

## 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体用作表阿霉素载体的体外实验\*

涂韶丽<sup>1</sup>, 王银松<sup>2</sup>, 刘玲蓉<sup>1</sup>, 杨心督<sup>1</sup>, 杨文智<sup>1</sup>, 陈红丽<sup>1</sup>, 张其清<sup>1,3</sup>

### *In vitro* study of cholesterol succinyl chitosan anchored liposomes as a carrier for epirubicin

Tu Shao-li<sup>1</sup>, Wang Yin-song<sup>2</sup>, Liu Ling-rong<sup>1</sup>, Yang Xin-du<sup>1</sup>, Yang Wen-zhi<sup>1</sup>, Chen Hong-li<sup>1</sup>, Zhang Qi-qing<sup>1,3</sup>

#### Abstract

**BACKGROUND:** Polysaccharides anchored liposomes play an extremely important role in the fields of antitumor drug, protein and gene transmission. Related research is also present abroad.

**OBJECTIVE:** To prepare cholesterol succinyl chitosan (CHCS) anchored liposomes, and to investigate the effect of CHCS anchored liposomes on the release property *in vitro* of loading drugs taking epirubicin as a model drug.

**DESIGN, TIME AND SETTING:** A study *in vitro* was performed in the Key Laboratory of Biomedical Materials of Tianjin (China) from September 2006 to May 2008.

**MATERIALS:** CHCS conjugates were synthesized and their substitution degree of cholesterol moiety was determined by colloidal titration method.

**METHODS:** Epirubicin-loaded liposomes were prepared using pH gradient method, and then CHCS anchored liposomes with epirubicin loading were prepared by incubating method, harvesting the substitution degree of 2.80%, 5.58% and 8.00%.

**MAIN OUTCOME MEASURES:** Drug concentration was detected by spectrofluorimeter; Liposomes were characterized by transmission electron microscopy; The particle size of liposomes was assayed by submicron particle size analyzer and zeta potential technologies; The release behavior of epirubicin from CHCS anchored liposomes *in vitro* was investigated by dynamic dialysis method.

**RESULTS:** CHCS anchored liposomes were almost spherical in shape and had a classic shell-core structure. The sizes of CHCS anchored liposomes ranged from 245.4 nm to 279.7 nm and the zeta potential values were in the range of +21.09 mV to +25.48 mV. Compared to epirubicin-loaded liposomes and chitosan-coated liposomes, CHCS anchored liposomes significantly sustained the release of epirubicin *in vitro*, and the release rate decreased with substitution degree of cholesterol moiety increasing at a range of 2.80%~5.85%.

**CONCLUSION:** CHCS anchored liposomes are more stable than common liposomes and chitosan-coated liposomes, and they can significantly sustain the release of loading drug.

Tu SL, Wang YS, Liu LR, Yang XD, Yang WZ, Chen HL, Zhang QQ. *In vitro* study of cholesterol succinyl chitosan anchored liposomes as a carrier for epirubicin. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu* 2008;12(19):3663-3666 [www.zglckf.com/zglckf/ejournal/upfiles/08-19/19k-3663(ps).pdf]

#### 摘要

**背景:** 多糖“锚定”脂质体在抗肿瘤药物、蛋白以及基因的传输领域有着极其重要的理论及应用价值, 国外已有较多机构在进行相关的研究。

**目的:** 通过“锚定”的方式制备胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体, 并以表阿霉素作为模型药物, 考察其对包载药物体外释放性质的影响。

**设计、时间及地点:** 体外实验, 于2006-09/2008-05在天津市生物医学材料重点实验室完成。

**材料:** 以壳聚糖为原料, 合成胆甾醇琥珀酰基壳聚糖, 并采用胶体滴定法测定其胆甾醇基取代度。

**方法:** 采用pH梯度法制备表阿霉素脂质体, 然后通过共孵育的方法合成了取代度为2.80%, 5.58%和8.00%的载药胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体。

**主要观察指标:** 荧光分光光度计检测药物浓度; 透射电镜观察脂质体形态; 亚微米粒度及电位分析仪检测脂质体的粒径大小、分布和电位; 动态透析法考察包载药物表阿霉素在胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体中的体外释放特征。

