

黄豆苷元介孔二氧化硅纳米粒缓释片制备及口服药动学研究

唐 静^{1,2}, 张付利^{1,3*}, 决利利⁴, 王美丽¹, 郭娟娟¹, 王晓静¹

1. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450064

2. Malaysia MAHSA University, Selangor Bandar Saujana Putra 42610

3. 河南大学, 河南 开封 475001

4. 郑州工业应用技术学院, 河南 郑州 451150

摘要: 目的 制备黄豆苷元介孔二氧化硅纳米粒缓释片 (daidzein mesoporous silica nanoparticles sustained-release tablets, Dai-MSNs-SRT), 并考察 Beagle 犬的口服药动学行为。方法 选择羟丙基甲基纤维素 K4M (hydroxypropyl methyl cellulose K4M, HPMC K4M) 用量、羧甲基淀粉钠 (carboxyl methyl starch sodium, CMS-Na) 用量和聚乙二醇 400 (polyethylene glycol 400, PEG 400) 用量为主要影响因素, Dai-MSNs-SRT 在 2、6、12 h 累积释放率的综合评分为响应值, 采用 Box-Behnken 设计-效应面法优化 IMP-SD-HMSRT 最佳处方优化处方工艺。对 Dai-MSNs-SRT 释药模型和释药机制进行探讨。按 10 mg/kg (以黄豆苷元计) 进行 ig, 比较 Dai-MSNs-SRT 口服药动学行为, 并计算相对口服生物利用度。采用 Loo-Rigelman 法评价 Dai-MSNs-SRT 体内外相关性。结果 Dai-MSNs-SRT 最佳处方为 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片, HPMC K4M 用量为 15.2%, CMS-Na 用量为 9.5%, PEG 400 用量为 2.1%。Dai-MSNs-SRT 缓释特征明显, 12 h 累积释放率达 94.87%。Dai-MSNs-SRT 体外释药符合 Higuchi 模型, 释药机制为扩散和骨架溶蚀并存。药动学结果显示, Dai-MSNs-SRT 血药浓度 (C_{max}) 波动幅度小, 达峰时间 (t_{max}) 由 (1.53±0.42) h 延后至 (4.26±0.44) h, 半衰期 ($t_{1/2}$) 由 (3.26±0.56) h 延长至 (6.63±2.17) h, 与上市品相比, 相对生物利用度提高至其 1.88 倍。Dai-MSNs-SRT 在 pH7.4 磷酸盐缓冲液中体外释放与体内吸收相关性良好。结论 Dai-MSNs-SRT 工艺重复性良好, C_{max} 波动幅度小, 提高了其生物利用度。

关键词: 黄豆苷元; 介孔二氧化硅纳米粒; 缓释片; Box-Behnken 设计-效应面法; 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)14-4700-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.14.008

Preparation and oral pharmacokinetics of daidzein mesoporous silica nanoparticles sustained-release tablet

TANG Jing^{1,2}, ZHANG Fuli^{1,3}, JUE Lili⁴, WANG Meili¹, GUO Juanjuan¹, WANG Xiaojing¹

1. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450064, China

2. Malaysia MAHSA University, Selangor Bandar Saujana Putra 42610, Malaysia

3. Henan University, Kaifeng 475001, China

4. Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 451150, China

Abstract: Objective To prepare daidzein mesoporous silica nanoparticles sustained-release tablets (Dai-MSNs-SRT), and investigate its oral pharmacokinetic behavior in Beagle dogs. **Methods** Hydroxypropyl methyl cellulose K4M (HPMC K4M) dose, carboxyl methyl starch sodium (CMS-Na) dose and polyethylene glycol 400 (PEG 400) dose were selected as main influencing factors, composite score of cumulative rate of 2, 6, and 12 h was used as response value, Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) was employed to optimize formulation of Dai-MSNs-SRT. Release model and release mechanism were also studied. Dai-MSNs-SRT was orally administered to Beagle dogs (10 mg/kg), pharmacokinetic behavior of Dai-MSNs-SRT was compared and relative oral bioavailability was calculated. Loo-Rigelman method was used for the evaluation of *in vivo* and *in vitro* correlation.

收稿日期: 2024-01-04

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目计划 (23B310010)

作者简介: 唐 静 (1989—), 女, 博士研究生, 讲师, 从事临床药学及妇产科疾病护理与治疗研究。

Tel: (0371)67673850 E-mail: tangjing202310@163.com

*通信作者: 张付利 (1965—), 男, 学士, 副教授, 从事药理学研究。Tel: (0371)23832014 E-mail: ZhangFL@126.com

Results Optimal formulation of Dai-MSNs-SRT: Dai-MSNs powder was 350 mg/tablet, HPMC K4M dose was 15.2%, CMS-Na dose was 9.5% and PEG 400 dose was 2.1%. Sustained-release characteristic of Dai-MSNs-SRT was obvious and cumulative release rate in 12 h was up to 94.87%. Drug release *in vitro* of Dai-MSNs-SRT was better accorded with Higuchi model, and release mechanism was diffusion and matrix degradation. Pharmacokinetic results showed that C_{max} of Dai-MSNs-SRT fluctuated slightly, t_{max} was delayed from (1.53 ± 0.42) h to (4.26 ± 0.44) h and $t_{1/2}$ was prolonged from (3.26 ± 0.56) h to (6.63 ± 2.17) h. Relative bioavailability of Dai-MSNs-SRT was enhanced to 1.88 times comparing to commercial tablets. *In vitro* release behavior of Dai-MSNs-SRT in pH 7.4 phosphate buffer saline was better associated with its absorption *in vivo*. **Conclusion** Reproducibility of Dai-MSNs-SRT was favorable, C_{max} fluctuated slightly and relative bioavailability was also enhanced.

Key words: daidzein, mesoporous silica nanoparticles, sustained-release tablets, Box-Behnken design-response surface method, pharmacokinetic, bioavailability

黄豆苷元 (daidzein) 属于异黄酮类化合物, 毒性极低^[1], 临床上主要用于高血压、动脉粥样硬化、脑血栓、高血脂、冠心病等心脑血管疾病的治疗^[2-3], 也可用于女性更年期综合症、预防骨质疏松等^[4], 需患者长期用药。黄豆苷元溶解度仅 (3.84 ± 0.13) $\mu\text{g/mL}$ ^[5], 属于极难溶性药物, 严重影响溶出度, 体内易受胃肠道各种酶代谢^[6], 大鼠口服生物利用度仅 6.1%^[7], 导致药效发挥受限。目前, 上市品为黄豆苷元胶囊, 需每日口服 3 次, 患者顺应性较低, 有必要开发成缓控释口服制剂。黄豆苷元在胃、肠道均有吸收^[8], 适合制备成缓释制剂, 但黄豆苷元极低的溶解度和较高的日口服剂量 (150 mg/d), 给黄豆苷元缓控释制剂的开发提出了极大挑战。

介孔二氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticles, MSNs) 孔径一般在 2~50 nm, 无需冻干保护剂即可制备成粉末, 载药量远远大于其他脂质纳米粒^[9], 可增加药物的溶解度、溶出度及生物利用度等, 故将黄豆苷元制备成介孔二氧化硅纳米粒 (daidzein mesoporous silica nanoparticles, Dai-MSNs)。据报道^[10]MSNs 容易导致所载药物体内血药浓度剧烈波动, 可能影响药效, 故需联用缓控释技术来减小血药浓度波动幅度^[11], 对维持药效有较大意义。亲水性凝胶骨架缓释片简称缓释片 (sustained-release tablets, SRT), 制备工艺简单, 容易实现工业化^[11-13]。将 MSNs 与 SRT 应用后不仅有助于增加药物溶解度及生物利用度, 也可有效控制药物缓慢释放、降低给药剂量、提高患者顺应性等。本研究首先制备 Dai-MSNs, 通过 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 Dai-MSNs-SRT 处方, 对其体外释药及体内药动学等进行考察, 期望为临床提供一种顺应性高、安全有效的黄豆苷元口服制剂。本研究也为溶解度差、高剂量缓释片制剂

