

脂质体包覆的辣椒素介孔二氧化硅纳米粒的制备、药动学和胃黏膜刺激性评价

陈晓敏¹, 曹伶俐¹, 崔伟锋^{2*}

1. 郑州卫生健康职业学院, 河南 郑州 450199

2. 河南中医药研究院, 河南 郑州 450004

摘要: 目的 制备脂质体包覆的辣椒素介孔二氧化硅纳米粒 (liposomes-coated mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin, Cap-MSN@Lips), 考察 Cap-MSN@Lips 口服药动学行为, 并评价胃黏膜刺激性。方法 溶剂挥发法制备 Cap-MSN 粉末。单因素考察结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Cap-MSN@Lips 处方, 测定包封率、载药量、粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 和 ζ 电位。透射电镜 (transmission electron microscopy, TEM) 观察 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 微观形貌, X 射线粉末衍射法 (X-ray powder diffraction, XRPD) 分析晶型。考察 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 在不同介质中的溶解度及体外释药。比较辣椒素、Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 口服药动学行为, 计算主要药动学参数及其相对口服吸收生物利用度。对大鼠连续 ig 7 d, 观察胃黏膜组织形态, 评价 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 胃黏膜刺激性。**结果** Cap-MSN@Lips 最佳处方为介孔二氧化硅纳米粒粉末与辣椒素用量比 3.2 : 1, 磷脂与胆固醇用量比 4.0 : 1, 总脂质与辣椒素用量比 4.6 : 1。Cap-MSN@Lips 包封率、载药量、粒径、PDI 值和 ζ 电位分别为 (93.88 ± 1.17) %、(10.36 ± 0.19) %、(176.76 ± 5.69) nm、0.106 ± 0.011 和 (-27.07 ± 0.88) mV。Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 外观为圆球形, 辣椒素在 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 可能以无定形态存在, 在不同介质中辣椒素溶解度均得到极显著提高。Cap-MSN@Lips 在模拟胃肠液和水中累积释放度分别达 84.76% 和 91.43%。口服药动学显示, Cap-MSN@Lips 达峰时间 (t_{max}) 延后至 (2.56 ± 0.62) h, 半衰期 ($t_{1/2}$) 延长至 (5.79 ± 0.94) h, 达峰浓度 (C_{max}) 增加至 (893.71 ± 222.17) ng/mL, 相对口服吸收生物利用度提高至 6.19 倍, 而 Cap-MSN 口服吸收生物利用度仅提高至 3.49 倍。胃黏膜刺激性评价结果显示, Cap-MSN@Lips 对大鼠胃黏膜无损伤作用。**结论** 制备的 Cap-MSN@Lips 提高了辣椒素累积释放度, 有效促进了口服吸收, 并避免了胃黏膜刺激, 值得进一步开发。

关键词: 辣椒素; 脂质体; 介孔二氧化硅纳米粒; Box-Behnken 设计-响应面法; 溶解度; 口服生物利用度; 胃黏膜

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5393-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.007

Liposomes-coated mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin: Preparation, pharmacokinetic and gastric mucosa irritation evaluation

CHEN Xiaomin¹, CAO Lingli¹, CUI Weifeng²

1. Zhengzhou Health Vocational College, Zhengzhou 450199, China

2. Henan Academy of Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China

Abstract: Objective Liposomes-coated mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin (Cap-MSN@Lips) was prepared, oral pharmacokinetic behavior was studied, and irritation of gastric mucosa was also evaluated. **Methods** Solvent evaporation method was employed to prepare Cap-MSN powder. Single factor investigation combined with Box-Behnken response surface design method (BBD-RSM) was used to investigate the optimal prescriptions of Cap-MSN@Lips. Encapsulation efficiency, drug loading, particle size, polydispersity index (PDI) and ζ potential were determined. The micromorphology of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips was observed by transmission electron microscopy (TEM), and their crystal form was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD). The

收稿日期: 2025-02-17

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目计划 (21B360011); 河南省中医药拔尖人才培养项目资助 (2021-15); 河南省 2024 年科技发展计划科技攻关项目 (242102310577)

