

橘红素 2 种脂质纳米粒的制备、表征和口服吸收生物利用度评价

李伟宏¹, 高娟¹, 王风云^{1*}, 郑岩²

1. 河南应用技术职业学院, 河南 郑州 450042

2. 上海医药工业研究院, 上海 201203

摘要: 目的 制备橘红素纳米结构脂质载体 (tangeretin nanostructured lipid carriers, Tan-NLCs) 和橘红素固体脂质纳米粒 (tangeretin solid lipid nanoparticles, Tan-SLNs), 考察相对口服吸收生物利用度。方法 采用包封率、载药量和粒径为指标, 单因素结合 Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 Tan-NLCs 处方, 并制备 Tan-SLNs。透射电子显微镜观察 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 外貌形态, 考察在 pH 2.0 和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的释药情况。X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD) 法和示差量热扫描 (differential scanning calorimetry, DSC) 法对晶型进行分析, 并考察 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 冻干粉的稳定性。以橘红素原料药为参考, 比较 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 口服药动学行为。结果 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 平均包封率分别为 (85.13±1.01)% 和 (73.07±1.38)%, 载药量分别为 (5.43±0.19)% 和 (4.11±0.22)%, 粒径分别为 (184.77±8.63) nm 和 (226.09±10.25) nm。Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 呈椭圆形或球形, 橘红素在 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 冻干粉中可能以无定型形式存在, 其释药速率和累积释放率明显提高。Tan-NLCs 冻干粉稳定性高于 Tan-SLNs 冻干粉。口服药动学结果显示, Tan-SLNs 冻干粉 C_{max} 和相对口服吸收生物利用度分别提高至 2.01 倍和 3.10 倍; Tan-NLCs 冻干粉 C_{max} 和相对口服吸收生物利用度分别提高至 2.83 倍和 4.59 倍。结论 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 均可促进橘红素口服吸收, 但 Tan-NLCs 冻干粉稳定性更高, 促吸收作用更大。

关键词: 橘红素; 纳米结构脂质载体; 固体脂质纳米粒; Box-Behnken 设计-效应面法; 药物释放; 药动学; 口服生物利用度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)24-8031-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.24.008

Two kinds of tangeretin lipid-based nanoparticles: Preparation, characterization and oral bioavailability evaluation

LI Wei-hong¹, GAO Juan¹, WANG Feng-yun¹, ZHENG Yan²

1. Henan Vocational College of Applied Technology, Zhengzhou 450042, China

2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To prepare tangeretin nanostructured lipid carriers (Tan-NLCs) and tangeretin solid lipid nanoparticles (Tan-SLNs), and investigate the oral relative bioavailability. **Methods** Encapsulation efficiency, drug loading and particle size were employed as indexes, single factor experiments combined with Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM) was used to gain optimal prescriptions of Tan-NLCs, and Tan-SLNs were also prepared. Morphology of Tan-NLCs and Tan-SLNs were observed by transmission electron microscopy (TEM), and the drug release was investigated in pH 2.0 and pH 6.8 phosphate buffer (PBS). Crystal forms were studied by X-ray powder diffraction (XRPD) and differential scanning calorimetry (DSC). The stability of Tan-NLCs and Tan-SLNs lyophilized powders were investigated. Using tangeretin as a control, oral pharmacokinetics behavior of Tan-NLCs and Tan-SLNs *in vivo* was compared. **Results** Encapsulation efficiencies of Tan-NLCs and Tan-SLNs were (85.13 ± 1.01)% and (73.07 ± 1.38)%, drug loading efficiencies were (5.43 ± 0.19)% and (4.11 ± 0.22)%, particle sizes were (184.77 ± 8.63) nm and (226.09 ± 10.25) nm, respectively. Tan-NLCs and Tan-SLNs are elliptical or spherical. The state of tangeretin might change into an amorphous state in Tan-NLCs and Tan-SLNs lyophilized powders, release rate and cumulative release rate of tangeretin were obviously

收稿日期: 2023-05-19

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目计划 (23B320013); 河南应用技术职业学院骨干教师 (2020-GGJS-Y008); 妇科肿瘤科研创新团队 (2021-TD-02); 河南应用技术职业学院 2023 年度校级课题 (2023-KJ-54)

作者简介: 李伟宏 (1980—), 女, 硕士, 副教授, 从事临床药学研究。Tel: (0371)67673862 E-mail: liweihong5168@126.com

*通信作者: 王风云 (1973—), 女, 硕士, 教授, 从事临床药学及妇科肿瘤研究。Tel: (0371)67673862 E-mail: wangfengyun1973@126.com

increased. The stability of Tan-NLCs lyophilized powder was higher than that of Tan-SLNs lyophilized powder. Results of oral pharmacokinetics showed that C_{max} and relative oral bioavailability of Tan-SLNs lyophilized powder were increased to 2.01 and 3.10 times, respectively. C_{max} and relative oral bioavailability of Tan-NLCs lyophilized powder were increased to 2.83 and 4.59 times, respectively. **Conclusion** Tan-NLCs and Tan-SLNs can promote oral absorption of tangeretin, but Tan-NLCs lyophilized powder has higher stability and greater absorption.

Key words: tangeretin, nanostructured lipid carriers, solid lipid nanoparticles, Box-Behnken response-surface design method, drug release, pharmacokinetics, oral bioavailability

橘红素又称桔皮素,属于甲氧基黄酮类化合物,主要存在于柑橘属植物中^[1],具有抗肿瘤、抑制哮喘、抗炎、保护神经、抑制肝肾损伤等活性^[2]。橘红素通过抑制 Ras/MEK/ERK 信号通路蛋白表达^[3],可有效抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖与侵袭,并诱导其凋亡。橘红素通过抑制 DMBA 诱导的乳腺癌大鼠氧化应激反应^[4],从而对乳腺癌具有明显疗效,可作为治疗乳腺癌候选药物之一,因此橘红素在妇科肿瘤方面具有一定开发价值。橘红素口服剂量达 3000 mg/kg 时,14 d 后仍未观察到毒性反应^[5],可见该成分毒性极小,安全性较高。据报道^[6],橘红素油水分配系数 (lgP) 为 3.5,属于生物药剂学分类系统中 II 类药物。课题组测得橘红素在 25 °C 水中溶解度为 (23.25±0.09) μg/mL,极低的溶解度导致溶出速率及溶出度极差,且胃肠道稳定性差^[7],容易发生降解,导致口服绝对生物利用度仅为 6.02%^[8]。目前,仅见桔皮素自微乳^[9]纳米制剂报道,但该制剂中表面活性剂及助表面活性剂用量较高,存在安全隐患,且处方组成复杂。

