

三七总皂苷复合纳米囊泡的理化性质及对大鼠心肌缺血的保护作用

廖正根¹, 韩锡镇¹, 李翔², 张婧^{1*}, 罗云¹, 赵海平¹, 倪斌¹, 梁新丽¹, 赵国巍¹ (1. 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西中医药大学, 南昌 330006)

摘要: 目的 构建以聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物(MPEG-PLGA)纳米粒为核心的三七总皂苷复合纳米囊泡(PNS-CNV), 对该复合纳米囊泡的理化性质及对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用进行考察。方法 采用复乳-溶剂挥发法制备不同相对分子质量的聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物三七总皂苷纳米粒(PNS-NP), 以三七总皂苷纳米粒为核心, 采用薄膜分散法对其进行包封, 制备三七总皂苷复合纳米囊泡; 采用超滤法、透射电镜、纳米粒度仪, 测定三七总皂苷复合纳米囊泡各指标成分的包封率及其理化性质; 建立大鼠急性心肌缺血模型, 考察三七总皂苷复合纳米囊泡对心肌及血清中生化指标的影响。结果 聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物的相对分子质量对三七总皂苷复合纳米囊泡的包封率、粒径及Zeta电位没有显著性影响。药效结果显示, 与三七总皂苷水溶液组相比, 三七总皂苷复合纳米囊泡组大鼠心肌组织中SOD活力显著提高、H₂O₂及丙二醛含量降低, 血清中乳酸脱氢酶(LDH)活力降低($P < 0.05$), 并且以相对分子质量5000的聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物为载体的三七总皂苷复合纳米囊泡的保护作用最优。结论 复合纳米囊泡作为三七总皂苷的口服给药传递系统, 应用前景广泛。

关键词: 聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物; 复合纳米囊泡; 理化性质; 急性心肌缺血

doi: 10.11669/cpj.2013.11.014 中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2013)11-0899-05

Physicochemical Property and Protective Effect on Acute Myocardial Ischemia in Rats of *Panax notoginseng* Saponins-Loaded Complex Nano Vesicles

LIAO Zheng-gen¹, HAN Xi-zhen¹, LI Xiang², ZHANG Jing^{1*}, LUO Yun¹, ZHAO Hai-ping¹, NI Bin¹, LIANG Xin-li¹, ZHAO Guo-wei¹ (1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Traditional Chinese Medicine Solid Preparation Manufacturing Technology Country Engineering Research Center, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare *Panax notoginseng* saponins-loaded complex nano vesicles (PNS-CNV) with MPEG-PLGA nanoparticles as the core and investigate the physicochemical property of PNS-CNV and protective action on acute myocardial ischemia in rats. **METHODS** Double emulsification-solvent evaporation method was used to prepare *Panax notoginseng* saponins-loaded nanoparticles using different molecular weight MPEG-PLGA (PNS-NP). Thin-film hydration method was applied to entrap PNS-NP as the core to form PNS-CNV. Ultrafiltration, transmission electron microscope, dynamic light scattering and electrophoretic light scattering were employed to study the entrapment efficiency of each index component in PNS and physicochemical parameters of PNS-CNV. Acute myocardial ischemia model in rats was established to investigate the protective effect of PNS-CNV. **RESULTS** The molecular weight of MPEG-PLGA did not affect the entrapment efficiency, particle size and Zeta potential of PNS-CNV. The pharmacodynamic experiment indicated that comparing with PNS solution group, the SOD activity of rat myocardium in PNS-CNV group was elevated with markedly decreased H₂O₂, MDA and serum LDH activity ($P < 0.05$). The protective effect of PNS-CNV with MPEG5000-PLGA was the most significant. **CONCLUSION** CNV may be used as potential new oral drug delivery carriers.

