

## 大豆苷元磷脂复合物壳聚糖纳米粒的制备、药动学及调血脂作用评价

陈婷婷<sup>1</sup>, 葛国丽<sup>1</sup>, 刘娜<sup>1</sup>, 赵博<sup>1</sup>, 张朋艳<sup>1</sup>, 李瑞华<sup>1\*</sup>, 谈秀凤<sup>2\*</sup>

1. 濮阳医学高等专科学校, 河南 濮阳 457000

2. 上海中医药大学, 上海 200120

**摘要:** **目的** 制备大豆苷元(Dai)/磷脂复合物-壳聚糖纳米粒(Dai/PC-CS-NPs), 系统考察其体内药动学特征及调血脂作用。**方法** 采用减压浓缩法制备大豆苷元/磷脂复合物(Dai/PC), 结合单因素实验与 Box-Behnken 设计-效应面法优化 Dai/PC-CS-NPs 的处方工艺; 测定纳米粒的粒径、Zeta 电位、包封率及载药量, 采用 X-射线粉末衍射法(XRPD)分析其晶型特征, 通过透射电镜(TEM)观察其微观形貌; 比较 Dai、Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 的饱和溶解度及体外释药行为。将 SD 大鼠随机分组, 分别 ig 给予 Dai、Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs, 比较各组主要药动学参数, 计算 Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 相对于 Dai 的口服生物利用度。建立高脂血症大鼠模型, 比较上述 3 种制剂对模型大鼠体质量、肝脏指数、血脂指标及肝功能指标的影响, 采用苏木素-伊红(HE)染色观察肝脏病理形态学变化。**结果** 优化得到 Dai/PC-CS-NPs 的最佳处方为: Dai 质量浓度 1.03 mg·mL<sup>-1</sup>, 磷脂与壳聚糖质量比为 5.89:1, 泊洛沙姆 188 质量分数为 0.14%。该条件下制备的 Dai/PC-CS-NPs, 其包封率、载药量、粒径及 Zeta 电位分别为 (83.01±1.07)%、(12.60±0.12)%、(198.87±4.13) nm 和 (28.17±0.59) mV。Dai 在 Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 转变为无定形态, Dai/PC-CS-NPs 外貌为类球形。Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 极显著性提高了 Dai 在各 pH 磷酸盐缓冲液中溶解度, 18 h 累积释放率分别为 50.47%和 88.06%。以 Dai 为参比, Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 的相对口服生物利用度分别提高至 1.92 倍和 5.67 倍。调血脂实验显示, 与 Dai 组 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 比较, Dai/PC-CS-NPs 高剂量 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组体质量、肝脏指数、血脂指标及肝功能指标均得到极显著改善 (P<0.01), 其治疗效果明显优于同剂量 Dai/PC 组。**结论** Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 均可显著提高 Dai 的口服生物利用度, 并增强其调血脂作用, 且 Dai/PC-CS-NPs 的改善效果更优。

**关键词:** 大豆苷元; 磷脂复合物; 纳米粒; Box-Behnken 设计-效应面法; 溶解度; 生物利用度; 调血脂作用

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)06-2070-14

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.06.018

## Daidzein phospholipid complex-chitosan nanoparticles: Preparation, pharmacokinetics and lipid-regulating effects

CHEN Tingting<sup>1</sup>, GE Guoli<sup>1</sup>, LIU Na<sup>1</sup>, ZHAO Bo<sup>1</sup>, ZHANG Pengyan<sup>1</sup>, LI Ruihua<sup>1</sup>, TAN Xiufeng<sup>2</sup>

1. Puyang Medical College, Puyang 457000, China

2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200120, China

**Abstract: Objective** To prepare daidzein (Dai) /phospholipid complex-chitosan nanoparticles (Dai/PC-CS-NPs) and systematically investigate their *in vivo* pharmacokinetic characteristics and lipid-regulating effects. **Methods** Daidzein/phospholipid complex (Dai/PC) was prepared by vacuum concentration method. The prescription and process of Dai/PC-CS-NPs were optimized by single factor experiment and Box-Behnken design-response surface methodology. The particle size, Zeta potential, entrapment efficiency and drug loading of nanoparticles were determined. The crystal form characteristics were analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD), and the microscopic morphology was observed by transmission electron microscopy (TEM). The saturated solubility and *in vitro* drug release behavior of Dai, Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs were compared. SD rats were randomly divided into groups and ig administered with Dai, Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs, respectively. The main pharmacokinetic parameters of each group were compared, and the oral

收稿日期: 2026-01-25

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (232102310026); 河南省社会科学界课题 (SKL-2025-771); 河南省医学教育研究项目 (WJLX2024237)

作者简介: 陈婷婷 (1990—), 女, 讲师, 研究方向为临床药学及基础医学。E-mail: 470839214@qq.com

\*通信作者: 李瑞华 (1982—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为临床药学及人体解剖学。E-mail: 108099385@qq.com

谈秀凤 (1976—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为药物代谢动力学。E-mail: tanxf1980@126.com

bioavailability of Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs relative to Dai was calculated. A hyperlipidemia rat model was established, and the effects of the three formulations on body weight, liver index, lipid parameters and liver function parameters of model rats were compared. The pathological morphological changes of the liver were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Results** The optimal prescription of Dai/PC-CS-NPs was obtained as follows: daidzein mass concentration  $1.03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , mass ratio of phospholipid to chitosan 5.89 : 1, and poloxamer 188 mass fraction 0.14%. Under these conditions, the entrapment efficiency, drug loading, particle size and Zeta potential of Dai/PC-CS-NPs were  $(83.01 \pm 1.07) \%$ ,  $(12.60 \pm 0.12) \%$ ,  $(198.87 \pm 4.13) \text{ nm}$  and  $(28.17 \pm 0.59) \text{ mV}$ , respectively. Daidzein transformed into amorphous form in Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs, and the appearance of Dai/PC-CS-NPs was spherical. Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs significantly increased the solubility of daidzein in phosphate buffer solutions of various pH values. The cumulative release rates at 18 h were 50.47% and 88.06%, respectively. Compared with Dai ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), the high-dose group of Dai/PC-CS-NPs ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) significantly improved body weight, liver index, lipid parameters and liver function parameters ( $P < 0.01$ ), and its therapeutic effect was significantly better than that of the same dose of Dai/PC group. **Conclusion** Both Dai/PC and Dai/PC-CS-NPs can significantly increase the oral bioavailability of daidzein and enhance its lipid-regulating effect, and the improvement effect of Dai/PC-CS-NPs is better.

**Key words:** daidzein; phospholipid complex; nanoparticles; Box-Behnken response surface design method; solubility; bioavailability; lipid-regulating effect

大豆苷元 (Dai) 属于异黄酮类化合物, 具有调血脂、抗血栓、抗动脉粥样硬化等多种生物活性<sup>[1]</sup> 主要从苜蓿、葛根、大豆等植物中提取得到。Dai 无明显不良反应<sup>[2]</sup>, 安全性较高, 具备极高的开发价值。然而, Dai 的水溶性极差, 溶解度仅为  $(4.19 \pm 0.07) \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ <sup>[3]</sup>, 同时脂溶性也较差<sup>[4]</sup>, 这直接导致其口服吸收效率极低, 大鼠口服生物利用度仅为 6.1%<sup>[3]</sup>。因此, 要促进 Dai 在体内的吸收、充分发挥其药效, 关键在于解决其溶解度低、溶出度差的问题。

目前, 针对 Dai 的制剂研究主要包括二氧化硅纳米粒<sup>[3]</sup>、磷脂复合物<sup>[4]</sup>、脂质纳米粒<sup>[5]</sup>等, 但各类制剂均存在明显缺陷: 二氧化硅纳米粒具有神经毒性<sup>[6]</sup>, 长期用药易在体内蓄积, 不利于临床推广; 磷脂复合物黏性较大、分散性不佳, 限制了其溶出度及生物利用度的提升幅度; 而由于 Dai 脂溶性较差, 脂质纳米粒的包封率和载药量偏低, 可能影响制剂的使用安全性与有效性。基于此, 亟需构建一种载药量高、安全性好且能有效促进 Dai 口服吸收的新型纳米制剂, 以增强其药效。

磷脂作为一种两亲性物质, 具有良好的生物相容性和较高的安全性, 药物与磷脂在非极性溶剂中形成磷脂复合物后, 可显著提高药物的生物利用度<sup>[7]</sup>, 但磷脂复合物自身存在的黏性大、分散性差等缺陷, 影响了其成药性。自组装纳米粒是指药物与高分子材料通过静电引力、氢键等非共价相互作用自发聚集形成的纳米颗粒<sup>[8]</sup>, 其处方工艺重复性好, 易于实现成果转化与临床推广。研究表明, 磷脂或磷脂

复合物表面带有一定量的负电荷<sup>[8]</sup>, 而壳聚糖表面带有一定量的正电荷<sup>[9]</sup>, 二者可通过静电引力结合并自组装形成纳米粒<sup>[10-11]</sup>。

基于上述研究基础, 本研究首先制备大豆苷元/磷脂复合物 (Dai/PC), 以改善 Dai 的亲水性与亲脂性; 进一步将其制备为大豆苷元/磷脂复合物-壳聚糖纳米粒 (Dai/PC-CS-NPs)<sup>[12]</sup>, 从而提高 Dai 的溶出度及体内吸收量。并对 Dai/PC-CS-NPs 基本理化性质、药动学特征等进行系统考察; 同时建立高脂血症大鼠模型, 比较 Dai、Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 的调血脂作用, 以期对 Dai 新型给药系统的研究与开发提供理论参考和实验借鉴。

