载高乌甲素壳聚糖纳米粒的制备及其体外释药特性

马君义[1,2]， 陈香玲[1]， 盛爱霞[1]， 宋丽萍[1]， 张 继[1,2]
(1. 西北师范大学生命科学学院，甘肃 兰州 730070；2. 甘肃特色植物有效成分制品工程技术研究中心，甘肃 兰州 730070)

摘要：目的 制备载高乌甲素壳聚糖纳米粒，并考察其体外释药特性。**方法** 以壳聚糖为载体材料，以三聚磷酸钠为交联剂，采用微乳液-离子交联法制备纳米粒。以包封产率和载药量为主要评价指标，通过正交设计试验优化其制备工艺。**结果** 纳米粒呈球形或类球形，平均粒径为 334 nm，在 30 h 内稳定。高乌甲素的包封产率和载药量分别为(35.34 ± 0.94)%、(2.25 ± 0.08)%。**结论** 该工艺简便可靠，制备的纳米粒具有明显的缓释特征。

关键词： 高乌甲素；壳聚糖纳米粒；体外释药；微乳液-离子交联法；正交设计试验
中图分类号： R944 **文献标志码：** A **文章编号：** 1001-1528(2016)03-0533-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.03.012

Preparation of chitosan nanoparticles loaded with lappaconitine and their characteristics of *in vitro* release

MA Jun-yi[1,2], CHEN Xiang-ling[1], SHENG Ai-xia[1], SONG Li-ping[1], ZHANG Ji[1,2]
(*1. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China; 2. Gansu Engineering and Technology Research Center for Effective & Featured Component Products from Local Plants, Lanzhou 730070, China*)

ABSTRACT: AIM To prepare chitosan nanoparticles loaded with lappaconitine and to investigate their characteristics of *in vitro* release. **METHODS** The nanoparticles were prepared by microemulsion-ionic crosslinking method, with chitosan as the carrier material and tripolyphosphate as the crosslinker. The encapsulation yield and drug loading rate were taken as main evaluation indices for optimizing the preparation process by orthogonal design test. **RESULTS** At a mean particle size of 334 nm, the nanoparticles showing spherical or spheroidal shape remained stable within 30 h. The encapsulation yield and drug loading rate of lappaconitine were (35.34 ± 0.94)% and (2.25 ± 0.08)%, respectively. **CONCLUSION** The nanoparticles prepared by this simple and reliable technology can achieve obvious sustained release.

KEY WORDS: 1appaconitine; chitosan nanoparticles; release *in vitro*; microemulsion-ionic crosslinking method; orthogonal design test

高乌甲素是从毛茛科植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的根中提取出的一种生物碱，是我国首创的非成瘾性镇痛药。研究表明，其镇痛效果与哌替啶相当，镇痛强度是氨基比林的 7 倍，无致畸、致突变作用，也不产生耐药性和蓄积中毒，被广泛用于癌痛和术后镇痛，另外还具有抗炎消肿、抗心律失常以及抗肿瘤等一些药理作用[1-4]。临床上出现持续、顽固性疼痛的患者，需要长期使用镇痛剂；心律失常、心肌梗死、高血压等疾病的发作存在明显的周期性节律变化，需提前服药，以预防和控制疾病[5]。目前，临床上使用的高乌甲素制剂（主要有氢溴酸高乌甲素片剂和注射剂）存在的主要问题是使用剂量偏低[6-7]，半衰期短，对重度疼痛效果不佳，导致给药频繁，患者顺应性差，并且氢溴酸高乌甲素和高乌甲素的分子结构中含有酰胺键和酯键，对光不稳定[8]。为减少给药次数，

收稿日期： 2015-08-05
基金项目： 兰州市科技计划资助项目（2012-2-92）
作者简介： 马君义（1967—），男，博士，副教授，硕士生导师，从事药物新剂型与新技术、资源植物化学、生物高分子研究。Tel:(0931) 7975153, E-mail: skymjy@nwnu.edu.cn

