

星点设计-效应面法优化 pH 值依赖型岩黄连碱口服结肠靶向纳米粒

曾勇珠¹, 郭 魏¹, 张裕彦¹, 钟华帅¹, 苏晓丹², 朱 煜¹, 周 燕¹, 黄秋洁^{3*}, 叶 勇^{1,4*}

1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021

2. 广西医科大学第二附属医院, 广西 南宁 530007

3. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530001

4. 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 采用星点设计-效应面法 (central composite design-response surface methodology, CCD-RSM) 优化 pH 值依赖型岩黄连碱口服结肠靶向纳米粒 (dehydrocavidine-chitosan/pectin-nanoparticles, DC-CS/PT-NPs) 制备工艺, 并对其质量表征及体外释放行为进行评价。方法 采用离子凝胶法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、 ζ 电位、包封率、载药量作为评价指标, 采用单因素考察和 CCD-RSM 优化 DC-CS/PT-NPs 制备工艺。通过透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)、傅里叶红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)、差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 和 X 射线衍射法 (X-ray diffraction, XRD) 对 DC-CS/PT-NPs 进行表征, 并进行体外释放性能评价。结果 最佳处方为壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 果胶质量浓度为 1.5 mg/mL, TPP 质量浓度为 2.0 mg/mL, 壳聚糖 pH 值为 5.0。DC-CS/PT-NPs 包封率为 (61.64 \pm 1.77)%, 载药量为 (8.05 \pm 0.18)%, 粒径为 (418.65 \pm 4.92) nm, ζ 电位为 (-14.14 \pm 0.22) mV。DC-CS/PT-NPs 呈均匀的球形或类球形; 制备成纳米粒后, 药物的晶型发生了改变; 体外释药结果表明, DC-CS/PT-NPs 在人工胃液中 2 h 仅释放 24.35%, 在人工小肠液中 4 h 累积释放率 < 40%, 在人工结肠液中 10 h 累积释放率 > 85%。结论 CCD-RSM 所建立的模型可用于 DC-CS/PT-NPs 处方优化, DC-CS/PT-NPs 具有良好的体外结肠释药特征。

关键词: 岩黄连碱; 星点设计-效应面法; 结肠靶向; 壳聚糖; 果胶; pH 值依赖; 纳米粒; 体外释放; 离子凝胶法

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)06-1935-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.06.016

Optimization of pH-dependent dehydrocavidine oral colon-targeting nanoparticles by central composite design-response surface methodology

ZENG Yongzhu¹, GUO Wei¹, ZHANG Yuyan¹, ZHONG Huashuai¹, SU Xiaodan², ZHU Yu¹, ZHOU Yan¹, HUANG Qiuji³, YE Yong^{1,4}

1. Pharmaceutical College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

2. The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, China

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

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

Abstract: Objective To optimize the formulation of pH-dependent dehydrocavidine-chitosan/pectin-nanoparticles (DC-CS/PT-NPs) by central composite design-response surface methodology (CCD-RSM), and to conduct its quality characterization and evaluate its release behavior *in vitro*. **Methods** DC-CS/PT-NPs was prepared by ionotropic gelation method. Particle size, PDI, ζ potential, encapsulation rate and drug loading were used as evaluation indexes, and the preparation process of DC-CS/PT-NPs was optimized by single factor investigation and CCD-RSM. DC-CS/PT-NPs were characterized by transmission electron microscopy (TEM), scanning

收稿日期: 2023-08-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82360818); 国家自然科学基金资助项目 (81960756); 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 (2023GXNSFAA026366)

作者简介: 曾勇珠 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药剂学。E-mail: zyz2021136@163.com

*通信作者: 黄秋洁 (1979—), 女, 硕士, 教授, 研究方向为中药新剂型与新技术研究。Tel: (0771)2399840 E-mail: hqj8@163.com

叶 勇 (1979—), 男, 博士, 教授, 研究方向为民族药药效物质及其新制剂研究。Tel: (0771)5358014 E-mail: yong-ye@163.com

electron microscopy (SEM), Fourier infrared spectroscopy (FT-IR), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD), and their release properties were evaluated *in vitro*. **Results** The optimal prescription is chitosan concentration of 1.5 mg/mL, pectin concentration of 1.5 mg/mL, TPP concentration of 2.0 mg/mL, and chitosan pH of 5.0. The encapsulation rate of DC-CS/PT-NPs was $(61.64 \pm 1.77)\%$, the drug loading was $(8.05 \pm 0.18)\%$, the particle size was (418.65 ± 4.92) nm, and the ζ potential was (-14.14 ± 0.22) mV. DC-CS/PT-NPs are uniformly spherical or quasi-spherical; The crystalline form of the drug was changed after the preparation of nanoparticles. The results of drug release *in vitro* showed that only 24.35% of DC-CS/PT-NPs were released in artificial gastric fluid for 2 h, and the cumulative release rate was less than 40% in artificial intestinal fluid for 4 h and more than 85% in artificial colonic fluid for 10 h. **Conclusion** The model established by CCD-RSM can be used to optimize the formulation of DC-CS/PT-NPs, which has good characteristic of colonic drug release *in vitro*.

Key words: dehydrocavidine; central composite design-response surface methodology; colon targeting; chitosan; pectin; pH dependent; nanoparticle; *in vitro* release; ionotropic gelation method

肝纤维化是由肝内细胞外基质过度增生与沉积而导致的慢性病理过程, 若干预不及时, 可发展为肝硬化甚至肝癌^[1]。研究表明, 肠道微生物群失调是导致肝纤维化等肝脏疾病的一个关键因素, 故靶向肠道微生物群, 系统研究肠道微生物代谢物对肝脏的影响, 对揭示肝纤维化的发生发展机制意义重大^[2-3]。

岩黄连系罂粟科紫堇属石生黄堇 *Corydalis Saxicola* Bunting 的带根全草^[4], 是广西的民间草药。岩黄连性凉、味苦, 具有清利湿热、散瘀消肿功效, 常用于治疗疮疖肿毒、肝炎、肝癌等^[5]。岩黄连碱[脱氢卡维丁 (dehydrocavidine, DC)] 是从岩黄连中分离纯化得到的主要活性生物碱之一^[6], 具有抑菌、镇痛、抗肝纤维化等作用^[7-11]。本课题组前期预试验初步表明, 岩黄连碱可以调控大鼠肠道微生物群, 改善肠道炎症以保护肝脏。而岩黄连碱存在水溶性差、体外抗氧化活性能力低^[8,12]等缺点, 限制了其相关制剂的研发及临床应用。

结肠定位给药系统 (colon specific drug delivery system, CSDDS) 是利用适宜的聚合物材料包裹药物, 使其在胃和小肠中稳定, 在结肠中被降解的特点, 实现定位给药。