KEY WORDS: MPEG-PLGA; complex nano vesicle; physicochemical property; acute myocardial ischemia

三七总皂苷(*Panax notoginseng* saponins, PNS)为中药三七的有效部位, 对冠心病、心绞痛、心律失常以及脑卒中、眼前房静脉阻塞等有确实可靠的疗效, 同时还具有良好的抗氧化、抗休克、抗炎镇痛、抗

肿瘤、保肝利胆及免疫调节作用, 临床应用广泛^[1]。PNS可通过抑制心肌肥大及改善心室重构心肌细胞形态学结构作用^[2], 清除氧自由基, 非选择性钙拮抗等途径, 对缺血性心脏病起保护及治疗作用^[3]。

基金项目: 江西省科技支撑计划(2011BBG70004-4); 江西省卫生厅中医药科研基金(2011A132); 江西省青年科学基金资助项目(20114BAB215038); 江西省教育厅青年基金项目(GJJ12535); 江西中医药大学博士启动基金(Y023)

作者简介: 廖正根, 男, 教授, 硕士生导师 研究方向: 中药新剂型与新技术的研究 * 通讯作者: 张婧, 女, 讲师 研究方向: 中药新剂型与新技术的研究 Tel: (0791) 87119011 E-mail: evens_zhang@163.com

PNS 主要成分包括三七皂苷 R1 (R1)、人参皂苷 Rg1 (Rg1) 和人参皂苷 Rb1 (Rb1)。人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Rb1 均属三萜类皂苷成分,其中 Rb1 可抑制缺血再灌注所致心肌损伤,Rg1 具有促智、抗衰老等药理作用^[4],近来发现其对心肌肥厚、急性心肌缺血同样具有良好的保护作用^[5-6],然而 Rg1 和 Rb1 的肠壁吸收机制为单纯被动扩散,吸收过程中,胃液酸性环境的破坏、大肠菌丛中酶的降解及肝的首关作用均对 Rg1 和 Rb1 口服生物利用度产生影响,而肠道黏膜的透性低是其常规口服制剂生物利用度低的主要因素^[4-7],因此具有缓释、稳定、高生物利用度的 PNS 口服制剂亟待研究与开发。

本课题结合纳米粒与脂质体的制剂学优势,构建新型复合纳米囊泡,以 PLGA 或不同相对分子质量的 MPEG-PLGA 为载体的纳米粒为核心,磷脂双分子层包裹该纳米粒核心,制备得到三七总皂苷复合纳米囊泡(*Panax notoginseng* saponins-loaded complex nano vesicles, PNS-CNV),并考察该纳米囊泡对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器

JY92-IIIN 超声波细胞粉碎机(宁波新艺超声设备有限公司),电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司),Malvern 纳米粒度仪(英国马尔文公司),JEM-1200 EX 透射电镜(日本 JEOL 公司),HJ-4A 多头磁力搅拌器(金坛市科析仪器有限公司),旋转蒸发器 RE-3000(上海亚龙生化仪器厂),UV-2550 紫外/可见分光光度计(日本岛津公司),3-18K 冷冻高速离心机(德国 Sigma 公司),Agilent1200 高效液相(美国 Agilent 公司),Nanosep MF 超滤离心管(截留相对分子质量 10 000 美国 PALL 公司)。

1.2 试剂与药品

PNS(R1: 9.20%; Rg1: 33.70%; Rb1: 35.07%,西昌市杰象药物原料有限公司,批号 20100324),聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA,济南岱罡生物科技有限公司),聚乙二醇单甲醚-聚乳酸共聚物(MPEG-PLGA,LA-GA=1:1,PLGA 相对分子质量 20 000,MPEG 相对分子质量为 1 000、2 000、5 000,分别记为 MPEG1000-PLGA、MPEG2000-PLGA、MPEG5000-PLGA)(济南岱罡生物科技有限公司),大豆磷脂(上海太伟药业有限公司,批号 20110120),胆固醇(天津市大茂化学试剂厂,批号 20050816),聚乙二醇 400(PEG 400,西陇化工股份有限公司,批号

100121),垂体后叶素($3 \text{ u} \cdot \text{mL}^{-1}$,上海第一生化药业有限公司,批号 051016),考马斯亮兰蛋白测定试剂盒、过氧化氢(H_2O_2)测定试剂盒、总超氧化物歧化酶(T-SOD)测定试剂盒、丙二醛(MDA)测定试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20110613、20110814、20110511、20111107、20110926),其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 PNS 的含量测定

