

高良姜素自胶束化固体分散体的制备、口服药动学和降血糖作用评价

孙 丽¹, 李瑞华¹, 吉媛媛¹, 郝海军^{2*}

1. 濮阳医学高等专科学校, 河南 濮阳 457000

2. 上海市中药研究所, 上海 201401

摘要: 目的 制备高良姜素自胶束化固体分散体 (Gal-SMSD), 考察其相对生物利用度和降血糖作用。方法 以 Gal-SMSD 自组装胶束的包封率、载药量和沉降率为指标, 单因素试验结合 Box-Behnken 设计-效应面法优化 Gal-SMSD 处方工艺。透射电镜 (TEM) 观察自组装胶束形貌, X 射线粉末衍射法 (XRPD) 分析晶型, 傅里叶红外光谱法 (FTIR) 研究结合机制。透析袋法考察 Gal-SMSD 在模拟胃肠液中释药行为。以高良姜素为对比, 比较 Gal-SMSD 口服药动学行为。构建大鼠 2 型糖尿病 (T2DM) 模型, 考察高良姜素 (50 mg·kg⁻¹) 和 Gal-SMSD 低、中、高剂量 (10、30、50 mg·kg⁻¹) 对 T2DM 小鼠血糖、血清天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Crea) 水平、口服糖耐量的影响。结果 Gal-SMSD 最佳处方: 载药比 7.05:1, 制备温度为 51.00 °C, 制备时间为 2.00 h。Gal-SMSD 自组装形成胶束包封率为 (93.47±1.19)%, 载药量为 (11.62±0.20)%, 沉降率为 (1.36±0.13)%, 粒径为 (66.19±4.33) nm, Zeta 电位为 (-11.74±0.95) mV。Gal-SMSD 自组装胶束呈类球形, 高良姜素以无定型形式存在于 Gal-SMSD 粉末中, 高良姜素和 mPEG-PLA 之间可能发生了氢键结合力。Gal-SMSD 体外行为符合 Weibull 模型, 12 h 累积释放率提高至 84.16%。药动学结果显示 Gal-SMSD 达峰浓度 (C_{max}) 为 (1 669.78±306.13) ng·mL⁻¹, 半衰期 (t_{1/2}) 延长至 (4.77±0.91) h, 相对口服吸收生物利用度提高至高良姜素的 5.16 倍。与模型组比较, Gal-SMSD 高剂量 (50 mg·kg⁻¹) 可使 T2DM 小鼠血糖显著下降, 血清 AST、ALT、BUN、Crea 水平均显著降低 (P<0.05、0.01), 并显著改善耐糖量, 效果明显好于高良姜素 (50 mg·kg⁻¹)。结论 Gal-SMSD 可促进高良姜素体内口服吸收, 增强对 T2DM 小鼠的降血糖作用。

关键词: 高良姜素; 自组装胶束; Box-Behnken 设计-效应面法; 药动学; 生物利用度; 降血糖

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)01-0143-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.01.014

Preparation, oral pharmacokinetic and glucose-decreasing effects evaluation of Galangin-loaded self-micelle solid dispersion

SUN Li¹, LI Ruihua¹, JI Yuanyuan¹, HAO Haijun²

1. Puyang Medical College, Puyang 457000, China

2. Shanghai Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201401, China

Abstract: Objective To prepare galangin-loaded self-micelle solid dispersion (Gal-SMSD), relative bioavailability and glucose-decreasing effects *in vivo* were investigated. **Methods** Encapsulation efficiency, drug loading and sedimentation rate of self-assembled micelles of Gal-SMSD were acted as evaluation indexes, formulation of Gal-SMSD was optimized though single factor experiment and Box-Behnken design-response surface method. Morphology of self-assembled micelles was observed by transmission electron microscopy (TEM), galangin crystal form in Gal-SMSD powder was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD), fourier infrared spectroscopy (FTIR) was used to study the binding mechanism. Drug release behavior of Gal-SMSD in simulated gastrointestinal fluid were also investigated. Oral pharmacokinetic behavior of Gal-SMSD was compared in contrast to galangin. The model of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in rats was established to investigate the effects of galangin (50 mg·kg⁻¹) and Gal-SMSD at low, medium and high doses (10, 30, 50 mg·kg⁻¹) on blood glucose, serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urea nitrogen (BUN), creatinine (Crea) levels, and oral glucose tolerance in T2DM mice. **Results** Optimal preparation of Gal-

收稿日期: 2024-09-06

基金项目: 上海市科委项目 (21S21903400)

作者简介: 孙 丽 (1988—), 女, 讲师, 研究方向为临床药理学及糖尿病治疗研究。E-mail: sunli123456789@126.com

*通信作者: 郝海军 (1981—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为中药新技术。E-mail: haohj@shlys.com

SMSD: carrier to drug ratio was 7.05 : 1, preparation temperature was 51.00 °C and preparation time was 2.00 h. Encapsulation efficiency, drug loading, sedimentation rate, particle size and Zeta potential of the self-assembled micelles were (93.47 ± 1.19) %, (11.62 ± 0.20)%, (1.36 ± 0.13)%, (66.19 ± 4.33) nm and (-11.74 ± 0.95) mV, respectively. The shape of self-assembled micelles was spherical, and galangin existed as an amorphous form in Gal-SMSD powder. There might be a hydrogen bonding between galangin and mPEG-PLA. The release behavior of Gal-SMSD was in accordance with Weibull model, and the cumulative release rate increased to 84.16% in 12 h. Pharmacokinetic results showed that C_{max} of Gal-SMSD was increased to (1 669.78 ± 306.13) ng·mL⁻¹, $t_{1/2}$ was prolonged to (4.77 ± 0.91) h, and its relative bioavailability was increased to 5.16 times that of galangin. Compared with the model group, high doses of GAL-SMSD (50 mg·kg⁻¹) significantly reduced blood glucose levels, serum AST, SLT, BUN, and Crea levels in T2DM mice ($P < 0.05, 0.01$), and significantly improved glucose tolerance, with a significantly better effect than the galangin (50 mg·kg⁻¹) group. **Conclusion** Gal-SMSD could promote oral absorption of galangin *in vivo*, and significantly decrease blood glucose in T2DM mice.

Key words: galangin; self-assembled micelles; Box-Behnken design-response surface method; pharmacokinetic; bioavailability; glucose-decreasing effects

高血糖是糖尿病的主要特征, 不进行有效控制会诱发各种糖尿病并发症。化药副作用大、不良反应高, 近年来医药研究者逐步将研发重心转向安全性高的中药领域。高良姜素是一种黄酮类化合物, 主要存在于高良姜根茎中^[1]。高良姜素可通过调节葡萄糖稳态, 逆转糖酵解和糖异生酶的变化, 从而表现出较强的抗糖尿病活性^[2]。高良姜素还可用于治疗糖尿病相关并发症^[3], 比如糖尿病心肌病^[4]、糖尿病肾病^[5]等。高良姜素毒性低^[6], 具备开发价值。高良姜素脂溶性良好, 但在不同 pH 值水介质中溶解度均小于 1.0 μg·mL⁻¹^[7], 导致溶出速率和溶出度受到极大影响。高良姜素在胃肠液中降解严重^[8], 存在 P-糖蛋白外排现象^[9], 导致口服吸收生物利用度仅约 7.6%^[10]。因此, 推广高良姜素在临床上使用需首先解决其口服利用较差问题。高良姜素新型制剂研究有胶束^[7]、脂质纳米粒^[11]、纳米乳^[12]等, 但普通胶束需通过冷冻干燥除去体系中水分, 工艺步骤繁琐; 脂质纳米粒载药量较低, 辅料种类多, 工业化生产难度大; 纳米乳含有大量表面活性剂, 可能影响制剂安全性。

固体分散体一般是将难溶性药物高度分散于亲水性载体而得到的一种固体粉末^[13], 但固体分散体在胃肠道中易析晶^[14], 因而限制了促吸收作用。自胶束化固体分散体 (SMSD) 系采用两亲性聚合物为载体而得到的一种固体粉末, SMSD 继承了两亲性聚合物的特点, 遇水即可自组装形成胶束^[14-15]。与普通纳米胶束制剂相比, SMSD 无需冻干工艺即可得到固体粉末, 因而制剂中辅料种类更少, 载药量更高。本研究首先筛选合适载体, 将高良姜素制备成自胶束化固体分散体 (Gal-SMSD), 单因素试验结合 Box-Behnken 设计-效应面法优化

Gal-SMSD 处方工艺。对 Gal-SMSD 口服药动学及降血糖作用进行考察, 为评价 Gal-SMSD 成药性提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

