.1.1.4 稳定性 精密吸取同一新制备供试品,经衍生化处理后,分别于 0 h,2 h,6 h,8 h,12 h,24 h 进样,RSD 为 2.57%。

2.1.1.5 回收率 精密吸取适量空白脂质体,加入对照品溶液(0.502 mg,0.628 mg,0.754 mg),经衍生化处理后进样分析,平均回收率为(100.35±2.12)%,RSD 为 2.12%  $n=9$ 。

2.1.2 包封率的测定 采用萃取法进行包封率的测定。精密量取复方鸭胆子油脂质体,加入破膜剂,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得脂质体中所含的鸭胆子油( $W_{总}$ )。精密量取复方鸭胆子油脂质体,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得脂质体中所含的鸭胆子油( $W_{油}$ );取下层,加入破膜剂,加入适量石油醚萃取,取上层,水浴挥干,正己烷溶解,得包封入脂质体中的鸭胆子油( $W_{包}$ )。衍生化处理,按照色谱条件进样。根据下列公式计算包封率( $y$ ):

$$y = \frac{W_{包}}{W_{总}} \times 100\%$$

为避免脂质体受到破坏,分离前应进行脂质体在萃取液中的回收率、鉴定方法的可行性。按照上述方法进行测定。根据下列公式计算回收率( $y$ )。平均回收率为(99.58±2.31)% RSD 值为 2.32%。

$$y = \frac{W_{包} + W_{游}}{W_{总}} \times 100\% \text{ 其中 } W_{游} \text{ 为游离药量。}$$

### 2.2 脂质体的制备

采用乙醇注入法制备复方鸭胆子油脂质体。称取一定比例大豆磷脂、胆固醇、鸭胆子油,适量乙醇溶解,作为油相,精密量取蟾酥水提物,加入冻干保护剂,加蒸馏水作为水相。50 °C 水浴,30 rpm 搅拌,

缓缓将上述类脂溶液注入水相中,搅拌至无醇味,水浴超声 30 min。室温条件下依次通过 0.45 μm、0.2 μm、0.1 μm 微孔滤膜挤出,即得脂质体混悬液。分装于西林瓶,-70℃预冻,冷冻干燥,轧盖,贴标签,即得复方鸦胆子油脂体冻干粉。

### 2.3 处方和工艺优化

通过预实验和单因素考察,筛选出对复方鸦胆子油脂体制备过程具有显著影响的3个因素:确定磷脂浓度(A)、磷脂胆固醇质量比(B)、油水两相体积比(C)为考察因素,每个因素设3个水平,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行实验,因素水平表见表1。以冻干前脂质体包封率为指标进行考察,直观分析见表2,方差分析结果见表3。

表1 正交试验因素水平表

水平	A(%)	B	C
1	0.5	5:1	4:10
2	1.0	10:1	2.5:10
3	1.5	15:1	1:10

表2 直观分析表

No.	A	B	C	D(空白)	包封率(%)
1	1	1	1	1	95.2
2	1	2	2	2	45.9
3	1	3	3	3	30.4
4	2	1	2	3	93.7
5	2	2	3	1	95.3
6	2	3	1	2	60.0
7	3	1	3	2	95.6
8	3	2	1	3	83.9
9	3	3	2	1	94.7
$K_1$	57.167	94.833	79.700		
$K_2$	83.000	75.033	78.100		
$K_3$	91.400	61.700	73.767		
R	34.233	33.133	5.933		

表3 方差分析表

因素	偏差平方和(SS)	自由度(Df)	F值	显著性
A	1 909.309	2	33.777	*
B	167.636	2	29.494	*
C	56.542	2	1.000	
D(空白)	56.54	2		

注:  $F_{0.05(2,2)}=19$ , \*表示差异有统计学意义

由表1、表2及表3可知,以包封率为考察指标进行直观分析,对包封率的影响因素大小为A>B>C。由方差分析可得,F检验结果表明,磷脂浓度、磷脂与胆固醇质量比为主要影响因素( $P<0.05$ ),油水两相体积比对包封率的影响不显著。最佳处方组成为 $A_3B_1C_1$ ,即磷脂浓度为1.5%,磷脂胆固醇质量比为5:1,油水两相体积比为1:10。经过工艺验证,所得冻干前脂质体的平均包封率为96.0%。

