

吴茱萸碱纳米结构脂质载体处方优化和 SD 大鼠体内口服药动学研究

董丹丹¹, 焦红军^{1*}, 郝海军², 范明松^{2*}

1. 郑州大学第二附属医院 药学部, 河南 郑州 450000

2. 上海雷允上药业有限公司技术中心, 上海 201401

摘要: **目的** 优化吴茱萸碱纳米结构脂质载体 (evodiamine nanostructured lipid carriers, Evo-NLC) 处方, 研究 SD 大鼠体内口服药动学特征。**方法** 高压均质法制备 Evo-NLC。单因素考察结合 Box-Behnken 响应面法优化 Evo-NLC 处方并进行表征, 透析法考察体外释药情况。按照 100 mg/kg 剂量 ig 后采血, HPLC 法测定血药浓度, 计算吴茱萸碱和 Evo-NLC 的主要药动学参数。**结果** 制备的 Evo-NLC 外观为淡蓝色乳光的透明液体。最佳处方为吴茱萸碱用量为 64.13 mg, 固-液脂质比为 4.34 : 1, 表面活性剂用量为 1.15%。测得 Evo-NLC 平均包封率为 (87.84 ± 1.62)%, 平均粒径为 (152.62 ± 9.43) nm, Zeta 电位为 (-36.67 ± 1.93) mV, 载药量为 (5.96 ± 0.22)%。体外释药过程符合 Weibull 模型 $\ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.514 4 \ln t - 1.311 2$ 。口服药动学结果显示, 与吴茱萸碱原料药相比, Evo-NLC 的口服相对生物利用度提高至 4.47 倍。**结论** Box-Behnken 响应面法所建立的模型可用于 Evo-NLC 处方优化, Evo-NLC 有效提高了吴茱萸碱的相对口服吸收生物利用度。

关键词: 吴茱萸碱; 纳米结构脂质载体; Box-Behnken 响应面法; 缓释; 药动学; 相对生物利用度; 透析法; Weibull 模型

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253 - 2670(2022)01 - 0060 - 11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.01.009

Optimization of evodiamine nanostructured lipid carriers and oral pharmacokinetics study in SD rats

DONG Dan-dan¹, JIAO Hong-jun¹, HAO Hai-jun², FAN Ming-song²

1. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

2. Technique Center, Shanghai Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China

Abstract: Objective To optimize formulations of evodiamine nanostructured lipid carriers (Evo-NLC), and study its pharmacokinetic characteristics in SD rats after gastric administration. **Methods** High pressure homogenization was used to prepare Evo-NLC. Single factor investigation and Box-Behnken design-response surface method was employed to optimize the formulations of Evo-NLC. Dialysis method was used to study drug release of Evo-NLC. Blood samples were collected after gastric administration at a dose of 100 mg/kg. HPLC method was adopted in the plasma concentration determination, and then calculated main pharmacokinetic parameters of evodiamine and Evo-NLC. **Results** The prepared Evo-NLC were transparent liquid with light blue opalescence. Optimal formulations: evodiamine dose was 64.13 mg, ratio of solid to liquid lipid was 4.34 : 1 and surfactant concentration was 1.15%. Average entrapment efficiency was (87.84 ± 1.62)%, particle size was (152.62 ± 9.43) nm, Zeta potential was (-36.67 ± 1.93) mV and drug loading was (5.96 ± 0.22)%. The drug release process conformed to Weibull model: $\ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.514 4 \ln t - 1.311 2$. Results of oral pharmacokinetic showed that relative bioavailability of Evo-NLC were increased to 4.47 times compare to evodiamine. **Conclusion** The model established by Box-Behnken design-response surface could be employed to optimize the formulation of Evo-NLC, and increased the relative bioavailability of evodiamine greatly.

Key words: evodiamine; nanostructured lipid carriers; Box-Behnken design-response surface method; sustained-release; pharmacokinetics; relative bioavailability; dialysis method; Weibull model

收稿日期: 2021-07-13

基金项目: 国家重大科技专项 (2018ZX09200109-002-009); 河南省二〇二一年科技发展计划 (212102310315)

作者简介: 董丹丹 (1988—), 女, 硕士, 主管药师, 主要从事医院药学研究。Tel: (0371)63921700 E-mail: dong003286@126.com

*通信作者: 范明松 (1973—), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向为新药工艺及质量控制。Tel: (021)37565589 E-mail: fanms007@shlys.com

焦红军 (1969—), 男, 学士, 副主任药师, 研究方向为医院药学及药事管理。

Tel: (0371)63921700 E-mail: 13673668808@163.com

吴茱萸碱 (evodiamine) 是从芸香科吴茱萸属植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 提取的一种吲哚类生物碱^[1], 其药理活性广泛, 具有镇痛、抗肿瘤、调节内分泌、抗炎、降血压等作用^[2-4]。但吴茱萸碱的水溶性较差^[5], 体外释放度较低, 导致口服吸收较差^[6], 不利于药理作用的发挥。因此, 需借助制剂技术来解决吴茱萸碱吸收差的问题。文献报道^[3,7]的吴茱萸碱固体脂质纳米粒, 包封率和载药量均不高。柳珊^[8]制备了吴茱萸碱磷脂复合物, 但磷脂复合物黏性较大, 导致溶出受限, 且不利于给药, 可能会影响药物的口服吸收生物利用度的提高幅度。Zou 等^[9]制备了 Evo-PLGA 纳米粒, 但处方中使用了采用具有致癌性的辅料聚乙烯醇^[10], 且难以除去, 因此应用可能受到一定限制。

纳米结构脂质载体 (nanostructured lipid carriers, NLC) 技术从固体脂质纳米粒 (solid lipids nanoparticles, SLN) 技术改进而来的一种新型载药系统^[11], 具有良好的缓控释特性和生物相容性。NLC 引入液态脂质后打乱了 SLN 的固体晶格结构, 为容纳或包裹药物提供了更多空间, 利于增加药物的包封率及载药量^[12-13], 有效避免了在储存过程中因晶格排斥作用而发生药物泄漏等现象, 为提高生物利用度及药效奠定基础, 因而成为制剂学研究的热点之一。Box-Behnken 响应面法具有精确度高, 试验次数少, 预测效果精准等优势, 在制剂工艺优化方面应用较多。因此本研究在单因素考察的基础上, 结合 Box-Behnken 响应面法优化吴茱萸碱纳米结构脂质载体 (evodiaminenanostructured lipid carriers, Evo-NLC) 处方工艺, 并研究 Evo-NLC 体内口服药动学行为及吸收生物利用度改善情况, 期望为 Evo-NLC 新制剂开发提供参考, 也为后续注射药动学、药效学等研究奠定实验基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, Agilent 公司; PWN125DZH 型电子天平, 奥豪斯公司; JP-060S 型超声仪, 深圳市明望科技有限公司; XW-80A 型涡旋混合器, 安徽芜湖精科仪器公司; HJ-4A 型多头恒温磁力搅拌器, 常州市凯航仪器有限公司; LGJ18-D 型真空冷冻干燥机, 上海舜制仪器制造有限公司; UGC-12M 型氮气吹扫仪, 北京优晟联合科技有限公司; Nano-ZS90 型粒度分析仪, 马尔文公司; TG16-MS 型高速离心机,