BSA-124S 型电子分析天平 (德国赛多利斯仪器公司); WH420 型磁力搅拌器 (北京维根技术有限公司); 1200 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); TENLIN 型超声仪 (江苏天翔仪器有限公司); GENIUS-16K 型高速离心机 (湖南鑫奥科学仪器有限公司); IR5 型傅里叶变换红外光谱仪 (英国爱丁堡仪器公司); D8-ADVANCE 型 X 射线衍射仪 (瑞士布鲁克仪器公司); Talos F200X S 型透射电子显微镜 (赛默飞世尔科技有限公司); Master-sizer 型粒度分析仪 (英国马尔文仪器公司); L-TSC 型氮气吹扫仪 (合肥兰杰柯科技有限公司); ACCU-CHEK 型血糖仪 (中国罗氏制药有限公司)。

1.2 药物与主要试剂

高良姜素原料药 (批号 20220501, 质量分数 98%, 上海鼓臣生物技术有限公司); 高良姜素对照品 (批号 CFS201802, 质量分数 99.2%, 上海源叶生物科技有限公司); 甲氧基-聚乙二醇-聚乳酸 (mPEG-PLA, 批号 256695H1, 德国巴斯夫公司); 漆黄素对照品 (批号 RP220120, 质量分数 99.2%, 成都麦德生科技有限公司); 模拟胃液、模拟肠液 (批号分别为 20240201 和 20240212, 广州臻萃质检技术服务有限公司); 高脂饲料 (批号 20230915, 沈阳茂华生物技术有限公司); 葡萄糖 (批号 20230211, 国药集团化学试剂有限公司); 盐酸二甲双胍 (批号 20221201, 大连美仑生物技术有限公司); 链脲佐菌素 (批号 51852K78, 美国 Sigma 公司)。

1.3 实验动物

SD 大鼠购自河南省实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SCXK(豫)2020-0001, 体质量 200~220 g, 雌雄兼用, 动物实验经濮阳医学高等专科学校伦理委员会批准, 批准号 DWLL-DS-202312。

2 方法与结果

2.1 高良姜素与材料相容性考察

采用溶解度参数法考察高良姜素与载体的相容性。溶解度参数 (δ_t) 分为色散力能 (F_d)、极性能 (F_p) 和氢键能 (F_h), 这些参数可根据高良姜素结构式采用基团贡献理论计算得到^[14,16]。色散力分量 (δ_d)、极性分量 (δ_p)、氢键分量 (δ_h) 和溶解度参数 (δ_t) 计算公式依次如下:

$$\delta_d = \frac{\sum F_{di}}{V}, \quad \delta_p = \frac{\sqrt{\sum F_{pi}^2}}{V}, \quad \delta_h = \frac{\sqrt{\sum E_{hi}}}{V}, \quad \delta_t = (\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2)^{1/2}$$

计算得高良姜素 δ_t 为 16.8 MPa^{1/2}, 同法计算得聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus)、聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30)、mPEG-PLA、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、聚乙二醇 6000 (PEG 6000) 的 δ_t 分别为 23.4、22.5、17.7、22.4、20.1 MPa^{1/2}。其中 mPEG-PLA 与高良姜素 $\Delta\delta_t$ 最小 (仅 0.9 MPa^{1/2}), $\Delta\delta$ 值越小表示药物与材料相容性越好, 故选用 mPEG-PLA 来制备 Gal-SMSD。

2.2 Gal-SMSD 制备及自组装胶束

取高良姜素 20 mg 和处方量 mPEG-PLA 粉末置于茄形瓶, 加入无水乙醇 20 mL, 一定温度下 600 r·min⁻¹ 磁力搅拌一定时间, 减压旋蒸除去无水乙醇即得 Gal-SMSD 粉末, 置于 35 °C 真空干燥箱中过夜干燥, 粉碎过 80 目筛, 密封保存。同法制备缺高良姜素的阴性样品。取 Gal-SMSD 粉末约 5 mg, 加入 20 mL 蒸馏水, 超声 30 s, 使用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得自组装形成的纳米胶束混悬液。

2.3 Gal-SMSD 中高良姜素含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 柱温为 35 °C; 检测波长为 267 nm; 流动相为乙腈-0.2% 磷酸水溶液 (45 : 55); 进样量为 10 μ L; 体积流量为 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数以高良姜素计不低于 7 000。

2.3.2 供试品溶液的配制 取 Gal-SMSD 粉末约 10 mg 置 100 mL 量瓶, 加入适量甲醇后超声 10 min, 甲醇稀释定容, 摇匀。精密取 2 mL 置 10 mL 量瓶, 加流动相稀释定容, 摇匀即得 Gal-SMSD 供试品溶液。

2.3.3 对照品溶液的配制及标准曲线 精密称取高

良姜素对照品适量, 采用乙腈稀释成 200 μ g·mL⁻¹, 作为高良姜素对照品储备液。精密取高良姜素对照品储备液适量, 采用乙腈稀释成 10.00、5.00、1.00、0.50、0.25、0.05 μ g·mL⁻¹, 分别按“2.3.1”色谱条件测定各质量浓度 (C) 的峰面积 (A), 线性回归得方程: $A = 26.7715C + 1.3045$ ($r = 0.9999$), 线性浓度为 0.05~10.00 μ g·mL⁻¹。

2.3.4 专属性考察 取阴性样品按“2.3.2”项方法制备阴性样品溶液, 取高良姜素对照品溶液和 Gal-SMSD 供试品溶液分别按“2.3.1”项条件检测, 记录色谱图。结果见图 1, 表明专属性高。

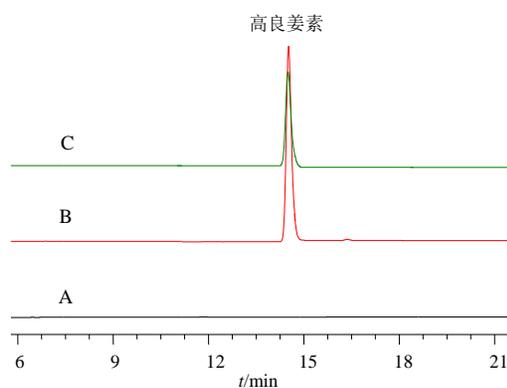


图 1 阴性样品 (A)、高良姜素对照品溶液 (B) 和 Gal-SMSD 样品溶液 (C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of negative sample (A), galangin reference substance (B) and GAL-SMSD sample solution (C)

2.3.5 稳定性考察 取 Gal-SMSD 供试品溶液于 0、2、4、8、12、24 h 测定, 测得高良姜素峰面积 RSD 值为 0.53% ($n = 6$), 表明供试品溶液稳定性良好。

2.3.6 精密度考察 分别取 10.00、1.00、0.05 μ g·mL⁻¹ 对照品溶液分别进样测试 6 次, 测得高良姜素峰面积 RSD 分别为 0.30%、0.86%、0.69% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

2.3.7 重复性考察 取 Gal-SMSD 粉末, 按“2.3.2”项下操作平行制备 6 份供试品溶液, 并进行测定, 测得高良姜素含量 RSD 值为 1.35% ($n = 6$), 表明重复性较好。

2.3.8 回收率考察 精密取 Gal-SMSD 粉末约 5 mg 置 100 mL 量瓶, 共 9 份, 分为低、中、高组。分别按高良姜素含量的 50%、100%、150% 加入高良姜素对照品, 继续按“2.3.2”项下方法处理, 测定高良姜素的总含量。计算得平均回收率为 101.03%, RSD 值为 1.74% ($n = 9$), 表明准确度较高。

2.4 Gal-SMSD 自组装胶束质量指标测定

取 Gal-SMSD 自组装胶束 1 mL (经 0.22 μm 微孔滤膜滤过) 置截留相对分子质量为 1×10⁴ 超滤离心管中, 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 测定滤管内高良姜素的量 ($m_{\text{封装量}}$), 按“2.3”项下方法测定 Gal-SMSD 高良姜素总量 ($m_{\text{总药量}}$), 计算 Gal-SMSD 自组装胶束封装率、Gal-SMSD 自组装胶束载药量。取 Gal-SMSD 自组装胶束于 8 °C 冰箱放置 7 d, 取出过 0.22 μm 微孔滤膜, 测定滤液中高良姜素的量 (m_{7d}), 计算沉降率。取 0.5 mL 的 Gal-SMSD 自组装胶束, 加入 15 mL 蒸馏水, 摇匀经粒度分析仪测定粒径、多分散指数 (PDI) 和 Zeta 电位。

$$\text{Gal-SMSD 自组装胶束封装率} = m_{\text{封装量}} / m_{\text{总药量}}$$

$$\text{Gal-SMSD 自组装胶束载药量} = m_{\text{封装量}} / (m_{\text{载体}} + m_{\text{总药量}})$$

$$\text{沉降率} = (m_{\text{封装量}} - m_{7d}) / m_{\text{封装量}}$$

$m_{\text{载体}}$ 代表 mPEG-PLA 材料总量

2.5 单因素考察 Gal-SMSD 处方工艺

2.5.1 载药比的考察

高良姜素 20 mg, 制备时间为 2 h 和制备温度为 50 °C 条件下考察载药比 (mPEG-PLA 与高良姜素用量比) 对 Gal-SMSD 自组装胶束封装率、载药量和沉降率的影响, 结果见表 1。随着 mPEG-PLA 比例的增加, Gal-SMSD 自组装胶束封装率逐渐增加后趋稳, 表明增加 mPEG-PLA 用量可提高封装率, 但 mPEG-PLA 用量继续增加时并不能进一步提高封装率。载药量随着 mPEG-PLA 比例的增加而逐渐下降, 说明 mPEG-PLA 用量过大时造成材料浪费, 影响载药量。沉降率随着 mPEG-PLA 比例的增加而逐渐下降, 说明 mPEG-PLA 用量增加利于提高 Gal-SMSD 自组装胶束的稳定性。因此载药比对 Gal-SMSD 自组装胶束封装率、载药量和沉降率影响较大, 当载药比为 7 : 1 时封装率达 90%, 载药量大于 11%, 且 Gal-SMSD 自组装胶束的沉降率低于 2%, 故后续以载药比为 7 : 1 为中心, 选择 6 : 1~8 : 1 进行优化。