研究提供了有价值的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

BSA224S 型电子天平, 十万分之一, 德国赛多利斯公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; CHDF4000 型激光分析仪, 上海胤煌科技有限公司; SU8240 型扫描电子显微镜 (SEM), 日立科学仪器北京有限公司; TYD-580E 型超声仪, 郑州泰元达智能设备制造有限公司; TCS10 型恒温混匀仪, 杭州瑞诚仪器有限公司; M1416R 型高速台式冷冻离心机, 深圳市瑞沃德生命科技有限公司; ZLGJ 型冷冻干燥机, 常州亚旺仪器有限公司; ST612 型智能溶出试验仪, 上海卓光仪器科技有限公司; TDP-6 型小型手动制片机, 吉首市中诚制药机械厂; RE-52CS 型旋转蒸发仪, 上海秉越电子仪器有限公司。

1.2 材料与动物

黄豆苷元对照品, 批号 k198722, 质量分数 98.0%, 西安开来生物工程有限公司; 黄豆苷元原料药, 批号 20200728, 质量分数 97.0%, 武汉银河科技发展有限公司; β -萘酚对照品, 批号 20201025, 质量分数 98.0%, 上海源叶生物科技有限公司; 介孔二氧化硅纳米粒粉末 (SBA-15), 批号 20201117, 博华斯纳米科技宁波有限公司; 黄豆苷元胶囊, 批号 20230217, 陕西海天制药有限公司; 羟丙基甲基纤维素 4K (HPMC 4K), 批号 211613, 山东戈麦斯化工有限公司; 低取代羟丙基纤维素 (L-HPC), 批号 20200429, 南通金顺环保科技有限公司; 羧甲基淀粉钠 (CMS-Na), 批号 210316, 山东谷硕生物科技有限公司; 微晶纤维素 (MCC), 型号 PH102, 批号 20200316, 山东东达纤维素有限公司; 交联羧甲基纤维素钠 (CCNa), 批号 20191207, 西安晋湘药用辅料有限公司; 硬脂酸镁, 批号 210114, 西格玛奥

德里奇贸易有限公司。

健康 Beagle 犬，体质量 9.5~10.6 kg，雌雄各半，由河南省动物实验中心提供，许可证号 SCXK(豫)2020-0001。所有动物实验均遵循郑州澍青医学高等专科学校有关实验动物管理和使用的规定，动物伦理号：R2023-(伦审)-006，均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 Dai-MSNs-SRT 的制备

2.1.1 Dai-MSNs 的制备及纯化 取黄豆苷元 0.5 g 溶于 100 mL 有机溶剂(无水乙醇-乙腈 20:1)，加入 1.0 g 空白 MSNs 粉末即得混悬液，室温条件下磁力搅拌 12 h(转速 600 r/min)。减压旋转蒸发缓慢除去有机溶剂，即得 Dai-MSNs 粗品。纯化过程为加入 0.5% 十二烷基硫酸钠水溶液 50 mL 震荡洗涤，14 500 r/min 离心 20 min(离心半径 6.8 cm)，弃去上清液，将沉淀物重复洗涤 3 次，-30 °C 预冻 2 d，立即冷冻干燥 1 d，取出即得 Dai-MSNs 粉末。

2.1.2 Dai-MSNs-SRT 的制备 Dai-MSNs-SRT 中含 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片(黄豆苷元含量约 120 mg/片)。取 Dai-MSNs 粉末，加入处方量亲水性骨架材料(HPMC K4M 等)、崩解剂(CMS-Na 等)、释药速率调节剂(PEG 400)及润滑剂硬脂酸镁(片质量 1%)等混匀，补加填充剂微晶纤维素至片质量 0.65 g/片，混匀，直接压片即得 Dai-MSNs-SRT 缓释片(片剂硬度为 45~55 N)。阴性样品同法制备(不含黄豆苷元)。

2.2 Dai-MSNs-SRT 中黄豆苷元含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；检测波长为 248 nm；柱温为 30 °C；流动相为甲醇-5 mmol/L 醋酸铵水溶液-甲酸(55:45:0.2)；体积流量为 1.0 mL/min；进样量为 10 μL。理论塔板数以黄豆苷元计不低于 6 500。

2.2.2 标准曲线的绘制 精密称取黄豆苷元对照品 20.40 mg 转移至 100 mL 量瓶中，加入约 80 mL 甲醇超声溶解，加入甲醇稀释定容得黄豆苷元质量浓度为 204 μg/mL 对照品储备液。采用流动相稀释配制成质量浓度为 10.200、5.100、2.550、1.020、0.255、0.051 μg/mL 黄豆苷元对照品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件测定，以黄豆苷元质量浓度为横坐标(X)，峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归，得回归方程为 $Y=18.152 X+0.081$ ， $r=0.999 8$ ，可见黄豆苷元在 0.051~10.200 μg/mL 线性关系良好。

2.2.3 Dai-MSNs-SRT 供试品溶液的配制 取 15 片

Dai-MSNs-SRT 研细至粉末，精密称取 0.65 g 置 250 mL 量瓶中，加入甲醇约 80 mL 超声 20 min(功率为 250 W)，放置至室温后加入甲醇定容，摇匀。置于高速离心机中 14 500 r/min 离心(离心半径 6.8 cm) 20 min，使 MSNs 沉淀，取上清液 1.0 mL 置 100 mL 量瓶中，流动相稀释定容，即得供试品溶液。

2.2.4 专属性考察 取阴性样品，按“2.2.3”项下方法制备阴性样品溶液，另取黄豆苷元对照品溶液和 Dai-MSNs-SRT 供试品溶液，均按“2.2.1”项下色谱条件进样测试。结果见图 1，表明专属性较高。

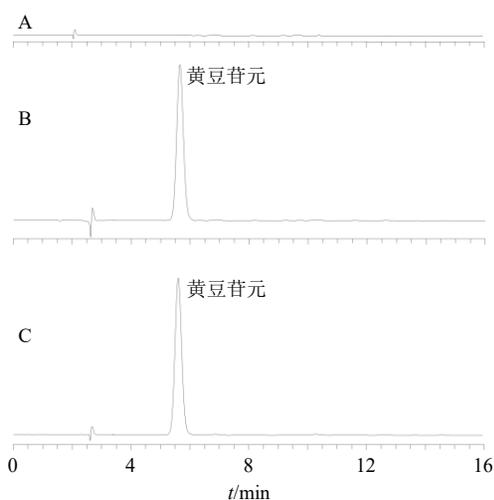


图 1 阴性样品(A)、黄豆苷元对照品(B)和 Dai-MSNs-SRT 样品(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of negative sample (A), daidzein reference substance (B) and Dai-MSNs-SRT sample (C)