上海卢湘仪离心机仪器有限公司; DZ-5 型西林瓶封口机, 长沙步源制药机械设备有限公司。

1.2 试剂

吴茱萸碱原料药, 批号 20191202, 质量分数 99.3%, 武汉远成科技发展有限公司; 吴茱萸碱对照品, 批号 110802-202001, 质量分数 99.6%, 中国食品药品检定研究院; 厚朴酚对照品, 批号 20190715, 质量分数 99.3%, 成都普菲德生物技术公司; 双硬脂酸甘油酯, 批号 20181025, 上海贤鼎生物科技有限公司; 油酸, 批号 200218, 西安悦来医药科技有限公司; 泊洛沙姆 188 (P188), 批号 20180622, 西安晋湘药用辅料有限公司; 超滤离心管, 截留相对分子质量 10 000, PALL 公司。

1.3 动物

SD 大鼠于温度为 (25±2) °C, 湿度为 (45±5) % 的环境中饲养, 体质量为 240~260 g, 由河南省实验动物中心提供, 许可证号 SCXK (豫) 2016-0001。所有动物实验遵循郑州大学第二附属医院有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 Evo-NLC 的制备工艺

取处方量吴茱萸碱原料药、600 mg 的双硬脂酸甘油酯和油酸置于圆底烧瓶, 加入无水乙醇和丙酮的混合溶剂 (1:2) 10 mL, 70 °C 水浴加热搅拌溶解, 得澄清透明的有机相。配制一定质量分数 P188 的水溶液 100 mL, 置于 70 °C 水浴中, 转速为 850 r/min 磁力搅拌溶解后得水相。取有机相滴加至水相, 滴毕后持续搅拌 2 h。高压均质后立即置于 -10 °C 冰箱固化 10 min, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 用蒸馏水定容至 100 mL, 得 Evo-NLC 混悬液。

2.2 HPLC 法测定吴茱萸碱含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS2 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1% 甲酸水溶液 (65:35); 检测波长为 225 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 35 °C。进样 HPLC 后, 吴茱萸碱出峰位置在 7.2 min 左右 (图 1), 专属性较高, 理论塔板数以吴茱萸碱计不低于 12 000。

2.2.2 线性关系考察 称取吴茱萸碱对照品 20 mg 至 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 40 mL 超声 1 min (功率为 200 W、频率为 37 kHz), 放置至室温, 滴加甲醇定容至刻度得 400 μg/mL 的吴茱萸碱对照品储备液。采用甲醇-0.1% 甲酸水溶液 (65:35) 作为稀释液, 配制 10.00、5.00、2.50、1.00、0.10、0.05 μg/mL

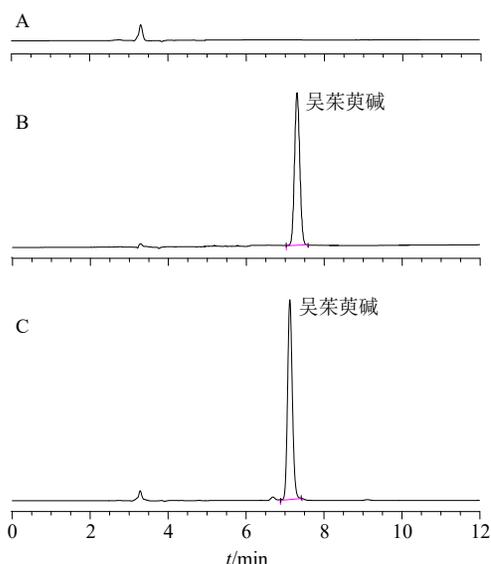


图1 空白溶剂(A)、吴茱萸碱对照品(B)和Evo-NLC样品(C)溶液的HPLC图

Fig. 1 HPLC spectrum of blank (A), evodiamine reference substance (B), and Evo-NLC (C)

系列质量浓度对照品溶液, 进样分析。以吴茱萸碱的峰面积(A)对质量浓度(C)作线性回归, 得回归方程 $A=19.8543C+0.9872$, $r=0.9998$, 可见, 吴茱萸碱在 $0.05\sim 10.00\ \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.2.3 供试品溶液制备 取Evo-NLC混悬液1 mL至100 mL量瓶中, 加入50 mL甲醇超声1 min, 采用流动相定容至刻度, 过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 即得Evo-NLC供试品溶液。

2.2.4 精密度考察 取Evo-NLC供试品溶液, 连续进样6次, 记录吴茱萸碱色谱峰的峰面积, 计算得吴茱萸碱峰面积的RSD为0.22%, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性考察 取Evo-NLC供试品溶液于制备后0、4、8、12、16、24 h进样, 记录吴茱萸碱色谱峰的峰面积, 计算得吴茱萸碱峰面积的RSD为0.82%, 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.6 重复性考察 按“2.2.3”方法处理6份Evo-

NLC供试品溶液, 进样, 记录吴茱萸碱色谱峰的峰面积, 计算得吴茱萸碱质量浓度的RSD为1.65%, 表明重复性良好。

2.2.7 加样回收率考察 取9份Evo-NLC混悬液, 体积均为1.0 mL, 分别置于100 mL量瓶中, 分为低、中、高质量浓度3组, 每组3份。分别加入吴茱萸碱对照品储备液(质量浓度为 $400\ \mu\text{g/mL}$) 0.9、1.2、1.5 mL, 各样品加入50 mL甲醇超声1 min, 加入流动相定容, 过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 进样测定, 计算得吴茱萸碱的平均加样回收率分别为99.71%、100.21%、99.83%, RSD分别为0.94%、0.62%、0.71%, 表明回收率较高。

2.3 包封率、载药量、粒径及Zeta电位的测定

取Evo-NLC混悬液1 mL至100 mL量瓶中, 加入50 mL甲醇超声1 min, 加入流动相定容, 过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 进样测定吴茱萸碱总量($m_{\text{总}}$)。取Evo-NLC混悬液1 mL, 不加冻干保护剂直接冻干, 称定质量(m)。另取Evo-NLC混悬液1 mL, 至超滤管中(截留相对分子质量 $8000\sim 14\ 000$), $10\ 000\ \text{r/min}$ 离心45 min, 取续滤液进HPLC测定吴茱萸碱游离药量($m_{\text{游离}}$)。按照文献方法^[9]分别计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (m_{\text{总}} - m_{\text{游离}}) / m_{\text{总}}$$

$$\text{载药量} = (m_{\text{总}} - m_{\text{游离}}) / m$$

取Evo-NLC混悬液0.5 mL, 蒸馏水稀释40倍后置于粒度分析仪分别测定粒径、多分散指数(polydispersity index, PDI)及Zeta电位。