脂质纳米粒 (lipid-based nanoparticles) 在提高难溶性药物生物利用度、改善药效等方面获得医药研究者的广泛认可,且生物相容性高,是难溶性药物纳米制剂的优良载体^[10]。固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticles, SLNs) 是采用合成或天然的固态脂质为载体材料,将难溶性药物包裹或分散于其中而制成的一种脂质纳米粒^[11-15],是研究相对较早的一种纳米制剂。纳米结构脂质载体 (nanostructured lipid carriers, NLCs) 系经 SLNs 改良而来,通过在载体中引入液态脂质而制备的一种脂质纳米粒^[16-19],属于第 2 代脂质纳米粒。为解决橘红素生物利用度低下问题,比较 SLNs 和 NLCs 在储存稳定性、促吸收作用等方面优劣,本研究在单因素考察的基础上采用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化橘红素纳米结构脂质载体 (tangeretin nanostructured lipid carriers, Tan-NLCs) 处方工艺,并制备橘红素

固体脂质纳米粒 (tangeretin solid lipid nanoparticles, Tan-SLNs),比较 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 理化性质、体外释药、储存稳定性和口服药动学行为等,为中药难溶性成分脂质纳米粒的选择提供依据,也为橘红素纳米制剂研发提供研究资料。

1 仪器、材料与动物

Master-Sizer 3000 型粒度分析仪,英国马尔文公司; Quintix125D-1CN 型电子分析天平,赛多利斯科学仪器北京有限公司; 1200 型高效液相色谱仪 (HPLC), DAD 检测器,美国 Agilent 公司; TMX-22R 型高速离心机,美国 Beckman 公司; CJB-S-10D 型实验室数显恒温磁力搅拌器,郑州特尔仪器设备有限公司; KQ-5200DE 型超声仪,上海科晓科学仪器有限公司; RC-8DS 型溶出试验仪,天津市国铭医药设备有限公司; JEM-2100Plus 型透射电子显微镜 (TEM),日本电子株式会社; OLB-WD1000 型氮吹仪,欧莱博科学仪器有限公司; DSC214 Polyma 型差示扫描量热仪,德国耐驰仪器公司; D8 Advance 型 X 射线粉末衍射仪,意大利布鲁克仪器公司。

橘红素原料药,批号 20210308,质量分数 97.0%,南京广润生物制品有限公司;橘红素对照品,批号 201105,质量分数 98.8%,大连美仑生物技术有限公司;反式-1,2-二苯乙烯对照品,批号 20211208,上海博飞美科化学科技有限公司;单硬脂酸甘油酯 (批号 20201014)、乳糖 (批号 20201011),西安天正药用辅料有限公司;油酸 (批号 20210120)、泊洛沙姆 188 (批号 20201319),山西锦洋药用辅料有限公司。

18 只健康 SD 大鼠,清洁级,雌雄兼用,体质量 180~220 g,购自河南省动物实验中心,合格证编号为 SCXK (豫) 2020-0001。所有动物实验遵循河南应用技术职业学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 Tan-NLCs 及 Tan-SLNs 的制备

高压均质法制备 Tan-NLCs。精密称取橘红素 20

mg、处方量的单硬脂酸甘油酯及油酸，置于圆底烧瓶中，加入 20 mL 无水乙醇，置于 70 °C 水浴中加热磁力搅拌（850 r/min）至溶解澄清，作为有机相。取一定质量分数泊洛沙姆 188 水溶液 50 mL 置于 70 °C 水浴中，磁力搅拌（850 r/min）至溶解澄清，作为水相。将有机相逐滴加至水相中，磁力搅拌（850 r/min）30 min，立即进行高压均质。置于-10 °C 冰箱中固化 10 min，过 0.45 μm 水性微孔滤膜，收集续滤液并补加蒸馏水至 50 mL，即得 Tan-NLCs 混悬液。除不加液态脂质油酸外，同法制备 Tan-SLNs。

2.2 HPLC 法测定橘红素含量

2.2.1 测定条件 色谱柱为 Waters C₁₈ 柱（250 mm×4.6 mm, 5 μm）；波长为 374 nm；柱温为 35 °C；流动相为甲醇-水（50：50）；进样量为 10 μL；体积流量为 1.0 mL/min。

2.2.2 线性关系考察 精密称取 20.0 mg 橘红素对照品转移至 100 mL 量瓶中，加入甲醇 80 mL 超声 30 s 溶解，放置 10 min 后甲醇稀释定容，得质量浓度为 200 μg/mL 橘红素对照品储备液。采用流动相稀释成质量浓度为 10.00、5.00、2.50、1.00、0.50、0.05 μg/mL 系列橘红素对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件测定各个质量浓度（*X*）的峰面积（*Y*），以峰面积对质量浓度进行线性回归，得标准曲线回归方程 $Y=16.8004X+0.1520$ ， $r=0.9999$ ，结果表明橘红素在 0.05~10.00 μg/mL 存在良好的线性关系。

2.2.3 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 供试品溶液的制备 精密取 Tan-NLCs 混悬液 1 mL 至 50 mL 量瓶中，加入甲醇 40 mL 超声 5 min（工作 2 s，间隔 1 s，功率为 250 W），甲醇稀释定容。采用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，精密取续滤液 5 mL 至 10 mL 量瓶中，加入流动相稀释定容，摇匀即得 Tan-NLCs 供试品溶液。同法制备 Tan-SLNs 供试品溶液。

2.2.4 专属性考察 取单硬脂酸甘油酯、油酸等辅料按“2.1”项下方法制备空白样品（不含橘红素），按“2.2.3”项下方法制备空白样品溶液。取空白样品溶液、橘红素对照品溶液、Tan-NLCs 供试品溶液和 Tan-SLNs 供试品溶液分别进样分析，色谱图见图 1。表明辅料未干扰橘红素色谱峰，专属性良好，理论塔板数以橘红素计不低于 6500。

2.2.5 精密度考察 分别取同 1 份 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 供试品溶液，各 6 份，分别按“2.2.1”项下色谱条件测定橘红素峰面积，计算得橘红素峰面积的 RSD 分别为 1.50% 和 1.82%，表明精密度良好。

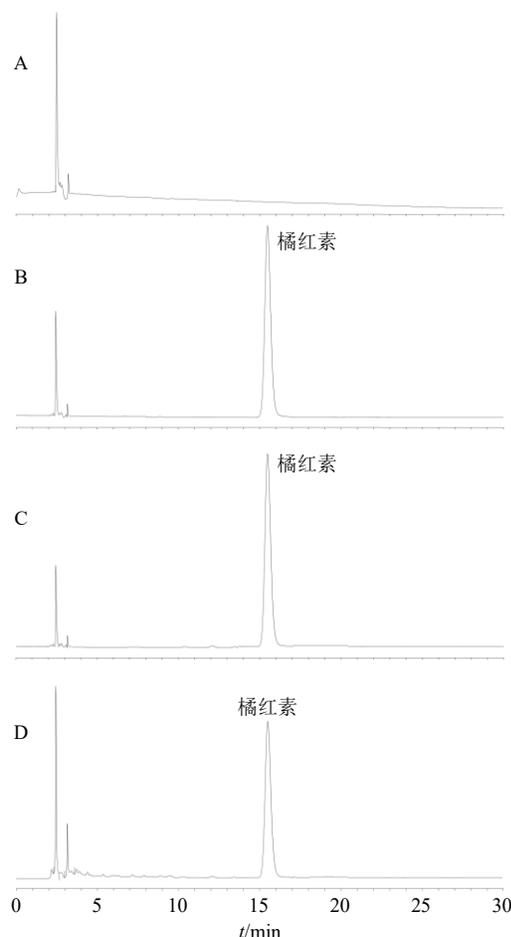


图 1 空白辅料 (A)、橘红素对照品 (B)、Tan-NLCs 样品 (C) 和 Tan-SLNs 样品 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank excipients (A), tangeretin reference substance (B), Tan-NLCs sample (C) and Tan-SLNs sample (D)

