喷雾冷冻干燥制备白藜芦醇脂质体吸入粉雾剂

冯宁宁，程　茜，严　珅，张盛宇，吴　铎*
（苏州大学材料与化学化工学部，江苏苏州 215123）

摘要：该研究考察了喷雾冷冻干燥前驱液配方属性（辅料海藻糖与 L- 亮氨酸的质量比）、雾化器类型（超声雾化器和双流体雾化器）、冷冻温度（－ 40 和－ 60 ℃）和冷冻方式（自主研发的喷雾冷冻塔和液氮冷冻）对白藜芦醇脂质体吸入粉雾剂体外递送性能的影响。深入探究了混合、雾化、冷冻以及干燥复水后白藜芦醇脂质体的水合粒径、ζ 电位及药物保留率，详细评价了微粒的形貌和几何粒径。结果表明，含海藻糖与 L- 亮氨酸（质量比 7 ∶ 3）的前驱液采用双流体雾化器雾化后，再经喷雾冷冻塔于－ 40 ℃冷冻干燥，制得的白藜芦醇脂质体干粉体外递送性能较好，同时减少了喷雾冷冻干燥过程中的药物泄漏。

关键词：白藜芦醇；脂质体干粉；吸入粉雾剂；喷雾冷冻干燥；体外递送性能
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)06-0678-07
引用：冯宁宁，程　茜，严　珅，等．喷雾冷冻干燥制备白藜芦醇脂质体吸入粉雾剂［J］．中国医药工业杂志，2026, **57**(6)：678-684．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.06.008

Preparation of Resveratrol Inhalable Liposomal Powder by Spray Freeze Drying

FENG Ningning, CHENG Xi, YAN Shen, ZHANG Shengyu, WU Duo*
(*College of Chemistry, Chemical Engineering and Materials Science of Soochow University, Suzhou 215123*)

ABSTRACT: This study systematically investigated the effects of formulation properties (the mass ratio of trehalose to L-leucine) in the precursor liquid, the atomizer types (ultrasonic atomizer and two-fluid atomizer), freezing temperatures (－ 40 and － 60 ℃), and freezing methods (self-developed spray freezing tower and liquid nitrogen freezing) on the *in vitro* delivery performance of resveratrol inhalable liposomal powder. The hydrodynamic size, ζ potential, and percent drug retention of resveratrol liposomes were thoroughly investigated after mixing, atomization, freezing and rehydration after drying. Furthermore, the morphology and geometric diameter of the particles were thoroughly evaluated. The results revealed that atomization of resveratrol suspension formulated with trehalose and L-leucine at a mass ratio of 7 ∶ 3 using a twin-fluid atomizer followed by spray freezing at － 40 ℃ yielded inhalable liposomal powder with good *in vitro* delivery and minimized drug leakage upon spray freeze-drying.

Key Words: resveratrol; liposomal dry powder; dry powder for inhalation; spray freeze drying; *in vitro* delivery performance

脂质体是一类由脂质双分子层组成的球形囊泡，凭借双层结构特点及良好的生物相容性，不仅可保护药物在血液循环中不被降解，而且可降低对周围正常组织的毒性。目前，已有多款基于脂质体的药品（如 Doxil®、DaunoXome®、Depocyt® 和 Onivyde™ 等）被美国 FDA 批准上市[1]。2018 年，首个吸入脂质体产品——阿米卡星脂质体吸入悬浮液（Arikayce®）获 FDA 批准上市，但由于脂质体经雾化器雾化后结构会被破坏，使游离药物占比高达 30%，显著增加了不良反应风险[2-3]。为有效解决水相中脂质体的稳定性问题，研究者通过冷冻干燥、喷雾干燥、喷雾冷冻干燥（spray freeze drying，SFD）等技术干燥脂质体悬浮液，制备脂质体型吸入粉雾剂（liposomal dry powder for inhalation，LDPI）[4-5]。

收稿日期：2025-08-13
基金项目：国家自然科学基金面上项目（22278284）
作者简介：冯宁宁，硕士研究生，专业方向：脂质体吸入粉雾剂。
通信作者：吴　铎，教授，博士生导师，从事喷雾制粒微纳介观动态结构调控的理论基础与工业化放大研究。

SFD 技术[6]包括雾化、喷雾冷冻和冷冻干燥 3 个主要步骤。雾化过程是将进料溶液雾化为液滴。液滴粒径不仅是影响最终产品粒度分布的重要因素[7]，还会影响喷雾冷冻过程中的传质和传热，进一步改变脂质体结构。脂质体结构在冷冻及脱水干燥过程中均可能发生变化，进而导致药物泄漏，所以需要添加冻干保护剂[8]。

