

鞣花酸自胶束化固体分散体制备及口服药动学行为研究

张亚林¹, 郭志刚¹, 王丹凤¹, 黄涛^{1*}, 崔锋^{2*}

1. 黄河科技学院, 河南 郑州 450063

2. 亳州高新科创医药产业技术研究院有限公司, 安徽 亳州 236839

摘要: 目的 制备鞣花酸自胶束化固体分散体 (ellagic acid-loaded self-micelle solid dispersion, EA-SMSD), 考察体外释药情况 & 口服药动学行为。方法 以 EA-SMSD 自组装形成胶束的包封率、载药量和沉降率为指标, Box-Behnken 设计-效应面法优化 EA-SMSD 处方工艺。透射电子显微镜 (TEM) 观察自组装胶束的微观形貌, X 射线粉末衍射法 (XRPD) 分析鞣花酸在 EA-SMSD 粉末中的晶型, 透析袋法考察 EA-SMSD 在水及模拟胃、肠液中释药情况。以鞣花酸原料药为参考, 比较 EA-SMSD 口服药动学行为。结果 EA-SMSD 最佳处方: Soluplus 与鞣花酸用量比为 7.8:1, 制备温度为 50 °C, 制备时间为 1.6 h。自组装形成胶束的包封率为 (94.62 ± 1.12) %, 载药量为 (10.57 ± 0.24) %, 沉降率为 (2.19 ± 0.09) %, 粒径为 (68.90 ± 6.87) nm, ζ 电位为 (-13.11 ± 1.02) mV。鞣花酸以无定型形式存在于 EA-SMSD 粉末中, EA-SMSD 在水及模拟胃、肠液中释药行为符合 Weibull 模型, 且储存稳定性高。药动学结果显示, EA-SMSD 达峰时间 ($t_{\max}$) 延后至 (5.15 ± 0.98) h, 达峰浓度 ($C_{\max}$) 提高至 4.03 倍, 相对口服吸收生物利用度提高至 6.03 倍。结论 EA-SMSD 制备工艺简单, 可显著增加鞣花酸相对口服吸收生物利用度。

关键词: 鞣花酸; 自组装胶束; Box-Behnken 设计-效应面法; 释药行为; 药动学; 生物利用度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)13-4350-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.008

Preparation and oral pharmacokinetic study of ellagic acid-loaded self-micelle solid dispersion

ZHANG Yalin¹, GUO Zhigang¹, WANG Danfeng¹, HUANG Tao¹, CUI Feng²

1. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China

2. Bozhou Hi-tech Innovation Pharmaceutical Industry Technology Research Institute Co., Ltd., Bozhou 236839, China

Abstract: Objective To prepare ellagic acid-loaded self-micelle solid dispersion (EA-SMSD), and study drug release *in vitro* and oral pharmacokinetic behaviors *in vivo*. **Methods** Encapsulation efficiency, drug loading and sedimentation rate of self-assembled micelles acted as evaluation indexes, formulation of EA-SMSD was optimized by Box-Behnken design-response surface method. Morphology of self-assembled micelles was observed by transmission electron microscopy (TEM), and crystal form of ellagic acid in EA-SMSD powder was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD). Drug release behaviors of ellagic acid from EA-SMSD in water and simulated gastrointestinal fluid were also investigated. Using ellagic acid as control, oral pharmacokinetic behavior of EA-SMSD was also compared. **Results** Optimal preparation of EA-SMSD: Soluplus to ellagic acid ratio was 7.8:1, preparation temperature was 50 °C and preparation time was 1.6 h. Encapsulation efficiency, drug loading, sedimentation rate, particle size and ζ potential of the self-assembled micelles were (94.62 ± 1.12)%, (10.57 ± 0.24)%, (2.19 ± 0.09)%, (68.90 ± 6.87) nm and (-13.11 ± 1.02) mV, respectively. Ellagic acid existed as an amorphous form in EA-SMSD powder. Drug release behaviors of EA-SMSD in water and simulated gastrointestinal fluid were conformed to Weibull model, and the storage stability was high. Pharmacokinetic results showed that $t_{\max}$ of EA-SMSD was delayed to (5.15 ± 0.98) h, $C_{\max}$ was increased to 4.03 times, and its relative bioavailability was increased

收稿日期: 2023-12-21

基金项目: 国家教育部产学研合作协同育人项目 (2206005410900332); 亳州市重点研发计划 (bzcz2021044); 普通高等学校学科专业建设资助项目 (2020162001), 河南省一流本科专业 (药学) (202007387)

作者简介: 张亚林 (1985—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为临床药学。Tel: (0371)56677231 E-mail: yalin19850511@126.com

*通信作者: 黄涛 (1972—), 男, 硕士, 教授, 研究方向为药物代谢动力学及新药研发。Tel: (0371)68787667 E-mail: 419865751@qq.com

崔锋 (1982—), 男, 本科, 副研究员, 研究方向为制药工程。Tel: (0558)5180295 E-mail: CuiF1982@qq.com

to 6.03 times. **Conclusion** The preparation process of EA-SMSD was simple, and EA-SMSD could significantly increase the relative oral bioavailability of ellagic acid.

Key words: ellagic acid; self-assembled micelles; Box-Behnken design-response surface method; drug release behavior; pharmacokinetics; bioavailability

鞣花酸 (ellagic acid, EA) 是一种天然多酚二内酯, 在树莓等蔷薇科植物可提取得到^[1], 具有抗肿瘤、消炎、降血糖、镇静、抗氧化、降血压等药理活性^[1-2], 基本无毒性, 临床使用安全性高^[3]。鞣花酸在水中溶解度仅为 22.9 $\mu\text{g/mL}$ ^[4], 导致溶出速率和溶出度均极低, 脂溶性也较差, 属于生物药剂学 IV 药物^[5-6]。鞣花酸在胃肠液中稳定性差^[7-8], 极大影响了口服吸收^[8], 使药效大打折扣。提高鞣花酸口服吸收生物利用度是临床使用首先需解决的问题, 鞣花酸新型制剂研究有磷脂复合物^[5]、脂质体^[9]、脂质纳米粒^[10]、纳米混悬剂^[11]、纳米乳^[12]等, 但磷脂复合物和脂质体在机体胃肠道中稳定性差, 影响促吸收效果; 脂质纳米粒存在辅料种类多、工艺复杂、载药量较低等缺陷; 纳米乳处方中含有大量表面活性剂, 制剂安全性存疑。

固体分散体 (solid dispersion, SD) 一般采用亲水性材料 [如聚乙二醇吡咯烷酮 (PVP) K30、聚乙二醇 (PEG) 4000 等] 为载体而得到的一种固体粉末^[13], 可有效改善药物溶解度、溶出度及生物利用度。但 SD 容易发生析晶, 促吸收作用受到一定限制, 且容易发生老化现象, 储存稳定性较差^[14], 制约了 SD 在医药领域的应用。自胶束化固体分散体 (self-micelle solid dispersion, SMSD) 系采用两亲性聚合物为载体而制得的一种固体粉末, 在水相或胃肠液中可自组装形成纳米胶束 (图 1), 通过纳米化、抑制晶型转化、增强润湿性等来改善药物溶解度及溶出度, 并降低药物在机体胃肠道降解几率, 促进药物经胃肠道渗透吸收, 提高生物利用度^[15-16]。SMSD 无需添加冻干保护剂即可制备成粉末, 与纳米胶束相比 SMSD 最终制剂的载药量更高、制备过程更简单。聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物 (Soluplus) 是一种两亲性非离子型表面活性剂, 粉末流动性良好, 安全性高, 在医药领域应用广泛^[17]。SMSD 在国内鲜见报道, 本研究采用 Soluplus 作为载体制备鞣花酸自胶束化固体分散体 (ellagic acid-loaded self-micelle solid dispersion, EA-SMSD), 采用 PVP K30 制备鞣花酸固体分散体 (ellagic acid solid dispersion, EA-SD)^[4], 比较 EA-SMSD 和 EA-SD 在模拟胃、肠液中释药情况、储存