2.2.6 重复性考察 取同 1 份 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 样品，按“2.2.3”项下方法分别平行制备 6 份 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 供试品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件测定，计算得橘红素质量浓度的 RSD 分别为 1.04% 和 0.86%，结果表明重复性良好。

2.2.7 稳定性考察 取 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 测定橘红素含量，计算得橘红素峰面积的 RSD 分别为 0.68% 和 1.13%，结果表明 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 供试品溶液稳定性良好。

2.2.8 准确度考察 精密取 Tan-NLCs 样品 0.5 mL 置于 50 mL 量瓶中，共 9 份，分为低、中、高 3 组，每组各 3 份。分别加入橘红素对照品储备液（质量浓度为 200 μg/mL）0.5 mL（低）、1.0 mL（中）和 1.5 mL（高），按“2.2.3”项下方法处理并进样测定橘红素含量，计算得橘红素的平均加样回收率为 100.12%，RSD 为 1.53%。

Tan-SLNs 样品同法操作, 测得计算得平均加样回收率为 99.17%, RSD 为 0.96%, 实验结果表明准确度较高。

2.3 质量指标的测定

精密取 Tan-NLCs 混悬液 1 mL, 置于超滤管中 (截留相对分子质量为 8000~12 000), 12 000 r/min 离心 (离心机温度为 4 °C, 半径为 6.4 cm) 20 min, 取外管液测定游离橘红素质量 ($m_{\text{游离}}$)。另精密取 Tan-NLCs 混悬液 1 mL, 按“2.2.3”项下方法操作, 测定橘红素总量 ($m_{\text{总}}$), 计算 Tan-NLCs 的包封率和载药量。Tan-SLNs 包封率和载药量同法测定。

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

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

m 代表药物总量和脂质载体总量

取 Tan-NLCs 混悬液, 蒸馏水稀释至 50 倍, 摇匀, 取适量于粒度分析仪上测定粒径及 ζ 电位。Tan-SLNs 粒径及 ζ 电位同法测定。

2.4 Tan-NLCs 处方工艺单因素考察

2.4.1 脂药比的考察 固定桔皮素 20 mg, 脂质载体为单硬脂酸甘油酯和油酸, 固液脂质比为 4 : 1, 泊洛沙姆 188 质量分数为 1.00%, 均质压力为 70 MPa, 均质次数为 8 次的条件下考察脂药比对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径的影响。结果见表 1, Tan-NLCs 包封率随着脂药比的增加而增加, 载药量随着脂药比的增加呈逐渐下降趋势, 可见脂质载体对药物的包载能力是有限的^[16], 脂质用量过多时会影响 Tan-NLCs 载药量。粒径随着脂药比的增加总体呈增加趋势, 可能是由于脂质用量过多时体系黏度较大, 导致形成粒径变大。因此脂药比对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径影响较大, 需继续进行优化。

2.4.2 固液脂质比的考察 固定桔皮素 20 mg, 脂药比为 15 : 1, 泊洛沙姆 188 质量分数为 1.00%, 均质压力为 70 MPa, 均质次数为 8 次的条件下考察固

表 1 脂药比的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

脂药比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
5 : 1	43.62 ± 1.12	6.72 ± 0.14	191.55 ± 13.44
10 : 1	58.71 ± 1.62	5.43 ± 0.19	202.78 ± 10.89
15 : 1	78.99 ± 0.97	4.94 ± 0.22	190.23 ± 9.62
20 : 1	81.12 ± 1.05	3.75 ± 0.15	226.89 ± 10.11
25 : 1	81.77 ± 1.32	3.14 ± 0.16	244.40 ± 10.68

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
2 : 1	34.75 ± 0.89	2.11 ± 0.21	201.17 ± 8.47
3 : 1	58.62 ± 1.07	3.64 ± 0.19	206.50 ± 10.26
4 : 1	77.84 ± 1.48	4.82 ± 0.23	193.36 ± 9.11
5 : 1	74.23 ± 1.52	4.56 ± 0.18	191.48 ± 8.97
6 : 1	71.90 ± 1.14	4.30 ± 0.20	204.92 ± 9.25

液脂质比对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径的影响。结果见表 2, 不同固液脂质比制得的 Tan-NLCs 粒径在 190~210 nm。Tan-NLCs 的包封率和载药量均随着固液脂质比增加呈先增加后下降情况, 表明固液脂质比对 Tan-NLCs 的包载药物能力有较大影响^[20], 因此需对固液脂质比进行优化。

2.4.3 泊洛沙姆 188 质量分数考察 固定桔皮素 20 mg, 脂药比为 15 : 1, 固液脂质比为 4 : 1, 均质压力为 70 MPa, 均质次数为 8 次条件下考察泊洛沙姆 188 质量分数对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径的影响。结果见表 3, 随着泊洛沙姆 188 质量分数的增加 Tan-NLCs 包封率和载药量均呈先增加后下降趋势, 表明合适的泊洛沙姆 188 质量分数利于 Tan-NLCs 包载药物。Tan-NLCs 粒径随着泊洛沙姆 188 质量分数增加而下降, 可能是由于泊洛沙姆 188 质量分数越大乳化能力越强, 越利于形成较小粒径的 Tan-NLCs^[17]。泊洛沙姆 188 质量分数对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径影响较大, 需继续进行优化。

2.4.4 均质压力的考察 固定桔皮素 20 mg, 脂药比为 15 : 1, 固液脂质比为 4 : 1, 泊洛沙姆 188 质量分数为 1.00%, 均质次数为 8 次的条件下考察均质压力对 Tan-NLCs 包封率、载药量和粒径的影响。结果见表 4, 均质压力大于 90 MPa 时 Tan-NLCs 包封率和载药量出现下降情况, 且粒径变大, 可能是

表 3 泊洛沙姆 188 质量分数的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Investigation of poloxamer 188 concentration ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

泊洛沙姆 188 质量分数/%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.50	67.94 ± 0.99	4.18 ± 0.22	251.29 ± 12.51
0.75	73.62 ± 1.16	4.56 ± 0.18	234.16 ± 10.69
1.00	79.17 ± 1.10	4.87 ± 0.19	198.35 ± 8.97
1.25	75.89 ± 1.58	4.71 ± 0.24	187.64 ± 8.86
1.50	72.16 ± 1.36	4.43 ± 0.20	180.77 ± 9.02