2.2.5 精密度考察 取质量浓度分别为 0.051 μg/mL(低)、2.55 μg/mL(中)和 10.20 μg/mL(高)的黄豆苷元对照品溶液，分别连续测试 6 次，测得黄豆苷元峰面积的 RSD 分别为 0.69%、0.36%、0.28%，结果表明该仪器系统精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取 Dai-MSNs-SRT 供试品溶液置于室温，于 0、2、4、8、12、24 h 分别测定，测得黄豆苷元峰面积的 RSD 为 1.26%，结果表明 Dai-MSNs-SRT 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 按照“2.2.3”项下操作，制备 6 份 Dai-MSNs-SRT 供试品溶液，分别进样测定，测得黄豆苷元质量分数的 RSD 为 1.56%，结果表明该实验重复性良好。

2.2.8 加样回收率考察 取 15 片 Dai-MSNs-SRT 研细成粉末，精密称取粉末 0.325 g 置 250 mL 量瓶中，制备 9 份，分为低、中、高 3 组，分别加入黄豆苷元对照品溶液 60、75、90 mg，按“2.2.3”项下

方法制备供试品溶液，并按“2.2.1”项下色谱条件测定黄豆苷元含量，计算得黄豆苷元的平均加样回收率为 100.56%，RSD 为 1.20%，结果表明准确度较高。

2.3 Dai-MSNs 粉末表征

2.3.1 Dai-MSNs 粒径和 ζ 电位的测定 取 Dai-MSNs 粉末约 5 mg，加入蒸馏水 50 mL 进行分散，摇匀，取适量测定粒径和 ζ 电位，取空白 MSNs 粉末同法测定。结果显示，空白 MSNs 的平均粒径为 (183.60 ± 9.66) nm，Dai-MSNs 的平均粒径增加至 (227.89 ± 19.21) nm，粒径分布见图 2。空白 MSNs 的 ζ 电位为 (-31.44 ± 0.77) mV，Dai-MSNs 的 ζ 电位为 (-13.6 ± 0.6) mV， ζ 电位分布见图 3。

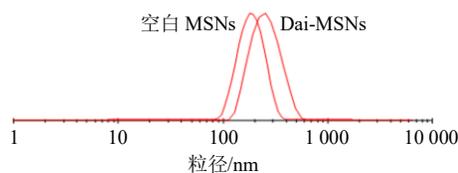


图 2 Dai-MSNs 粒径分布

Fig. 2 Particle size distribution of Dai-MSNs

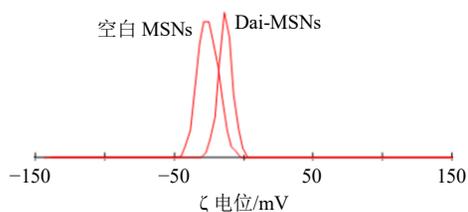


图 3 Dai-MSNs 的 ζ 电位分布

Fig. 3 ζ potential distribution of Dai-MSNs

2.3.2 Dai-MSNs 的 SEM 观察 剪取约 1 cm 的铜胶带贴至 T 型台上，滴加 2 滴“2.3.1”项下 Dai-MSNs 混悬液，自然晾干，喷金 1 min，置于 SEM 上，放大至 20 000 倍后即可观察到 Dai-MSNs 外貌，其外观大体呈规则球形，结果见图 4。

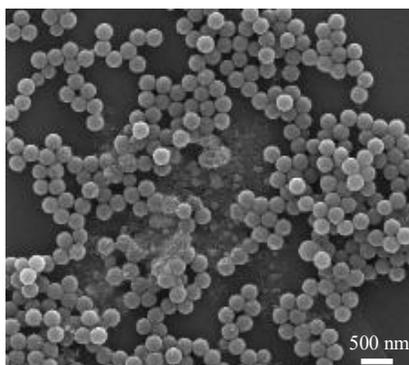


图 4 Dai-MSNs 的 SEM 图 ($\times 20\ 000$)

Fig. 4 SEM of Dai-MSNs ($\times 20\ 000$)

2.3.3 Dai-MSNs 包封率和载药量的测定 称取黄豆苷元 (W_1) 制备 Dai-MSNs 混悬液。精密取 Dai-MSNs 混悬液 2 mL 于 12 500 r/min 离心 (离心半径 6.8 cm) 20 min，收集上清液。于沉淀中加入 2 mL 的 0.2% SDS 溶液洗涤，并与上清液合并，测定游离药量 (W_2)。精密取 Dai-MSNs 混悬液 2 mL 直接冻干，称定质量 (W_3)，计算 Dai-MSNs 的包封率和载药量。结果显示，Dai-MSNs 的包封率为 $(92.67 \pm 0.74)\%$ ，载药量为 $(31.02 \pm 0.29)\%$ 。

$$\text{包封率} = (W_1 - W_2) / W_1$$

$$\text{载药量} = (W_1 - W_2) / W_3$$

2.3.4 Dai-MSNs 粉末的晶型研究 取黄豆苷元原料药、空白 MSNs 粉末、物理混合物 (黄豆苷元-空白 MSNs 粉末 1:2) 和 Dai-MSNs 粉末进行 XRPD 扫描。试验条件: 扫描速度为 $5^\circ/\text{min}$ ，铜靶，扫描范围为 $3^\circ \sim 45^\circ$ ，结果见图 5。黄豆苷元在 6.2° 、 8.3° 、 10.0° 、 15.2° 、 16.6° 、 23.9° 、 25.1° 等处出现特征晶型衍射峰，这些特征晶型衍射峰在物理混合物 XRPD 图谱中仍存在，表明大豆苷元晶型状态未发生改变。Dai-MSNs 粉末 XRPD 图谱未见黄豆苷元特征晶型衍射峰，说明黄豆苷元存在状态可能改变。

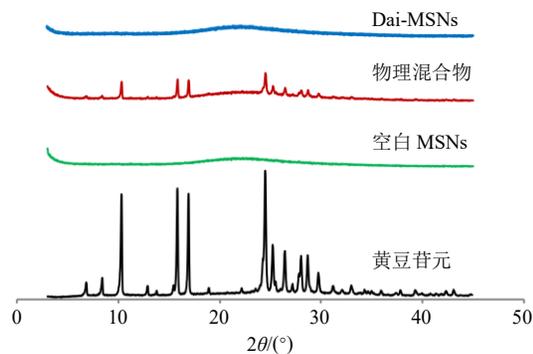


图 5 XRPD 结果

Fig. 5 Results of XRPD

2.3.5 FTIR 表征 取黄豆苷元、物理混合物 (黄豆苷元-空白 MSNs 粉末 1:2) 和 Dai-MSNs 粉末适量，KBr 压片 (透明状)，分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$ ，波长范围 $400 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$ ，扫描 16 次，结果见图 6。黄豆苷元在 $3\ 180.94\ \text{cm}^{-1}$ (O-H 伸缩振动峰)、 $1\ 633.20\ \text{cm}^{-1}$ (C=O 伸缩振动峰)、 $1\ 596.43$ 、 $1\ 518.64$ 、 $1\ 460.61\ \text{cm}^{-1}$ (C=C 伸缩振动峰)、 $1\ 239.27\ \text{cm}^{-1}$ (C-O 伸缩振动峰) 以及 888.27 、 $844.19\ \text{cm}^{-1}$ (苯环 C-H 振动峰) 等出现特征峰。物理混合物图谱仍可见黄豆苷元特征峰，表明黄豆苷元与 MSNs 之间仅是简单混合。Dai-MSNs 粉末图谱显示黄豆苷元 O-H 伸缩

