

• 药剂与工艺 •

Box-Behnken 设计-效应面法优化岩黄连碱纳米结构脂质载体处方工艺及体外药效评价

苏晓丹¹, 麦琬婷¹, 钟华帅¹, 曾勇珠¹, 陆建媚¹, 覃裕翠¹, 黄秋洁^{2*}, 叶 勇^{1,3*}

1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021

2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530001

3. 广西生物活性分子研究与评价重点实验室, 广西 南宁 530021

摘要: 目的 Box-Behnken 设计-效应面法优化岩黄连碱纳米结构脂质载体 (dehydrocavidine nanostructured lipid carriers, DC-NLCs) 处方, 并进行体外药效研究。方法 采用溶剂蒸发法制备 DC-NLCs。以包封率、载药量和 ζ 电位为考察指标, 采用单因素考察和 Box-Behnken 设计-效应面法优化 DC-NLCs 的处方。对 DC-NLCs 进行表征, 并考察体外药效作用。结果 最佳处方为投药量为 10.0 mg、固-液脂质比为 1:8、卵磷脂用量为 85.0 mg、表面活性剂为 1% 聚山梨酯-80。DC-NLCs 测得包封率为 $(85.29 \pm 0.01)\%$, 载药量为 $(6.27 \pm 0.00)\%$, ζ 电位为 (-17.90 ± 1.09) mV、粒径为 (188.50 ± 11.77) nm, 体外释药具有明显的缓释特征。体外药效学实验表明, DC-NLCs 体外抑制肝纤维化的效果显著。结论 Box-Behnken 设计-效应面法所建立的模型能较好地用于 DC-NLCs 处方优化, 准确度高, 预测效果较好, 且优化制备的 DC-NLCs 具有显著的抑制肝纤维化作用。

关键词: 岩黄连碱; 纳米结构脂质载体; Box-Behnken 设计-效应面法; 缓释; MTT 法; 药效评价; 溶剂蒸发法; 肝纤维化
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)22-7019-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.22.005

Formulation optimization of dehydrocavidine nanostructured lipid carriers by Box-Behnken design response surface method and pharmacodynamic studies *in vitro*

SU Xiao-dan¹, MAI Wan-ting¹, ZHONG Hua-shuai¹, ZENG Yong-zhu¹, LU Jian-mei¹, QIN Yu-cui¹, HUANG Qiu-jie², YE Yong^{1,3}

1. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

2. School of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

3. Guangxi Key Laboratory of Bioactive Molecules Research and Evaluation, Nanning 530021, China

Abstract: Objective To optimize the formulation of dehydrocavidine nanostructured lipid carriers (DC-NLCs) by Box-Behnken design response surface method, and study *in vitro* pharmacodynamics. **Methods** Preparation of DC-NLCs by solvent evaporation. Encapsulation efficiency, drug loading and potential were used as evaluation index, single factor investigation method and Box-Behnken response surface method (BBD-RSM) were used to investigate the optimal prescriptions of DC-NLCs. The DC-NLCs were characterized and *in vitro* efficacy results were compared. **Results** The optimal formulation: dehydrocavidine dosage was 10.0 mg, solid-liquid lipid ratio was 1:8, lecithin dosage was 85.0 mg, surfactant was 1% polysorbate-80. Envelopment efficiency, drug

收稿日期: 2022-05-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81960756); 国家自然科学基金资助项目 (81360689); 广西自然科学基金资助项目 (2022GXNSFDA035063); 广西自然科学基金资助项目 (2018GXNSFAA050078); 广西自然科学基金资助项目 (2015GXNSFAA139173); 广西高校中青年教师科研基础能力提升基金资助项目 (2019KY0148); 广西高校中青年教师科研基础能力提升基金资助项目 (2019KY0315)

作者简介: 苏晓丹 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术。

***通信作者:** 黄秋洁 (1979—), 女, 副教授, 主要从事中药新剂型与新技术研究。Tel: 13737172226 E-mail: hqj8@163.com

叶 勇 (1979—), 男, 博士, 副教授, 主要从事民族药药效物质及其新制剂研究。Tel: 13978679458 E-mail: yong-ye@163.com

loading, potential and particle size of DC-NLCs were $(85.29 \pm 0.01)\%$, $(6.27 \pm 0.00)\%$, (-17.90 ± 1.09) mV and (188.50 ± 11.77) nm, respectively. *In vitro* drug release has obvious sustained-release characteristics. *In vitro* pharmacodynamic experiments showed that DC-NLCs had significant inhibitory effect on liver fibrosis. **Conclusion** It is feasible to apply BBD-RSM for the formulation optimization of DC-NLCs, and DC-NLCs had significant inhibitory effect on liver fibrosis.

Key words: dehydrocavidine; nanostructured lipid carriers; Box-Behnken design-response surface method; sustained release; MTT colorimetric method; pharmacodynamic evaluation; solvent evaporation method; liver fibrosis

岩黄连又名石生黄堇、岩胡、土黄连,为罂粟科紫堇属多年生草本植物岩黄连 *Corydalis saxicola* Bunting 的全草^[1],主要分布于广西、贵州、云南等我国西南部地区。岩黄连作为广西壮族传统特色护肝药物,常用于疮疗肿毒、肝炎、肝硬化、肝癌^[2-3]等疾病治疗。

岩黄连碱是从岩黄连^[4]中提取分离出来的 1 种季铵类生物碱。研究表明,岩黄连碱具有促进胶原溶解^[5]、调节纤维化相关基因^[5]、减少氧化应激^[6]、减少肝脏丙二醛的形成^[7]、提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性^[5]等药理作用。目前以岩黄连碱作为主要质量控制指标的制剂有岩黄连注射液、岩黄连片剂^[8]、岩黄连直肠栓^[9]、岩黄连总碱胶囊^[10]等,用于肝炎、肝硬化、肝癌等疾病的治疗。然而,由于岩黄连碱存在溶解度差^[11]、体外抗氧化活性能力低^[12]药物递送率低等缺点,从而限制了其相关制剂的研发及临床应用。因此,通过现代药物制剂技术改善岩黄连碱溶解度及体外活性问题具有重要的现实意义。

据文献报道,纳米结构脂质载体(nanostructured lipid carriers, NLCs)是新一代脂质纳米粒,也称纳米脂质载体^[13]。NLCs 存在液态油或混合基质打乱了固体脂质规整的晶型结构,以结晶缺陷型、无定形、液脂/固脂/水 3 者复合态等结构存在,可装载更多药物分子,提高包封率和载药量^[14],且具有改善药物溶解度和缓控释作用^[15],能有效提高难溶性药物在体内病灶的靶向性、吸收程度并延长药效作用时间^[16]。