壳聚糖和果胶可作为益生元调控肠道微生物改善高血脂及肥胖^[13-14]。通过离子相互作用 [壳聚糖的电离氨基 ($-\text{NH}_3^+$) 与果胶的电离羧基 ($-\text{COO}^-$) 之间的离子相互作用], 可以形成壳聚糖和果胶的聚电解质复合纳米粒, 该类复合纳米粒载体因具有肠道微生物响应性和 pH 响应性, 而在结肠靶向药物递送中具有广阔的应用前景^[15]。因此, 本课题拟选用岩黄连碱为模型药物, 壳聚糖和果胶作为载体材料, 设计一种对结肠特殊生理环境有特异性响应的聚电解质复合纳米粒岩黄连碱口服结肠靶向纳米粒

(dehydrocavidine-chitosan/pectin- nanoparticles, DC-CS/PT-NPs), 通过星点设计-效应面法 (central composite design-response surface methodology, CCD-RSM) 优化 DC-CS/PT-NPs 制备工艺, 并对其进行质量表征与体外释放行为评价, 以期后续体内抗肝纤维化药效学、药动学等研究提供实验基础, 也为民族药岩黄连碱新型口服保肝制剂的研发及应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 二级管阵列检测器, 美国 Agilent 公司; XS205DU 型分析天平, 梅特勒-托利多集团; 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; TD5A-WS 型常台式低速离心机, 常州隆和仪器制造有限公司; 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-9k W 型转靶 X 射线粉末衍射仪 (XRD), 日本 Rigaku 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; JY92-IIDN 型超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司。

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; 岩黄连碱对照品, 批号 111667-200401, 质量分数 99.6%, 购自中国食品药品检定研究院; 三聚磷酸钠 (sodium tripolyphosphate, TPP, 批号 C2117140)、壳聚糖 (批号 L2004257)、果胶 (批号 SLCG1374), 上海阿拉丁生化科技有限公司; 冰乙酸 (批号 2021110901)、无水乙醇 (批号 2022121001)、甲醇 (批号 2022032802), 购自成都市科隆化学品有限公司; 盐

酸,批号 2020092201,购自廉江市爱廉化试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 DC-CS/PT-NPs 的制备工艺

称取适量岩黄连碱溶解于无水乙醇中,质量浓度为 2.0 mg/mL,壳聚糖溶解于 2%的醋酸并用 NaOH 调至一定 pH 值,质量浓度为 1.5 mg/mL;果胶和 TPP 溶解于蒸馏水中,质量浓度均为 2.0 mg/mL。将岩黄连碱溶液用注射器逐滴滴加到壳聚糖溶液中,再依次将 TPP 和果胶溶液用注射器均匀滴加至壳聚糖混合物中,滴加完毕后搅拌 30 min,得到 DC-CS/PT-NPs 供试液。

CS/PT-NPs 制备方法同 DC-CS/PT-NPs 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 Agilent5 TC-C₁₈ 分析柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.2%磷酸三乙胺水溶液 (34:66);检测波长为 346 nm;体积流量为 1 mL/min;柱温为 25 °C。岩黄连碱对照品及岩黄连碱色谱图如图 1 所示,专属性较高,理论塔板数以岩黄连碱计不低于 3 000。

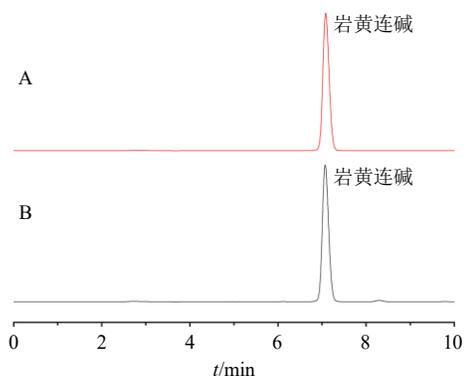


图 1 岩黄连碱对照品 (A) 和 DC-CS/PT-NPs 样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of dehydrocavidine reference substance (A) and DC-CS/PT-NPs sample (B)

2.2.2 线性关系考察 精密称定岩黄连碱对照品 1.0 mg 至 5 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度,得到 200 μg/mL 岩黄连碱母液,分别配制成质量浓度 1、5、10、25、50、100、200 μg/mL 系列对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件检测,记录峰面积,以峰面积为纵坐标 (Y),以质量浓度为横坐标 (X),绘制标准曲线,得回归方程 $Y=21.448 X-12.609$, $r=1.000 0$,可见岩黄连碱在 1~200 μg/mL 线性关系良好。

2.2.3 精密度考察

(1) 日内精密度:取 10、50、100 μg/mL 岩黄连碱对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,1 d 连续进样 6 次,记录峰面积,计算其 RSD。结果表明,低、中、高质量浓度岩黄连碱对照品溶液的 RSD 分别为 0.23%、0.09%、0.05%,表明日内精密度良好。

(2) 日间精密度:取 10、50、100 μg/mL 岩黄连碱对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,连续测定 6 d,记录峰面积,计算其 RSD。结果表明,低、中、高质量浓度岩黄连碱对照品溶液的 RSD 分别为 0.22%、0.19%、0.06%,表明日间精密度良好。

2.2.4 稳定性考察 将 DC-CS/PT-NPs 供试液稀释至 10、50、100 μg/mL,分别于制备后 0、2、4、6、8、10、12 h,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算其 RSD,观察 12 h 内稳定情况。结果表明,RSD 分别为 1.76%、2.12%、1.66%。

2.2.5 重复性考察 按“2.1”项方法平行制备 6 份 DC-CS/PT-NPs 供试液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算其质量分数的 RSD。结果表明,RSD 为 1.27%。

2.2.6 准确度考察

(1) 方法回收率:配制 10、50、100 μg/mL 岩黄连碱甲醇溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,将峰面积代入标准曲线方程换算得实际测定质量浓度,计算方法回收率。结果表明,方法回收率分别为 93.95%、96.79%、96.03%,RSD 分别为 0.07%、0.06%、0.03%,符合《中国药典》要求。

(2) 加样回收率:按处方量的 80%、100%、120% 称取适量岩黄连碱原料药,分别加入处方量的各个辅料,加入甲醇溶解定容,摇匀,配成质量浓度分别为 10、50、100 μg/mL,每个质量浓度平行 3 次,共 9 份,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率。结果表明,加样回收率分别为 86.19%、100.22%、99.50%,RSD 分别为 1.08%、0.05%、0.06%,符合《中国药典》要求。

2.3 包封率、载药量、粒径及 ζ 电位的测定

采用低速离心法测定 DC-CS/PT-NPs 的包封率和载药量。将“2.1”项下方法制备的样品,在 4 000 r/min 离心 (离心半径 7.5 cm) 20 min,取上清液,用 HPLC 法进样检测,记录峰面积,根据标准曲线计算游离药物含量。

包封率=(投药总质量-游离药物的质量)/投药总质量

载药量=(投药总质量-游离药物的质量)/纳米粒总质量

将 DC-CS/PT-NPs 混悬液经超声波细胞粉碎机超声 8 min 后, 取 0.4 mL, 蒸馏水稀释 3.5 倍, 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-CS/PT-NPs 处方及制备工艺

2.4.1 壳聚糖质量浓度的考察 改变壳聚糖质量浓度分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/mL, 固定果胶