作者简介: 陈晓敏 (1980—), 女, 汉族, 硕士, 副教授, 主要从事中药学及基础医学研究。E-mail: cxmsunny123@163.com

*通信作者: 崔伟锋 (1980—), 男, 硕士, 副主任中医师, 研究方向为中医药基础研究。E-mail: yanjiuyuankejiaoke@163.com

solubility and *in vitro* release of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips in different media were also studied. Pharmacokinetic behavior of capsaicin, Cap-MSN and Cap-MSN@Lips were compared, main pharmacokinetic parameters and relative oral bioavailability were calculated. The gastric mucosa of rats was observed after 7-day administration of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips, and then evaluating its irritation of gastric mucosa. **Results** The optimal formulation of Cap-MSN@Lips: mesoporous silica nanoparticles to capsaicin ratio was 3.2:1, phospholipids to cholesterol ratio was 4.0:1 and total lipids to capsaicin ratio was 4.6:1. Encapsulation efficiency, drug loading, particle size, polydispersity index (PDI) and ζ potential of Cap-MSN@Lips were $(93.88 \pm 1.17)\%$, $(10.36 \pm 0.19)\%$, (176.76 ± 5.69) nm, 0.106 ± 0.011 and (-27.07 ± 0.88) mV, respectively. Appearance of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips were both spherical, capsaicin might existence as in an amorphous state in the Cap-MSN and Cap-MSN@Lips, and the solubility of capsaicin was significantly increased in different media. The cumulative release rate of Cap-MSN@Lips in simulate gastrointestinal fluids and water were enhanced to 84.76% and 91.43%, respectively. Oral pharmacokinetics showed that t_{\max} of Cap-MSN@Lips postponed to (2.56 ± 0.62) h, $t_{1/2}$ was prolonged to (5.79 ± 0.94) h, C_{\max} increased to (893.71 ± 222.17) ng/mL and relative oral bioavailability increased to 6.19-fold. The oral bioavailability of Cap-MSN was only increased to 3.49 times. Results of gastric mucosa irritation evaluation showed that Cap-MSN@Lips had no injure effects on gastric mucosa. **Conclusion** The prepared Cap-MSN@Lips improved the cumulative release degree of capsaicin, effectively promoted oral absorption of capsaicin *in vivo* and avoided the irritation on gastric mucosa, which was worth further developing.

Key words: capsaicin; liposomes; mesoporous silica nanoparticles; Box-Behnken design-response surface method; solubility; oral bioavailability; gastric mucosa

辣椒素是辣椒属植物的活性成分之一,属于天然生物碱化合物。药效学研究显示^[1-2],辣椒素具有镇痛、抗肿瘤、降血压、调血脂等活性,临床使用价值高。辣椒素在不同 pH 值水相中溶解度在 10~25 $\mu\text{g/mL}$ ^[3],极低的溶解度严重影响了辣椒素的溶出度;油水分配系数为 3.91^[4],表明辣椒素具有较高的亲脂性。辣椒素首关效应明显^[4],大鼠口服吸收生物利用度仅 1.02%~1.56%^[5],极大限制了辣椒素药效发挥。辣椒素具有较强的胃黏膜刺激性^[1,6-7],严重影响了患者顺应性及使用安全性。因此,推动辣椒素临床应用首先应解决其溶解度差、生物利用度低及胃黏膜刺激等问题。目前,辣椒素新制剂研究报道有纳米结构脂质载体^[8]、自微乳^[9]、固体分散体^[10]等。但纳米结构脂质载体存在辅料种类繁多、体内稳定性差等缺陷;自微乳制剂含大量表面活性剂,临床使用安全性存在较大争议;固体分散体极大增加了辣椒素溶解度及释药速率,但可能加重辣椒素的胃黏膜刺激,甚至可能引起不良反应。