## 1 材料

### 1.1 仪器

GE0205 型电子分析天平 (上海佑科仪器仪表有限公司); SM27 型磁力搅拌器 (上海默西科学仪器有限公司); UA03 型超声仪 (北京维根技术有限公司); 1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); JEM-2100 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); DHC-16500 高速离心机 (澳大利亚 KEWLAB 公司); TTLDC II 型氮吹仪 (北京同泰科技发展有限公司); Zetasizer Nono ZS-90 型粒度测定仪 (英国马尔文公司); LHS-150SC 恒温恒湿箱 (上海康路仪器设备有限公司); LSBC85P 型真空冷冻干燥机 (英国 MechaTech 公司); APD-2000 型 X 粉末衍射仪 (北京利曼科技有限公司); DS-806 型溶出仪 (深圳华溶分析仪器有限公司); SKZ-2 型光学显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司); Chemray-240 型全自动

生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司)。

## 1.2 试剂与动物

Dai 原料药(批号 20230901, 质量分数 97.5%, 南京卡塞斯医药科技有限公司); 对照品染料木素(批号 20230915, 质量分数 98.2%)、Dai(批号 20231205, 质量分数 98.0%), 西安开来生物工程有 限公司; 磷脂(批号 L6300, 上海麦克林生化科技 有限公司); 壳聚糖(批号 20240114, 国药集团化 学试剂有限公司); 高脂饲料(批号 20230720, 江 苏美迪森生物医药有限公司); 苏木素-伊红(HE) 染色试剂盒(批号 G1120)、辛伐他汀(批号 IS0170), 北京索莱宝生物科技有限公司; 低密度脂蛋白胆固 醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、三 酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(批号 分别为 AUZ3180、AUZ3187、AUZ3171、AUZ3140、 AUZ3178、AUZ3166)均购自美国 Beckman Coulter 公司。

清洁级 SD 大鼠购自河南省动物实验中心 (SCXK-2025-0001), 饲养在相对湿度为 60%、温度 为 25 °C 环境中, 12 h 昼夜交替, 实验时选择体 质量(200±10) g 大鼠, 每组动物均雌雄各半。动物 实验于 2025 年 4 月起实施, 遵循濮阳医学高等专 科学校有关实验动物管理和使用规定, 给予人道主 义关怀, 伦理批准号为 2502001-B。

## 2 方法与结果

### 2.1 Dai/PC-CS-NPs 的制备

**2.1.1 Dai/PC 的制备**<sup>[4]</sup> 取 Dai 0.5 g 和磷脂 1.7 g (2 者物质的量比为 1.0 : 1.1) 置于茄形瓶中, 加入 100 mL 四氢呋喃, 于 55 °C 水浴中磁力搅拌 2 h 得 澄清溶液, 在通风橱中减压旋蒸即得 Dai/PC。

**2.1.2 Dai/PC-CS-NPs 的制备** 取体积分数 1% 的 醋酸 50 mL 配制一定质量浓度的壳聚糖水溶液, 加 入处方量泊洛沙姆 188, 置 55 °C 水浴中, 800 r·min<sup>-1</sup> 转速下磁力搅拌至溶解澄清, 作为水相。取 50 mg 的 Dai/PC 溶于 10 mL 无水乙醇, 匀速滴至水相中, 磁力搅拌 1 h。在 55 °C 水浴中减压旋蒸 0.5 h (真 空度为 0.08 MPa), 以除尽有机溶剂。置-10 °C 冰 箱 10 min, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得 Dai/PC- CS-NPs 混悬液。

### 2.2 Dai 含量测定方法的建立

**2.2.1 色谱条件** 采用 Agilent SB C<sub>18</sub> (250 mm× 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 进样体积 10 μL; 柱温 30 °C;

流动相 0.2% 磷酸水溶液-甲醇(45 : 55) 等度洗脱; 检测波长 248 nm; 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

**2.2.2 线性关系考察** 使用甲醇将 Dai 对照品配 制成质量浓度为 0.2 mg·mL<sup>-1</sup>, 使用 0.2% 磷酸水溶 液-甲醇(45 : 55) 作为稀释溶剂, 分别配制 10.00、 5.00、 1.00、 0.10、 0.05 μg·mL<sup>-1</sup> 的 Dai 系列对照 品溶液(低温、密封保存, 使用期限为 1 周), 测 定 Dai 各质量浓度(X) 的峰面积(Y), 拟合得方 程  $Y=24.19X+1.48$ ,  $r=0.9999$ , 线性范围 0.05~ 10.00 μg·mL<sup>-1</sup>。

**2.2.3 Dai/PC-CS-NPs 供试品的制备** 取 1 mL Dai/PC-CS-NPs 混悬液至 100 mL 量瓶, 加 0.2% 磷酸 水溶液-甲醇(45 : 55) 适量, 超声(200 W、37 kHz) 5 min, 放冷, 继续加 0.2% 磷酸水溶液-甲醇(45 : 55) 稀释定容。精密取 1 mL 至 25 mL 量瓶, 加 0.2% 磷酸水溶液-甲醇(45 : 55) 稀释定容, 摇匀备用。

**2.2.4 专属性考察** 参考 Dai/PC-CS-NPs 处方分 别称取磷脂、壳聚糖和泊洛沙姆 188 适量, 按 “2.2.3” 项下制备成阴性样品溶液, 用于考察辅料 是否干扰 Dai 色谱峰。另取 Dai/PC-CS-NPs 供试品 溶液和 Dai 对照品溶液(5.00 μg·mL<sup>-1</sup>) 分别进样 10 μL。3 个样品 HPLC 色谱图见图 1, Dai 色谱峰 专属性高。

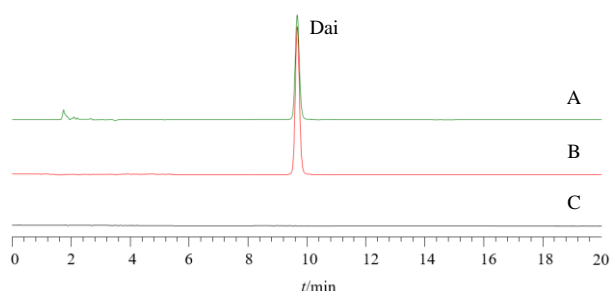


图 1 Dai/PC-CS-NPs (A)、Dai 对照品 (B) 和阴性样品溶 液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrums of Dai/PC-CS-NPs (A), Dai reference substance (B) and negative sample solution (C)

**2.2.5 精密度考察** 取 0.05、1.00、10.00 μg·mL<sup>-1</sup> 的 Dai 对照品溶液按 “2.2.1” 项下方法分析 ( $n=6$ ), 记录 Dai 各浓度峰面积, 其 RSD 依次为 0.29%、0.26%、0.34%, 表明方法精密度良好。

**2.2.6 稳定性考察** 取 Dai/PC-CS-NPs 供试品溶液 于 24 h 内不同时间点测定 6 次, 记录 Dai 峰面积, 其 RSD 为 1.50% ( $n=6$ ), 表明稳定性良好。

**2.2.7 重复性考察** 取 Dai/PC-CS-NPs 供试品制备

6 份供试品溶液, 测定 Dai 峰面积, 计算得 Dai 含量 RSD 为 1.43% ( $n=6$ ), 表明重复性良好。

**2.2.8 加样回收率考察** 精密取 0.5 mL 含量已知的 Dai/PC-CS-NPs 至 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分成 3 组, 按 Dai 含量 50% (低)、100% (中) 和 150% (高) 加入 Dai 对照品, 每组均 3 份。按“2.2.3”项操作后测定 Dai 总含量, 平均加样回收率分别为 101.19% (低)、99.04% (中)、100.07% (高), RSD 均低于 2.0%, 表明该方法准确度较高。

### 2.3 Dai/PC-CS-NPs 主要质量指标测定

精密吸取 1 mL Dai/PC-CS-NPs 混悬液至超滤管 (截留相对分子质量  $3.5 \times 10^3$ ), 以  $8500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min, 超滤管内截留的即为 Dai/PC-CS-NPs (不含 Dai 原料), 加入甲醇 10 mL, 超声 (200 W、37 kHz) 10 min 破坏 Dai/PC-CS-NPs, 加入 0.2% 磷酸水溶液-甲醇 (45:55) 定容至 100 mL, 测定包封的 Dai 量 ( $M_{\text{包封}}$ )。根据投药量 ( $M_{\text{投药量}}$ ) 计算包封率; 将 Dai/PC-CS-NPs 混悬液在  $-40 \text{ }^\circ\text{C}$  冷阱温度下冻干, 根据总质量 ( $M_{\text{总质量}}$ ) 计算载药量。取 Dai/PC-CS-NPs 混悬液值比色皿中, 于粒度测定仪上测定 PDI 和粒径。取 Dai/PC-CS-NPs 混悬液至 Zeta 电位专用电槽中, 测定 Zeta 电位。

$$\text{包封率} = M_{\text{包封}} / M_{\text{投药量}}$$

$$\text{载药量} = M_{\text{包封}} / M_{\text{总质量}}$$

### 2.4 单因素考察 Dai/PC-CS-NPs 处方工艺

**2.4.1 Dai 质量浓度的考察** 固定泊洛沙姆 188 质量分数为 0.15%, 磷脂与壳聚糖质量比为 6:1, 制备时间为 1.0 h, 考察 Dai 质量浓度对 Dai/PC-CS-NPs 的影响, 结果见表 1, Dai 质量浓度逐渐增加时包封率和载药量呈先增大后下降趋势, 可能是 Dai 质量浓度过小时水相体积较大, 在泊洛沙姆 188 增溶作用及 Dai 浓度梯度驱使下使 Dai 逃逸至水相, 故包封率和载药量较低<sup>[11]</sup>; Dai 质量浓度较大时水相体积较小, 不利于 Dai/PC 与壳聚糖自组装形成

表 1 Dai 质量浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effects of Dai concentration ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Dai 质量浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.4	64.66 ± 0.77	8.10 ± 0.04	185.87 ± 4.89
0.7	74.25 ± 0.95	10.33 ± 0.08	191.38 ± 3.53
1.0	81.97 ± 1.13	13.41 ± 0.14	202.34 ± 3.30
1.3	73.33 ± 0.96	11.96 ± 0.11	230.12 ± 3.52
1.6	69.31 ± 0.88	11.42 ± 0.12	260.73 ± 4.59