本研究拟选用卵磷脂和胆固醇为原料，以白藜芦醇（resveratrol，**1**）为亲脂性药物模型，采用薄膜水化结合高压均质法制备 **1** 脂质体。随后，利用团队自主研发、搭建的微流控喷雾冷冻塔（micro-fluidic jet spray freezing tower，MFJSFT）结合真空冷冻干燥技术，采用超声（ultrasonic，U）和双流体（two-fluid，T）雾化器，制备 **1** 脂质体吸入粉雾剂，并考察其体外递送性能。在 SFD 过程中，采用海藻糖（trehalose，**2**）为冻干保护剂，并添加 L- 亮氨酸（L-leucine，**3**）以改善干粉微粒的表面性质[9]。

1 仪器与试药

AH-Basic Plus 型高压均质机［安拓思纳米技术（苏州）有限公司］；N1200D-WB 型旋转蒸发仪（日本东京理化器械株式会社）；Nano ZS 型激光散射粒度仪（英国 Malvern 公司）；DR6000 型紫外 - 可见分光光度计（美国 Hach 公司）；SPLab01 型注射泵（保定申辰泵业有限公司）；DGJ-30H 型真空冷冻干燥机（上海博登生物科技有限公司）；SU1510 型扫描电镜、MC1000 型离子溅射仪均购于日本 Hitachi 公司；HELOS-INHALER 型激光衍射粒度分析仪（德国 Sympatec 公司）；新一代级联撞击器（next generation impactor，NGI，英国 Copley Scientific 公司）；Breezhaler® 吸入器（瑞士 Novartis 公司）；Ultimate 3000 型高效液相色谱仪（美国 Thermo Fisher 公司）。

1 原料药（含量≥ 98.0 %，批号 R10J11S118000）、**2**（含量≥ 98.0 %，批号 J13HS184387）均购于上海源叶生物科技有限公司；**3**（上海泰坦科技股份有限公司，含量≥ 99 %，批号 P1695761）；胆固醇［西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司，含量≥ 92.5 %，批号 WXBD7149V］；卵磷脂（含量≥ 98.0 %，批号 C14622034）、乙酸铵（纯度≥ 99.0 %）均购于上海麦克林生化科技股份有限公司；聚山梨醇酯 20（Tween-20，日本东京化成工业株式会社）；乙腈（色谱纯，美国 Thermo Fisher 公司）；无水乙醇（分析纯，永华化学股份有限公司）；HPMC 胶囊壳（中国苏州胶囊有限公司，规格 3 号）；MD77 型透析袋（截留分子量 1 000，苏州苏科精益仪器有限公司）；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 1 脂质体干粉微粒的制备

将卵磷脂 100 mg、胆固醇 16.7 mg 和 **1** 原料药 3.3 mg 溶于无水乙醇中，旋转蒸发（50 ℃、10 kPa）至无水乙醇完全脱除；加入水 100 mL，手动振摇至薄膜完全脱落，高压（20 MPa）均质 30 min。取上述样品 10 mL 于透析袋中，置含水 500 mL 的烧杯中，避光透析 30 h，除去游离 **1**，即得 **1** 脂质体。

本试验制备了 **1** 脂质体、**2** 和 **3** 的质量比分别为 1 ∶ 40 ∶ 0、1 ∶ 36 ∶ 4、1 ∶ 32 ∶ 8 和 1 ∶ 28 ∶ 12 的 4 种前驱液，总固含量为 4 %。先将 **2** 和 **3** 溶于水中，再加入 **1** 脂质体，混匀；然后，分别采用雾化器 U 和 T 雾化，所得液滴分别在 MFJSFT 或装有液氮（－ 196 ℃）的容器中冷冻。将获得的冰球转移至真空冷冻干燥机中干燥，即得 **1** 脂质体干粉微粒（表 1，S_U 表示超声雾化制得的粉末，S_T 表示双流体雾化制得的粉末）。

2.2 1 脂质体的结构表征

取“**2.1**”项下制备的 **1** 脂质体适量，采用激光散射粒度仪，设置温度为 25 ℃，检测粒径、PDI 和 ζ

表 1 前驱液的不同处方及冷冻 1 脂质体制备方法

Tab.1 Different Formulations of the Precursor Liquid and Preparation Methods of the Frozen **1** Liposomes