基于此本研究利用单因素考察结合 Box-Behnken 设计-效应面法^[17-18]进行实验设计,以包封率、载药量、 ζ 电位为考察指标,选择岩黄连碱用量、固态与液态(固-液)脂质比、卵磷脂用量为主要影响因素,优化岩黄连碱-NLCs(dehydrocavidine-NLCs, DC-NLCs)的处方,并进行质量表征与体外药效评价,以期对岩黄连碱新制剂的研发和临床

应用提供实验依据和有价值的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪器,二极管阵列检测器,美国 Agilent 公司;XS205DU 型分析天平,梅特勒-托利多集团;KQ-500DB 型数控超声波清洗器,昆明市超声仪器有限公司;HH-2 型数显电子恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;Nano-ZS90 型粒度分析仪,英国马尔文公司;TG16-MS 型高速离心机,赛默飞世尔有限公司;THZ-92C 型台式恒温振荡器,上海龙跃仪器设备有限公司;H-7650 型透射电子显微镜(TEM),日本 Hitachi 公司;Smart Lab-9kW 型转靶 X-射线粉末衍射仪(XRD),瑞士梅特勒托利多公司; Nicolet IS20 型傅里叶变换红外光谱(FT-IR)仪,赛默飞世尔科技公司;超滤离心管,截留相对分子质量 10 000,美国 Millipore 公司;Aynergy H1 型酶标仪,美国伯腾仪器有限公司。

1.2 试药

岩黄连碱原料药,批号 RP20201009,质量分数 98.0%,购自成都麦德生科技有限公司;岩黄连对照品,批号 111667-200401,质量分数 99.6%,购自中国食品药品检定研究院;单硬脂酸甘油酯,批号 L28N10S104297,购自源叶生物科技有限公司;油酸,批号 k1929018,购自阿拉丁医药科技有限公司;聚山梨酯-80,批号 70090050,购自 Biosharp 药用辅料有限公司;磷酸,批号 20201001,购自重庆川东华东有限公司;三乙胺,批号 20210217,购自天津市大茂化学试剂厂;15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯 HS,批号 73059868E0,购自德国巴斯夫化工有限公司;PBS 缓冲液(批号 20211210)、5-甲基-1*H*-四氮唑(批号 917Q054)、胰酶(批号 20220221),购自北京索莱宝科技有限公司;MEM 基础培养基,批号 WH0022X191,购自普诺赛生命科技有限公司;泊洛沙姆,批号 GNC33221B,德国 BASF 有限公司;转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1),批号 P01137,派普泰克技术有限公司;LX-2 细胞,广西医科大学药学院林兴课题组赠送。

2 方法与结果

2.1 DC-NLCs 的制备工艺

称取处方量的岩黄连碱原料药、单硬脂酸甘油酯、油酸和卵磷脂置于烧杯中,加入无水乙醇 4 mL,水浴加热溶解得到澄清透明的有机相。将有机相缓慢滴入于 70 ℃ 水浴的 1% 聚山梨酯-80 中,以转速为 850 r/min 磁力搅拌 50 min 后经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,得 DC-NLCs 混悬液。

空白 NLCs 制备方法同 DC-NLCs 一致,但不加入岩黄连碱原料药。

2.2 HPLC 法测定岩黄连碱含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 6L Sciences ODS2 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.2% 磷酸三乙胺水溶液 (30:70); 检测波长为 346 nm; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 25 ℃。进样后,岩黄连碱出峰位置在 6.8 min 左右 (图 1),专属性较高,理论塔板数以岩黄连碱计不低于 12 000。

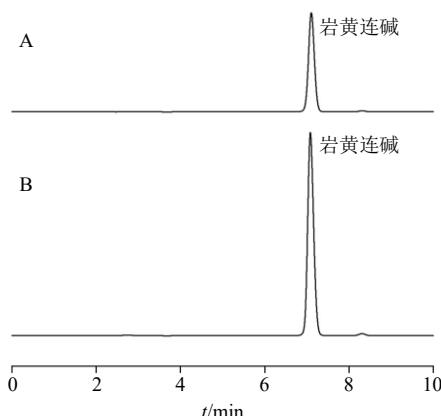


图 1 岩黄连碱对照品 (A) 和 DC-NLCs (B)

Fig. 1 HPLC of dehydrocavidine reference substance (A) and DC-NLCs sample (B)

2.2.2 线性关系考察 称取岩黄连碱对照品 2.5 mg 至 5 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度得 500 μg/mL 的岩黄连碱为母液。用岩黄连碱母液配制 1、2、5、10、50、100、500 μg/mL 系列质量浓度对照品溶液,进样分析。以岩黄连碱的峰面积为纵坐标 (Y),质量浓度为横坐标 (X),进行线性回归,得回归方程 $Y=37.816X+31.496$, $r=0.9998$,可见,岩黄连碱在 1~500 μg/mL 线性关系良好。

2.2.3 供试品溶液制备 取 DC-NLCs 混悬液 100 μL 至 5 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度后超声 (功率 600 W) 15 min, 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得 DC-NLCs 供试品溶液。

2.2.4 精密度考察 取低、中、高质量浓度 (50、

200、350 μg/mL) 岩黄连碱溶液,连续进样 6 次,记录岩黄连碱色谱峰的峰面积,计算得岩黄连碱峰面积的 RSD 分别为 0.22%、0.41%、0.09%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性考察 取 DC-NLCs 供试品溶液,分别于制备后 0、4、8、16、24 h 进样,记录岩黄连碱色谱峰的峰面积,计算得岩黄连碱峰面积 RSD 为 1.23%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.6 重复性考察 取 DC-NLCs 混悬液,按“2.2.3”项下方法处理,制备 6 份 DC-NLCs 供试品溶液,进样,记录岩黄连碱色谱峰的峰面积,计算得岩黄连碱质量浓度的 RSD 为 1.15%,表明重复性良好。

2.2.7 加样回收率考察 取 DC-NLCs 混悬液 100 μL 至 10 mL 量瓶中,分别加入 500 μL 岩黄连碱低、中、高质量浓度 3 组,每组 3 份。甲醇定容至刻度线后,取 400 μL 至超滤管中,以 10 000 r/min 离心 (离心半径 7.5 cm) 30 min。取续滤液,0.22 μm 微孔滤膜滤过,进样测定,计算得岩黄连碱的平均加样回收率为 105.18%,RSD 分别为 1.33%,表明该方法加样回收率较高。