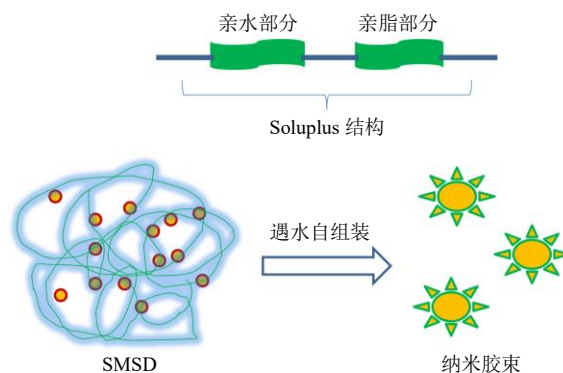


图 1 SMSD 示意图

Fig. 1 Schematic image of SMSD

稳定性及口服药动学行为, 为后续研究或临床应用提供研究资料。

1 仪器、材料与动物

LGE-205E 型电子分析天平、L-TSC-A1 型氮气吹扫仪, 合肥兰杰柯科技有限公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; BX-2F 型磁力搅拌器, 常州普天仪器公司; Neofuge-13 型高速离心机, 北京信立方科技发展股份有限公司; TENLIN 型超声仪, 江苏天翔仪器有限公司; D8 Advance 型 X 射线衍射仪, 瑞士布鲁克仪器公司; UVS-1 型涡旋振荡器, 北京优晟联合科技有限公司; Master-sizer 型粒度分析仪, 英国马尔文仪器公司; HS-50B 型恒温恒湿箱, 上海和呈仪器制造有限公司; Talos F200X S 型透射电子显微镜 (TEM), 赛默飞世尔科技有限公司。

鞣花酸对照品, 批号 200908, 质量分数 99.4%, 万佳标准物质研发中心; 鞣花酸原料药, 批号 20200516, 质量分数 98.8%, 南京道斯夫生物科技有限公司; Soluplus, 批号 38830216K0, 德国巴斯夫公司; 芍药苷对照品, 批号 110736-202144, 质量分数 100.0%, 中国食品药品检定研究院; 模拟胃液 (批号 20220212)、模拟肠液 (批号 20220224), 广州臻萃质检技术服务有限公司。

SD 大鼠, 体质量为 220~250 g, 雌雄兼具, 河南省实验动物中心 [SCXK (豫) 2020-0001]。所有动物实验遵循黄河科技学院有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R (减量化、再利用和再循环) 原则。

2 方法与结果

2.1 鞣花酸与 Soluplus 相容性研究

采用溶解度参数法^[18-20]研究鞣花酸与 Soluplus 相容性。溶解度参数 (δ_t) 分为色散力能 (F_d)、极性能 (F_p) 和氢键能 (F_h)，这些参数可用基团贡献理论计算得到^[18]。采用 δ_d 、 δ_p 、 δ_h 、 δ_t 分别代表色散力分量、极性分量、氢键分量和溶解度参数，计算公式分别如下。

$$\delta_d = \sum F_{di} / V$$

$$\delta_p = (\sum F_{pi})^{1/2} / V$$

$$\delta_h = (\sum E_{hi})^{1/2} / V$$

$$\delta_t = (\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2)^{1/2}$$

计算得鞣花酸和 Soluplus 溶解度参数 δ_t 分别为 23.0 MPa^{1/2} 和 23.4 MPa^{1/2}，二者溶解度参数之差 $\Delta\delta$ 仅为 0.4 MPa^{1/2}，当 $\Delta\delta$ 小于 7 MPa^{1/2} 时，表示二者之间相容性良好^[19-20]，故选用 Soluplus 来制备 EA-SMSD。

2.2 EA-SMSD 的制备及自组装胶束的形成

取鞣花酸 20 mg 和处方量 Soluplus 置于圆底烧瓶，加入适量乙醇，50 °C 下磁力搅拌 (700 r/min) 至溶解澄清，置 50 °C 水浴中减压旋蒸得 EA-SMSD 固体粉末，过 80 目筛后置于 40 °C 真空干燥箱中过夜干燥。取 EA-SMSD 约 10 mg，加入 25 mL 蒸馏水，37 °C 下磁力搅拌 (700 r/min) 30 min，即可自组装形成纳米胶束混悬液，0.22 μ m 微孔滤膜滤过，即得。

2.3 EA-SMSD 中鞣花酸含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)；流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (55:45)；波长为 254 nm；柱温为 30 °C；进样量为 10 μ L；体积流量为 1.0 mL/min；理论塔板数以鞣花酸计不低于 8 000。

2.3.2 供试品溶液的配制 取 EA-SMSD 粉末 10 mg 至 25 mL 量瓶中，加入 40 mL 甲醇震荡溶解，并用甲醇稀释定容，摇匀。精密取 1 mL 置于 25 mL 量瓶中，加入流动相稀释定容，即得 EA-SMSD 供试品溶液。

2.3.3 对照品储备溶液的配制 精密称取鞣花酸对照品 10 mg，置于 50 mL 量瓶中，加 40 mL 甲醇超声溶解，加甲醇稀释定容，得 200 μ g/mL 鞣花酸对照品储备液。

2.3.4 线性关系考察 取 200 μ g/mL 鞣花酸对照品储备液，采用甲醇稀释至 5.00、2.00、1.00、0.50、

0.25、0.05 μ g/mL，分别取 10 μ L 各对照品溶液按“2.3.1”项下色谱条件进样测定。以取鞣花酸峰面积 (A) 对其质量浓度 (C) 进行线性回归，得回归方程： $A=31.6512C+1.2804$ ， $r=0.9998$ ，线性范围为 0.05~5.00 μ g/mL。

2.3.5 专属性考察 取 Soluplus 等辅料按照“2.2”项下方法制备阴性样品 (不含鞣花酸)，按照“2.3.2”项下方法制备阴性样品溶液。取阴性样品溶液、EA-SMSD 供试品溶液和鞣花酸对照品溶液进样分析，色谱图见图 2。结果表明，制剂辅料未干扰鞣花酸色谱峰，本实验专属性高。

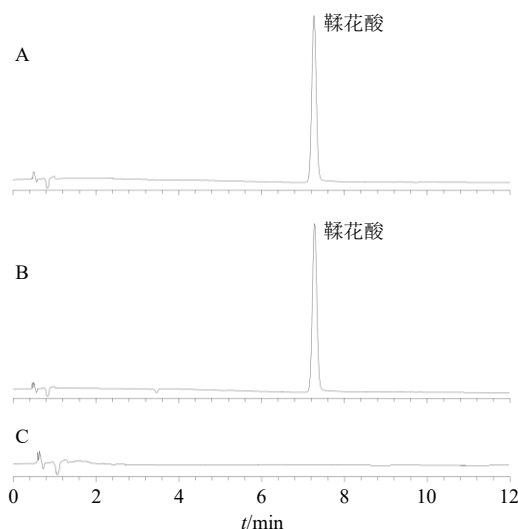


图 2 鞣花酸对照品溶液 (A)、EA-SMSD 供试品溶液 (B) 和阴性样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of ellagic acid reference substance (A), EA-SMSD sample solution (B) and negative sample solution (C)