2.4 Evo-NLC单因素考察

2.4.1 吴茱萸碱用量的考察 取双硬脂酸甘油酯和油酸600 mg, 固-液脂质比为4:1, P188用量为1.0%, 均质压力为80 MPa, 次数为5次, 均质温度为 $45\ ^\circ\text{C}$ 的条件下, 考察吴茱萸碱用量对包封率、载药量、粒径等指标的影响, 结果见表1。随着吴茱萸碱用量的增加, 包封率总体呈现减小趋势, 这是由于在固-液脂质用量不变的情况下, 其包载药物

表1 吴茱萸碱用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Investigation of evodiamine dosage ($\bar{x} \pm s, n=3$)

吴茱萸碱用量/mg	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
20	87.16 ± 1.43	2.23 ± 0.16	142.61 ± 5.63	0.067 ± 0.180	-37.93 ± 1.78
40	85.05 ± 1.76	4.44 ± 0.12	157.28 ± 6.92	0.071 ± 0.160	-35.80 ± 1.56
60	83.46 ± 1.27	5.89 ± 0.18	169.87 ± 9.31	0.113 ± 0.210	-36.19 ± 1.71
80	62.81 ± 0.98	5.37 ± 0.23	214.68 ± 11.47	0.252 ± 0.280	-33.96 ± 1.91

的能力有限。载药量呈现先增加后减小趋势,而粒径及PDI值均呈增加趋势,但Zeta电位绝对值均大于30 mV。可见吴茱萸碱用量对Evo-NLC的指标影响较大,当吴茱萸碱用量为60 mg时包封率和载药量相对较高,粒径、PDI和Zeta电位绝对值大小也相对理想。

2.4.2 固-液脂质比的考察 固定吴茱萸碱用量为60 mg,取双硬脂酸甘油酯600 mg和处方量的油酸置于圆底烧瓶,P188用量为1.0%,均质压力为80

MPa,次数为5次,均质温度为45 °C的条件下,考察不同固-液脂质比对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表2。当未加入液态脂质时包封率和Zeta电位绝对值较低,粒径及PDI值较大。当固-液脂质比分别为2:1、4:1、6:1时,包封率、载药量和Zeta电位绝对值先上升后下降,而粒径和PDI值先下降后再上升。可见,固液脂质比对Evo-NLC的影响较大,当固-液脂质比为4:1时各指标相对较佳。

表2 固-液脂质比的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Investigation of solid-liquid lipid ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

固-液脂质比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
1:0	56.17±0.86	4.46±0.23	249.15±13.24	0.314±0.320	-23.46±1.63
2:1	71.08±1.27	4.29±0.16	207.23±11.13	0.209±0.260	-30.31±0.96
4:1	84.82±1.78	5.97±0.22	171.78±7.69	0.102±0.210	-34.74±1.43
6:1	69.61±2.07	5.48±0.19	193.44±8.17	0.283±0.170	-25.87±1.75

2.4.3 表面活性剂种类的影响 固定吴茱萸碱用量为60 mg,取600 mg的双硬脂酸甘油酯,固-液脂质比为4:1,表面活性剂用量为1.0%,均质压力为80 MPa,次数为5次,均质温度为45 °C的条件下,考察不同表面活性剂种类对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表3。3种表面活性剂对Evo-NLC的Zeta电位绝对值影响不大,均大于30 mV。由于P188为表面活性剂时具有相对较高的包封率及载药量,较小的粒径及PDI值,且安全性较高,故选择P188作为表面活性剂。

2.4.4 表面活性剂用量的影响 固定吴茱萸碱用量

为60 mg,取600 mg的双硬脂酸甘油酯,固-液脂质比为4:1,均质压力为80 MPa,次数为5次,均质温度为45 °C的条件下,考察不同P188用量对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表4。当表面活性剂浓度逐渐增加时,Evo-NLC包封率和载药量呈现先增加后下降情况,可能是由于过高用量表面活性剂的增溶作用使药物进入水相,影响了药物的包裹。当用量较低时,乳化效果较差导致Evo-NLC粒径及PDI值较大;当用量逐渐增加时,乳化效果也随之增加,油水界面张力下降,Evo-NLC的粒径及PDI值均下降,但过高的

表3 表面活性剂种类考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

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

表面活性剂种类	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
P188	85.33±1.09	5.93±0.26	174.50±8.95	0.098±0.170	-33.39±1.13
磷脂	81.96±1.46	5.74±0.33	241.79±13.64	0.382±0.310	-31.07±1.34
聚乙烯醇	73.77±1.32	5.51±0.25	180.07±10.38	0.124±0.250	-32.65±1.51

表4 表面活性剂用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Investigation of surfactant dose ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

P188 用量/%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
0.5	63.25±1.09	4.41±0.12	241.76±13.54	0.292±0.280	-30.71±1.33
0.8	78.08±1.55	5.62±0.19	194.56±11.28	0.179±0.260	-34.27±1.41
1.0	82.91±2.07	5.93±0.11	169.80±9.69	0.126±0.230	-33.69±1.53
1.2	86.74±1.61	6.13±0.23	170.85±7.36	0.089±0.190	-35.07±1.38
1.5	70.26±1.53	4.92±0.09	176.22±8.15	0.166±0.210	-36.46±1.70

表面活性剂用量会导致粒径及PDI变大。总体来看,当表面活性剂用量为1.2%时,Evo-NLC各指标相对较佳。

2.4.5 均质功率的影响 固定吴茱萸碱用量为60 mg,取双硬脂酸甘油酯600 mg,固-液脂质比为4:1,P188用量为1.2%,均质次数为5次,均质温度为45℃的条件下分别考察不同均质压力对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表5。随着均质功率的增加,包封率和载药量总

体呈下降趋势,可能是过高的均质功率对NLC造成一定破坏。粒径先减小后增大,可能是过高的均质压力使纳米体系温度升高,纳米粒子碰撞后发生融合或聚集,导致粒径变大。但在不同均质压力下Evo-NLC的PDI值均小于0.3,Zeta电位绝对值均大于30 mV。综合Evo-NLC的各项指标,最终选择均质压力为80 MPa,此时包封率、载药量和Zeta电位绝对值较大,粒径和PDI值较小。