2.5.2 制备温度的考察

高良姜素 20 mg, 载药比

表 1 载药比的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Investigation of carrier-drug ratio ($\bar{x} \pm s, n=3$)

载药比	封装率/%	载药量/%	沉降率/%
5 : 1	76.10±1.17	12.44±0.29	5.56±0.66
6 : 1	83.76±0.95	11.72±0.21	3.61±0.52
7 : 1	90.24±1.24	11.26±0.32	1.95±0.44
8 : 1	90.19±0.98	10.04±0.24	1.79±0.27
9 : 1	90.31±1.10	9.33±0.18	1.76±0.21

为 7 : 1, 制备时间 2 h 条件下考察制备温度对 Gal-SMSD 的影响, 结果见表 2。随着制备温度的升高 Gal-SMSD 自组装胶束封装率和载药量均先增加后下降, 可能是合适的温度利于 mPEG-PLA 结构上基团充分舒展^[17], 进而包载药物, 但温度过高时对 mPEG-PLA 的稳定性产生影响^[17-18], 进而导致 Gal-SMSD 载药能力下降。制备温度过低或过高时对 Gal-SMSD 沉降率均会产生影响, 可能是制备温度过低时影响了 mPEG-PLA 活性, 导致与药物结合力较弱, 药物易析出; 制备温度较高时 mPEG-PLA 稳定性下降, 导致沉降率升高。当制备温度为 50 °C 时 Gal-SMSD 自组装胶束封装率和载药量相对较高, 且沉降率相对较低, 故后续以制备温度 50 °C 为中心, 选择 45~55 °C 进行优化。

表 2 制备温度的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Investigation of preparation temperature

($\bar{x} \pm s, n=3$)

制备温度/°C	封装率/%	载药量/%	沉降率/%
40	80.64±1.24	9.95±0.14	3.33±0.29
45	86.85±1.03	10.51±0.27	2.04±0.15
50	92.26±0.97	11.43±0.32	1.63±0.18
55	85.15±0.94	10.44±0.19	2.27±0.27
60	83.88±1.17	10.49±0.24	3.09±0.32

2.5.3 制备时间的考察

高良姜素 20 mg, 载药比为 7 : 1, 制备温度为 50 °C 条件下考察制备时间对 Gal-SMSD 的影响, 结果见表 3。随着制备时间的延长, Gal-SMSD 自组装胶束封装率和载药量均先增加后下降, 可能是制备时间较短时 mPEG-PLA 活化程度不足, 影响了 mPEG-PLA 与高良姜素之间的结合, 进而对 Gal-SMSD 载药产生影响; 制备时间较长时可能影响 mPEG-PLA 材料稳定性, 导致药物泄漏^[18]。制备时间过短或过长均会导致沉降率增大, 表明制备时间会影响 Gal-SMSD 自组装胶束稳定性。当制备时间为 2 h 时 Gal-SMSD 自组装胶束封装率和载药量相对较高, 且沉降率相对较低, 故后续以

表 3 制备时间的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Investigation of preparation time ($\bar{x} \pm s, n=3$)

制备时间/h	封装率/%	载药量/%	沉降率/%
1.0	72.19±0.95	8.92±0.16	4.19±0.17
1.5	87.84±1.04	10.77±0.23	2.34±0.10
2.0	92.71±1.13	11.67±0.17	1.55±0.11
2.5	86.55±0.96	10.59±0.24	2.22±0.24
3.0	83.02±1.33	9.81±0.20	2.78±0.38

制备时间 2 h 为中心, 选择 1.5~2.5 h 进行优化。

2.6 Box-Behnken 设计-响应面法优化 Gal-SMSD 处方

2.6.1 试验设计 将载药比、制备温度、制备时间作为 Gal-SMSD 自组装胶束的主要影响因素, 分别标记为 X_1 、 X_2 、 X_3 , 参考“2.5”项下考察结果, 各因素水平设置见表 4。包封率、载药量和沉降率是 Gal-SMSD 自组装胶束主要质量指标, 期望 Gal-SMSD 自组装胶束具有较高包封率和载药量, 且较低的沉降率(该指标越低表示胶束稳定性较高), 为从整体上控制胶束质量, 故将这 3 个指标转换为归一值。归一值计算过程为: 包封率(d_1)和载药量(d_2)采用公式 $d = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$ 计

算, 其中 M_i 为测量值, M_{\min} 和 M_{\max} 为试验中最小值和最大值; 粒径(d_3)采用公式 $d = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$ 计算; 归一值 = $(d_1 \times d_2 \times d_3)^{1/3}$ 。不同处方 Gal-SMSD 包封率、载药量、沉降率和归一值结果见表 5。

表 4 因素水平

Table 4 Factors and levels

因素	水平		
	-1	0	1
载药比 (X_1)	6 : 1	7 : 1	8 : 1
制备温度 (X_2 , °C)	45	50	55
制备时间 (X_3 , h)	1.5	2.0	2.5

表 5 Box-Behnken 试验设计结果

Table 5 Experiments results of Box-Behnken

序号	X_1	$X_2/^\circ\text{C}$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$	归一值
1	7 : 1	50	2.0	90.82	11.25	1.39	0.824
2	7 : 1	55	2.5	81.67	9.99	4.08	0.239
3	6 : 1	55	2.0	84.31	12.13	4.97	0.172
4	7 : 1	50	2.0	93.15	11.43	1.58	0.882
5	7 : 1	45	1.5	85.18	10.48	5.02	0.000
6	7 : 1	45	2.5	94.32	10.44	3.98	0.356
7	7 : 1	50	2.0	92.44	11.59	1.33	0.908
8	8 : 1	55	2.0	86.36	9.43	2.96	0.289
9	6 : 1	50	1.5	79.41	11.19	4.68	0.143
10	6 : 1	45	2.0	80.58	11.35	4.55	0.224
11	8 : 1	45	2.0	83.79	9.18	2.69	0.000
12	8 : 1	50	2.5	85.92	9.49	3.68	0.264
13	8 : 1	50	1.5	84.44	9.37	2.88	0.243
14	6 : 1	50	2.5	78.76	11.15	4.74	0.000
15	7 : 1	50	2.0	91.83	11.42	1.44	0.865
16	7 : 1	55	1.5	85.17	10.56	1.79	0.560
17	7 : 1	50	2.0	93.65	11.71	1.31	0.951

2.6.2 模型建立及分析 采用 Box-Behnken 设计-响应面软件(版本为 Design Expert V11.0.3)进行分析, 得归一值二次多元回归方程为: 归一值 = $0.89 + 0.032 X_1 + 0.085 X_2 - 0.011 X_3 + 0.085 X_1 X_2 + 0.041 X_1 X_3 - 0.17 X_2 X_3 - 0.42 X_1^2 - 0.29 X_2^2 - 0.30 X_3^2$, 模型 R^2 和 R_{adj}^2 值分别为 0.976 6 和 0.946 5, 仅有 5.35% 数据发生偏差。方差分析见表 6, 归一值二次多元回归方程模型 $P < 0.000 1$, 表明具有极显著性意义; 失拟项 $P = 0.070 4$ ($P > 0.05$), 表明未知因素干扰可忽略, 数学模型可信度较高。数学

模型中 X_2 项具显著差异 ($P < 0.05$), 而 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 项均具极显著差异 ($P < 0.01$)。