表 7 方差分析

Table 7 Analysis of variance

误差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	误差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1.68	9	0.19	112.23	<0.000 1	X_1^2	0.95	1	0.95	572.39	<0.000 1
X_1	0.02	1	0.02	10.30	0.014 9	X_2^2	0.12	1	0.12	69.63	<0.000 1
X_2	0.07	1	0.07	42.24	0.000 3	X_3^2	0.11	1	0.11	67.58	<0.000 1
X_3	0.05	1	0.05	29.47	0.001 0	残差	0.01	7	1.66×10^{-3}		
X_1X_2	0.21	1	0.21	124.63	<0.000 1	失拟项	9.54×10^{-3}	3	3.18×10^{-3}	6.03	0.057 6
X_1X_3	0.06	1	0.06	34.41	0.000 6	绝对误差	2.11×10^{-3}	4	5.27×10^{-4}		
X_2X_3	5.39×10^{-3}	1	5.39×10^{-3}	3.24	0.115 0	总和	1.69	16			

型中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 均具极显著差异 ($P < 0.01$)。

固定脂药比 (X_1)、固液脂质比 (X_2)、泊洛沙姆 188 质量分数 (X_3) 中间值不变, 绘制自变量与 OD 值三维曲面图, 结果见图 2。设置目标值最小为

0, 最大为 1, 得到 Tan-NLCs 最佳处方为脂药比为 14.47 : 1、固液脂质比为 4.39 : 1、泊洛沙姆 188 质量分数为 1.06%, 预测的 Tan-NLCs 的包封率、载药量、粒径和 OD 值分别为 85.79%、5.54%、178.62 nm 和 0.911。

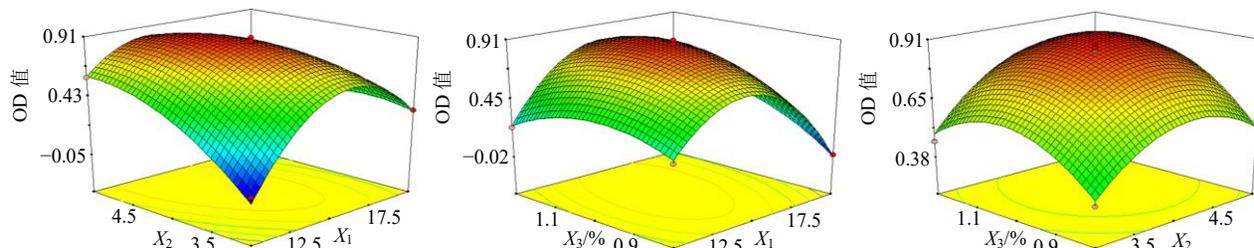


图 2 各因素与响应值的三维图

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

2.6 Tan-NLCs 工艺验证

为便于实际操作, 将 Tan-NLCs 最佳处方略作调整, 即脂药比为 14.5 : 1、固液脂质比为 4.4 : 1、泊洛沙姆 188 质量分数为 1.05%。平行制备 3 批 Tan-NLCs, 分别测定包封率、载药量和粒径, 计算 Tan-NLCs 各个指标的偏差 [偏差 = (实测值 - 预测值) / 预测值]。结果见表 8, 各个指标相对偏差均小于 ± 5%, 证明该数学模型对 Tan-NLCs 处方工艺研究具有较强的指导意义。

2.7 Tan-SLNs 的制备

参考 Tan-NLCs 确定的处方工艺, 不再加入液态脂质油酸, 按“2.1”项下方法制备 Tan-SLNs, 考

察不同脂药比对 Tan-SLNs 包封率、载药量和粒径的影响, 结果见表 9。随着脂药比的增加, Tan-SLNs 的包封率逐渐增加, 当脂药比大于 16.5 : 1 后继续增加固体脂质用量, 包封率基本不再增加, 但载药量下降, 且粒径增大, 故选择脂药比为 16.5 : 1 来制备 Tan-SLNs。此时 Tan-SLNs 包封率、载药量和

表 9 脂药比的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Investigation of different lipid-drug ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

脂药比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
14 : 1	65.53 ± 1.02	4.27 ± 0.14	196.84 ± 10.26
14.5 : 1	67.22 ± 1.41	4.24 ± 0.18	203.14 ± 11.10
15 : 1	69.58 ± 0.97	4.23 ± 0.13	206.87 ± 12.07
15.5 : 1	71.19 ± 1.19	4.28 ± 0.20	212.40 ± 11.26
16 : 1	72.02 ± 1.23	4.18 ± 0.19	215.68 ± 9.94
16.5 : 1	73.07 ± 1.38	4.11 ± 0.22	226.09 ± 10.25
17 : 1	73.22 ± 1.46	4.02 ± 0.17	244.98 ± 12.78
17.5 : 1	73.18 ± 0.94	3.93 ± 0.12	269.57 ± 11.33
18 : 1	73.26 ± 1.03	3.80 ± 0.23	286.61 ± 13.17

表 8 处方验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Validation results of prescription ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

指标	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
实测值	85.13 ± 1.01	5.43 ± 0.19	184.77 ± 8.63
预测值	85.79	5.54	178.62
偏差/%	-0.77	-1.98	3.44

粒径分别为 $(73.07 \pm 1.38) \%$ 、 $(4.11 \pm 0.22) \%$ 和 $(226.09 \pm 10.25) \text{ nm}$ 。

2.8 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的表征

2.8.1 粒径分布和 ζ 电位 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的粒径分布见图 3, Tan-NLCs 粒径分布在 $100 \sim 350 \text{ nm}$, PDI 值为 0.095。Tan-SLNs 粒径分布在 $100 \sim 600 \text{ nm}$, PDI 值为 0.141, Tan-SLNs 粒径分布范围较宽, PDI 值大于 Tan-NLCs。Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的 ζ 电位分别为 $(-37.84 \pm 1.62) \text{ mV}$ 和 $(-38.68 \pm 1.57) \text{ mV}$, 结果见图 4。