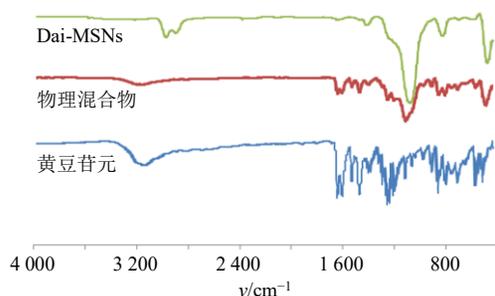


图6 FTIR图

Fig. 6 FTIR spectrogram

振动峰向低波数移动,可能是黄豆苷元与MSNs的硅羟基之间发生了某种作用力所致,表明载药成功。

2.3.6 Dai-MSNs 溶解度测定 取过量的黄豆苷元原料药和 Dai-MSNs 粉末置于 10 mL 蒸馏水中, 25 °C 恒温震荡 2 d, 14 500 r/min 离心(离心半径 6.8 cm) 20 min, 取上清液测定黄豆苷元饱和浓度。结果显示, 黄豆苷元原料药和 Dai-MSNs 溶解度分别为 $(4.19 \pm 0.07) \mu\text{g/mL}$ 和 $(262.77 \pm 9.42) \mu\text{g/mL}$, 溶解度提高至 62.71 倍。

2.4 Dai-MSNs-SRT 释放度测定方法

采用转篮法进行考察。溶出介质为 1 000 mL 蒸馏水, 溶出介质恒温至 37 °C 后将 Dai-MSNs-SRT 同时放入溶出介质中, 转速为 75 r/min。分别在 0、1、2、4、6、8、10、12 h 取样 5 mL, 补加 5 mL 空白介质。14 500 r/min 离心 20 min (离心半径 6.8 cm), 取上清液测定质量浓度, 计算黄豆苷元在各时间点的累积释放率。

2.5 单因素考察 Dai-MSNs-SRT 处方工艺

2.5.1 骨架材料对 Dai-MSNs-SRT 释药行为的影响 Dai-MSNs-SRT 中含 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片, 骨架材料用量为 15%, PEG 400 用量为 2%、CMS-Na 用量为 10%, 分别考察骨架材料 (HPMC K100LV、HPMC K15M 和 HPMC K4M) 对 Dai-MSNs-SRT 释药行为的影响。结果见图 7, HPMC K100LV 作为骨架材料时释药速率过快, 而 HPMC K15M 作为骨架材料时释药速率过慢, 可能是由于 HPMC K100LV 相对分子质量相对较小, 形成的凝胶层阻滞作用较小, 释药速率较快, HPMC K15M 相对分子质量相对较大, 形成的凝胶层阻滞作用较大, 故释药速率较慢^[11]。HPMC K4M 相对分子质量相对适中, 控释效果相对最佳, 故选为 Dai-MSNs-SRT 骨架材料。

2.5.2 HPMC K4M 用量考察 Dai-MSNs-SRT 中含 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片, 骨架材料为 HPMC K4M, CMS-Na 用量为 10%, PEG 400 用量为 2%,

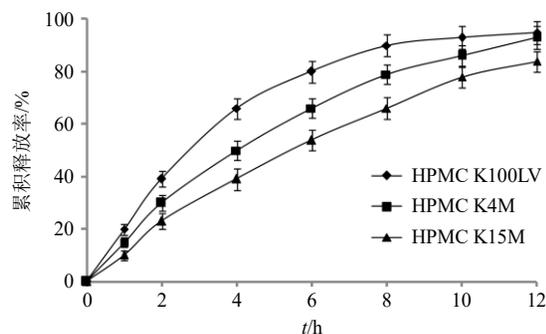


图7 骨架材料的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Study of different kinds of framework materials ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分别考察 HPMC K4M 用量对 Dai-MSNs-SRT 释药行为的影响。结果见图 8, Dai-MSNs-SRT 释药速率随着 HPMC K4M 用量增加而减小, 这是由于 HPMC K4M 用量越大时形成凝胶层阻滞作用越大, 使释药速率变小^[12]。可见, HPMC K4M 用量对 Dai-MSNs-SRT 释药行为影响较大, 后续需继续优化。

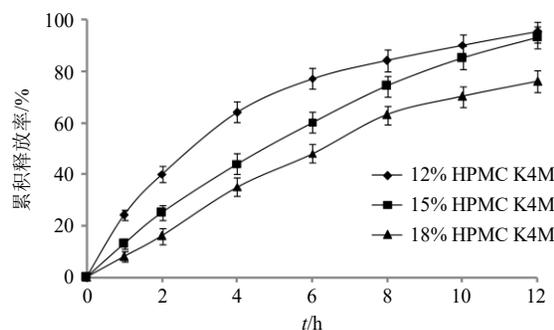


图8 HPMC K4M 用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Study of HPMC K4M amounts ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5.3 崩解剂种类考察 Dai-MSNs-SRT 中含 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片, 骨架材料为 HPMC K4M, 用量为 15%, 崩解剂用量为 10%, PEG 400 用量为 2%, 分别考察不同崩解剂 (CMS-Na、L-HPC 和 CCNa) 对 Dai-MSNs-SRT 释药行为的影响。结果见图 9, L-HPC 和 CCNa 作为缓释片崩解剂时前 2 h 存在突释现象, 但 12 h 累积释放率较低(小于 85%), 而 CMS-Na 作为崩解剂时对 Dai-MSNs-SRT 控释效果相对最佳, 故选为 Dai-MSNs-SRT 崩解剂。

2.5.4 CMS-Na 用量考察 Dai-MSNs-SRT 中含 Dai-MSNs 粉末 350 mg/片, 骨架材料为 HPMC K4M, 用量为 15%, PEG 400 用量为 2%, 分别考察不同 CMS-Na 用量对 Dai-MSNs-SRT 释药行为的影响。结果见图 10, Dai-MSNs-SRT 释药速率随着 CMS-Na 用量增加而增加, 可能是由于 CMS-Na 用量越大越利于水相进入 Dai-MSNs-SRT 内部, 从而促进

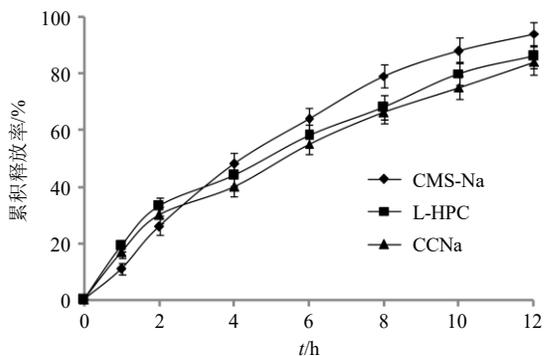


图9 崩解剂种类的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 9 Study of different kinds of disintegrating agents ($\bar{x} \pm s, n=3$)

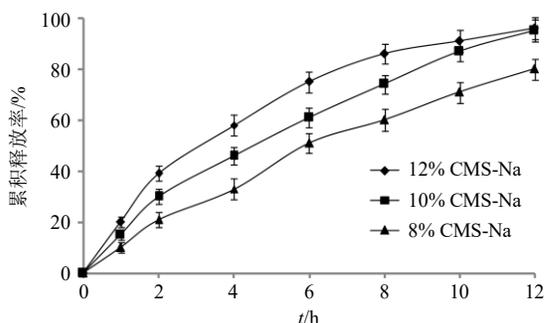


图10 CMS-Na用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 10 Study of CMS-Na amounts ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药物释放,可见CMS-Na用量对Dai-MSNs-SRT释药行为影响较大,后续需继续优化。