2.3.6 精密度考察 分别取 5.00、1.00、0.05 μ g/mL 对照品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样测试 6 次，结果鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.24%、0.73%、0.40%，结果表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性考察 取 EA-SMSD 供试品溶液，于制备后 0、2、4、8、12、24 h，分别按“2.3.1”项下色谱条件进样测定鞣花酸峰面积，计算得 RSD 值为 1.04%，结果表明 EA-SMSD 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 重复性考察 平行制备 6 份 EA-SMSD 供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样分析，测得鞣花酸质量分数的 RSD 值为 1.56%，结果表明重复性较好。

2.3.9 加样回收率考察 精密称取 5 mg EA-SMSD 粉末，共 9 份，置于 25 mL 量瓶中，精密加入鞣花

酸对照品储备液 (800 μg/mL) 1.5、3.0、4.5 mL 各 3 份, 按“2.3.2”项下方法处理, 制备供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 测定鞣花酸含量, 计算得鞣花酸的平均加样回收率为 100.89%, RSD 值为 1.13%, 结果表明准确度较高。

2.4 EA-SMSD 自组装胶束的包封率、载药量、ζ 电位和粒径的测定

取 EA-SMSD 自组装胶束混悬液 1 mL, 置于超滤离心管 (截留相对分子质量为 10 000), 离心机腔体温度为 4 ℃, 12 500 r/min 离心 (离心半径为 6.4 cm) 20 min。取外管滤液, 按“2.3.1”项下色谱条件测定游离鞣花酸的量 ($m_{\text{游离}}$)。按“2.3.2”项下方法操作, 测定胶束中鞣花酸总量 ($m_{\text{总药量}}$), 计算 EA-SMSD 中鞣花酸的包封率和载药量。

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

$$\text{载药量} = (m_{\text{总药量}} - m_{\text{游离}}) / (m_{\text{载体}} + m_{\text{总药量}})$$

$m_{\text{载体}}$ 表示 Soluplus 总量

取 EA-SMSD 自组装混悬液, 蒸馏水稀释 20 倍, 混匀, 于粒度分析仪上测定粒径和多分散指数 (polydispersity index, PDI)。另取适量 EA-SMSD 自组装混悬液置于电位测定专用器皿测定 ζ 电位。

2.5 单因素考察 EA-SMSD 处方工艺

2.5.1 载体 Soluplus 与鞣花酸用量比的考察 固定鞣花酸 20 mg, 乙醇体积为 10 mL, 制备时间 1.5 h, 制备温度 50 ℃ 条件不变, 考察载体 Soluplus 与鞣花酸用量比对 EA-SMSD 自组装胶束的包封率、载药量和沉降率的影响, 结果见表 1。随着载体 Soluplus 比例的增加, EA-SMSD 自组装胶束的包封率先增加后趋稳, 表明过多 Soluplus 载体并未使包封率进一步增加; 载药量先增加后下降, 可见载体 Soluplus 用量过多会使 EA-SMSD 自组装胶束载药量下降; 沉降率随着载体 Soluplus 用量增加而下降, 说明 EA-SMSD 自组装胶束的稳定性提高。因此, 载体

表 1 载体 Soluplus 与鞣花酸用量比的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

载药比	包封率/%	载药量/%	沉降率/%
5 : 1	66.45 ± 1.06	9.42 ± 0.23	11.30 ± 1.46
6 : 1	77.18 ± 1.27	10.94 ± 0.31	6.92 ± 0.75
7 : 1	86.94 ± 1.30	10.58 ± 0.18	3.42 ± 0.31
8 : 1	87.16 ± 1.42	9.64 ± 0.19	3.07 ± 0.24
9 : 1	87.58 ± 1.17	8.69 ± 0.20	2.86 ± 0.26
10 : 1	87.69 ± 1.25	8.03 ± 0.24	2.84 ± 0.25

Soluplus 与鞣花酸用量比对 EA-SMSD 自组装胶束影响较大, 后续对载药比 6 : 1~9 : 1 进行优化。

2.5.2 乙醇体积的考察 固定鞣花酸 20 mg, 载体 Soluplus 与鞣花酸用量比 7 : 1, 制备时间 1.5 h, 制备温度 50 ℃ 条件不变, 考察乙醇体积对 EA-SMSD 的影响, 结果见表 2。EA-SMSD 自组装胶束的包封率和载药量随着乙醇体积增大而增大, 可能是乙醇用量的增加使鞣花酸与 Soluplus 充分溶解并实现载药^[21], 使包封率和载药量增加。但乙醇用量超过 10 mL 后, 包封率和载药量基本不再增加, 且沉降率有增大趋势, 故确定乙醇用量为 10 mL 来制备 EA-SMSD。

表 2 乙醇体积的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

乙醇体积/mL	包封率/%	载药量/%	沉降率/%
5.0	61.87 ± 0.88	7.52 ± 0.31	5.68 ± 0.22
7.5	78.47 ± 1.12	9.82 ± 0.24	4.06 ± 0.31
10.0	87.12 ± 0.96	10.74 ± 0.27	3.28 ± 0.17
12.5	87.09 ± 1.23	10.65 ± 0.30	3.19 ± 0.19
15.0	87.34 ± 1.44	10.71 ± 0.31	4.23 ± 0.23

2.5.3 制备温度的考察 固定鞣花酸 20 mg, 载体 Soluplus 与鞣花酸用量比为 7 : 1, 乙醇体积为 10 mL, 制备时间 1.5 h 条件不变, 考察制备温度对 EA-SMSD 的影响, 结果见表 3。随着制备温度的升高, EA-SMSD 自组装胶束的包封率和载药量均先增加后下降, 可能是适当的温度利于载药, 但温度过高时可能影响载体和鞣花酸的稳定性^[22], 导致 EA-SMSD 自组装胶束包封率和载药量下降。制备温度对 EA-SMSD 沉降率也有一定影响, 随着温度的升高, 沉降率先下降后增大, 故后续对制备温度 45~55 ℃ 进行优化。

2.5.4 制备时间的考察 固定鞣花酸 20 mg, 载体 Soluplus 与鞣花酸用量比为 7 : 1, 乙醇体积为 10 mL, 制备温度为 50 ℃ 条件不变, 考察制备时间对 EA-

表 3 制备温度的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

制备温度/℃	包封率/%	载药量/%	沉降率/%
40	63.27 ± 1.52	7.45 ± 0.31	7.34 ± 0.14
45	77.96 ± 0.95	9.57 ± 0.24	5.81 ± 0.18
50	87.85 ± 1.26	10.74 ± 0.32	3.10 ± 0.22
55	84.73 ± 0.97	10.32 ± 0.34	5.97 ± 0.29
60	81.69 ± 1.48	10.03 ± 0.28	8.06 ± 0.38

SMSD 自组装胶束的影响, 结果见表 4。随着制备时间的延长, EA-SMSD 自组装胶束的包封率和载药量均呈先增加后下降趋势, 可见合适的制备时间利于 Soluplus 载药, 但制备时间过长时可能影响制剂的稳定性导致药物泄漏, 使包封率和载药量下降。制备时间对 EA-SMSD 自组装胶束沉降率也有一定影响, 后续对 EA-SMSD 制备时间 1.0~2.5 h 进行优化。

表 4 制备时间的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Investigation of preparation time ($\bar{x} \pm s, n=3$)