2.4.6 均质次数的影响 固定吴茱萸碱用量为60 mg,

表5 均质功率的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Investigation of homogeneous power ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

均质功率/MPa	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
60	83.94±1.57	5.96±0.20	258.06±14.03	0.162±0.220	-33.76±1.32
70	84.08±1.13	6.06±0.17	211.71±10.83	0.153±0.170	-34.27±0.97
80	85.62±1.43	6.09±0.23	175.39±9.05	0.101±0.160	-35.18±1.55
90	80.04±1.60	5.83±0.21	156.80±7.49	0.174±0.220	-34.12±1.64
100	74.71±1.37	5.67±0.12	182.52±8.11	0.190±0.260	-36.01±1.18

取双硬脂酸甘油酯600 mg,固-液脂质比为4:1,P188用量为1.2%,均质压力为80 MPa,均质温度为45℃的条件下分别考察不同均质次数对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表6。当均质次数达到6次时,包封率和载药量开始下降,可能是过多的均质次数对NLC造成一定的破坏。当均质次数小于4次时Evo-NLC粒径较

大,综合Evo-NLC的各项指标,最终选择均质次数为5次。

2.4.7 均质温度的影响 固定吴茱萸碱用量为60 mg,取双硬脂酸甘油酯600 mg,固-液脂质比为4:1,P188用量为1.2%,均质压力为80 MPa,次数为5次的条件下分别考察均质温度对Evo-NLC的包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表7。随着

表6 均质次数的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Investigation of homogeneous timer ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

均质次数/次	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
3	84.13±1.91	6.16±0.17	260.72±17.83	0.239±0.280	-28.18±1.72
4	85.43±1.40	6.27±0.12	223.69±13.52	0.192±0.310	-32.75±2.03
5	86.27±1.89	6.21±0.19	176.46±8.67	0.124±0.250	-34.49±1.78
6	83.68±1.72	6.02±0.21	167.94±7.58	0.147±0.160	-32.01±1.93
8	78.87±2.03	5.51±0.18	188.40±10.65	0.193±0.330	-29.77±1.18

表7 均质温度的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Investigation of homogeneous temperature ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

均质温度/℃	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
25	84.96±1.09	6.15±0.13	232.67±15.11	0.304±0.270	-27.16±1.09
35	86.03±1.80	6.22±0.19	209.27±12.68	0.214±0.220	-28.80±1.77
45	85.24±1.47	6.18±0.22	173.02±11.94	0.108±0.180	-33.62±1.63
55	85.89±1.77	6.20±0.17	161.43±9.09	0.086±0.150	-34.54±1.40
65	82.46±1.94	5.98±0.21	177.16±8.87	0.179±0.230	-31.22±1.52
75	78.82±1.65	5.74±0.15	213.71±12.08	0.207±0.260	-29.14±1.83

均质温度的上升, 粒径大小及 PDI 值呈现先下降后增大情况, 可能是均质温度的升高, 有助于降低纳米体系的黏度, 从而使粒径下降, 但当均质温度超过 65 °C 时包封率和载药量均开始下降, PDI 值上升, 粒径分布不均匀。综合考虑, 最终选择均质温度为 55 °C, 此时 Evo-NLC 包封率、载药量和 Zeta 电位绝对值较大, 粒径和 PDI 值较小。

2.5 Box-Behnken 响应面法优化处方

2.5.1 优化方案 包封率、载药量和粒径是 NLC 的重要指标, 故选择该 3 个指标进行 Box-Behnken 响

应面设计。根据前期单因素考察, 发现投药量 (X_1)、固-液脂质比例 (X_2) 和 P188 用量 (X_3) 对 Evo-NLC 包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2) 和粒径 (Y_3) 的影响较大, 各个因素的水平见表 8。将包封率、载药量和粒径转换为总评分 (OD), 作为 Box-Behnken 响应面设计的响应指标。①Evo-NLC 的包封率 (d_1) 和载药量 (d_2) 计算公式为 $d=(M_i-M_{min})/(M_{max}-M_{min})$, M_{max} 和 M_{min} 为最大值和最小值, M_i 为测量值; ②粒径 (d_3) 计算公式为 $d_3=(M_{max}-M_i)/(M_{max}-M_{min})$; ③总评分 $OD=(d_1d_2d_3)^{1/3}$, 结果见表 8。

表 8 Box-Behnken 响应面设计实验因素水平及试验结果

Table 8 Experimental factor level and experimental results of Box-Behnken response surface design

序号	X_1 /mg	X_2	X_3 /%	Y_1 /%	Y_2 /%	Y_3 /nm	OD	序号	X_1 /mg	X_2	X_3 /%	Y_1 /%	Y_2 /%	Y_3 /nm	OD
1	60 (0)	2 : 1 (-1)	0.5 (-1)	68.43	4.25	243.61	0.000	10	40	4	0.5	79.17	4.01	204.82	0.408
2	60	4 : 1 (0)	1.0 (0)	81.37	5.91	163.33	0.814	11	60	6	1.5	70.78	5.45	191.31	0.499
3	40 (-1)	4	1.5 (+1)	73.62	3.52	150.64	0.347	12	60	4	1.0	81.69	5.94	152.51	0.857
4	40	6 : 1 (+1)	1.0	72.18	3.77	212.52	0.279	13	80	2	1.0	62.87	4.89	219.69	0.000
5	60	4	1.0	82.83	5.88	153.78	0.863	14	40	2	1.0	77.81	3.21	223.70	0.000
6	60	4	1.0	85.49	6.15	151.59	0.937	15	60	6	0.5	72.07	5.59	237.09	0.267
7	60	2	1.5	65.08	3.89	189.30	0.222	16	80	4	1.5	77.41	6.60	189.62	0.709
8	80 (+1)	6	1.0	68.47	6.62	218.88	0.398	17	60	4	1.0	83.97	6.11	156.28	0.896
9	80	4	0.5	73.92	6.71	222.41	0.479								

2.5.2 模型及方差分析 采用 Design-Expert V8.0.6 软件以综合指标 OD 对 X_1 、 X_2 、 X_3 进行拟合, 综合考虑模型的拟合度及简洁性, 采用 2 次多项式进行拟合, 得 OD 的 2 次多元回归方程为 $Y_1=0.87+0.069 X_1+0.15 X_2+0.087 X_3+0.030 X_1X_2+0.073 X_1X_3+0.002 5 X_2X_3-0.23 X_1^2-0.47 X_2^2-0.15 X_3^2$ ($R^2=0.980 6$, 模型显著性 $P<0.000 1$)。由 R^2 与 P 值和可知, 该预测模型拟合情况较好; 且方程的失拟项 P 值均大于 0.05, 差异不显著, 因此方程预测结果可靠性较高, 可反映实际情况。对方程中各项

