

基于“药辅合一”的绞股蓝皂苷-丹参酮II_A/磷脂酰胆碱复合物纳米混悬剂的制备、药动学及抗肺纤维化作用

丁 普¹, 林思雨¹, 王丽华^{2*}

1. 黄河科技学院, 河南 郑州 450005

2. 上海健康医学院, 上海 200120

摘要: 目的 制备绞股蓝皂苷-丹参酮II_A/磷脂酰胆碱复合物纳米混悬剂(Gyp-Tan II_A/PC-NPs), 考察体内药动学和抗肺纤维化作用。方法 溶剂挥发法制备丹参酮II_A/磷脂酰胆碱复合物(Tan II_A/PC), 单因素实验联合 Box-Behnken 设计-响应面法(BBD-RSM)优化 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方工艺。测定粒径、多分散指数(PDI)、Zeta 电位和载药量, 扫描电镜观察 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 微观形貌, X 射线粉末衍射法(XRPD)和差示扫描量热(DSC)分析药物晶型。考察 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 在不同介质中的溶解度和体外释药行为。以泊洛沙姆 188 和泊洛沙姆 407 为基质制备丹参酮II_A 纳米混悬剂(Tan II_A-NPs) 比较 Tan II_A、物理混合物(Tan II_A+Gyp+PC, 比例同 Gyp-Tan II_A/PC-NPs)、Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 口服药动学行为, 计算主要药动学参数及其口服吸收相对生物利用度。经气管软骨环间隙注入博来霉素(5 mg·kg⁻¹) 建立小鼠肺纤维化模型, 比较 Tan II_A、Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 对肺指数, 肺组织羟脯氨酸水平、肿瘤坏死因子(TNF)-α、转化生长因子(TGF)-β1 及血清中白细胞介素(IL)-6 的影响。苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理学变化, Masson 染色观察肺组织纤维化程度。结果 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 最佳处方工艺: 绞股蓝皂苷质量分数为 0.21%, 均质压力为 80.00 MPa, 均质次数为 7 次。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 平均粒径为(229.72±4.26) nm, PDI 值为 0.206±0.012, Zeta 电位为(-27.07±0.84) mV。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 微观形貌为不规则纳米颗粒, Tan II_A 在 Tan II_A/PC、Gyp-Tan II_A/PC-NPs 中由晶态转变为无定形态。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 极大提高了 Tan II_A 溶解度及溶出度。口服药动学结果显示, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 达峰时间(*t*_{max}) 提前至(0.97±0.21) h, 达峰浓度(*C*_{max}) 增加至(1 290.61±302.39) ng·mL⁻¹, 相对口服吸收生物利用度提高至 4.26 倍。与 Tan II_A 组比较, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量的肺指数、羟脯氨酸、TNF-α、TGF-β1 和 IL-6 水平均极显著性下降(*P*<0.01)。HE 染色证实 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 能有效改善肺组织病变, Masson 染色显示其可抑制胶原沉积, 显著减轻炎症细胞浸润与肺纤维化程度。结论 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 极大促进了 Tan II_A 体内吸收, 增强其抗肺纤维化作用。

关键词: 丹参酮II_A; 绞股蓝皂苷; 磷脂酰胆碱复合物; 纳米混悬剂; 生物利用度; 抗肺纤维化; 药动学

中图分类号: R285.5; R283.6 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)03-0894-16

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.03.015

Preparation, pharmacokinetics and anti-pulmonary fibrotic effects of gypenosides tanshinone II_A/phosphatidylcholine complex nanosuspensions based on “unification of medicines and excipients”

DING Pu¹, LIN Siyu¹, WANG Lihua²

1. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450005, China

2. Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 200120, China

Abstract: Objective To prepare gypenosides tanshinone II_A/phosphatidylcholine complex nanosuspensions (Gyp-Tan II_A/PC-NPs) and investigate its *in vivo* pharmacokinetics and anti-pulmonary fibrosis effects. **Methods** The solvent evaporation method was used to prepare tanshinone II_A/phosphatidylcholine complex (Tan II_A/PC). The single factor experiment combined with Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) was used to optimize the prescription and process of Gyp-Tan II_A/PC-NPs. The

收稿日期: 2025-11-25

基金项目: 河南省科技攻关项目(252102310406); 郑州市基础研究及应用基础研究项目(ZZSZX202420); 2025年度郑州市医疗卫生领域科技创新项目(2025YLZDJH423); 国家级大学生创新项目(202511834011); 黄河科技学院大学生创新项目(2025xsexcy087)

作者简介: 丁 普(1984—)男, 讲师, 研究方向为临床药学及临床医学。E-mail: 1968754017@qq.com

*通信作者: 王丽华(1979—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为药学及疾病预防控制。E-mail: WangLH79@126.com

particle size, polydispersity index (PDI), Zeta potential and drug loading were determined. The microscopic morphology of Gyp-Tan II_A/PC-NPs was observed by scanning electron microscopy. The crystal form of the drug was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD) and differential scanning calorimetry (DSC). The solubility and *in vitro* release behavior of Gyp-Tan II_A/PC-NPs in different media were investigated. Tan II_A-NPs were prepared using poloxamer 188 and poloxamer 407 as the matrix. The oral pharmacokinetic behaviors of Tan II_A, physical mixture (Tan II_A + Gyp + PC, in the same proportion as Gyp-Tan II_A/PC-NPs), Tan II_A-NPs and Gyp-Tan II_A/PC-NPs were compared. The main pharmacokinetic parameters and oral absorption relative bioavailability were calculated. A mouse model of pulmonary fibrosis was established by injecting bleomycin (5 mg·kg⁻¹) into the tracheal cartilage ring gap. The effects of Tan II_A, Tan II_A-NPs and Gyp-Tan II_A/PC-NPs on lung index, hydroxyproline level in lung tissue, TNF-α, TGF-β1 and IL-6 in serum were compared. The pathological changes of lung tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the degree of pulmonary fibrosis was observed by Masson staining. **Results** The optimal prescription and process of Gyp-Tan II_A/PC-NPs were as follows: the mass fraction of Gyp was 0.21%, the homogenization pressure was 80 MPa, and the homogenization times were seven. The average particle size of Gyp-Tan II_A/PC-NPs was (229.72 ± 4.26) nm, the PDI value was (0.206 ± 0.012), and the Zeta potential was (-27.07 ± 0.84) mV. The microscopic morphology of Gyp-Tan II_A/PC-NPs was irregular nanoparticles. Tan II_A changed from crystalline to amorphous in Tan II_A/PC and Gyp-Tan II_A/PC-NPs. Gyp-Tan II_A/PC-NPs greatly increased the solubility and dissolution rate of Tan II_A. The oral pharmacokinetic results showed that the peak time (*t*_{max}) of Gyp-Tan II_A/PC-NPs was advanced to (0.97 ± 0.21) h, the peak concentration (*C*_{max}) increased to (1 290.61 ± 302.39) ng·mL⁻¹, and the relative oral absorption bioavailability increased to 4.26 times. Compared with the Tan II_A group, the lung index, hydroxyproline, TNF-α, TGF-β1 and IL-6 levels in the high-dose Gyp-Tan II_A/PC-NPs group were significantly decreased (*P* < 0.01). HE staining confirmed that Gyp-Tan II_A/PC-NPs could effectively improve the pathological changes of lung tissue, and Masson staining showed that it could inhibit collagen deposition and significantly reduce the degree of inflammatory cell infiltration and pulmonary fibrosis. **Conclusion** Gyp-Tan II_A/PC-NPs significantly promoted the *in vivo* absorption of Tan II_A and enhanced its anti-pulmonary fibrosis effect.

Key words: tanshinone II_A; gypenosides; phosphatidylcholine complex; nanosuspensions; bioavailability; anti-pulmonary fibrotic effects; pharmacokinetics

肺纤维化 (PF) 是一种常见职业病, 临床上常用吡非尼酮、尼达尼布等药物治疗, 但此类药物存在较明显的不良反应^[1]。因此, 研发不良反应小、抗 PF 活性强的中药活性成分具有重要开发价值。丹参酮 II_A (Tan II_A) 是从中药丹参中提取的菲醌类化合物, 兼具抗炎、抗纤维化、抗氧化及抗凋亡等多种生物活性^[2], 在抗 PF 方面表现出显著效果^[2-3]。毒性研究显示, Tan II_A 的半数致死量为 25.807 g·kg⁻¹^[4], 相当于临床人体用量的 4 000 倍, 表明其毒性极低, 使用安全性较高。然而, Tan II_A 的理化性质存在明显缺陷: 在 pH 3.0~10.0 的水相中溶解度仅为 0.01~0.05 mg·mL⁻¹, 油水分配系数介于 -0.18~1.05^[5], 较强的疏水性严重阻碍药物溶出, 导致大鼠口服生物利用度仅为 3.5%^[6], 极大限制了其抗 PF 药效的充分发挥。因此, 解决 Tan II_A 溶解度低、溶出度差的问题, 突破其口服吸收瓶颈, 是推动其临床应用的关键。

目前已有学者针对 Tan II_A 开展了纳米囊^[7]、包合物^[8]、二氧化硅纳米粒^[9]等给药系统的研究, 优化后药物相对生物利用度仅分别提升至原来的 3.60、3.71、2.27 倍, 提升空间显著。同时, 现有制剂还

存在安全性隐患: 纳米囊处方中的表面活性剂可能引发溶血反应; 环糊精类包合材料易导致消化系统不适、加重肾脏代谢负担^[10]; 二氧化硅纳米粒则存在神经毒性及体内蓄积风险^[11]。基于此, 采用安全性高的天然来源成分构建 Tan II_A 新型给药制剂, 成为极具研究价值的方向。

磷脂酰胆碱 (PC) 是肺组织表面的主要脂质成分, PF 进程会抑制 PC 的合成, 导致其含量下降, 进而加剧 PF 病变。研究证实, PC 可通过调控炎症反应、抗氧化等机制, 改善 PF 患者的血液胆碱状态及肺功能^[12], 具备直接治疗 PF 的潜力。此外, PC 结构中含有的羰基、氧原子等活泼基团, 可与药物极性基团形成药物-磷脂酰胆碱复合物^[13-14], 进而降低药物对胃肠道的刺激性、提高药物溶解度、促进跨膜吸收并增强药效^[15], 属于典型的“药辅合一”物质。但该类复合物存在黏性过大的问题, 会降低药物溶出速度与溶出度。