2.5.5 PEG 400用量考察 Dai-MSNs-SRT中含Dai-MSNs粉末350 mg/片,骨架材料为HPMC K4M,用量为15%,CMS-Na用量为10%,分别考察不同PEG 400用量对Dai-MSNs-SRT释药行为的影响。结果见图11,Dai-MSNs-SRT的释药速率随着PEG 400用量的增加而增加,结果表明PEG 400用量对Dai-MSNs-SRT释药行为影响较大,后续实验需继续优化。

2.6 BBD-RSM 优化 Dai-MSNs-SRT 处方

2.6.1 实验设计方案 据“2.5”项下考察研究结果,

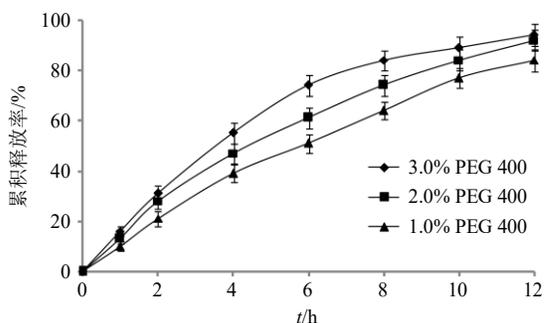


图11 PEG 400用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 11 Study of PEG 400 amounts ($\bar{x} \pm s, n=3$)

发现HPMC K4M用量(X_1)、CMS-Na用量(X_2)和PEG 400用量(X_3)对Dai-MSNs-SRT释药行为影响较大,分别作为自变量 X_1 、 X_2 、 X_3 ,因素水平设置见表1。期望Dai-MSNs-SRT在2h的累积释放率(L_2)在25%左右(无突释或迟释现象),在6h的累积释放率(L_6)在65%左右(释放度适中),在12h的累积释放率(L_{12})大于95%(释药基本完毕)。采用综合评分(Y)评价Dai-MSNs-SRT释药行为,计算公式为 $Y = |L_2 - 0.25| \times 100 + |L_6 - 0.65| \times 100 + |L_{12} - 1.0| \times 100$, Y 值越小代表Dai-MSNs-SRT控释效果越好。以 Y 为响应值,BBD-RSM优化Dai-MSNs-SRT处方,试验设计与结果见表1。

表1 BBD-RSM 试验设计与结果

Table 1 Experiments results of BBD-RSM

试验号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$L_2/\%$	$L_6/\%$	$L_{12}/\%$	Y
1	15 (0)	12 (+1)	1 (-1)	28.8	55.3	88.3	22.2
2	15	10 (0)	2 (0)	25.6	62.3	96.6	4.9
3	12 (-1)	10	1	34.3	57.2	92.1	20.0
4	15	10	2	26.7	63.2	92.9	5.6
5	15	8 (-1)	1	23.4	56.7	90.6	14.3
6	15	12	3 (+1)	28.9	71.1	90.1	14.9
7	12	10	3	32.4	66.7	97.8	11.9
8	15	10	2	27.5	63.4	93.4	5.7
9	18 (+1)	10	3	19.5	67.8	88.6	14.7
10	18	8	2	20.8	62.6	89.2	12.4
11	12	8	2	30.5	68.9	95.4	9.8
12	18	10	1	24.9	61.2	86.5	12.4
13	15	8	3	22.3	58.3	92.3	12.1
14	15	10	2	27.2	62.1	95.6	5.7
15	18	12	2	23.9	70.1	89.9	11.3
16	12	12	2	35.5	72.3	97.8	20.6
17	15	10	2	26.7	66.7	93.4	5.0

2.6.2 模型的拟合与方差分析 使用Design Expert 12.0.3软件对数据拟合,得综合评分 Y 二次多元回归方程为 $Y = 5.38 - 1.44 X_1 + 2.55 X_2 - 1.91 X_3 - 2.97 X_1 X_2 + 2.60 X_1 X_3 - 1.27 X_2 X_3 + 3.51 X_1^2 + 4.64 X_2^2 + 5.86 X_3^2$,其中, $R^2 = 0.9940$, $R_{adj}^2 = 0.9864$, R^2 和 R_{adj}^2 均大于0.98,表明实验测得值与模型拟合值相关性较高。方差结果见表2,数学模型 $P < 0.0001$,失拟项 $P = 0.0805 > 0.05$ (无统计学意义),表明该模型可信度较高,可用于Dai-MSNs-SRT处方工艺研究。数学模型中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 各项均有极显著意义($P < 0.01$)。

表2 方差分析

Table 2 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	485.48	9	53.94	129.51	<0.000 1	X_1^2	51.87	1	51.87	124.55	<0.000 1
X_1	16.53	1	16.53	39.69	0.000 4	X_2^2	90.46	1	90.46	217.18	<0.000 1
X_2	52.02	1	52.02	124.90	<0.000 1	X_3^2	144.59	1	144.59	347.15	<0.000 1
X_3	29.26	1	29.26	70.26	<0.000 1	残差	2.92	7	0.42		
X_1X_2	35.40	1	35.40	85.00	<0.000 1	失拟项	2.29	3	0.76	4.86	0.080 5
X_1X_3	27.04	1	27.04	64.92	<0.000 1	绝对误差	0.63	4	0.16		
X_2X_3	6.50	1	6.50	15.61	0.005 5	总和	488.40	16			

2.6.3 Dai-MSNs-SRT 处方确定 固定 HPMC K4M 用量 (X_1)、CMS-Na 用量 (X_2) 或 PEG 400 用量 (X_3) 某一因素, 绘制其他 2 因素对综合评分 Y 的曲面图, 结果见图 12, Y 随着另外 2 因素的增加呈先下降后增大趋势, 表明使用 BBD-RSM 优化 Dai-MSNs-SRT 处方是必要的。设置 Y 为望大值, 区间为 4~25, 得 Dai-MSNs-SRT 最佳处方为 HPMC

K4M 用量为 15.17%, CMS-Na 用量为 9.52%, PEG 400 用量为 2.12%, 预测 Y 为 4.8。

2.7 Dai-MSNs-SRT 工艺验证及释药机制研究

为方便实际制备, 将“2.6.3”项下 Dai-MSNs-SRT 最佳处方进行微调: HPMC K4M 用量为 15.2%, CMS-Na 用量为 9.5%, PEG 400 用量为 2.1%。平行制备 3 批 Dai-MSNs-SRT, 结果见图 13, 表明该处

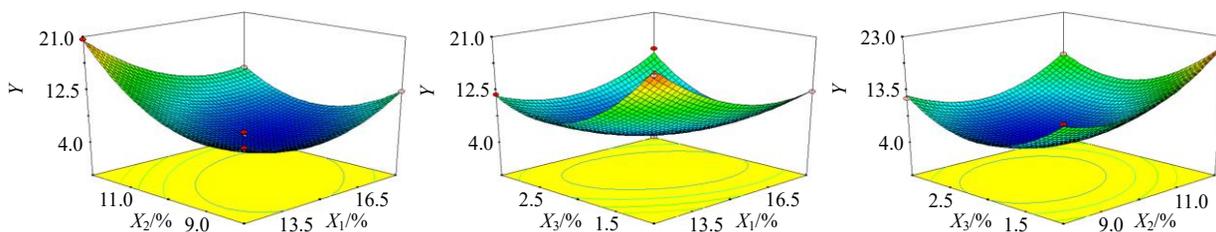


图 12 各因素与响应值的三维图

Fig. 12 Three-dimensional plot of independent factors and response values

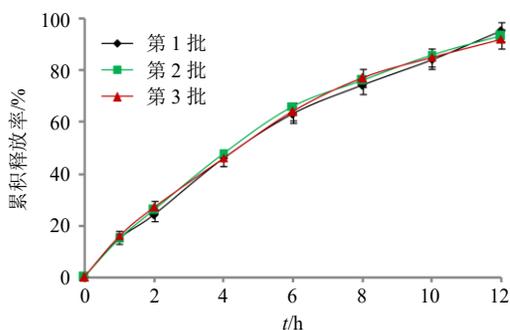


图 13 Dai-MSNs-SRT 体外释药曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 13 Drug release profiles of Dai-MSNs-SRT ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