质量浓度为 1.5 mg/mL, 壳聚糖 pH 值为 4.5, 投药量为 2.0 mg, 搅拌时间为 30 min, 按“2.1”项下方法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、 ζ 电位、包封率和载药量为考察指标。随着壳聚糖质量浓度增加, 粒径总体呈现增大趋势, ζ 电位绝对值呈递减趋势, 可能因为随着壳聚糖质量浓度增大, 过多的壳聚糖结合在纳米颗粒表面, 颗粒表面带正电荷并产生静电斥力, 团聚物逐渐分离形成分散的大颗粒; 当壳聚糖质量浓度为 2.0 mg/mL 时, 包封率、载药量较好, 结果见表 1。

表 1 壳聚糖质量浓度对 DC-CS/PT-NPs 影响指标的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Investigation of chitosan concentration on impact indicators of DC-CS/PT-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

壳聚糖/(mg·mL ⁻¹)	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%	载药量/%
1.0	454.85 ± 19.15	0.425 ± 0.001	-27.75 ± 0.42	61.46 ± 0.59	8.14 ± 0.08
1.5	442.28 ± 13.42	0.403 ± 0.007	-27.30 ± 1.00	59.88 ± 0.78	7.09 ± 0.09
2.0	477.18 ± 6.13	0.370 ± 0.002	-26.33 ± 1.23	67.34 ± 9.23	7.21 ± 0.99
2.5	407.87 ± 16.03	0.370 ± 0.002	-22.55 ± 0.98	58.42 ± 0.21	5.71 ± 0.02
3.0	529.20 ± 8.50	0.367 ± 0.084	-16.47 ± 0.33	61.60 ± 0.02	5.54 ± 0.00

2.4.2 果胶质量浓度的考察 改变果胶质量浓度分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/mL, 固定壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 壳聚糖溶液 pH 值为 4.5, 投药量为 2.0 mg, 搅拌时间为 30 min, 按“2.1”项下方法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、 ζ 电位、包封率和载药量为考察指标, 随着果胶质量浓度增加, DC-CS/PT-NPs 的粒径逐渐增大, 当果胶质量浓度为 2.0 mg/mL, 粒径、包封率、载药量较为理想,

结果见表 2。

2.4.3 壳聚糖溶液 pH 值的考察 改变壳聚糖溶液 pH 值分别为 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5, 固定壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 果胶质量浓度为 1.5 mg/mL, 投药量为 2.0 mg, 搅拌时间为 30 min, 按“2.1”项下方法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、 ζ 电位、包封率和载药量为考察指标, 结果见表 3。壳聚糖的 pK_a 为 6.5, 当 pH 值介于 5.0~6.0 时, 壳

表 2 果胶质量浓度对 DC-CS/PT-NPs 影响指标的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Investigation of pectin concentration on impact indicators of DC-CS/PT-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

果胶/(mg·mL ⁻¹)	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%	载药量/%
1.0	346.13 ± 2.97	0.311 ± 0.054	-16.95 ± 0.88	57.52 ± 2.32	7.06 ± 0.28
1.5	399.60 ± 1.40	0.425 ± 0.015	-22.38 ± 0.95	58.96 ± 1.51	6.75 ± 0.17
2.0	426.25 ± 21.65	0.303 ± 0.086	-23.45 ± 1.98	59.05 ± 2.56	6.32 ± 0.28
2.5	502.45 ± 16.75	0.276 ± 0.051	-24.90 ± 0.90	56.43 ± 1.33	5.68 ± 0.13
3.0	787.18 ± 4.38	0.383 ± 0.198	-25.48 ± 0.55	57.57 ± 0.07	5.47 ± 0.01

表 3 壳聚糖 pH 值对 DC-CS/PT-NPs 影响指标的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Investigation of chitosan pH values on impact indicators of DC-CS/PT-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

壳聚糖 pH 值	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%	载药量/%
3.5	478.67 ± 15.27	0.287 ± 0.081	-13.67 ± 2.03	56.35 ± 1.15	6.04 ± 0.12
4.0	546.83 ± 15.33	0.368 ± 0.066	-20.67 ± 0.83	57.03 ± 0.62	6.11 ± 0.07
4.5	569.40 ± 2.90	0.479 ± 0.047	-22.25 ± 0.68	60.56 ± 0.78	6.47 ± 0.08
5.0	420.35 ± 34.55	0.308 ± 0.067	-22.83 ± 1.50	60.66 ± 2.49	6.50 ± 0.27
5.5	656.87 ± 27.73	0.116 ± 0.039	-24.03 ± 0.30	58.53 ± 0.81	6.27 ± 0.09

聚糖中-NH₂ 质子化后形成-NH₃⁺, 果胶中的羧基基团离子化, 分子带负电荷, 可与带正电荷的壳聚糖结合^[16]。当壳聚糖 pH 为 5.0 时, 粒径、包封率、载药量较好。

2.4.4 投药量的考察 改变投药量分别为 2.0、3.0、4.0、5.0 mg, 固定壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 果胶质量浓度为 1.5 mg/mL, 壳聚糖 pH 值为 4.5, 搅拌时间为 30 min, 按“2.1”项下方法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、ζ 电位、包封率和载药量为考察指标, 随着投药量的增加, 其包封率逐渐减小, 而载药量逐渐增大, 结果见表 4。结果表明, 包封率并不随着投药量增加而增加, 这可能为当壳聚糖、果胶质量浓度一定, 两者结合形成纳米粒载体的量

基本不变, 包载药物能力有限, 随着投药量增加, 包封率逐渐下降。

2.4.5 搅拌时间的考察 改变搅拌时间分别为 20、30、40、50 min, 固定壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 果胶质量浓度为 1.5 mg/mL, 壳聚糖溶液 pH 值为 4.5, 投药量为 2.0 mg, 按“2.1”项下方法制备 DC-CS/PT-NPs, 以粒径、PDI、ζ 电位、包封率和载药量为考察指标, 结果见表 5。搅拌时间对粒径的影响较大, 随着搅拌时间的增加, 其粒径先减小后增加, 当搅拌时间为 40 min 时粒径最小, 可能在 40 min 时反应较为充分。随着搅拌时间增加, 纳米粒包封率略有降低, 可能为吸附在壳聚糖表面的岩黄连碱重新游离到溶液中。

表 4 岩黄连碱投药量对 DC-CS/PT-NPs 影响指标的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Investigation of dehydrocavidine dosage on impact indicators of DC-CS/PT-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

投药量/mg	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%	载药量/%
2.0	446.73 ± 9.53	0.358 ± 0.125	-25.47 ± 0.03	67.35 ± 1.50	2.98 ± 0.06
3.0	460.17 ± 13.60	0.230 ± 0.114	-22.13 ± 0.17	64.01 ± 1.54	4.23 ± 0.09
4.0	464.52 ± 1.75	0.280 ± 0.082	-16.46 ± 4.01	59.97 ± 0.00	5.25 ± 0.01
5.0	491.23 ± 4.70	0.402 ± 0.014	-8.83 ± 1.39	58.19 ± 1.80	6.29 ± 0.10

表 5 搅拌时间对 DC-CS/PT-NPs 影响指标的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Investigation of stirring time on impact indicators of DC-CS/PT-NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