提高高乌甲素的稳定性和患者的顺应性，发挥稳定持久的治疗效果，有必要开发载高乌甲素生物可降解缓释制剂，以满足临床不同的需求。

纳米粒作为控制释放药物的体系，既能增强药物稳定性，提高药物疗效，降低其毒副作用，又可越过许多生物屏障和组织间隙，有效地到达病灶部位，从而对药物进行更有效地靶向输送以及控制释放[9]。壳聚糖是一种安全可靠的碱性天然生物活性多糖，具有来源丰富、生物相容性好、生物可降解和分解产物无毒性等优点，已成为广泛应用的新型药用辅料之一，作为微球、微囊、纳米粒等药物载体的研究也日益受到重视[10-12]。而且，其粒径小，表面积大，与生物膜有较高的黏着性，因此可以通过肠 Peyer's 斑的吸收来提高所载药物的生物利用度[13-14]。

壳聚糖纳米粒的制备方法有共价交联法、沉淀析出法、离子诱导法以及自组装法等[15-17]。本实验以壳聚糖为载体材料，采用微乳液-离子交联法，以对细胞无毒副作用的三聚磷酸钠为交联剂，制备载高乌甲素壳聚糖纳米粒，以保证高乌甲素在体内的稳定释放，达到缓释的效果，为相关新制剂的开发提供基础依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Lab Tech 紫外-可见分光光度计（北京莱伯泰科仪器有限公司）；JRA-6 数显磁力搅拌水浴锅（金坛市杰瑞尔电器有限公司）；CT15RT 离心机（上海天美生化仪器设备工程有限公司）；MCR301 原子力显微镜（德国 Bruker 公司）；LGJ-18S 冷冻干燥机（北京松原华兴科技发展有限公司）；Zetasizer 70 马尔文激光粒度仪（马尔文仪器有限公司）；SHA-C 恒温振荡器（常州国华电器有限公司）；MD44 透析袋（北京索莱宝科技有限公司，批号 20120415）；电子天平（赛多利斯科学仪器北京有限公司）。

1.2 试药 高乌甲素（甘肃新兰药药业有限公司，批号 20080301，纯度 > 98.2%）；壳聚糖（山东奥康科技有限公司，批号 20121201，脱乙酰度 91%，M_w = 360 kDa）。三聚磷酸钠为分析纯（天津市博迪化工有限公司，批号 20110301）；冰乙酸为分析纯（西安化学试剂厂，批号 20120803）；液体石蜡为分析纯（上海中秦化学试剂有限公司，批号 20121015）；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 纳米粒的制备 参考文献［18］，精密称取高乌甲素 15 mg，溶于 5 mL 2% 壳聚糖冰醋酸溶液中，作为水相；取液体石蜡适量，作为油相。将 25 mL 液体石蜡和 400 mg 表面活性剂 Span-80 加入三口烧瓶内，55 ℃恒温水浴中 600 r/min 搅拌混合均匀，在 800 r/min 恒速搅拌下将水相逐滴加入到油相中，形成均匀的微乳液。搅拌 30 min 后，缓慢滴加 4 mL 15% 三聚磷酸钠，继续搅拌 30 min 后，4 ℃、15 000 r/min 离心 15 min，弃上清液，沉淀用无水乙醚洗涤数次，超纯水超声分散，冷冻干燥，得到纳米粒的冻干粉。不加高乌甲素，同法制备壳聚糖的空白样品。

2.2 检测波长的选择及标准曲线的绘制

2.2.1 检测波长的选择 精密称取高乌甲素和壳聚糖各 10 mg，0.1 mol/L 盐酸溶解，分别配制成质量浓度为 50 μg/mL 的溶液，过滤，于 200 ~ 400 nm波长范围内扫描，结果见图 1。由图可知，高乌甲素在 298 nm 处有最大吸收，并且壳聚糖不影响高乌甲素的含有量测定，故选择 298 nm 作为高乌甲素的检测波长。