### 2.4 冻干保护剂选择

#### 2.4.1 加入方式 冻干保护剂在脂质膜的内水相和

外水相平衡,才能对脂质体起到保护作用。以脂质体冻干粉的外观为指标,将甘露醇作为冻干保护剂,考察了冻干保护剂3种加入方式对冻干效果的影响。结果见表4。

表4 冻干保护剂加入方式对脂质体冻干粉的影响

加入方式	外观
内加法	++
内水相法	+
外水相法	--

注: ++表示无塌陷且饱满; +表示轻微塌陷; -表示有坍塌; --表示严重塌陷。

2.4.2 冻干保护剂种类 分别以蔗糖、乳糖、葡萄糖、海藻糖、山梨醇、甘露醇为冻干保护剂,固定大豆磷脂与冻干保护剂质量比为1:2,同时以不加任何保护剂的复方鸦胆子油脂体作为阴性对照,同时冻干,以冻干后样品的外观、复水性为评价指标,考察冻干保护剂对脂质体的保护作用。结果见表5。

表5 冻干保护剂种类对脂质体冻干粉的影响

冷冻保护剂	外观	复水性
-	--	--
蔗糖	-	++
乳糖	-	++
葡萄糖	--	-
海藻糖	+	+
山梨醇	--	--
甘露醇	++	-

注: ++表示无塌陷且饱满; +表示轻微塌陷; -表示有坍塌; --表示严重塌陷。复水性指标: ++表示轻微振摇即可复溶; +表示用力振摇才能复溶; -表示用力振摇也能复溶,但速度较慢; --表示用力振摇后不溶解。

由表4、表5可以看出,甘露醇作为冻干保护剂时,外观饱满、无塌陷、质地细腻,但其复水性不足。其他糖类作为冻干保护剂时,外观上均存在一定不足,塌陷、起泡、萎缩,甚至不能成型。其中蔗糖、乳糖、海藻糖的复水性较好,可进一步筛选甘露醇与这三种冻干保护剂混合使用(1:1)的效果。结果甘露醇与蔗糖联合使用效果最佳,冻干粉外观饱满、质地细腻、复水性良好。结果见表6。

表6 复合冻干保护剂对脂质体冻干粉的影响

冷冻保护剂	外观	复水性
甘露醇	++	-
甘露醇/蔗糖	++	+
甘露醇/海藻糖	--	+
甘露醇/乳糖	-	++

注:同表5注

2.4.3 冻干保护剂用量 以冻干后样品的外观、复水性为评价指标,分别考察磷脂/冻干保护剂质量比为2:1、1:1、1:2、1:3时,对脂质体冻干的影响。当磷脂与冻干保护剂质量比为1:2时,冻干效果最佳,结果

见表 7。

表 7 冻干保护剂用量对脂质体冻干粉的影响

质量比	外观	复水性
2:1	+	--
1:1	+	-
1:2	++	+
1:3	--	++

注 同表 5 注

## 2.5 脂质体的形态观察

**2.5.1 外观形态** 复方鸦胆子油脂质体冻干粉呈淡黄色,色泽均匀,质地细腻,维持原体积,饱满,不塌陷,不皱缩,西林瓶壁干净,可整块脱落,但不散碎。复水性良好。结果见图 1。

**2.5.2 显微形态** 采用负染法制备样品。在室温条件下,取复方鸦胆子油脂质体冻干粉,加蒸馏水复溶,稀释到一定浓度。然后滴在碳膜覆盖的铜网上,使脂质体混悬液在铜网上停留 2 min~3 min,用滤纸吸走多余液体,用 2%磷钨酸(NaOH 调 pH 7.4)染色,自然干燥,置于透射电镜下观察,照相。由透射电镜照片可看出,所制备的脂质体为球形或类球形,结构圆整,大小均一,表示脂质体形态较好。结果见图 2。

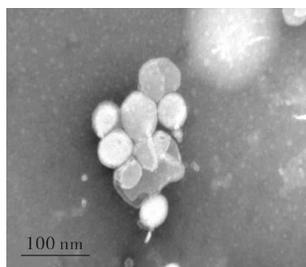


图 1 复方鸦胆子油脂质体冻干粉 图 2 复方鸦胆子油脂质体(x200 000)

**2.5.3 粒径及其分布** 室温条件下,取复方鸦胆子油脂质体冻干粉,加蒸馏水复溶,稀释到一定浓度。用注入样品池,激光粒度仪测定平均粒径及其分布。结果复方鸦胆子油脂质体冻干粉复溶后平均粒径为 170.3 nm,多分散系数 PDI 为 0.258,小于 0.4,可见粒径分布较集中。结果见图 3。