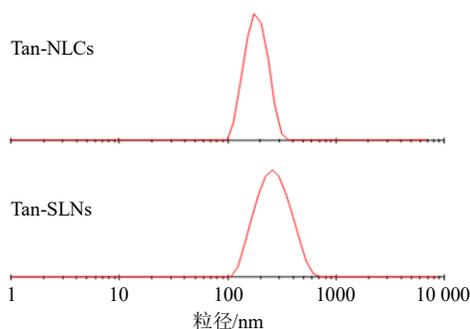


图 3 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的粒径分布图

Fig. 3 Particle size distributions of Tan-NLCs and Tan-SLNs

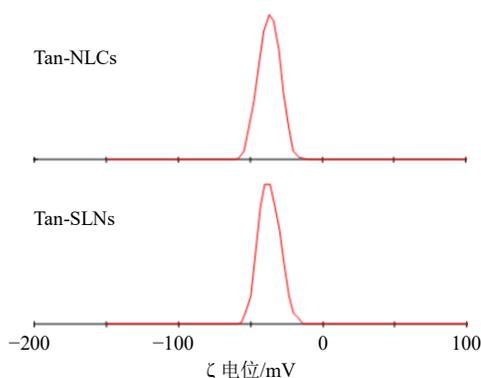


图 4 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的 ζ 电位图

Fig. 4 ζ potentials of Tan-NLCs and Tan-SLNs

2.8.2 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的 TEM 观察 取 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 混悬液样品, 蒸馏水稀释 50 倍, 滴管吸取适量滴至铜网, 1.5% 磷钨酸钠染色, 置于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 真空干燥箱 2 h, 于 TEM 下观察 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 的微观形态。结果见图 5, Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 呈椭圆形或球形。

2.9 Tan-NLCs 和 Tan-SLNs 冻干粉的制备

精密量取 Tan-NLCs 混悬液 50 mL , 加入质量分数为 5% 的乳糖, 震荡溶解, 分装至西林瓶中。置于 $-45 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中预冻 2 d, 敞口置于冷阱 $-35 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻干燥机中 (真空度 0.1 mPa), 冷冻干燥 2 d, 取出

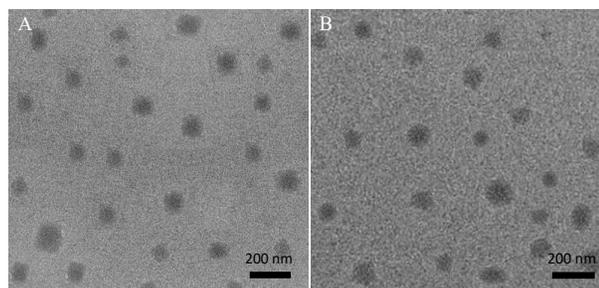
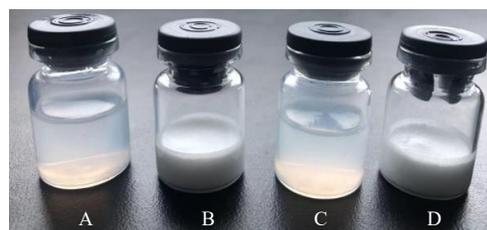


图 5 Tan-NLCs (A) 和 Tan-SLNs (B) 的 TEM 图

Fig. 5 TEM of Tan-NLCs (A) and Tan-SLNs (B)

即得冻干粉。

Tan-SLNs 冻干粉同法制备, 结果见图 6。采用蒸馏水复溶 Tan-NLCs 冻干粉, 测得平均包封率为 $(80.16 \pm 1.43) \%$, 平均粒径为 $(223.26 \pm 9.17) \text{ nm}$, 平均 ζ 电位为 $(-31.09 \pm 1.15) \text{ mV}$ 。蒸馏水复溶 Tan-SLNs 冻干粉, 测得平均包封率为 $(68.69 \pm 1.38) \%$, 平均粒径为 $(269.28 \pm 8.84) \text{ nm}$, 平均 ζ 电位为 $(-28.11 \pm 1.40) \text{ mV}$ 。



A-Tan-NLCs 混悬液 B-Tan-NLCs 冻干粉 C-Tan-SLNs 混悬液 D-Tan-SLNs 冻干粉

A-Tan-NLCs suspension B-Tan-NLCs lyophilized powder C-Tan-SLNs suspension D-Tan-SLNs lyophilized powder

图 6 样品外观

Fig. 6 Appearance of samples

2.10 体外释药行为考察

分别取橘红素原料药、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉适量, 使橘红素含量均为 10 mg , 分别加入 $\text{pH} 2.0$ 磷酸盐缓冲液 (PBS) 5 mL , 转移至活化后透析袋中 (截留相对分子质量 $8000 \sim 12000$), 扎紧。释放介质为 $\text{pH} 2.0$ PBS, 介质体积为 1000 mL , 介质温度为 $(37 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, 溶出仪转速为 75 r/min , 于 0、0.25、0.5、1、1.5、2、4、6、8、12、18、24 h 取样 5 mL , 并补加 $\text{pH} 2.0$ PBS 5 mL 。12 000 r/min 离心 (离心机温度为 $4 \text{ }^\circ\text{C}$, 半径为 6.4 cm) 20 min , 取上清液测定橘红素含量。同法测定橘红素原料药、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉在 $\text{pH} 6.8$ PBS 中释药情况, 结果见图 7。Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉均可增加橘红素释放速率和累积释放

度, 且 Tan-SLNs 冻干粉释药速率和累积释放度均高于 Tan-NLCs 冻干粉。2 种脂质纳米粒释药模型拟

合结果见表 10, 均符合 Weibull 模型, 呈双相动力学特征^[21-22]。

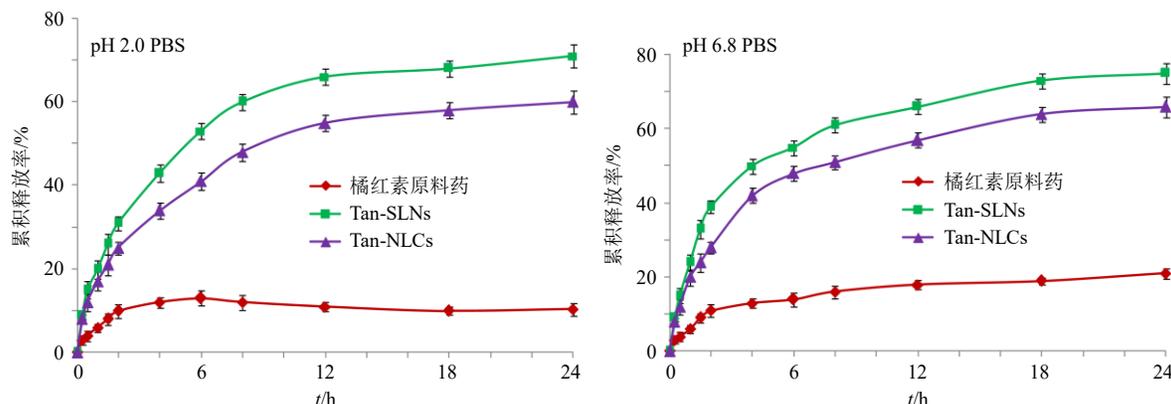


图 7 pH 2.0 PBS 和 pH 6.8 PBS 中体外释药结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 7 *In vitro* release curves in pH 2.0 PBS and pH 6.8 PBS ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 10 Weibull 释药模型和相关系数
Table 10 Weibull release model and coefficient

样品	介质	Weibull 模型拟合方程	R^2
Tan-NLCs	pH 2.0 PBS	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.5281 \ln t - 1.6453$	0.9948
	pH 6.8 PBS	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.5527 \ln t - 1.4039$	0.9916
Tan-SLNs	pH 2.0 PBS	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.5479 \ln t - 1.5240$	0.9904
	pH 6.8 PBS	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.5462 \ln t - 1.5246$	0.9910