**结果:** 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体为规则球状形态, 呈现典型的核壳结构, 粒径为245.4~279.7 nm, zeta电位为+21.09~+25.48 mV; 和载药脂质体及壳聚糖包衣脂质体相比, CHCS锚定脂质体能明显延缓表阿霉素的体外释放, 在胆甾醇基取代度2.80%~5.85%范围内, 表阿霉素的释放速度随着取代度的增加呈降低的趋势。

**结论:** 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体有着比普通脂质体及壳聚糖包衣脂质体更高的稳定性, 能显著延缓包载药物的释放速度。

**关键词:** 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖; 锚定脂质体; 表阿霉素; 药物载体; 生物材料

涂韶丽, 王银松, 刘玲蓉, 杨心督, 杨文智, 陈红丽, 张其清. 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体用作表阿霉素载体的体外实验[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(19):3663-3666 [www.zglckf.com/zglckf/ejournal/upfiles/08-19/19k-3663(ps).pdf]

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Medicine Engineering, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Biomedical Materials of Tianjin, Tianjin 300192, China; <sup>2</sup>School of Pharmaceutical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; <sup>3</sup>Research Center of Biomedical Engineering/Medical School, Xiamen University, Biomedical Engineering and Technology Research Center of Xiamen, Xiamen 361005, Fujian Province, China  
tsl\_111@163.com

Tu Shao-li★, Master, Institute of Biomedical Medicine Engineering, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Biomedical Materials of Tianjin, Tianjin 300192, China  
tsl-111@163.com

Correspondence to: Zhang Qi-qing, Investigator, Institute of Biomedical Medicine Engineering, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Biomedical Materials of Tianjin, Tianjin 300192, China; Research Center of Biomedical Engineering/Medical School, Xiamen University, Biomedical Engineering and Technology Research Center of Xiamen, Xiamen 361005, Fujian Province, China  
zhangqiq@xmu.edu.cn

Received: 2008-03-26  
Accepted: 2008-05-05

<sup>1</sup>北京协和医学院 & 中国医学科学院生物医学工程研究所, 天津市生物医学材料重点实验室, 天津市 300192; <sup>2</sup>天津医科大学药学院, 天津市 300070; <sup>3</sup>厦门大学生物医学工程研究中心, 厦门大学医学院, 厦门市生物医学工程技术研究中心, 福建省厦门市 361005

涂韶丽★, 女, 1983年生, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市人, 汉族, 2008年北京协和医学院 & 中国医学科学院生物医学工程研究所毕业, 硕士, 主要从事药物制剂研究。Tsl-111@163.com

通讯作者: 张其清, 研究员, 北京协和医学院 & 中国医学科学院生物医学工程研究所, 天津市生物医学材料重点实验室, 天津市 300192; 厦门大学生物医学工程研究中心, 厦门大学医学院, 厦门市生物医学工程技术研究中心, 福建省厦门市 361005 zhangqjq@xmu.edu.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225  
(2008)19-03663-04

收稿日期: 2008-03-26  
修回日期: 2008-05-05  
(54200803240008/N·Y)

>> 本文导读 <<

**作者简介:** 文章通讯作者张其清研究员, 主要从事生物材料、组织工程、纳米技术、控制释药物制剂、医疗器械和安全性评价等课题及项目的研究、产品开发和研究生指导工作。近 10 多年组织承担过并正承担国家自然科学基金、“八六三”、“九七三”计划等国家、省部级科研项目共 77 项, 鉴定及结题成果 39 项, 申请专利 18 项, 已获专利 11 项, 在此领域发表论文 150 余篇, 出版专著 4 部, 获各级科技奖 10 多项。