2.6.3 效应面优化与预测 Gal-SMSD 自组装胶束各个影响因素即载药比、制备温度和制备时间对归一值三维曲面图见图 2, 固定某一因素(取中间值), 随着另外 2 因素的增加, 归一值均呈先增加后下降趋势, 故归一值存在最大值。设置归一值为望大值(范围为 0~1), 得 Gal-SMSD 最佳处方工艺为载药比为 7.05 : 1, 制备温度为 50.84 °C, 制备时间为 1.97 h, 预测归一值为 0.959。

表 6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.88	9	0.21	32.44	<0.000 1
X ₁	8.18×10 ⁻³	1	8.18×10 ⁻³	1.27	0.297 0
X ₂	0.06	1	0.06	8.93	0.020 3
X ₃	9.48×10 ⁻⁴	1	9.48×10 ⁻⁴	0.15	0.712 7
X ₁ X ₂	0.03	1	0.03	4.52	0.071 1
X ₁ X ₃	6.79×10 ⁻³	1	6.79×10 ⁻³	1.05	0.338 9
X ₂ X ₃	0.11	1	0.11	17.81	0.003 9
X ₁ ²	0.74	1	0.74	115.48	<0.000 1
X ₂ ²	0.36	1	0.36	56.56	0.000 1
X ₃ ²	0.39	1	0.39	59.98	0.000 1
残差	0.05	7	6.45×10 ⁻³		
失拟项	0.04	3	0.01	5.30	0.070 4
绝对误差	9.07×10 ⁻³	4	2.27×10 ⁻³		
总和	1.93				

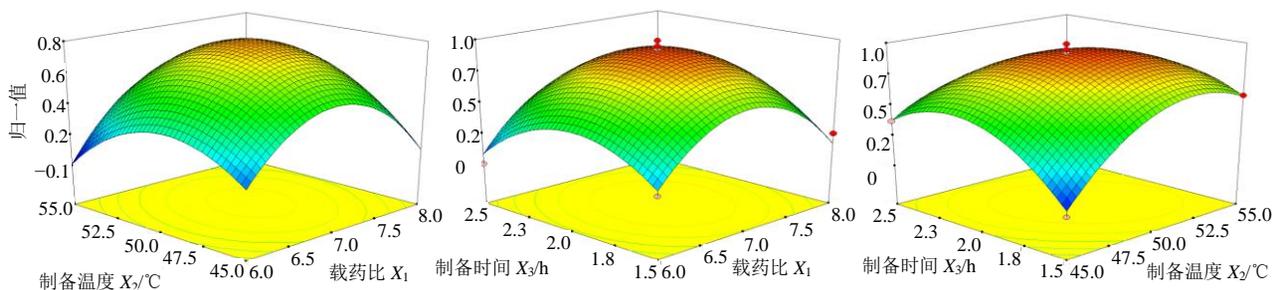


图 2 各因素与响应值三维图

Fig. 2 Three-dimensional plot of independent factors and response values

2.7 Gal-SMSD 处方工艺验证

为便于实际操作，将 Gal-SMSD 最佳工艺略作修正：Gal-SMSD 制备温度调整为 51.00 °C，制备时间调整为 2.00 h，而载药比 7.05 : 1 仍维持不变。平行制备 3 批 Gal-SMSD，测得其自组装纳米胶束包封率、载药量和沉降率分别为 (93.47±1.19) %、(11.62±0.20) %和 (1.36±0.13) %。按照“2.6.1”项下方法计算得实际归一值为 0.952，以预测归一值 (0.959) 为参考计算得实际归一值的相对偏差为 -0.73%，绝对值小于 1.00%，表明建立的数学模型可用于 Gal-SMSD 处方工艺研究。

2.8 Gal-SMSD 自组装胶束评价

2.8.1 Gal-SMSD 粉末及自组装胶束外观 取适量 Gal-SMSD 粉末，漏斗法测得 Gal-SMSD 粉末休止角为 33.8°，表明 Gal-SMSD 粉末流动性良好。按水分测定法(《中国药典》2020 年版四部通则 0832)操作，测得 Gal-SMSD 粉末水分为 3.4%。取 Gal-

SMSD 粉末约 5 mg，加入 20 mL 蒸馏水，超声 30 s，自组装胶束外观见图 3，带明显的淡蓝色乳光。测得 Gal-SMSD 自组装胶束平均粒径为 (66.19±4.33) nm，聚合物分散性指数 (PDI) 值为 (0.060±0.008)，Zeta 电位为 (-11.74±0.95) mV，见图 4。



图 3 Gal-SMSD 粉末 (A) 及自组装胶束 (B) 外观
Fig. 3 Appearance of Gal-SMSD powder (A) and self-assembled micelles suspension (B)

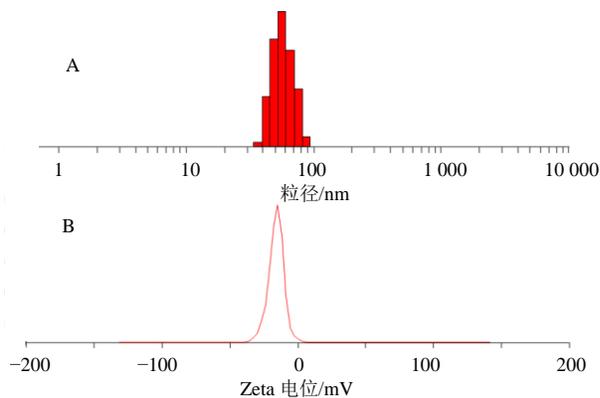


图 4 自组装胶束粒径分布 (A) 和 Zeta 电位 (B)

Fig. 4 Particle size distribution (A) and Zeta potential (B) of self-assembled micelles

2.8.2 Gal-SMSD 自组装胶束透射电镜观察 取 Gal-SMSD 自组装形成的胶束混悬液滴至铜网上, 铺展后滴加磷钨酸溶液 (质量浓度为 1.5%), 晾干后测试透射电镜 (电压 5.0 kV, 放大倍数 15 000)。结果见图 5, Gal-SMSD 自组装形成纳米胶束外貌呈类球形, 观察到的粒径与粒度仪测得粒径基本一致。

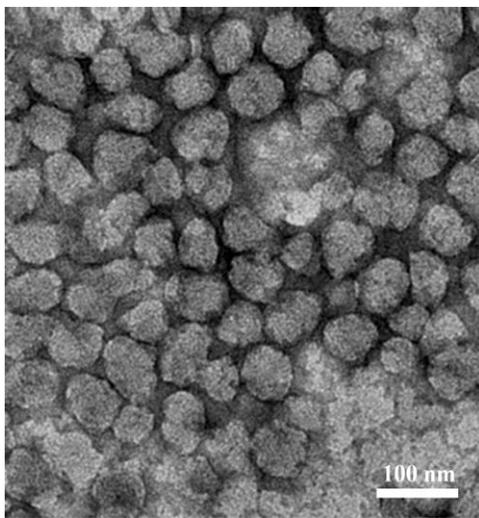


图 5 Gal-SMSD 自组装胶束透射电镜图

Fig. 5 TEM photograph of self-assembled micelles of Gal-SMSD

2.9 Gal-SMSD 粉末晶型分析

X 射线粉末衍射法 (XRPD) 测试角度范围为 $3^{\circ}\sim 45^{\circ}$, Cu-K α 靶, 扫描速度为 $5^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$ 。取高良姜素、mPEG-PLA、物理混合物 (高良姜素与 mPEG-PLA 比例同 Gal-SMSD) 和 Gal-SMSD 粉末适量分别扫描, 结果见图 6。高良姜素在 5.9° 、 7.6° 、 10.5° 、

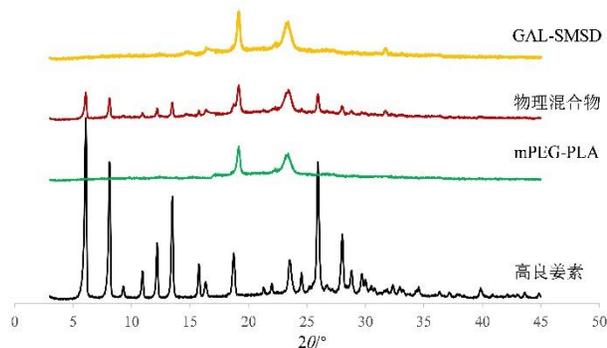


图 6 XRPD 结果

Fig. 6 Results of XRPD

12.2° 、 13.2° 、 15.2° 、 17.9° 、 25.4° 、 27.7° 等处出现特征晶型峰, mPEG-PLA 在 18.2° 、 24.1° 出现特征晶型峰。物理混合物 XRPD 图谱仅为高良姜素与 mPEG-PLA 简单叠加, 高良姜素在物理混合物中仍以晶型状态存在。Gal-SMSD 的 XRPD 图谱中高良姜素特征晶型峰均消失, 只剩下 mPEG-PLA 特征晶型峰, 说明高良姜素在 Gal-SMSD 粉末中可能转变为无定形态。