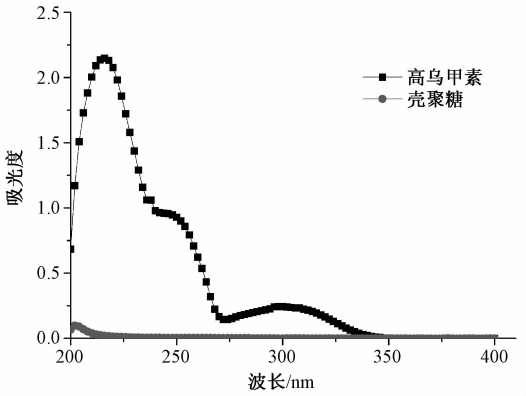

图 1 高乌甲素和壳聚糖的紫外图谱

Fig. 1 Ultraviolet spectrum of lappaconitine and chitosan

2.2.2 标准曲线的绘制与回归方程的建立 精密量取 0.2 mg/mL 的高乌甲素贮备液 1、2、3、4、5、6、7 mL，置于 10 mL 量瓶中，0.1 mol/L 盐酸定容。以 0.1 mol/L 盐酸为空白对照，在 298 nm 波长处用紫外-可见分光光度计测定各质量浓度，高乌甲素溶液的吸光度（A），以其对高乌甲素的质量浓度（C）进行线性回归，得回归方程 A = 0.269 36 C + 0.000 20，r = 0.999 32（n = 7）。结果表明，高乌甲素在 0.02 ~ 0.14 mg/mL 范围内呈良好线性关系。

2.3 包封产率和载药量的测定 精密称取纳米粒冻干品适量，0.1 mol/L HCl 溶解，超声提取 15 min，

离心分离，取上清液。重复操作 3 次，合并上清液，定容至 50 mL 量瓶中，在 298 nm 波长处测定吸光度（A），依下式计算高乌甲素的包封产率和载药量。

$$包封产率 = \frac{纳米粒中高乌甲素的质量}{总投料量} \times 100\%$$

$$载药量 = \frac{纳米粒中高乌甲素的质量}{纳米粒质量} \times 100\%$$

2.4 单因素试验考察纳米粒的制备工艺

2.4.1 乳化转速的影响 固定高乌甲素和壳聚糖的质量比，水相和油相的体积比、Span-80 的用量、三聚磷酸钠的浓度以及其他工艺参数不变，设定乳化转速分别为 600、700、800、900、1 000 r/min，考察其对纳米粒包封产率和载药量的影响，结果见图 2。由图可知，随着乳化转速的增加，纳米粒的包封产率和载药量先增加后减少，当转速为 800 r/min时达到最大，而且纳米粒圆整，黏连程度较低。

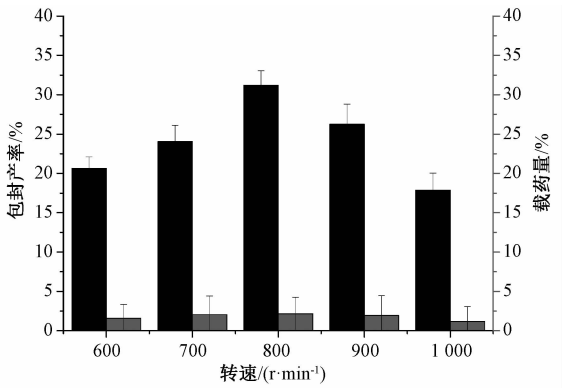

图 2 乳化转速对纳米粒包封产率和载药量的影响（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

Fig. 2 Effects of emulsification rotation speed on nanoparticles' encapsulation yield and drug loading rate（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

2.4.2 Span-80 用量的影响 固定高乌甲素和壳聚糖的质量比，水相和油相的体积比、乳化转速、三聚磷酸钠的浓度以及其他工艺参数不变，设定 Span-80 的用量分别为 100、200、300、400、500 mg，考察其对纳米粒包封产率和载药量的影响，结果见图 3。由图可知，当 Span-80 用量为 400 mg 时，纳米粒的包封产率和载药量最大，故在正交试验中将 Span-80 的用量设定为 400 mg。