色谱条件:色谱柱为 Hypersil ODS C_{18} ($4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);流动相为乙腈-水,其梯度洗脱条件为:0~12 min,乙腈的比例为 20%,12~30 min,乙腈的比例由 20% 递增到 36%;流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温为 $25 \text{ }^\circ\text{C}$;检测波长为 203 nm;进样量为 $20 \mu\text{L}$ 。

2.2 标准曲线的制备

分别精密称取 R1、Rg1、Rb1,以体积分数 50% 甲醇定容,作为标准混合储备液。精密吸取标准混合储备液适量,体积分数 50% 甲醇稀释,配制 R1 质量浓度分别为 4.52 、 9.04 、 18.08 、 45.2 、 90.4 和 $144.64 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,Rg1 质量浓度分别为 4.47 、 8.94 、 17.88 、 44.7 、 89.4 和 $143.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,Rb1 质量浓度分别为 4.46 、 8.92 、 17.84 、 44.6 、 89.2 和 $142.72 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合溶液。按“2.1”项下色谱条件,以各对照品的色谱峰峰面积(A)对质量浓度(ρ , $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行线性回归,得三七皂苷 R1 的标准曲线方程为: $A = 4.816 1\rho + 0.382 7$ ($r = 0.999 9$),人参皂苷 Rg1 的标准曲线方程为: $A = 4.401 6\rho + 1.058 5$ ($r = 0.999 9$),人参皂苷 Rb1 的标准曲线方程为: $A = 4.265\rho + 3.096$ ($r = 0.999 9$)。可见在该色谱条件下,R1、Rg1、Rb1 在各自浓度范围内线性关系良好。

2.3 PNS 纳米粒的制备

采用复乳-溶剂挥发法^[8]制备以 PLGA 及不同相对分子质量 MPEG-PLGA 为载体的 PNS 纳米粒。取 $150 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PNS 水溶液作为内水相 W_1 ;取 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ PLGA 或 MPEG-PLGA 的二氯甲烷溶液作为油相 O ;胆固醇和卵磷脂(1:1)溶入油相中作为乳化剂;PEG400 水溶液(1%)为外水相 W_2 。混和 W_1 相与 O 相($W_1:O = 1:11.5, V/V$),超声乳化(300 W , 4 min),制得 W_1/O 乳剂,将上述 W_1/O 乳剂快速加入一定体积的外水相 W_2 中($W_1/O:W_2 = 1:11.5, V/V$),超声乳化(300 W , 4 min),即得 $W_1/O/$

W₂复乳型纳米混悬液,室温下搅拌挥发,除去有机溶剂即得PNS纳米粒(PNS-NP)。

2.4 PNS-CNV 的制备

以“2.3”项下得到的PNS纳米粒为核心,采用薄膜分散法^[9]制备PNS-CNV。取卵磷脂和胆固醇(4:1 *m:m*)溶解在适量二氯甲烷中,50℃旋转蒸发除去二氯甲烷,在圆底烧瓶底部形成一层均匀的薄膜。将PNS-NP混悬液作为水相,洗脱薄膜,超声匀化(300 W, 1 min),得到呈蓝色乳光的PNS-CNV。

2.5 包封率的测定

采用超滤离心法^[10]测定3种指标成分的包封率。取适量PNS-CNV置于Nanosep MF超滤离心管中,3000 r·min⁻¹离心15 min,分离游离药物,取下层超滤液,根据“2.1”项下的色谱条件,测定游离药物量(*c_{free}*)。另取同体积PNS-CNV,以适当比例与乙腈/丙酮混合溶液(2:1, *V/V*)混合,得到澄清溶液,根据“2.1”项下的色谱条件,测定药物总含量(*c_{total}*)。按下式计算包封率(entrapment efficiency, EE%): $EE\% = (c_{total} - c_{free}) / c_{total} \times 100\%$ 。

2.6 复合纳米囊泡的形态、粒径及电位

将载有Formvar支持膜的铜网置于蜡板上,在膜上滴上PNS-CNV样品,滴加0.3% (*V/V*)磷钨酸,自然晾干后,置于透射电子显微镜下观察所得囊泡的形态。取含有不同相对分子质量MPEG-PLGA的PNS-CNV混悬液适量,稀释至适当倍数,用Malvern纳米粒度仪测定PNS-CNV的粒径和Zeta电位。