绞股蓝皂苷 (Gyp) 是绞股蓝的主要活性成分, 属于达玛烷型四环三萜化合物, 具有显著的抗炎、免疫调节等功效, 可有效减轻肺组织炎症反应及细胞损伤^[16-17], 同样符合“药辅合一”的特性。Gyp

分子结构兼具疏水性三萜基团和亲水性糖链,具备表面活性功能,可作为稳定剂用于纳米混悬剂(NPs)的制备^[18],进而有效改善药物的溶解度与溶出度^[19-20]。同时,作为天然来源成分,Gyp可避免化学合成类稳定剂带来的毒性及体内蓄积等问题。

综上,PC与Gyp不仅能针对性改善Tan II_A的亲脂性、水溶性及溶出度等理化缺陷,还可通过自身药理活性辅助治疗PF,契合“药辅合一”理论。据此,本研究首先制备丹参酮II_A/磷脂酰胆碱复合物(Tan II_A/PC),再以Gyp为稳定剂,进一步构建绞股蓝皂苷-丹参酮II_A/磷脂酰胆碱复合物纳米混悬剂(Gyp-Tan II_A/PC-NPs)。采用Box-Behnken设计-响应面法(BBD-RSM)优化制剂处方,并通过与丹参酮II_A纳米混悬剂(Tan II_A-NPs)进行体外释药行为、药动学及抗PF药效学对比,为Tan II_A在PF治疗中的临床转化提供新思路与实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MSE 125P 型百万分之一电子天平,德国 Sartorius 公司;DF-101S 磁力搅拌器,郑州东晟仪器设备有限公司;U3000 型高效液相色谱仪、Apreo 型扫描电子显微镜,美国赛默飞世尔仪器公司;Ti-Lab 型均质机,上海泰坦科技股份有限公司;WJ-BX 型超低温冰箱,宁波五嘉仪器设备有限公司;Nano-S90 型粒度分析仪,英国 Malvern 公司;D8 型 X 射线粉末衍射仪,瑞士 BRUKER 公司;FD-1A-50 型冷冻干燥机,上海贺帆仪器有限公司;RC1208D 型溶出仪,常州德杜精密仪器有限公司;RM2016 病理切片机,德国 LEICA 公司;YGC-12 型氮气吹扫仪,郑州宝晶电子科技有限公司;CX43 型光学显微镜,日本 Olympus 公司。

1.2 材料

Tan II_A 原料药(批号 20220517,质量分数 98%),上海科博瑞生物科技有限公司;Gyp(批号 20231103),湖北海嘉生物科技有限公司;PC(批号 230205),上海辅必成医药科技公司;乳糖(批号 20231107),镇江市康富生物工程有限公司;对照品 Tan II_A(批号 P2515314,质量分数 99.1%),上海楚柏实验室设备有限公司;非诺贝特(内标,批号 2154827,质量分数 98.1%),深圳博泰尔生物技术有限公司;雷帕霉素(批号 M2100),美国 AbMole 公司;羟脯氨酸试剂盒(货号 ml092987),上海酶联生物科技有限公司;肿瘤坏死因子(TNF)- α 、转

化生长因子(TGF)- β 1 和白细胞介素(IL)-6 ELISA 试剂盒(货号分别为 SEKM 0034、SEKP 0011、SEKP 0022),北京索莱宝科技有限公司;吡非尼酮(批号 240915),湖北威德利化学科技有限公司;Masson 染液(批号 22155921)、4%甲醛固定液(批号 22192875),武汉博士德生物公司。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠,体质量(180 \pm 20)g,雌雄各半;SPF 级 C57BL/6 小鼠,体质量(20 \pm 1)g,雌雄各半,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,动物生产许可证号 SCXK(豫)2020-0005。实验遵循黄河科技学院有关实验动物管理和使用的规定(动物伦理号 DW-2024022),均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 制备工艺

2.1.1 Tan II_A/PC 的制备 采用溶剂挥发法制备 Tan II_A/PC 复合物,具体操作如下:精密称取 Tan II_A 原料药 0.3 g 与 PC 0.8 g,共同置于 100 mL 四氢呋喃中,在避光条件下,45 $^{\circ}$ C 水浴中磁力搅拌 3 h,使 2 者充分溶解并结合;随后在 45 $^{\circ}$ C 条件下减压旋蒸除去四氢呋喃溶剂,得到浅红色黏稠状物质,即为 Tan II_A/PC 粗品。利用 Tan II_A 与 Tan II_A/PC 在石油醚中溶解度的差异进行提纯: Tan II_A 在石油醚中微溶,而 Tan II_A/PC 在石油醚中易溶。取上述 Tan II_A/PC 粗品,加入适量石油醚,震荡使其充分复溶,经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,除去体系中未结合的游离 Tan II_A;收集续滤液,在 45 $^{\circ}$ C 下减压旋蒸除去石油醚,得到半固体状的纯化 Tan II_A/PC 复合物。

2.1.2 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的制备 采用纳米沉淀型溶剂挥发法制备 Gyp-Tan II_A/PC-NPs,具体操作如下:精密称取处方量的 Gyp,分散于 50 mL 纯化水中,超声助溶后作为水相;精密称取 50 mg 纯化后的 Tan II_A/PC,溶于 5 mL 无水乙醇中,搅拌使其完全溶解,作为有机相。在 600 r \cdot min⁻¹的恒温搅拌条件下,将有机相缓慢滴加入水相中,滴加完毕后,以 250 W 功率超声分散 5 min,随后在 45 $^{\circ}$ C 下减压旋蒸 20 min,彻底除去体系中的乙醇溶剂。将上述体系置于均质机中,在设定压力下循环均质数次,均质结束后立即置于冰浴中快速降温 10 min,终止体系反应并稳定纳米粒结构;取出后经 0.65 μ m 微孔滤膜滤过,除去粒径过大的团聚体,即得均一稳定的 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液。

2.2 Tan II_A 含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 采用 Agilent SB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 柱温 35 °C; 流动相为水-乙腈 (25 : 75); 检测波长 275 nm; 进样量 20 μL; 体积流量 1.0 mL·min⁻¹。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液 1.0 mL 置于 100 mL 量瓶中, 加入 60 mL 乙醇后 250 W 功率下超声 5 min, 破坏 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 结构, 使用水-乙腈 (25 : 75) 稀释定容后避光保存。

2.2.3 线性关系考察 精密称取 Tan II_A 适量, 采用乙腈配制成质量浓度为 100.00 μg·mL⁻¹ 的对照品储备液。使用纯化水-乙腈 (25 : 75) 稀释成质量浓度分别为 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 μg·mL⁻¹ 的 Tan II_A 对照品溶液, 测定不同 Tan II_A 质量浓度 (X) 的峰面积 (Y), 拟合回归得方程 $Y=30.1528X+1.0023$, $r=0.9999$, 线性范围 0.05~10.00 μg·mL⁻¹。

2.2.4 专属性考察 取 Gyp 和 PC 混合物 (比例同 Gyp-Tan II_A/PC-NPs), 按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液, 另取 0.50 μg·mL⁻¹ 的 Tan II_A 对照品溶液和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 供试品溶液, 按“2.2.1”项下方法进行检测。结果见图 1, Gyp 和 PC 均未干扰 Tan II_A 色谱峰, 专属性良好。

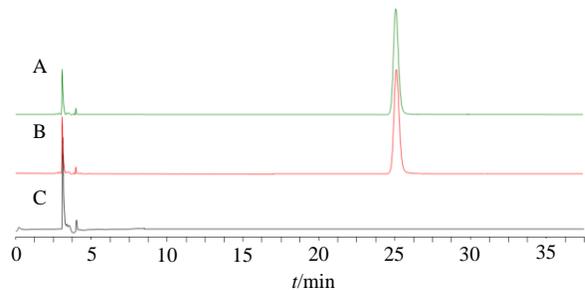


图 1 Gyp-Tan II_A/PC-NPs (A)、Tan II_A 对照品 (B) 和阴性样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of Gyp-Tan II_A/PC-NPs sample solution (A), tanshinone II_A reference substance (B) and blank sample solution (C)

2.2.5 精密度考察 分别取质量浓度为 0.05、1.00、10.00 μg·mL⁻¹ 对照品溶液, 检测 Tan II_A 峰面积的 RSD 分别为 0.49%、0.33%、0.40% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性考察 取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液, 按“2.2.2”项方法平行制备 6 份供试品溶液, 分别测定 Tan II_A 质量分数的 RSD 为 0.89% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性考察 取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、18、24 h 进样测定, 测得 Tan II_A 质量分数的 RSD 为 0.93% ($n=6$), 表明 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率考察 取已知浓度的 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液 0.5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分成低、中、高 3 组。按 50%、100% 和 150% 加入 Tan II_A 对照品, 制备供试品溶液, 测定 Tan II_A 总质量分数。计算得 Tan II_A 的平均加样回收率分别为 101.77%、99.43%、101.25%, RSD 分别为 0.93%、1.14%、1.20% ($n=3$), 表明方法准确度较高。

2.3 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径、多分散指数 (PDI) 及 Zeta 电位测定

取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液 4 mL 至比色皿中, 置于粒度分析仪的样品槽中静置 30 s, 分别测定粒径和 PDI 值。另取适量 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液至 Zeta 电位样品池, 液面齐平后密封, 测定 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 Zeta 电位。

2.4 单因素优化 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方工艺

2.4.1 Gyp 质量分数考察 固定 Tan II_A/PC 用量为 50 mg、均质压力 80 MPa、均质次数 6 次, 考察 Gyp 质量分数对 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径、PDI 及 Zeta 电位的影响, 结果如表 1 所示。随着 Gyp 质量分数的增加, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的粒径与 PDI 值均呈现先减小后增大的趋势。究其原因, 当 Gyp 质量分

表 1 Gyp 质量分数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Effects of Gyp mass fraction ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Gyp 质量分数/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
0.10	512.23±11.97	0.309±0.007	-19.23±0.76
0.15	326.17±12.60	0.264±0.007	-26.36±0.87
0.20	237.42±13.34	0.202±0.009	-27.17±0.32
0.25	271.63±4.71	0.237±0.004	-26.87±0.50
0.30	312.40±6.78	0.277±0.006	-27.17±0.31