2.4.3 三聚磷酸钠质量分数的影响 固定高乌甲素和壳聚糖的质量比，水相和油相的体积比、乳化转速、Span-80 用量以及其他工艺参数不变，设定

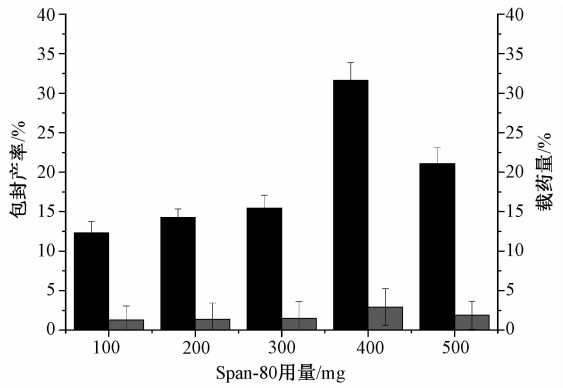

图 3 Span-80 用量对纳米粒包封产率和载药量的影响（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

Fig. 3 Effects of Span-80 dosage on nanoparticles' encapsulation yield and drug loading rate（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

三聚磷酸钠的质量分数为 5%、10%、15%、20%、25%，考察其对纳米粒包封产率和载药量的影响，结果见图 4。由图可知，当三聚磷酸钠质量分数为 15% 时，纳米粒的包封产率和载药量最大，成球性较好，黏连程度较低，故在正交试验中将三聚磷酸钠的质量分数设定为 15%。

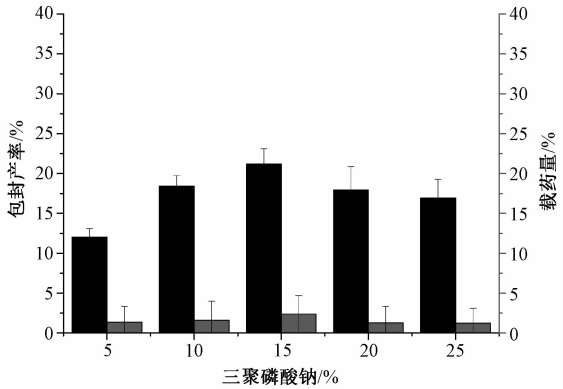

图 4 三聚磷酸钠质量分数对纳米粒包封产率和载药量的影响（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

Fig. 4 Effects of tripolyphosphate concentration on nanoparticles' encapsulation yield and drug loading rate（n = 3，$\bar{x} \pm s$）

2.4.4 液体石蜡用量的影响 固定高乌甲素和壳聚糖的质量比，乳化转速、Span-80 用量、三聚磷酸钠用量以及其他工艺参数不变，设定液体石蜡用量分别为 15、20、25、30、35 mL，考察其对纳米粒包封产率和载药量的影响，结果见图 5。由图可知，当液体石蜡用量为 20、25、30 mL 时，纳米粒的包封产率和载药量较大，以此进行正交试验，优化制备工艺。

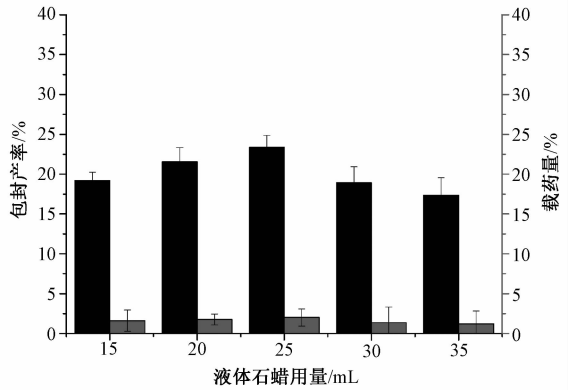

图 5 液体石蜡用量对纳米粒包封产率和载药量的影响（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

Fig. 5 Effects of liquid paraffin dosage on nanoparticles' encapsulation yield and drug loading rate（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