介孔二氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticles, MSN) 具有载药量高、制备工艺简便等优势,在医药领域应用较广^[11],可用于解决辣椒素溶解度及溶出度问题。但 MSN 孔道处于开放状态,导致药物易发生泄漏,使包封率下降;同时还存在释药速率快、血药浓度波动大等问题^[12],进而可能诱发辣椒素的胃黏膜刺激等不良反应^[13]。对 MSN 表面进行化学基团修饰可控制药物释放^[14],有助于降低胃黏膜刺激性,但存在合成成本高、修饰

基团易脱落、杂质控制难度大等缺陷^[15]。脂质体是采用磷脂等脂质构建的一种双分子层脂质囊泡,可控制内部药物缓慢释放,且脂质材料相容性好^[16]。在 MSN 表面包覆脂质双分子层,有助于解决 MSN 药物易泄漏、包封率低、释药速率过快等缺陷^[17-18]。辣椒素局部浓度过高是引发胃、肠道刺激的主要原因^[1],使用脂质双分子层控制 MSN 内部药物缓慢释放^[17-18],有助于避免辣椒素对胃黏膜刺激性,提高使用安全性。本研究首先制备了辣椒素介孔二氧化硅纳米粒 (mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin, Cap-MSN),并以磷脂和胆固醇作为脂质层,进一步制备了脂质体包覆的辣椒素介孔二氧化硅纳米粒 (liposomes-coated mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin, Cap-MSN@Lips),制备流程见图 1。比较 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 体外释药行为、口服药动学行为及相对生物利用度,并进一步评价 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 对胃黏膜的影响,期望为辣椒素新型制剂研究开发提供新方法及新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (HPLC),美国 Agilent 公司; KQ-1500DE 型超声仪,昆山市超声仪器有限公司; FA2204N 型电子分析天平,赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; TG-18 型离心机,四川蜀科仪器有限公司; Nano Series-2590 型激光粒度仪,英国马尔文有限公司; WMS03022 型磁力搅

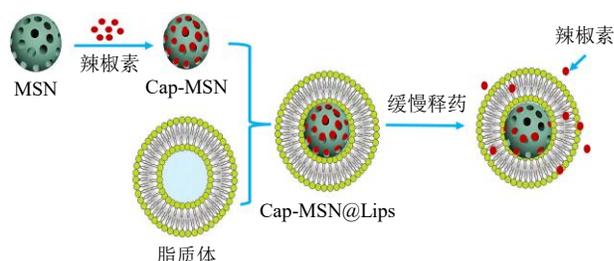


图1 Cap-MSN@Lips 制备及药物释放示意图

Fig. 1 Preparation schematics and drug release of Cap-MSN@Lips

拌器, 上海检硕科学器材有限公司; HB10 型旋转蒸发仪, 德国 IKA 仪器公司; DW-86L388J 型超低温冰箱, 青岛海尔生物医疗股份有限公司; L3-65 型冻干机, 长沙开谱仪器有限公司; D8 QUEST 型 X 射线单晶衍射仪, 瑞士布鲁克仪器公司; AT612 型溶出试验仪, 上海卓光仪器科技有限公司; JEOL-2010 型透射电子显微镜, 日本电子株式会社; DMI-3000 型倒置荧光显微镜, 德国 Leica 公司; NEC160-2A 型氮气吹扫仪, 星辰科技山东有限公司。

1.2 材料与动物

辣椒素对照品, 批号 110839-202108, 质量分数 99.0%, 中国食品药品检定研究院; 格列苯脲对照品, 批号 20210511, 质量分数 99.6%, 上海科顺生物科技有限公司; 辣椒素原料药, 批号 202116, 质量分数 96.5%, 湖北阡陌生物科技有限公司; MSN, 批号 20210506, 西安齐岳生物科技有限公司; 胆固醇, 批号 20221012, 上海克拉玛尔公司; 磷脂, 批号 20210318, 上海辅必成医药科技有限公司; 甘露醇, 批号 20200626, 四川博利恒药业有限公司; 4% 多聚甲醛组织固定液, 批号 BL624B, Biosharp 生物试剂公司。

SD 大鼠 (清洁级) 购自河南省动物实验中心 [SCXK (豫) 2020-0001], 雌雄各半, 体质量 220~240 g。所有动物实验遵循郑州卫生健康职业学院有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则, 郑州卫生健康职业学院动物伦理批准号为 ZwjyLL202312-9。