制备时间/℃	包封率/%	载药量/%	沉降率/%
0.5	70.69±1.24	8.62±0.19	9.63±0.30
1.0	80.92±1.53	9.99±0.26	6.48±0.18
1.5	87.71±0.97	10.80±0.33	3.19±0.12
2.0	90.96±1.16	11.22±0.38	2.89±0.16
2.5	88.40±1.28	10.97±0.21	4.76±0.21
3.0	83.63±1.03	10.44±0.35	6.58±0.32

表 5 BBD-RSM 试验设计与结果

Table 5 Experiment design and results of Box-Behnken

序号	X_1	$X_2/℃$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$	OD	序号	X_1	$X_2/℃$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$	OD
1	6.0 : 1 (-1)	45 (-1)	1.75 (0)	67.64	9.57	7.58	0.291	10	6.0 : 1	50	2.50	63.60	8.94	6.54	0.179
2	7.5 : 1 (0)	50 (0)	1.75	91.22	10.70	2.72	0.968	11	6.0 : 1	50	1.00	68.43	9.71	7.81	0.292
3	9.0 : 1 (+1)	50	2.50 (+1)	75.14	7.48	4.05	0.433	12	7.5 : 1	50	1.75	91.93	10.72	2.59	0.984
4	9.0 : 1	55 (+1)	1.75	74.82	7.32	4.71	0.389	13	7.5 : 1	45	2.50	78.66	8.76	4.09	0.603
5	9.0 : 1	45	1.75	84.47	8.36	7.52	0.418	14	7.5 : 1	55	2.50	62.82	6.33	4.98	0.000
6	7.5 : 1	50	1.75	90.48	10.58	2.68	0.953	15	7.5 : 1	45	1.00	73.17	7.32	5.14	0.357
7	7.5 : 1	50	1.75	92.61	10.63	2.61	0.984	16	6.0 : 1	55	1.75	74.92	10.38	8.92	0.000
8	7.5 : 1	55	1.00 (-1)	84.08	8.43	3.45	0.660	17	9.0 : 1	50	1.00	84.35	8.39	4.21	0.627
9	7.5 : 1	50	1.75	92.54	10.82	2.82	0.987								

2.6.2 回归模型建立及分析 采用 Design Expert V 12.0.3.0 软件进行分析, 得 OD 二次多元回归方程为 $OD = 0.980 + 0.140 X_1 - 0.077 X_2 - 0.090 X_3 + 0.066 X_1 X_2 - 0.020 X_1 X_3 - 0.230 X_2 X_3 - 0.360 X_1^2 - 0.340 X_2^2 - 0.230 X_3^2$, R^2 和 R_{adj}^2 值分别为 0.998 4 和 0.996 3, 说明实际测得值与模型吻合度较高。方差分析见表 6, 模型 $P < 0.000 1$, 表明具有极显著性意义; 失拟项 $P = 0.133 7 > 0.05$, 表明模型可信度高。回归方程的 X_1 、 X_2 、 X_3 、 $X_1 X_2$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 均具极显著差异 ($P < 0.01$)。

2.6.3 效应面优化与预测 三维曲面图见图 3, 随着其中 2 因素的增加, OD 值均呈先增加后下降趋势, 所以采用 BBD-RSM 优化 EA-SMSD 处方是必

2.6 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 EA-SMSD 处方

2.6.1 试验设计 据“2.5”项下方法考察结果, 发现载体 Soluplus 与鞣花酸用量比(X_1)、制备温度(X_2)、制备时间 (X_3) 对 EA-SMSD 自组装胶束的包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2) 和沉降率 (Y_3) 影响较大, 因素水平表见表 5。期望 EA-SMSD 自组装胶束具有较高的包封率和载药量, 较低的沉降率, 故将这 3 个指标转换为归一值 (overall desirability, OD), OD 值计算过程为①包封率 (d_1) 和载药量 (d_2) 为望大值, 采用公式 $[d = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})]$ 进行计算; 粒径 (d_3) 为望小值, 采用公式 $[d = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})]$ 进行计算, 其中 M_i 为测量值, $M_{\min}$ 和 $M_{\max}$ 为试验中最小值和最大值。②计算 OD 值, $OD = (d_1 d_2 d_3)^{1/3}$ 。制备不同处方 EA-SMSD, BBD-RSM 试验设计与测定结果见表 5。

要的。设置 OD 为望大值, 范围为 0~1, 得 EA-SMSD 最佳处方工艺为载体 Soluplus 与鞣花酸用量比为 7.79, 制备温度为 49.94 ℃, 制备时间为 1.61 h。EA-SMSD 自组装胶束包封率、载药量和沉降率的预测值分别为 94.27%, 载药量为 10.68%, 沉降率为 2.11%。

2.7 处方工艺验证

考虑到制备便捷性, 将载体 Soluplus 与鞣花酸用量比调整为 7.8 : 1, 制备温度调整为 50 ℃, 制备时间调整为 1.6 h。制备 3 批 EA-SMSD, 加入蒸馏水自组装形成胶束混悬液后测包封率、载药量和沉降率, 并计算与预测值的相对偏差, 公式为相对偏差 = (实际值 - 预测值) / 预测值。结果见表 7, 各

表 6 方差分析
 Table 6 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	1.89	9	0.21	481.74	<0.000 1	X_1^2	0.55	1	0.55	1 262.15	<0.000 1
X_1	0.15	1	0.15	350.57	<0.000 1	X_2^2	0.48	1	0.48	1 110.15	<0.000 1
X_2	0.05	1	0.05	110.19	<0.000 1	X_3^2	0.22	1	0.22	515.38	<0.000 1
X_3	0.07	1	0.07	149.14	<0.000 1	残差	3.05×10^{-3}	7	4.36×10^{-4}		
X_1X_2	0.02	1	0.02	39.45	0.000 4	失拟项	2.19×10^{-3}	3	7.31×10^{-4}	3.40	0.133 7
X_1X_3	1.62×10^{-3}	1	1.62×10^{-3}	3.73	0.094 9	绝对误差	8.59×10^{-3}	4	2.15×10^{-4}		
X_2X_3	0.21	1	0.21	470.45	<0.000 1	总和	1.89	16			

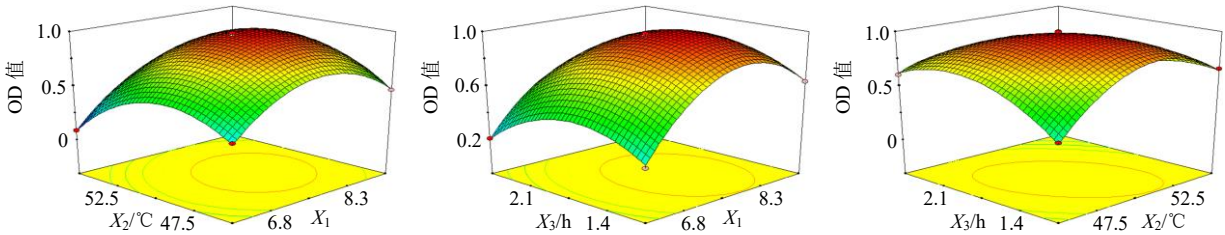


图 3 各因素与响应值 OD 三维图

Fig. 3 Three-dimensional plot of independent factors and response values of OD

表 7 预测值和实际值的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Table 7 Comparison of predictive and actual values
 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

项目	包封率/%	载药量/%	沉降率/%
预测值	94.27	10.68	2.11
测得值	94.62 ± 1.12	10.57 ± 0.24	2.19 ± 0.09
偏差	0.37	-1.03	3.79