2.5 正交设计优化纳米粒的制备工艺

2.5.1 因素水平的确定 在单因素试验的基础上，选取对纳米粒形态和质量影响较显著的乳化转速（A）、Span-80 用量（B）、三聚磷酸钠用量（C）和液体石蜡用量（D）4 个因素作为考察对象，以包封产率为评价指标，采用 $L_9(3^4)$ 表进行正交试验设计，优化纳米粒的制备工艺参数，结果见表 1。

表 1 正交设计试验的因素与水平

Tab. 1 Factors and levels of orthogonal design test

水平	因素			
	A 转速/（r·min^{-1}）	B Span-80/mg	C 三聚磷酸钠/%	D 液体石蜡/mL
1	700	300	10	20
2	800	400	15	25
3	900	500	20	30

2.5.2 正交设计试验结果 制备纳米粒的正交试验安排与结果见表 2，方差分析见表 3。由表 2 可知，各因素对纳米粒包封产率的影响程度依次为 B > A > C > D，最佳水平为 $A_2B_2C_2D_2$；由表 3 可知，Span-80 用量对纳米粒的包封产率有非常显著的影响，乳化转速和三聚磷酸钠用量有显著影响，而液体石蜡用量影响不显著。综合考虑，制备纳米粒的最佳工艺参数为乳化转速 800 r/min，Span-80 用量 400 mg，三聚磷酸钠质量分数 15%，液体石蜡用量 25 mL。

2.5.3 验证试验 根据正交试验所得的最佳制备工艺参数，平行制备 3 批纳米粒，并对其包封产率、载药量、形态、粒径及分布进行了测定。结果表明，优化工艺条件下制备的纳米粒平均包封产率为（35.34 ± 0.94）%，载药量为（2.25 ± 0.08）%，相对标准偏差分别为 2.65%、3.73%。

表 2 正交设计试验结果（$n=3$）

Tab. 2 Results of orthogonal design tests（$n=3$）

试验号	A	B	C	D	包封产率/%
1	1	1	1	1	23.61
2	1	2	2	2	28.20
3	1	3	3	3	26.67
4	2	1	2	3	27.27
5	2	2	3	1	28.92
6	2	3	1	2	28.36
7	3	1	3	2	25.03
8	3	2	1	3	27.28
9	3	3	2	1	28.24
K_1	78.49	75.91	79.25	80.77	
K_2	84.55	84.41	83.72	81.60	
K_3	80.55	83.27	80.62	81.22	
R	6.06	8.50	4.47	0.83	

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	6.329 7	2	3.164 8	54.998 3	<0.05
B	14.191 0	2	7.095 5	123.304 9	<0.01
C	3.496 4	2	1.748 2	30.380 2	<0.05
D	0.115 1	2	0.057 5	1.000 0	>0.05

2.6 纳米粒的粒径及其分布 采用马尔文激光粒度仪，测定纳米粒的粒径及其分布。再称取一定量的纳米粒，去离子水将其超声分散后放于样品池，于 25 ℃下测定，结果见图 6。

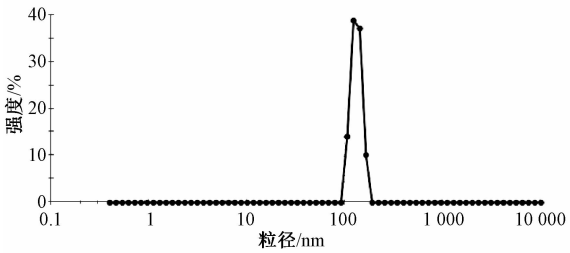

图 6 纳米粒的粒径分布

Fig. 6 Nanoparticles' size distribution

粒径大小及其分布是评价纳米粒质量的有效指标，也是其基本特征之一[19]。由图可知，纳米粒的平均粒径为 334 nm，多分散系数为 0.223，Zeta 电位为 10 mV，即表面带正电荷，这是壳聚糖-NH_2 基离子化的结果。由于静电斥力的作用，有利于其在较长时间内稳定存在。