2.7 PNS-CNV 对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用

SD雄鼠共70只,体重(250±20)g(江西中医学院动物中心);大鼠饲养一周后,随机分成7组:空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性对照组(PNS水溶液)、给药1组(PLGA纳米粒为核心的PNS-CNV)、给药2组(MPEG1000-PLGA纳米粒为核心的PNS-CNV)、给药3组(MPEG2000-PLGA纳米粒为核心的PNS-CNV)、给药4组(MPEG5000-

PLGA纳米粒为核心的PNS-CNV)。各组按30 mg·kg⁻¹·d⁻¹剂量灌胃,持续给药10 d。末次给药后用10%水合氯醛(4.5 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉,采用泰盟BL-420F生物机能实验系统检测,记录II导联心电图。除空白组外,其余各组尾静脉注射垂体后叶素(1 U·kg⁻¹)^[11],心电图显示出现左胸前导联ST段上抬、T波高耸,甚至出现单向曲线,心率减慢。5 min后大鼠腹主动脉取血,3000 r·min⁻¹离心15 min得到血清,取心脏称重,采用10倍量生理盐水进行组织匀浆。测定心肌中H₂O₂含量、SOD活力、MDA含量,血清中LDH活力,测定参照H₂O₂、SOD、MDA、LDH试剂盒说明书。

3 结果

3.1 PNS-CNV 理化性质

PNS-CNV形态结果见图1,显示以PLGA或不同相对分子质量MPEG-PLGA为核心纳米粒的载体材料,所得PNS-CNV的形态均为球形或近球形。

PNS-CNV的粒径及Zeta电位、包封率测定结果见表1。由表1可知,以不同相对分子质量MPEG-PLGA作为核心纳米粒的载体材料,对二次包封产物PNS-CNV的粒径、Zeta电位、包封率没有显著性影响。

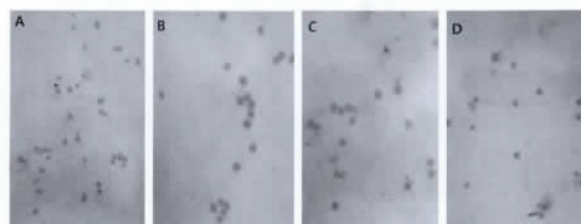


图1 PNS-CNV透射电镜照片(×60 000)

A - PLGA为载体材料的PNS-CNV; B - MPEG1000-PLGA为载体材料的PNS-CNV; C - MPEG2000-PLGA为载体材料的PNS-CNV; D - MPEG5000-PLGA为载体材料的PNS-CNV

Fig. 1 TEM of PNS-CNV (×60 000)

A - PNS-CNV with PLGA; B - PNS-CNV with MPEG1000-PLGA; C - PNS-CNV with MPEG2000-PLGA; D - PNS-CNV with MPEG5000-PLGA

表1 不同载体材料的PNS-CNV理化性质. $n=3 \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Physicochemical properties of PNS-CNV with different materials. $n=3 \bar{x} \pm s$

Carrier material	Size /nm	Zeta /mV	EE%		
			R1	Rg1	Rb1
PLGA	115 ± 2.3	-35.1 ± 0.21	21.33 ± 0.38	14.57 ± 0.25	81.42 ± 1.31
MPEG1000-PLGA	108 ± 1.0	-33.6 ± 0.68	26.21 ± 0.27	20.72 ± 0.31	74.10 ± 0.96
MPEG2000-PLGA	106 ± 1.2	-37.5 ± 0.35	27.17 ± 0.33	16.89 ± 0.25	72.90 ± 1.02
MPEG5000-PLGA	100 ± 2.4	-33.4 ± 0.30	25.72 ± 0.43	20.13 ± 0.28	74.17 ± 1.05