Dai/PC-CS-NPs。粒径随着 Dai 质量浓度的增加而增大, 可见需要对 Dai 质量浓度进行优化。当 Dai 质量浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  时包封率最大, 载药量相对较高, 粒径为 202.34 nm, 故后续以 Dai 质量浓度  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  为中心对  $0.7 \sim 1.3 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  进行优化。

**2.4.2 磷脂与壳聚糖质量比的考察** 固定 Dai 质量浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 泊洛沙姆 188 质量分数为 0.15%, 制备时间为 1.0 h 的条件下考察磷脂与壳聚糖质量比的影响, 结果见表 2。2 者质量比逐渐增加时包封率和载药量均呈先增加后下降趋势, 当质量比为 6:1 时包封率和载药量达到相对最大值, 可能是 2 者比例过高或过低均会影响 Dai/PC-CS-NPs 结构稳定性<sup>[10-11]</sup>, 导致 Dai 泄漏, 进而影响了包封率及载药量。粒径呈先下降后增大趋势, 可见需要对磷脂与壳聚糖质量比进行优化。当磷脂与壳聚糖质量比为 6:1 时包封率最大, 载药量大于 12%, 粒径为 198.04 nm, 故后续以 6:1 为中心对 5:1~7:1 进行优化。

表 2 磷脂与壳聚糖质量比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effects of mass ratio of phospholipid to chitosan ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

磷脂与壳聚糖质量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
4:1	69.47 ± 0.88	10.61 ± 0.07	254.74 ± 8.87
5:1	73.78 ± 0.97	11.34 ± 0.06	214.36 ± 10.98
6:1	81.75 ± 1.21	12.78 ± 0.10	198.04 ± 8.84
7:1	76.79 ± 0.71	11.64 ± 0.06	220.24 ± 2.85
8:1	69.71 ± 1.64	10.56 ± 0.09	245.08 ± 9.01

**2.4.3 泊洛沙姆 188 质量分数的考察** 固定 Dai 质量浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 磷脂与壳聚糖质量比为 6:1, 制备时间为 1.0 h 的条件下考察泊洛沙姆 188 质量分数的影响, 结果见表 3。泊洛沙姆 188 质量分数由 0.05% 增加至 0.25% 时, 包封率和载药量呈先增加后下降趋势, 这是由于泊洛沙姆 188 可对形成 Dai/PC-CS-NPs 起到稳定作用<sup>[10]</sup>, 适当增加泊洛沙姆 188 质量分数利于增加包封率和载药量, 但泊洛沙姆 188 质量分数过大时容易在水相中聚集形成胶束, 可能引起 Dai/PC-CS-NPs 表面泊洛沙姆 188 逃逸至水相中, 导致 Dai/PC-CS-NPs 结构破坏, 进而使包封率和载药量下降。Dai/PC-CS-NPs 粒径呈先变小后增大趋势, 这是由于适当泊洛沙姆 188 可有效降低表面张力, 增加其质量分数可使 Dai/PC-CS-NPs 粒径下降, 但泊洛沙姆 188 质量分数过大时

表 3 泊洛沙姆 188 质量分数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 3 Effects of mass fraction of poloxamer 188 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

泊洛沙姆 188 质量分数%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.05	64.75±1.22	9.84±0.09	266.78±8.97
0.10	71.46±1.84	11.01±0.13	241.82±8.96
0.15	80.48±0.80	12.66±0.09	204.85±7.58
0.20	75.53±0.63	11.42±0.10	208.59±3.09
0.25	68.00±1.29	9.54±0.12	226.54±2.35

Dai/PC-CS-NPs 稳定性下降, 导致 Dai/PC-CS-NPs 发生聚集现象, 因而粒径增长, 可见需要对泊洛沙姆 188 质量分数进行优化。当泊洛沙姆 188 质量分数为 0.15% 时包封率最大, 载药量大于 12%, 粒径最接近于 200 nm, 故后续以 0.15% 为中心对泊洛沙姆 188 质量分数 0.10%~0.20% 进行优化。

**2.4.4 制备时间的考察** 固定 Dai 质量浓度为 1.0 mg·mL<sup>-1</sup>, 磷脂与壳聚糖质量比 6:1, 泊洛沙姆 188 质量分数 0.15% 的条件下, 考察制备时间的影响, 结果见表 4。制备时间由 0.50 h 增加至 1.50 h 时包封率和载药量呈先增加后下降趋势, 可能是 Dai/PC 与壳聚糖形成 Dai/PC-CS-NPs 需要一定时间<sup>[12]</sup>, 所以制备时间较短时影响了 Dai/PC-CS-NPs 结构稳定性, 导致 Dai 未能被有效包载; 但制备时间过长时可能导致 Dai/PC-CS-NPs 结构破坏, 故包封率和载药量下降。粒径逐渐变小后增大, 可见制备时间对 Dai/PC-CS-NPs 质量有一定影响。与 1.00 h 的包封率和载药量比较, 制备时间 0.75 h 的包封率和载药量极显著性下降 ( $P<0.01$ ), 而制备时间 1.25 h 的包封率和载药量无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 且粒径相对较小, 为减少制备时间, 最终确定 Dai/PC-CS-NPs 的制备时间为 1.00 h。

## 2.5 BBD-RSM 优化 Dai/PC-CS-NPs 处方

### 2.5.1 实验设计及结果 Dai/PC-CS-NPs 处方工艺

表 4 制备时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 4 Effects of prepare time ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

制备时间/h	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.50	67.74±0.71	9.81±0.15	228.19±2.85
0.75	77.80±1.02	11.88±0.10**	208.96±4.56
1.00	82.45±1.01**	12.50±0.09	200.80±7.29
1.25	82.63±0.89	12.63±0.10	212.63±4.97
1.50	76.46±0.63	12.05±0.05	250.35±6.11

与制备时间 0.75 h 的数据比较: \*\* $P<0.01$ 。

\*\* $P<0.01$  vs data obtained after a preparation time of 0.75 h.

单因素考察确定 Dai 质量浓度、磷脂与壳聚糖质量比、泊洛沙姆 188 质量分数对 Dai/PC-CS-NPs 质量指标影响较大, 分别作为自变量  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 。包封率、载药量和粒径分别作为因变量  $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $Y_3$ , 由于这 3 个因变量均可影响纳米制剂的有效性及其安全性, 故同等重要, 参考相关研究文献报道<sup>[11]</sup>, 将 3 个质量指标转换为总评归一值 (OD)。根据 BBD-RSM 进行 3 因素、3 水平共计 17 次实验, 实验设计及结果见表 5。

$$d_{\text{包封率}} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$d_{\text{载药量}} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$d_{\text{粒径}} = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$M_i$ 、 $M_{\max}$  和  $M_{\min}$  分别为包封率、载药量和粒径实测值、最大值和最小值

$$OD = (d_{\text{包封率}} \times d_{\text{载药量}} \times d_{\text{粒径}})^{1/3}$$

**2.5.2 模型拟合及方差分析** 采用 Design Expert V10.0.3 对实验结果拟合, 得到  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  与 OD 之间方程:  $Y = 0.940 - 0.050 X_1 - 0.045 X_2 - 0.022 X_3 + 0.14 X_1 X_2 + 0.16 X_1 X_3 - 0.14 X_2 X_3 - 0.47 X_1^2 - 0.22 X_2^2 - 0.31 X_3^2$ , 得到 OD 数学模型, 并进行方差分析, 见表 6。模型  $P<0.0001$ , 模型判定系数  $R^2=0.9923$ , 调整判定系数  $R_{\text{adj}}^2=0.9824$ , 说明该模型具有研究使用价值, 且实验值与拟合值之间存在良好的相关性, 仅 1.76% 的数据可能出现偏差。失拟项  $P=0.2662$  ( $P>0.05$ ), 干扰因素无显著性影响, 所以拟合值可信度高。模型中  $X_1$ 、 $X_2$  具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 而  $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$  和  $X_3^2$  具有极显著性差异 ( $P<0.01$ )。

**2.5.3 响应面及处方工艺确定** 采用 Design Expert V10.0.3 绘制响应面图, 结果见图 2, 响应面均呈抛物线变化趋势。在设置 OD 为最大值的前提下得到 Dai/PC-CS-NPs 最佳处方为 Dai 质量浓度 1.03 mg·mL<sup>-1</sup>, 磷脂与壳聚糖质量比为 5.89:1.00, 泊洛沙姆 188 质量分数为 0.14%, 此时预测 OD 值为 0.992。

**2.5.4 Dai/PC-CS-NPs 处方工艺验证** 平行制备 3 批 Dai/PC-CS-NPs, 测得平均包封率为 (83.01±1.07)%, 载药量为 (12.60±0.12)%, 粒径为 (198.87±4.13) nm。按“2.5.1”项计算包封率、载药量和粒径的实际 OD 值为 0.986, 根据预测 OD 值 (0.992), 计算得 OD 值相对偏差仅 0.60%, 说明实验值和预测值之间差别极小, OD 数学模型指导意义强。测得 PDI 为 0.199±0.013, Zeta 电位为 (28.17±