2.7 形态学研究 取纳米粒适量，去离子水稀释并超声分散后，采用滴加沉积法滴在云母片表面，

旋涂法制样。室温干燥后，原子力显微镜扫描其形态。扫描管为 J 扫描管，探针为标准 Si 探针，所得图像在 Tapping 模式下获得。结果见图 7。

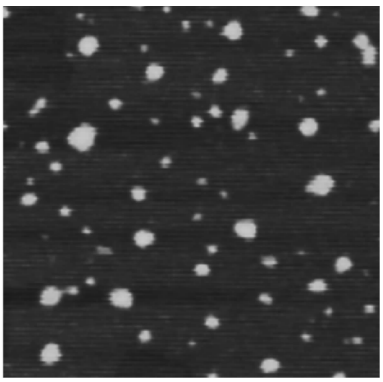

图 7 纳米粒表面形貌图（2 000 nm × 2 000 nm）

Fig. 7 Nanoparticles' surface image (2 000 nm × 2 000 nm)

由图可知，采用微乳液-离子交联法制备的纳米粒大小均匀，外观较圆整，基本呈球形或类球形，而且其分散性良好，无黏连现象。

2.8 体外释药特性研究 采用动态透析法[20]，称取纳米粒及高乌甲素原料药适量，用少量磷酸盐缓冲液（pH = 7.4）稀释成混悬液，分别放入处理好的透析袋中，扎紧两端，投入含 50 mL 缓冲液的锥形瓶中，在（37 ± 0.5）℃、100 r/min 的恒温水浴振荡器中振摇，分别于 10、20、30 min 和 1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7、8、10、20、24、28、30 h取出 3 mL 释放介质，同时补充同体积、同温度的新鲜溶出介质。0.45 μm 微孔滤膜过滤后，检测释放介质中高乌甲素的含有量，并计算累积释放率，绘制纳米粒体外释药曲线，结果见图 8。

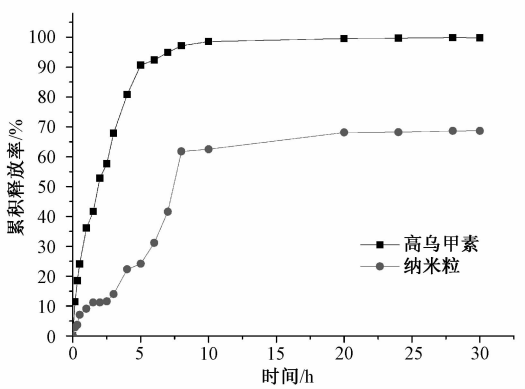

图 8 纳米粒的释药曲线

Fig. 8 Nanoparticles' release curve

由图可知，缓冲液中游离的高乌甲素释放较快，约 8 h 即可完全释出，而纳米粒持续缓慢释放，8 h 的累积释放量为 60%，而 30 h 达到 70% 左右。结果表明，纳米粒具有连续的释放特性，并且达到明显的缓释效果。

3 讨论

高乌甲素及其氢溴酸衍生物是一种非成瘾性镇痛药，被推荐为“癌症病人三阶梯止痛疗法”药物，但由于其水溶性低，光化学敏感，半衰期短，患者顺应性差，导致对重度疼痛的镇痛效果不佳。针对该缺陷，众多学者对高乌甲素中的 N 原子进行修饰，并对酯键进行了改造[21]，合成了能提高水溶性和镇痛效果的衍生物[22]。通过新型载药系统，如包合物[23]、脉冲释放片[24]、固体脂质体纳米粒[25]、亚微球[26]、纳米囊[27]、水凝胶[28]等形式来传递药物，在一定程度上提高了高乌甲素的作用疗效，并且降低了其毒副作用。

本实验采用的壳聚糖是一种阳离子聚电解质，具有抗菌消炎、促进伤口愈合、抗酸、抗溃疡、降脂和降低胆固醇的作用，可阻止或减弱药物对胃的刺激，直接抑制肿瘤细胞，并通过活化免疫系统来显示抗癌活性[29-30]，以其为载体材料制备的纳米粒能提高药物的稳定性，增加药物的吸收，并且可以达到缓释及靶向的作用[31]，故已成为药物新剂型研究的热点。以微乳液-离子交联法制备的纳米粒平均包封产率（35.34 ± 0.94）%，平均载药量（2.25 ± 0.08）%，平均粒径 334 nm，多分散系数 0.223，Zeta 电位 10 mV，体外可持续缓慢释放，30 h 的累积释放量接近 70%，具有连续的释放特性和明显的缓释效果。