3.2 PNS-CNV 对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用

各实验组大鼠经急性心肌缺血建模后,心肌及血清中各生化指标数据见图2~5。

由图2可知,与模型组相比,PNS对大鼠心肌组织中SOD活力具有改善作用,其中PNS-CNV对大鼠心肌组织中SOD指标的改善作用优于PNS溶液组。给药1组(PLGA组)的SOD活力是溶液组的1.72倍,给药4组(MPEG5000-PLGA组)的SOD活力是给药1组的1.18倍,效果最优。

由图3可知,与模型组相比,以MPEG-PLGA作为载体材料的PNS-CNV对大鼠心肌组织中H₂O₂指标具有改善作用,并且优于以PLGA作为载体的

PNS-CNV对大鼠心肌组织中H₂O₂指标的改善。

由图4可知,与模型组相比,PNS对大鼠心肌组织中MDA指标具有改善作用。与模型组相比,溶液组中MDA的含量降低了14.3%,分别以MPEG2000-PLGA、MPEG5000-PLGA纳米粒为核心的PNS-CNV显著优于溶液组,其中以MPGE-PLGA为载体材料制备的PNS-CNV对大鼠心肌组织中MDA指标的改善作用优于PLGA为载体制备的PNS-CNV($P < 0.05$)。

体材料制备的PNS-CNV对大鼠血液中LDH指标的改善效果优于以PLGA为载体材料制备的PNS-CNV对大鼠血液中LDH指标的改善,其中,与

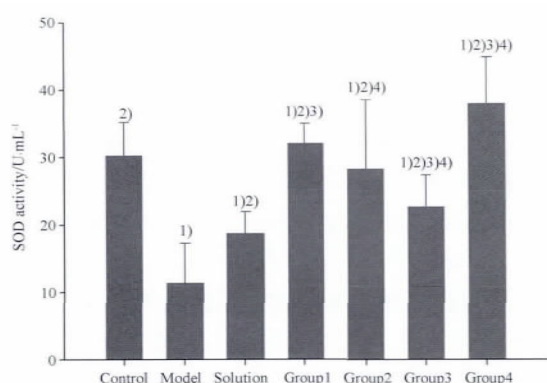


图2 心肌中SOD的活力

¹⁾ $P < 0.05$,和空白组比; ²⁾ $P < 0.05$,和模型组比; ³⁾ $P < 0.05$,和溶液组比; ⁴⁾ $P < 0.05$ 和给药1组比

Fig. 2 SOD Activity in heart

¹⁾ $P < 0.05$, vs control; ²⁾ $P < 0.05$, vs model; ³⁾ $P < 0.05$, vs solution; ⁴⁾ $P < 0.05$, vs group 1

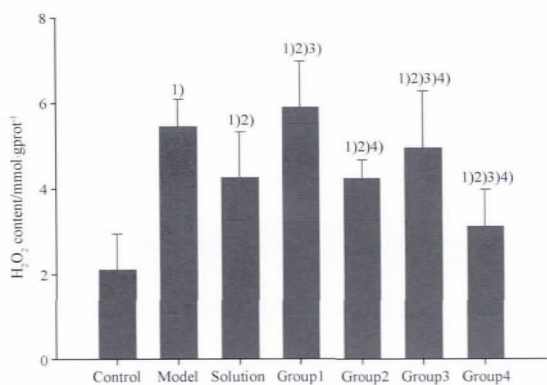


图3 心肌中H₂O₂的含量

¹⁾ $P < 0.05$,和空白组比; ²⁾ $P < 0.05$,和模型组比; ³⁾ $P < 0.05$,和溶液组比; ⁴⁾ $P < 0.05$,和给药1组比

Fig. 3 H₂O₂ content in heart

¹⁾ $P < 0.05$, vs control; ²⁾ $P < 0.05$, vs model; ³⁾ $P < 0.05$, vs solution; ⁴⁾ $P < 0.05$, vs group 1