2.11 示差量热扫描 (differential scanning calorimetry, DSC) 法分析研究

取橘红素原料药、空白辅料、物理混合物 (原料药和辅料比例与 Tan-NLCs 冻干粉一致)、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉适量置于样品槽, 压制后进行 DSC 分析, 分析条件: Al_2O_3 为参比物, 升温范围为 30~300 °C, 升温速度为 10 °C/min。结果见图 8, 橘红素原料药在 154.5 °C 出现熔点峰, 可能由于单硬脂酸甘油酯和油酸等脂质辅料熔点较低, 随着仪器逐渐升温脂质先行溶解, 进而对橘红

素熔点产生影响, 导致物理混合物中橘红素熔点峰提前至 136.7 °C。Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉 DSC 图谱仅可观察到空白辅料的 DSC 图谱, 而橘红素熔点峰消失, 证明橘红素在 Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉中物相发生变化。

2.12 X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD) 法分析

取橘红素原料药、乳糖、空白辅料、物理混合物 (原料药和辅料比例与 Tan-NLCs 冻干粉一致)、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉适量置于样品槽中进行 XRPD 扫描, 结果见图 9。橘红素原料药

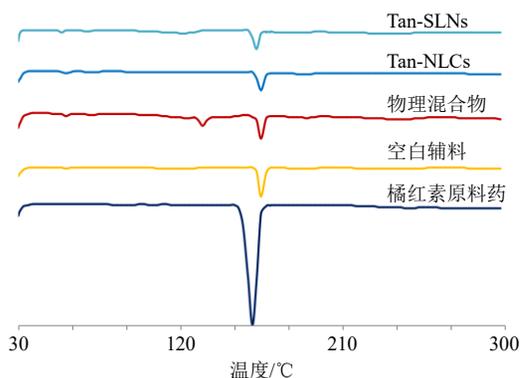


图 8 DSC 结果
Fig. 8 Results of DSC

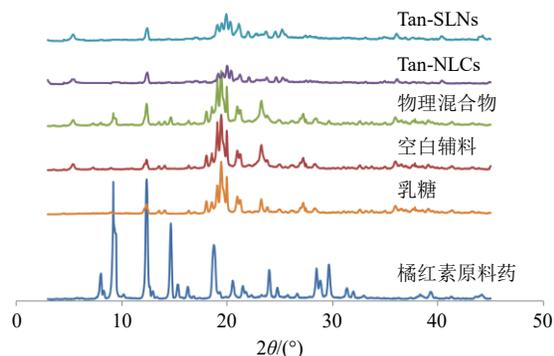


图 9 XRPD 结果
Fig. 9 Results of XRPD

在 8.1°、9.5°、12.2°、14.5°、18.7°、24.1°、27.6°、29.4°等处出现特征晶型峰。由于辅料的掩蔽作用在物理混合物 XRPD 图谱中仍可见橘红素在 9.5°、14.5°和 29.7°处的特征晶型峰。Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉 XRPD 图谱中橘红素晶型峰消失,说明橘红素在 Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉中可能以无定形形式存在。

2.13 Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉稳定性研究

取 Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉密封于西林瓶中,置于温度 30 °C、湿度 60%恒温恒湿箱中,90 d 后取样复溶后测定包封率、粒径、ζ 电位。结果见表 11, Tan-SLNs 冻干粉放置 90 d 后包封率大幅度下降,粒径增大,ζ 电位绝对值变小。Tan-NLCs 冻干粉包封率、粒径和 ζ 电位绝对值与新制备 Tan-NLCs 冻干粉相比均未出现明显变化,可见 Tan-NLCs 冻干粉稳定性高于 Tan-SLNs 冻干粉。

表 11 稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Stability results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	包封率/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
Tan-SLNs 冻干粉	54.16±1.69	492.83±58.71	-17.44±1.30
Tan-NLCs 冻干粉	80.20±1.35	230.79±13.45	-30.26±1.52

2.14 口服药动力学研究

2.14.1 实验方案 取橘红素原料药、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉,加入 0.5%的 CMC-Na 溶液配制 ig 液,临用现配。取禁食过夜的 SD 大鼠 18 只,随机分成 3 组,分别称量体质量,按 50 mg/kg ig 给药后立即计时。于 0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12 h 将待取血大鼠用乙醚麻醉,立即于眼眶后静脉丛取血约 0.25 mL,玻璃毛细管引流至含肝素离心管中,涡旋 5 s 混匀,3000 r/min 离心 2 min,取上层血浆冷冻保存。

2.14.2 血浆样品的处理^[8] 采用甲醇稀释配制质量浓度为 2000 ng/mL 反式-1,2-二苯乙烯对照品,作为药动力学研究用内标溶液。精密取血浆样品 100 μL 和 50 μL 内标溶液离心管中,加入 0.5 mL 乙腈,涡旋混合 30 s,静置 10 min,8000 r/min 离心(半径为 6.4 cm) 20 min。取上清液至另一离心管中,置于 45 °C 水浴中氮气吹干,加入 100 μL 乙腈复溶,8000 r/min 离心(半径为 6.4 cm) 5 min,取上清液进样测定。

2.14.3 线性关系考察 血药浓度测定色谱条件同

“2.2.1”项下。取质量浓度为 5 μg/mL 橘红素对照品溶液,甲醇稀释成质量浓度为 2000、1000、500、250、100、50 ng/mL 一系列对照品溶液,分别取 100 μL 至另一离心管中,置于 45 °C 水浴中氮气吹干,加入 100 μL 空白血浆涡旋混合 30 s,按“2.14.2”项下操作并测定。橘红素质量浓度为横坐标(X),橘红素与反式-1,2-二苯乙烯峰面积比为纵坐标(Y)进行回归,得回归方程 $Y=0.0022X+0.2504$, $r=0.9972$,结果表明橘红素血浆对照品溶液在 50~2000 ng/mL 存在线性关系。

2.14.4 专属性考察 取空白血浆、血浆对照品溶液(橘红素质量浓度 100 ng/mL)、血浆样品(Tan-SLNs 冻干粉 ig 5 h),按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。色谱图见图 10,表明血浆内源性物质未对橘红素和反式-1,2-二苯乙烯产生干扰,专属性高。

2.14.5 稳定性考察 取橘红素原料药 ig 2 h 的血浆样品,于处理后 0、3、6、9、12、18 h 进样测定,计算得橘红素与反式-1,2-二苯乙烯峰面积比的 RSD 为 5.66%,表明血浆样品溶液稳定性良好。