搅拌时间/min	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%	载药量/%
20	475.86 ± 44.69	0.287 ± 0.017	-19.06 ± 0.58	64.57 ± 0.75	7.61 ± 0.08
30	384.30 ± 11.29	0.258 ± 0.062	-20.48 ± 0.78	66.73 ± 2.52	7.87 ± 0.30
40	344.84 ± 31.31	0.291 ± 0.026	-20.45 ± 0.37	66.01 ± 1.07	7.82 ± 0.13
50	359.54 ± 8.62	0.335 ± 0.063	-21.92 ± 0.57	61.11 ± 0.44	6.79 ± 0.09

2.5 CCD-RSM 优化处方

2.5.1 优化方案设计 包封率、载药量、粒径、ζ 电位是 NPs 的重要指标, 故选择 4 指标进行 CCD-RSM 实验。根据前期单因素考察结果, 壳聚糖质量浓度 (X_1)、果胶质量浓度 (X_2) 和壳聚糖 pH 值 (X_3) 对 DC-CS/PT-NPs 粒径 (Y_1)、ζ 电位 (Y_2)、包封率 (Y_3) 和载药量 (Y_4) 的影响较大, 各个因素的水平见表 6。将粒径、ζ 电位、包封率和载药量归一化为 OD 值, 作为 CCD-RSM 的响应指标。

2.5.2 模型及方差分析 采用 Design-Expert V 11.1.0.1 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, 进行多元 2 项式方程拟合, 得 OD 的拟合方程为 $OD = 0.51 - 0.057 X_1 - 0.0153 X_2 - 0.127 X_3 - 0.114 X_1 X_2 + 0.136 X_1 X_3 + 0.146 X_2 X_3 + 0.066 X_1^2 - 0.022 X_2^2 - 0.095 X_3^2$,

$R^2 = 0.9522$, $P < 0.0001$ 。拟合方程 R^2 大于 0.9, 表明模型拟合程度较好; 模型 $P < 0.0001$, 具有显著性差异, 失拟项 $P > 0.05$, 差异无统计学意义, 方程预测结果可靠性高, 可反映实际情况。OD 值方差分析结果见表 7, 其中 X_1 、 X_3 、 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_3^2 有显著或极显著差异; 以 OD 值为评价指标对交互关系的响应面 2D 和 3D 效果图见图 2。

2.5.3 最优处方的验证 根据软件预测结果, 最终优化后处方为壳聚糖质量浓度为 1.5 mg/mL, 果胶质量浓度为 1.5 mg/mL, TPP 质量浓度为 2.0 mg/mL, 壳聚糖 pH 值为 5.0。测得包封率为 $(61.64 \pm 1.77)\%$, 载药量为 $(8.05 \pm 0.18)\%$, 粒径为 (418.65 ± 4.92) nm, ζ 电位为 (-14.14 ± 0.22) mV, 分别与预测值较为接近。结果见表 8。

相对偏差 = (预测值 - 实测值) / 预测值

表 6 响应面实验设计与结果

Table 6 Design and results of response surface experimental

序号	X ₁ / (mg·mL ⁻¹)	X ₂ / (mg·mL ⁻¹)	X ₃	Y ₁ / nm	Y ₂ / mV	Y ₃ / %	Y ₄ / %	OD	序号	X ₁ / (mg·mL ⁻¹)	X ₂ / (mg·mL ⁻¹)	X ₃	Y ₁ / nm	Y ₂ / mV	Y ₃ / %	Y ₄ / %	OD
1	1.5 (-1)	1.5 (-1)	4.0 (-1)	454.6	-17.7	61.22	7.80	0.79	11	2.0 (0)	1.0 (-1.68)	4.5 (0)	544.3	-9.8	59.60	7.32	0.55
2	2.5 (+1)	1.5 (-1)	4.0 (-1)	327.9	-12.5	63.00	6.41	0.57	12	2.0 (0)	3.0 (+1.68)	4.5 (0)	603.9	-13.4	60.21	5.72	0.42
3	1.5 (-1)	2.5 (+1)	4.0 (-1)	364.9	-18.2	60.31	6.26	0.70	13	2.0 (0)	2.0 (0)	3.5 (-1.68)	345.5	-13.9	68.01	7.02	0.56
4	2.5 (+1)	2.5 (+1)	4.0 (-1)	378.5	-14.5	68.00	5.45	0.08	14	2.0 (0)	2.0 (0)	5.5 (+1.68)	583.7	-5.9	63.80	6.84	0.00
5	1.5 (-1)	1.5 (-1)	5.0 (+1)	786.5	-11.9	65.22	8.31	0.00	15	2.0 (0)	2.0 (0)	4.5 (0)	533.4	-13.5	60.99	6.53	0.56
6	2.5 (+1)	1.5 (-1)	5.0 (+1)	678.3	-10.4	61.20	6.35	0.38	16	2.0 (0)	2.0 (0)	4.5 (0)	631.2	-15.8	62.42	6.69	0.52
7	1.5 (-1)	2.5 (+1)	5.0 (+1)	551.1	-12.5	61.55	6.81	0.55	17	2.0 (0)	2.0 (0)	4.5 (0)	646.8	-15.4	64.01	6.86	0.47
8	2.5 (+1)	2.5 (+1)	5.0 (+1)	477.9	-12.2	63.83	5.90	0.42	18	2.0 (0)	2.0 (0)	4.5 (0)	635.1	-15.3	61.39	6.58	0.52
9	1.0 (-1.68)	2.0 (0)	4.5 (0)	522.6	-16.8	58.62	7.77	0.79	19	2.0 (0)	2.0 (0)	4.5 (0)	648.1	-15.7	63.10	6.59	0.48
10	3.0 (+1.68)	2.0 (0)	4.5 (0)	348.9	-15.6	57.65	5.18	0.68									

表 7 方差分析结果 (OD 值)

Table 7 Results of variance analysis (OD value)

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	0.910	9	0.100	19.930	<0.000 1	X ₁ ²	0.060	1	0.060	11.790	0.007 5
X ₁	0.044	1	0.044	8.700	0.016 2	X ₂ ²	6.790×10 ⁻³	1	6.790×10 ⁻³	1.340	0.276 4
X ₂	3.187×10 ⁻³	1	3.187×10 ⁻³	0.630	0.447 6	X ₃ ²	0.120	1	0.120	24.250	0.000 8
X ₃	0.220	1	0.220	43.430	0.000 1	残差	0.046	9	5.056×10 ⁻³		
X ₁ X ₂	0.100	1	0.100	20.470	0.001 4	失拟项	0.040	5	8.061×10 ⁻³	6.200	0.050 7
X ₁ X ₃	0.150	1	0.150	29.370	0.000 4	纯偏差	5.200×10 ⁻³	4	1.300×10 ⁻³		
X ₂ X ₃	0.170	1	0.170	33.840	0.000 3	总离差	0.950	18			