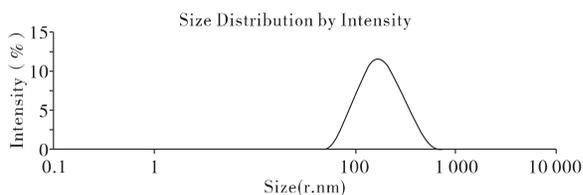


图 3 复方鸦胆子油脂质体粒径分布

## 2.6 电位测定

室温条件下,取复方鸦胆子油脂质体冻干粉,加蒸馏水复溶,稀释到一定浓度,用 Zeta 电位仪测定 Zeta 电位。结果复方鸦胆子油脂质体冻干粉复溶后,

Zeta 电位为 -32.1 mV,其绝对值大于 30 mV,比较稳定,脂质体带负电荷。

## 2.7 脂质体复水后包封率的测定

室温条件下,取复方鸦胆子油脂质体冻干粉,加蒸馏水复溶,稀释到一定浓度。经测定平均包封率为 91.90%(n=3),复方鸦胆子油脂质体冻干粉包封率比其脂质体溶液略有下降。

## 3 讨论

脂质体有多种制备方法,主要为两大类,即被动载药法和主动载药法,被动载药法有薄膜分散法、逆向蒸发法、乙醇/乙醚注入法、复乳法等,主动载药法主要为 pH 梯度法和硫酸铵梯度法。鸦胆子油为强脂溶性药物,采用被动载药法制备脂质体,易获得相对较高的包封率。本文采用乙醇注入法制备复方鸦胆子油脂质体,工艺条件易于控制,操作便捷,成本低。与其他制备方法相比,乙醇毒性相较于其他有机溶剂低得多,对人体损伤较小,易除,利于实现工业化生产。

乙醇注入法制备的脂质体粒径不均匀,故采用低温水浴超声结合挤出匀化控制脂质体粒径。超声可以改变脂质体的粒径,将大多室脂质体转变为小单室脂质体;依次通过 0.45 μm、0.2 μm、0.1 μm 微孔滤膜主要起到整粒匀化的作用。挤出后的脂质体均一,可避免对磷脂的破坏,使制剂更稳定,且该方法易于进行放大实验。

预实验对包封率的测定方法进行了考察。经多次重复实验表明,高速离心法不足以完全沉淀脂质体,脂质体未能完全分离,该方法对机器的要求较高,随着离心时间的延长,离心机发热,可能使脂质体渗漏。采用葡聚糖凝胶 G-50 层析柱法,处理过程繁多,耗时较长,需要预装柱、柱平衡、预饱和等多个程序,柱长、葡聚糖用量、流速等因素显著影响洗脱效果。洗脱过程中出现流动相流速过缓等问题,导致游离药物峰与脂质体峰不能完全分离,使脂质体分离效果不佳。因此高速离心与柱层析法均不适合复方鸦胆子油脂质体包封率的测定。萃取法简便易行,成本低,对仪器要求不高,尤其适合脂溶性药物脂质体的分离,因此确定该方法作为包封率的测定方法。

## 参考文献

- [1] Li C, Wang Y, Zhang X et al. Tumor-targeted liposomal drug delivery mediated by a diseleno bond-stabilized cyclic peptide[J]. Int J Nanomedicine. 2013, 8(2): 1 051-1 062. (下转第 30 页)

空干燥箱中干燥,于 105 ℃干燥 3 h,置干燥器中冷却至室温,测干浸膏得量及总黄酮含量,计算总黄酮得量。总黄酮含量测定参照文献[1]规定的总黄酮的测定方法进行。

$y(\text{mg})=a(g)\times b(\text{mg/g})$  其中  $y$  代表总黄酮得量,  $a$  代表干浸膏得量  $b$  代表总黄酮含量。

2.3.1 芦丁标准曲线 称取 5.0 mg 芦丁,加甲醇溶解并定容至 100 mL,即得 50  $\mu\text{g/mL}$ 。吸取芦丁标准溶液 0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL 于 10 mL 比色管中,加甲醇至刻度,摇匀,于波长 360 nm 比色。求回归方程,计算试样中总黄酮含量。

2.3.2 试样处理 称取一定量的试样,加乙醇定容至 25 mL,摇匀后,超声提取 20 min,放置,吸取上清液 1.0 mL 于蒸发皿中,加 1 g 聚酰胺粉吸附,于水浴上挥去乙醇,然后转入层析柱。先用 20 mL 苯洗,苯液弃去,然后用甲醇洗脱黄酮,定容至 25 mL。此液于波长 360 nm 测定吸收值,同时以芦丁为标准品,测定标准曲线,求回归方程,计算试样中总黄酮含量。结果见表 2。