数较低时，无法为纳米粒提供充足的稳定作用^[18]，导致其粒径偏大且粒径分布范围较宽，最终表现为 PDI 值较高；而当 Gyp 质量分数过高时，过量的 Gyp 会吸附于 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 表面^[18]，造成纳米粒平均粒径增大、粒径分布变宽，进而使 PDI 值升高。当 Gyp 质量分数高于 0.15% 时，Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 Zeta 电位绝对值均大于 26 mV，表明较高的 Gyp 质量分数有助于维持 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液的分散稳定性。综合考虑实验需获得粒径与 PDI 值较小，且 Zeta 电位绝对值较高的 Gyp-Tan II_A/PC-NPs，后续实验将以 Gyp 质量分数 0.20% 为中心，在 0.15%~0.25% 进行进一步优化。

2.4.2 均质压力考察 固定 Tan II_A/PC 用量 50 mg、

表 2 均质压力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effects of homogeneous pressure ($\bar{x} \pm s, n=3$)

均质压力/MPa	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
40	532.30 ± 17.18	0.333 ± 0.009	-27.23 ± 1.15
60	306.27 ± 12.51	0.265 ± 0.009	-26.27 ± 1.40
80	243.47 ± 9.53	0.212 ± 0.007	-27.23 ± 0.31
100	294.60 ± 8.77	0.235 ± 0.006	-26.37 ± 0.67
120	388.30 ± 9.36	0.261 ± 0.006	-27.43 ± 0.90

进一步优化。

2.4.3 均质次数考察 固定 Tan II_A/PC 用量 50 mg、Gyp 质量分数为 0.20%、均质压力为 80 MPa，考察均质次数对 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径、PDI 及 Zeta 电位的影响，结果见表 3。随着均质次数的增加，Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的粒径与 PDI 均呈先降低后升高的趋势：均质次数较少时，体系未获得充足的均

表 3 均质次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effects of homogeneous times ($\bar{x} \pm s, n=3$)

均质次数/次	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
2	434.30 ± 22.31	0.361 ± 0.007	-26.68 ± 0.35
4	291.13 ± 7.36	0.282 ± 0.010	-26.88 ± 0.30
6	232.33 ± 9.09	0.212 ± 0.005	-26.93 ± 0.29
8	303.27 ± 6.42	0.260 ± 0.006	-26.82 ± 0.87
10	391.40 ± 9.40	0.276 ± 0.007	-26.96 ± 0.42

2.5 BBD-RSM 优化 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方工艺

2.5.1 实验设计及结果 基于前期单因素实验筛选的关键影响因素，以 Gyp 质量分数 (X_1)、均质压力 (X_2) 和均质次数 (X_3) 为自变量，粒径 (Y_1) 和 PDI 值 (Y_2) 的总评归一值 (OD) 为因变量，采用 BBD-RSM 进行 3 因素 3 水平共计 17 次实

Gyp 质量分数 0.20%、均质次数 6 次，考察均质压力对 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径、PDI 及 Zeta 电位的影响，结果见表 2。当均质压力由 40 MPa 增至 120 MPa 时，Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的粒径与 PDI 均呈现先减小后增大的趋势；究其原因，均质压力较低时体系的均质分散效果不足^[19]，导致粒径与 PDI 偏大，而均质压力过高时，体系因机械作用产热使温度骤升，可能破坏 Tan II_A/PC 与 Gyp 的理化稳定性^[20]，进而造成纳米粒平均粒径与 PDI 增大。此外，均质压力对 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 Zeta 电位无明显影响，推测质量分数 0.20% 的 Gyp 可有效维持该纳米粒体系的胶体稳定性。基于上述结果，后续实验以 80 MPa 为中心，在 60~100 MPa 对该工艺参数

质能量，均质效果不佳^[19]，因此所得纳米粒的粒径与 PDI 偏大；而均质次数过多时，体系温度骤升，会影响 Tan II_A/PC 与 Gyp 的理化稳定性^[20]，易导致 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 发生聚集，进而使纳米粒的平均粒径与 PDI 增大。此外，均质次数对 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 Zeta 电位无明显影响，后续以 6 次为中心，对均质次数 4~8 次进行优化。

验，以优化 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方工艺，因素水平、设计及结果见表 4。

$$d = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$OD = 0.5 \times d_{\text{粒径}} + 0.5 \times d_{\text{PDI}}$$

M_i 、 M_{\max} 和 M_{\min} 分别为粒径和 PDI 的实测值、最大值和最小值

表 4 BBD-RSM 试验因素水平、设计及结果

Table 4 BBD-RSM factor level, test design and results

序号	X ₁ /%	X ₂ /MPa	X ₃ /次	Y/nm	PDI	OD	序号	X ₁ /%	X ₂ /MPa	X ₃ /次	Y/nm	PDI	OD
1	0.15 (-1)	100 (1)	6 (0)	268.25	0.312	0.089	10	0.20	80	6	236.64	0.215	0.859
2	0.20 (0)	80 (0)	6	233.74	0.217	0.889	11	0.20	80	6	234.33	0.209	0.912
3	0.25 (1)	100	6	252.16	0.296	0.354	12	0.15	80	8	265.27	0.315	0.115
4	0.20	60 (-1)	8 (1)	256.28	0.312	0.241	13	0.25	60	6	259.71	0.291	0.277
5	0.15	80	4 (-1)	268.66	0.324	0.038	14	0.20	100	4	260.53	0.332	0.110
6	0.25	80	8	249.08	0.279	0.458	15	0.20	60	4	255.91	0.243	0.509
7	0.20	80	6	229.18	0.211	0.969	16	0.15	60	6	264.28	0.321	0.105
8	0.20	80	6	237.82	0.203	0.891	17	0.20	100	8	253.75	0.254	0.494
9	0.25	80	4	268.55	0.334	0.001							

2.5.2 数学模型的建立及方差分析 使用 Design Expert V11.1.2 软件对数据作拟合, 得 OD 值的二次多元回归方程为 $Y=0.90+0.09 X_1-0.01 X_3+0.08 X_3+0.02 X_1 X_3+0.10 X_1 X_3+0.16 X_3 X_3-0.44 X_1^2-0.26 X_2^2-0.31 X_3^2$, 模型 P 值 $<0.000 1$, 失拟项 P 值 $=0.061 0$, 说明数学模型具有可靠的指导价值, 可信度高, 抗干扰能力强。模型 R^2 和 R_{Adj}^2 值分别为 0.981 7 和 0.958 1 均大于 0.95, 说明数学模型预测值与实验值较为接近。方差分析结果见表 5, 数学模型的 $X_1 X_3$ 项具有显著性意义 ($P < 0.05$), X_1 、 X_3 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 具极显著差异 ($P < 0.01$)。由 X_1 、 X_3 、 X_2 系数绝对值以及方

差分析结果的 F 值可知, 自变量影响顺序为 $X_1 > X_3 > X_2$ 。

2.5.3 响应面结果及最佳处方工艺 自变量与 OD 的三维曲面图见图 2。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径和 PDI 的总评归一值 OD 随着任意两自变量参数的增加呈先下降后增大趋势, 即抛物线形态, 说明 OD 存在最高点。故以 OD 值最大值为目标, 得 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 最佳处方为: Gyp 质量分数为 0.21%, 均质压力为 80.72 MPa, 均质次数为 6.92 次, OD 值为 0.989。考虑到实际操作的可行性, 将工艺参数的均质压力修正为 80 MPa, 均质次数修正为 7 次, Gyp 质量分数保持不变。

表 5 方差分析结果

Table 5 Results of variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.93	9	0.21	41.68	<0.000 1	X_1^2	0.82	1	0.82	159.49	<0.000 1
X_1	0.07	1	0.07	13.41	0.008 1	X_2^2	0.28	1	0.28	53.68	0.000 2
X_2	8.86×10^{-4}	1	8.86×10^{-4}	0.17	0.690 6	X_3^2	0.40	1	0.40	78.30	<0.000 1
X_3	0.05	1	0.05	10.24	0.015 1	残差	0.04	7	5.15×10^{-3}		
$X_1 X_2$	2.14×10^{-3}	1	2.14×10^{-3}	0.42	0.539 8	失拟项	0.03	3	9.77×10^{-3}	5.81	0.061 0
$X_1 X_3$	0.04	1	0.04	6.99	0.033 3	纯偏差	6.72×10^{-3}	4	1.68×10^{-3}		
$X_2 X_3$	0.11	1	0.11	20.63	0.002 7	总离差	1.97	16			

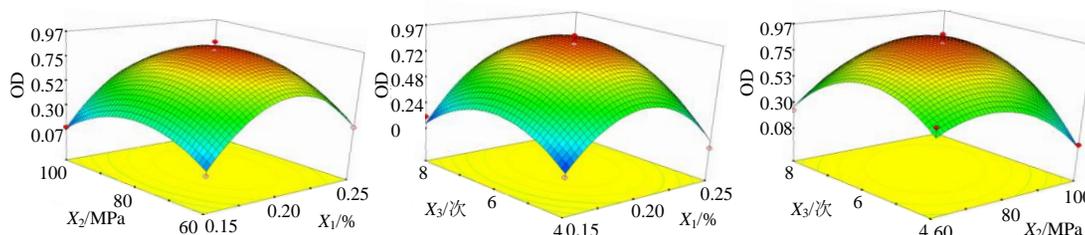


图 2 各因素对 OD 值的影响

Fig. 2 Effect of various factors on OD value

2.6 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方工艺确定及验证

平行制备 3 批 Gyp-Tan II_A/PC-NPs, 计算得 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 平均粒径为 (229.72 ± 4.26) nm, PDI 为 0.206 ± 0.012 , Zeta 电位为 (-27.07 ± 0.84) mV, 粒径分布及 Zeta 电位见图 3。3 批 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径和 PDI 值的平均 OD 值为 0.981, 与预测 OD 值 0.989 接近, 证明建立的 OD 值数学模型可用于指导 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方优化, 精确度高。