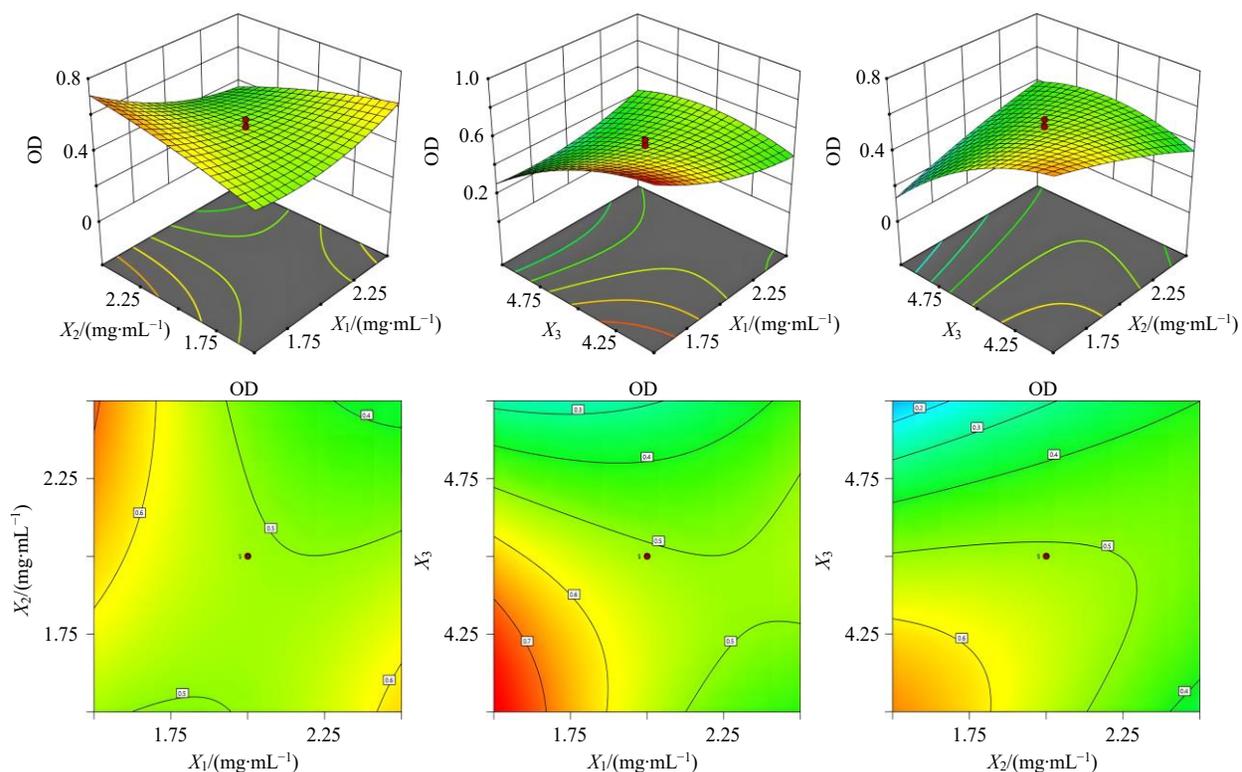


图 2 因素间交互作用的响应面 2D 图和 3D 图 (OD 值)

Fig. 2 Response surface 2D plot and 3D plot of interaction between factors (OD value)

表 8 最优处方的验证 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

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

参数	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV	OD 值
实测值	61.64 ± 1.77	8.05 ± 0.18	418.65 ± 4.92	-14.14 ± 0.22	0.75 ± 0.06
预测值	62.14	7.74	442.69	-16.49	0.79
相对偏差/%	1.76	4.08	5.43	14.54	4.68

2.6 DC-CS/PT-NPs 的质量评价

2.6.1 粒径和 ζ 电位的测定 岩黄连碱是一种季铵盐基上带强正电荷的小檗碱类生物碱。果胶是从柑橘等植物中提取的一种多糖，含有带负电的羧基。果胶与带相反电荷的壳聚糖和岩黄连碱之间的静电作用导致形成稳定的 NPs。取 DC-CS/PT-NPs 冻干粉，用 10 mL 1% 盐酸复溶，超声波细胞粉碎机超声 8 min，功率为 630 W，于粒度仪测定其粒径为 (422.20 ± 7.87) nm， ζ 电位为 (-15.91 ± 0.62) mV，结果见图 3。岩黄连碱、DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 的外观图以及 DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 的冻干粉图见图 4，纳米粒冻干后为较为蓬松的粉末状。

2.6.2 TEM 和 SEM 形态观察 取复溶后的 DC-CS/PT-NPs 用水适当稀释，取少许滴至铺有碳膜的铜网上，用 2% 磷钨酸染色，晾干后，TEM 下观察其形态并拍照。取一定量 DC-CS/PT-NPs 冻干粉于真空条件下喷金后置于 SEM 下观察。结果表明，制备得到的 DC-CS/PT-NPs 呈类球形，粒径在 415 nm 左右，结果见图 5。

2.6.3 FT-IR 分析 取岩黄连碱、DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 冻干粉，与 100.0 mg 溴化钾基质混合研磨，10 MPa 下压成薄片，置于红外光谱仪下扫描，结果见图 6。结果显示，岩黄连碱、岩黄连碱与 DC-CS/PT-NPs 的物理混合物、岩黄连碱与 CS/PT-NPs 的物理混合物在 1550 cm^{-1} 都有 C-N 单键的特征吸收峰，而 CS/PT-NPs、DC-CS/PT-NPs 在 1550 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， $1650 \sim 1750\text{ cm}^{-1}$ 是碳基的特征吸收。这表明 DC-CS/PT-NPs 制备成功。

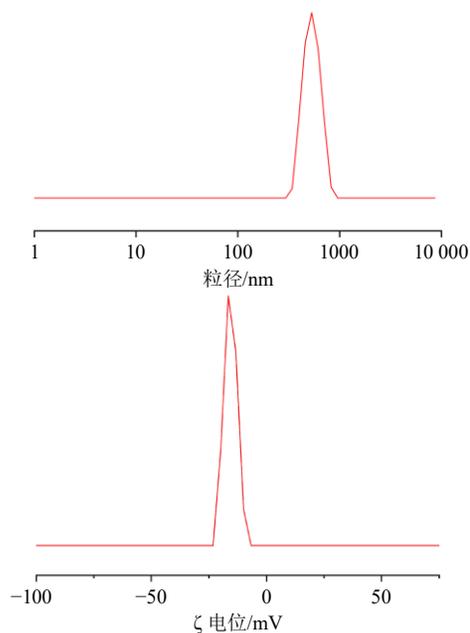


图 3 DC-CS/PT-NPs 的粒径和 ζ 电位
Fig. 3 Particle size and ζ potential of DC-CS/PT-NPs

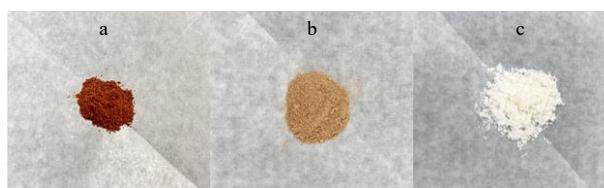


图 4 岩黄连碱 (a)、DC-CS/PT-NPs (b)、CS/PT-NPs (c) 的外观图
Fig. 4 Appearance of dehydrocavidine (a), DC-CS/PT-NPs (b), CS/PT-NPs (c)