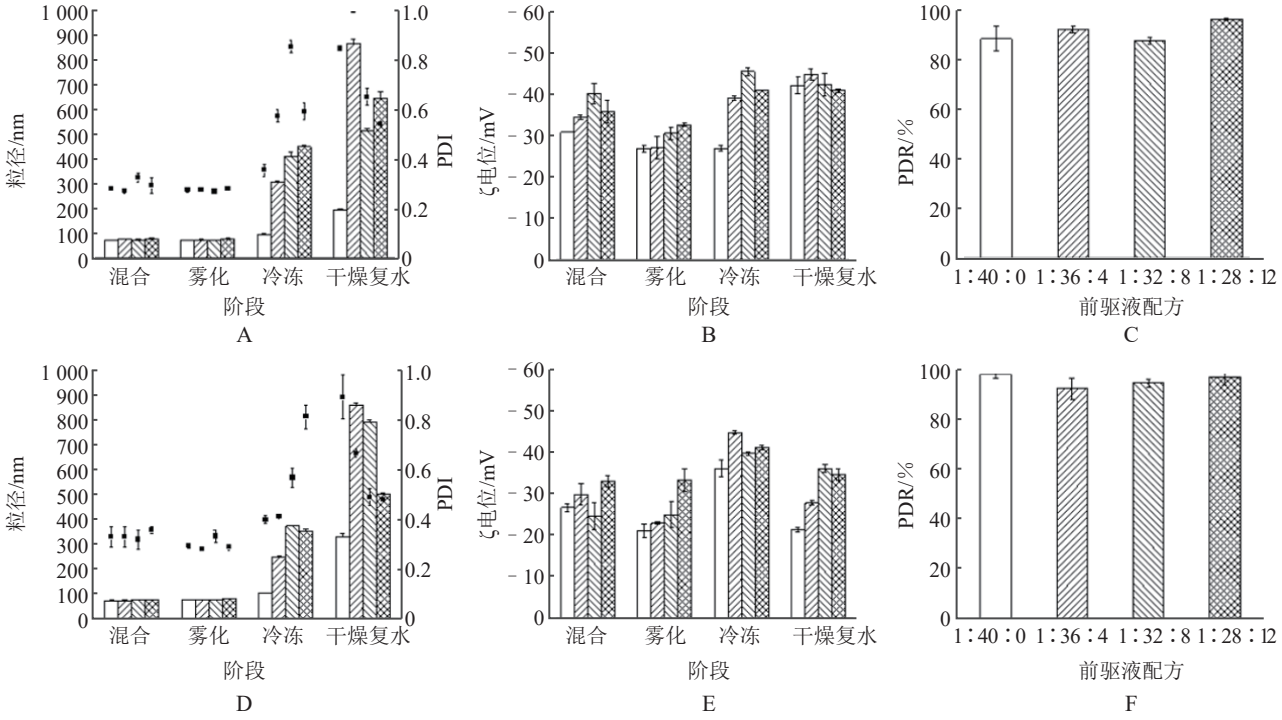
样品编号	**1** 脂质体、**2** 与 **3** 的质量比	MFJSFT 塔内温度 /℃	雾化器类型
S_U ①	1 ∶ 40 ∶ 0	－ 60	U
S_T ①	1 ∶ 40 ∶ 0	－ 60	T
S_U ②	1 ∶ 36 ∶ 4	－ 60	U
S_T ②	1 ∶ 36 ∶ 4	－ 60	T
S_U ③	1 ∶ 32 ∶ 8	－ 60	U
S_T ③	1 ∶ 32 ∶ 8	－ 60	T
S_U ④	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 60	U
S_T ④	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 60	T
S_U ⑤	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 40	U
S_T ⑤	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 40	T
S_U ⑥	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 196（液氮）	U
S_T ⑥	1 ∶ 28 ∶ 12	－ 196（液氮）	T

电位，平行测定 3 次，结果分别为（55.14±6.35）nm、0.544±0.013 和（－48.0±6.9）mV。

取 **1** 脂质体经混合、雾化、－60 ℃冷冻及干燥复水后的样品，检测其粒径、PDI 和 ζ 电位。结果（图 1、2）显示，在混合和雾化阶段，**1** 脂质体的粒径均未明显变化，但在冷冻和冻干阶段显著增大；且经超声雾化处理的 **1** 脂质体，在冷冻后的粒径增幅更大。值得注意的是，**1** 脂质体在冷冻干燥过程中会发生进一步融合，导致干燥复水后的粒径较冷冻阶段显著增大（见图 1A、D）。在与 **2** 和 **3** 混合、雾化后，**1** 脂质体的 ζ 电位绝对值均有所降低，且经双流体雾化处理的 **1** 脂质体在干燥后，ζ 电位绝对值低于超声雾化处理组（图 1B、E）。

取 **1** 脂质体、**2** 和 **3** 的质量比为 1 ∶ 28 ∶ 12 的前驱液，按“**2.1**”项下方法，以不同温度冷冻后进行 SFD 处理。取各步骤样品，检测其粒径、PDI 和 ζ 电位。结果显示，各组样品冷冻后的粒径均增加至约 400 nm；干燥复水后，超声雾化处理组样品的粒径增至约 600 nm，而双流体雾化处理组样品的粒径增至约 700 nm（图 2A、D）。－60 和－196 ℃冷冻的样品干燥复水后，超声雾化处理组 **1** 脂质体的 ζ 电位绝对值保持在约 40 mV，而双流体雾化处理组 **1** 脂质体的 ζ 电位绝对值逐渐降至约 30 mV（图 2B、E）；－40 ℃冷冻的样品，干燥复水前后 ζ 电位值的变化不明显。