**实验室介绍:** 本实验室在天津市生物医学材料重点实验室完成。该实验室主要从事生物医学材料、组织工程、纳米技术和控制释药物体系等课题及项目的研究。近 10 多年来, 承担过并正承担着国家自然科学基金、国家“八五”攻关、“十五”攻关、“八六三”、“九七三”计划、国家重点科技项目、国家重点新产品计划项目、国家高技术产业化示范工程项目、国家火炬计划、国家科技部中央级科研院所社会公益研究专项基金、国家杰出青年基金、国家教委博士点基金、省、部和医学科学院级项目等几十项课题的研究开发工作。

**同行评价:** 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖锚定脂质体与传统脂质体相比具有一定的优势, 有利于提高脂质体药物的稳定性和长效性, 值得进行深入研究。本文数据翔实、具有说服力, 且行文流畅, 是一篇具有较高学术价值的论文。

0 引言

多糖“锚定”脂质体是指将疏水改性多糖的疏水侧基通过分子间作用力嵌入脂质体的双分子层, 组装形成具有多糖包衣的新型脂质体, 和普通脂质体相比, 该类脂质体具有以下优势: ①亲水多糖外壳对脂质双分子层起到保护的作用, 增加了脂质体的稳定性。②由于多糖分子良好的生物相容性, 使得该类脂质体进入体内后可逃逸血液中调理蛋白的识别和单核巨噬细胞的吞噬, 从而达到长循环的目的。③多糖分子中含有大量的活性基团(-OH、-NH<sub>2</sub>及-COOH 等), 可通共价键引入其它活性分子如配基、单克隆抗体、生物传感器等。此外, “锚定”的组装方式和目前简单的多糖包衣方法相比, 结构更加稳定。鉴于上述优势, 多糖“锚定”脂质体在抗肿瘤药物、蛋白以及基因的传输领域有着极其重要的理论及应用价值<sup>[1]</sup>, 国外已有较多机构在进行相关的研究。多糖锚定脂质体与普通脂质体的结构示意图见图1。

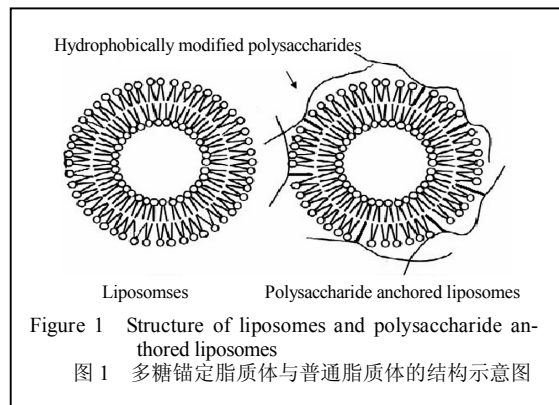


Figure 1 Structure of liposomes and polysaccharide anchored liposomes  
图 1 多糖锚定脂质体与普通脂质体的结构示意图

壳聚糖是自然界惟一存在的氨基多糖甲壳素的脱乙酰产物, 具有优良的生物学性质(良好

的生物相容性和可生物降解性、无毒性及“被动”的肿瘤靶向性等)和物理化学特性(高反应活性、pH敏感性等), 是一种理想的药物靶向和缓控释高分子材料<sup>[2]</sup>。因此, 本实验以壳聚糖为原料, 用生物内源性小分子物质胆甾醇对其进行疏水改性, 合成胆甾醇琥珀酰基壳聚糖(CHCS), 制备CHCS锚定脂质体(CHEL); 同时, 以疗效好但毒性较大的抗肿瘤药物表阿霉素作为模型药物, 考察CHEL对药物的包载及体外释放情况, 为将这种新型脂质体用作药物载体的可行性提供参考数据。