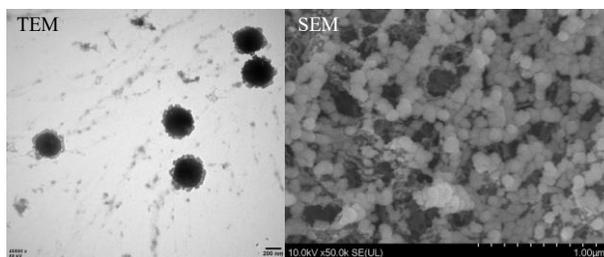


图 5 DC-CS/PT-NPs 的 TEM 和 SEM 图
Fig. 5 TEM and SEM images of DC-CS/PT-NPs

PT-NPs 冻干粉、岩黄连碱与 CS/PT-NPs 冻干粉的物理混合物适量分别与 100.0 mg 溴化钾基质混合研磨，10 MPa 下压成薄片，置于红外光谱仪下扫描，结果见图 6。结果显示，岩黄连碱、岩黄连碱与 DC-CS/PT-NPs 的物理混合物、岩黄连碱与 CS/PT-NPs 的物理混合物在 1550 cm^{-1} 都有 C-N 单键的特征吸收峰，而 CS/PT-NPs、DC-CS/PT-NPs 在 1550 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， $1650 \sim 1750\text{ cm}^{-1}$ 是碳基的特征吸收。这表明 DC-CS/PT-NPs 制备成功。

2.6.4 差示扫描量热 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 取岩黄连碱、DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 冻干粉、岩黄连碱与 CS/PT-NPs 冻干粉的物理混合物，进行 DSC 测定置于铝制样品盘中压制后，

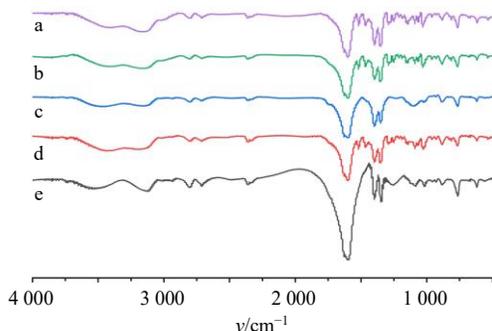


图6 岩黄连碱 (a)、岩黄连碱+DC-CS/PT-NPs (b)、CS/PT-NPs (c)、岩黄连碱+CS/PT-NPs (d)、DC-CS/PT-NPs (e) 的 FT-IR 图

Fig. 6 FT-IR of dehydrocavidine (a), dehydrocavidine + DC-CS/PT-NPs (b), CS/PT-NPs (c), dehydrocavidine + CS/PT-NPs (d), DC-CS/PT-NPs (e)

在 DSC 的样品室中，以空铝钵为参比进行测试。测试条件：气氛为氮气，扫描温度 30~300 °C，加热速率 10 °C/min，结果见图 7。岩黄连碱、岩黄连碱和 CS/PT-NPs 物理混合物在 265 °C 有明显的放热峰，DC-CS/PT-NPs 和 CS/PT-NPs 则没有，这表明岩黄连碱成功被包裹在 NPs 里。

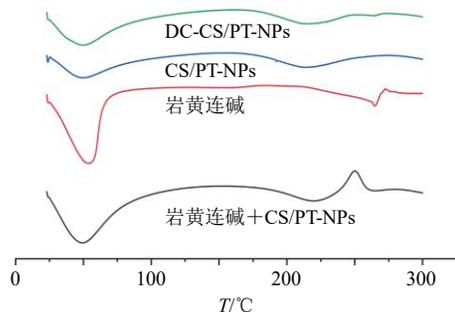


图7 DC-CS/PT-NPs 的 DSC 图
Fig. 7 DSC of DC-CS/PT-NPs

2.6.5 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 分析 取岩黄连碱、DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 冻干粉、岩黄连碱与 CS/PT-NPs 冻干粉的物理混合物进行 XRD 测定，测定条件：Cu $\kappa\alpha$ 辐射 (0.154 056 nm)，扫描范围 5°~45°，扫描速率 5°/min，结果见图 8。结果显示，岩黄连碱的特征峰出现在岩黄连碱与 CS/PT-NPs 物理混合物扫描图中，在 DC-CS/PT-NPs、CS/PT-NPs 扫描图中消失，这表明 DC-CS/PT-NPs 制备成功。

2.6.6 体外释药特性^[17] 采用透析袋法考察 DC-CS/PT-NPs 的体外释放。将 1 mL DC-CS/PT-NPs 加入透析袋中，在 20 mL pH 2.0 盐酸溶液中悬浮振荡 2 h，模拟过渡胃状态；然后，将透析袋悬浮在 20 mL

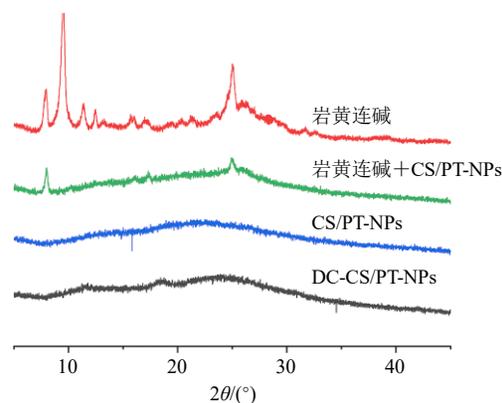


图8 DC-CS/PT-NPs 的 XRD 图
Fig. 8 XRD of DC-CS/PT-NPs

pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (PBS) 中振荡 4 h，以模拟小肠状态；透析袋进一步悬浮在 20 mL 有肠道菌群 (从 SD 大鼠盲肠过滤液中获得) 存在的 pH 7.4 PBS 中振荡 8 h。于 (37.0 ± 0.5) °C 恒温振荡器中振荡，在 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、5.00、6.00、8.00、10.00、12.00、14.00、16.00 h 取 1 mL 释放液，并补充等量等温的释放介质。释放液离心，取上清过 0.22 μm 滤膜，进行 HPLC 测定，结果见图 9。

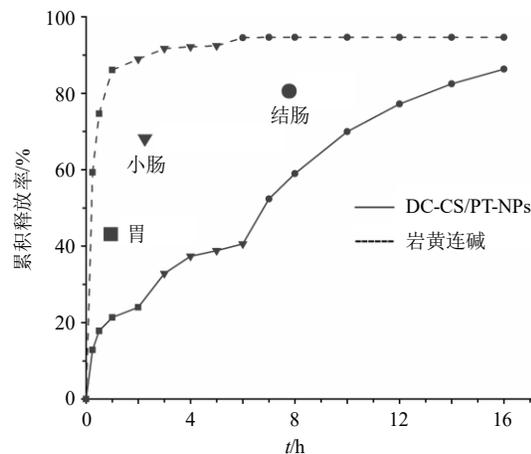


图9 岩黄连碱和 DC-CS/PT-NPs 体外释放曲线
Fig. 9 Release profiles *in vitro* of dehydrocavidine and DC-CS/PT-NPs