指标偏差绝对值均小于±4%，表明所建立的数学模型预测精确度较高。

2.8 EA-SMSD 自组装胶束效果评价

2.8.1 EA-SMSD 粉末及自组装胶束外观 取适量 EA-SMSD 粉末进行粉体学考察，采用固定漏斗法测得 EA-SMSD 粉末休止角为 28.6°，表明 EA-SMSD 粉末流动性良好。按“2.2”项下方法操作，制备 EA-SMSD 自组装胶束混悬液，外观见图 4，自组装胶束可见淡蓝色乳光。

2.8.2 自组装胶束的粒径和 ζ 电位测定 取 EA-SMSD 自组装胶束混悬液，稀释 30 倍测得平均粒径为 (68.90 ± 6.87) nm，粒径分布见图 5-A，多分散指数 (polydispersion index, PDI) 为 0.073 ± 0.010 ；ζ 电位为 (-13.11 ± 1.02) mV，ζ 电位分布见图 5-B，表明 EA-SMSD 自组装胶束表面带负电荷。

2.8.3 TEM 观察 取“2.8.2”项下自组装胶束混悬液，滴加至直径为 3 mm 的圆形铜网，磷钨酸溶液 (1.5%) 染色，室温晾干。测试条件：视场 3.54 μm，



图 4 EA-SMSD 粉末及其自胶束混悬液外观
 Fig. 4 Appearance of EA-SMSD powder and self-assembled micelle suspension

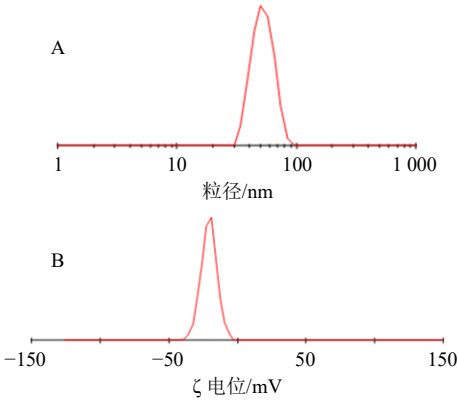


图 5 EA-SMSD 自组装胶束混悬液的粒径分布 (A) 和 ζ 电位 (B)

Fig. 5 Particle size distribution (A) and ζ potential (B) of EA-SMSD self-assembling micelle suspension

电压 5.0 kV，放大倍数 15 000，结果见图 6。EA-SMSD 自组装胶束形貌基本为类球形。

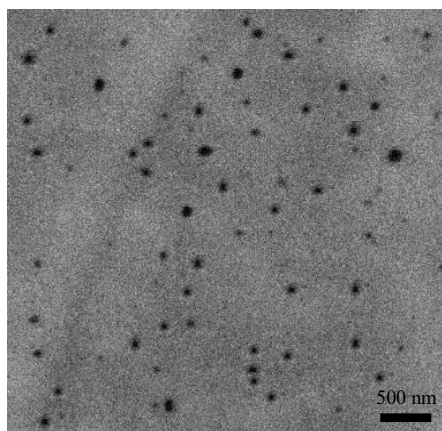


图 6 EA-SMSD 自组装胶束的 TEM 图

Fig. 6 TEM photograph of self-assembled micelles of EA-SMSD

2.8.4 模拟胃肠液及水对 EA-SMSD 自组装胶束的影响 取 EA-SMSD 粉末约 10 mg, 加入 10 mL 模拟胃液 (pH 2.0, 含胃蛋白酶), 室温磁力搅拌 (700 r/min) 30 min, 测定粒径、PDI 值和 ζ 电位。同法测定 EA-SMSD 粉末在模拟肠液 (pH 7.4, 含胰蛋白酶) 和水中自组装胶束粒径、PDI 值和 ζ 电位, 结果见表 8。EA-SMSD 在模拟胃液和模拟肠液中也可形成粒径小于 100 nm 的胶束, PDI 值均小于 0.3, 表明胃肠液不会影响 EA-SMSD 自组装胶束能力。另测得 EA-SMSD 在模拟胃液、水和模拟肠液中溶解度分别为 (784.63 $\pm$ 3.40)、(643.89 $\pm$ 2.96)、(562.17 $\pm$ 3.16) μ g/mL。

表 8 模拟胃、肠液和水对自胶束的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 8 Effects of gastrointestinal fluid and water on self-assembled micelles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

介质	粒径/nm	PDI 值	ζ 电位/mV
模拟胃液	83.44 $\pm$ 7.15	0.148 $\pm$ 0.017	-11.14 $\pm$ 0.89
水	84.60 $\pm$ 8.06	0.153 $\pm$ 0.012	-11.27 $\pm$ 0.78
模拟肠液	91.79 $\pm$ 7.82	0.166 $\pm$ 0.014	-10.23 $\pm$ 0.94

2.9 EA-SMSD 粉末晶型分析

XRPD 扫描条件: 角度范围 (2θ) 为 $3^\circ \sim 45^\circ$, Cu-K α 靶, 扫描速度为 $5^\circ/\text{min}$ 。取鞣花酸原料药、Soluplus、物理混合物 (鞣花酸+Soluplus, 比例与 EA-SMSD 粉末一致) 和 EA-SMSD 粉末适量分别进行扫描, 结果见图 7。鞣花酸在 9.5° 、 10.2° 、 12.1° 、 13.8° 、 17.4° 、 27.1° 等出现鞣花酸特征晶型峰, Soluplus 未见晶型峰, 说明是一种无定型物质。由于 Soluplus 辅料的掩蔽作用, 在物理混合物 XRPD 图谱中仅可见鞣花酸较强的 12.1° 和 27.1° 晶型峰, 说明鞣花酸

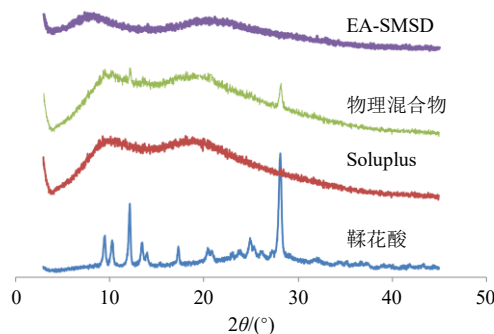


图 7 EA-SMSD 的 XRPD 结果

Fig. 7 XRPD results of EA-SMSD

仍为晶型状态。EA-SMSD 中未见鞣花酸晶型峰, 证明其存在状态发生了变化, 以无定型态存在于 EA-SMSD 粉末中。

2.10 EA-SD 和 EA-SMSD 粉末体外释药行为比较

2.10.1 EA-SD 的制备^[4] 取 1 g 鞣花酸原料药和 5 g 的 PVP K30 至烧杯中, 加入 200 mL 无水乙醇后密封。于 50°C 恒温水浴中 600 r/min 磁力搅拌 3 h 至澄清。减压旋蒸除去无水乙醇, 放冷后研细, 过 80 目筛, 置于 40°C 真空干燥箱中过夜干燥 EA-SD 粉末。

2.10.2 体外释药行为的比较 取鞣花酸原料药、EA-SD 和 EA-SMSD 粉末 (含鞣花酸 20 mg), 采用模拟胃液 (含胃蛋白酶和 0.5% SDS) 配制混悬液并转移至透析袋 (截留相对分子质量约 10 000), 扎紧。取 1 000 mL 模拟胃液 (含胃蛋白酶和 0.5% SDS) 为释放介质, 转速为 75 r/min, 待介质温度恒定在 37°C 时试验, 0、0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10 h 取样 3 mL, 及时补加同体积空白介质。样品经 15 000 r/min 离心 (离心半径 6.4 cm) 30 min, 测定鞣花酸含量。同法考察在水 (0.5% SDS) 和模拟肠液 (含胰蛋白酶和 0.5% SDS) 释药情况, 结果分别见图 8。