2.10 Gal-SMSD 粉末红外光谱分析

分别取“2.9”项下样品约 1.0 mg 作红外光谱分析, 测试条件: 分辨率为 4.0 cm^{-1} , 扫描次数为 16 次, 扫描范围为 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$, 结果见图 7。在 mPEG-PLA 红外光谱图中, $1\,749.91\text{ cm}^{-1}$ 为羰基伸缩振动吸收峰, 在 Gal-SMSD 红外光谱中移动至 $1\,749.83\text{ cm}^{-1}$ 。在高良姜素红外光谱图中, $3\,554.82$ 、 $3\,501.02$ 、 $3\,309.58\text{ cm}^{-1}$ 为羟基的伸缩振动吸收峰, 在物理混合物的红外光谱中未发生明显变化 (分别为 $3\,554.89$ 、 $3\,501.11$ 、 $3\,309.62\text{ cm}^{-1}$), 但在 Gal-SMSD 的红外光谱中仅在 $3\,488.17\text{ cm}^{-1}$ 处出现 1 宽

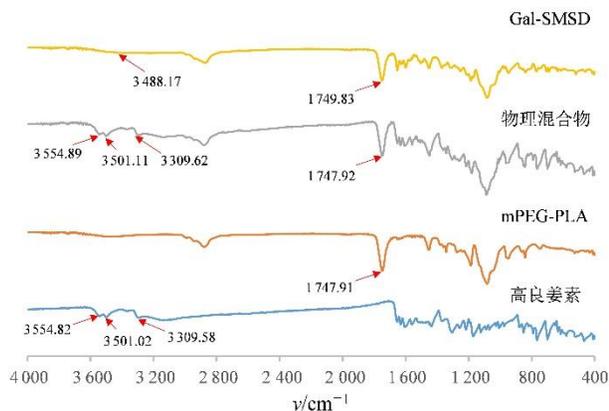


图 7 样品红外光谱图

Fig. 7 Infrared spectroscopy of samples

峰。因此推测高良姜素分子上羟基和可能 mPEG-PLA 上的羰基之间发生了氢键结合力，从而形成 Gal-SMSD。

2.11 Gal-SMSD 释药行为考察

取高良姜素、物理混合物 (mPEG-PLA 与高良姜素用量比同 Gal-SMSD) 和 Gal-SMSD 粉末适量，使高良姜素含量均为 8 mg，分别加入 pH 值 2.0 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% 聚山梨酯 80) 配制混悬液，密封于透析袋 (平均截留相对分子质量 1.0×10^4)。采用 pH 值 2.0 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% 聚山梨酯 80) 1 000 mL 为介质，溶出杯外部水浴温度为 37 °C，搅拌桨转速为 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ，样品接触介质后计时，分别于 0、0.5、1.0、1.5、2.0 h 取样 5 mL，补加 5 mL 的空白介质。2 h 取样完毕后将介质更换为 pH 值 7.4 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% 聚山梨酯 80)，同法分别于 3、4、6、8、10、12 h 取样 5 mL，各时间点取样后补加 5 mL 空白介质。各样品 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min，测定高良姜素含量，绘制释药曲线，结果见图 8。高良姜素原料药累积释放率较低 (35.69%)，可能与高良姜素溶解度差、粒度大、

易降解等因素有关^[7]。物理混合物在一定程度上增加了释放度，可能与 mPEG-PLA 增溶作用有关^[7]。Gal-SMSD 在 12 h 累积释放率达 84.16%，远高于物理混合物和高良姜素原料药。Gal-SMSD 释药机制拟合结果见表 7，根据相关系数 (R^2) 判断 Gal-SMSD 释药过程与 Weibull 模型拟合度最高。

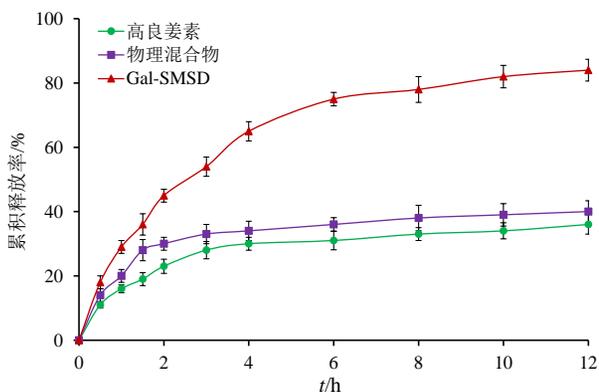


图 8 模拟胃肠液释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 8 Release profiles in simulate gastrointestinal fluids ($\bar{x} \pm s, n=3$)

表 7 释药模型和相关系数

Table 7 Release model and coefficient

样品	模型	拟合方程	R^2
Gal-SMSD	零级模型	$M_t/M_\infty=0.045\ 5\ t+0.331\ 5$	0.746\ 8
	一级模型	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.105\ 1\ t-0.383\ 9$	0.794\ 4
	Higuchi 模型	$M_t/M_\infty=0.208\ 5\ t^{1/2}+0.134\ 1$	0.925\ 6
	Weibull 模型	$\ln\ln[1/(1-M_t/M_\infty)]=0.651\ 0\ \ln t-1.046\ 6$	0.989\ 3

M_t 、 M_∞ - t 、 ∞ 时间累积释放率; M_t/M_∞ 为 t 时间累积释放百分率。

M_t and M_∞ -cumulative release rate at time t and ∞ ; M_t/M_∞ -cumulative release percentage at time t .

2.12 稳定性考察

采用 Gal-SMSD 粉末的沉降率来考察稳定性。取 Gal-SMSD 粉末密封于药用塑料瓶中，置于温度和相对湿度分别为 35 °C 和 60% 的恒温恒湿箱中，分别于 0、1、2、3、6 个月取适量 Gal-SMSD 粉末，按“2.4”项下方法测试 Gal-SMSD 粉末沉降率。结果见图 9，Gal-SMSD 粉末在加速条件下储存 6 个月时沉降率仅 1.48%，表明稳定性良好。

2.13 体内药动学研究

2.13.1 给药与取血方案 取高良姜素、物理混合物 (mPEG-PLA 与高良姜素用量比同 Gal-SMSD) 和 Gal-SMSD 粉末适量，采用 0.5% CMC-Na 水溶液分别配制 ig 液。18 只 SD 大鼠随机分为 3 组，每组雌雄各半，对每只大鼠称质量后按 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (以

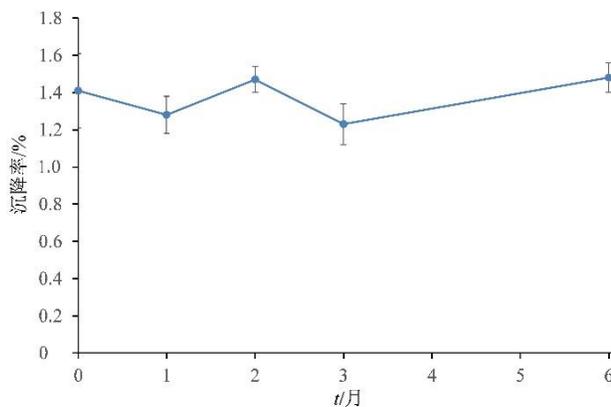


图 9 Gal-SMSD 粉末不同时间的沉降率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Sedimentation rate of Gal-SMSD powder at different times ($\bar{x} \pm s, n=3$)

高良姜素含量计) ig 给药。高良姜素组和物理混合物组分别于 0.17、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00、3.00、4.50、6.00 h 于眼眶后静脉丛取血约 250 μL 至肝素化离心管中, 3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 2 min, 取血浆冷冻保存。根据前期预试验情况, Gal-SMSD 组增加 8.00 h 和 12.00 h 取血点, 其他操作相同。

2.13.2 血浆样品的处理^[7] 精密称取漆黄素对照品适量, 采用乙腈稀释至 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 即得漆黄素对照品溶液, 作为内标溶液。血浆样品置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中解冻, 精密量取 100 μL 至离心管中, 加入 50 μL 内标溶液和 1 mL 乙腈, 涡旋 30 s 得混悬液。6 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹仪中吹干。100 μL 乙腈复溶残渣, 再次 6 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 即得含漆黄素内标的血浆样品。

2.13.3 标准曲线 采用空白血浆配制 2 000、1 000、500、250、100、50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 高良姜素血浆对照品, 各个浓度分别精密取 100 μL 至离心管中, 加入 50 μL 内标溶液和 1 mL 乙腈, 按“2.13.2”项下操作制备含漆黄素内标的血浆对照品溶液。按“2.3.1”项下色谱条件测定高良姜素和漆黄素峰面积, 计算峰面积比值 (Y), 并与高良姜素质量浓度 (X) 进行线性回归, 得方程: $Y=1.894X-0.166$ ($r=0.9985$), 表明在 50~2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 存在线性关系。