2 方法与结果

2.1 Cap-MSN@Lips 的制备

采用溶剂挥发法制备 Cap-MSN 粉末。取 20 mg 辣椒素和处方量空白 MSN 粉末, 置于 10 mL 无水乙醇中, 密封后 600 r/min 磁力搅拌 2 h, 减压旋蒸除去无水乙醇 (水浴温度为 45 °C, 转速为 60

r/min), 即得 Cap-MSN 粉末。取适量 Cap-MSN 粉末, 加入 20 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4), 预热至 55 °C, 600 r/min 磁力搅拌, 即得水相。取处方量的磷脂和胆固醇置于圆底烧瓶, 加入 10 mL 氯仿溶解, 混匀后减压旋蒸除去有机溶剂 (温度为 45 °C, 转速为 60 r/min), 得均匀透明薄膜, 置于 55 °C 水浴中。加入上述水相, 600 r/min 磁力搅拌 1 h, 150 W 功率超声 20 min, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得 Cap-MSN@Lips。不含辣椒素的空白样品同法制备。

2.2 Cap-MSN@Lips 中辣椒素含量测定

2.2.1 色谱条件 流动相为乙腈-0.1 mol/L 乙酸水溶液 (45:55); 体积流量为 1.0 mL/min; 色谱柱为 Waters C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长为 280 nm; 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL。理论塔板数以辣椒素峰计不低于 7 000。

2.2.2 线性关系考察 精密称取 20 mg 辣椒素对照品至 100 mL 量瓶中, 采用乙腈溶解, 并稀释定容, 即得 200 μg/mL 辣椒素对照品储备液; 以乙腈-0.1 mol/L 乙酸水溶液 (45:55) 作为稀释液, 稀释配制成质量浓度分别为 10.00、5.00、1.00、0.50、0.10、0.05 μg/mL 的系列辣椒素对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件, 测定各个辣椒素质量浓度 (X) 的峰面积 (Y), 进行线性回归, 得回归方程 $Y=24.1779 X+0.6528$, $r=0.9999$, 结果表明辣椒素在 0.05~10.00 μg/mL 存在良好的线性关系。

2.2.3 Cap-MSN@Lips 供试品溶液的制备 精密量取 Cap-MSN@Lips 混悬液 1 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加 30 mL 乙腈超声 15 min, 加入乙腈稀释定容, 16 500 r/min 离心 (离心半径 6.4 cm) 20 min。精密吸取上清液 2 mL 至 10 mL 量瓶中, 用乙腈-0.1 mol/L 乙酸水溶液 (45:55) 稀释定容, 摇匀, 即得 Cap-MSN@Lips 供试品溶液。不含辣椒素空白样品的供试品溶液同法制备。

2.2.4 专属性考察 取空白样品溶液、辣椒素对照品溶液和 Cap-MSN@Lips 供试品溶液, 分别按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果见图 2, 可见辣椒素保留时间约 6.6 min, 色谱峰峰形对称且尖锐, 专属性较高。

2.2.5 精密度考察 分别吸取 0.05、1.00、10.00 μg/mL 辣椒素对照品溶液, 分别按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定 6 次, 结果辣椒素峰面积的 RSD 分别为 0.82%、0.38%、0.44%, 结果表明该仪器精

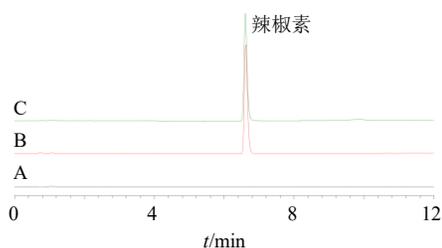


图2 空白样品(A)、辣椒素对照品(B)、Cap-MSN@Lips 供试品溶液(C)的HPLC图

Fig. 2 HPLC of blank sample (A), capsaicin reference substance (B) and Cap-MSN@Lips sample solution (C)