系数进行了统计检验, OD 方差分析见表 9, 其中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 有显著或极显著差异 ($P<0.05$ 、 0.01)。

2.5.3 效应面评估与预测 采用 Design Expert V8.0.6 绘制因变量对自变量的三维曲面图。分别固定投药量 (X_1)、固-液脂质比例 (X_2) 和 P188 用量浓度 (X_3) 因素中之一, 得到另外 2 个因素的交互作用对综合指标 OD 值影响的结果见图 2。得出 Evo-NLC 最佳处方为投药量为 64.13 mg, 固-液脂质比为 4.34 : 1, 表面活性剂 P188 用量为 1.15%, OD 值

表 9 方差分析结果

Table 9 Results of variance analysis

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.671	9	0.190	38.251	<0.000 1	X_1^2	0.231	1	0.231	48.138	<0.000 1
X_1	0.038	1	0.038	8.042	0.025	X_2^2	0.940	1	0.940	197.621	<0.000 1
X_2	0.192	1	0.192	39.350	<0.000 1	X_3^2	0.103	1	0.103	21.249	0.002
X_3	0.049	1	0.049	10.243	0.015	残差	0.033	7	4.736×10^{-3}		
X_1X_2	3.540×10^{-3}	1	3.540×10^{-3}	0.769	0.416	失拟项	0.025	3	8.230×10^{-3}	2.890	0.111 2
X_1X_3	0.021	1	0.021	4.469	0.072	纯偏差	8.461×10^{-3}	4	2.115×10^{-3}		
X_2X_3	2.520×10^{-5}	1	2.520×10^{-5}	5.279×10^{-3}	0.944	总离差	1.710	16			

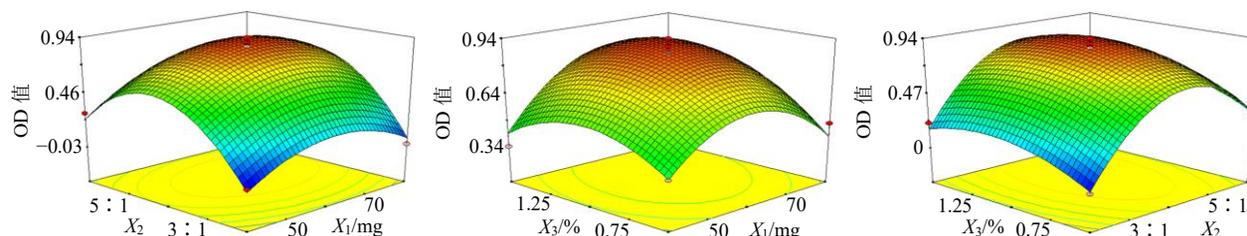


图2 自变量与因变量的效应面图

Fig. 2 Response surface of independent variable on dependent variable

为 0.905, 模型预测该处方的包封率为 88.05%, 载药量为 6.07%, 粒径为 148.3 nm。

2.6 最佳处方验证

根据得出的最佳处方制备 3 批 Evo-NLC 混悬液。测得 Evo-NLC 平均包封率为 $(87.84 \pm 1.62)\%$, 载药量为 $(5.96 \pm 0.22)\%$, 平均粒径为 (152.62 ± 9.43) nm (图 3-A), 这些指标的实际测定值均与模型预测值较为接近。另测定其 PDI 值为 0.092 ± 0.190 , Zeta 电位为 (-36.67 ± 1.93) mV (图 3-B)。

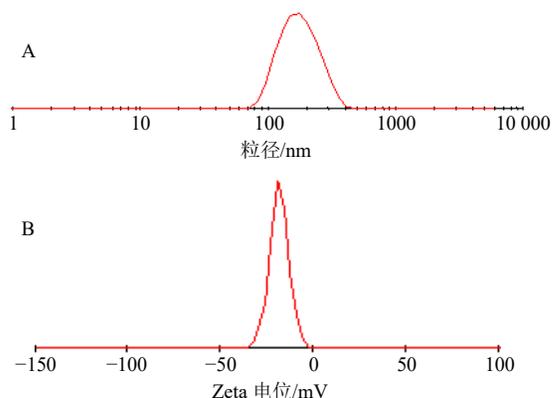


图3 Evo-NLC 粒径 (A) 和 Zeta 电位 (B)

Fig. 3 Particle size (A) and Zeta potential (B) of Evo-NLC

2.7 冻干粉的制备

Evo-NLC 混悬液外观为淡蓝色乳光的透明液体 (图 4-A)。为便于储存, 进一步将 Evo-NLC 制备成冻干粉末。具体过程为取 Evo-NLC 混悬液, 加入 0.04 g/mL 乳糖, 混匀后置于西林瓶中。在 $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下预冻 48 h, 将预冻好的样品装入茄型冻干瓶并置于温度为 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冷冻干燥仪中, 抽真空, 72 h 后即得 Evo-NLC 冻干粉末, 压盖封口 (外观见图 4-B), 保存于干燥器中。分别考察 Evo-NLC 混悬液及其冻干粉在 0、1、3、6、9、12、15、18、24、30 d 时粒径和包封率的变化情况, 结果见图 5。由结果可知, 将 Evo-NLC 制备成冻干粉后, 有效抑制了粒径和包封率的波动幅度, 提高了 Evo-NLC 的存储稳定性。

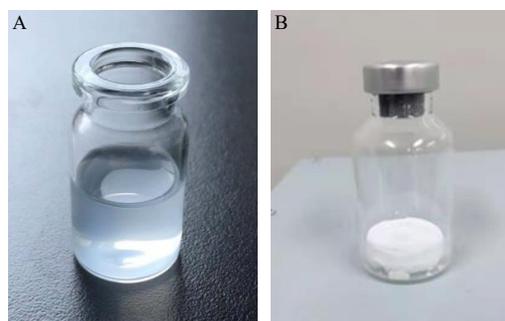


图4 Evo-NLC (A) 及其冻干粉 (B) 外观

Fig. 4 Appearance of Evo-NLC (A) and its lyophilized powder (B)

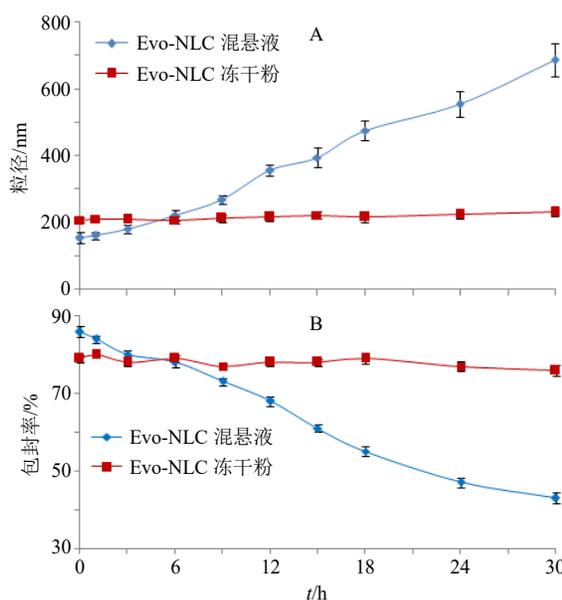


图5 粒径 (A) 和包封率 (B) 稳定性考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Stability study of particle size (A) and envelopment efficiency (B) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.8 体外释药情况考察