测试不同模拟生理条件下的 DC-CS/PT-NPs 的粒径和 TEM 图，结果见图 10。实验结果表明，DC-CS/PT-NPs 在人工胃液中 2 h 仅释放 24.35%，在人工肠液中 4 h 释放 < 40%，在人工结肠液中释放 > 85%。从图 10 可看出，纳米颗粒在 pH 2.0 和 pH 6.8 条件下较为稳定，粒径变化较小，且纳米粒较为完整，而在含有肠道微生物的 pH 7.4 条件下较为敏感，粒径明显变大，且纳米粒已被完全破坏。在结肠部位，由于 pH 值的变化及肠道菌群介导，壳聚

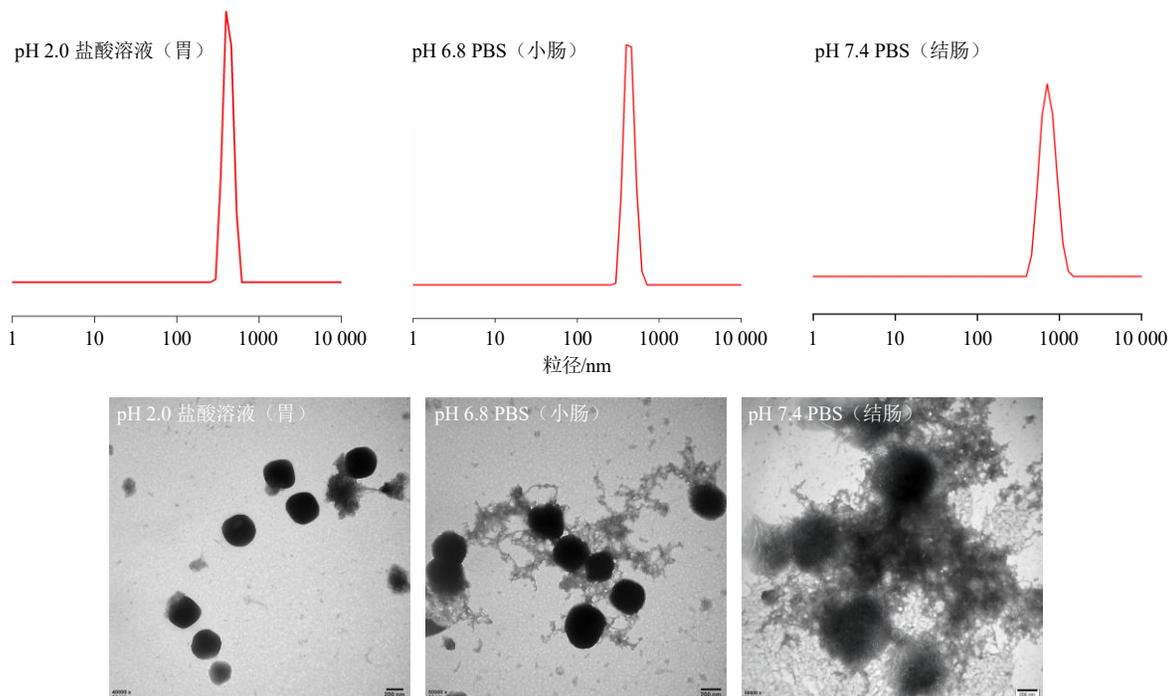


图 10 不同模拟生理条件下 DC-CS/PT-NPs 的粒径图和 TEM 图

Fig. 10 Particle size images and TEM images of DC-CS/PT-NPs under different simulated biological fluids

糖和果胶的静电引力减弱，导致 NPs 被破坏，大量岩黄连碱爆发释放。

这个结果提示，DC-CS/PT-NPs 可能为一种很有前景的结肠给药载体，可保护药物不被肠道酶降解，同时减少上消化道刺激。

2.6.7 体外释放模型的建立^[18] 根据《中国药典》

2020 年版^[19]，将释放结果用常见的动力学模型进行拟合，拟合结果见表 9。决定系数 (R^2) 越高的动力学模型被认为是最符合的药物释放动力学模型^[20]。从表 9 可知，岩黄连碱和 DC-CS/PT-NPs 的体外释放分别以一级模型和 Riger-Peppas 释放模型释放。经过制备成 NPs，改变了其释放模型，DC-CS/PT-

表 9 岩黄连碱和 DC-CS/PT-NPs 的释药模型拟合方程

Table 9 Drug release model fitting equations of dehydrocavidine and DC-CS/PT-NPs

模型	拟合方程	
	岩黄连碱	DC-CS/PT-NPs
零级方程 $Q=kt$	$Q=2.527\ 93\ t, R^2=0.217\ 86$	$Q=5.075\ 00\ t, R^2=0.958\ 53$
一级方程 $Q=a(1-e^{-kt})$	$Q=93.002\ 55(1-e^{-3.635\ 46\ t}), R^2=0.989\ 86$	$Q=105.100\ 35(1-e^{-0.105\ 74\ t}), R^2=0.944\ 43$
Higuchi 方程 $Q=kt^{1/2}$	$Q=5.055\ 86\ t^{1/2}+68.231\ 74, R^2=0.217\ 86$	$Q=10.150\ 00\ t^{1/2}+13.502\ 26, R^2=0.958\ 53$
Riger-Peppas 方程 $Q=at^k$	$Q=79.640\ 71\ t^{0.080\ 79}, R^2=0.963\ 55$	$Q=17.054\ 12\ t^{0.589\ 18}, R^2=0.976\ 06$

NPs 在胃和小肠生理条件下释放缓慢，表现出较好的药物缓释效果，到达结肠部位大量释放，起到了结肠靶向作用。

3 讨论

岩黄连碱是从岩黄连中分离得到的季铵碱类化合物，是岩黄连总碱的主要活性成分。多项研究表明，岩黄连碱具有护肝及抗肝纤维化等药理作用。Li 等^[21]研究包括岩黄连碱在内的 4 种生物碱在大鼠体内 iv 和口服给药 2 种状态下的药动学，其中岩黄

连碱口服最终消除半衰期为 (154.86 ± 94.51) min，口服生物利用度为 $(13.24 \pm 10.86)\%$ ，表明岩黄连碱口服给药后存在显著的首过效应，口服生物利用度低。同时，吴方等^[22]证实了大鼠 ig 给予岩黄连提取物后，其通过肝脏和肠道代谢，在大鼠血液、尿液及粪便中均可发现岩黄连碱的代谢物，表明岩黄连碱口服制剂的开发是一个有利的应用方向。然而岩黄连碱水溶性差，口服生物利用度低限制了其开发应用。纳米粒包封是克服药物疏水性方法中的一

种。研究报道, 结肠给药系统是基于 pH 敏感和控释防止药物在到达结肠前完全释放^[23]。壳聚糖/果胶聚电解质复合物可成功负载牛血清蛋白 (BSA), BSA 在结肠部位的累计释放率达到 30%~50%, 表明壳聚糖/果胶可以用作结肠定位释药的载体^[16,24]。