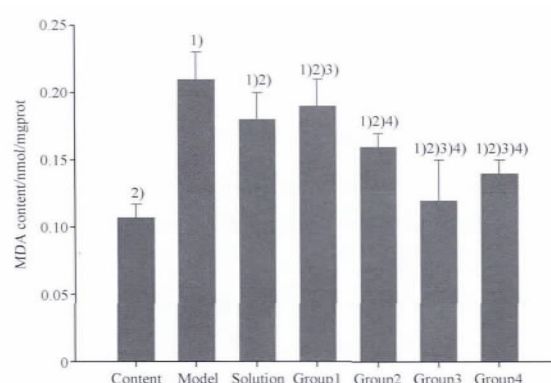


图4 心肌中MDA的含量

¹⁾ $P < 0.05$,和空白组比; ²⁾ $P < 0.05$,和模型组比; ³⁾ $P < 0.05$,和溶液组比; ⁴⁾ $P < 0.05$,与给药1组

Fig. 4 MDA content in heart

¹⁾ $P < 0.05$, vs control; ²⁾ $P < 0.05$, vs model; ³⁾ $P < 0.05$, vs solution; ⁴⁾ $P < 0.05$, vs group 1

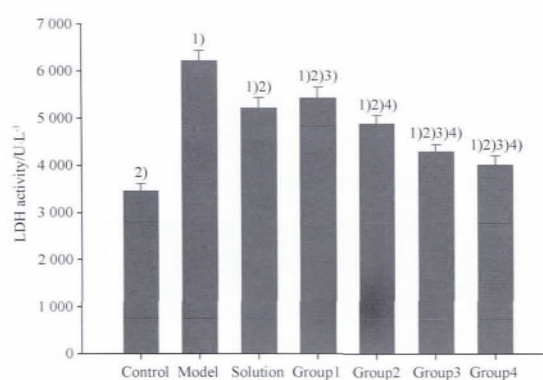


图5 血清中LDH的活力

¹⁾ $P < 0.05$,和空白组比; ²⁾ $P < 0.05$,和模型组比; ³⁾ $P < 0.05$,和溶液组比; ⁴⁾ $P < 0.05$ 和给药1组比

Fig. 5 LDH activity in blood serum

¹⁾ $P < 0.05$, vs control; ²⁾ $P < 0.05$, vs model; ³⁾ $P < 0.05$, vs solution; ⁴⁾ $P < 0.05$, vs group 1

给药1组相比,给药4组LDH的活力下降了26.0%。

4 讨论

纳米微粒载体可大致分为2类,以脂质为基础的脂质体以及以聚合物为基础的纳米粒^[12]。脂质体生物相容性良好、靶向性高、药动学行为可控,并可通过表面修饰改善体内行为^[13],然而脂质体载药量低,磷脂材料容易氧化变质,贮存及运输过程中易产生药物泄漏,稳定性较差^[14]。纳米粒目前主要用于改善药物的理化性质、提高生物利用度、促进药物的吸收。然而对于水溶性药物,由于药物能快速向外水相运动,因此水溶性药物的纳米粒包封率低、释放快^[15]。本实验构建的新型复合纳米囊泡结合了脂质体、纳米粒的优势,利用脂质对PLGA纳米粒及MPEG-PLGA纳米粒进行包裹,得到了PNS-CNV。PNS中3种指标性成分的log*P*均小于1,不易跨膜吸收,且log*P*值的顺序为R_{g1}(0.800) > R₁(0.034) > R_{b1}(-0.5618),R_{b1}的log*P* < 0,亲水性最强,因此在核心微粒纳米粒的制备过程中,由于采用了适宜水溶性药物包封的复乳-溶剂挥发法,因此相对其余两种指标成分,R_{b1}的包封率更高^[16]。通过对核心微粒进行二次包封,由表1数据可知,可在一定程度上同时提高3种指标成分的包封率。通过对PNS-CNV粒径、Zeta电位、包封率的测定,发现使用不同的包封材料对PNS进行包封,得到的PNS-CNV的理化性质没有显著的差别。

然而给纳米粒表面覆亲水性聚合物,如PEG、肝素或葡聚糖,可以避免它们被巨噬细胞吞噬,从而增加它们的循环时间^[17]。本实验通过对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用实验发现,以MPEG-PLGA为载体的PNS-CNV对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用优于PLGA组,这是由于柔软的PEG链段能高度修饰、交替重叠覆盖在微粒表面,形成致密的构象云,形成立体位阻保护微粒不被血液中的调理素识别、摄取,使之消除速率减慢,在血液中驻留时间延长,药物作用时间延长,达到长循环的效果^[18],尤其是PEG-5000能产生2 nm厚度的立体位阻层^[19],因此经过MPEG修饰的PNS-CNV避免了PNS-CNV被吞噬细胞快速吞噬,可以使PNS-CNV在体内循环时间延长,最终改善PNS的药理学作用,其中以MPEG5000-PLGA修饰的纳米粒的作用最强。

REFERENCES

[1] XUN Q F. Studies on the High Bioavailability of Saponins of Panax Notoginseng [D]. Shanghai: Doctorate Dissertation of Fudan University, 2003.