方重复性良好, 12 h 累积释放率达 94.87%。释放模型拟合结果见表 3, Dai-MSNs-SRT 释药过程与 Higuchi 模型相关系数 r 值最高。采用 Ritger-Pepps 模型研究 Dai-MSNs-SRT 释药机制, 当 $0.45 < n < 0.89$ 时为扩散与溶蚀协同作用, 由表 3 可知, 缓释片 n 值为 0.760, 说明 Dai-MSNs-SRT 释药机制为扩散与溶蚀协同作用。

表 3 Dai-MSNs-SRT 释放模型拟合结果

Table 3 Fitting results of release model for Dai-MSNs-SRT

拟合模型	拟合方程	r	n
零级	$M_t/M_\infty = 0.077 t + 0.083$	0.968 4	-
Higuchi	$M_t/M_\infty = 0.289 t^{1/2} - 0.089$	0.978 9	-
一级	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.224 t + 0.176$	0.937 6	-
Ritger-Pepps	$\ln(M_t/M_\infty) = 0.760 \ln t - 1.894$	0.994 7	0.760

t 为时间, M_t 和 M_∞ 分别为 t 和 ∞ 时的累积释放率; M_t/M_∞ 为 t 时间点的累积释放率。

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

2.8 黄豆苷元 3 种剂型体外释药比较

上市品黄豆苷元胶囊在溶出介质为 1% SDS 水溶液中进行考察, 以达到漏槽条件。参考 Dai-MSNs-SRT 处方, 微晶纤维素代替空白 MSNs 制备黄豆苷元缓释片, 黄豆苷元缓释片和 Dai-MSNs-SRT 仍按“2.4”项下方法考察。黄豆苷元 3 种剂型体外释药情况, 结果见图 14, 黄豆苷元胶囊在 3 h 累积释放

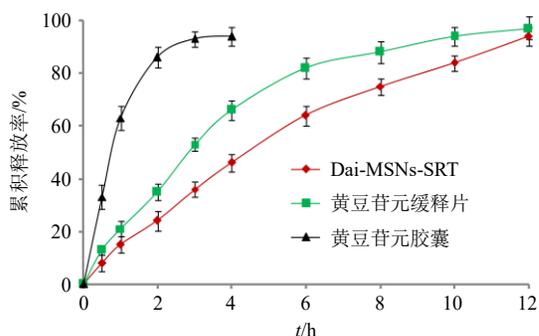


图 14 体外释药行为的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 14 Comparison of drug release behavior *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

率达 94.70%，释药较快。黄豆苷元缓释片和 Dai-MSNs-SRT 缓释特征明显，在 12 h 累积释放率分别为 96.43%和 95.06%。按“2.6.1”项下综合评分计算公式，得黄豆苷元缓释片和 Dai-MSNs-SRT 综合评分分别为 26.7 和 5.2，说明 Dai-MSNs-SRT 控释效果优于黄豆苷元缓释片。

2.9 释药介质中 MSNs 形态

取 Dai-MSNs-SRT 在 12 h 时间点的释药介质，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液按“2.3.2”项下操作观察释药介质中 MSNs 形态。结果见图 15，释药介质中 MSNs 外形仍圆整，证明压制缓释片时未对 MSNs 产生机械性破坏作用。

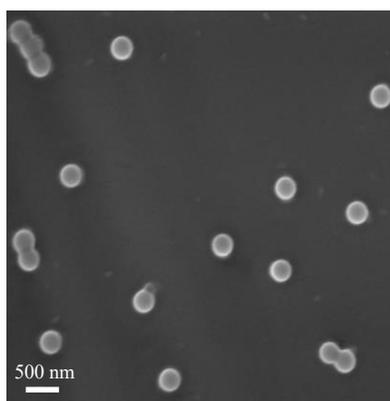


图 15 SEM 观察释药介质中 MSNs ($\times 25\ 000$)

Fig. 15 MSNs in release medium observed by SEM ($\times 25\ 000$)

2.10 药动学研究

2.10.1 给药及取血方案 取 6 只 Beagle 犬编号为 1~6 号，单号为雌性，双号为雄性。分成 3 个实验周期，第 1 周期对 1、2 号 ig 给予黄豆苷元胶囊，3、4 号 ig 给予黄豆苷元缓释片，5、6 号 ig 给予 Dai-MSNs-SRT，给药剂量以黄豆苷元计均为 10 mg/kg。洗脱期均为 7 d，第 2、3 实验周期分别交换给药剂型。黄豆苷元胶囊组取血点为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、

3.0、4.0、6.0、8.0、10.0 h，黄豆苷元缓释片组和 Dai-MSNs-SRT 增加 12.0、18.0 h 取血点。取血量均约 0.5 mL，置于肝素浸润离心管中，涡旋 5 s，3 000 r/min 离心 3 min，取上层淡黄色血浆冷冻保存。

2.10.2 血浆样品的处理^[14] 甲醇配制质量浓度为 800 ng/mL 的 β-萘酚对照品溶液，作为内标。血浆样品置于 37 °C 水浴中解冻，精密吸取 200 μL 置离心管中，加入 100 μL 内标和甲醇 1 mL，密封后涡旋 5 min。6 500 r/min 离心 10 min。取上层有机相至空白离心管中，40 °C 温度下氮气吹干，加入甲醇 200 μL 复溶残渣即得，密封待测。

2.10.3 溶液配制及线性曲线考察 采用甲醇配制浓度为 1 200、600、300、150、50、25 ng/mL 黄豆苷元对照品溶液，各浓度精密量取 200 μL，40 °C 温度下氮气吹干，加入空白血浆 200 μL，密封后涡旋混合 5 min，得质量浓度为 1 200、600、300、150、50、25 ng/mL 血浆对照品溶液。按“2.10.2”项下操作后测定内标与黄豆苷元峰面积，两者比值 (Y) 与黄豆苷元质量浓度 (X) 线性回归得方程： $Y=0.077X-0.064$ ， $r=0.9970$ ，结果表明，黄豆苷元在 25~1 200 ng/mL 线性关系良好。

2.10.4 专属性考察 空白血浆、黄豆苷元缓释片给药 18 h、黄豆苷元血浆对照品溶液 (25 ng/mL+内标) 和 7 d 洗脱期血浆按“2.2.1”项下色谱条件进行测试，结果见图 16，结果表明血浆内源性物质不干扰黄豆苷元色谱峰，专属性高，7 d 洗脱期后无药物残留。

2.10.5 稳定性考察 取黄豆苷元缓释片给药 3 h 血浆样品，于 0、2、4、8、12、18 h 测定，计算得黄豆苷元峰面积的 RSD 为 8.04%，表明血浆样品稳定性较好。

2.10.6 日内及日间精密度考察 取质量浓度为 25、300、1 200 ng/mL 血浆对照品溶液，各质量浓度同 1 d 内分别连续测试 6 次，计算得黄豆苷元峰面积的 RSD 依次为 9.68%、5.12%、6.07%，说明日内精密度良好；各质量浓度每天测试 1 次，连续测试 6 d，计算得黄豆苷元峰面积的 RSD 依次为 10.17%、9.89%、7.63%，结果表明日间精密度良好。