表 5 BBD-RSM 实验因素水平、设计及结果  
Table 5 BBD-RSM factor level, test design and results

序号	X <sub>1</sub> /(mg·mL <sup>-1</sup> )	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub> /%	Y <sub>1</sub> /%	Y <sub>2</sub> /%	粒径/nm	OD 值
1	0.7(-1)	6:1(0)	0.20(1)	72.47	10.42	196.78	0.000
2	1.0(0)	6:1	0.15(0)	81.59	12.49	203.26	0.899
3	1.0	7:1(1)	0.20	73.42	11.14	236.84	0.230
4	1.0	6:1	0.15	83.05	12.61	198.83	0.986
5	0.7	5:1(-1)	0.15	75.66	10.13	214.63	0.402
6	0.7	6:1	0.10(-1)	74.68	9.94	226.98	0.212
7	1.0	6:1	0.15	82.22	12.54	197.96	0.957
8	1.3(1)	7:1	0.15	75.80	12.43	241.23	0.382
9	1.0	5:1	0.20	74.96	12.79	210.16	0.573
10	1.0	5:1	0.10	73.88	11.52	231.67	0.313
11	0.7	7:1	0.15	75.96	9.64	225.64	0.000
12	1.3	5:1	0.15	77.16	12.17	250.33	0.210
13	1.0	6:1	0.15	82.76	12.62	204.65	0.941
14	1.3	6:1	0.20	75.19	11.99	231.16	0.423
15	1.3	6:1	0.10	75.22	11.54	251.69	0.000
16	1.0	6:1	0.15	81.93	12.49	206.14	0.892
17	1.0	7:1	0.10	76.19	11.83	220.37	0.528

表 6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P	项目	平方和	自由度	均方	F 值	P
模型	1.98	9	0.22	99.76	<0.000 1	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.93	1	0.93	420.72	<0.000 1
X <sub>1</sub>	0.02	1	0.02	9.22	0.019 0	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.20	1	0.20	89.87	<0.000 1
X <sub>2</sub>	0.02	1	0.02	7.22	0.031 3	X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.40	1	0.40	180.02	<0.000 1
X <sub>3</sub>	3.78×10 <sup>-3</sup>	1	3.78×10 <sup>-3</sup>	1.71	0.231 8	残差	0.02	7	2.21×10 <sup>-3</sup>		
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.08	1	0.08	37.39	0.000 5	失拟项	9.13×10 <sup>-3</sup>	3	3.04×10 <sup>-3</sup>		0.266 2
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.10	1	0.10	45.68	0.000 3	纯偏差	6.30×10 <sup>-3</sup>	4	1.58×10 <sup>-3</sup>		
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.08	1	0.08	35.29	0.000 6	总离差	2.00	16			

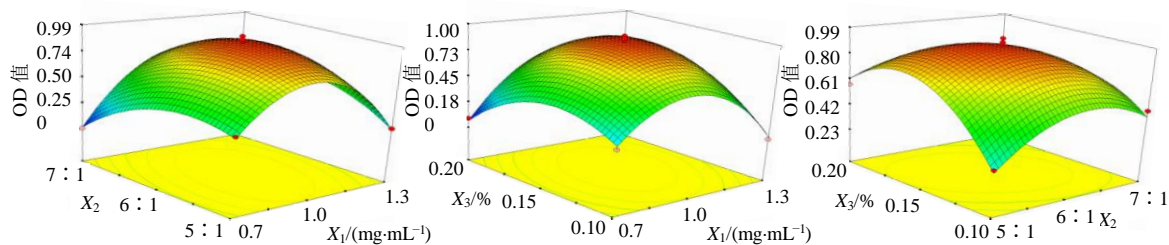


图 2 各因素对 OD 值的响应面图

Fig. 2 Response surface images of each factor on OD value

0.59) mV, 说明 Dai/PC-CS-NPs 表面带正电荷, 主要与壳聚糖自身荷正电性有关<sup>[10-11]</sup>, Dai/PC-CS-NPs 粒径分布图和 Zeta 电位见图 3。

2.6 透射电镜 (TEM) 观察 Dai/PC-CS-NPs 外貌  
取 Dai/PC-CS-NPs 混悬液 0.1 mL 置于离心管

中, 加入 3 mL 纯化水, 轻摇至分散均匀, 取 3 滴至铜网, 加 1.0% 磷钨酸钠染色, 使之铺匀后晾干。置于透射电镜的样品台上, 调节镜头放大倍数至 14 500 即可观察到外貌为类球形的 Dai/PC-CS-NPs 纳米颗粒, 结果见图 4。

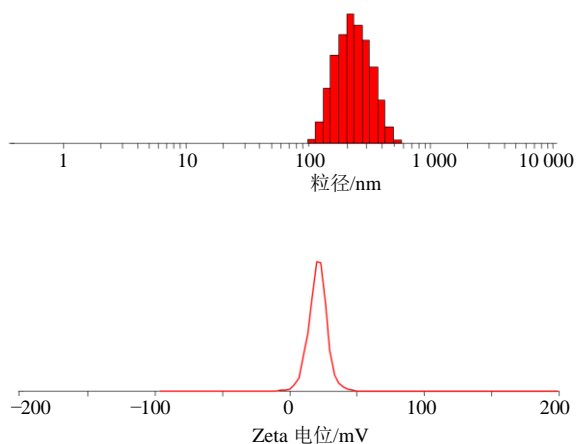


图 3 Dai/PC-CS-NPs 粒径分布和 Zeta 电位图  
Fig. 3 Distribution diagram of particle size and Zeta potential of Dai/PC-CS-NPs

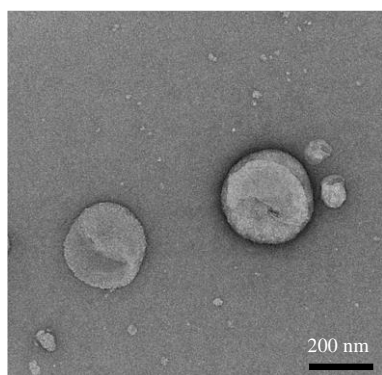


图 4 Dai/PC-CS-NPs 的 TEM 图 (×14 500)  
Fig. 4 TEM image of Dai/PC-CS-NPs (×14 500)

### 2.7 X 射线粉末衍射法 (XRPD) 晶型分析

分别取 Dai、磷脂、Dai/PC、壳聚糖、泊洛沙姆 188、物理混合物 (Dai 与辅料比例同 Dai/PC-CS-NPs 粉末) 和 Dai/PC-CS-NPs 粉末 (不加甘露醇, 直接冻干) 适量, 参考相关文献方法进行 XRPD 扫描<sup>[7]</sup>, 见图 5。Dai 在 10.1°、15.3°、16.4°、24.5° 等处出现特征晶型衍射峰, 在 Dai/PC 的 XRPD 图谱中未观察到 Dai 特征晶型衍射峰, 证明 Dai/PC 制备成功。在物理混合物 XRPD 图谱中仍可见 Dai 特征晶型衍射峰, 但强度有所下降。在 Dai/PC-CS-NPs 粉末 XRPD 图谱中 Dai 特征衍射峰均消失, 与物理混合物 XRPD 图谱差别较大, 说明 Dai 在 Dai/PC-CS-NPs 仍为无定形态。

### 2.8 Dai/PC-CS-NPs 溶解度测定

取过量 Dai 原料药、Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 粉末 (不加甘露醇, 直接冻干), 分别在 pH 2.5 磷酸盐缓冲液中, 超声 (200 W、37 kHz) 20 min, 置于 25 °C

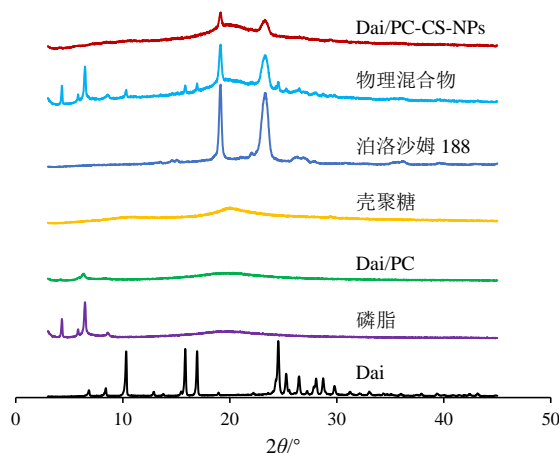
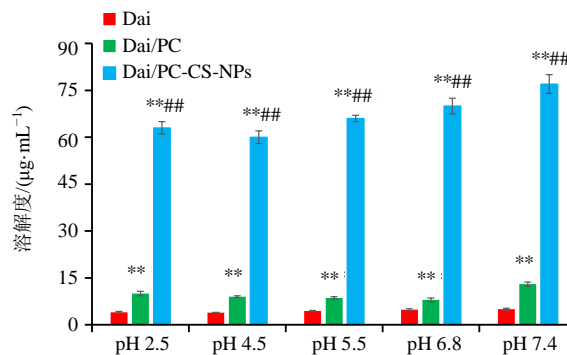


图 5 XRPD 结果  
Fig. 5 XRPD results

水浴中磁力搅拌 2 d, 将各样品混悬液 8 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 6 min, 分别取上清液, 按“2.2.1”色谱条件测定 Dai 溶解度。同法分别测定 Dai 原料药、Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 粉末在 pH 4.5、5.5、6.8、7.4 磷酸盐缓冲液中的溶解度, 结果见图 6。Dai 在各磷酸盐缓冲液中溶解度均低于 5 μg·mL<sup>-1</sup>。

Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 均极显著性提高了 Dai 在各磷酸盐缓冲液中溶解度 ( $P < 0.01$ ), 利于促进药物溶出以增加体内吸收。与 Dai/PC 相比, Dai/PC-CS-NPs 在各磷酸盐缓冲液中溶解度均极显著提高 ( $P < 0.01$ ), 提高幅度明显优于 Dai/PC。



与 Dai 比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与 Dai/PC 比较: ### $P < 0.01$ 。  
\*\* $P < 0.01$  vs Dai; ### $P < 0.01$  vs Dai/PC.