2.13.4 专属性考察 取处理后的空白血浆溶液、血浆对照品溶液(高良姜素质量浓度为 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和高良姜素 ig 给药 6 h 的血浆样品溶液分别按“2.3.1”项下色谱条件进样。见图 10, 高良姜素和漆黄素色谱峰均无干扰, 专属性高。

2.13.5 精密度考察 取 50、500、2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 血浆对照品溶液, 1 d 内分别连续进样 6 次, 计算得高良姜素和内标峰面积比值 RSD 分别为 7.11%、3.69%和 5.54% ($n=6$), 表明日内精密度良好。同法连续测定 6 d, 每天 1 次, 计算得高良姜素和内标峰面积比值 RSD 分别为 4.19%、5.23%和 5.79% ($n=6$), 表明日间精密度良好。

2.13.6 重复性考察 取高良姜素 ig 给药 6 h 的血浆样品, 按“2.13.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 测得高良姜素质量浓度的 RSD 分别为 6.61% ($n=6$), 表明重复性良好。

2.13.7 稳定性考察 取 1 份高良姜素 ig 给药 6 h 的血浆样品溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定高良姜素浓度, 计算得 RSD 值为 6.43% ($n=6$), 表明血浆样品溶液稳定性良好。

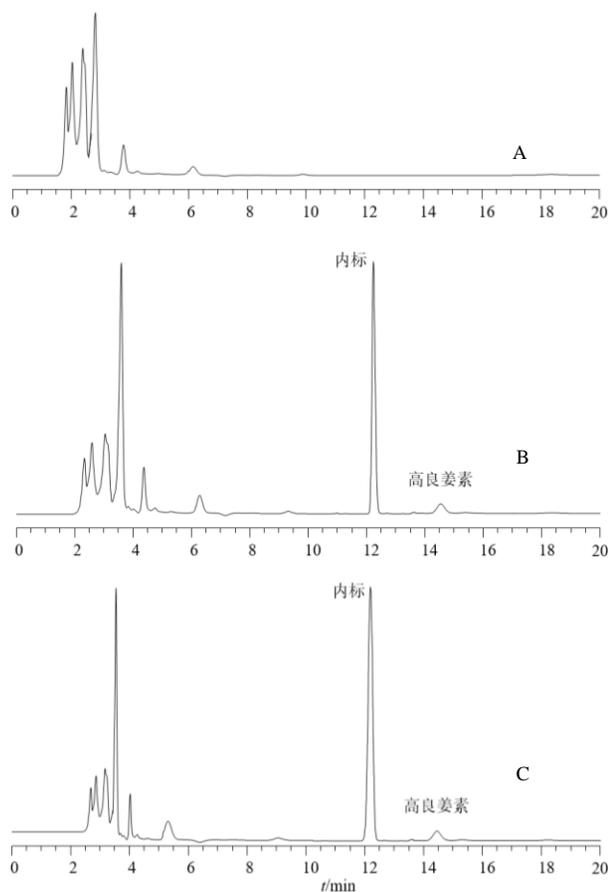


图 10 空白血浆 (A)、血浆样品 (B) 和血浆对照品溶液 (C) HPLC 图

Fig. 10 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B) and plasma reference solution (C)

2.13.8 回收率考察 采用高良姜素对照品溶液分别配制质量浓度为 50 (低)、500 (中) 和 2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (高) 高良姜素血浆对照品溶液(漆黄素内标溶液质量浓度为 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 进样测定高良姜素质量浓度, 与配制浓度对比计算回收率。结果显示平均回收率 96.04% ($n=9$), RSD 为 6.80%, 表明准确度较高。

2.13.9 高良姜素定量限和检测限测定 取质量浓度为 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 高良姜素血浆对照品溶液, 稀释并测定。测得定量限(信噪比 10:1)为 10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 检测限(信噪比 3:1)为 5 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.13.10 药动学结果 血药浓度时间曲线见图 11。DAS 2.0 软件包拟合高良姜素、物理混合物和 Gal-SMSD 主要药动学参数, 结果见表 8。与高良姜素相比, 物理混合物各个药动学参数均无显著性变化 ($P>0.05$), 说明口服生物利用度提高程度有限; Gal-SMSD 药动学行为发生很大改变, 主要药动学

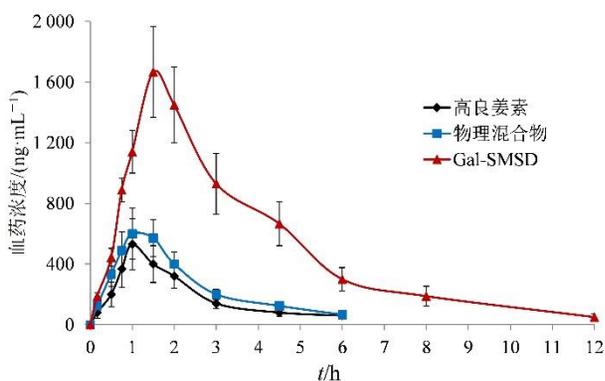


图 11 血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 11 Blood drug concentration-time curve ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 8 主要药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 8 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	高良姜素	物理混合物	Gal-SMSD
t_{max}	h	1.03 ± 0.28	1.12 ± 0.30	1.61 ± 0.55*
$t_{1/2}$	h	2.27 ± 0.67	2.64 ± 0.78	4.77 ± 0.91**
MRT	h	3.03 ± 0.79	3.41 ± 0.94	6.01 ± 1.32**
C_{max}	ng·mL ⁻¹	533.18 ± 69.80	588.17 ± 139.04	1 669.78 ± 306.13**
AUC_{0-t}	ng·mL ⁻¹ ·h	1 148.90 ± 143.55	1 292.44 ± 173.15	5 930.64 ± 792.58**
$AUC_{0-\infty}$	ng·mL ⁻¹ ·h	1 196.69 ± 156.74	1 379.47 ± 198.02	6 187.35 ± 858.91**

与高良姜素比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs galangin group.

2.14.2 实验方案及结果 将 48 只 T2DM 大鼠随机分为 6 组, 即模型组 (等量 0.9% 氯化钠溶液)、二甲双胍组 (200 mg·kg⁻¹)、高良姜素组 (50 mg·kg⁻¹) 和 Gal-SMSD 低、中、高剂量 (10、30、50 mg·kg⁻¹) 组, 另取 8 只正常大鼠作为对照组 (等量 0.9% 氯化钠溶液)。每天给药 1 次, 连续给药 4 周, 每周监控血糖值。结果见图 12, 与对照组比较, 模型组血糖值显著增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 随着干预时间的延长高良姜素组血糖值逐步降低, 第 2、3、4 周 Gal-SMSD 中、高剂量组差异显著, 第 3、4 周高良姜素组差异显著, 表明高良姜素具有良好的降血糖作用^[2], 当高良姜素以 Gal-SMSD 形式干预时, 随着给药剂量增大降血糖作用越明显, 表现出良好的剂量相关性, 且作用强于高良姜素组, 可能与 Gal-SMSD 增加了高良姜素体内吸收程度有关, 增强了高良姜素药效。Gal-SMSD 高剂量组 (50 mg·kg⁻¹) 与二甲双胍组在第 1、2、3、4 周血糖值无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 Gal-SMSD 高剂量组与阳性对照组的降血糖药效相当。

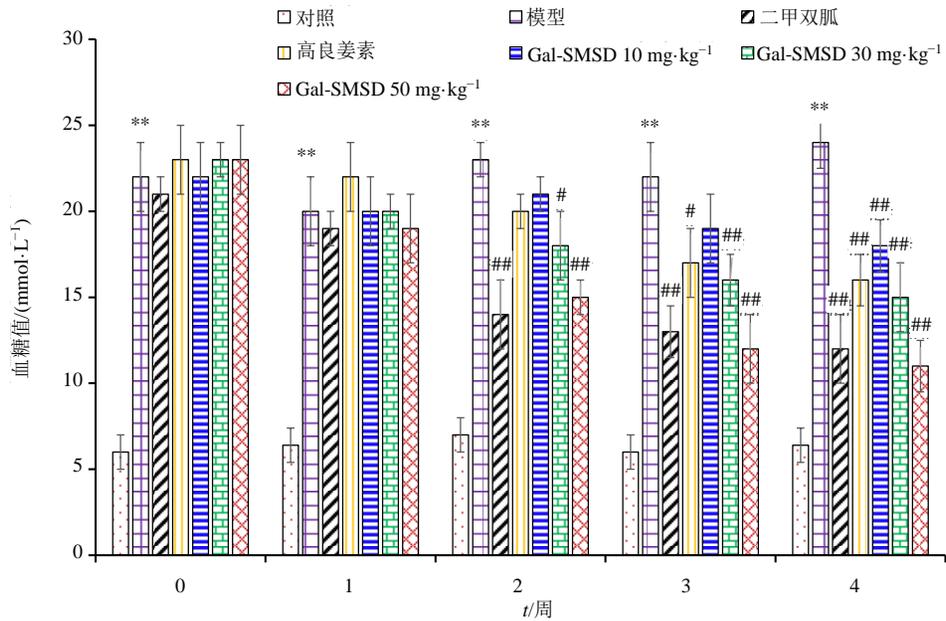
参数均有显著性变化 ($P < 0.05, 0.01$), 其中半衰期 ($t_{1/2}$) 延长至 (4.77 ± 0.91) h, 达峰浓度 (C_{max}) 和口服生物利用度分别提高至 3.13、5.16 倍, 说明 Gal-SMSD 能增加高良姜素口服吸收, 促吸收作用远大于物理混合物。