2.14.6 精密度考察 取低、中、高质量浓度(50、

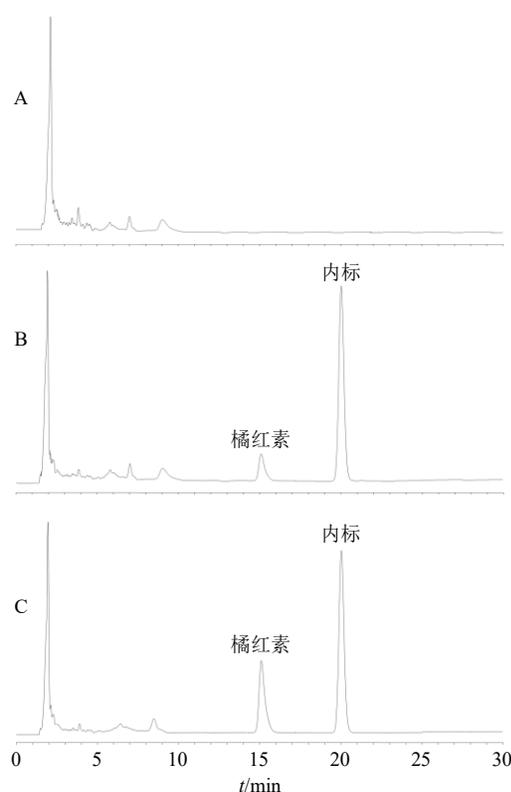


图 10 空白血浆 (A)、血浆对照品溶液 (B) 和血浆样品 (C) 的 HPLC 图

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

1000、2000 ng/mL) 橘红素血浆对照品溶液, 同 1 d 连续测定 6 次, 计算得橘红素与内标面积比的 RSD 分别为 7.11%、4.86%、5.29%, 结果表明日内精密度良好; 低、中、高质量浓度橘红素血浆对照品溶液连续测定 6 d, 每天测试 1 次, 计算得橘红素与反式-1,2-二苯乙烯峰面积比的 RSD 分别为 8.90%、6.28%、4.88%, 表明日间精密度良好。

2.14.7 重复性考察 取 Tan-SLNs ig 1 h 血浆样品, 按“2.14.2”项下方法平行制备 6 份血浆样品溶液, 进样测定, 计算得橘红素与内标面积比的 RSD 分别为 4.16%, 结果表明该法重复性良好。

2.14.8 加样回收率考察 取空白血浆配制橘红素质量浓度分别为 50、1000、2000 ng/mL 血浆样品, 各平行 3 份, 按“2.14.2”项下方法操作制备血浆样品溶液, 测定橘红素与反式-1,2-二苯乙烯峰面积, 带入血浆对照品标准曲线计算橘红素测得质量浓度, 并与实际配制质量浓度相比计算加样回收率。结果显示平均加样回收率为 96.10%, RSD 为 6.23%, 表明准确度较高。

2.14.9 定量限和检测限考察 取橘红素质量浓度为 50 ng/mL 的血浆样品 (不含反式-1,2-二苯乙烯), 逐步稀释并测定, 结果显示定量限和检测限分别为 10 ng/mL 和 5 ng/mL。

2.14.10 药动学结果 橘红素原料药、Tan-NLCs 冻干粉和 Tan-SLNs 冻干粉的药-时曲线见图 11。DAS

3.0 软件非房室模型计算主要药动学参数, 结果见表 12。与橘红素原料药相比, Tan-SLNs 的 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 均有显著性改变 ($P < 0.05$ 、0.01), 其中 t_{max} 延后至 (3.12 ± 0.55) h, $t_{1/2}$ 延长至 (5.14 ± 0.73) h, C_{max} 和相对口服吸收生物利用度分别提高至 2.01 倍和 3.10 倍。Tan-NLCs 的 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 也均有显著性改变 ($P < 0.05$ 、0.01), 其中 t_{max} 延后至 (3.17 ± 0.64) h, $t_{1/2}$ 延长至 (5.10 ± 0.81) h, C_{max} 和相对口服吸收生物利用度分别提高至 2.83 倍和 4.59 倍, 可见 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 可促进橘红素口服吸收。与 Tan-SLNs 相比, Tan-NLCs 的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 有显著性增加 ($P < 0.05$), 因此 Tan-NLCs 促吸收作用优于 Tan-SLNs。

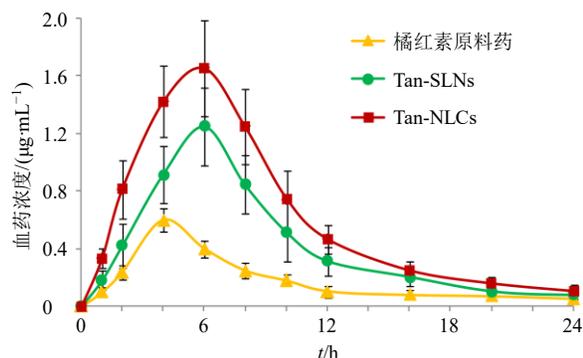


图 11 药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 11 Drug concentration-time curves ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 12 主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 12 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	橘红素	Tan-SLNs	Tan-NLCs
t_{max}	h	1.96 ± 0.33	3.12 ± 0.55*	3.17 ± 0.64*
$t_{1/2}$	h	3.90 ± 0.66	5.14 ± 0.73*	5.10 ± 0.81*
C_{max}	ng·mL ⁻¹	603.72 ± 114.68	1 214.08 ± 352.13**	1 710.79 ± 403.11**#
AUC_{0-t}	ng·h·mL ⁻¹	1 748.64 ± 375.97	5 422.12 ± 486.94**	8 021.30 ± 1 178.56**#
$AUC_{0-\infty}$	ng·h·mL ⁻¹	1 907.36 ± 401.85	5 608.75 ± 541.76**	8 211.92 ± 1 273.78**#

与橘红素比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 Tan-SLNs 比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs tangeretin; # $P < 0.05$ vs Tan-SLNs

3 讨论

Tan-NLCs 包封率和载药量高于 Tan-SLNs, 可能是由于在固态脂质中引入液态脂质后形成空间结构缺陷, 有利于包载更多药物; 药物在液态脂质中溶解度往往较高, 从而使更多药物被包载进入 Tan-NLCs。2 种脂质纳米粒在 pH 2.0 PBS 和 pH 6.8 PBS 中释药结果显示, Tan-SLNs 释药速率和累积释放度均高于 Tan-NLCs, 可能是由于 Tan-SLNs 中药物在

分布在表层或浅表层, 释药阻力相对较小。Tan-NLCs 处方中引入液态脂质后影响了药物分布^[10], 使药物更易聚集于 Tan-NLCs 内部, 因而释药阻力大于 Tan-SLNs, 最终使 Tan-NLCs 释药速率和累积释放度均低于 Tan-SLNs, 缓释特征更为明显。

Tan-SLNs 平均粒径和 PDI 值均大于 Tan-NLCs, 可能与体系黏度相关^[23]。体系黏度越小形成脂质纳米粒的粒径也越小, 由于 Tan-NLCs 处方中引入液