本实验发现，乳化转速、Span-80 用量、三聚磷酸钠用量、液体石蜡用量等因素对纳米粒的包封产率、载药量以及形态均有一定的影响。适当的乳化搅拌速度有利于形成高包封产率和载药量的纳米粒，而搅拌速度大于 800 r/min 时，由于剪切力的增大，可能破坏了壳聚糖的分子链骨架[32]，纳米粒粒径过小，导致包封产率和载药量的下降。乳化剂 Span-80 对纳米粒的形态和粒径影响较大，剂量不足，会导致纳米粒聚集，粒径分布变宽，形状不规则；剂量过大，Span-80 在降低纳米粒粒径的同时也降低了高乌甲素的包封产率和载药量。壳聚糖的用量一定时，较低质量分数的三聚磷酸钠难以使其完全交联，形成纳米粒，这可能是由于三聚磷酸钠用量相对不足、壳聚糖的黏度较大，链的缠绕妨碍了分子间的交联成球[33]，高乌甲素的包封产率和载药量相对较低；

浓度过大，则大量的壳聚糖与三聚磷酸钠交联，导致纳米粒团聚，粒径增大。液体石蜡用量过小时，纳米粒的形态较差，粒径较大；用量过大时，粒径变小，导致包封产率和载药量降低。

本实验在单因素试验的基础上，通过正交设计优化了纳米粒的制备工艺。其最佳工艺参数为乳化转速 800 r/min，Span-80 用量 400 mg，三聚磷酸钠质量分数 15%，液体石蜡用量 25 mL。该工艺简便可靠，反应条件温和，交联剂三聚磷酸钠避免了对细胞可能造成的毒副作用，为脂溶性药物高乌甲素的给药提供了新途径。