2.3 包封率、载药量、粒径及 ζ 电位的测定

取 DC-NLCs 混悬液 100 μL 至 5 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度后超声 15 min, 0.22 μm 微孔滤膜滤过,进样测定岩黄连碱总量 (W_2)。另取 DC-NLCs 混悬液 400 μL 至超滤管中 (截留相对分子质量 10 000), 10 000 r/min 离心 (离心半径 7.5 cm) 30 min,取续滤液于 10 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度线,进 HPLC 测定岩黄连碱游离药量 (W_1)。按照文献方法分别计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (W_2 - W_1) / W_2 \quad (1)$$

$$\text{载药量} = (W_2 - W_1) / (W_2 + W_3) \quad (2)$$

W_1 为游离药物的量, W_2 为系统中药物的总量, W_3 为系统中辅料的量

取 DC-NLCs 混悬液 0.4 mL,蒸馏水稀释 35 倍后,置于粒度分析仪中,分别测定粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 及 ζ 电位。

2.4 单因素考察 DC-NLCs 处方及制备工艺

2.4.1 岩黄连碱用量的考察 取处方量的单硬脂酸甘油酯、油酸、卵磷脂、岩黄连碱,在固-液脂质比为 1:8,聚山梨酯-80 用量为 1.0%,水浴温度为 70 ℃ 的条件下,考察岩黄连碱用量对 DC-NLCs 包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表 1。随着岩黄连碱用量的增加,包封率总体呈现减小趋势,

表 1 岩黄连碱用量对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Investigation of dehydrocavidine dosage on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n=3$)

岩黄连碱用量/mg	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
2	87.72 $\pm$ 2.96	1.49 $\pm$ 0.23	172.72 $\pm$ 5.04	0.184 $\pm$ 0.010	-35.82 $\pm$ 5.82
4	82.92 $\pm$ 1.64	2.25 $\pm$ 1.00	198.50 $\pm$ 25.21	0.219 $\pm$ 0.100	-32.30 $\pm$ 6.07
6	82.28 $\pm$ 3.17	3.57 $\pm$ 0.49	202.09 $\pm$ 39.83	0.235 $\pm$ 0.080	-27.93 $\pm$ 9.73
8	83.36 $\pm$ 0.52	5.05 $\pm$ 0.60	177.91 $\pm$ 16.07	0.194 $\pm$ 0.080	-26.80 $\pm$ 5.29
10	82.73 $\pm$ 3.59	4.91 $\pm$ 0.81	185.22 $\pm$ 32.18	0.180 $\pm$ 0.090	-23.53 $\pm$ 5.00
12	83.56 $\pm$ 4.75	6.64 $\pm$ 1.57	158.76 $\pm$ 3.03	0.166 $\pm$ 0.030	-26.88 $\pm$ 9.91

这可能是在固-液脂质用量不变的情况下,其包载药物的能力有限造成的。粒径及 PDI 值均呈现先增加后减小趋势,而载药量呈增加趋势,但 ζ 电位绝对值均大于 20 mV。可见岩黄连碱用量对 DC-NLCs 的指标影响较大,当岩黄连碱用量为 8 mg 时包封率和载药量相对较高,粒径、PDI 和 ζ 电位绝对值大小也相对理想。

2.4.2 固-液脂质比的考察 固定岩黄连碱用量为 2 mg,取单硬脂酸甘油酯 8 mg、油酸 64 mg 和处方量的卵磷脂置于烧杯,聚山梨酯-80 用量为 1.0%,水浴温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,以转速为 850 r/min 磁力搅拌 50 min。考察不同固-液脂质比对 DC-NLCs 包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表 2。当固-液脂质比分别为 1:1、1:4、1:8、4:1、8:1 时,包封率、载药量和 ζ 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

DC-NLCs 的影响较大,当固-液脂质比为 1:8 时各指标相对较好。

2.4.3 卵磷脂用量的考察 固定岩黄连碱用量为 2 mg,取单硬脂酸甘油酯 8 mg、油酸 64 mg 和 25、45、65、85、105、125 mg 的卵磷脂置于烧杯,聚山梨酯-80 用量为 1.0%,水浴温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,以转速为 850 r/min 磁力搅拌 50 min。考察不同卵磷脂用量对 DC-NLCs 包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表 3。当卵磷脂用量逐渐增加时,包封率和载药量先上升后下降。当卵磷脂用量为 65 mg 时,包封率、载药量和 ζ 电位较好。

2.4.4 搅拌时间的考察 固定岩黄连碱用量为 2 mg,取单硬脂酸甘油酯 8 mg、油酸 64 mg 和处方量的卵磷脂置于烧杯,聚山梨酯-80 用量为 1.0%,水浴温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,以转速为 850 r/min,考察搅拌时间为 10、30、50、70 min 对 DC-NLCs 包封率、

表 2 固-液脂质比对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Investigation of solid-liquid lipid ratio on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n=3$)

固-液脂质比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
1:1	78.47 $\pm$ 6.61	1.38 $\pm$ 0.23	846.61 $\pm$ 312.40	0.730 $\pm$ 0.160	-26.70 $\pm$ 4.52
1:4	84.40 $\pm$ 4.24	1.51 $\pm$ 1.00	238.24 $\pm$ 61.29	0.366 $\pm$ 0.070	-28.28 $\pm$ 3.89
1:8	85.58 $\pm$ 2.27	1.45 $\pm$ 0.49	171.72 $\pm$ 10.28	0.172 $\pm$ 0.060	-29.38 $\pm$ 2.72
4:1	68.19 $\pm$ 9.38	1.04 $\pm$ 0.60	1 190.51 $\pm$ 138.60	0.825 $\pm$ 0.020	-25.73 $\pm$ 3.50
8:1	71.08 $\pm$ 3.11	1.29 $\pm$ 0.81	1 183.01 $\pm$ 419.78	0.879 $\pm$ 0.030	-24.54 $\pm$ 6.10

表 3 卵磷脂用量对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 3 Investigation of phosphatidylcholine dosage on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n=3$)

卵磷脂用量/mg	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
25	85.80 $\pm$ 2.95	1.38 $\pm$ 0.23	234.32 $\pm$ 27.81	0.301 $\pm$ 0.030	-31.78 $\pm$ 4.29
45	84.57 $\pm$ 2.57	1.07 $\pm$ 0.08	169.36 $\pm$ 7.74	0.187 $\pm$ 0.010	-28.82 $\pm$ 5.76
65	88.91 $\pm$ 2.10	1.30 $\pm$ 0.28	172.61 $\pm$ 6.72	0.181 $\pm$ 0.010	-27.92 $\pm$ 4.83
85	84.71 $\pm$ 0.76	0.88 $\pm$ 0.10	182.60 $\pm$ 5.57	0.170 $\pm$ 0.040	-30.48 $\pm$ 5.16
105	86.01 $\pm$ 3.56	0.87 $\pm$ 0.24	199.30 $\pm$ 11.71	0.195 $\pm$ 0.030	-29.68 $\pm$ 4.52
125	82.23 $\pm$ 2.45	0.87 $\pm$ 0.33	197.09 $\pm$ 6.27	0.208 $\pm$ 0.050	-26.26 $\pm$ 4.66