鞣花酸在 3 种介质释放度均较低, 与其溶解度极低、粒度较大等有关^[17]。EA-SD 前期释药较快, 但后期均出现下降情况, 可能与 PVP K30 抑晶作用弱、胃肠液中发生降解等原因有关^[7]。EA-SMSD 前期释药速率低于 EA-SD, 但在 3 种释药介质中 12 h 累积释放度相对最高, EA-SMSD 体外释药过程均与 Weibull 模型拟合度最高 (表 9), 表明释药过程呈双相动力学特征^[23]。

2.11 EA-SD 和 EA-SMSD 储存稳定性考察

取 EA-SD 和 EA-SMSD 粉末密封置于恒温恒湿箱 (温度 25°C , 湿度 55%), 于 0、3、6 个月取

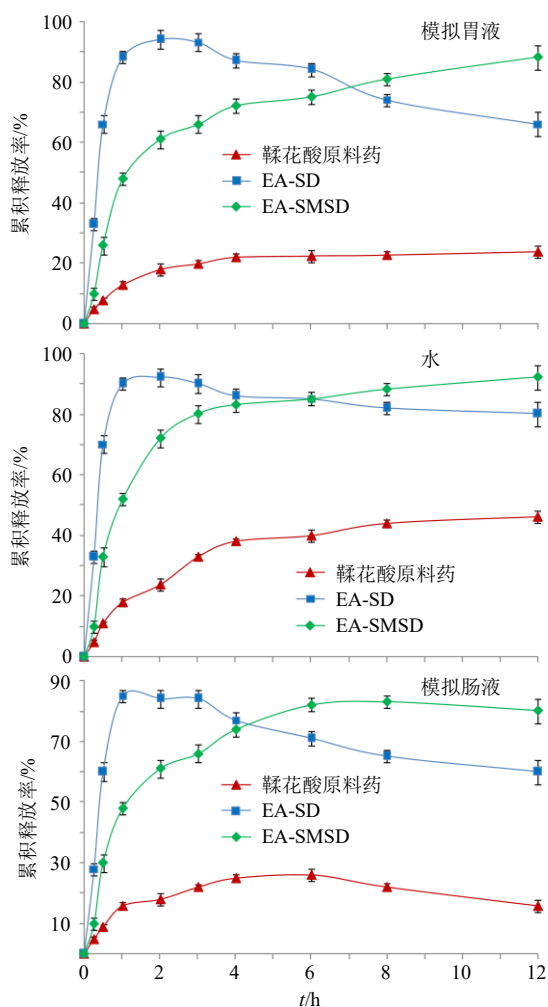


图 8 鞣花酸原料药、EA-SD、EA-SMSD 在模拟胃液、水、模拟肠液中的释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 8 Release profiles of ellagic acid bulk drug, EA-SD, EA-SMSD in simulate gastric juice, water, simulate intestinal juice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

表 9 EA-SMSD 的释药模型和相关系数 (r)

Table 9 Release model and coefficient (r) of EA-SMSD

介质	Weibull 模型方程	r
模拟胃液	$\ln \ln [1/(1-M_t/M_\infty)] = 0.702 \ln t - 0.808$	0.957 9
水	$\ln \ln [1/(1-M_t/M_\infty)] = 0.748 \ln t - 0.605$	0.948 1
模拟肠液	$\ln \ln [1/(1-M_t/M_\infty)] = 0.673 \ln t - 0.758$	0.905 6

M_t 为 t 时间累积释放率, M_∞ 为 ∞ 时累积释放率, M_t/M_∞ 为 t 时间累积释放百分率。

M_t and M_∞ are the cumulative release rate at time t and ∞ , M_t/M_∞ is the cumulative release percentage at time t .

样, 分别按“2.9”项下扫描条件进行 XRPD 扫描, 结果见图 9。EA-SD 粉末在第 3 个月出现鞣花酸特征晶型峰, 表明发生了析晶现象。EA-SMSD 粉末在第 6 个月仍为无定型物质, 表明稳定性明显高于 EA-SD 粉末。

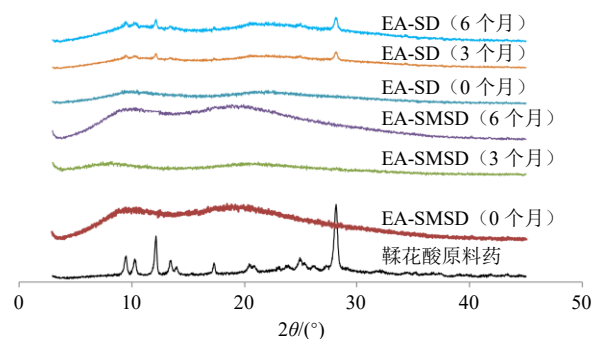


图 9 稳定性考察结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Results of stability study ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.12 体内药动学研究

2.12.1 给药及取血方案 取鞣花酸原料药、EA-SD 和 EA-SMSD 粉末适量, 加入 0.5% 的 CMC-Na 溶液使鞣花酸浓度均为 15 mg/mL。取 18 只 SD 大鼠禁食 12 h, 随机分为 3 组, 每组雌雄各半, 称定质量后 80 mg/kg ig 给药。鞣花酸原料药组和 EA-SD 组分别于 0.167、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8 h 于大鼠眼眶后静脉丛采血约 0.25 mL, EA-SMSD 组于 0.5、1、2、2.5、3、3.5、4、6、8、12 h 同法采血。血样引流至肝素抗凝的离心管中, 涡旋 5 s 后 3 000 r/min 离心 (离心半径为 6.4 cm) 2 min, 取血浆冷冻保存。

2.12.2 血浆样品处理过程^[11] 取甲醇和乙腈按体积比 1:5 混合后超声 10 min, 作为鞣花酸血浆样品提取液。取血浆样品置于 37 °C 水浴中解冻, 精密取 100 μ L 置于离心管中, 加入 1 mL 提取液后密封, 涡旋 5 min, 4 500 r/min 离心 (离心半径为 6.4 cm) 5 min, 收集上层有机相, 于 45 °C 下氮气缓慢吹干, 加入 100 μ L 甲醇复溶残渣, 即得。

2.12.3 血浆对照品溶液配制及线性关系考察 精密称取芍药苷对照品, 加甲醇配制成质量浓度为 1.000 μ g/mL, 作为内标溶液。精密称取鞣花酸对照品加甲醇稀释至 1 600、800、400、200、100、40 ng/mL, 各质量浓度分别取 100 μ L 置离心管中, 于 45 °C 下氮气缓慢吹干, 加入 100 μ L 空白血浆, 密封涡旋 5 min, 即得 1 600、800、400、200、100、40 ng/mL 血浆对照品溶液, 按照“2.12.2”项下方法处理后测定。鞣花酸和芍药苷峰面积比为纵坐标 (Y), 鞣花酸质量浓度为横坐标 (X), 得回归方程为 $Y=0.2024X+0.1316$, $r=0.9974$, 表明鞣花酸血浆对照品溶液的线性范围为 40~1 600 ng/mL。

2.12.4 专属性考察 取空白血浆、血浆样品溶液 (原料药组给药 8 h) 和血浆对照品溶液 (鞣花酸质

量浓度为 40 ng/mL), 按“2.3.1”项下色谱条件测定, 结果见图 10, 鞣花酸和芍药苷色谱峰均无干扰, 表明专属性较高。

2.12.5 精密度考察 取 40、400、1 600 ng/mL 鞣花酸血浆对照品溶液, 分别测定 6 次, 记录鞣花酸和芍药苷峰面积, 计算得二者峰面积比 RSD 分别为 4.15%、2.56%、3.33%, 表明日内密度度良好。