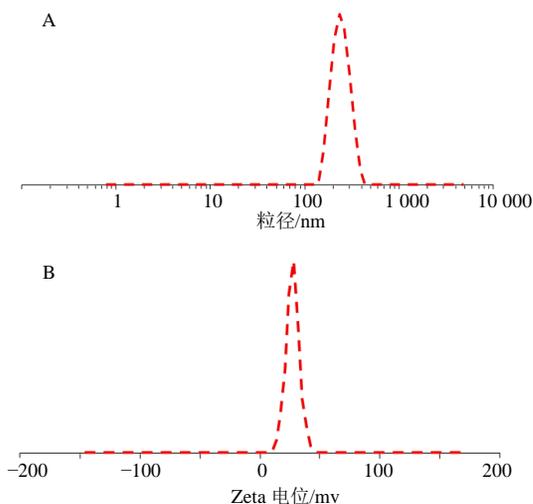


图 3 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粒径分布 (A) 和 Zeta 电位 (B) 图

Fig. 3 Particle size distribution (A) and Zeta potential of Gyp-Tan II_A/PC-NPs (B)

2.7 扫描电镜 (SEM) 观察 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 外貌

取稀释后的 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液, 滴至导电胶上 (贴在样品座上), 喷金 1 min。置于 SEM 下观察 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 形貌。结果见图 4, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 呈不规则的纳米颗粒, 无黏连, 粒径小于 500 nm。

2.8 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粉末的制备、载药量及溶解度测定

2.8.1 冻干粉末制备工艺及质量指标测定 取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液, 加入 5% 乳糖, 震荡使之溶解, 于 -55 °C 超低温冰箱冷冻 3 d, 立即置冷冻干燥机中, 抽真空, 在 -30 °C 下冷冻干燥 3 d, 即得 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粉末, 外观见图 5, 呈浅红色疏松粉末。取 3 批粉末加入纯化水复溶, 测得 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 平均粒径为 (269.19 ± 11.46) nm, PDI 为 0.231 ± 0.011 , Zeta 电位为 (-25.06 ± 1.15) mV。

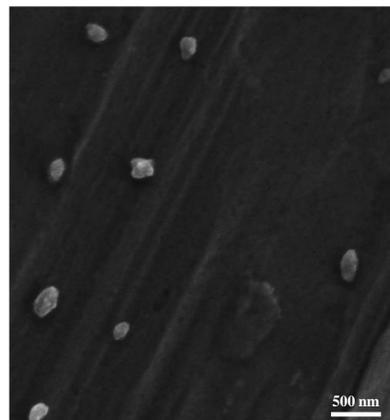


图 4 Gyp-Tan II_A/PC-NPs SEM 图 ($\times 12\ 500$)

Fig. 4 SEM image of Gyp-Tan II_A/PC-NPs ($\times 12\ 500$)

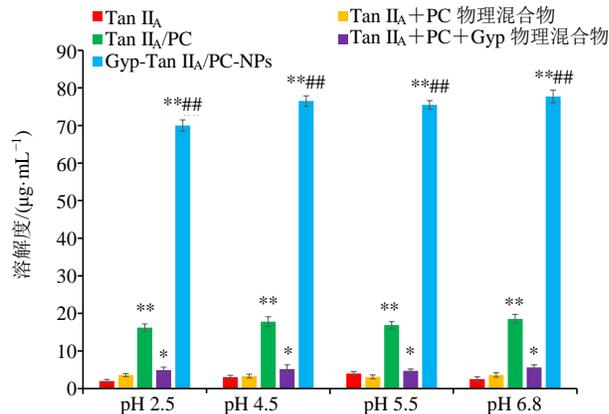


图 5 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液 (A)、冻干粉 (B) 和纯化水复溶 (C) 外观

Fig. 5 Appearance of Gyp-Tan II_A/PC-NPs suspension (A), Gyp-Tan II_A/PC-NPs powder (B) and suspension redissolved by water (C)

2.8.2 载药量测定 称取 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粉末约 20 mg 置于 100 mL 量瓶中, 加入 1 mL 纯化水重新分散成混悬液, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 并计算 Tan II_A 含量 (M_1), 根据 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 粉末质量 (M_0) 计算载药量 (M_1/M_0) 为 $(8.69 \pm 0.12)\%$ 。

2.8.3 溶解度测定 取过量 Tan II_A 原料药、Tan II_A/PC、Tan II_A+PC 物理混合物 (用量比同 Tan II_A/PC)、Tan II_A+PC+Gyp 物理混合物 (用量比同 Gyp-Tan II_A/PC-NPs) 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 冻干粉置于三角瓶中, 加入 pH 2.5 磷酸盐缓冲液, 保持各个样品均过量, 250W 功率下超声 20 min。分别固定在 25 °C 震荡器上, $30\ r \cdot \min^{-1}$ 震荡 3 d。 $10\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 测定 Tan II_A 溶解度。分别配制 pH 4.5、pH 6.0、pH 6.8 磷酸盐缓冲液, 同法测定各样品的溶解度, 结果见图 6。与 Tan II_A 原料药相比, Tan II_A+PC 物理混合物溶解度增加无显著性差异 ($P >$



与 Tan II_A 比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 Tan II_A/PC 比较: ### $P < 0.01$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Tan II_A; ### $P < 0.01$ vs Tan II_A/PC。

图 6 溶解度测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Results of solubility determination ($\bar{x} \pm s, n=3$)

0.05), Tan II_A+PC+Gyp 物理混合物可显著提高 Tan II_A 的溶解度 ($P < 0.01$); Tan II_A/PC 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 极大提高了 Tan II_A 在各 pH 磷酸盐缓冲液中的溶解度 ($P < 0.01$)。与 Tan II_A/PC 相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 在各 pH 磷酸盐缓冲液中的溶解度也具有极显著性增加 ($P < 0.01$), 主要与 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 极大提高了 Tan II_A/PC 分散性有关^[21]。

2.9 晶型分析

2.9.1 差示扫描量热 (DSC) 分别取 Tan II_A、PC、Tan II_A+PC 的物理混合物、Tan II_A+PC+Gyp 的物理混合物、Tan II_A/PC、Gyp、Gyp-Tan II_A/PC-NPs 密封在铝盘中, 在温度 30~300 °C 进行 DSC 分析, 结果见图 7。Tan II_A 在 205 °C 出现吸热峰, 而 PC 未见明显吸热峰。Tan II_A 和 PC 物理混合物在 190 °C 出现吸热峰, 可能是磷脂熔点较低, 在升温过程中磷脂首先形成熔融液, 溶解了 Tan II_A, 进而导致 Tan II_A 吸热峰提前^[14]。Tan II_A/PC 无明显的吸热峰, 推测 Tan II_A 在 Tan II_A/PC 中存在形式发生变化, 形成了新的物相, 进而导致 Tan II_A/PC 中 Tan II_A 吸热峰消失。Gyp 是一种混合物, 在 100 °C 附近形成宽而钝的吸热峰。Tan II_A+PC+Gyp 的物理混合物在 169 °C 出现吸热峰, 推测是 Gyp 和 PC 共同导致 Tan II_A 吸热峰提前。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 DSC 曲线仍未见 Tan II_A 吸热峰, 表明将 Tan II_A/PC 进一步制备成 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 后 Tan II_A 仍以 Tan II_A/PC 形式存在。

2.9.2 X-射线粉末衍射 (XRPD) 分别取 Tan II_A、PC、Tan II_A+PC 的物理混合物、Tan II_A/PC、Gyp、

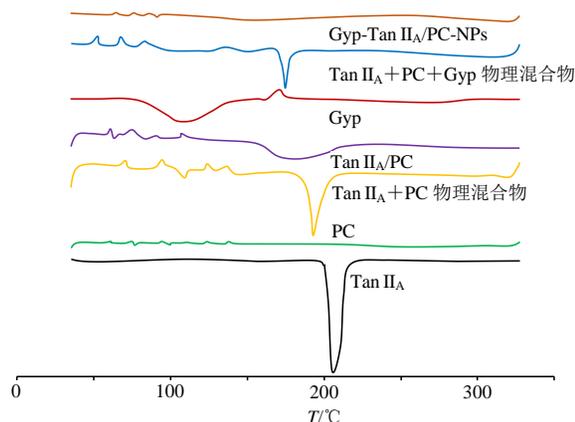


图 7 样品 DSC 结果

Fig. 7 DSC results of samples

Gyp-Tan II_A/PC-NPs 等样品进行 XRPD 测试, 测试角度 (2θ) 范围为 $3^\circ \sim 45^\circ$, 结果见图 8。Tan II_A 出现较多的晶型峰, 磷脂仅在 $3^\circ \sim 8^\circ$ 出现晶型峰, Tan II_A+PC 的物理混合物 XRPD 图谱仅是 Tan II_A 和 PC 的简单叠加, 但 Tan II_A/PC 的 XRPD 图谱未见 Tan II_A 和 PC 的晶型峰, 可能是 2 者之间极性基团发生了某种结合后导致各自晶型峰受到抑制而消失^[14], 证明 Tan II_A/PC 制备成功。Gyp 无晶型峰, 说明它是一种无定形物质, 在 Tan II_A+PC+Gyp 物理混合物的 XRPD 图谱上仍可见 PC 和 Tan II_A 各自的晶型峰。在 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 XRPD 图谱上未见 PC 和 Tan II_A 的晶型峰, 证明将 Tan II_A/PC 进一步制备成 Gyp-Tan II_A/PC-NPs, 未影响 Tan II_A 在 Tan II_A/PC 存在状态, 与 DSC 分析结果相互佐证。

2.10 丹参酮 II_A 纳米混悬剂 (Tan II_A-NPs) 的制备及体外释药行为比较

以波洛沙姆 188 和波洛沙姆 407 (用量比为 1:1) 作为稳定剂^[22], 参考 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 制备工艺来制备 Tan II_A-NPs, 测得粒径为 $(246.55 \pm$