载药量、粒径等指标的影响,结果见表 4。当搅拌时间逐渐增加时,载药量先上升后下降的趋势,包封率呈现增大趋势。当搅拌时间为 50 min 时,包封率、载药量和 ζ 电位较好。

2.4.5 水浴温度的考察 固定岩黄连碱用量为 2 mg,取单硬脂酸甘油酯 8 mg、油酸 64 mg 和处方量的卵磷脂置于烧杯,聚山梨酯-80 用量为 1.0%,考察水浴温度为 50、60、65、70、85 $^{\circ}\text{C}$,以转速为 850 r/min 磁力搅拌 50 min。考察不同搅拌温度对 DC-NLCs 包封率、载药量、粒径等指标的影响,结

果见表 5。当水浴温度逐渐增加时,包封率和载药量大致先上升后下降的趋势。当水浴温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 时,包封率、载药量和 ζ 电位较好。

2.4.6 表面活性剂种类的考察 固定岩黄连碱用量为 2 mg,取单硬脂酸甘油酯 8 mg、油酸 64 mg 和处方量的卵磷脂置于烧杯,分别加入 1%聚山梨酯-80、1%泊洛沙姆、1% 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯 HS,以转速为 850 r/min 磁力搅拌 50 min。考察不同表面活性剂对 DC-NLCs 包封率、载药量、粒径等指标的影响,结果见表 6。当表面活性剂为 1%聚山梨酯-80

表 4 搅拌时间对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Investigation of mixing time on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

搅拌时间/min	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
10	67.15 $\pm$ 1.66	1.20 $\pm$ 0.69	135.02 $\pm$ 10.95	0.190 $\pm$ 0.010	-23.16 $\pm$ 12.90
30	79.68 $\pm$ 3.54	1.10 $\pm$ 0.04	167.64 $\pm$ 6.15	0.176 $\pm$ 0.060	-31.57 $\pm$ 1.92
50	85.69 $\pm$ 2.80	1.07 $\pm$ 0.09	161.87 $\pm$ 10.27	0.166 $\pm$ 0.020	-30.20 $\pm$ 3.45
70	88.87 $\pm$ 1.17	0.90 $\pm$ 0.38	177.28 $\pm$ 34.18	0.184 $\pm$ 0.070	-28.91 $\pm$ 6.82

表 5 水浴温度对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Investigation of water bath temperature on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

水浴温度/ $^{\circ}\text{C}$	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
50	71.95 $\pm$ 9.27	0.93 $\pm$ 0.17	134.62 $\pm$ 7.15	0.185 $\pm$ 0.050	-32.78 $\pm$ 2.46
60	74.19 $\pm$ 4.34	0.82 $\pm$ 0.36	166.01 $\pm$ 3.03	0.140 $\pm$ 0.020	-33.14 $\pm$ 1.66
65	87.53 $\pm$ 4.25	1.09 $\pm$ 0.18	178.22 $\pm$ 16.83	0.199 $\pm$ 0.040	-28.67 $\pm$ 3.08
70	88.62 $\pm$ 0.72	1.31 $\pm$ 0.46	184.86 $\pm$ 48.99	0.257 $\pm$ 0.050	-27.30 $\pm$ 3.04
85	87.54 $\pm$ 8.36	1.08 $\pm$ 0.07	191.23 $\pm$ 84.24	0.262 $\pm$ 0.140	-28.05 $\pm$ 17.96

表 6 表面活性剂种类对 DC-NLCs 指标影响的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Investigation of kinds of surfactant on DC-NLCs index ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表面活性剂种类	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
聚山梨酯-80	85.55 $\pm$ 0.03	1.33 $\pm$ 0.02	164.39 $\pm$ 5.27	0.183 $\pm$ 0.050	-33.49 $\pm$ 2.91
泊洛沙姆	67.72 $\pm$ 0.03	0.87 $\pm$ 0.01	159.87 $\pm$ 1.96	0.115 $\pm$ 0.010	-21.59 $\pm$ 1.30
15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯 HS	79.74 $\pm$ 0.03	0.65 $\pm$ 0.02	320.13 $\pm$ 63.35	0.128 $\pm$ 0.010	-34.77 $\pm$ 6.20

时包封率、载药量、粒径、 ζ 电位、PDI 较好。

2.5 Box-Behnken 响应面法优化处方

2.5.1 优化方案设计 包封率、载药量、PDI、 ζ 电位是 NLCs 的重要指标,故选择该 4 个指标进行 Box-Behnken 设计-响应面实验。根据前期单因素考察,发现投药量 (X_1)、固-液脂质比 (X_2) 和卵磷脂用量 (X_3) 对 DC-NLCs 包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2) 和 ζ 电位 (Y_3) 的影响较大,各个因素的水平见表 7。将包封率、载药量和 ζ 电位归一化为 OD (overall desirability) 值^[19],作为 Box-Behnken 响应面设计的响应指标。

2.5.2 模型及方差分析 采用 Design-Expert V 8.0.6 软件以综合指标 OD 值对 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 $Y_1 = 0.47 - 0.30 X_1 - 0.011 X_2 + 0.012 X_3 + 0.14 X_1 X_2 - 0.12 X_1 X_3 + 0.269 X_2 X_3 + 0.022 X_1^2 - 0.086 X_2^2 - 0.095 X_3^2$ ($R^2 = 0.929 0$, $P < 0.000 1$)。

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,差异不具有统计学意义,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,

表 7 Box-Behnken 设计-响应面设计实验因素水平及试验结果

Table 7 Experimental factor level and experimental results of Box-Behnken response surface design

序号	X_1	X_2/mg	X_3/mg	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/mV	OD	序号	X_1	X_2/mg	X_3/mg	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/mV	OD
1	4.06 (0)	105 (+1)	12 (+1)	75.92	5.29	-20.0	0.621 1	10	8.00	105	10	74.61	3.75	-10.4	0.205 0
2	4.06	85 (0)	10 (0)	77.54	4.72	-18.3	0.578 1	11	4.06	65	12	69.84	5.48	-9.7	0.000 0
3	4.06	65 (-1)	8 (-1)	76.75	4.30	-21.3	0.543 2	12	4.06	85	10	77.23	4.39	-9.1	0.239 5
4	4.06	85	10	77.75	5.03	-16.4	0.581 5	13	4.06	85	10	80.33	4.58	-15.1	0.550 9
5	4.06	85	10	73.66	4.59	-17.2	0.414 5	14	8.00	85	12	69.34	4.62	-15.1	0.000 0
6	0.13 (-1)	85	8	82.68	3.97	-18.9	0.560 8	15	4.06	105	8	70.86	3.22	-8.2	0.000 0
7	8.00 (+1)	85	8	77.32	3.39	-13.9	0.229 6	16	8.00	65	10	70.45	4.52	-13.3	0.000 0
8	0.13	65	10	90.10	5.86	-18.5	0.900 6	17	0.13	105	10	85.37	6.05	-10.1	0.528 3
9	0.13	85	12	82.80	6.07	-16.5	0.807 0								