采用旋转蒸发法浓缩 500 mL 透析介质，浓缩产物用水重新定容至 20 mL（浓缩因子约 25 倍），采用 UV 法检测其中 **1** 的含量。设置检测波长为 305 nm，记录样品的吸光度（*D*）。以 *D* 为纵坐标，**1** 质量浓度（*c*）为横坐标进行线性回归，结果显示 **1** 在 3 ～ 50 μg/mL 时与吸光度线性关系良好，标准曲线方程为 A=1.343 28c+0.001 69，R^2=0.999 6。参考文献[10]方法计算包封率。结果显示，混合前 **1** 脂质体的包封率为（54.19±6.14）%（n=3）。

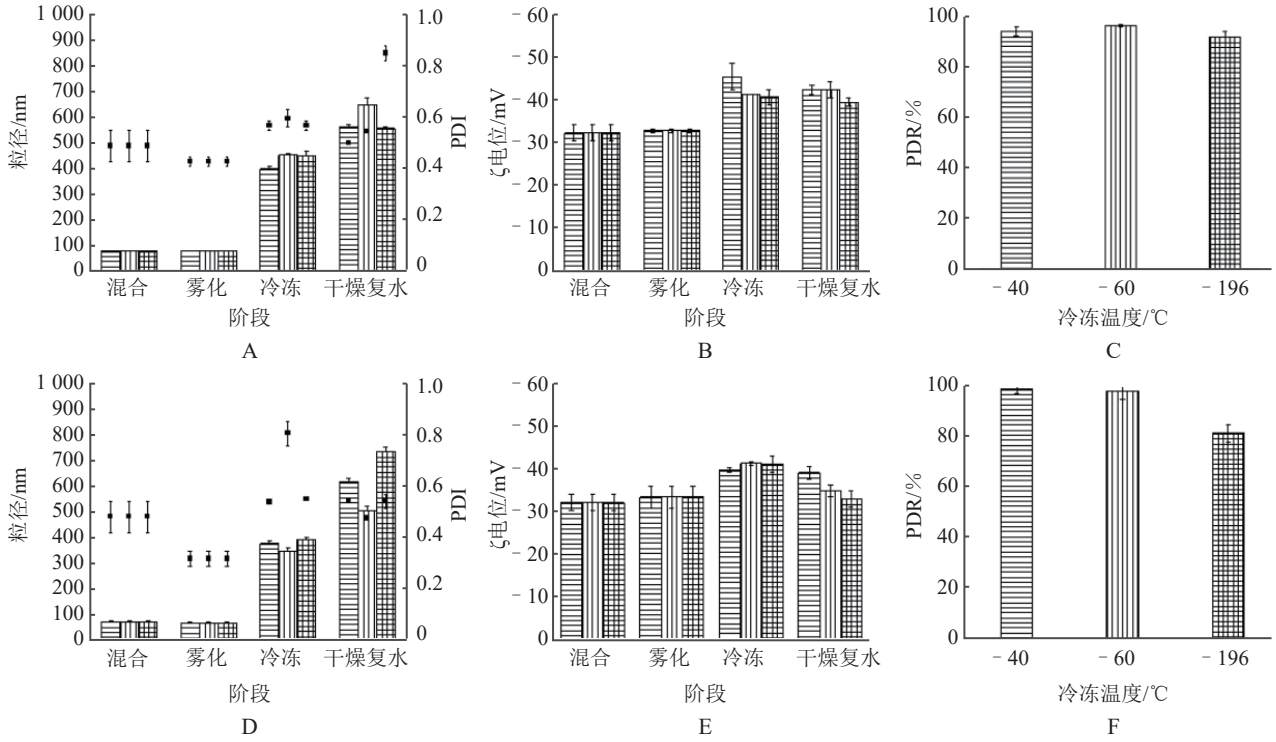


A—S_U ①～ S_U ④的粒径和 PDI（■）；B—S_U ①～ S_U ④的 ζ 电位；C—S_U ①～ S_U ④的 PDR；D—S_T ①～ S_T ④的粒径和 PDI（■）；E—S_T ①～ S_T ④的 ζ 电位；F—S_T ①～ S_T ④的 PDR。

1 脂质体、**2** 和 **3** 的质量比分别为：□—1 ∶ 40 ∶ 0；▨—1 ∶ 36 ∶ 4；▧—1 ∶ 32 ∶ 8；▩—1 ∶ 28 ∶ 12。