透析法比较吴茱萸碱溶液与 Evo-NLC 冻干粉的体外释药情况。取 Evo-NLC 冻干粉适量 (吴茱萸碱含有量为 5 mg), 空白介质配制混悬液, 转移至活化透析袋中, 手术线两端封口。采用 1.0% 十二烷基磺酸钠水溶液 1000 mL 作为释药介质, 各个取样时间点取样 5 mL, 立即补进 5 mL 空白 1.0% 十二烷

基磺酸钠水溶液。样品经 8500 r/min 离心 10 min，取上清液进 HPLC，结果见图 6。Evo-NLC 在前 4 h 释放相对较快，累积释放度为 47.83%，之后累积释放度缓慢增加，48 h 累积释放度为 74.71%。Evo-NLC 具有明显的缓释特征。采用零级、一级、Weibull 模型等模型对 Evo-NLC 体外释药进行拟合，结果见表 10，结果发现其释药过程与 Weibull 模型： $\ln\ln[1/(1-M_t/M_\infty)]=0.5144\ln t-1.3112$ 拟合程度最高 ($r=0.9668$)，说明 Evo-NLC 释药过程符合 Weibull 模型。

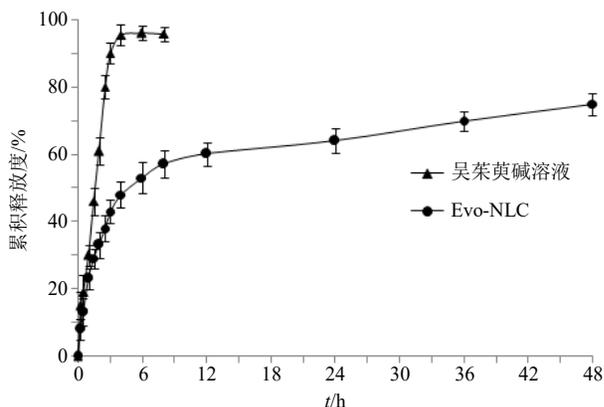


图 6 体外释药曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 6 Curves for *in vitro* release ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 10 药物释放模型和相关系数

Table 10 Fitting release model and coefficient

模型	拟合方程	r
零级模型	$M_t/M_\infty=0.0152t+0.3531$	0.7893
一级模型	$\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.0308t-0.4380$	0.8622
Higuchi 模型	$M_t/M_\infty=0.1027t^{1/2}+0.2214$	0.9034
Weibull 模型	$\ln\ln[1/(1-M_t/M_\infty)]=0.5144\ln t-1.3112$	0.9668

M_∞ 为 ∞ 时累积释放度， M_t 为 t 时累积释放度， M_t/M_∞ 为 t 时累积释放率， t 为时间

M_∞ is accumulative drug-release at time ∞ , M_t is accumulative drug-release at time t , M_t/M_∞ is accumulative release rate at time t , t is time

2.9 体内药动学研究

2.9.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil ODS2 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液 (65:35)；吴茱萸碱的检测波长为 225 nm；体积流量为 1.0 mL/min，柱温为 35 °C。

2.9.2 血浆样品的处理方法^[14] 取 100 μL 血浆样品和 50 μL 质量浓度为 500 μg/L 的厚朴酚内标溶液，加入 1 mL 乙腈并涡旋 3 min。8500 r/min 离心 10 min，取上清液至空白离心管，40 °C 氮气挥干后得残渣。100 μL 乙腈复溶，12 000 r/min 离心 5 min，

取上清液进样测定。

2.9.3 血浆标准曲线 采用空白血浆 100 μL，配制质量浓度为 1400、700、350、200、50、20 μg/L 吴茱萸碱血浆对照品溶液，按照“2.9.2”项下方法处理，进样测定。以吴茱萸碱与厚朴酚 (内标) 峰面积比 (A) 对吴茱萸碱质量浓度 (C) 进行线性回归，得到吴茱萸碱血浆对照品的回归方程为 $A=1.3617C+0.0924$, $r=0.9938$ ，结果表明吴茱萸碱在 20~1400 μg/L 线性关系良好。

2.9.4 专属性及方法学考察 取空白血浆、血浆对照品溶液和血浆样品溶液，按照“2.9.2”项下方法处理后进 HPLC，吴茱萸碱和内标分别在 6.2、7.6 min 出峰 (图 7)^[15]，专属性较高，理论塔板数以吴茱萸碱和厚朴酚色谱峰计均不低于 6500。色谱图分别见图 7-A~C，血浆内源性物质不干扰吴茱萸碱含量测定，专属性较高。

取质量浓度为 100 μg/L 血浆样品于室温放置 6、12、24 h 及 -15 °C 冷冻条件放置 3、5、7 d，分别进 HPLC 测定峰面积。在室温放置的峰面积比值的 RSD 为 7.65%，在 -15 °C 冷冻条件放置的峰面积比

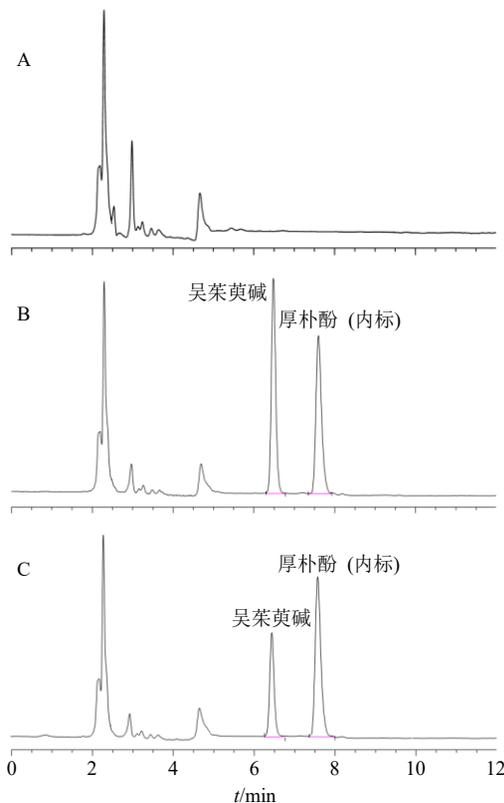


图 7 空白血浆 (A)、血浆样品 (B) 和 EVO+空白血浆 (C) 的 HPLC 图

Fig. 7 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B), and evodiamine + blank plasma (C)