OD 值方差分析见表 8, 其中 X_1 、 X_1X_2 、 X_2X_3 有显著或极显著差异 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

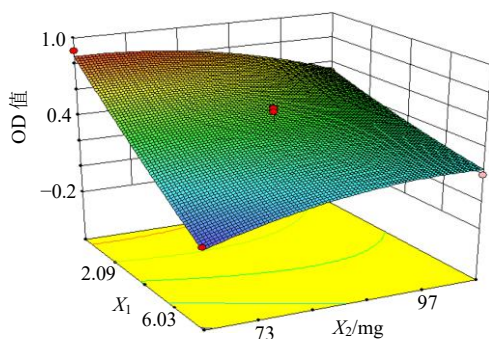
2.5.3 效应面评估与预测 采用 Design Expert V 8.0.6 绘制因变量对自变量的三维曲面图。分别固定投药量 (X_1)、固-液脂质比 (X_2) 和卵磷脂用量 (X_3) 因素中之一, 得到另外 2 个因素的交互作用对综合指标 OD 值影响的结果见图 2。得出 DC-NLCs 最佳处方为投药量为 10.00 mg, 固-液脂质比为 1 : 8, 卵磷脂用量为 65 mg, OD 值为 0.929 0, 模型预测

该处方的包封率为 87.24%, 载药量为 5.53%, ζ 电位 -16.50 mV。按照此处方平行制备 3 批 DC-NLCs, 结果见表 9。测得其包封率为 $(85.29 \pm 0.01)\%$, 载药量为 $(6.27 \pm 0.00)\%$, ζ 电位为 (-17.90 ± 1.09) mV 分别与预测值较为接近, 结果表明该方程预测结果较好。另测得 DC-NLCs 的粒径为 (188.50 ± 11.77) nm, 见图 3, 结果表明 DC-NLCs 的粒径较小; 由图 4 可见, DC-NLCs 和空白 NLCs 溶液有明显的丁达尔效应, 但原料药岩黄连碱溶液则没有,

表 8 方差分析结果

Table 8 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	1.25	9	0.140	10.180	0.002 9	X_1^2	2.024×10^{-3}	1	2.024×10^{-3}	0.150	0.711 9
X_1	0.70	1	0.700	51.000	0.000 2	X_2^2	0.031	1	0.031	2.290	0.173 6
X_2	9.984×10^{-4}	1	9.984×10^{-4}	0.073	0.794 8	X_3^2	0.038	1	0.038	2.810	0.137 8
X_3	1.166×10^{-3}	1	1.166×10^{-3}	0.082	0.783 4	残差	0.096	7	0.014		
X_1X_2	0.083	1	0.083	6.090	0.042 9	失拟项	8.904×10^{-3}	3	2.968×10^{-3}	0.140	0.933 1
X_1X_3	0.057	1	0.057	4.140	0.081 4	纯偏差	0.087	4	0.022		
X_2X_3	0.34	1	0.340	24.780	0.001 6	总离差	1.350	16			

图 2 X_2 、 X_3 对 OD 值的效应面图Fig. 2 Response surface and contour plots of X_2 and X_3 on OD value表 9 DC-NLCs 的包封率、载药量、粒径、 ζ 电位、PDI
Table 9 Encapsulation rate, drug loading, particle size, ζ potential, PDI of DC-NLCs

序号	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV	PDI
1	86.16	6.29	183.8	-17.13	0.174
2	84.01	6.24	186.6	-19.13	0.200
3	85.70	6.28	178.2	-17.37	0.168

进一步表明纳米脂质载体的成功制备; 由图 5 可见, DC-NLCs 的外观形态圆整。

2.6 体外释放

取适量纯化后的 DC-NLCs 至透析袋中扎紧两

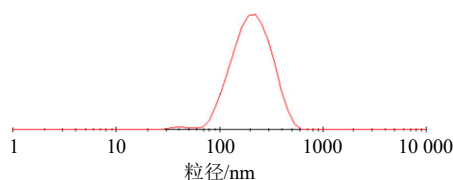


图 3 DC-NLCs 的粒径分布
Fig. 3 Particle size of DC-NLCs

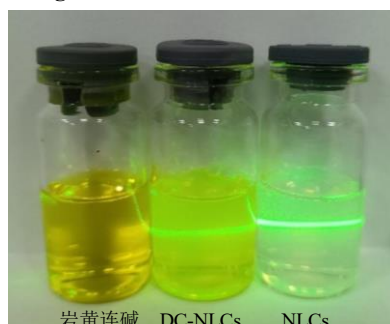


图 4 岩黄连碱、DC-NLCs、空白 NLCs 溶液的外观
Fig. 4 Appearance of dehydrocavidine, DC-NLCs and blank NLCs solution

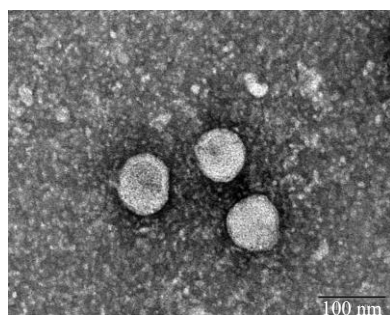


图 5 DC-NLCs 的 TEM 图
Fig. 5 TEM of DC-NLCs

端, 释放介质分别为 30 mL 的 pH 值为 5.0、6.8、7.4 的磷酸盐缓冲液, 温度和转速分别为 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 和 100 r/min。分别在 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、24.0、48.0 h 分别取样 1 mL, 并分别补液 1 mL。各样品均过 0.22 μm 微孔滤膜, 进 HPLC 测定, 结果见图 6。可见, 岩黄连碱原料药在 2.0 h 内释药较快, 累积释放率为 97.52%, 基本释放完全。而 DC-NLCs 在前 3 h 释放相比较快, 在 4.0~48.0 h 则表现出明显的缓释作用。

2.7 DC-NLCs 的质量评价

2.7.1 FT-IR 分析 分别取适量纯化的 DC-NLCs 冻干粉 (所有样品纯化后均使用冷冻干燥机进行冻干成粉末)、空白 NLCs 冻干粉、岩黄连碱原料药、空白 NLCs 冻干粉和岩黄连碱原料药置于研钵中, 加入适量溴化钾研磨均匀后倒入模具中压片。压片完毕后分别进行 FT-IR 测定, 结果见图 7。岩黄连