图 6 溶解度结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

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

### 2.9 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉制备及分散性考察

量取 Dai/PC-CS-NPs 混悬液, 加入 5.0%甘露醇, 轻摇使之混匀, 分装至西林瓶, 并置于冻干机中, 于 -40 °C 下预冻 3 d, 抽真空冻干 3 d, 于 6 h 内缓慢升温至 25 °C, 保持 6 h 后取出即得 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉, 色泽均一, 无塌陷现象 (图 7-A)。

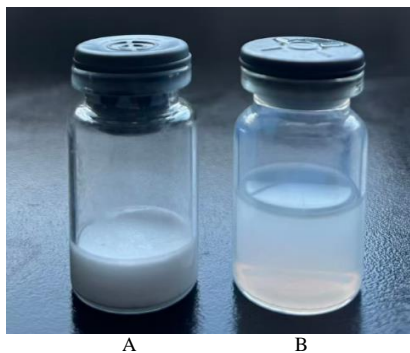


图 7 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉 (A) 和纯化水复溶后混悬液 (B) 外观

Fig. 7 Appearance of Dai/PC-CS-NPs freeze-dried powder (A) and suspension after redissolved by purified water (B)

Dai/PC-CS-NPs 冻干粉加入纯化水复溶, 混悬液外观见图 7-B, 是一种带乳光的混悬液。复溶后包封率、粒径、Zeta 电位和 PDI 分别为  $(82.04 \pm 0.89)\%$ 、 $(212.36 \pm 7.07)$  nm、 $(27.10 \pm 1.48)$  mV 和  $0.212 \pm 0.015$ , 包封率有所下降, 粒径和 PDI 值有所增长, Zeta 电位绝对值有所下降, 但与冻干前 Dai/PC-CS-NPs 混悬液相比均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 说明 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉可保持 Dai/PC-CS-NPs 胶体分散体系。取 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉 20 mg 加纯化水复溶后测定 Dai 含量 ( $m_1$ ), 根据 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉质量 ( $m_0$ ) 计算得载药量 ( $m_1/m_0$ ) 为  $(0.36 \pm 0.01)\%$ 。

## 2.10 体外释药行为研究

测得 Dai 在 0.5% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 水溶液中溶解度为  $(106.77 \pm 2.41)$   $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 为确保 Dai 达到漏槽条件, 所以在介质中分别加入 0.5% SDS。取 Dai、Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉适量 (Dai 含量均为 25 mg) 置于透析袋中 (截留相对分子质量 3 500), 分别加入 5 mL pH 2.0 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% SDS) 得混悬液。取 1 L pH 2.0 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% SDS) 作为介质, 转篮转速为  $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 介质温度为  $(37 \pm 0.2)$   $^{\circ}\text{C}$ , 于 0.5、1.0、1.5、2.0 h 分别取样 5 mL, 立即补加 5 mL 空白介质以确保释药介质体积不变。2.0 h 取样后弃去释药介质, 并加入 1 L pH 4.5 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% SDS), 分别于 3、4 h 同法取样并补液。4.0 h 取样后将释药介质更换为 1 L pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% SDS), 分别于 6、8、12、18 h 同法取样并补液。同法考察 Dai 在 pH 2.0、4.5、6.8 磷酸盐缓冲液 (不含 0.5% SDS) 中的释药情况。各个样品经  $8\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离

心 20 min, 测定上清液中 Dai 含量, 计算各时间点的累积释放率, 结果见图 8。在非漏槽条件下 Dai 溶出极为困难, 18 h 累积释放率不足 10%。Dai 和 Dai/PC 在 18 h 累积释放率分别为 33.04% 和 50.47%, 说明 Dai/PC 增加了 Dai 累积释放率。Dai/PC-CS-NPs 在 18 h 累积释放率达 88.06%, 说明将 Dai/PC 制备成 Dai/PC-CS-NPs 可进一步促进 Dai 释放。

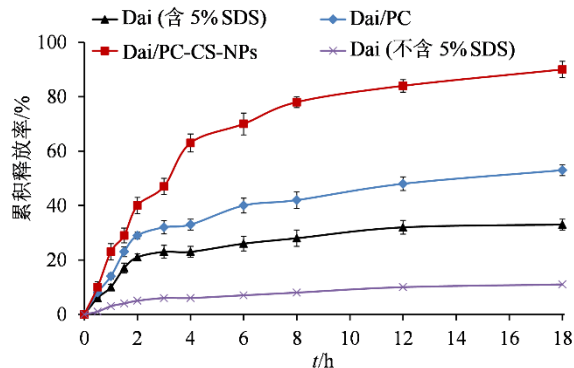


图 8 体外释放曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 8 Release curve *in vitro* ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

## 2.11 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉沉降率及稳定性考察

**2.11.1 沉降率测定** 取 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉加入纯化水震荡复溶, 经  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过除去不溶性颗粒, 测定续滤液中 Dai 的含量 ( $m_i$ ), 以新制备 Dai/PC-CS-NPs 混悬液中 Dai 含量 ( $m_0$ ) 为参考, 计算 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉的沉降率。

$$\text{沉降率} = (m_0 - m_i) / m_0$$

**2.11.2 稳定性考察** 将 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉密封在药瓶中, 加纯化水复溶后测沉降率、包封率、载药量等指标。然后置于  $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、70% 恒温恒湿箱中, 于 1、2、3、6 个月取样, 同法测定质量指标, 结果见表 7。随着时间的延长, Dai/PC-CS-NPs 冻干粉沉降率逐渐增加, 在第 6 个月时沉降率为  $(1.87 \pm 0.06)\%$ , 仍小于 2.0%, 且包封率仍大于 80%。与第 0 个月相比, Dai/PC-CS-NPs 冻干粉在第 6 个月的含量、粒径、PDI 和 Zeta 电位均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 判断 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉具有较高的稳定性。

## 2.12 口服药动力学研究

**2.12.1 色谱条件** 参考“2.2.1”项下色谱条件, 将进样量调整为  $20 \mu\text{L}$ , 其余条件均不变。

**2.12.2 给药及采血方案** 分别取 Dai、Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 粉末加入 2 mL 的 0.5% CMC-Na 水溶液, 其中 Dai 和 Dai/PC 分别超声 ( $200 \text{ W}$ 、 $37 \text{ kHz}$ ) 10 s 使之成混悬状态。取 SD 大鼠 18 只按随机数字

表 7 Dai/PC-CS-NPs 冻干粉稳定性结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 7 Stability results of Dai/PC-CS-NPs freeze-dried powder ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

时间/月	沉降率/%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
0	1.10±0.20	82.40±0.83	0.35±0.01	212.57±12.27	0.217±0.004	27.20±0.79
1	1.27±0.15	82.39±0.63	0.35±0.01	213.43±9.05	0.217±0.014	26.97±1.10
2	1.60±0.26	82.19±1.13	0.34±0.01	217.67±9.07	0.220±0.002	27.03±1.60
3	1.77±0.12	80.96±0.69	0.34±0.01	220.63±9.50	0.228±0.007	26.73±1.79
6	1.87±0.06	80.93±1.30	0.33±0.02	221.73±6.20	0.228±0.009	26.33±1.84

表法分成 3 组, 每组各 6 只, 每组雌雄各 3 只, 记录各只 SD 大鼠体重, 按  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (以 Dai 含量计) ig 给药后使各只 SD 大鼠保持直立位 30 s。Dai 组于 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00 h 乙醚麻醉后立即于眼眶后静脉丛采血约 0.2 mL, 置于含肝素的离心管, 摇匀防止凝血。Dai 组在 12 h 的血药浓度已低于检测限, 故未再取血。根据前期预试验, Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 在 12 h 的血药浓度仍可被有效检测到, 故增加 12 h 取血点。在  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  转速下将各个样品离心 2 min, 取血浆, 盲法检测血药浓度。

**2.12.3 内标溶液的配制及血浆样品的处理** 用乙腈稀释配制染料木素质量浓度为  $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 作为测定血药浓度时的内标溶液。血浆样品在室温中放置 1 h 后于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴中解冻, 精密取染料木素内标溶液 ( $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )  $40 \mu\text{L}$ 、血浆样品  $100 \mu\text{L}$  和甲醇 1 mL 至离心管, 涡旋 5 min。将混悬液置于高速离心机中  $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min。收集有机相, 氮气吹干, 加  $100 \mu\text{L}$  0.2% 磷酸水溶液-甲醇 (45 : 55) 混合溶剂, 密封后涡旋 5 min 复溶,  $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取上清液进样测定。

**2.12.4 线性曲线考察** 取空白血浆配制 Dai 质量浓度为 2000、1000、500、250、100、25  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 Dai 血浆对照品, 按“2.12.3”项下制备含染料木素内标 ( $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的血浆对照品溶液, 测定 Dai 和染料木素峰面积, 计算两者比值 ( $Y$ ), 并与 Dai 质量浓度 ( $X$ ) 线性回归, 拟合方程  $Y=0.0704X+0.0196$ ,  $r=0.9984$ , 线性范围  $25 \sim 2000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**2.12.5 专属性考察** 取  $100 \mu\text{L}$  空白血浆, 除不加染料木素内标溶液外按“2.12.3”项方法制备空白血浆溶液, 另取  $25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 Dai 血浆对照品溶液 (染料木素浓度为  $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 和 Dai 给药 8 h 血浆样品溶液 (染料木素质量浓度为  $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 按“2.12.1”项下方法进样分析, 结果见图 9, Dai 和染

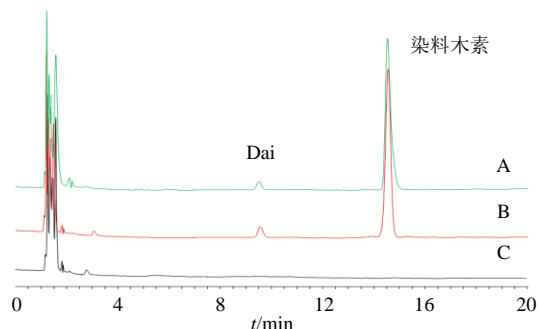


图 9 血浆样品溶液 (A)、血浆对照品溶液 (B)、空白血浆 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 9 HPLC chromatograms of plasma sample solution (A), plasma reference solution (B) and blank plasma (C)