值的RSD值为8.02%，说明血浆样品在室温放置1 d和-15℃冷冻条件放置7 d稳定性较好。取20、350、1400 μg/L 血浆对照品溶液，考察日内精密度的及日间精密度。结果显示日内精密度RSD值分别为10.64%、6.98%、7.15% (n=3)；日间精密度RSD值分别为11.96%、7.18%、9.82% (n=3)，表明精密度良好。取20、350、1400 μg/L 的血浆对照品溶液进HPLC测定吴茱萸碱及内标的峰面积，带入血浆对照品标准曲线计算测定质量浓度，与配制质量浓度对比计算回收率。结果显示平均回收率分别为91.86%、89.31%、93.20% (n=3)，RSD值分别为8.15%、7.81%、9.02% (n=3)，因此回收率较高。参考文献方法考察基质效应^[16]，取适量空白血浆，不加内标并按照“2.9.2”项下方法进行处理，加入到“2.2.2”项下吴茱萸碱的对照品溶液，配制成20、350、1400 μg/L 的样品，进样，并与相同质量浓度对照品测得的峰面积相比，计算基质效应。结果显示吴茱萸碱的基质效应在93.61%~97.27%，RSD值小于7.67% (n=3)。

2.9.5 实验过程 取吴茱萸碱原料药、Evo-NLC冻干粉末和物理混合物(吴茱萸碱+空白NLC冻干粉)，采用0.5%CMC-Na水溶液配制含吴茱萸碱质量浓度为10 mg/mL的ig混悬液3 mL，3种样品分别配制6份。18只实验大鼠随机分为吴茱萸碱组、Evo-NLC组和物理混合物组，每组均为6只。各组大鼠按照100 mg/kg剂量ig后计时，吴茱萸碱组和物理混合物组于0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、14 h分别对大鼠眼眶后静脉丛取血，而Evo-NLC组取血点调整为0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、18、

24 h，将血样置于肝素化的离心管中。涡旋6 s混匀后4000 r/min离心3 min，取上层浅黄色血浆，冷冻保存，待测。

2.9.6 口服药动力学结果 采用3P97软件进行处理，曲线下面积(AUC)和峰浓度(C_{max})经对数转换后进行独立样本t检验，达峰时间(t_{max})和半衰期(t_{1/2})采用非参数法秩和检验。吴茱萸碱原料药、Evo-NLC冻干粉末和物理混合物的药-时曲线见图8，主要药动力学参数见表11。空白NLC可能在一定程度上影响了吴茱萸碱的吸收，但各个药动力学参数无显著性差异(P>0.05)，基本无促吸收作用。Evo-NLC药动力学参数发生了很大变化，t_{max}延后至(4.06±0.71) h，具有显著性差异(P<0.01)；t_{1/2}极显著性延长至(7.98±1.21) h；C_{max}由(226.26±61.76) μg/L极显著性提高至(1 104.75±262.42) μg/L (P<0.01)，提高至4.88倍，且Evo-NLC的口服相对生物利用度提高至4.47倍(与原料药相比)，显著提高了吴茱萸碱的体内口服吸收程度。

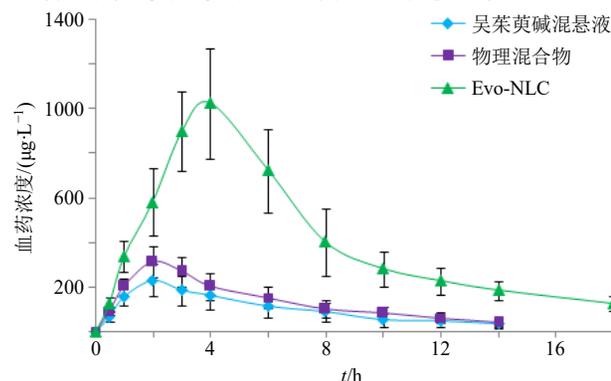


图8 药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 8 Curves of drug concentration-time ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表11 药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 11 Pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	吴茱萸碱混悬液	物理混合物	Evo-NLC
t _{max}	h	1.91±0.33	2.24±0.37	4.06±0.71***
t _{1/2}	h	4.81±0.64	5.07±0.72	7.98±1.21***
C _{max}	μg·L ⁻¹	226.26±61.76	302.90±72.01	1 104.75±262.42***
AUC _{0~t}	μg·h·L ⁻¹	1 608.43±208.94	1 721.74±246.51	7 196.58±1 004.62***
AUC _{0~∞}	μg·h·L ⁻¹	1 711.38±220.45	1 849.66±270.17	7 371.84±1 142.07***

与吴茱萸碱原料药组比较: **P<0.01; 与物理混合物组比较: ***P<0.01

P<0.01 vs evodiamine bulk drug group; *P<0.01 vs physical mixture group

3 讨论

前期在固定吴茱萸碱用量不变的前提下分别考察了固态脂质材料硬脂酸、单硬脂酸甘油酯、双硬脂酸甘油酯等对包封率和粒径大小的影响，但双硬

脂酸甘油酯制得的纳米结构脂质载体包封率相对较高，且粒径相对较小，故选用双硬脂酸甘油酯作为固态脂质。由于油酸黏度较小，有利于形成较小粒径的NLC^[11]，且安全性高，故选为液态脂质。

投药量过小时虽包封率较高, 但会影响制剂的载药量, 制备效率低下; 投药量过大则会影响包封率及制剂的粒径大小, 综合考虑后选择 40~80 mg 进行优化。固-液脂质比例过大时, 对固态脂质晶体结构扰乱作用较弱, 不能有效形成晶体缺陷空间, 最终影响包封率; 而固-液脂质比例过小则可能发生相分离, 故最终选择 2:1~6:1 进行优化。表面活性剂浓度主要影响体系的乳化程度, 对纳米粒粒径影响较大, 而且也需考虑本身的增溶作用对纳米结构脂质载体包封率的影响, 故选择 0.5%~1.5% 进行优化。

牛小童等^[3]制备的吴茱萸碱固体脂质纳米粒载药量仅为 1.65%, 粒径为 268.9 nm。也有将吴茱萸碱制备成磷脂复合物的报道^[8], 其相对口服生物利用度提高至 2.18 倍, 但磷脂复合物黏性较大, 容易导致有机溶剂被包裹于内部, 且给药不便, 需要联用其他制剂技术加以改善。张雪等^[15]制备了吴茱萸碱包合物, 其口服生物利用度提高至 2.56 倍。李姝影^[17]制备了吴茱萸碱脂质体, 但处方中主要材料磷脂容易氧化, 进而可能产生具有溶血毒性的物质。本研究制备的 Evo-NLC 的载药量达到 5.96%, 口服生物利用度提高至 4.30 倍, 在生物利用度提高幅度上有一定优势。另外, 参考文献方法^[18]采用顶空气相法测定 Evo-NLC 混悬液中丙酮及乙醇的残留量, 结果未检出, 说明无溶剂残留。