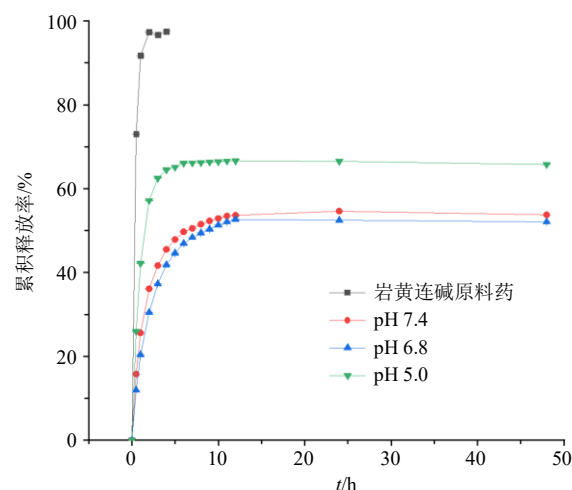


图 6 DC-NLCs 和岩黄连碱在不同溶液中的累积释放率
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Cumulative release rate of DC-NLCs and dehydrocavidine in different solutions ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

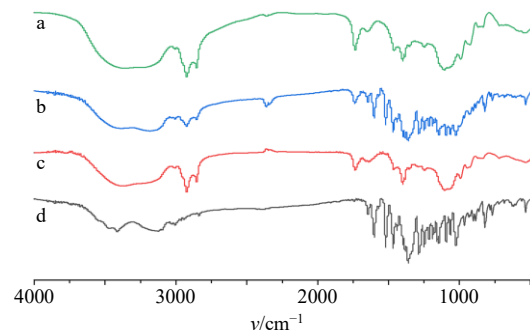


图 7 空白 NLCs (a)、岩黄连碱+空白 NLCs (b)、DC-NLCs (c)、岩黄连碱 (d) 的 FT-IR 图谱

Fig. 7 FT-IR pattern of blank NLCs (a), dehydrocavidine + blank NLCs (b), DC-NLCs (c), dehydrocavidine (d)

碱、岩黄连碱原料药和空白 NLCs 冻干粉的物理混合物在 1650 cm^{-1} 都有 C-N 的特征吸收峰, 而空白 NLCs、DC-NLCs 在 1650 cm^{-1} 没有 IR 吸收, $2700 \sim 3100\text{ cm}^{-1}$ 是甲基、亚甲基及次甲基的伸缩振动, $1650 \sim 1750\text{ cm}^{-1}$ 是羰基的特征吸收。结果表明, DC-NLCs 成功制备。

2.7.2 差示扫描量热 (DSC) 分析 分别称取适量岩黄连碱原料药、空白 NLCs 冻干粉、DC-NLCs 冻干粉、DC-NLCs 冻干粉和岩黄连碱原料物理混合物置于铝制样品盘中压制后, 在 DSC 的样品室中, 以空铝钵为参比进行测试。设置仪器参数为加热速率 $10^\circ\text{C}/\text{min}$, 扫描范围 $30 \sim 300^\circ\text{C}$, 结果见图 8。DC-NLCs 和空白 NLCs 在 175°C 中有明显的放热峰, 而没有出现岩黄连碱在 275°C 的吸热峰, 这表明 DC-NLCs 成功制备。

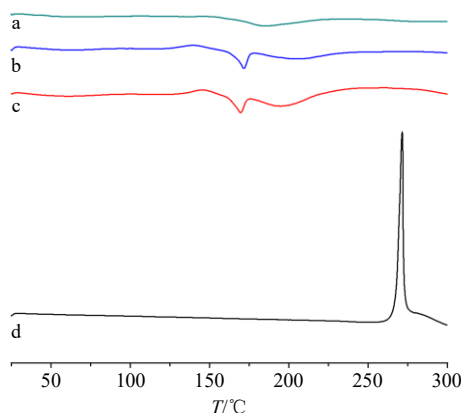


图 8 岩黄连碱+空白 NLCs (a)、空白 NLCs (b)、DC-NLCs (c)、岩黄连碱 (d) 的 DSC 图

Fig. 8 DSC pattern of dehydrocavidine + blank NLCs (a), blank NLCs (b), DC-NLCs (c) and dehydrocavidine (d)

2.7.3 X 射线衍射 (XRD) 分析 分别称取适量岩黄连碱原料药、空白 NLCs 冻干粉、DC-NLCs 冻干粉、DC-NLCs 冻干粉和岩黄连碱原料药物理混合物, 将样品粉末制成平整的试片, 进行 XRD 测定。测定条件: Ni-滤液器, Cu-K α 射线, 辐射波长为 0.154 056 nm, 扫描范围 $5^{\circ}\sim 45^{\circ}$, 扫描速度 $5^{\circ}/\text{min}$ 、采样时间 1 s, 步长 0.05° 进行扫描, 分别绘制 XRD 图, 结果见图 9。岩黄连碱自身有很多衍射峰, 而制备成 DC-NLCs 后, 所有的衍射峰都减弱了, 且与空白 NLCs 具有相同的衍射的情况; 由岩黄连碱与+空白 NLCs 冻干粉的物理混合物比较可见, 在相同位置中都出现了相同的衍射峰。结果表明, DC-NLCs 制备成功。

2.8 DC-NLCs 对肝纤维化细胞体外药效研究

2.8.1 MTT 实验检测细胞增殖抑制活性 将 LX-2

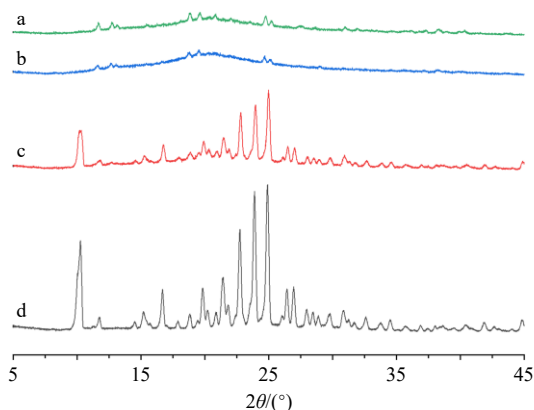


图 9 空白 NLCs (a)、DC-NLCs (b)、岩黄连碱+空白 NLCs (c)、岩黄连碱 (d) 的 XRD 图

Fig. 9 XRD pattern of blank NLCs (a), DC-NLCs (b), dehydrocavidine + blank NLCs (c), dehydrocavidine (d)

细胞接种于 96 孔板内, 并使每孔含有细胞悬液 100 μL 。将 96 孔板放入细胞培养箱内培养 24 h, 至细胞单层平铺孔底, 弃去原培养基。再加入 100 μL 制备好 5 ng/mL 的 TGF- β 1 继续刺激 24 h 后, 弃去培养基, 分别加入质量浓度为 1.2、2.4、4.8、9.6、19.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的岩黄连碱或 DC-NLCs, 选取未加入药物作为对照组, 每组设 3 个复孔。置于条件为 37°C 、5% CO_2 培养箱内培养 24 h, 结果见图 10 和表 10。由图 10 可见, 未活化的 LX-2 细胞成梭形, 经过 TGF- β 1 活化后, 明显出现星状化; 表 10 结果表明, 与岩黄连碱相比, DC-NLCs 在 1.2、2.4、4.8、9.6、19.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 对 LX-2 细胞的抑制率具有显著性差异 ($P<0.01$), 且 4.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 DC-NLCs 在 24 h 后对细胞的抑制率达到 50.57%。