料木素色谱峰对称性良好, 且专属性高。

**2.12.6 稳定性和精密度考察** 取质量浓度为  $250 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  的质控样品溶液 (含染料木素) 置于室温, 于 0、3、6、9、12、24 h 进样测定 Dai 和染料木素峰面积, 2 者峰面积比值 RSD 为 7.11% ( $n=6$ ), 表明稳定性良好。取质量浓度为 250 (低)、500 (中)、 $2000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  (高) 质控样品溶液 (含染料木素), 1 d 内连续测定 6 次, 计算得 Dai 质量浓度的 RSD 分别为 5.28%、4.10%、2.19% ( $n=6$ ); 每天测试 1 次, 连续测试 6 d, 计算得 Dai 质量浓度的 RSD 分别为 3.92%、2.88%、3.30% ( $n=6$ ), 表明日内及日间精密度均良好。

**2.12.7 提取回收率和基质效应考察** 取质量浓度为 25、500、 $2000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  血浆质控样品 (染料木素浓度  $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 分别按“2.12.3”制备质控样品溶液, 分别测定 Dai 和染料木素峰面积 (记作 A); 取  $100 \mu\text{L}$  空白血浆按“2.12.3”项下方法处理后加入 Dai 和染料木素对照品溶液, 使 Dai 终质量浓度为 25、500、 $2000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  (染料木素质量浓度  $1500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 分别测定 Dai 和染料木素峰面积 (记作 B), 计算提取回收率 ( $A/B$ )。低、中、高

质量浓度 Dai 及染料木素提取回收率分别为 103.11%、102.96%、95.04%、103.83%，实验结果均在 95%~105%，判断 Dai 及染料木素提取回收率较高。取 25、500、2 000 ng·mL<sup>-1</sup> 的 Dai 对照品溶液（染料木素浓度 1 500 ng·mL<sup>-1</sup>），测定 Dai 和染料木素峰面积（记作 C），计算基质效应（B/C）。低、中、高浓度 Dai 及染料木素基质效应分别为 96.66%、104.56%、98.07%、95.42%，实验结果均在 95%~105%，表明 Dai 及染料木素基质效应均较小。

**2.12.8 药动学结果** 药-时曲线见图 10。采用 DAS 2.0 软件分析数据，非房室模型统计矩法计算 Dai、Dai/PC 和 Dai/PC-CS-NPs 药动学参数，见表 8。与 Dai 相比，Dai/PC 的达峰时间（ $t_{max}$ ）、半衰期（ $t_{1/2}$ ）无显著性差异（ $P>0.05$ ），而峰浓度（ $C_{max}$ ）、药时曲线下面积（AUC）<sub>0~t</sub> 及 AUC<sub>0~∞</sub> 具有极显著性提高（ $P<0.01$ ），相对生物利用度增加至 1.92 倍；Dai/PC-CS-NPs 的  $t_{max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{max}$ 、AUC<sub>0~t</sub> 及 AUC<sub>0~∞</sub> 均具

有极显著性改变（ $P<0.01$ ），表明 Dai/PC-CS-NPs 极大改变了 Dai 药动学行为，Dai/PC-CS-NPs 相对生物利用度增加至 5.67 倍。与 Dai/PC 相比，Dai/PC-CS-NPs 药动学参数均具有极显著性改变（ $P<0.01$ ），表明 Dai/PC-CS-NPs 对 Dai 药动学行为及体内吸收的影响程度高于 Dai/PC。

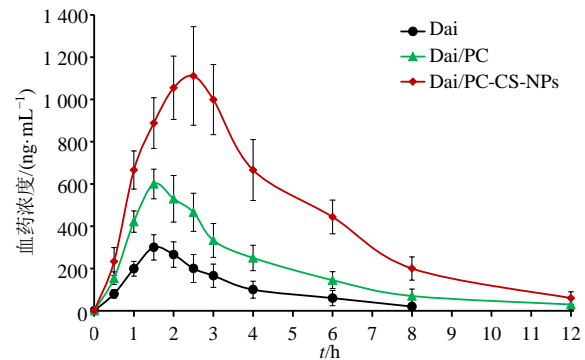


图 10 血药浓度-时间曲线 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 10 Plasma concentration-time profiles ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

表 8 各组样品中 Dai 主要药动学参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 8 Main pharmacokinetic parameters of Dai in each sample ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

参数	单位	Dai	Dai/PC	Dai/PC-CS-NPs
$t_{max}$	h	1.36 ± 0.27	1.49 ± 0.40	2.64 ± 0.69**##
$t_{1/2}$	h	2.99 ± 0.52	3.27 ± 0.74	5.86 ± 0.84**##
$C_{max}$	ng·mL <sup>-1</sup>	309.03 ± 84.61	593.44 ± 136.07**	1 114.50 ± 259.13**##
AUC <sub>0~t</sub>	ng·mL <sup>-1</sup> ·h	1 786.17 ± 236.94	4 282.53 ± 512.60**	1 0126.32 ± 1 025.79**##
AUC <sub>0~∞</sub>	ng·mL <sup>-1</sup> ·h	1 820.45 ± 249.76	4 429.01 ± 562.83**	1 0486.77 ± 1 097.64**##

与 Dai 比较: \*\* $P<0.01$ ; 与 Dai/PC 比较: ## $P<0.01$ 。

\*\* $P<0.01$  vs Dai; ## $P<0.01$  vs Dai/PC.

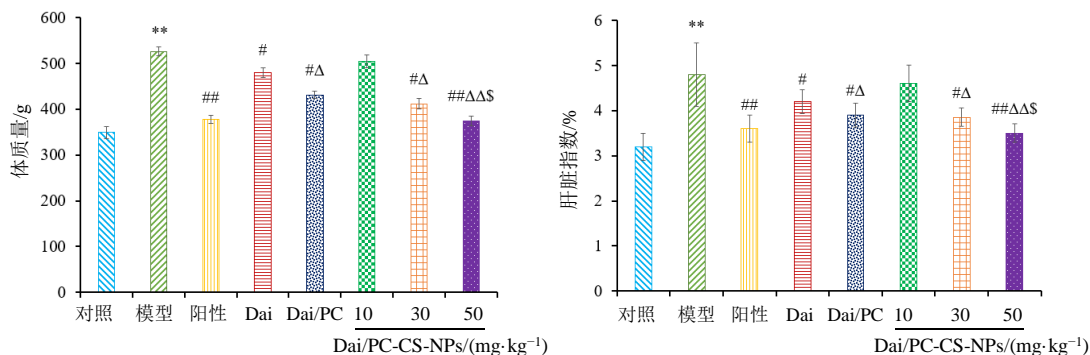
## 2.13 Dai/PC-CS-NPs 调血脂作用评价

**2.13.1 实验方案** 取 48 只 SD 大鼠，按随机数字表法分为对照组（基础饲料饲养）、模型组、辛伐他汀（阳性药，10 mg·kg<sup>-1</sup>）组<sup>[14]</sup>、Dai（50 mg·kg<sup>-1</sup>）组<sup>[1]</sup>、Dai/PC（50 mg·kg<sup>-1</sup>）组、Dai/PC-CS-NPs 低、中、高剂量（10、30、50 mg·kg<sup>-1</sup>）组，每组各 6 只，给药剂量均以 Dai 含量计。除对照组外其余各组均给予高脂饲料饲养，以构建高脂血症大鼠模型<sup>[14]</sup>。连续给药 8 周，最后 1 次给药 1 d 后记录体质量。采用异氟烷进行麻醉后取血，3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 2 min，低温保存血清。在麻醉状态下脱颈处死大鼠，取出肝脏，擦干称质量，并以禁食 6 h 时大鼠体质量为参考计算肝脏指数。使用 4% 多聚甲醛浸泡肝组织，石蜡切片与 HE 染色相结合制备标本后观察病理情况。每张切片随机选 5 个高倍镜视野，按肝细胞脂肪变性面积占比进行半定量病理评分，评分标准：

0% ≤ 脂肪变性面积 < 5% 计 0 分；5% ≤ 脂肪变性面积 < 25% 计 1 分；25% ≤ 脂肪变性面积 < 50% 计 2 分；50% ≤ 脂肪变性面积 < 75% 计 3 分；75% ≤ 脂肪变性面积 < 100% 计 4 分；脂肪变性面积达 100% 计 5 分。指标检测及病理评分均采用盲法进行。

肝脏指数 = 肝脏质量 / 体质量

**2.13.2 各组大鼠肝指数** 第 8 周各组大鼠体质量和肝脏指数结果见图 11。与对照组相比，模型组大鼠平均体质量及肝脏指数均显著升高（ $P<0.01$ ），提示模型组大鼠肥胖程度显著，肝组织出现水肿及增生肥大<sup>[15]</sup>。与模型组相比，除 Dai/PC-CS-NPs 低剂量组外，其余各给药组大鼠平均体质量与肝脏指数均显著降低（ $P<0.05$ 、 $0.01$ ），表明高脂血症引发的肥胖及肝肿大症状得到有效改善。与 Dai 组相比，Dai/PC 组及 Dai/PC-CS-NPs 中剂量组平均体质量和肝脏指数显著下降（ $P<0.05$ ），Dai/PC-CS-NPs 高剂



与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Dai 组比较: Δ $P < 0.05$  ΔΔ $P < 0.01$ ; 与 Dai/PC 组比较: S $P < 0.05$ 。  
\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group; Δ $P < 0.05$  ΔΔ $P < 0.01$  vs Dai group; S $P < 0.05$  vs Dai/PC group.