1 材料和方法

**设计:** 体外实验。

**单位:** 北京协和医学院 & 中国医学科学院生物医学工程研究所。

**材料:** 实验于2006-09/2008-05在天津市生物医学材料重点实验室完成。

试剂及仪器	来源
壳聚糖( $M_n$ 9.8×105, 脱乙酰度为 91%)	浙江金壳生物化学有限公司
胆甾醇	北京鼎国生物技术有限责任公司
卵磷脂(Lipoid S 100)	德国
表阿霉素 (99%)	浙江海正药业股份有限公司
Sephadex G-50(颗粒大小 50~150 μm, 分离范围 1 000~30 000)	Pharmacia
N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)	Sigma
其他试剂	市售分析纯
透析袋( $M_n$ 8 000~14 400)	Milipore 美国
透射电镜(EM400ST)	Philips, 荷兰
荧光分光光度计(Hitachi F-4500)	日本
亚微米粒度及电位分析仪	ZetaPALS, 美国
空气振荡器(HZQ-C)	哈尔滨市东联电子技术开发有限公司
傅里叶变换红外光谱仪(FTS 3000)	BIO-RAD, 美国
核磁共振仪(500 MHz)	VARINA INOVA, 美国
探头超声仪(UH-500A)	天津奥特赛恩斯仪器有限公司
减压旋转蒸发器(FE 500)	日本
MH-4 型加热磁力搅拌器	北京渠道科学器材有限公司

## 实验过程:

CHCS的制备和取代度的测定: CHCS的合成方法是基于文献[3]合成方法上有部分的改进, 采用胶体滴定法测定CHCS的胆甾醇基取代度(即100个氨基葡萄糖单元含有的胆甾醇基的数目)<sup>[4]</sup>。

表阿霉素脂质体的制备: 采用pH梯度法制备<sup>[5-8]</sup>。过程如下: 按照2:1(摩尔比)的比例定量称取卵磷脂和胆固醇溶于氯仿, 40 °C减压下旋转蒸除去氯仿, 使之在瓶壁上形成均匀的磷脂薄膜<sup>[9-11]</sup>, 放置在真空干燥器中过夜; 加入0.3 mol/L柠檬酸缓冲溶液(pH 4.0)作为水合介质, 室温下水合磷脂膜, 并通过探头超声处理制备空白脂质体; 将空白脂质体溶液加入Sephadex G-50凝胶柱(2 cm×60 cm)<sup>[12]</sup>, 用磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.4)进行洗脱, 收集洗脱后的脂质体溶液, 按照2.5%的药脂比(药物质量/磷脂质量)加入表阿霉素, 空气振荡器中振荡1 h, 4 °C条件下孵育24 h, 即得表阿霉素脂质体。

表阿霉素脂质体包封率的测定: 采用葡聚糖凝胶柱层析法测定<sup>[13]</sup>。将上述制备的表阿霉素脂质体溶液加入Sephadex G-50凝胶柱, 用PBS(pH 7.4)溶液洗脱, 流速控制为0.8~1.0 mL/min。收集游离药物, 通过荧光分光光度法在激发波长470 nm, 发射波长585 nm条件下测定药物量, 并按照下列公式计算表阿霉素的包封率: 包封率(%) = (药物总质量-游离药物的质量)/药物总质量×100%。

CHCS锚定脂质体及壳聚糖包衣脂质体的制备<sup>[14]</sup>: 将CHCS溶于1% 醋酸溶液, 按照6/4的质量比(多糖/磷脂)加入表阿霉素脂质体溶液中, 室温下振荡1 h, 4 °C条件下孵育24 h, 即得CHCS锚定脂质体。

粒径、Zeta电位及形态的表征: 采用动态光散射法[氩离子激光器, 波长670 nm、(25.0±0.1) °C、动态光散射角90°]对CHCS锚定脂质体的粒径及粒径分布进行检测; 同时对其zeta电位进行测定。此外, 取样品溶液适量, 稀释, 用2%磷钨酸负染色, 于透射电镜下对其形态进行观察。