以总黄酮得量为考察指标,由表中极差  $R$  值大小显示,各因素作用主次为  $A>B>C>D$ ;方差分析结果表明  $A$  因素、 $B$  因素具有统计学意义, $C$ 、 $D$  因素的影响无统计学意义,因素  $B_2$  与  $B_3$  相近,结合生产实际及成本经济考虑,  $A_3B_2C_2D_2$  为最佳组合,故确定  $A_3B_2C_2D_2$  为最佳工艺,即用 20 倍量 70% 乙醇,回流提取 2 次,每次 1.5 h。

### 2.4 验证

根据回流提取最佳工艺实验条件进行 3 批样品验证工艺实验,取银杏叶 15 g,苦荞麦 20 g,按最佳工艺条件进行提取。验证结果与试验结果基本一致,证明该工艺稳定可行,平均得膏率为 12.5%,总黄酮含量 4.49%。结果见表 3。

表 2 正交试验结果及分析

试验号	A	B	C	D	总黄酮得量 (mg)		
1	1	1	1	1	139.5		
2	1	2	2	2	168.4		
3	1	3	3	3	179.3		
4	2	1	2	3	168.1		
5	2	2	3	1	184.2		
6	2	3	1	2	190.9		
7	3	1	3	2	182.5		
8	3	2	1	3	197.5		
9	3	3	2	1	204.3		
总黄酮含量 (%)	$T_1K$	487.2	490.1	527.9	528	1614.7	$\Sigma X$ 289 695.1 $C$
	$T_2K$	543.2	550.1	540.8	541.8		
	$T_3K$	584.3	574.5	546	544.9		
	$R$	97.1	84.4	18.1	16.9		
方差分析		$SS_k$	$V$	$MS$	$F$	$F$ 临界值	$P$
	A	1 583.736	2	791.867 8	29.348 97	19	<0.05
	B	1 257.636	2	628.817 8	23.305 85	19	<0.05
	C	57.895 56	2	28.947 78	1.072 89	19	>0.05
	D	53.962 22	2	26.981 11	1	19	>0.05

表 3 醇回流提取验证结果

试验号	因素				干浸膏得量(g)	干浸膏得率(%)	总黄酮含量(%)	总黄酮得量(mg)
	A(%)	B(倍)	C(次)	D(h)				
1	70	20	2	1.5	4.41	12.6	4.47	197.1
2	70	20	2	1.5	4.24	12.1	4.38	185.7
3	70	20	2	1.5	4.48	12.8	4.63	207.4
$\bar{x}$					4.38	12.5	4.49	196.7

### 3 讨论

综上所述,中药复方降脂颗粒乙醇回流提取最佳工艺条件为  $A_3B_2C_2D_2$ ,即用 20 倍量 70% 乙醇,回流提取 2 次,每次 1.5 h,经工艺验证证明该工艺稳定可行,平均得膏率为 12.5%,总黄酮含量为 4.49%。

#### 参考文献

[1] 国家卫生部卫生法制与监督司. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 2003.

[2] 丁雨钦,曲杰,张晶晶,等. 鸦胆子油乳联合 siRNA-ERCC1 对肺癌 A549/DDP 细胞的耐药逆转作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 235-239.

[3] 胡美薇,张越峰,姚国丽. 鸦胆子油乳抑制人白血病多药耐药 K562/VCR 细胞株增殖的实验研究[J]. 浙江实用医学, 2012, 17(5): 315-392.

[4] 季春莲,谢月英,孙大兴. 鸦胆子油乳剂逆转 K562/ADM 细胞多药耐药的作用和机制[J]. 浙江中医杂志, 2010, 45(6): 458-460.

[5] 姚扬伟,胡梦伟,王海琴. 鸦胆子油注射液联合 DP 方案治疗中晚期非小细胞肺癌疗效观察[J]. 实用肿瘤杂志, 2012, 25(1): 74-76.

[6] 张宇,于力克,夏宁. 鸦胆子油乳联合 GP 方案化疗对晚期 NSCLC 患者免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 254-256.

(上接第 28 页)

[2] Wieber A, Selzer T, Kreuter J. Physico-chemical characterisation of cationic DOTAP liposomes as drug delivery system for a hydrophilic decapeptide before and after freeze-drying[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2012, 80(2): 358-367.

[3] Wang Y, Kho K, Cheow W S et al. A comparison between spray drying and spray freeze drying for dry powder inhaler formulation of drug-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles[J]. Int J Pharm, 2012, 424(1/2): 98-106.

[4] 郭维霞,仲伟婷,李文华,等. 蟾酥注射液对免疫抑制小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中国农学通报, 2011, 27(14): 45-49.

[5] 金军,张铭照,符路娣. 蟾酥注射液对 Lewis 肺癌的实验研究[J]. 新中医, 2012, 44(11): 132-133.