图 1　1 脂质体在－60 ℃喷雾冷冻干燥过程中的粒径、ζ 电位及 PDR 变化（n=3）

Fig.1　Particle Size, ζ Potential, and PDR Changes of **1** Liposomes Atomized at － 60 ℃ during Spray Freezing Process（n=3）



A—S_U ④的粒径和 PDI（■）；B—S_U ④的 ζ 电位；C—S_U ④的 PDR；D—S_T ④的粒径和 PDI（■）；E—S_T ④的 ζ 电位；F—S_T ④的 PDR。

冷冻温度分别为：▤—－40 ℃；▥—－60 ℃；▦—－196 ℃。

图 2　1 脂质体在不同温度冷冻干燥过程中的粒径、ζ 电位及 PDR 变化（*n*=3）

Fig.2　Particle Size, ζ Potential, and PDR Changes of **1** Liposomes Atomized at Different Temperatures during Spray Freezing Process (*n*=3)

药物保留率（percent drug retention，PDR）可用于评价冻干后脂质体内部药物的泄露情况。本试验中，PDR 设定为 **1** 脂质体干粉微粒复水并经透析除去游离药物后的包封率与混合步骤前 **1** 脂质体包封率的百分比[11]。结果（图 1C、F 和 2C、F）显示，冷冻温度为－40 和－60 ℃时，经 SFD 处理的 **1** 脂质体微粒基本未发生药物泄漏；但采用双流体雾化的 **1** 脂质体在－196 ℃冻干，复水后发生严重泄漏，PDR 低于 80%（图 2F）。

2.3　1 脂质体干粉微粒的结构表征及性能评价

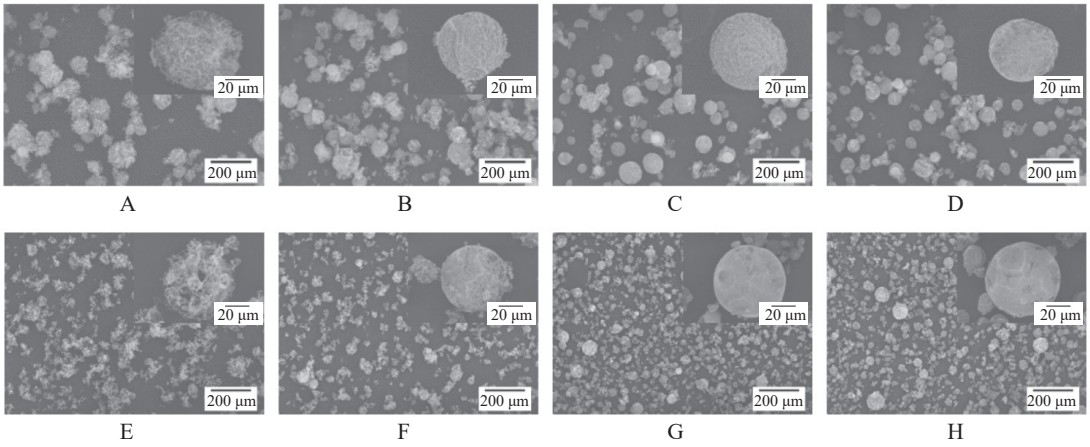
2.3.1　1 脂质体干粉微粒的微观形貌

采用 SEM 观察微粒形貌。取“**2.1**”项下样品进行喷金处理，设置加速电压为 15 kV、电流为 40 mA，采集图像。结果（图 3）显示，**1** 脂质体干粉微粒均为多孔球形颗粒；且随着 **3** 用量的增加，微粒表面出现一层薄膜且开放孔逐渐减少，微粒间分散性增强（图 3A ～ D）；与超声雾化处理组微粒相比，双流体雾化处理组微粒的粒径略小且表面更加致密，微粒碎片更多（图 3E ～ H）。

如图 4 所示，采用 MFJSFT，冷冻温度为－60 ℃的 **1** 脂质体干粉微粒表面开放孔较冷冻温度－40 ℃组增多；－40 ℃冷冻干燥的 S_T ⑤微粒相互黏附，不能支撑微粒的球形结构（图 4D）；与 MFJSFT 处理组相比，液氮（－196 ℃）冷冻干燥组微粒表面有较致密的薄层，微粒的球形结构更完整（图 4C、F）。

2.3.2　体外递送性能测试

将 **1** 脂质体干粉灌装于 HPMC 胶囊壳中并置入 Breezhaler® 吸入器，设置吸入气流量为 60 L/min，进行测试，采用激光衍射粒度分析仪检测样品的粒径［*d*(0.5)］。通过 NGI 对 **1** 脂质体微粒的空气动力学特性进行定量分析，采用 HPLC 法测定 NGI 各层级中的药物含量，采用 CITDAS 3.10 软件计算微细