因此本研究选用岩黄连碱为模型药物, 壳聚糖和果胶作为口服给药的载体材料, 采用离子凝胶法制备一种对结肠特殊生理环境有特异性响应的聚电解质复合纳米粒 DC-CS/PT-NPs。本研究成功制备 DC-CS/PT-NPs, 并对其表征。从 TEM 结果可以看出, 纳米粒呈类球形; 粒径为 (422.20 ± 7.87) nm, 较为均一, 研究报道, 粒径 < 500 nm 的颗粒可以通过肠上皮细胞的内吞作用吸收^[25]。DC-CS/PT-NPs 的表面负电荷为 (-14.14 ± 0.22) mV。纳米颗粒是否会积聚或黏附在血流中或与带相反电荷的细胞膜相互作用取决于 ζ 电位^[26]。DC-CS/PT-NPs 封装率为 $(61.64 \pm 1.77)\%$, 考虑是岩黄连碱在水和冷乙醇的溶解度较低^[8], 部分药物析出, 从而导致封装率较低。

利用胃肠道 pH 值的变化规律及肠道菌群的调控, 采用壳聚糖和果胶这 2 种辅料, 将药物制备成 pH 依赖型聚合物。pH 值介于 3.0~6.0 时, 果胶分子中的 -COOH 发生部分去质子化, 形成 -COO⁻, 可与壳聚糖中的 -NH₃⁺ 发生离子交联, 形成 -COO⁻ + NH₃⁺ 次价键, 通过静电作用形成聚电解质复合物^[27]。果胶耐受高酸的胃部环境, 且并不被胃部内的蛋白酶、淀粉酶分解, 可保护岩黄连碱在胃肠道环境中不被释放。在富含菌群的人工结肠液段, 肠道微生物触发果胶的降解, 同时因 pH 值的改变果胶羧基团大量解离, 纳米粒溶解并释放药物。在本研究中, 不同的 pH 值环境模拟了体内胃肠道, 并测定 DC-CS/PT-NPs 中岩黄连碱的释放率。在人工胃液中 2 h 仅释放 24.35%, 随着 pH 值升高, 岩黄连碱的释放量逐渐增加, 在人工肠液中 4 h 累积释放率 $< 40\%$, 到达人工结肠液中 10 h 后累积释放率 $> 85\%$ 。结合 DC-CS/PT-NPs 在不同 pH 值条件下粒径和形态变化, 可以说明 DC-CS/PT-NPs 保护岩黄连碱不被胃和肠道破坏, 起到结肠靶向作用。

综上所述, 本研究采用具有良好生物相容性的天然材料壳聚糖和果胶负载岩黄连碱, 成功制备了类球形, 粒径较为均一的 DC-CS/PT-NPs。通过体外释放度实验, 表明 DC-CS/PT-NPs 可保护药物经过胃肠环境, 在结肠环境释放。DC-CS/PT-NPs 有望通

过将岩黄连碱靶向结肠通过调控肠道微生物群和改善肠道屏障、肠肝炎症从而起到抗肝纤维化效果。后续将继续研究 DC-CS/PT-NPs 体内抗肝纤维化药效学、药动学, 以期为民药岩黄连碱新型口服保肝制剂的研发及应用提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues [J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 37-55.
- [2] Lambrecht J, van Grunsven L A, Tacke F. Current and emerging pharmacotherapeutic interventions for the treatment of liver fibrosis [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2020, 21(13): 1637-1650.
- [3] Yu L X, Schwabe R F. The gut microbiome and liver cancer: Mechanisms and clinical translation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(9): 527-539.
- [4] 蒋水元, 胡兴华, 赵瑞峰. 岩黄连引种栽培研究 [J]. *广西植物*, 2002, 22(5): 469-473.
- [5] 余姣娇, 邱志霞, 刘秋燕, 等. 岩黄连的研究进展 [J]. *药学研究*, 2018, 37(6): 342-345.
- [6] 王奇志, 梁敬钰, 原悦. 岩黄连化学成分 [J]. *中国天然药物*, 2007, 5(1): 31-34.
- [7] 陈重阳, 赵一. 中药岩黄连主要成分脱氢卡维丁的药理研究 [J]. *中药通报*, 1982, 7(2): 31-34.
- [8] 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.
- [9] 张凯丽. 脱氢卡维丁联合顺铂对肺癌细胞的作用研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2019.
- [10] Wang T, Zhao L J, Li P, et al. Hepatoprotective effects and mechanisms of dehydrocavidine in rats with carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138(1): 76-84.
- [11] 苏晓丹, 麦琬婷, 钟华帅, 等. 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 [J]. *中草药*, 2022, 53(22): 7019-7028.
- [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] 唐迪. 壳聚糖通过调整肠道菌群和瘦素水平改善肥胖的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2020.
- [14] Prandi B, Baldassarre S, Babbar N, et al. Pectin oligosaccharides from sugar beet pulp: Molecular characterization and potential prebiotic activity [J]. *Food Funct*, 2018, 9(3): 1557-1569.
- [15] Guo H H, Ma C, Zheng W S, et al. Dual-stimuli-

- responsive gut microbiota-targeting berberine-CS/PT-NPs improved metabolic status in obese hamster [J]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(13): 1808197.
- [16] 张立彦, 李作为, 曾庆孝. 壳聚糖/果胶复合作用研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(8): 85-87.
- [17] 刘天易, 王信, 杨田义, 等. pH 依赖型重芪结肠靶向微丸的制备及体外释放性能的评价 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3199-3203.
- [18] 刘欣欣, 黄甜甜, 付婧欣, 等. Box-Behnken 效应面法优化小豆蔻明纳米混悬剂处方工艺及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1419-1428.
- [19] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 132-137.
- [20] Dima C, Pătrașcu L, Cantaragiu A, *et al.* The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules [J]. *Food Chem*, 2016, 195: 39-48.
- [21] Li H L, Zhang W D, Zhang C, *et al.* Bioavailability and pharmacokinetics of four active alkaloids of traditional Chinese medicine Yanhuanglian in rats following intravenous and oral administration [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(4): 1342-1346.
- [22] 吴方, 刘西, 梁永红, 等. 基于 MDF 的岩黄连水提物在大鼠血浆、尿液、胆汁及粪便中的代谢产物研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(1): 28-35.
- [23] 鲜静, 张晨, 钟雪梅, 等. 中药活性成分口服结肠靶向纳米系统治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1816-1826.
- [24] 包丽坤. 壳聚糖/果胶聚电解质复合物特性分析及牛血清蛋白负载研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [25] 张文艳, 李旷代, 王强松, 等. 微/纳米口服结肠靶向给药系统在炎症性肠病治疗中的研究进展 [J]. 天津中医药, 2020, 37(3): 355-360.
- [26] Alexis F, Pridgen E, Molnar L K, *et al.* Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles [J]. *Mol Pharm*, 2008, 5(4): 505-515.
- [27] 张立彦, 刘小芳, 李作为. 壳聚糖与果胶复合作用研究及显微观察 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 115-120.

[责任编辑 郑礼胜]