各质量浓度每天测定 1 次, 测定 6 d, 记录鞣花酸和芍药苷峰面积, 计算得二者峰面积比 RSD 为依次为 3.94%、2.43%、2.86%, 表明日间精密度良好。

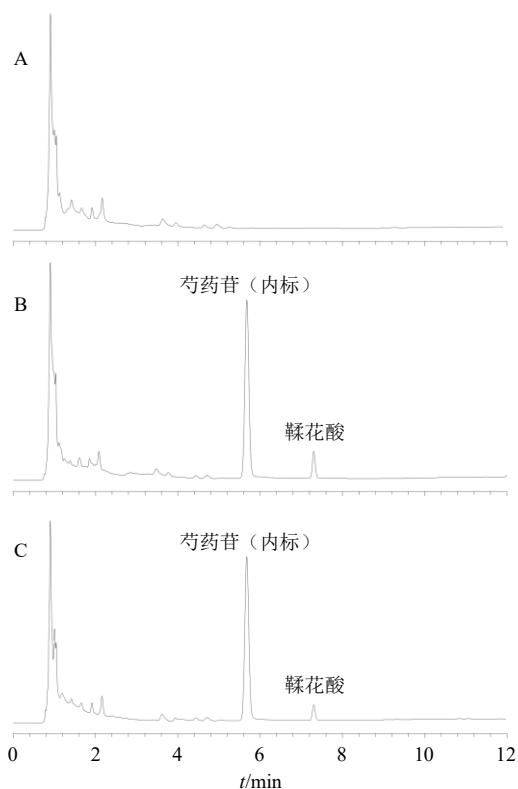


图 10 空白血浆 (A)、血浆样品 (B) 和鞣花酸对照品+空白血浆 (C) 的 HPLC 图

Fig. 10 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B) and ellagic acid + blank plasma (C)

2.12.6 稳定性考察 取血浆样品置于室温, 于 0、1、3、6、12、24 h 测定, 记录鞣花酸和芍药苷峰面积, 计算得二者峰面积比 RSD 为 4.80%, 表明稳定性良好。

2.12.7 回收率考察 取空白血浆 9 份, 配制质量浓度为 40、400、1 600 ng/mL 血浆样品溶液各 3 份, 并按“2.12.2”项下方法处理后测定鞣花酸和芍药苷峰面积, 计算鞣花酸质量浓度和绝对回收率, 结果显示平均回收率为 96.04%, RSD 为 4.04%, 表明准确度高。

2.12.8 定量限考察 取质量浓度为 40 ng/mL 鞣花酸血浆对照品溶液, 逐步稀释并测定, 选择信噪比 S/N 约为 10 时作为定量限, 结果显示该法定量限为 5 ng/mL。

2.12.9 药动力学结果 鞣花酸、EA-SD 和 EA-SMSD 药-时曲线见图 11, 使用 DAS 3.0 药动力学软件进行拟合, 药动力学参数见表 10。与鞣花酸原料药相比, EA-SD 的 $t_{\max}$ 有显著性差异 ($P < 0.05$), $C_{\max}$ 、 $AUC_{0 \sim t}$ 和 $AUC_{0 \sim \infty}$ 有极显著性差异 ($P < 0.01$), 而 $t_{1/2}$ 无显著性改变 ($P > 0.05$), 其中 $t_{\max}$ 提前至 (0.97 ± 0.28) h, $C_{\max}$ 提高至 1.53 倍, EA-SD 相对口服吸收生物利用度提高至 2.10 倍。EA-SMSD 的 $t_{\max}$ 和 $t_{1/2}$ 有显

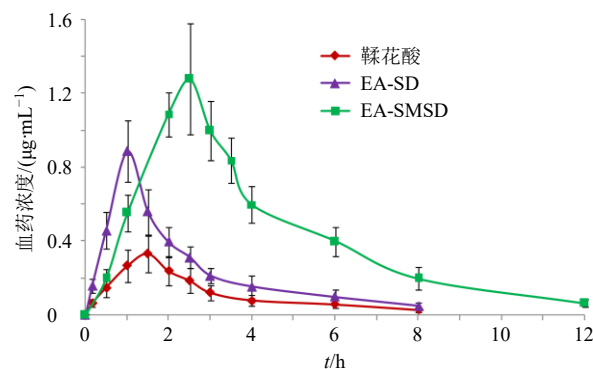


图 11 药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 11 Plasma concentration-time curves ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 10 主要药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 10 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	鞣花酸	EA-SD	EA-SMSD
$t_{\max}$	h	1.53 ± 0.32	$0.97 \pm 0.28^*$	$2.61 \pm 0.77^{*##}$
$t_{1/2}$	h	2.88 ± 0.43	2.67 ± 0.39	$5.15 \pm 0.98^{*#}$
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	336.91 ± 66.20	$514.16 \pm 138.56^{**}$	$1\ 357.12 \pm 468.71^{***}$
$AUC_{0 \sim t}$	ng·h·mL ⁻¹	835.26 ± 182.79	$1\ 751.64 \pm 378.03^{**}$	$5\ 038.18 \pm 559.07^{***}$
$AUC_{0 \sim \infty}$	ng·h·mL ⁻¹	894.61 ± 201.57	$1\ 822.45 \pm 409.85^{**}$	$5\ 214.90 \pm 583.21^{***}$

与鞣花酸原料药比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 EA-SD 比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs ellagic acid raw materials; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs EA-SD.

著性差异 ($P < 0.05$), $C_{\max}$ 、 $AUC_{0 \sim t}$ 和 $AUC_{0 \sim \infty}$ 有极显著性差异 ($P < 0.01$), 其中 $t_{\max}$ 延后至 (5.15 ± 0.98) h, $C_{\max}$ 提高至 4.03 倍, EA-SMSD 相对口服吸收生物利用度提高至 6.03 倍。与 EA-SD 相比, EA-SMSD 的 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0 \sim t}$ 和 $AUC_{0 \sim \infty}$ 均极显著性提高 ($P < 0.01$), 表明 EA-SMSD 促吸收作用更大。

3 讨论

溶解度参数法可以预测载体与药物之间的相容性, 可为 SD 选择合适载体提供理论依据。PVP K30 与鞣花酸溶解度参数之差 $\Delta\delta$ 为 $1.46 \text{ MPa}^{1/2}$, 该差值大于鞣花酸与 Soluplus 的溶解度参数之差 ($\Delta\delta$ 为 0.4), 表明鞣花酸与 Soluplus 相容性更佳。PVP K30 为亲水性材料, 吸湿性远大于 Soluplus^[14], 故采用 PVP K30 制得的 EA-SD 稳定性小于采用 Soluplus 制得的 EA-SMSD, 且 Soluplus 抑晶作用远高于 PVP K30^[20,24], 可有效维持 EA-SMSD 物理稳定性。稳定性实验的 XRPD 结果显示, EA-SD 在 3 个月时已出现析晶现象, 而 EA-SMSD 粉末在 6 个月时仍为无定型物质, 证明 EA-SMSD 储存稳定性更高, 因而更具研究及开发价值。