Evo-NLC 的 t_{max} 发生显著性延后 ($P < 0.01$), 这可能是胃肠道对 NLC 的强黏附性以及纳米结构脂质载体对包裹于内部药物的缓释作用所致^[19]。NLC 显著延长了吴茱萸碱体内的 $t_{1/2}$, 延长了体内循环时间, 且 C_{max} 提高至 4.43 倍, 相对生物利用度提高至 4.30 倍, 促吸收作用明显。可能是由于制备成 NLC 后药物的比表面积激增, 不仅促进了药物溶出, 同时也极大增加了药物与胃肠道的接触面积, 有助于药物经细胞间、淋巴转运等方式进入血液循环^[11,20-21]; 载体的包裹作用降低了体内各种酶等对药物稳定性的影响^[8]; NLC 中脂质成分可打开肠壁的紧密连接^[22], 有助于提高药物的渗透性, 提高吸收。但胃肠道黏膜表面黏蛋白可对药物吸收的阻滞作用^[23-24]、NLC 体内稳定性等因素^[11]也会影响生物利用度提高幅度。

林淑娟等^[25]研究结果显示, 小鼠 ig 吴茱萸碱剂量为 5 g/kg 时, 连续观察 14 d 未见心、肾、肝、脾等发生异常改变, 病理学检测也未见异常。本研究

药动力学研究的 ig 剂量为 0.1 g/kg, 由于 NLC 提高了吴茱萸碱的 C_{max} 及生物利用度, 因此接下来有必要开展毒性评价, 并对药效、注射药动学等进行研究, 为 Evo-NLC 提供更为全面的研究资料, 后续也将作进一步的研究报道。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张志仙, 蒋美玲, 王欣慧, 等. 吴茱萸碱的药理学研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(21): 4189-4191.
- [2] 刘树森, 孙文斌, 李文兰, 等. 基于网络药理学的黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 109-117.
- [3] 牛小童, 张力中, 冯易, 等. 吴茱萸碱固体脂质纳米粒的制备和抗肿瘤活性 [J]. 中成药, 2016, 38(10): 2149-2156.
- [4] 赵爽, 郭星娴, 周鹏, 等. 吴茱萸碱通过 Hippo-YAP 通路诱导人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡的实验研究 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4962-4968.
- [5] 郭惠, 杨若澜, 李卫涛, 等. 紫外分光光度法测定吴茱萸碱及吴茱萸次碱的溶解度及油水分配系数 [J]. 化学与生物工程, 2019, 36(11): 64-67.
- [6] Shyr M H, Lin L C, Lin T Y, *et al.* Determination and pharmacokinetics of evodiamine in the plasma and feces of conscious rats [J]. *Anal Chimica Acta*, 2006, 558(1/2): 16-21.
- [7] 余忠姝, 雷婷婷, 张景勃, 等. 吴茱萸碱-姜黄素纳米粒药动力学研究 [J]. 中草药, 2017, 48(14): 2902-2906.
- [8] 柳珊. 吴茱萸碱磷脂复合物的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2011.
- [9] Zou L D, Chen F Q, Bao J L, *et al.* Preparation, characterization, and anticancer efficacy of evodiamine-loaded PLGA nanoparticles [J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(3): 898-906.
- [10] 张波, 李蓉芬, 游箭, 等. 聚乙烯醇颗粒的急性毒性实验 [J]. 化学研究与应用, 2011, 23(8): 1117-1120.
- [11] 郝海军, 屈战果, 范明松. 隐丹参酮纳米结构脂质载体的制备及药动力学研究 [J]. 中成药, 2020, 42(4): 831-835.
- [12] 杨宁辉, 曹伶俐, 付国辉, 等. 蛇床子素纳米结构脂质载体的制备及其体内药动力学行为 [J]. 中成药, 2019, 41(6): 1205-1209.
- [13] 毛艳婷, 马姝丽, 陈晓峰, 等. 达沙替尼纳米结构脂质载体及其冻干粉的制备和体外释药研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(6): 649-653, 658.
- [14] 雷婷婷, 张景勃, 陈静, 等. 吴茱萸碱新型纳米乳在大鼠体内的药代动力学及生物等效性 [J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(10): 1256-1260.

- [15] 张雪, 刘宏明, 雷婷婷, 等. 吴茱萸碱羟丙基- β -环糊精分子包合物的药代动力学 [J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(4): 548-551.
- [16] 杨宝, 郑小芸, 轩申鑫, 等. 救必应总三萜主要成分在正常和高脂血症大鼠体内的药动学比较 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 3905-3913.
- [17] 李姝影. 吴茱萸破脂质体的制备和体内外评价 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [18] 许佼, 杨娟, 赵向阳. 顶空气相色谱法测定克林霉素磷酸酯中残留甲醇、乙醇、丙酮、吡啶的含量 [J]. 海峡药学, 2020, 32(1): 62-65.
- [19] 王小霞, 张智强. 鞣花酸纳米结构脂质载体处方优化和口服生物利用度研究 [J]. 中草药, 2021, 52(13): 3862-3871.
- [20] 郜娜, 范明松, 杨庆宇, 等. 二氢杨梅素磷脂复合物纳米结构脂质载体的制备、表征及药动学研究 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4060-4067.
- [21] 杨婕, 刘宏明, 陈云, 等. 吴茱萸碱脂质纳米粒的药代动力学和在体肠吸收特性研究 [J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(6): 696-701.
- [22] 高彩芳, 夏加璇, 朱颖, 等. 纳米技术在改善中药有效成分成药性中的应用 [J]. 中草药, 2018, 49(12): 2754-2762.
- [23] 李金明, 林东海, 田景振. 呋喃二烯 mPEG-PLGA 纳米粒的制备及大鼠口服生物利用度 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(14): 1670-1674.
- [24] Agarwal S, HariKumar S L, Negi P, *et al.* Quetiapine fumarate loaded nanostructured lipid carrier for enhancing oral bioavailability: Design, development and pharmacokinetic assessment [J]. *Curr Drug Deliv*, 2021, 18(2): 184-198.
- [25] 林淑娴, 任丽娜, 孙安盛. 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和吴茱萸总碱的小鼠急性毒性 [J]. 遵义医学院学报, 2015, 38(2): 146-149.

[责任编辑 郑礼胜]