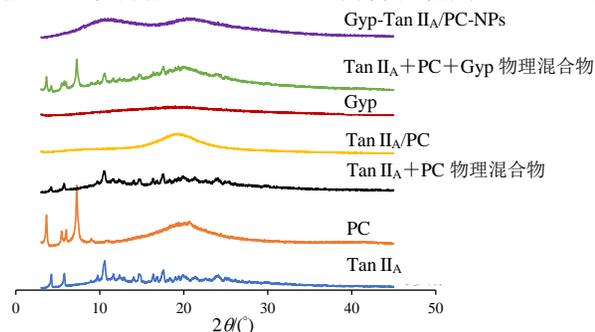


图 8 XRPD 结果

Fig. 8 XRPD results

7.12) nm, PDI 值为 0.229 ± 0.013 , Zeta 电位为 (-21.70 ± 0.83) mV。取 Tan II_A 原料药、Tan II_A/PC、Gyp-Tan II_A/PC-NPs 和 Tan II_A-NPs 粉末适量 (Tan II_A 均为 20 mg), 分别加入含 1% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 的纯化水, 震荡混匀后转移至透析袋 (截留相对分子质量 10 000), 平行制备 3 份。使用含 1% SDS 的纯化水 1.0 L 作为介质, 实验前 250W 超声 15 min, 倒入溶出杯, 溶出杯外部水温为 (37 ± 0.5) °C, 在 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 和 Tan II_A-NPs 分别于 0、0.5、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、9.0、12.0 h 用注射器在溶出杯中取 5 mL 混悬液, 使用 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 溶出杯中补加 5 mL 含 1% SDS 的纯化水, 使溶出介质体积维持在 1.0 L。Tan II_A 原料药和 Tan II_A/PC 增加 18 h 取样点, 同法进行实验, 按“2.2.1”项下条件测定 Tan II_A 含量, 计算累积释放率 (E_r), 结果见图 9。Tan II_A 原料药 18 h E_r 仅 16.89%, Tan II_A/PC 辅助提高了 Tan II_A 的 E_r , 但改善幅度相对有限。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 和 Tan II_A-NPs 均极大提高了 Tan II_A 的 E_r , 在 9 h 的 E_r 均大于 90%, 释药速率极大提高。

$$E_r = (V_e \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n) / M_{\text{Tan II}_A}$$

V_e 表示置换的缓冲液的体积; V_0 表示缓冲液总体积; C_i 表示第 i 次取样时样品浓度; $M_{\text{Tan II}_A}$ 表示混悬液中 Tan II_A 的质量; n 表示置换缓冲液的次数

2.11 口服药动学研究

2.11.1 实验方案 取 24 只 SD 大鼠 (禁食 12 h), 每组 6 只, 随机分成 4 组, 确保每组 SD 大鼠雌雄均各半; 取 Tan II_A 原料药、物理混合物 (Tan II_A、Gyp 和 PC 比例同 Gyp-Tan II_A/PC-NPs)、Tan II_A-NPs 冻干粉和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 冻干粉适量, 分

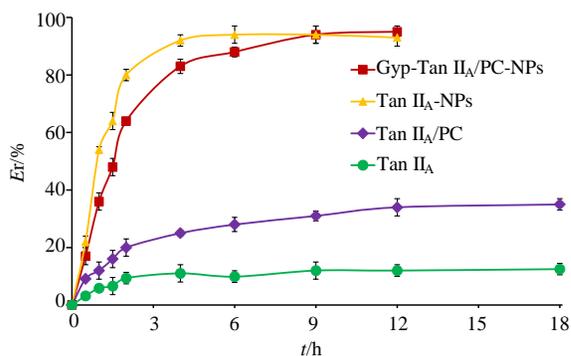


图 9 体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Release curve *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

别分散至 0.5% 的 CMC-Na 水溶液 (ig 给药前配制)。以 Tan II_A 含量计 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig 给药。分别于给药前及给药后 0.25、0.50、1.00、2.00、2.50、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00 h 乙醚麻醉后, 眼眶后静脉丛取血约 $200 \mu\text{L}$, 防凝剂处理后 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 2 min, 取血清冷冻保存。

2.11.2 内标溶液的配制及血浆样品溶液的制备 取非诺贝特对照品, 采用甲醇配制成质量浓度为 $800 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的内标溶液。精密取融化后的血浆溶液和非诺贝特内标溶液各 $100 \mu\text{L}$ 置于离心管中, 加入 2 mL 提取溶剂 (乙腈: 醋酸乙酯 = 1:4), 密封, 涡旋 2 min, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 8 min 使血浆中蛋白等杂质完全沉淀。取上清液, 经氮气吹干后加入 $100 \mu\text{L}$ 甲醇, 250 W 功率下超声 5 min, 再次以 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 8 min, 即得含内标非诺贝特的血浆样品溶液。

2.11.3 线性关系考察 使用空白血浆配制质量浓度为 2000、1000、500、250、100、20 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Tan II_A 血浆对照品, 分别取 $100 \mu\text{L}$, 按照“2.11.2”项下制备含内标非诺贝特的血浆对照品溶液, 按“2.2.1”项下方法检测非诺贝特和 Tan II_A 峰面积, 以峰面积比 (Y) 为纵坐标, Tan II_A 质量浓度 (X) 为横坐标, 得方程 $Y=0.0063X-0.1028, r=0.9980$, 线性范围 $20 \sim 2000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.11.4 专属性考察 取空白血浆, 按“2.11.2”方法处理得到空白血浆溶液, 另取 Tan II_A ig 12 h 血浆样品溶液和 Tan II_A 质量浓度为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的血浆对照品溶液, 分别取 $20 \mu\text{L}$ 按“2.2.1”条件检测, 结果见图 10, Tan II_A 和非诺贝特专属性较高。

2.11.5 室温稳定性考察 取质量浓度为 $500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Tan II_A 质控样品 (含非诺贝特), 于 0、2、4、6、8、12、24 h 分别测定非诺贝特和 Tan II_A 峰面积, 根据随行标准曲线计算 Tan II_A 质量浓度的 RSD 值为 6.03%, 表明血浆样品在室温 24 h 内稳定性良好。

2.11.6 精密度考察 取质量浓度分别为 20、500、2000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Tan II_A 血浆对照品溶液 (含非诺贝特), 连续测试 6 次, 记录非诺贝特和 Tan II_A 峰面积, 根据随行标准曲线计算 Tan II_A 浓度, RSD 值分别为 5.26%、2.36%、3.11% ($n=3$)。连续测试 6 d, 每天测试 1 次, 记录 Tan II_A 及非诺贝特峰面积, 根据随行标准曲线计算 Tan II_A 质量浓度 RSD 值分别为 5.70%、4.83% 和 3.94% ($n=3$), 表明日内及日间精密度良好。

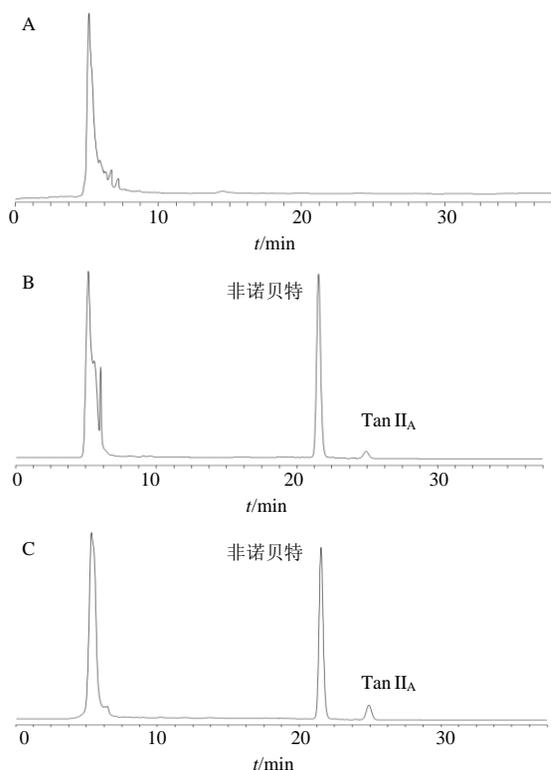


图 10 空白血浆 (A)、血浆对照品溶液 (含内标, B) 和血浆样品溶液 (含内标, C) 的 HPLC 图

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

2.11.7 重复性考察 取质量浓度为 $500 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Tan II_A 质控样品, 制成 6 份血浆样品溶液 (含非诺贝特), 测定非诺贝特和 Tan II_A 峰面积, 根据随行标准曲线计算 Tan II_A 质量浓度的 RSD 值为 7.15% ($n=3$), 表明方法重复性良好。

2.11.8 提取回收率和基质效应考察 取 20 (低)、500 (中)、2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (高) 质量浓度的 Tan II_A 质控血浆样品 (含非诺贝特, 浓度为 $800 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 按“2.11.2”处理得到质控样品溶液, 测定峰面积

(A_1); 取空白血浆 $100 \mu\text{L}$, 按“2.11.2”处理得到空白样品 (不含非诺贝特), 然后加入 Tan II_A 对照品使其质量浓度为 20、500、2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (含非诺贝特, 质量浓度为 $800 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 测定峰面积 (A_2)。以 A_1/A_2 计算得低、中、高质量浓度 Tan II_A 提取回收率分别为 103.65%、95.74%、97.58%, 非诺贝特提取回收率为 101.77%, 表明提取回收率较高。仅采用乙腈配制 20 (低)、500 (中)、2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ (高) Tan II_A 对照品溶液 (含非诺贝特, 质量浓度为 $800 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), 测定峰面积 (A_3), 以 A_2/A_3 计算得低、中、高质量浓度 Tan II_A 基质效应分别为 96.66%、104.70%、95.94%, 非诺贝特基质效应为 95.13%, 表明基质效应较小。

2.11.9 药动学结果 Tan II_A、物理混合物、Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 药-时曲线见图 11。根据测得的实验数据, 采用 DAS 2.0 软件非房室模型分别对 Tan II_A、物理混合物、Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 药动学参数进行分析, 结果见表 6。与 Tan II_A 相比, 物理混合物达峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 ($\text{AUC}_{0\sim t}$) 和 $\text{AUC}_{0\sim\infty}$ 显著性提高 ($P<0.05$), 说明 PC、Gyp 等辅料具有辅助促进 Tan II_A 体内吸收作用。Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的半衰期

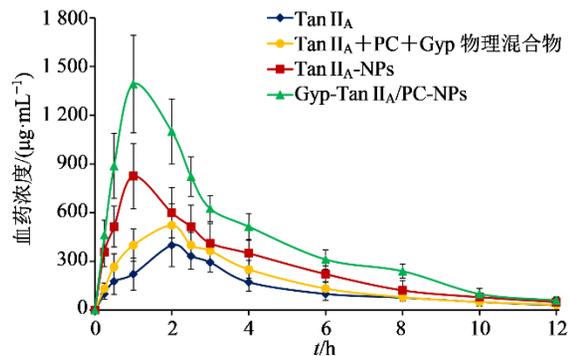


图 11 药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

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

表 6 主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

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

参数	单位	Tan II _A	物理混合物	Tan II _A -NPs	Gyp-Tan II _A /PC-NPs
t_{max}	h	2.04 ± 0.29	1.95 ± 0.32	$1.06 \pm 0.19^{**}$	$0.97 \pm 0.21^{**}$
C_{max}	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	406.15 ± 63.52	$523.21 \pm 75.46^*$	$829.95 \pm 188.27^{***}$	$1\ 290.61 \pm 302.39^{***\Delta}$
$t_{1/2}$	h	3.42 ± 0.58	3.28 ± 0.49	3.94 ± 0.82	3.70 ± 0.73
$\text{AUC}_{0\sim t}$	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1\ 315.38 \pm 259.22$	$1\ 734.63 \pm 341.55^*$	$3\ 987.17 \pm 543.06^{***}$	$5\ 602.83 \pm 790.54^{***\Delta}$
$\text{AUC}_{0\sim\infty}$	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1\ 362.63 \pm 379.04$	$1\ 885.07 \pm 375.80^*$	$4\ 096.94 \pm 601.43^{***}$	$5\ 864.29 \pm 861.13^{***\Delta}$

与 Tan II_A 比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与物理混合物比较: # $P<0.05$ ### $P<0.01$; 与 Tan II_A-NPs 比较: $\Delta P<0.05$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs Tan II_A; # $P<0.05$ ### $P<0.01$ vs physical mixture; $\Delta P<0.05$ vs Tan II_A-NPs.