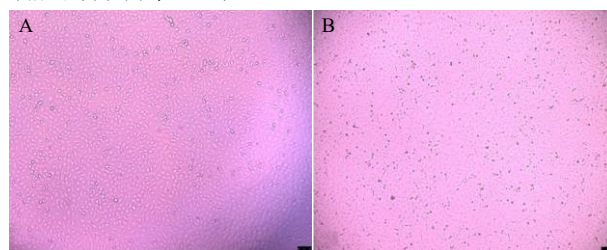


图 10 未活化 (A) 和活化 (B) 的 LX-2 细胞

Fig. 10 Unactivated (A) and activated (B) LX-2 cells

表 10 岩黄连碱和 DC-NLCs 对 LX-2 细胞的抑制率

Table 10 Inhibitory rate of dehydrocavidine and DC-NLCs on LX-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	抑制率/%	
	岩黄连碱	DC-NLCs
1.2	—	$12.37 \pm 2.96^{**}$
2.4	—	$21.63 \pm 6.50^{**}$
4.8	4.09 ± 1.62	$50.57 \pm 5.15^{**}$
9.6	—	$75.66 \pm 5.24^{**}$
19.2	—	$82.13 \pm 0.79^{**}$

与岩黄连碱组比较: $^{**}P<0.01$

$^{**}P<0.01$ vs dehydrocavidine group

2.8.2 划痕实验检测细胞迁移能力 将 30%~40% 密度的 LX-2 细胞接种于 96 孔细胞培养板中, 每个样品 3 个复孔, 每孔 100 μL 完全培养基细胞培养箱内静置培养。再加入 100 μL 制备好 5 ng/mL TGF- β 1 继续刺激 24 h 后, 弃去培养基 24 h 后, 用 10 μL 无菌枪头在每孔培养板底划线条粗细均匀的竖线后, 吸去培养基, 200 μL PBS 洗 2 次, 再加入 100 μL 质量浓度为 4.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的岩黄连碱或 DC-NLCs。在倒置显微镜下拍照, 拍照结束后, 置于培养箱, 继

续培养 48 h 后, 继续拍照。计算迁移率, 结果见图 11 和表 11。结果表明, DC-NLCs 可明显抑制 LX-2 细胞的迁移。

迁移率 = (0 h 划痕宽度 - 48 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度

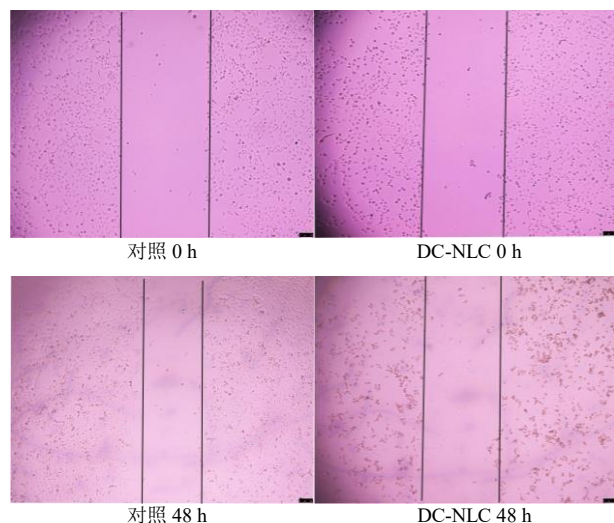


图 11 DC-NLCs 对 LX-2 细胞的迁移影响

Fig. 11 Migration impact of DC-NLCs on LX-2 cells

表 11 DC-NLCs 对 LX-2 细胞的迁移率

Table 11 Migration rate of DC-NLCs on LX-2 cells

组别	质量浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	迁移率/%
岩黄连碱	4.8	27.28
DC-NLCs	4.8	0.17

3 讨论

岩黄连碱作为一种具有药理活性的季铵碱化合物, 越来越多研究表明岩黄连碱具有较好的肝纤维化治疗潜力。然而岩黄连碱的水溶性差、半衰期短、生物利用度低等缺点严重限制了其临床应用。NLCs 是将固体脂质与液体脂质混合, 并加入含有表面活性剂或表面活性剂混合物的水相, 以形成与药物结合的二代脂质纳米颗粒^[20]。由于固体和液体脂类的分子大小和构象形状不同, 使载药基质不能形成完美晶格, 产生了空隙。这增加了溶解性、渗透性、降低了代谢、p-糖蛋白外排, 从而增加了溶性差药物的生物利用度^[21]。因此, 在本研究中, 利用单因素考察结合 Box-Behnken 设计-效应面法成功优化了 DC-NLCs 处方, 并评估了其在提高药物成药性能以及对体外细胞药效作用的影响。

在确定处方选用液态脂质油酸, 固态脂质单硬脂酸甘油酯的前期, 分别固定液态和固态脂质, 以包封率、粒径等为评价指标进行了大量的处方筛选。结果发现, 单硬脂酸甘油酯和油酸制得的纳米结构

脂质载体包封率相对较高, 且粒径相对较小。因此, 处方辅料选用单硬脂酸甘油酯和油酸。同时, 研究油酸总量对 DC-NLCs 中药物包封效率的影响。结果表明, DC-NLCs 包封率从 69.32% 增加到 86.75%, 油酸质量从 20 mg 增加到 100 mg。这可能是由于液体脂质掺入固体脂质, 导致了大量的晶体顺序干扰, 晶格中较大的缺陷留下了足够空间来容纳药物分子, 这最终提高了载药能力和包封率^[22]。在含有 100 mg 的油酸配方中, 包封率最高, 但粒径、PDI 较大, 因此, 综合各因素处方选用油酸为 64 mg 的配比。单因素中考察了不同表面活性剂对包封率、载药量、粒径、 ζ 电位、PDI 的影响, 发现聚山梨酯-80 所制备得到的 DC-NLCs 载药量、包封率更高, 可能由于聚山梨酯-80 增溶及乳化效果更好, 因此选用聚山梨酯-80 作为表面活性剂。由于聚山梨酯-80 的用量过大, 会对红细胞造成溶血现象^[23], 对后续的大鼠尾静脉注射实验造成影响, 故选用 1% 聚山梨酯-80 进行单因素实验。