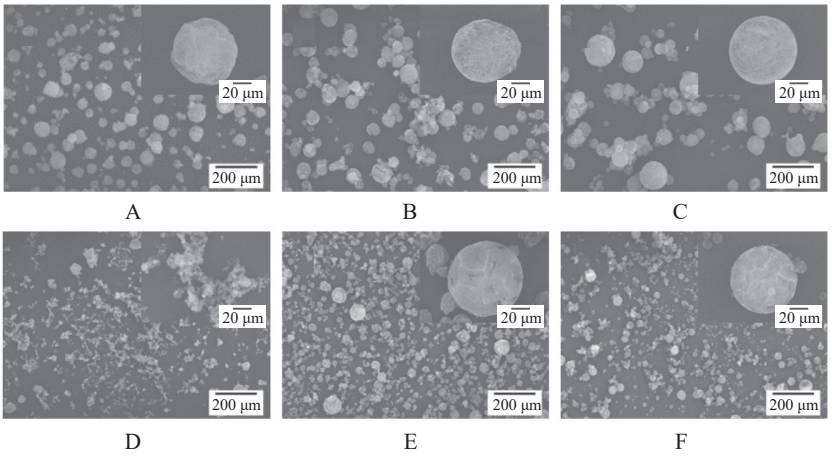


A—S_U ①；B—S_U ②；C—S_U ③；D—S_U ④；E—S_T ①；F—S_T ②；G—S_T ③；H—S_T ④。

注：大图放大倍数为 ×100，图中图为 ×1 000。

图 3　不同处方 1 脂质体干粉的 SEM 照片

Fig.3　SEM Images of **1** Liposomal Dry Powder with Different Formulations



A—S_U ⑤；B—S_U ④；C—S_U ⑥；D—S_T ⑤；E—S_T ④；F—S_T ⑥。

注：大图放大倍数为 ×100，图中图为 ×1 000。

图 4　不同温度冷冻的 1 脂质体干粉的 SEM 照片

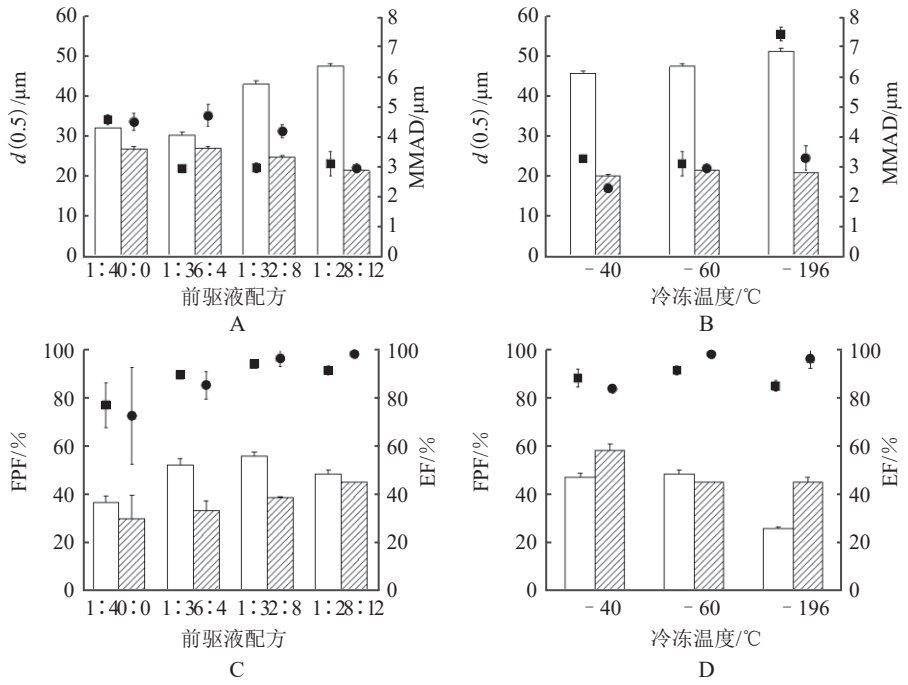
Fig.4　SEM Images of **1** Liposomal Dry Powder Frozen at Different Temperatures

粒子分数（fine particle fraction，FPF）、空气动力学质量中值粒径（mass median aerodynamic diameter，MMAD）、几何标准差（geometric standard deviation，GSD）和排空率（emitted fraction，EF）。

色谱条件：色谱柱 Ultimate® XB-C_{18} 柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）；流动相 0.02%的乙酸铵水溶液和乙腈（体积比 65∶35，pH 3）；检测波长 305 nm；柱温 35 ℃；流速 1.2 mL/min；进样量 20 μL。