($t_{1/2}$) 无显著性差异 ($P > 0.05$), 而达峰时间 (t_{max}) 极显著性提前 ($P < 0.01$), C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 得到极显著增加 ($P < 0.01$), 相对生物利用度增加分别至 3.03 倍和 4.26 倍。说明 Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 均可有效促进 Tan II_A 体内吸收, 但 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 优势比 Tan II_A-NPs 更大。

2.12 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 对 PF 小鼠的治疗作用评价

2.12.1 分组、造模及给药

取健康 C57BL/6 小鼠, 采用 10% 水合氯醛麻醉后, 仰卧固定于保温垫上。沿颈部正中中线作 1 cm 切口, 逐层分离组织至气管, 经气管软骨环间隙注入博来霉素 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) [23], 随后缝合切口及皮肤。待小鼠苏醒后进行常规饲养, 每日对饲养笼进行消毒处理。

造模 1 周后, 随机选取 10 只小鼠, 经麻醉后脱颈处死, 迅速取其肺组织并制作病理切片。HE 染色结果显示, 所有小鼠肺组织均出现细胞排列紊乱、肺泡萎缩、炎症细胞浸润明显及肺泡间隔增厚等病理改变; Massion 染色结果显示, 各小鼠肺组织中均可见大量蓝色胶原纤维沉积, 表明 PF 模型构建成功。

选取造模成功的小鼠 56 只, 随机分为 7 组, 每组 8 只, 分别为模型组、吡非尼酮 (阳性药, $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 [23]、Tan II_A ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组 [1]、辅料 [Gyp+PC, 给药剂量参照 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组的辅料用量] 组、Tan II_A-NPs ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组及 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 低、高剂量 (50 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。另取 8 只正常小鼠作为对照组。

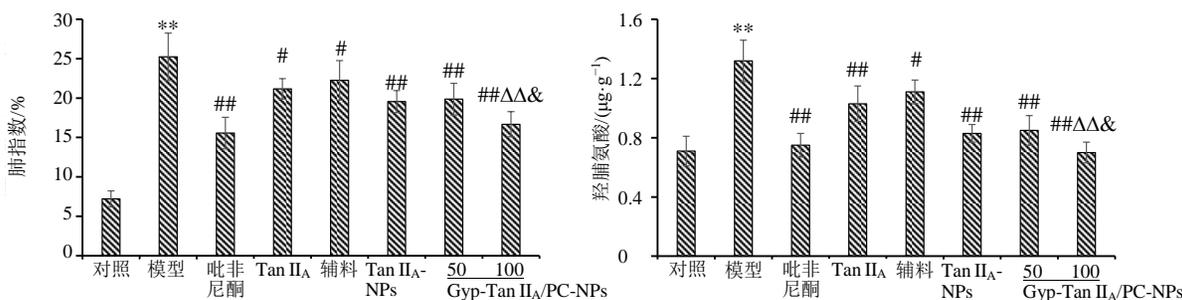
每日 8:00 时对各组小鼠进行 ig 给药, 给药期间正常饲养, 连续干预 4 周, 记录末次给药前各组小鼠的体质量。末次给药 4 h 后, 采用 10% 水合氯

醛麻醉小鼠, 经眼眶取血, 将血液置于离心管中, 以 $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 分离血清并冻存于 $-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

采血完成后, 将小鼠固定于手术台, 用酒精棉球擦拭腹部及颈部皮肤进行消毒, 手术刀逐层剪开皮肤及皮下组织, 分离双侧肺脏。用 0.9% 氯化钠溶液冲洗肺组织表面污物, 滤纸吸干表面水分后, 精确称量肺组织。

2.12.2 小鼠肺指数及肺组织羟脯氨酸水平检测

根据小鼠体质量和肺质量计算肺指数 (图 12)。称取小鼠肺组织, 加入 9 倍量 0.9% 氯化钠溶液后匀浆。 $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 参考羟脯氨酸试剂盒说明书检测小鼠肺组织中羟脯氨酸的水平。结果见图 12, 与对照组相比, 模型组肺指数和羟脯氨酸水平极显著升高 ($P < 0.01$), 表明模型组小鼠肺组织水肿严重, 肺纤维化严重, 造模成功。与模型组相比, 各给药治疗组的肺指数和羟脯氨酸水平均有显著性或极显著性下降 ($P < 0.05$ 、 0.01), 说明各给药组均改善了小鼠肺组织水肿状况及肺纤维化。辅料组肺指数和羟脯氨酸水平呈显著性下降 ($P < 0.05$), 说明 PC 和 Gyp 可起到辅助治疗作用, 体现了 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方设计的“药辅合一”理念。与 Tan II_A 组相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 低剂量组肺指数和羟脯氨酸水平无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 有助于降低 Tan II_A 给药剂量; Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组肺指数和羟脯氨酸下降有极显著性差异 ($P < 0.01$), 说明在相同给药剂量条件下 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 增强了 Tan II_A 抗 PF 作用。与 Tan II_A-NPs 组相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组肺指数和羟脯氨酸水平有显著性差异 ($P < 0.05$), 表明 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 药效



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与 Tan II_A 组比较: Δ $P < 0.01$; 与 Tan II_A-NPs 组比较: & $P < 0.05$ 。
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; Δ $P < 0.01$ vs tanshinone II_A group; & $P < 0.05$ vs Tan II_A-NPs group.

图 12 肺指数和羟脯氨酸水平测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Fig. 12 Determination results of lung index and hydroxyproline level ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

高于 Tan II_A-NPs。与吡非尼酮相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组肺指数和羟脯氨酸水平无显著性差异 ($P>0.05$)。

肺指数=肺质量/末次给药前小鼠体质量

2.12.3 小鼠血清及肺组织中炎症因子水平检测取“2.12.1”项下血清置于 37 °C 水浴中解冻, 按照说明书采用 ELISA 法检测血清中炎症细胞因子 TNF- α 、TGF- β 1 水平。取右肺组织, 加入 9 倍量 0.9%氯化钠溶液匀浆, 按照说明书采用 ELISA 法检测肺组织中炎症细胞因子 IL-6 水平, 结果见表 7。与对照组相比, 模型组 TNF- α 、TGF- β 1 和 IL-6 水平均出现极显著升高 ($P<0.01$), 表明模型组小鼠肺组织炎症情况严重。与模型组相比, 各给药

组血清中 TNF- α 、TGF- β 1 和肺组织 IL-6 水平均出现显著性或极显著下降 ($P<0.05$ 、 0.01), 表明小鼠炎症情况改善明显。与 Tan II_A 组相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 低剂量组 TNF- α 、TGF- β 1、IL-6 水平均无显著性差异 ($P>0.05$); 而 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组 TNF- α 、TGF- β 1、IL-6 水平下降有极显著性差异 ($P<0.01$)。与 Tan II_A-NPs 组相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组 TNF- α 、TGF- β 1、IL-6 水平下降有显著性差异 ($P<0.05$)。与吡非尼酮相比, Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组 TNF- α 、TGF- β 1、IL-6 水平无显著性差异 ($P>0.05$), 说明 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组可达到阳性药相似的治疗效果。

表 7 各组小鼠血清中 TNF- α 、TGF- β 1 及肺组织中 IL-6 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 7 Determination results of TNF- α , TGF- β 1 levels in serum and IL-6 levels in lung of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	TGF- β 1/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	23.69 ± 1.84	92.49 ± 6.69	28.80 ± 1.12
模型	—	33.88 ± 2.25**	140.61 ± 8.11**	41.45 ± 2.27**
吡非尼酮	200	24.90 ± 1.73##	100.33 ± 5.27##	30.63 ± 1.80##
Tan II _A	100	28.82 ± 2.06#	113.75 ± 6.16##	36.16 ± 1.19##
辅料	—	27.47 ± 2.19#	107.62 ± 7.03##	34.27 ± 1.43##
Tan II _A -NPs	100	25.91 ± 1.17#	105.06 ± 2.24##	33.79 ± 1.02##
Gyp-Tan II _A /PC-NPs	50	27.93 ± 1.93#	107.01 ± 4.99##	34.04 ± 1.36##
	100	23.14 ± 1.85## $\Delta\Delta\Delta$ &	99.46 ± 5.84## $\Delta\Delta\Delta$ &	31.19 ± 1.17## $\Delta\Delta\Delta$ &

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$; 与 Tan II_A 组比较: $\Delta\Delta P<0.01$; 与 Tan II_A-NPs 组比较: & $P<0.05$ 。
** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs tanshinone II_A group; & $P<0.05$ vs Tan II_A-NPs group.