鞣花酸在模拟胃肠液及水中累积释放度均较低, 且在模拟肠液中释放度出现下降情况, 可能与鞣花酸容易降解、稳定性较差有关^[7], 是导致其口服吸收较差的原因之一。EA-SD 在 3 种介质中累积释放度后期均出现下降情况, 这是由于 PVP K30 材料抑晶作用较弱, 药物重新析出所致^[20], 可能限制药物生物利用度的改善幅度。EA-SMSD 累积释放度高于 EA-SD, 可能是由于 EA-SMSD 在水相中发生了自组装胶束化作用, 降低了胃肠道 pH 值、胰蛋白酶等对药物的破坏作用; Soluplus 结构中存在聚乙二醇长链, 该结构可减少胃蛋白酶、胰蛋白酶等在纳米胶束表面的吸附^[25], 增强 EA-SMSD 对胃肠道内酶的抵抗力, 从而降低药物降解几率; Soluplus 的抑晶作用明显优于 PVP K30 等辅料^[20,26], 有效抑制了药物析出, 因而 EA-SMSD 累积释放度较高。EA-SMSD 在 3 种介质中释药过程均符合 Weibull 释药模型, 表明释药过程包含快速释药期和缓慢释药期的双相动力学特征。快速释药期可能是由于 Soluplus 增加了药物的亲水性及可润湿性、降低了粒径、提高了溶解度等^[17]。缓慢释药期可能是由于 EA-SMSD 在水相中发生了自组装胶束, 药物从胶束内部释放出去需要克服一定的阻力^[15], 且鞣花酸分子结构上羟基与 Soluplus 分子结构上羰基之间可

能存在氢键等作用力^[27], 从而出现了持续、缓慢的释药期。

EA-SMSD 具有缓释特征, 而 EA-SD 表现出一定的速释特征。参考 EA-SD 取血点对 EA-SMSD 药动学行为进行研究, 会导致 EA-SMSD 组前期 (即吸收相) 取血点过于密集, 消除相取血点较少, 由于设置 10 个取血点已是实验动物承受的取血极限, 故本研究对 EA-SMSD 组的取血点进行了调整。EA-SMSD 的 $t_{\max}$ 延后, 可能是由于胶束粒径较小, 容易暂时匿藏于胃肠道褶皱中, 从而影响了胃肠液对胶束的消化及药物释放^[28]; 也可能由于鞣花酸在肠道容易降解, 而胶束对包裹的药物具有一定的保护作用, 增加了后期药物吸收, 因而造成 EA-SMSD 的 $t_{\max}$ 存在差异。EA-SMSD 的 $C_{\max}$ 和相对口服生物利用度均得到提高^[28-29], 可能是由于 EA-SMSD 增加了药物的释放度, 在浓度梯度作用下促进了药物吸收^[15]; EA-SMSD 的包裹作用降低了药物降解几率, 利于增加药物吸收量; 鞣花酸在 EA-SMSD 中转变为无定型形式, 无定型药物更易吸收^[25]; EA-SMSD 上的聚乙二醇长链增加了亲水性, 利于透过胃肠道黏液层而进入血液循环^[19]。综上, EA-SMSD 粉末制备工艺简单、载药量高、流动性良好、储存稳定性高, 可增加药物累积释放度、降低胃肠道内酶、pH 值等对鞣花酸的降解, 进而更有效促进口服吸收, 为增强药效降低剂量奠定基础, 值得进一步研究开发。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张鑫宇, 王亚菲, 应茵, 等. 树莓中鞣花酸的提取及生物活性研究进展 [J]. 中国果树, 2022, 42(2): 70-74.
- [2] Kim K J, Jeong E S, Lee K H, et al. Unripe *Rubus coreanus* miquel extract containing ellagic acid promotes lipolysis and thermogenesis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5954.
- [3] 余秋健. 柠檬桉叶中抗炎活性酚类化合物的提取、表征及其微胶囊化研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2022.
- [4] 姚洁玉. 鞣花酸固体分散体对带鱼氧化和品质劣变的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [5] 蒋新龙, 吴小刚, 郭叶莹, 等. 鞣花酸磷脂复合物制备及其对植物油抗氧化作用 [J]. 中国粮油学报, 2021, 36(2): 81-88.
- [6] Nyamba I, Lechanteur A, Semdé R, et al. Physical formulation approaches for improving aqueous solubility and bioavailability of ellagic acid: A review [J]. *Eur J*

- Pharm Biopharm*, 2021, 159: 198-210.
- [7] 徐洪宇, 蒯宜蕴, 詹壮壮, 等. 果皮中酚类物质含量、抗氧化活性及在体外消化过程中成分的变化 [J]. 食品科学, 2019, 40(15): 23-30.
- [8] Lei F, Xing D M, Xiang L, *et al.* Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 796(1): 189-194.
- [9] Najafi A, Taheri R A, Mehdipour M, *et al.* Improvement of post-thawed sperm quality in broiler breeder roosters by ellagic acid-loaded liposomes [J]. *Poult Sci*, 2019, 98(1): 440-446.
- [10] 秦芳芳, 彭有梅, 苏海波, 等. 鞣花酸纳米混悬剂的制备、表征及其体内药动学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 3980-3990.
- [11] 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.
- [12] 林佳丽. 石榴纳米乳的制备及其质量标准研究 [D]. 成都: 成都大学, 2022.
- [13] 徐志杰. 欧前胡素固体分散体凝胶骨架缓释片的制备及药动学评价 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5321-5329.
- [14] 欧丽泉, 蔡萍, 赵国巍, 等. 载体材料对延胡索乙素固体分散体成型性与稳定性的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(18): 1830-1835.
- [15] 许洁, 蒋岩, 董扬扬, 等. 姜黄素自胶束化固体分散体制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(5): 1397-1403.
- [16] Hou Y Z, Wang H, Zhang F, *et al.* Novel self-nanomicellizing solid dispersion based on rebaudioside A: A potential nanoplatform for oral delivery of curcumin [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 557-571.
- [17] 尚慧杰, 杨金枝, 张付利. 岩白菜素 Soluplus/TPGS 混合胶束的制备、表征及体外释药研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1248-1254.
- [18] Just S, Sievert F, Thommes M, *et al.* Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3 Pt B): 1191-1199.
- [19] 严梦梦, 吴秀娟, 朱恒清, 等. 基于溶解度参数法和差式扫描量热法优化筛选奥拉帕利固体分散体载体 [J]. 药学报, 2022, 57(5): 1486-1494.
- [20] 宋航, 高利芳, 付强, 等. 以 Soluplus 为载体的固体分散体提高螺内酯体外溶出和物理稳定性 [J]. 药学报, 2019, 54(1): 14-21.
- [21] 曹雅婷. 紫杉醇自胶束固体分散体的制备与评价 [D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- [22] 熊淑婷. 叶下珠化学成分及鞣花酸制备工艺研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020.
- [23] 卢慧芳, 刘艳美, 王荷香, 等. 穿心莲内酯甲氧基聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸纳米粒处方优化及体外释药考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(19): 2034-2039.
- [24] 刘沛, 常金花, 康凯, 等. 薯蓣皂苷元无定形固体分散体制备及体内外评价 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4323-4332.
- [25] 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.
- [26] 李伟宏, 孟醒, 王风云, 等. 芹菜素-Soluplus 固体分散体制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(6): 1754-1759.
- [27] 尚慧杰, 杨金枝, 张付利. 岩白菜素 Soluplus/TPGS 混合胶束的制备、表征及体外释药研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1248-1254.
- [28] 董丹丹, 焦红军, 郝海军. 根皮素聚乙二醇-聚乳酸纳米胶束的制备、表征及口服药动学研究 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 779-788.
- [29] 栗忠强, 决利利, 万亚存, 等. 高良姜素纳米胶束制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(5): 1410-1416.

[责任编辑 郑礼胜]