2.14 药效学研究

2.14.1 建立 2 型糖尿病 (T2DM) 模型 取 48 只 SD 大鼠给予高脂饲料饲养, 4 周后禁食 12 h, ip 链脲佐菌素溶液 (0.1 mol·L⁻¹ 柠檬酸钠缓冲液配制, 质量浓度为 75 mg·kg⁻¹), 连续注射 3 d。第 3 次注射完成 72 h 后, 各只大鼠尾静脉取血测定血糖值。测定结果显示, 各只大鼠空腹血糖值在 14.7~23.8 mmol·L⁻¹, 表明 T2DM 模型制备成功^[19]。

2.14.3 糖尿病大鼠生化指标的测定 “2.14.2”项下最后 1 次测定血糖值后, 眼内眦取血 1.0 mL, 置于离心机中 3 500 r·min⁻¹ 离心 4 min, 取上层血清生化分析仪测定天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Crea)。结果见表 9, 模型组 AST、SLT、BUN、Crea 显著高于对照组 ($P < 0.01$), 表明肝脏、肾脏等受损严重; 与模型组比较, 高良姜素、二甲双胍、Gal-SMSD 各剂量组的 AST、SLT、BUN、Crea 均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 且 Gal-SMSD 各剂量组呈现明显的剂量相关性, 中、高剂量组效果好于高良姜素组。

2.14.4 口服耐糖量研究 “2.14.3”项下取血后, 按 2 g·kg⁻¹ 剂量分别 ig 给予葡萄糖溶液, 于 0、30、60、120 min 测定血糖值, 结果见图 13。模型组大鼠血糖-时间曲线相对平缓, 表明对葡萄糖不耐受。与模型组相比, 二甲双胍组、高良姜素组和 Gal-SMSD 各剂量组表现出降血糖作用, 而二甲双胍组和 Gal-SMSD 高剂量组效果相对更明显, 表现出较



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 12 各组实验动物在不同时间点的血糖值 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 12 Blood glucose values of each group of experimental animals at different time ($\bar{x} \pm s, n=8$)

表 9 糖尿病大鼠生化指标测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 9 Determination results of biochemical indicators in diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Crea/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	71.44 ± 5.17	103.69 ± 6.24	4.19 ± 0.54	28.89 ± 2.74
模型	—	178.15 ± 5.14**	190.77 ± 12.06**	6.69 ± 1.13**	50.01 ± 3.86**
二甲双胍	200	89.54 ± 4.10##	119.11 ± 8.07##	4.70 ± 0.59##	34.13 ± 3.52##
高良姜素	50	132.12 ± 7.93#	154.38 ± 12.04#	5.03 ± 1.04#	43.12 ± 4.87#
Gal-SMSD	10	144.06 ± 9.14##	168.40 ± 9.52##	4.72 ± 1.12##	38.66 ± 5.28##
	30	115.52 ± 7.97##	147.19 ± 8.75##	4.58 ± 1.09##	35.84 ± 4.67##
	50	78.13 ± 8.04##	108.93 ± 7.11##	4.42 ± 0.85##	32.64 ± 3.55##

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

高的血糖调节能力。

血糖曲线下面积 (AUC) 计算公式为: $AUC = (A_{0\min} + A_{30\min}) \times 30 \times 0.5 + (A_{30\min} + A_{60\min}) \times 30 \times 0.5 + 0.5 (A_{60\min} + A_{120\min}) \times 60 \times 0.5$, 式中 A_i 代表各时间血糖值。各组大鼠的 AUC 值结果见图 14, 模型组 AUC 值极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 说明建模成功。高良姜素组和 Gal-SMSD 低、中剂量组的 AUC 值均显著性低于模型组 ($P < 0.05$), 而二甲双胍组和 Gal-SMSD 高剂量组极显著低于模型组 ($P < 0.01$), 证明 Gal-SMSD 高剂量组更能明显改善 T2DM 模型大鼠的葡萄糖耐受, 并快速降低血糖。

3 讨论

药物与载体材料的相容性至关重要, 对固体分散体储存稳定性及体内抑晶效果等影响较大, 因此

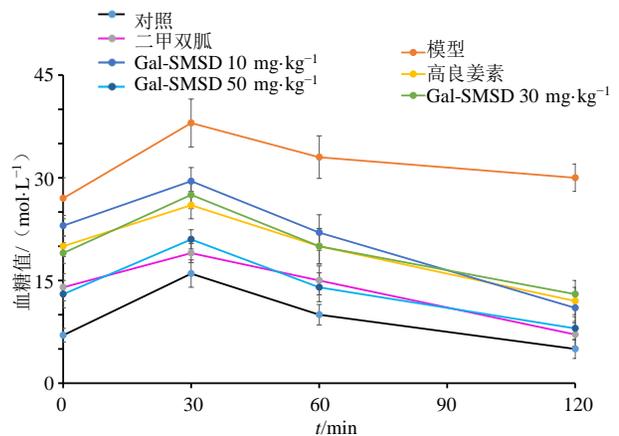
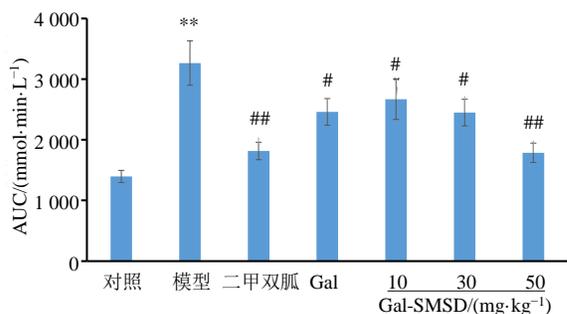


图 13 T2DM 大鼠口服糖耐量实验结果 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 13 Results of oral glucose tolerance test in T2DM rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 14 T2DM 大鼠血糖曲线下面积 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Fig. 14 AUC value of T2DM rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

确定载体材料种类对制备固体分散体来说至关重要。本研究通过溶解度参数法考察发现 mPEG-PLA 与高良姜素溶解度参数之差仅 $0.9 \text{ MPa}^{1/2}$, 表明两者之间相容性良好, 故选择 mPEG-PLA 作为 Gal-SMSD 载体。

Gal-SMSD 累积释放度得到明显增加, 可能是 Gal-SMSD 在水相通过自组装形成胶束, 使药物粒度下降、提高了溶解度, 利于药物溶出; 药物包封于胶束内部, 降低了模拟胃肠液 pH 值及消化酶等因素对药物的降解^[20], 增加了溶出量。Gal-SMSD 在模拟胃肠液中快速释药期可能是由于游离药物、胶束浅表层药物快速释放所致, 缓慢释药期可能由于 Gal-SMSD 自组装形成的胶束对内部药物释放起到较大的阻滞作用所致。高良姜素与 mPEG-PLA 分子结构之间可能存在氢键等作用力, 从而也起到一定的阻滞作用, 最终表现出持续、缓慢的释药期。Gal-SMSD 改变了药物释放方式, 可能对药物体内药动学行为及药效产生影响。

Gal-SMSD 的 t_{\max} 发生延后, 可能是与 Gal-SMSD 缓释作用有关。由于 Gal-SMSD 对包封的高良姜素提供了保护作用, 抑制了降解, 增加了后期药物吸收, 最终使 Gal-SMSD 的 t_{\max} 发生变化, 同时也对 Gal-SMSD 的 $t_{1/2}$ 和 MRT 产生较大影响, 使其极显著性延长。Gal-SMSD 极显著促进了高良姜素口服吸收, 可能是由于 Gal-SMSD 增加了高良姜素的溶解度、释放度等, 解决了药物吸收瓶颈; Gal-SMSD 对高良姜素的包裹作用降低了在胃肠道内的降解几率, 利于增加药物吸收量; 采用 mPEG-PLA 作为 Gal-SMSD 载体, 其结构上的聚乙二醇长链利于降低高良姜素的外排作用^[20-21], 利于促进药物吸