2.12.4 HE 染色 结果见图 13。对照组小鼠肺泡结构完整, 无炎细胞浸润, 间质较薄; 模型组肺组织细胞排列紊乱, 肺泡萎缩, 炎症细胞浸润明显, 间隔变厚, 表明肺组织损伤严重; 吡非尼酮组肺组织细胞排列规则, 炎症细胞浸润现象明显下降, 病理情况趋向于对照组小鼠, 治疗效果明显; Tan II_A 组和辅料组在一定程度上改善了肺组织病变, 但水肿及炎症细胞浸润现象仍较严重, 且 Tan II_A 组效果优于辅料组。Tan II_A-NPs 组也改善了肺组织病变。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 低、高剂量组均有效改善了肺组织病变, 改善效果呈明显的剂量相关性, 且 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 高剂量组肺组织病理情况与吡非尼酮组相近。

2.12.5 Massion 染色 结果见图 14。对照组小鼠肺组织仅见少量蓝色胶原纤维; 模型组肺组织见大量的蓝色胶原纤维, 呈典型的肺纤维化状态, 表明造模成功; 吡非尼酮组肺组织蓝色胶原纤维明显减

少, 有效抑制纤维化后的胶原沉积; Tan II_A 组和辅料组在一定程度上抑制了纤维化后的胶原沉积, 但效果不佳。Tan II_A-NPs 组也抑制纤维化后的胶原沉积, 效果优于 Tan II_A 组。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 低、高剂量组均有效抑制了纤维化后的胶原沉积, 呈剂量相关性。

3 讨论

稳定剂对于提高纳米混悬体系稳定性非常重要, 可降低纳米颗粒表面张力、防止纳米颗粒聚集和沉淀等。常用稳定剂包括聚乙烯吡咯烷酮 K30、聚山梨酯 80、羟丙基甲基纤维素、泊洛沙姆 188、SDS 等^[24], 但长期使用这些化学合成类稳定剂可能存在蓄积、超敏反应、神经毒性和肾毒性等不良反^[18]。与化学合成类稳定剂相比, 天然来源成分具有毒性低、生物相容性更好、体内易降解等特点^[19]。因此, 使用天然来源的稳定剂替代化学合成类稳定

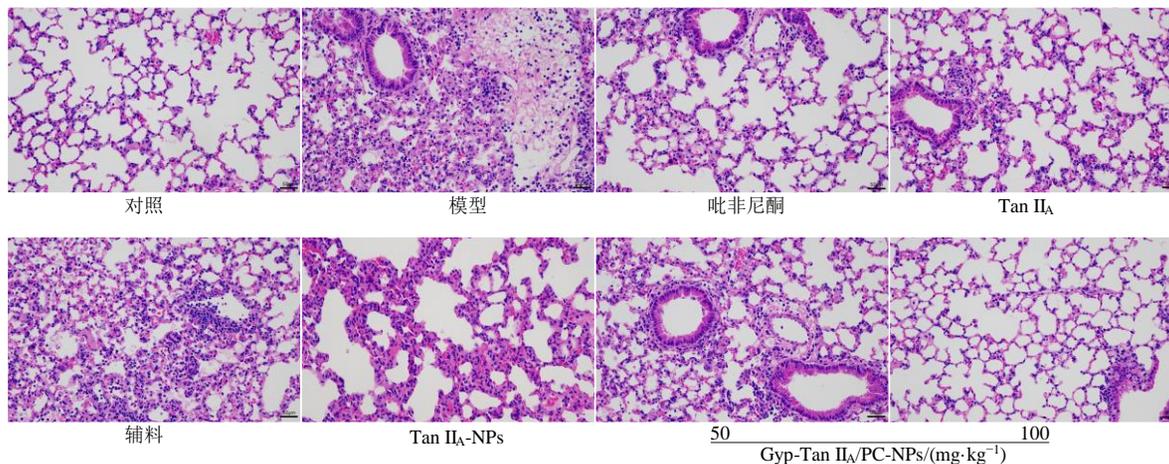


图 13 各组小鼠肺组织 HE 染色 (×200)

Fig. 13 HE staining of lung tissues in each group of mice (×200)

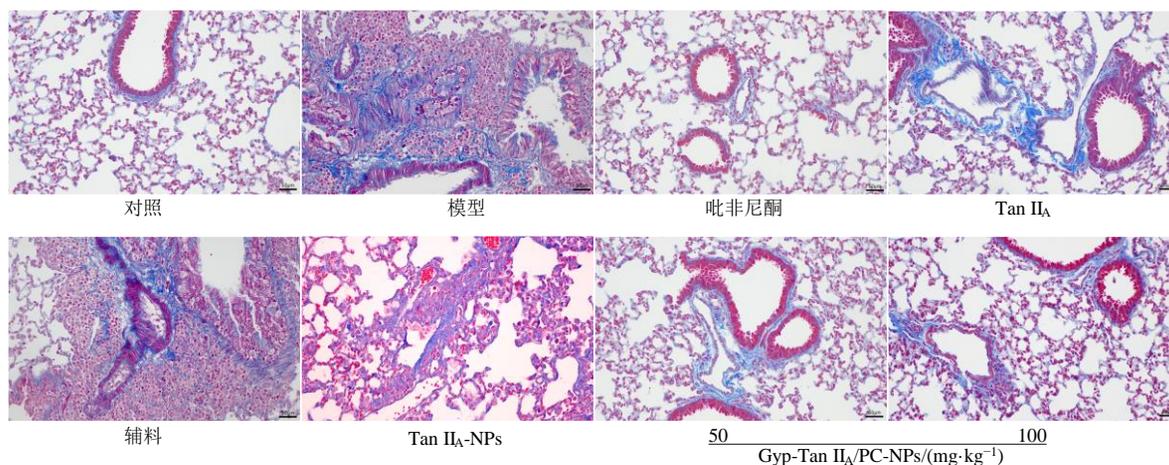


图 14 各组小鼠肺组织 Masson 染色 (×200)

Fig. 14 Masson staining of lung tissues in each group of mice (×200)

剂制备纳米混悬剂具有较高的研究开发价值。

PC 是细胞膜主要成分之一, 脂溶性高, Tan II_A 与 PC 形成 Tan II_A/PC 后药物的亲脂性也会得到极大改善^[14], 利于药物透膜吸收, 提高生物利用度。但 PC 自身黏性较大、疏水性较强, 导致形成的 Tan II_A/PC 溶出速率及溶出度均较低, 不利于药物快速吸收, 从而影响药动学行为^[13]。Gyp 具有良好的亲水性, 可作为纳米给药制剂的稳定剂, 故本研究采用 Gyp 将 Tan II_A/PC 进一步制备成 Gyp-Tan II_A/PC-NPs, 以提高 Tan II_A/PC 溶出速率及溶出度。PC 自身也具有表面活性剂作用^[14], 因此也可作为 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 稳定剂, 与 Gyp 联合维持 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 混悬液的稳定性^[25]。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 解决了 Tan II_A 的溶解度、亲脂性、溶出速率及溶出

度缺陷, 为促进 Tan II_A 体内吸收、增强抗 PF 药效奠定基础^[26]。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 所用辅料使用安全性较高, 其自身的药理活性可辅助增强药效, 符合“药辅合一”理念, 利于临床应用及推广。

结合相关研究及稳定剂 (Gyp 和 PC) 自身理化性质^[14,18], 推测 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 结构: Tan II_A/PC 脂溶性较强, 因而在疏水作用下形成 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 核心; Gyp 由疏水性三萜基团和亲水性糖链构成, 具有两亲特性, 疏水性三萜基团易吸附在 Tan II_A/PC 周围形成保护层, 并将亲水性糖链伸至水中, 从而产生空间排斥力, 维持 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 体系的稳定性。由于 Tan II_A 位于 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 核心, 受到 PC 和 Gyp 双重保护作用, 利于降低胃肠道各种消化酶、pH 值等对 Tan II_A 的

降解几率,进而增加药物体内吸收量、增强抗 PF 作用。Gyp 表面活性作用低于常规化学类表面活性剂,使纳米颗粒表面张力不平衡,从而可能对纳米颗粒形貌产生影响。另外纳米颗粒在高压破碎和分散过程中受到的剪切力和碰撞力不一致,从而形成了不规则形貌的 Gyp-Tan II_A/PC-NPs。相对于规则的纳米颗粒,这种不规则形貌纳米颗粒对药物溶出度及体内吸收的影响,还需进一步研究。

与 Tan II_A 相比,物理混合物组的 C_{\max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 显著性提高 ($P < 0.05$),说明 Gyp 和 PC 具有促吸收作用。Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 t_{\max} 均极显著性提前 ($P < 0.01$),主要是由于这 2 种纳米混悬剂极大提高了药物溶出速率,进而缩短药物进入血液循环时间所致,但 $t_{1/2}$ 未见显著性改变 ($P > 0.05$)。Tan II_A-NPs 和 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 C_{\max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 均极显著性提高 ($P < 0.01$),可能是这 2 种纳米混悬剂极大提高了 Tan II_A 溶解度,促进了药物溶出,改善了药物吸收瓶颈;2 种纳米混悬剂中 Tan II_A 比表面积激增,利于与胃肠道黏膜接触充分,在浓度梯度的驱使下使药物透膜吸收^[27],因而这 2 种纳米混悬剂均有效提高了 Tan II_A 相对生物利用度。与 Tan II_A-NPs 相比,Gyp-Tan II_A/PC-NPs 的 C_{\max} 、 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01),这可能是由于 Tan II_A/PC 有助于进一步提高 Tan II_A 溶解度、透膜吸收能力等^[28-29],且 PC 本身具有辅助促进 Tan II_A 体内吸收作用^[28],因此引入 Tan II_A/PC 具有必要性和可行性。

药效学结果显示,PC 和 Gyp 联合使用后可使肺指数、羟脯氨酸水平、TNF- α 、TGF- β 1 和 IL-6 水平均出现显著性或极显著下降 ($P < 0.05$ 、 0.01),并在一定程度上改善了肺组织病变,但两者之间是否存在协同作用需要作进一步的研究。与 Tan II_A-NPs 相比,Gyp-Tan II_A/PC-NPs 抗 PF 作用更高,一方面是由于 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 比 Tan II_A-NPs 具有更高的相对生物利用度,利于增强药效^[30];另一方面 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 处方中 PC 和 Gyp 辅助增强了 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 药效。

综上,本研究采用天然来源、具有“药辅合一”特性的 PC 和 Gyp 作为辅料成功制备了 Gyp-Tan II_A/PC-NPs,极大改善了 Tan II_A 溶解度及溶出度缺陷,促进了体内吸收,为制备纳米混悬剂的稳定剂选择提供了有益借鉴。Gyp-Tan II_A/PC-NPs 口服后增强了 Tan II_A 体内抗 PF 药效,值得对 Gyp-Tan