以峰面积（*A*）为纵坐标，**1** 质量浓度（*c*）为横坐标进行线性回归，结果 **1** 在 0.005 ～ 10 μg/mL 时与峰面积线性关系良好，标准曲线方程为 A=1.873 03c − 0.004 34，R^2=0.999 9。

结果（图 5）显示，随着 **3** 用量的增加，超声雾化处理组微粒的 d(0.5) 由 30 μm 逐渐增至 47 μm，而 FPF 值先增加后下降；而双流体雾化处理组微粒的 d(0.5) 由 26 μm 逐渐降至 20 μm，FPF 值则持续增加。S_U ⑤组和 S_U ④组微粒的 d(0.5) 和 FPF 值均分别约为 45 μm 和 48%，2 种处方间无明显差异；而 S_T ⑤组和 S_T ④组微粒的 d(0.5) 均约为 20 μm，但 FPF 值分别为 58% 和 45%。S_T ⑥组微粒的



A—－ 60 ℃冷冻组脂质体微粒的 *d*(0.5) 和 MMAD；B—－ 40、－ 60 和－ 196 ℃冷冻组脂质体微粒的 *d*(0.5) 和 MMAD；C—－ 60 ℃冷冻组脂质体微粒的 FPF 和 EF；D—－ 40、－ 60 和－ 196 ℃冷冻组脂质体微粒的 FPF 和 EF。□—S_U 微粒（左侧数轴）；▨—S_T 微粒（左侧数轴）；■—S_U 微粒（右侧数轴）；●—S_T 微粒（右侧数轴）。

图 5 1 脂质体微粒的粒径和体外递送性能（*n*=3）

Fig.5 Particle Size and *in vitro* Delivery Performance of **1** Liposomes (*n*=3)

d(0.5) 和 FPF 值与其他冷冻温度组相比无明显变化，但 S_U ⑥组微粒 *d*(0.5) 值增至 50 μm，FPF 值明显降低（<30%）。

3 总结与讨论

3.1 3 含量对 1 脂质体结构和微粒性能的影响

1 脂质体的粒径在混合和雾化阶段基本未发生变化，而随着 **3** 用量增加，冷冻后 **1** 脂质体的粒径逐渐增大。这主要是由于具有烃侧链的 **3** 在冻融过程中损伤了脂质体膜。另外，也可能是由于脱水后 **3** 疏水端的氨基插入 **1** 脂质体的双层结构中[12]，导致干燥或复水时磷脂分子间发生重新自组装。但由于 **3** 在水中的溶解度较低，复水时阻止了部分磷脂分子在水中的重新组合，最终造成干燥复水后 **1** 脂质体的粒径先增大后减小。混合过程中，海藻糖分子会与水分子结合[13]，降低体系自由水的含量，进而减缓 **1** 脂质体电泳迁移率，使 ζ 电位绝对值降低[14]。

添加 **3** 后，**1** 脂质体干粉微粒表面开放孔减少且微粒间分散性增强，微粒的 EF 值由 70%提升近 90%，同时 FPF 值增大，如 S_U ①和 S_U ②的 FPF 值分别为 36%和 52%。这主要是由于 **3** 作为疏水性辅料，干燥过程中逐渐在微粒表面富集[15]，降低了微粒的表面能和内聚力，并支撑了微粒的球形结构。但随着 **3** 用量增加且在微粒表面持续富集，超声雾化处理组微粒的 *d*(0.5) 增大，进而降低了其 FPF 值；而随着 **3** 含量增加，双流体雾化处理组微粒 *d*(0.5) 逐渐减小，故其 FPF 值呈递增趋势。

3.2 雾化器种类、冷冻温度及冷冻方式对 1 脂质体结构和微粒性能影响

相较于超声雾化器，双流体雾化器输入的能量会影响 **1** 脂质体的稳定性（ζ 电位绝对值均≤ 30 mV），且由于双流体雾化处理组微粒的粒径较小，**1** 脂质体在复水过程中可快速自组装，导致干燥复水后的 **1** 脂质体粒径更大且 ζ 电位绝对值较小。不仅如此，随着 **3** 逐渐在表面富集，阻止了干燥过程中水分的升华，导致双流体雾化处理组部分微粒相互黏附、团聚，降低其 FPF 值（<40%）。