体外释放实验: 动态透析法进行。分别将CHCS-1、CHCS-2和CHCS-3锚定脂质体(1-CHEL、2-CHEL和3-CHEL)溶液2 mL(表阿霉素含量为0.04 mg)置于透析袋中, 以PBS(pH 7.4)溶液10 mL作为释放介质, 并于(37.0±0.5) °C、50 r/min条件下避光振荡, 在指定时间点取10 mL透析介质(注意更换10 mL新鲜透析介质), 按照1.4项下荧光分光光度法的条件测定表阿霉素的含量, 计算累积释放百分率(RE, %)<sup>[15]</sup>。实验中以表阿霉素脂质体和壳聚糖包衣脂质体作为对照, 考察CHCS锚定脂质体对包载药物体外释放性质的影响。

**主要观察指标:** 药物浓度、脂质体形态、脂质体的粒径大小、分布和电位。

**设计、实施、评估者:** 为第一、二、七作者。

## 2 结果

2.1 CHCS取代度的测定 检测取代度结果为2.80% (CHCS-1)、5.58% (CHCS-2)和8.00% (CHCS-3)。

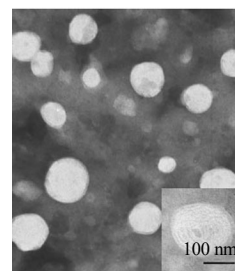
2.2 CHCS 锚定脂质体的包封率及粒径和zeta电位的检测 脂质体中表阿霉素的包封率<sup>[16]</sup>为96.8%, 其平均粒径为(148.2±3.0) nm, 分散系数为0.264, zeta电位为-4.46 mV。各项检测数据见表1。

表1 不同脂质体的粒径和 zeta 电位  
Table 1 Particle size and zeta potential of the various liposomes

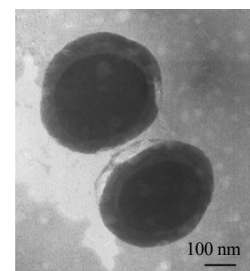
Composition	Polysaccharide/ lipid (m/m)	Size ( $\bar{x} \pm s$ , nm)	Polydispersity index	Zeta potential (mV)
Plain liposomes	0	158.9±5.6	0.268	-4.75
Epirubicin-loaded liposomes	0	148.2±3.0	0.264	-4.46
Chitosan-coated liposomes	6:4	197.5±4.5	0.245	+7.81
1-CHEL	6:4	246.6±9.8	0.243	+25.48
2-CHEL	6:4	245.4±8.1	0.249	+22.06
3-CHEL	6:4	279.7±6.6	0.240	+21.09

CHEL: cholesterol succinyl chitosan anchored liposomes

2.3 CHCS 锚定脂质体的形态观察 表阿霉素脂质体和CHCS-2锚定脂质体的透射电镜照片见图2。表阿霉素脂质体为球状或近球状多层囊泡<sup>[17]</sup>; CHCS锚定脂质体具有典型的核壳结构, 表面形成厚度约为20 nm的均匀包衣层。



a: Epirubicin-loaded liposomes

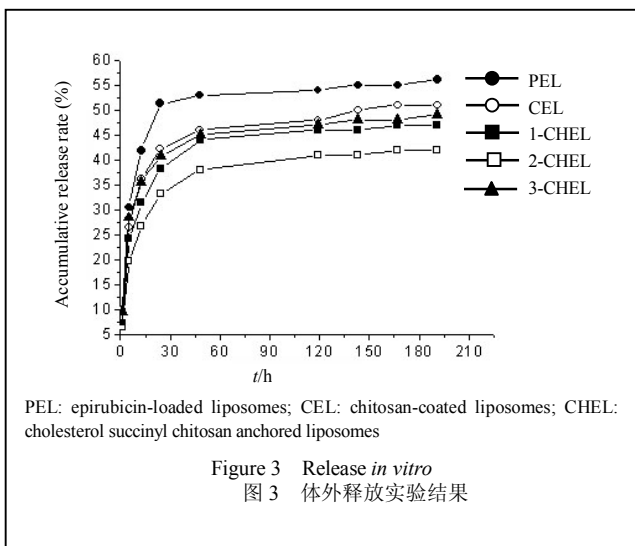


b: Cholesterol succinyl chitosan anchored liposomes-2

Figure 2 Transmission electron microscopy images of epirubicin-loaded liposomes and cholesterol succinyl chitosan anchored liposomes-2