2.10.7 回收率考察 取 25 ng/mL (低)、300 ng/mL (中)、1 200 ng/mL (高) 黄豆苷元对照品溶液各 3 份，按“2.10.2”项下方法制备血浆对照品溶液，进样测定黄豆苷元峰面积，计算黄豆苷元测得治疗浓度，与实际治疗浓度相比计算回收率。结果表明低、

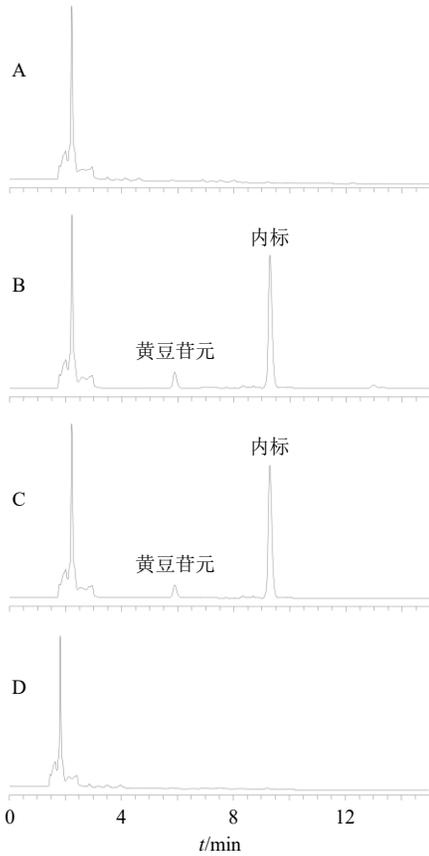


图 16 空白血浆 (A)、血浆对照品溶液 (B)、7 d 洗脱期血浆样品 (C) 和血浆样品 (D) 的 HPLC 图

Fig. 16 HPLC of blank plasma (A), plasma reference solution (B), plasma sample after 7 d elution period (C) and plasma sample (D)

中、高治疗浓度的回收率依次为 94.60%、93.84%、95.97%，RSD 依次为 4.36%、5.16%、4.80%，结果表明该法测定准确度较高。

2.10.8 药动力学结果 采用药动力学软件 DAS2.0 对所得数据进行分析，药动力学曲线见图 17，主要药动力学参数见表 5。黄豆苷元缓释片药动力学参数的达峰时间 (t_{max})、达峰浓度 (C_{max})、半衰期 ($t_{1/2}$)、平均驻留时间 (MRT_{0-t}) 等与黄豆苷元胶囊上市品相比具有统计学意义 ($P < 0.05$)，其中 t_{max} 显著性延后至 (6.86 ± 2.19) h， C_{max} 显著性下降， $t_{1/2}$ 显著性延长，但 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 无统计学意义，相对生物利用度提高至 1.21 倍。Dai-MSNs-SRT 的 t_{max} 、 C_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 MRT_{0-t} 、 AUC_{0-t} 等参数与上市片相比均具有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.01)，相对口服生物利用度提高至 1.88 倍。与黄豆苷元缓释片相比，Dai-MSNs-

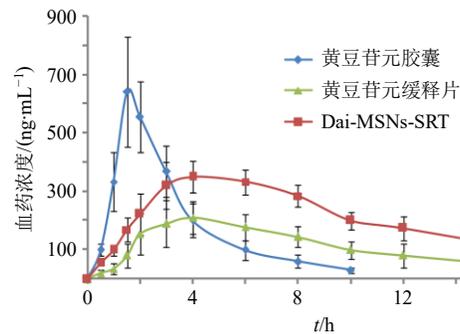


图 17 药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 17 Profiles of plasma concentration-time ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 5 主要药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	黄豆苷元胶囊	黄豆苷元缓释片	Dai-MSNs-SRT
t_{max}	h	1.53 ± 0.42	4.14 ± 0.37**	4.26 ± 0.44**
C_{max}	ng·mL ⁻¹	642.10 ± 152.64	218.18 ± 65.42**	354.37 ± 74.94**#
$t_{1/2}$	h	3.26 ± 0.56	6.86 ± 2.19**	6.63 ± 2.17**
MRT_{0-t}	h	4.11 ± 0.62	8.07 ± 2.40**	8.35 ± 2.32**
$MRT_{0-\infty}$	h	4.58 ± 0.65	9.89 ± 2.87**	10.23 ± 2.67**
AUC_{0-t}	ng·h·mL ⁻¹	1 849.84 ± 446.11	2 234.64 ± 579.81	3 475.41 ± 787.03*#
$AUC_{0-\infty}$	ng·h·mL ⁻¹	2 037.54 ± 488.79	2 319.03 ± 596.17	3 549.26 ± 887.52*#

与黄豆苷元胶囊比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与黄豆苷元缓释片比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs commercial tablets; # $P < 0.05$ vs daidzein sustained-release tablets.

SRT 的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 均存在显著性差异 ($P < 0.05$)，表明促吸收作用更大。

2.11 体内外相关性评价

Loo-Rigelman 法计算 Dai-MSNs-SRT 体内吸收率 (F_a) [11]。

$$F_a = (X_A)_t / (X_A)_\infty = [\rho_t + k_{10} \int_0^t \rho dt + (X_p) / V_c] / k_{10} \int_0^t \rho dt$$

(X_A)_∞ 为体内总药量，(X_A)_t 表示 t 时间内体内药量， k_{10} 表示药物从中央室消除速率常数， ρ_t 表示 t 时间血药浓度， $\int_0^t \rho dt$ 表示 t 时间内的血药浓度曲线下面积， X_p 表示周边室药量， V_c 为周边室内药物量

以各点累积释放率 F_t 为自变量 (实验条件为转篮法，转速为 75 r/min)， F_a 为因变量作线性回归，

评价 Dai-MSNs-SRT 体内外相关性。结果见表 6, Dai-MSNs-SRT 在不同介质中相关系数 r 大小顺序为 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 > pH 4.5 醋酸-醋酸钠缓冲液 > 水 > 0.01 mol/L 盐酸溶液, 表明可采用 pH 7.4 磷酸盐缓冲液来预测 Dai-MSNs-SRT 体外释放及体内吸收情况。

表 6 Dai-MSNs-SRT 体内外相关性评价结果 ($n = 6$)

Table 6 Evaluation results of correlation *in vivo* and *in vitro* of Dai-MSNs-SRT ($n = 6$)

溶出介质	回归方程	r
0.01 mol·L ⁻¹ 盐酸溶液	$F_a = 1.805 F_t - 11.226$	0.865 9
pH 4.5 醋酸-醋酸钠缓冲液	$F_a = 2.016 F_t - 15.174$	0.912 4
水	$F_a = 2.340 F_t - 14.589$	0.897 0
pH 7.4 磷酸盐缓冲液	$F_a = 2.171 F_t - 12.368$	0.979 6

3 讨论

采用渗透泵技术可有效控制药物释放^[15-16], 但制备工艺较为复杂, 本研究采用容易实现工业化生产的亲水性凝胶骨架缓释片来控制 Dai-MSNs。Dai-MSNs-SRT 释药机制为扩散与溶蚀协同作用, 扩散作用可能与缓释片中崩解剂 CMS-Na 和释药速率调节剂 PEG 400 留下的释药通道有关^[17], 利于 Dai-MSNs 经释药通道缓慢扩散; 而溶蚀作用可能与 Dai-MSNs-SRT 骨架材料逐渐被水相溶蚀有关^[13]。压制片剂时可能对脂质纳米粒结构产生破坏作用^[12], 而 Dai-MSNs 由于机械强度较高, 可避免压制缓释片时对 Dai-MSNs 结构的破坏。