II_A/PC-NPs 进一步开发研究。本研究也为评价 Gyp-Tan II_A/PC-NPs 成药性提供了实验数据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李婉桐,张才擎,薄存香.丹参酮II_A抗肺纤维化作用的研究进展[J].工业卫生与职业病,2025,51(1):82-86.
Li W T, Zhang C Q, Bo C X. Research progress of anti-pulmonary fibrosis effect of tanshinone II_A [J]. Ind Health Occup Dis, 2025, 51(1): 82-86.
- [2] 王昕,施阳扬,万梅绪,等.丹参有效成分及其制剂抗抑郁药理作用研究进展[J].药物评价研究,2025,48(2):296-306.
Wang X, Shi Y Y, Wan M X, et al. Research progress on antidepressant pharmacological effects of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* active ingredients and its preparations [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(2): 296-306.
- [3] 戚雯杰,黄明斌,苏舒,等.丹参酮II_A防治脓毒症肺损伤的药理作用研究进展[J].现代药物与临床,2025,40(7):1868-1872.
Qi W J, Huang M B, Su S, et al. Research progress on pharmacological effects of tanshinone II_A in prevention and treatment of sepsis induced lung injury [J]. Drugs Clin, 2025, 40(7): 1868-1872.
- [4] Wang X H, Morris-Natschke S L, Lee K H. New developments in the chemistry and biology of the bioactive constituents of Tanshen [J]. Med Res Rev, 2007, 27(1): 133-148.
- [5] 周斌,宋选飞,谢欢,等.丹参提取物平衡溶解度及表观油水分配系数的测定[J].现代中医药,2024,44(2):79-86.
Zhou B, Song X F, Xie H, et al. Determination of equilibrium solubility and apparent oil-water distribution coefficient of Danshen extract [J]. Mod Tradit Chin Med, 2024, 44(2): 79-86.
- [6] Hao H P, Wang G J, Cui N, et al. Pharmacokinetics, absorption and tissue distribution of tanshinone II_A solid dispersion [J]. Planta Med, 2006, 72(14): 1311-1317.
- [7] Ashour A A, Ramadan A A, Abdelmonsif D A, et al. Enhanced oral bioavailability of tanshinone II_A using lipid nanocapsules: Formulation, *in-vitro* appraisal and pharmacokinetics [J]. Int J Pharm, 2020, 586: 119598.
- [8] Yu J, Wu N, Zheng X H, et al. Improvement of bioavailability and dissolution of tanshinone II_A by encapsulating it with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. Pharm Sci, 2020, 26(3): 296-305.

- [9] Chen T, Yang J H, Chen L H, et al. Use of ordered mesoporous silica-loaded phyto-phospholipid complex for BCS IV class plant drug to enhance oral bioavailability: A case report of tanshinone IIA [J]. RSC Adv, 2016, 6(116): 115010-115020.
- [10] 高坤坤, 高扬, 高立芳. 磺丁基醚- β -环糊精在药物制剂中的应用及安全性研究 [J]. 广州化工, 2022, 50(4): 20-23.
Gao K K, Gao Y, Gao L F. Application and safety of sulfobutyl ether- β -cyclodextrin in pharmaceutical preparations [J]. Guangzhou Chem Ind, 2022, 50(4): 20-23.
- [11] 刁军. 纳米二氧化硅通过“微生物-肠-脑”轴途径对神经行为损伤的机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
Diao J. Mechanism study of silicon dioxide nanoparticles induced neurobehavioral impairments by disruption “microbiota-gut-brain” axis [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2022.
- [12] 王靖颖, 徐泳, 许伟辰, 等. 肺纤维化脂质代谢研究概况 [J]. 中国药理学通报, 2024, 40(9): 1612-1616.
Wang J Y, Xu Y, Xu W C, et al. Overview of lipid metabolism in pulmonary fibrosis [J]. Chin Pharmacol Bull, 2024, 40(9): 1612-1616.
- [13] 田莉, 李伟宏, 张付利. 木犀草素磷脂复合物白蛋白纳米粒的制备及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(10): 3280-3290.
Tian L, Li W H, Zhang F L. Luteolin phospholipids complex albumin nanoparticle: Preparation and oral pharmacokinetics evaluation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(10): 3280-3290.
- [14] 王丽, 高小玲, 李思翰, 等. 五味子乙素-磷脂酰胆碱复合物制备工艺优化及理化性质研究 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(7): 2115-2123.
Wang L, Gao X L, Li S H, et al. Preparation optimization and physicochemical properties study of schisandrin B-phosphatidylcholine complex [J]. Chem Res Appl, 2025, 37(7): 2115-2123.
- [15] 刘艳菊, 武月丹, 位小杰, 等. 包载金丝桃苷的磷脂酰胆碱/壳聚糖自组装纳米粒的制备、表征及其口服药动学研究 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 819-830.
Liu Y J, Wu Y D, Wei X J, et al. Self-assembled phosphatidylcholine/chitosan nanoparticles loaded with hyperoside: Preparation, characterization and oral pharmacokinetics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(3): 819-830.
- [16] 张灵, 张倩茹, 刘代顺. 绞股蓝在治疗呼吸系统疾病中的应用 [J]. 遵义医科大学学报, 2024, 47(7): 725-735.
Zhang L, Zhang Q R, Liu D S. The application of *Gynostemma pentaphyllum* in the treatment of respiratory diseases [J]. J Zunyi Med Univ, 2024, 47(7): 725-735.
- [17] 杨翠翠, 程子昭, 姜新海, 等. 基于代谢组学技术研究绞股蓝总皂苷抑制 tau 蛋白过表达诱导的细胞损伤机制 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(5): 1030-1041.
Yang C C, Cheng Z Z, Jiang X H, et al. Mechanism of gypenosides on tau overexpression induced cell damage based on metabolomics [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(5): 1030-1041.
- [18] 陈慧娟. 基于绞股蓝皂苷的纳米混悬剂作为槲皮素递送体系的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2022.
Chen H J. Research on gypenosides-based nanosuspensions as a delivery system of quercetin [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine
- [19] 郭亚利, 董晓函, 李阳杰. 基于“药辅合一”的茶皂素-金合欢素纳米混悬剂制备及其药动学与调血脂作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2233-2246.
Guo Y L, Dong X H, Li Y J. Preparation, pharmacokinetics and hypolipidemic effects of tea saponin-acacetin nanosuspensions based on “combined drug-excipient” [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(8): 2233-2246.
- [20] 曹伶俐, 刘素梅. 甜菊糖苷-高良姜素纳米复合物的制备及其理化性质评价 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(6): 1506-1514.
Cao L L, Liu S M. Preparation and physicochemical property evaluation of stevioside-galangin nanocomposites [J]. Chem Res Appl, 2025, 37(6): 1506-1514.
- [21] 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.
- [22] 汤小涵, 刘燕, 戴博, 等. 丹参酮IIA 纳米混悬剂的制备及其体外溶出度研究 [J]. 解放军药理学学报, 2022, 35(6): 505-510.
Tang, X H, Li X, Dai B, et al. Preparation and *in vitro* solubility of tanshinone IIA nanosuspension [J]. Pharm J Chin PLA, 2022, 35(6): 505-510.
- [23] 朱梦莹, 沈娜, 辛化伟, 等. 甘肃蚤缀乙酸乙酯部位对肺纤维化小鼠肺组织的保护作用 [J]. 中成药, 2023, 45(8): 2713-2718.
Zhu M Y, Shen N, Xin H W, et al. Protective effect of ethyl acetate fraction of *Rhizoma Paridis* in Gansu Province on lung tissue of mice with pulmonary fibrosis [J]. Chin

- Tradit Pat Med, 2023, 45(8): 2713-2718.
- [24] 陈永顺, 李静, 蒋建平, 等. 叶黄素纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(10): 3180-3186.
- Chen Y S, Li J, Jiang J P, et al. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of lutein nanosuspensions [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(10): 3180-3186.
- [25] 沈英, 黄雅菲, 宋帆帆, 等. 利格列汀壳聚糖-磷脂自组装纳米粒的制备及体内外评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(2): 345-352.
- Shen Y, Huang Y F, Song F F, et al. Preparation and evaluation of ligaglipitin self-assembled chitosan-lecithin nanoparticles *in vitro* and *in vivo* [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(2): 345-352.
- [26] 李瑞华, 吴书凯, 孙丽, 等. PEG 化壳聚糖葫芦素 B 纳米混悬剂的制备及其冻干粉药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5050-5060.
- Li R H, Wu S K, Sun L, et al. Preparation of cucurbitacin B nanosuspensions with PEGylated chitosan and pharmacokinetics evaluation of its lyophilized powder [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(15): 5050-5060.
- [27] 孙丽, 李瑞华, 吉媛媛, 等. 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 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(1): 143-156.
- Sun L, Li R H, Ji Y Y, et al. Preparation, oral pharmacokinetic and glucose-decreasing effects evaluation of Galangin-loaded self-micelle solid dispersion [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(1): 143-156.
- [28] 孙文秀, 宋基正, 李梦琦, 等. 黄芩提取物磷脂复合物自微乳给药系统的制备与体外释放度评价 [J]. 山东中医药大学学报, 2025, 49(1): 96-105.
- Sun W X, Song J Z, Li M Q, et al. Preparation and *in vitro* release of phospholipid complex from extract of Huangqin (*Scutellariae Radix*) in self-microemulsion drug delivery system [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 2025, 49(1): 96-105.
- [29] 房伟, 王奎鹏, 韩德恩. 漆黄素纳米结构脂质载体制备及其体内药动学评价 [J]. 中成药, 2025, 47(6): 1796-1804.
- Fang W, Wang K P, Han D E. Preparation of fisetin-loaded nanostructured lipid carriers and evaluation of their *in vivo* pharmacokinetics [J]. Chin Tradit Pat Med, 2025, 47(6): 1796-1804.
- [30] 郑妩媚, 谢燕, 范明松, 等. 基于“药辅合一”的香菇多糖-土木香内酯纳米晶制备、药动学及对 H1N1 流感病毒感染小鼠的治疗作用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(12): 3627-3640.
- Zheng W M, Xie Y, Fan M S, et al. Preparation, pharmacokinetics and therapeutic effect of H1N1 influenza virus infection in mice of lentinan-alantolactone nanocrystals based on “unification of medicines and excipients” [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(12): 3627-3640.

[责任编辑 孙英杰]