图2 表阿霉素脂质体和 CHCS-2 锚定脂质体的透射电镜照片

2.4 体外释放实验结果 表阿霉素脂质体、壳聚糖包衣脂质体、CHCS-1、CHCS-2和CHCS-3锚定脂质体在PBS中的释放曲线见图3。脂质体中表阿霉素48 h累积释放率高于53%; 壳聚糖包衣脂质体、CHCS-1和CHCS-3锚定脂质体中, 表阿霉素有着相似的释放曲线, 释放明显减慢, 48 h累积释放率约为45%; CHCS-2锚定脂质体中, 表阿霉素的释放显著减慢, 48 h累积释放率仅为38%。



### 3 讨论

3.1 CHCS锚定脂质体的制备及其表征 本实验首先制备表阿霉素脂质体, 然后通过共孵育法制备CHCS锚定脂质体。表阿霉素为弱碱性抗肿瘤药物, 文献[6-9]均是采用pH梯度法实现脂质体对其的包载。采用该方法制备的表阿霉素脂质体呈均一分散的球状形态, 具有类似洋葱状的多层囊泡结构<sup>[16]</sup>, 表阿霉素的包封率高达96.8%。

共孵育是制备多糖包衣脂质体的常用方法, 简单且包衣效果好。本实验采用共孵育的方法制备了壳聚糖包衣脂质体和CHCS锚定脂质体, 和表阿霉素脂质体相比, 其粒径呈逐渐增大的趋势, 说明壳聚糖和CHCS多糖材料已成功包衣于脂质体表层<sup>[18]</sup>。在相同糖脂比的制备条件下, CHCS锚定脂质体有着比壳聚糖包衣脂质体更大的粒径和zeta电位, 说明CHCS比壳聚糖更加易于包衣, 也即是说明两者在包衣原理上存在着差异。作者认为CHCS包衣于脂质体表层, 不仅存在着和壳聚糖相同的氢键、离子键等作用力, 同时其分子中的疏水改性基团胆甾醇基还可通过疏水作用力嵌入脂质体的双分子层, 从而增加了包衣层和脂质体间的相互作用, 这可通过体外释放实验进一步加以证实; 此外, zeta电位绝对值的增大还有利于脂质体稳定性的增加。TEM照片显示CHCS锚定脂质体具有典型的核壳结构, 表面形成厚度约为20 nm均匀的多糖包衣层, 而CHCS作为壳聚糖的两亲性衍生物, 有着较强的亲水性和良好的生物相容性, 这将有利于脂质体进入体内后逃逸血液中调理蛋白的识别和单核巨噬细胞的吞噬, 增加脂质体的稳定性, 从而达到体内长循环的目的。

3.2 体外释放实验 作者认为当CHCS包衣于脂质体表层时, 氢键、离子键等作用力和疏水作用力存在一个平衡。本文结果显示CHCS的取代度在2.80%~5.85%时, 取代度增加, 疏水作用力增加, 包衣层与脂质体间的相

互作用力增加, 因此表阿霉素的释放减慢。当CHCS的取代度增加到8.0%时, 疏水作用力更大, 破坏了氢键、离子键等作用力和疏水作用力之间的平衡, 破坏了脂质体的磷脂双分子层, 改变了脂质体原有的结构, 因此药物释放速度加快。从以上结果可推测, 胆甾醇琥珀酰基壳聚糖是以锚定的方式附着于脂质体表面。

综上所述, 本实验制备的CHCS锚定脂质体有着比普通脂质体及壳聚糖包衣脂质体更高的稳定性, 能显著延缓包载药物的释放速度, 有望成为一种新型脂质体在药物传输领域加以应用, 本实验为将这种新型脂质体用作药物载体的可行性提供了一定的参考数据。