收; Gal-SMSD 上的聚乙二醇长链赋予胶束更强的亲水性^[22], 利于穿透胃肠道黏液层而进入血液循环; 高良姜素在 Gal-SMSD 中转变为无定型形式, 无定型药物比晶型药物更易吸收^[23]。

药效学研究显示, Gal-SMSD 增强了高良姜素降血糖药效, 利于降低给药剂量, 主要与 Gal-SMSD 极大改善了高良姜素生物利用度有关。高剂量组 ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 降血糖药效与二甲双胍组 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 相当, 为评价成药性提供了研究数据^[24], 至于 Gal-SMSD 是否对糖尿病并发症具有改善或治疗作用需进一步研究^[3-5,25]。本研究制得的 Gal-SMSD 粉末流动性良好, 可进一步制成片剂、胶囊剂等, 值得进一步研究开发。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 曾鹏辉, 高家菊, 普娟, 等. 高良姜炮制的历史沿革及现代化学与药理研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(9): 101-105.
Zeng P H, Gao J J, Pu J, et al. Progress of historical evolution of processing, chemical composition and pharmacological effect of Gaoliangjiang (*Alpinia Officinarum Rhizoma*) [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2022, 24(9): 101-105.
- [2] Aloud A A, Chinnadurai V, Chandramohan G, et al. Galangin controls streptozotocin-caused glucose homeostasis and reverses glycolytic and gluconeogenic enzyme changes in rats [J]. Arch Physiol Biochem, 2020, 126(2): 101-106.
- [3] 胡跃霜, 李彤寰. 高良姜素调节 CCL2-CCR2 信号轴对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的影响 [J]. 湖北中医药大学学报, 2024, 26(2): 38-42.
Hu Y S, Li T H. Impact of galangin on vascular endothelial cell injury induced by high glucose by regulating CCL2-CCR2 signal axis [J]. J Hubei Univ Chin Med, 2024, 26(2): 38-42.
- [4] Abukhalil M H, Althunibat O Y, Aladaileh S H, et al. Galangin attenuates diabetic cardiomyopathy through modulating oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats [J]. Biomedecine Pharmacother, 2021, 138: 111410.
- [5] Liao J, Liu B, Chen K, et al. Galangin attenuates oxidative stress-mediated apoptosis in high glucose-induced renal tubular epithelial cells through modulating renin-angiotensin system and PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Toxicol Res, 2021, 10(3): 551-560.

- [6] 张数数, 霍仕霞, 李滨, 等. 基于斑马鱼模型的高良姜素安全性评价研究 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(9): 1919-1928.
Zhang S S, Huo S X, Li B, et al. Safety evaluation of galangin based on zebrafish model [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(9): 1919-1928.
- [7] 栗忠强, 决利利, 万亚存, 等. 高良姜素纳米胶束制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(5): 1410-1416.
Li Z Q, Jue L L, Wan Y C, et al. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of galangin nanomicelles [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(5): 1410-1416.
- [8] 汪芙蓉. 体外模拟消化对酚类化合物稳定性和抗氧化活性的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
Wang F R. Effect of *in vitro* simulated digestion on the stability and antioxidant activity of phenolic compounds [D]. Nanchang: Nanchang University, 2020
- [9] 马银玲. 高良姜素的吸收机制与代谢轮廓及其对大鼠细胞色素 P450 酶及 mRNA 表达的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2019.
Ma Y L. Absorption mechanism and metabolic profile of galangin and its effect on cytochrome P450 enzyme and mRNA expression in rats [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2019.
- [10] Ye W J, Sun W, Chen R J, et al. Pharmacokinetics in rat plasma and tissue distribution in mice of galangin determined by UHPLC-MS/MS [J]. Acta Chromatogr, 2019, 31(2): 120-125.
- [11] 陈莹子, 朱蓉, 孙旭怡, 等. 高良姜素-PLGA 纳米粒的处方优化及其表征 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(11): 809-813, 819.
Chen Y Z, Zhu R, Sun X Y, et al. Prescription optimization and characterization of Galangin-PLGA nanoparticles [J]. J Hainan Med Univ, 2021, 27(11): 809-813, 819.
- [12] 方杰, 李颜伶, 秦铭, 等. 高良姜素过饱和自纳米乳的制备及质量评价 [J]. 中南药学, 2022, 20(8): 1765-1772.
Fang J, Li Y L, Qin M, et al. Preparation and quality evaluation of galangin supersaturating self-nanoemulsifier [J]. Cent South Pharm, 2022, 20(8): 1765-1772.
- [13] 汪诗雨, 周洁, 刘云, 等. 克唑替尼固体分散体的制备及体外溶出度研究 [J]. 化学与生物工程, 2024, 41(5): 51-55.
Wang S Y, Zhou J, Liu Y, et al. Preparation and *in vitro* dissolution of crizotinib solid dispersion [J]. Chem Bioeng, 2024, 41(5): 51-55.
- [14] 张亚林, 郭志刚, 王丹凤, 等. 鞣花酸自胶束化固体分散体制备及口服药动学行为研究 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4350-4360.
Zhang Y L, Guo Z G, Wang D F, et al. Preparation and oral pharmacokinetic study of ellagic acid-loaded self-micelle solid dispersion [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(13): 4350-4360.
- [15] Hou Y Z, Wang H, Zhang F, et al. Novel self-nanomicellizing solid dispersion based on rebaudioside A: A potential nanoplatform for oral delivery of curcumin [J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 557-571.
- [16] Just S, Sievert F, Thommes M, et al. Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2013, 85(3 Pt B): 1191-1199.
- [17] 陈永顺, 杨斌. 青蒿琥酯纳米胶束制备及其体内药动学、抗肿瘤活性研究 [J]. 中成药, 2024, 46(5): 1457-1465.
Chen Y S, Yang B. Preparation, *in vivo* pharmacokinetics and anti-tumor activity of artesunate nanomicelles [J]. Chin Tradit Pat Med, 2024, 46(5): 1457-1465.
- [18] 尚慧杰, 杨金枝, 张付利. 岩白菜素 Soluplus/TPGS 混合胶束的制备、表征及体外释药研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1248-1254.
Shang H J, Yang J Z, Zhang F L. Preparation, characterization and drug release *in vitro* of bergenin Soluplus/TPGS mixed micelles [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(11): 1248-1254.
- [19] 蔡自立, 马红梅, 兰卫, 等. 消渴健脾胶囊对 2 型糖尿病小鼠降血糖作用研究 [J]. 化学与生物工程, 2020, 37(7): 25-29.
Cai Z L, Ma H M, Lan W, et al. Hypoglycemic effect of Xiaoke Jianpi capsule on type 2 diabetic mice [J]. Chem Bioeng, 2020, 37(7): 25-29.
- [20] 刘万路. Box-Behnken 设计-效应面法优化白屈菜红碱 mPEG-PLGA 纳米粒处方制备工艺及其药动学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7361-7371.
Liu W L. Formulation optimization of chelerythrine-mPEG-PLGA by Box-Behnken design-response surface method and oral pharmacokinetics study [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(23): 7361-7371.
- [21] 卢慧芳, 刘艳美, 王荷香, 等. 穿心莲内酯甲氧基聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸纳米粒处方优化及体外释药考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(19): 2034-2039.
Lu H F, Liu Y M, Wang H X, et al. Formulation optimization of andrographolide mPEG-PLGA nanoparticles and *in vitro* release study [J]. Chin J Hosp Pharm, 2022, 42(19): 2034-2039.
- [22] 周敬, 郑宝玉, 李阳杰, 等. 聚乙二醇修饰高良姜素纳

- 米结构脂质载体处方优化及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2023, 54(14): 4455-4466.
- Zhou J, Zheng B Y, Li Y J, et al. Formulation optimization of pegylated galangin nanostructured lipid carriers and oral pharmacokinetics evaluation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(14): 4455-4466.
- [23] 杨璞, 李晓, 宋亚琼, 等. 二氢杨梅素混合胶束的制备、表征及药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(10): 2351-2360.
- Yang P, Li X, Song Y Q, et al. Dihydromyricetin mixed micelles: Preparation characterization and pharmacokinetic study [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(10): 2351-2360.
- [24] 李鑫, 朱明微, 李瑞楚, 等. 复方桦树茸降糖片的制备及其对 2 型糖尿病小鼠降血糖作用研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(11): 2239-2246.
- Li X, Zhu M W, Li R C, et al. Preparation of Compound *Inonotus obliquus* Hypoglycemic Tablets and its hypoglycemic effect on type II diabetes mice [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(11): 2239-2246.
- [25] 刘曼, 邵翔, 李玉婷, 等. 金合欢素对糖尿病肾病大鼠肾损伤及 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(9): 1943-1948.
- Liu M, Shao X, Li YT, et al. Effect of acacetin on renal injury and TLR4/NF- κ B signaling pathway in diabetes nephropathy rats [J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(9): 1943-1948.

[责任编辑 兰新新]