MFJSFT 和液氮冷冻均未影响冷冻后 **1** 脂质体的粒径。但与 MFJSFT 处理相比，液氮冷冻速率更快，冷冻时部分 **3** 来不及与 **2** 结合，导致干燥过程中 **3** 更多地与 **1** 脂质体发生融合，使脂质体粒径增至 700 nm，破坏其结构，进而引发严重的药物泄漏（PDR 低于 80%）。此外，采用液氮冷冻干燥的 **1** 脂质体干粉复水后稳定性降低，其 ζ 电位绝对值为 30 mV，而采用 MFJSFT 冷冻干燥后 **1** 脂质体的 ζ 电位绝对值为 40 mV。液氮条件下形成的冰晶，成核速度快但生长慢，冰晶升华后呈现多而小的孔隙，导致微粒表面有较致密的薄层。超声雾化形成的液滴在液氮中可快速冷冻成较大的冰球，且未发生破碎，因而 S_U ⑥的 d(0.5) 较大（50 μm），FPF 值较低（25%）。S_U ⑤和 S_U ④的 d(0.5) 和 FPF 值均分别为 45 μm 和 48%；而双流体雾化形成的液滴在液氮中并未形成较大的冰球，3 种温度制备的微粒 d(0.5) 均 20 μm，但 S_T ⑤的 FPF 值较高，为 58%。

3.3 总结

本研究表明，**3** 提升了 **1** 脂质体干粉微粒的分散性，双流体雾化器使干粉微粒的 d(0.5) 更小，改善了递送性能。与液氮（－196 ℃）相比，借助 MFJSFT 在－40 ℃冷冻，保护剂能更好地发挥作用。综上所述，将 **1** 脂质体、**2**、**3** 按质量比为 1∶28∶12 配制成前驱液，经双流体雾化器雾化后在－40 ℃制备的微粒，体外递送性能更佳，FPF 值达 58%，PDR 达 90%以上。后续研究中，可选用微柱离心法代替透析法测定包封率。另外，可通过调控真空冷冻干燥的冷冻温度、时间和压力来维持脂质体的结构，并改善微粒分散性。

致谢：苏州胶囊有限公司提供胶囊壳。

参考文献：

[1] LIU P, CHEN G L, ZHANG J C. A review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives [J]. *Molecules*, 2022, **27**(4): 1372.

[2] SHIRLEY M. Amikacin liposome inhalation suspension: a review in mycobacterium avium complex lung disease [J]. *Drugs*, 2019, **79**: 555-562.

[3] HOY S M. Amikacin liposome inhalation suspension in refractory mycobacterium avium complex lung disease: a profile of its use [J]. *Clin Drug Investig*, 2021, **41**(4): 405-412.

[4] 李广宝, 张　潇, 杜林龙, 等. 纳米药物递送系统在肺部吸入给药中的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2024, **55**(10): 1343-1349.

[5] YU J Y, CHUESIANG P, SHIN G H, *et al*. Post-processing techniques for the improvement of liposome stability [J]. *Pharmaceutics*, 2021, **13**(7): 1023.

[6] ADALI M B, BARRESI A A, BOCCARDO G, *et al*. Spray freeze-drying as a solution to continuous manufacturing of pharmaceutical products in bulk [J]. *Processes*, 2020, **8**(6): 709.

[7] FARINHA S, SÁ J V, LINO P R, *et al*. Spray freeze drying of biologics: a review and applications for inhalation delivery [J]. *Pharm Res*, 2023, **40**: 1115-1140.

[8] BOAFO G F, MAGAR K T, EKPO M D, *et al*. The role of cryoprotective agents in liposome stabilization and preservation [J]. *Int J Mol Sci,* 2022, **23**(20): 12487.

[9] WANG Z, WANG H, VEHRING R. Leucine enhances the dispersibility of trehalose-containing spray-dried powders on exposure to a high-humidity environment [J]. *Int J Pharm*, 2021, **601**: 120561.

[10] ZHANG R, YUAN L L, SUN K Y, *et al*. Preparation and partition coefficient determination of nano-resveratrol liposomes [J]. *Acta Physco-Chimca Sin*, 2020, **36**(6): 1905090.

[11] VANZA J D, SHAH D M, PATEL R B, *et al*. Afatinib liposomal dry powder inhaler: targeted pulmonary delivery of EGFR inhibitor for the management of lung cancer [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2022, **74**: 103506.

[12] ANCHORDOGUY T, CARPENTER J F, LOOMIS S H, *et al*. Mechanisms of interaction of amino acids with phospholipid bilayers during freezing [J]. *Biochim Biophys Acta,* 1988, **946**(2): 299-306.

[13] KUMAR A, CINCOTTI A, APARICIO S. Insights into the interaction between lipid bilayers and trehalose aqueous solutions [J]. *J Mol Liq*, 2020, **314**: 113639.

[14] SMITH M C, CRIST R M, CLOGSTON J D, *et al*. ζ potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes [J]. *Anal Bional Chem* , 2017, **409**: 5779-5787.

[15] ALHAJJ N, O'REILLY N J, CATHCART H. Leucine as an excipient in spray dried powder for inhalation [J]. *Drug Discov Today*, 2021, **26**(10): 2384-2396.