有研究发现, 肿瘤环境中由于癌细胞的有氧糖酵解增加导致癌细胞外 pH 值 6.5~7.2 低于正常组织^[24], DC-NLCs 在释放度实验中, 药物在 pH 值 5.0 中释放最快, 在 pH 值 6.8 中释放最慢。这可能表明 DC-NLCs 在肿瘤环境中更适合缓慢释放从而达到长效作用。此外, 有文献报道^[25], 加入冻干保护剂形成的 NLCs 呈无定型状态, 而不含冻干保护剂的 NLCs 冻干后有一定的结晶结构存在。在进行 DSC 实验中, 空白 NLCs、DC-NLCs 只出现 1 个较弱的放热峰, 而岩黄连碱出现了 1 个较强的吸热峰, 可能是冷冻干燥时加入少量的蔗糖造成的。此外, 岩黄连碱与空白 NLCs 的物理混合物没有呈现任何的放热、吸热峰, 有可能是物理混合物加大了两者的不定型状态造成的。

本研究所制备的 DC-NLCs 大小在 150~200 nm, 适合细胞摄取。在体外药效研究发现, DC-NLCs 对 LX-2 细胞在 24、48 h 都具有明显的抑制作用, 且与游离岩黄连碱抑制率的比较具有显著性差异 ($P < 0.01$), 这表明 DC-NLCs 对肝纤维化疾病治疗有巨大的应用前景。这些结果与纳米结构脂质载体在给药方面的优势相一致^[19,26]。考虑到肿瘤组织和肿瘤微环境之间的联系, 需要通过更准确和有效的药物传递来解决日益增长的癌症负担。在过去的 20 年里, 纳米技术在癌症的诊断和靶向治疗领域中做出了巨大贡献^[27]。然而, 纳米技术药物传递相关的

效率和毒性问题仍需要解决^[28]。因此, 后续研究将进行 DC-NLCs 的体内药效学、药动力学评价, 并进一步完善质量表征, 为 DC-NLCs 的开发应用提供更为全面的研究资料。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张晓, 李保宏, 张永康, 等. 岩黄连的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2861-2871.
- [2] 金书屹, 李红婷, 汪万利, 等. 紫堇属岩黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(5): 1545-1552.
- [3] 陈萍, 鞠霖杰, 成俊, 等. 岩黄连总碱对代谢相关脂肪性肝病小鼠的治疗作用及分子机制研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(3): 468-477.
- [4] 广西科学院广西植物研究所. 广西植物志 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1991: 410.
- [5] Wang T, Sun N L, Zhang W D, *et al.* Protective effects of dehydrocavidine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(2): 300-308.
- [6] 石永辉, 黄光业, 薛照芸, 等. 脱氢卡维丁对 H₂O₂ 处理成骨前体细胞 MC3T3-E1 增殖及凋亡的影响 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 457-463.
- [7] Fu P, Zhang Q, Yi D Y, *et al.* Dehydrocavidine attenuates d-galactose induced learning and memory impairment in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2018, 665: 200-205.
- [8] 黄雪梅, 黄兴振, 刘雪萍, 等. 岩黄连片质量标准研究 [J]. 中国药房, 2007, 18(12): 916-918.
- [9] 诸葛明丽, 华慧亮, 黄兴振, 等. 岩黄连直肠栓质量标准研究 [J]. 中国药业, 2013, 22(12): 87-89.
- [10] 戴国梁, 欧阳冰琛, 王一清, 等. 岩黄连总碱胶囊在健康受试者体内的药动力学研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(7): 702-706.
- [11] 薛斐倩, 王绩英. 脱氢卡维丁的药理作用及其相关机制研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(95): 58-60.
- [12] 何志超, 王冬梅, 李国成, 等. 岩黄连生物碱类成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1526-1531.
- [13] Patel D, Dasgupta S, Dey S, *et al.* Nanostructured lipid carriers (NLC)-Based gel for the topical delivery of aceclofenac: Preparation, characterization, and *in vivo* evaluation [J]. *Sci Pharm*, 2012, 80(3): 749-764.
- [14] Mishra N, Yadav N P, Rai V K, *et al.* Efficient hepatic delivery of drugs: Novel strategies and their significance [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 382184.
- [15] 周剑雄, 吴送姑, 龚俊波, 等. 小檗碱的药理活性以及提升其口服生物利用度的策略 [J]. 药学报, 2022, 57(5): 1263-1272.
- [16] 董丹丹, 焦红军, 郝海军, 等. 吴茱萸碱纳米结构脂质载体处方优化和 SD 大鼠体内口服药动力学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 60-70.
- [17] 尹元元, 耿燕娜, 范明松. Box-Behnken 设计-效应面法优化延胡索乙素聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒处方和体外释药行为研究 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6806-6815.
- [18] 杨金枝, 赵兴业, 周开, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优化根皮素纳米结构脂质载体处方研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(20): 2076-2081.
- [19] 麦琬婷, 钟华帅, 苏晓丹, 等. Box-Behnken 响应面优化蛇葡萄素纳米结构脂质载体处方工艺及体外评价 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 4982-4991.
- [20] Patel P, Patel M. Nanostructured lipid carriers-A versatile carrier for oral delivery of lipophilic drugs [J]. *Recent Pat Nanotechnol*, 2021, 15(2): 154-164.
- [21] Harde H, Das M, Jain S. Solid lipid nanoparticles: An oral bioavailability enhancer vehicle [J]. *Expert Opin Drug Del*, 2011, 8(11): 1407-1424.
- [22] Patel D, Dasgupta S, Dey S, *et al.* Nanostructured lipid carriers (NLC)-Based gel for the topical delivery of aceclofenac: Preparation, characterization, and *in vivo* evaluation [J]. *Sci Pharm*, 2012, 80(3): 749-764.
- [23] 魏寒梅. Angiopep-2 修饰吐温 80 包裹环维黄杨星 D 脂质体的制备及评价 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [24] Guo X, Shi C L, Wang J, *et al.* pH-triggered intracellular release from actively targeting polymer micelles [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(18): 4544-4554.
- [25] Hisaka T, Sakai H, Sato T, *et al.* Quercetin suppresses proliferation of liver cancer cell lines *in vitro* [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(8): 4695-4700.
- [26] Yin J, Hou Y, Yin Y, *et al.* Selenium-coated nanostructured lipid carriers used for oral delivery of berberine to accomplish a synergic hypoglycemic effect [J]. *Int J Nanomed*, 2017, 12: 8671-8680.
- [27] 杨冰, 陆洋, 杜守颖, 等. 基于“鼻-脑”通路细胞模型组探索相对分子质量及粒径因素对药物制剂经鼻入脑的影响 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5748-5753.
- [28] Ashdaq U A, Riaz M, Yasmeen E, *et al.* Recent advances in nanoparticle-based targeted drug-delivery systems against cancer and role of tumor microenvironment [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2017, 34(4): 317-53.

[责任编辑 郑礼胜]