[2] ZHOU Y, TIAN L, LI J Q, et al. The effect of *Panax notoginseng* saponins on myocardium hypertrophy induced by norepinephrine [J]. *J Guangxi Med Univ* (广西医科大学学报), 2005, 22 (6): 910-912.

[3] CHAN P, THANAS C N, TROMLINSON B. Protective effects of trilinolein extracted from *Panax notoginseng* against cardiovascular disease [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2002, 23 (12): 1157-1162.

[4] HAN M, HAN L M, WANG Q S, et al. Mechanism of oral absorption of *Panax notoginseng* saponins [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2006, 41 (6): 498-505.

[5] ZHOU Q, HE W, ZHOU L, et al. Protective effects of total saponins of *Panax notoginseng* on myocardial hypertrophy induced by isoproterenol in rats [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药杂志), 2006, 17 (4): 506-507.

[6] WANG J, ZHANG Y F, SHAO Q, et al. Serum metabolome analysis reveals effect of *Panax notoginseng* on ischemic rat after acute myocardial infarction [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010, 35 (23): 3199-3202.

[7] ZOU L, LENG J, LIU Y, et al. Progress of new preparations of *Panax notoginseng* Saponins [J]. *Sichuan Trad Chin Med* (四川中医), 2010, 28 (3): 23-25.

[8] WU J F, YU D H, FANG C, et al. Preparation and release study of methotrexate loaded PLGA-nanocapsules *in vitro* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2010, 45 (2): 120.

[9] CHEN T, HOU S X. Mitoxantrone hydrochloride liposome, the preparation and pharmaceutical properties [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2005, 40 (7): 522-525.

[10] ZHENG H S, ZUOLA S, WANG X L, et al. Determination of entrapment efficiency of sinomenine hydrochloride liposomes with centrifugation sedimentation combined with centrifugation ultrafiltration [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2011, 42 (8): 1523-1527.

[11] WANG Y, GAO X M, ZHANG B L. Study on Guanxin salvia drop pill to pituitary induced acute myocardium ischemia [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Intensive Crit Care* (中国中西医结合急救杂志), 2003, 10 (1): 6-8.

[12] TORCHILIN V P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4 (2): 145-160.

[13] LEE C M, LEE H C, LEE K Y. O-Palmitoylcurdlan sulfate (OPCurS)-coated liposomes for oral drug delivery [J]. *J Biosci Bioeng*, 2005, 100 (3): 255-259.

[14] RAI S, PALIWAL R, GUPTA P N, et al. Solid lipid nanoparticles (SLNs) as a rising tool in drug delivery science: One step up in nanotechnology [J]. *Curr Nanosci*, 2008, 4 (1): 30-44.

[15] GOVENDER T, RILEY T, EHTEZAZI T, et al. Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles [J]. *Int J Pharm*, 2000, 199 (1): 95-110.

[16] ZHAI Y S, DU S Y, XU B, et al. O/W Partition coefficient of PNS and absorption kinetics of it in rat intestine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010, 35 (8): 984-988.

[17] WANG J Q, ZHANG Q. *Nanoparticulate Drug Delivery Systems* (纳米药物输送系统) [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2010: 59.

[18] WEI X H. Researches on the applications of PEGylated chitosan in microparticulate drug delivery system (PEG化壳聚糖在微粒给药系统中应用的研究) [D]. Zhejiang: Doctorate Dissertation of Zhejiang University, 2004.

[19] ALLEN T M. Long-circulating (sterically stabilized) liposomes for targeted drug delivery [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1994, 15 (7): 215-220.

(收稿日期: 2012-07-19)