图 11 各组大鼠体质量 (A) 和肝脏指数 (B) 结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 11 Results of body weight (A) and liver coefficient (B) of each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

量组则呈极显著下降 ( $P < 0.01$ ), 提示在相同给药剂量下, Dai/PC-CS-NPs 药效更优。与 Dai/PC 组相比, Dai/PC-CS-NPs 高剂量组平均体质量和肝脏指数显著降低 ( $P < 0.05$ ), 这一效应可能与 Dai/PC-CS-NPs 进一步提升了 Dai/PC 的生物利用度有关。

**2.13.3 大鼠生化指标检测** 结果见表 9、10。与对照相比, 模型组 HDL-C 极显著性下降 ( $P < 0.01$ ), 而 TC、TG、LDL-C、ALT 和 AST 均极显著性升高 ( $P < 0.01$ ), 说明模型组大鼠经高脂饲料饲养后出现血脂异常、肝脏受损等情况<sup>[14]</sup>。与模型组相比, Dai 组 TC、TG、LDL-C、ALT 和 AST 均显著性或极显著性下降 ( $P < 0.05、0.01$ ), 说明 Dai 具有改善血脂异常、缓解肝损伤的作用; 与 Dai 组相比, Dai/PC 组 LDL-C、HDL-C、ALT、AST 均得到显著性改善 ( $P < 0.05$ ), 表明 Dai/PC 增强了 Dai 调血脂、缓解肝受损的药效。随着 Dai/PC-CS-NPs 给药剂量的增加, 血脂指标 (TC、TG、LDL-C、HDL-C) 和肝脏指标 (ALT、AST) 改善效果愈佳, 呈现出明

显的剂量相关性, 其中 Dai/PC-CS-NPs 高剂量组各指标与辛伐他汀组无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 说明 Dai/PC-CS-NPs 可达到辛伐他汀治疗效果。与 Dai/PC 组相比, Dai/PC-CS-NPs 高剂量组各指标均具有均显著性或极显著性差异 ( $P < 0.05、0.01$ ), 说明 Dai/PC-CS-NPs 增强 Dai 调血脂作用优于 Dai/PC。

**2.13.4 各组大鼠肝脏病理结果与病理评分** 各组大鼠肝脏病理切片结果见图 12。对照组大鼠肝细胞胞质未见空泡、细胞排列紧密, 病理评分为 0 分; 模型组肝细胞胞质溶解现象明显, 空泡数量密集, 说明肝组织损伤严重, 与对照组相比病理评分极显著性升高 ( $P < 0.01$ ); 辛伐他汀组空泡现象较少, 与模型组相比病理评分极显著性下降 ( $P < 0.01$ ), 说明辛伐他汀治疗作用明显; Dai 组肝组织病变得明显改善, 与模型组相比病理评分极显著性下降 ( $P < 0.01$ ), 但仍存在空泡现象, 治疗效果有限; Dai/PC 进一步改善了肝组织病变, 空泡现象进一步减少, 与模型组相比病理评分极显著性下降 ( $P < 0.01$ ); 随着 Dai/PC-

表 9 各组大鼠血脂指标测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 9 Determination results of various biochemical indicators in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	TC/(mmol·L <sup>-1</sup> )	TG/(mmol·L <sup>-1</sup> )	LDL-C/(mmol·L <sup>-1</sup> )	HDL-C/(mmol·L <sup>-1</sup> )
对照	—	1.96 ± 0.24	0.88 ± 0.14	0.56 ± 0.12	1.72 ± 0.17
模型	—	3.47 ± 0.21**	2.70 ± 0.14**	1.39 ± 0.20**	1.23 ± 0.11**
辛伐他汀	10	2.22 ± 0.21##	1.34 ± 0.13##	0.62 ± 0.15##	1.64 ± 0.15##
Dai	50	2.98 ± 0.14#	2.04 ± 0.17##	1.10 ± 0.13#	1.36 ± 0.11
Dai/PC	50	2.80 ± 0.30##	1.85 ± 0.16##	0.85 ± 0.06##Δ	1.47 ± 0.17##Δ
Dai/PC-CS-NPs	10	3.16 ± 0.18	2.28 ± 0.23##	1.10 ± 0.11#	1.32 ± 0.06
	30	2.74 ± 0.11##	1.62 ± 0.13##ΔS	0.91 ± 0.14##Δ	1.54 ± 0.12##
	50	2.31 ± 0.16##ΔS	1.27 ± 0.15##ΔS	0.70 ± 0.14##ΔS	1.68 ± 0.14##ΔS

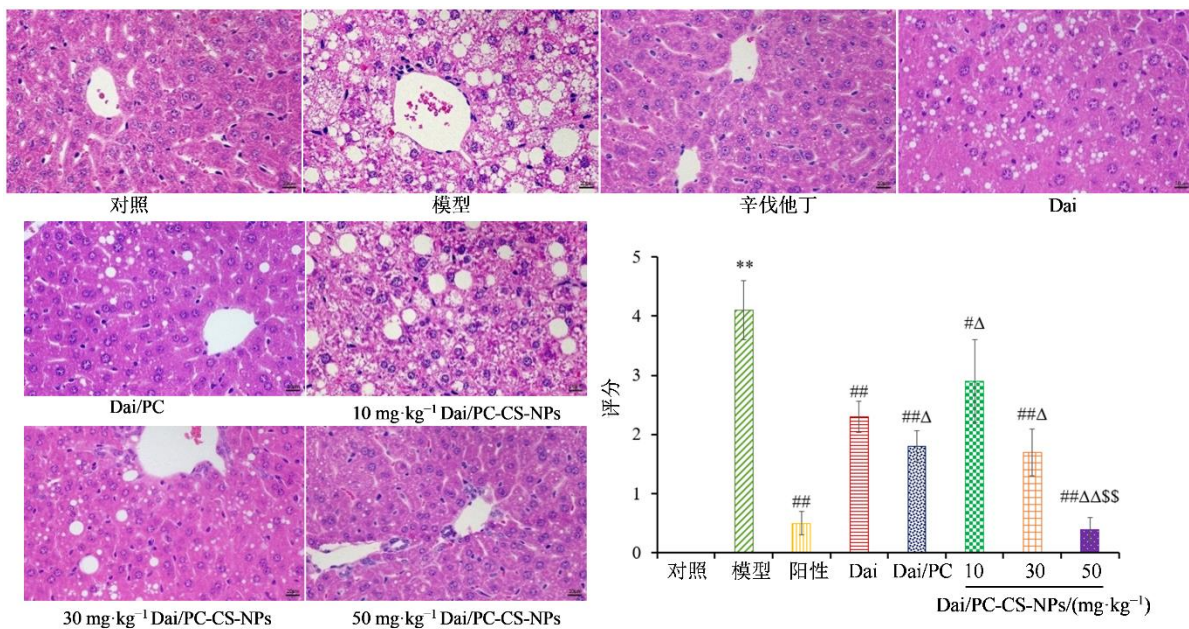
与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Dai 组比较: Δ $P < 0.05$  ΔΔ $P < 0.01$ ; 与 Dai/PC 组比较: S $P < 0.05$ 。  
\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group; Δ $P < 0.05$  ΔΔ $P < 0.01$  vs Dai group; S $P < 0.05$  vs Dai/PC group.

表 10 各组大鼠肝功能指标测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Table 10 Determination results of various biochemical indicators in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )
对照	—	62.03 ± 5.94	79.62 ± 13.42
模型	—	90.66 ± 7.68**	137.05 ± 9.77**
辛伐他汀	10	65.31 ± 8.79##	87.23 ± 8.43##
Dai	50	82.53 ± 10.34#	118.41 ± 11.27#
Dai/PC	50	67.67 ± 5.24## $\Delta$	98.86 ± 13.21## $\Delta$
Dai/PC-CS-NPs	10	86.52 ± 6.55	114.97 ± 13.01#
	30	69.26 ± 4.03## $\Delta$	103.53 ± 8.94##
	50	61.68 ± 5.38## $\Delta\Delta\Delta$	83.57 ± 9.83## $\Delta\Delta\Delta$

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Dai 组比较:  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与 Dai/PC 组比较:  $\Delta P < 0.05$

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group;  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$  vs Dai group;  $\Delta P < 0.05$  vs Dai/PC group.



与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Dai 组比较:  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与 Dai/PC 组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group;  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$  vs Dai group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs Dai/PC group.

图 12 各组大鼠肝脏病理结果 ( $\times 400, \bar{x} \pm s, n=6$ )Fig. 12 Histopathological results of rats liver histopathological in each group ( $\times 400, \bar{x} \pm s, n=6$ )

CS-NPs 剂量的增加肝组织病变改善效果愈佳, 呈剂量相关性。与 Dai/PC 相比, Dai/PC-CS-NPs 高剂量组病理评分极显著性下降 ( $P < 0.01$ ), 肝损伤修复程度接近于辛伐他汀组。

#### 2.14 统计学分析

数据结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析, 经正态性检验及方差齐性检验。以 Turkey's 为事后检验的单因素方法分析被用于比较多组间的差异; 配对独立样本  $t$  检验被用于比较两组间的差异,  $P < 0.05$  判定组间存在显著差异。

### 3 讨论

针对磷脂复合物自身黏性大、溶出度偏低等固有缺陷, 现有研究多采用脂质纳米粒技术进行改良, 但普遍存在处方组成与制备工艺相对复杂的问题<sup>[16]</sup>。本研究采用自组装法制备 Dai/PC-CS-NPs, 处方工艺简便、重现性良好, 可为同类难溶性药物递送系统的研究与开发提供参考。

Dai/PC-CS-NPs 的自组装形成机制推测如下: 将 Dai/PC 乙醇溶液滴加至壳聚糖水溶液中时, 表面带负电的 Dai/PC 复合物<sup>[17]</sup>可通过静电引力与带