参考文献：

[1] Ameri A. The effects of aconitum alkaloids on the central nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 1998, 56(2): 211-235.
[2] 辛蕊华，程富胜，胡振英，等. 高乌甲素的研究概况[J]. 中兽医医药杂志，2009，28(2)：74-76.
[3] 唐庆年，莫桂花. 高乌甲素的药理作用及临床应用进展[J]. 山东医药，2005，47(25)：116-117.
[4] 管玉珠，史彦斌，王 荷. 止痛药氢溴酸高乌甲素的研究进展[J]. 中国医学理论与实践，2005，15(12)：1839-1840，1838.
[5] 马君义，陈香玲，亢俊瑞，等. 高乌甲素聚乳酸纳米粒的制备及体外释药特性的研究[J]. 中国药学杂志，2015，50(7)：613-618.
[6] 于基志，张白晶，蒋雪涛. 高乌甲素的临床应用[J]. 第二军医大学学报，2005，26(7)：822-824.
[7] 苏 帆. 高乌甲素的临床应用及研究进展[J]. 实用疼痛学杂志，2009，5(1)：50-54.
[8] 刘秀花，史彦斌，管玉珠. 氢溴酸高乌甲素原料药的稳定性研究[J]. 中国药业，2009，18(8)：21-22.
[9] Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55(3): 329-347.
[10] Chen M M, Liu Y, Yang W Z, *et al*. Preparation and characterization of self-assembled nanoparticles of 6-*O*-cholesterol-modified chitosan for drug delivery[J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 84(4): 1244-1251.
[11] 宗 莉，陈伶俐，张淑芸，等. 壳聚糖纳米粒作为基因载体的研究：制备，特征和对 DNA 的保护[J]. 中国药科大学学报，2005，36(6)：526-530.
[12] 梁恒伦，童 健，李 晶，等. 多西紫杉醇壳聚糖纳米粒制备及其特性研究[J]. 重庆医学，2011，40(31)：3154-3156，3159.
[13] Behrens I, Pena A I V, Alonso M J, *et al*. Comparative uptake studies of bioadhesive and non-bioadhesive nanoparticles in human intestinal cell lines and rats: the effect of mucus on particle adsorption and transport[J]. *Pharm Res*, 2002, 19(8): 1185-1193.
[14] 林爱华，李鸿燕，刘奕明，等. 小檗碱壳聚糖纳米粒的制备及其体外释药特性研究[J]. 中国药房，2007，18(10)：755-757.
[15] 张 玮，张学农. 壳聚糖纳米粒制备技术研究进展[J]. 抗感染药学，2008，5(2)：65-69.
[16] 吴振宇，陈 钟，黄 华，等. 离子凝胶法制备壳聚糖纳米微粒[J]. 南通大学学报：医学版，2005，25(1)：20-22.
[17] 杨文静，王 婷，何农跃. CS/TPP 纳米微胶囊的制备及其载药性能[J]. 高等学校化学学报，2009，30(3)：625-628.
[18] 林晓洁，张 华，金少钢，等. 盐酸青藤碱壳聚糖纳米粒的制备及体外释放性能的研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(4)：22-25.
[19] Mora-Huertas C E, Fessi H, Elaissari A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery[J]. *Int J Pharm*, 2010, 385(1-2): 113-142.
[20] 朱冰雅，承 伟. 响应面法优化及制备芦荟壳聚糖纳米粒[J]. 中成药，2013，35(9)：1892-1896.
[21] Cheng H, Xu L, Chen D L, *et al*. Construction of functionalized B/C/D ring system of C_{19}-diterpenoid alkaloids via intramolecular Diels-Alder reaction followed by Wagner-Meerwein rearrangement[J]. *Tetrahedron*, 2012, 68(4): 1171-1176.
[22] 张 继，孙文秀，温慧慧，等. 刺乌头碱氢溴酸盐的合成及晶体结构[J]. 有机化学，2007，27(11)：1409-1413.
[23] 王雪娇，董同力嘎，张 师，等. β-环糊精高聚物-高乌甲素包合物的制备、表征及增溶性[J]. 中国新药杂志，2015，24(1)：102-106.
[24] 强 音，倪京满. 氢溴酸高乌甲素脉冲释放片的研究[J]. 中国新药杂志，2008，17(9)：760-763.
[25] 陈桐楷，李 园，林华庆，等. 高压乳匀法制备氢溴酸高乌甲素固体脂质纳米粒的工艺研究[J]. 中国药学杂志，2010，45(6)：440-443.
[26] 王兰霞，李士博，张晓明. 氢溴酸高乌甲素壳聚糖亚微球的制备工艺研究[J]. 中国药事，2010，24(5)：450-452.
[27] 孟庆刚，倪京满，许有瑞. 氢溴酸高乌甲素聚氰基丙烯酸异丁酯纳米囊的制备工艺研究[J]. 中国药学杂志，2006，41(7)：557-558.
[28] 肖春雷，朱家壁，孙 超. 氢溴酸高乌甲素鼻用原位凝胶剂的制备及其处方评价[J]. 药学进展，2009，33(9)：416-419.
[29] Ko J A, Park H J, Hwang S J, *et al*. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery[J]. *Int J Pharm*, 2002, 249(1-2): 165-174.
[30] 周少华，艳 洪，房国坚，等. 壳聚糖纳米粒制备及表征与其抗肿瘤的生物学效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复，2007，11(48)：9688-9691.
[31] 林爱华，平其能. 壳聚糖载药纳米粒研究进展[J]. 药学专论，2006，15(21)：25-27.
[32] 李 芳，李 艳，李佳吟，等. 壳聚糖包裹紫杉醇纳米粒子的制备及性能研究[J]. 同济大学学报：医学版，2010，31(5)：36-41.
[33] 郑爱萍，王奎书，郝 睿，等. 胸腺五肽 pH-敏感壳聚糖纳米粒的制备、体外释放及生物活性[J]. 中国药学杂志，2007，42(9)：679-685.