### 4 参考文献

- Sihorkar V, Vyas SP. Potential of polysaccharide anchored liposomes in drug delivery, targeting and immunization. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2001; 4(2): 138-158
- Liu CG, Desai KG, Chen XG, et al. Linolenic acid-modified chitosan for formation of self-assembled nanoparticles. *J Agric Food Chem*. 2005;53(2):437-441
- Wang YS, Liu LR, Jiang Q, et al. Self-aggregated nanoparticles of cholesterol-modified chitosan conjugate as a novel carrier of epirubicin. *Eur Polym J* 2007; 43: 43-51
- Chen HF, Pan SR, Hu Y, et al. Fenxi Ceshi Xue Bao 2003;22(6): 70-73  
陈浩凡, 潘仕荣, 胡瑜, 等. 胶体滴定法测定羧甲基壳聚糖的取代度[J]. 分析测试学报, 2003, 22(6): 70-73
- Hwang SH, Maitani Y, Qi XR, et al. Remote loading of diclofenac, insulin and fluorescein isothiocyanate labeled insulin into liposomes by pH and acetate gradient methods. *Int J Pharm* 1999; 179(1): 85-95
- Miao CY, Deng SH, Li YH. *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi* 2005;36(7): 433-437  
苗彩云, 邓树海, 李艳辉. 主动载药法制备两亲性药物脂质体的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(7): 433-437
- Haran G, Cohen R, Bar LK, et al. Transmembrane ammonium sulfate gradients in liposomes produce efficient and stable entrapment of amphiphatic weak bases. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1151(2): 201-215
- Chen T, Wang Z, Han HN, et al. *Shijie Zuixin Yixue Xinxin Wenzhai* 2004;3(4): 1204-1209  
陈涛, 王昭, 韩欢牛, 等. 离子梯度载药法制备脂质体药物的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2004, 3(4): 1204-1209
- Wang Y, Zhang SH, Li YF, et al. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao* 2006; 27(10): 1986-1990  
王妍, 张水华, 李云富, 等. 膜材性质及制备方法调控下的脂质体负载干扰素的研究[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(10): 1986-1990
- Li Z, Deng YJ, Wang XM. *Zhongguo Yaojixue Zazhi* 2005;3(4): 180-183  
李喆, 邓英杰, 王秀敏. 尼群地平脂质体的制备及包封率的测定[J]. 中国药理学杂志, 2005, 3(4): 180-183
- Deng YH, Yu B, Li HQ, et al. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao* 1997;14(4): 239-242  
邓意辉, 于彬, 李焕秋, 等. pH梯度法制备阿霉素脂质体[J]. 沈阳药科大学学报, 1997, 14(4): 239-242
- Zhang N, Ping QN, Huang GH, et al. Investigation of lectin-modified insulin liposomes as carriers for oral administration. *Int J Pharm* 2005;294(1-2):247-259
- Gao XL, Ji XM. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 2003;38 (7): 515-517  
高晓黎, 季兴梅. 葡聚糖凝胶柱色谱法测定脂质体包封率的条件筛选[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38 (7): 515-517
- Guo JX, Ping QN, Dong J, et al. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 2005;40(1): 47-50  
郭健新, 平其能, 董隽, 等. 壳聚糖包衣脂质体对 $\alpha$ -糜蛋白酶降解醋酸亮丙瑞林的保护作用[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1): 47-50
- Mumper RJ, Hoffman AS. The stabilization and release of hirudin from liposomes or lipid-assemblies coated with hydrophobically modified dextran. *AAPS PharmSciTech* 2000;1(1):E3
- Zhang Q, Zhu JB, Qiu LM. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 2004;35(6): 508-512  
张青, 朱家璧, 邱丽梅. 盐酸左氧氟沙星脂质体的包封率和体外释放研究[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(6): 508-512
- Segota S, Tezak D. Spontaneous formation of vesicles. *Adv Colloid Interface Sci* 2006;121(1-3):51-75
- Guo J, Ping Q, Jiang G, et al. Chitosan-coated liposomes: characterization and interaction with leuprolide. *Int J Pharm* 2003;260(2):167-173