态脂质后体系黏度及表面张力均随之下降, 故更易形成粒径较小的 Tan-NLCs, 且粒径分布更窄。Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 冻干粉的 XRPD 和 DSC 研究结果表明, 橘红素在 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 冻干粉可能以无定型形式存在, 放置 90 d 后, Tan-SLNs 冻干粉包封率下降、粒径增大、 ζ 电位绝对值变小, 可见 Tan-SLNs 冻干粉储存稳定性存在一定问题。Tan-NLCs 冻干粉放置 90 d 后包封率、粒径和 ζ 电位与新制备的 Tan-NLCs 冻干粉相比基本无变化, 说明 Tan-NLCs 冻干粉储存稳定性高于 Tan-SLNs 冻干粉。可能是由于 Tan-NLCs 处方中引入液态脂质后可有效避免药物被排挤出固态脂质晶格^[10], 提高储存稳定性。

Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 的 t_{max} 均发生显著性延后, 可能是由于 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 缓释作用, 从而影响了药物进入血液循环速度所致^[24-25]。Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 的 $t_{1/2}$ 均显著性延长, 可能是由于部分 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 以整体形式进入血液循环^[17], 从而使 $t_{1/2}$ 延长, 利于增加药物体循环时间及吸收程度。

Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 的 C_{max} 和相对口服吸收生物利用度显著性增加, 可能与桔皮素溶解度及溶出度增加有关, 解决了吸收瓶颈; 橘红素在 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 中以无定型形式存在, 无定型药物比结晶型药物更易吸收; Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 的包裹作用增加了橘红素稳定性, 使之免受胃肠道各种酶、pH 值影响, 增加了进入血液循环的量^[21]; 橘红素比表面积激增, 利于与胃肠道充分接触, 促进了药物吸收。Tan-NLCs 促吸收作用高于 Tan-SLNs, 可能是由于 Tan-NLCs 稳定性高于 Tan-SLNs; Tan-NLCs 粒径小于 Tan-SLNs, 更易发挥纳米制剂特殊的吸收机制^[20]; 处方中液态油脂对药物具有更大的增溶能力, 且液态油脂本身具有增加药物透膜渗透作用^[26-27]。

综上, 本实验成功制备了 Tan-SLNs 和 Tan-NLCs 冻干粉, 橘红素溶出度及生物利用度得到明显改善, 但 Tan-NLCs 冻干粉储存稳定性高于 Tan-SLNs 冻干粉, 促吸收效果更大, 后续将对 Tan-NLCs 冻干粉药效学展开评价, 进一步丰富研究资料。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 赵梓燕. 柑橘果实多甲氧基黄酮的提取、富集与分离纯化方法研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.

[2] 熊娅, 方仪德, 韩亚鹏, 等. 橘红素药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2018, 40(9): 2030-2033.

[3] 刘莹莹, 阳刘康, 卢伟, 等. 桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞的体外作用及作用机制 [J]. 中国药业, 2022, 31(5): 67-71.

[4] Periyasamy K, Baskaran K, Ilakkia A, *et al.* Antitumor efficacy of tangeretin by targeting the oxidative stress mediated on 7,12-dimethylbenz(a) anthracene-induced proliferative breast cancer in Sprague-Dawley rats [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015, 75(2): 263-272.

[5] Ting Y W, Chiou Y S, Jiang Y K, *et al.* Safety evaluation of tangeretin and the effect of using emulsion-based delivery system: Oral acute and 28-day sub-acute toxicity study using mice [J]. *Food Res Int*, 2015, 74: 140-150.

[6] 韩嘉骏, 郭寅龙. 黄酮类化合物油水分配系数的实验测定值和软件估算值的比较研究 [J]. 化学世界, 2019, 60(9): 611-617.

[7] 胡艳. 基于多糖和乳清蛋白的柑橘类黄酮递送载体构建及性能的评价研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2019.

[8] Elhennawy M, Lin H S. Determination of tangeretin in rat plasma: Assessment of its clearance and absolute oral bioavailability [J]. *Pharmaceutics*, 2017, 10(1): 3.

[9] 张怡, 成雨竹, 区展纶, 等. 橘红素自微乳给药系统的制备及体内吸收研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(8): 833-837.

[10] 黄霞, 陈卫东. 固体脂质纳米粒和纳米脂质载体二类脂质纳米给药系统的比较 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(17): 1350-1356.

[11] 决利利, 梁婧, 李晓婷, 等. 松果菊苷固体脂质纳米粒的制备及其在体肠吸收特性、体内药动学研究 [J]. 中成药, 2022, 44(8): 2429-2434.

[12] 谢燕, 崔晓鸽, 张智强. 延胡索乙素固体脂质纳米粒缓释片制备及工艺优化 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(21): 2134-2140.

[13] 张心洁, 廖洋洋, 廖婉, 等. 姜黄素固体脂质纳米粒和微胶囊的制备、表征及体内药动学的比较研究 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1386-1396.

[14] 杨娟, 尚曙玉, 贾安, 等. 木犀草素固体脂质纳米粒的制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2021, 43(9): 2281-2286.

[15] 高羚毓, 贾瑞欣, 毕野, 等. 丹参酮 II_A 聚合物脂质纳米粒制备及脑部药物递送研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 909-917.

[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 大鼠体内口服药动学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 60-70.

[17] 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.
- [18] 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学研究 [J]. 中成药, 2020, 42(4): 831-835.
- [19] 史凡, 杨红. 紫草素纳米结构脂质载体制备与质量评价研究 [J]. 实验技术与管理, 2019, 36(1): 96-99.
- [20] 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.
- [21] Sakellari G I, Zafeiri I, Batchelor H, *et al.* Formulation design, production and characterisation of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for the encapsulation of a model hydrophobic active [J]. *Food Hydrocoll Health*, 2021, 1: 100024.
- [22] 周敬, 郑宝玉, 李阳杰, 等. 聚乙二醇修饰高良姜素纳米结构脂质载体处方优化及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2023, 54(14): 4455-4466.
- [23] Zhang Y T, Li Z, Zhang K, *et al.* Ethyl oleate-containing nanostructured lipid carriers improve oral bioavailability of *trans*-ferulic acid as compared with conventional solid lipid nanoparticles [J]. *Int J Pharm*, 2016, 511(1): 57-64.
- [24] 陈梦雨, 王慧楠, 王佩华, 等. 纳米结构脂质载体在抗肿瘤中药单体活性成分中的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(12): 7227-7229.
- [25] Dolatabadi S, Karimi M, Nasirizadeh S, *et al.* Preparation, characterization and *in vivo* pharmacokinetic evaluation of curcuminoids-loaded solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carriers (NLCs) [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2021, 62: 102352.
- [26] Sangsen Y, Wiwattanawongsa K, Likhitwitayawuid K, *et al.* Modification of oral absorption of oxyresveratrol using lipid based nanoparticles [J]. *Colloids Surf B*, 2015, 131: 182-190.
- [27] 王颖慧, 代永霞, 崔晓鸽. 紫檀芪纳米结构脂质载体制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(7): 2117-2123.

[责任编辑 郑礼胜]