密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取“2.2.3”项下Cap-MSN@Lips 供试品溶液置于室温环境(温度 25 °C, 相对湿度 55%), 于 0、2、4、6、12、24 h 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 辣椒素峰面积的 RSD 值为 0.65%, 表明 Cap-MSN@Lips 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 取同 1 份 Cap-MSN@Lips, 按照“2.2.3”项下操作平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件测定, 结果辣椒素质量浓度的 RSD 为 0.89%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率考察 精密吸取 Cap-MSN@Lips 混悬液 0.5 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 共 9 份, 分为低、中、高三组(每组 3 份), 分别加入质量浓度为 200 μg/mL 辣椒素对照品储备液 1.5、2.5、3.5 mL, 分别制备 Cap-MSN@Lips 供试品溶液, 测定辣椒素含量, 计算得辣椒素的平均加样回收率为 100.43%, RSD 值为 1.49%, 结果表明该实验准确度较高。

2.3 Cap-MSN@Lips 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的测定方法

精密吸取 1 mL Cap-MSN@Lips, 按照“2.2.1”项下方法测定辣椒素总量 (W_0); 另精密取 1 mL Cap-MSN@Lips, 直接冻干, 称定质量 (W); 精密吸取 1 mL Cap-MSN@Lips 混悬液, 至超滤管(平均截留相对分子质量 8 000)中, 8 000 r/min 离心(离心半径 6.4 cm) 10 min, 取外管滤液测定游离辣椒素质量 (W_1); 计算 Cap-MSN@Lips 中辣椒素的包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (W_0 - W_1) / W_0$$

$$\text{载药量} = (W_0 - W_1) / W$$

取 10 mL 蒸馏水, 加入 200 μL Cap-MSN@Lips 混悬液, 混匀, 取适量于粒径分析仪上, 测定 Cap-MSN@Lips 多分散指数 (polydispersity index, PDI)、

粒径和 ζ 电位, 各样品均平行测定 3 次, 取均值(当 RSD 值大于 2% 时, 需重新测定)。

2.4 Cap-MSN@Lips 处方工艺考察

2.4.1 MSN 与辣椒素用量比的考察 固定辣椒素投药量为 20 mg, 磷脂与胆固醇用量比为 3 : 1, 脂质(磷脂和胆固醇)与辣椒素用量比为 4 : 1, 超声功率为 150 W, 超声时间为 15 min 条件下考察 MSN 与辣椒素用量比对 Cap-MSN@Lips 制备的影响, 结果见表 1。随着 MSN 与辣椒素用量比的增加, Cap-MSN@Lips 包封率逐渐增加后趋稳, 表明增加 MSN 用量, 有利于药物辣椒素进入 MSN 孔道内实现载药^[10-11]。载药量随着 MSN 与辣椒素用量比的增加呈先增加后下降趋势, 这是由于 MSN 用量不足时包封率较低, 进而影响了载药量; MSN 用量过大时使辅料总用量增加, 进而使载药量降低^[14]。PDI 值随着 MSN 与辣椒素用量比的增加总体呈变小趋势, 表明 Cap-MSN@Lips 粒径均一性逐渐增加。粒径随着 MSN 与辣椒素用量比的增加而逐渐下降, 这是由于 MSN 用量比例较低时, 药物附着在 Cap-MSN@Lips 表面, 从而使粒径较大; MSN 用量比例逐渐增加时药物吸附进入 MSN 孔道内, 因而使粒径下降^[10-11]。当 MSN 与辣椒素用量比为 3 : 1 时包封率和载药量相对较高, PDI 值相对较小, 故后续以 MSN 与辣椒素用量比 3 : 1 为中心, 采用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 对 MSN 与辣椒素用量比 2 : 1~4 : 1 进行优化。

表 1 MSN 与辣椒素用量比对 Cap-MSN@Lips 制备的影响考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Investigation of MSN to capsaicin ratio on preparation of Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