为了使 Dai-MSNs-SRT 尽快遇水形成凝胶层, 故在处方中加入一定量的崩解剂。前期对 CMS-Na、L-HPC 和 CCNa 等进行了考察, 发现 L-HPC 和 CCNa 作为崩解剂时可产生明显的突释现象, 而 CMS-Na 时突释现象不明显, 可能与 CMS-Na 遇水后也可形成凝胶层有关^[18], 从而有助于消除突释现象。但后来发现 Dai-MSNs-SRT 在 12 h 累积释放率低于 85%, 故在处方中引入适量释药速率调节剂 PEG 400 来促进药物释放。因此 Dai-MSNs-SRT 处方中 CMS-Na 和 PEG 400 用量对 Dai-MSNs-SRT 释药行为影响较大, 在单因素考察的基础上结合 Box-Behnken 响应面法最终确定了两者最佳用量。

空白 MSNs 具有较强的吸附能力, 为降低对药物释放的影响^[19], 故用填充剂微晶纤维素代替空白 MSNs 制备黄豆苷元缓释片, 并比较黄豆苷元缓释片与 Dai-MSNs-SRT 体外释药行为。结果显示 Dai-MSNs-SRT 控释效果优于黄豆苷元缓释片, 可能是

由于 Dai-MSNs 对滞留于内部的黄豆苷元释放也起到一定阻滞作用所致。将黄豆苷元制备成 Dai-MSNs 后溶解度得到极大提高, 从而为提高溶出度、生物利用度、增强药效奠定基础^[20]。上市品黄豆苷元胶囊需 1 日口服 3 次, 每日口服剂量为 150 mg, 患者顺应性较差, 故本研究开发了日服 1 次的 Dai-MSNs-SRT (黄豆苷元含量约 120 mg/片)。

药动学研究显示, Dai-MSNs-SRT 的 C_{max} 波动幅度明显降低, 这是由于骨架材料 HPMC K4M 遇水形成凝胶阻滞层, 进而控制了 Dai-MSNs 缓慢释放有关^[21]; $T_{1/2}$ 延长至 (6.63 ± 2.17) h, 有助于增加吸收量并维持药效。Dai-MSNs-SRT 相对口服生物利用度提高至 1.88 倍, 且促吸收作用高于黄豆苷元缓释片, 可能是由于 Dai-MSNs 提高了黄豆苷元的溶解度, 利于药物体内吸收; MSNs 本身可抑制胃肠道消化酶活性^[22], 利于增加黄豆苷元稳定性并促进吸收; 纳米制剂可促进难溶性药物实现高效吸收^[23-25]。黄豆苷元缓释片在各点累积释放率高于 Dai-MSNs-SRT, 但 Dai-MSNs-SRT 体内血药浓度高于黄豆苷元缓释片, 这可能是由于 MSNs 对包载的黄豆苷元起到了保护作用, 抑制了药物体内降解, 从而增加了药物的体内吸收量。

本研究验证了 Dai-MSNs-SRT 制备工艺的可行性, 该缓释片可降低 C_{max} 波动幅度并提高生物利用度, 具备继续研究开发价值, 后续需对中试、放大生产进行研究, 并评价毒性及药效等, 进一步完善 Dai-MSNs-SRT 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] Laddha A P, Murugesan S, Kulkarni Y A. *In-vivo* and *in-silico* toxicity studies of daidzein: An isoflavone from soy [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2022, 45(3): 1408-1416.
- [2] 韩晓乐, 滕晓涵, 许怡, 等. 大豆苷元防治心脑血管疾病的研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(12): 1093-1097.
- [3] 王丽琼. 黄豆苷元对糖尿病合并颈动脉粥样硬化患者粘附因子及氧化应激状态的影响 [J]. *陕西中医*, 2013, 34(11): 1493-1494.
- [4] 张旭, 刘石磊, 齐万里. 基于网络药理学及分子对接方法探讨大豆异黄酮治疗骨质疏松的机制 [J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(2): 214-221.
- [5] Ma Y R, Zhao X Y, Li J, et al. The comparison of different daidzein-PLGA nanoparticles in increasing its oral bioavailability [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 559-570.

- [6] 韩伟. 黄豆苷元代谢相关酶的分离提取及其酶学性质研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [7] Qiu F, Chen X Y, Song B, *et al.* Influence of dosage forms on pharmacokinetics of daidzein and its main metabolite daidzein-7-O-glucuronide in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(9): 1145-1152.
- [8] 黄尊. 基于纳米混悬技术的黄豆苷元胶囊的制备及评价 [D]. 上海: 上海交通大学, 2017.
- [9] Yang G, Li Z, Wu F H, *et al.* Improving solubility and bioavailability of breviscapine with mesoporous silica nanoparticles prepared using ultrasound-assisted solution-enhanced dispersion by supercritical fluids method [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 1661-1675.
- [10] 杨金枝, 崔晓鸽. 金合欢素磷脂复合物介孔二氧化硅纳米粒制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(8): 2464-2471.
- [11] 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.
- [12] 郭留城, 杜利月, 郝海军, 等. 青藤碱固体脂质纳米粒凝胶骨架缓释片的制备及处方优化 [J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(18): 1893-1897.
- [13] 邓向涛, 张文周, 张智强. 钩藤碱纳米混悬剂缓释片制备、优化与体外释放评价 [J]. *中草药*, 2020, 51(20): 5128-5136.
- [14] 宋扬. 黄豆苷元半固体骨架及液体胶囊的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [15] Zhao Z Z, Wu C, Zhao Y, *et al.* Development of an oral push-pull osmotic pump of fenofibrate-loaded mesoporous silica nanoparticles [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 1691-1701.
- [16] 胡春霞, 严巍, 范明松. 欧前胡素双层渗透泵控释片处方的优化 [J]. *中成药*, 2022, 44(1): 13-18.
- [17] 李阳杰, 周敬. 马钱子碱双层渗透泵控释片的研制及处方优化 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(22): 2805-2809.
- [18] 尚悦, 赵炯, 李昊天, 等. 甲氧氯普胺口腔速溶膜剂的制备与体外评价 [J]. *中国医药工业杂志*, 2019, 50(11): 1296-1303.
- [19] 刘瞳, 万龙, 王可可, 等. 难溶性药物与介孔二氧化硅纳米粒载体的相互作用对于释放速率的影响 [J]. *药物评价研究*, 2018, 41(10): 1775-1780.
- [20] 李伟宏, 郑伟, 王风云, 等. 金丝桃苷磷脂复合物及其介孔二氧化硅纳米粒的制备和口服药动学研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(13): 4157-4167.
- [21] 黄雯婷, 刘志宏, 张灵娜, 等. 基于介孔硅固化自微乳的西罗莫司缓释片的制备与评价 [J]. *药学学报*, 2023, 58(4): 1049-1058.
- [22] 邢畅. 二氧化硅纳米粒消化酶蛋白冠的形成及影响因素 [J]. *现代化工*, 2017, 37(4): 71-74.
- [23] 张春燕, 李燕红, 陈乾, 等. 以牛血清白蛋白为稳定剂制备紫檀芪聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒及口服药动学研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(14): 4481-4492.
- [24] 仲曼, 胡慧慧, 缪明星, 等. 纳米药物制剂体内分析方法及药动学研究进展和问题策略分析 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(7): 1413-1425.
- [25] 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.

[责任编辑 郑礼胜]