正电的壳聚糖发生相互作用<sup>[11-12]</sup>；同时，Dai/PC 具有一定疏水性，进而组装形成纳米粒内核。泊洛沙姆 188 则通过降低界面张力、减小粒子聚集阻力并提供空间位阻稳定作用，最终形成以 Dai/PC 为核心、壳聚糖与泊洛沙姆 188 吸附于表面的核-壳结构纳米粒。由于带正电的壳聚糖主要分布于纳米粒表面，因此 Dai/PC-CS-NPs 整体呈现正电性。

本研究通过单因素实验明确了处方与工艺参数对 Dai/PC-CS-NPs 包封率、载药量及粒径的影响规律，并采用 BBD-RSM 法优化制备工艺，所得纳米粒包封率大于 80%、载药量大于 12%，显著高于传统脂质纳米粒，为难溶性药物纳米递送系统的构建提供了新思路。物相表征结果显示，Dai 在 Dai/PC 中以无定形态存在，药物与磷脂间主要通过电荷转移、范德华力等作用形成磷脂复合物<sup>[17]</sup>。该复合物兼具磷脂的两亲性特征，可同步改善药物的溶解度与亲脂性。将 Dai/PC 进一步制备为 Dai/PC-CS-NPs 后，未改变 Dai 的无定形态，体系仍保持非晶特征。由于无定形药物具有较高自由能且不受晶格束缚，Dai/PC-CS-NPs 可显著提升 Dai 的溶解度与体外释放度，为提高其口服吸收、增强体内药效奠定了基础。

体内药动学结果表明，Dai/PC 可显著提高 Dai 的  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  及  $AUC_{0-\infty}$ ，提示磷脂复合物可有效促进药物体内吸收。其主要原因在于：磷脂作为生物膜的重要组成成分，与 Dai 形成复合物后可改善药物脂溶性及跨膜转运能力；同时，磷脂作为两亲性辅料，亦可提升药物的亲水性与溶出度，从而使 Dai/PC 的相对生物利用度得到明显提升。而 Dai/PC 的  $t_{max}$  未出现显著性变化，可能是复合物在促进药物释放的同时，易滞留于生物膜表层，延缓了药物入血速率，两种效应相互拮抗，最终未导致  $t_{max}$  发生明显改变。

与游离 Dai 及 Dai/PC 相比，Dai/PC-CS-NPs 的  $t_{max}$  与  $t_{1/2}$  均发生显著改变，可能存在多重机制：① Dai/PC-CS-NPs 本身具备一定缓释特征，可直接影响药物达峰与消除过程<sup>[18-19]</sup>；②壳聚糖包覆于纳米粒表面，可增强其胃肠道黏膜黏附性<sup>[19]</sup>，进而改变药物入血速率；③纳米粒粒径 200 nm，易滞留于胃肠道褶皱内，延长局部停留时间；④肠道黏液层富含带负电的黏蛋白，表面带正电的 Dai/PC-CS-NPs 可通过静电吸附作用进一步增强黏膜黏附与滞留，最终共同导致  $t_{max}$  与  $t_{1/2}$  发生显著变化。Dai/PC-CS-

NPs 口服相对生物利用度显著提高至 5.67 倍，主要归因于纳米制剂大幅提升 Dai 溶解度与溶出度，突破其体内吸收瓶颈；药物由晶态转变为无定形态，更利于机体吸收<sup>[11,20]</sup>；处方中壳聚糖与泊洛沙姆 188 均具有促进药物吸收的作用<sup>[16,19]</sup>；200 nm 的粒径可增加药物与胃肠道黏膜的接触面积与接触概率，提升吸收效率<sup>[20]</sup>。在同等给药剂量下，与游离 Dai 相比，Dai/PC 及 Dai/PC-CS-NPs 均可改善高脂血症模型大鼠的血脂异常与肝损伤，且 Dai/PC-CS-NPs 作用效果更为突出，主要与其更高的相对生物利用度密切相关，提示将 Dai/PC 进一步制备为壳聚糖纳米粒具有明确的必要性与应用价值<sup>[21]</sup>。

综上所述，本研究制备的 Dai/PC-CS-NPs 包封率与载药量较高，制备工艺稳定、重现性好，其冻干粉具备良好的储存稳定性，可显著促进 Dai 口服吸收并增强调血脂作用，为该制剂的成药性评价提供了实验依据。后续将重点围绕 Dai/PC-CS-NPs 的作用机制、非临床安全性评价等内容展开深入研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 孙艳玲, 刘荣欣, 王建鑫, 等. 大豆苷元对肥胖小鼠脂质代谢和肠道菌群的调节作用研究 [J]. 动物医学进展, 2025, 46(9): 52-58.  
Sun Y L, Liu R X, Wang J X, et al. Regulating effect of daidzein on lipid metabolism and gut microbiota in obesity mice [J]. Prog Vet Med, 2025, 46(9): 52-58.
- [2] Laddha A P, Murugesan S, Kulkarni Y A. *In-vivo* and *in-silico* toxicity studies of daidzein: An isoflavone from soy [J]. Drug Chem Toxicol, 2022, 45(3): 1408-1416.
- [3] 唐静, 张付利, 决利利, 等. 黄豆苷元介孔二氧化硅纳米粒缓释片制备及口服药动学研究 [J]. 中草药, 2024, 55(14): 4700-4710.  
Tang J, Zhang F L, Jue L L, et al. Preparation and oral pharmacokinetics of daidzein mesoporous silica nanoparticles sustained-release tablet [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(14): 4700-4710.
- [4] 周桃. 大豆苷元磷脂复合物之固体分散体的制备及评价 [D]. 内蒙古: 内蒙古医科大学, 2019.  
Zhou T. Preparation and evaluation of solid dispersion of daidzein phospholipid complex [D]. Inner Mongolia: Inner Mongolia Medicine University, 2019.
- [5] Ahmed S S, Baqi M A, Baba M Z, et al. Formulation, characterization and optimization of folic acid-tailored daidzein solid lipid nanoparticles for the improved cytotoxicity against colon cancer cells [J]. Int J App

- Pharm, 2024: 320-328.
- [6] 仲晨, 高焱, 刘梅, 等. 二氧化硅纳米颗粒神经毒性的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(4): 462-466.
- Zhong C, Gao Y, Liu M, et al. Research progress on neurotoxicity of silica nanoparticles [J]. Chin J Hosp Pharm, 2024, 44(4): 462-466.
- [7] 尚慧杰, 王颖慧, 郝海军. 三叶苷-磷脂复合物处方工艺优化及理化性质的初步研究 [J]. 化学研究与应用, 2024, 36(11): 2724-2730.
- Shang H J, Wang Y H, Hao H J. Formulation optimization of tilobatin-phospholipids complex and preliminary study of its physicochemical properties [J]. Chem Res Appl, 2024, 36(11): 2724-2730.
- [8] 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 ligaglipatin self-assembled chitosan-lecithin nanoparticles *in vitro* and *in vivo* [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(2): 345-352.
- [9] 王丽, 高小玲, 贾文汇, 等. 壳聚糖修饰大黄酸脂质体凝胶的制备及透皮抗光老化活性评价 [J]. 药物评价研究, 2026, 49(1): 202-214.
- Wang L, Gao X L, Jia W H, et al. Preparation and transdermal anti-photoaging activity evaluation of chitosan-modified rhein liposome gel [J]. Drug Eval Res, 2026, 49(1): 202-214.
- [10] 胡悦. 基于磷脂复合物的羟甲香豆素磷脂-壳聚糖纳米粒的制备研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- Hu Y. Study on the preparation of hymecromone phospholipid-chitosan nanoparticles based on phospholipid complex [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2022.
- [11] 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.
- [12] Saha P, Singh P, Kathuria H, et al. Self-assembled lecithin-chitosan nanoparticles improved rotigotine nose-to-brain delivery and brain targeting efficiency [J]. Pharmaceutics, 2023, 15(3): 851.
- [13] 康雨, 谢燕, 黄丽姣, 等. 紫辛鼻鼬颗粒在大鼠体内的药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2224-2232.
- Kang Y, Xie Y, Huang L J, et al. Pharmacokinetic study of Zixin Biqiu Granules in rats [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(8): 2224-2232.
- [14] 黄庆宝, 宣攢威, 胡巨豪, 等. 辣木叶提取物体内外调血脂作用及其物质基础研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(5): 1167-1175.
- Huang Q B, Xuan Z W, Hu J H, et al. Study on hypolipidemic effect and its material basis of *Moringa oleifera* leaf extract both *in vivo* and *in vitro* [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(5): 1167-1175.
- [15] 谢珊珊, 陈文礼, 崔澍春. 核桃油的降血脂作用及其机制 [J]. 食品与机械, 2025, 41(7): 168-174.
- Xie S S, Chen W L, Cui S C. Lipid-lowering effect and mechanism of walnut oil [J]. Food Mach, 2025, 41(7): 168-174.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 刘万路. 牛血清白蛋白/壳聚糖双层包覆染料木素脂质体的制备、表征和口服药动学研究 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8018-8030.
- Liu W L. Genistein liposomes bilayer-coated by bovine serum albumin/chitosan: Preparation, characterization and oral pharmacokinetics study [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(24): 8018-8030.
- [20] 管庆霞, 周小影, 刘宇萌, 等. 甘草次酸介导的马钱子碱自组装纳米粒的体内药动学研究 [J]. 中南药学, 2023, 21(2): 306-311.
- Guan Q X, Zhou X Y, Liu Y M, et al. *In vivo* pharmacokinetics of brucine self-assembled nanoparticles mediated by glycyrrhetic acid [J]. Cent South Pharm, 2023, 21(2): 306-311.
- [21] 李梦雅, 丁玉, 辛娟, 等. 马来酰亚胺修饰延胡索乙素纳米粒的制备、药动学及其对急性肝损伤的保护作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(9): 2565-2578.
- Li M Y, Ding Y, Xin J, et al. Maleimide-modified tetrahydropalmatine nanoparticles: Preparation, pharmacokinetics and evaluation of protective effects on acute liver injury [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(9): 2565-2578.