MSN与辣椒素用量比	包封率/%	载药量/%	PDI值	粒径/nm
1 : 1	54.98 ± 0.57	8.59 ± 0.31	0.374 ± 0.019	228.11 ± 5.63
2 : 1	70.71 ± 0.84	10.13 ± 0.24	0.281 ± 0.017	196.79 ± 4.89
3 : 1	88.53 ± 1.15	11.04 ± 0.28	0.147 ± 0.015	180.63 ± 6.11
4 : 1	88.98 ± 1.20	9.64 ± 0.15	0.135 ± 0.009	178.54 ± 5.79
5 : 1	89.17 ± 0.97	8.90 ± 0.17	0.133 ± 0.012	177.92 ± 5.98

2.4.2 磷脂与胆固醇用量比的考察 固定辣椒素投药量为 20 mg, MSN 与辣椒素用量比为 3 : 1, 脂质与辣椒素用量比为 4 : 1, 超声功率为 150 W, 超声时间为 15 min 条件下考察磷脂与胆固醇用量比对 Cap-MSN@Lips 制备的影响, 结果见表 2。Cap-MSN@Lips 包封率和载药量随着磷脂与胆固醇用量

表2 磷脂与胆固醇比例对 Cap-MSN@Lips 制备的影响考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Investigation of phospholipids to cholesterol ratio on preparation of Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

磷脂与胆固醇用量比	包封率/%	载药量/%	PDI值	粒径/nm
2:1	76.79±0.57	9.40±0.32	0.417±0.012	178.11±4.93
3:1	82.16±0.84	10.09±0.27	0.261±0.017	176.72±5.36
4:1	87.91±1.15	10.73±0.22	0.137±0.009	178.03±6.68
5:1	82.65±1.20	10.14±0.13	0.162±0.018	175.66±6.24
6:1	79.85±0.97	9.88±0.19	0.173±0.014	177.71±5.74

比的增加均先增加后下降,可能是磷脂与胆固醇用量比过低时影响了 Cap-MSN@Lips 表层脂质层的容纳空间,进而影响了载药^[7,16];磷脂与胆固醇用量比过高时脂质层稳定性下降,药物易泄漏^[7,19]。Cap-MSN@Lips 的 PDI 值随着磷脂与胆固醇用量比的增加呈先下降后增大趋势,表明磷脂与胆固醇用量比对粒径均一性影响较大^[20],但磷脂与胆固醇用量比对粒径影响不大。当磷脂与胆固醇用量比为 4:1 时包封率和载药量相对较高,PDI 值相对较低,故后续以磷脂与胆固醇用量比 4:1 为中心,采用 BBD-RSM 对磷脂与胆固醇用量比 3:1~5:1 进行优化。

2.4.3 总脂质与辣椒素用量比的考察 固定辣椒素投药量为 20 mg,MSN 与辣椒素用量比为 3:1,磷脂与胆固醇用量比为 4:1,超声功率为 150 W,超声时间为 15 min 条件下考察总脂质与辣椒素用量比对 Cap-MSN@Lips 制备的影响,结果见表 3。随着总脂质与辣椒素用量比的增加 Cap-MSN@Lips 包封率逐渐增加,而载药量呈逐渐下降,这是由于增加脂质用量利于提高 Cap-MSN@Lips 包封率,但 Cap-MSN@Lips 对药物容纳空间是有限的^[16],继续增加脂质总量使辅料总用量增加,导致载药量下降。PDI 值随着脂质与辣椒素用量比的增加呈先下降后增加趋势,可能是脂质与辣椒素用量比较低时

表3 脂质与辣椒素用量比对 Cap-MSN@Lips 制备的影响考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Investigation of lipids to capsaicin ratio on preparation of Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

脂质与辣椒素用量比	包封率/%	载药量/%	PDI值	粒径/nm
3:1	80.71±1.00	11.30±0.17	0.223±0.011	172.77±4.55
4:1	88.16±0.94	10.99±0.24	0.131±0.015	178.14±5.84
5:1	92.05±1.13	10.33±0.29	0.126±0.016	173.56±5.94
6:1	92.72±1.22	9.84±0.23	0.148±0.008	182.70±6.87
7:1	92.80±0.96	8.28±0.12	0.171±0.012	197.91±6.58

Cap-MSN 表面不能被包覆均匀,因而使粒径均一性差^[20];总脂质与辣椒素用量比较高时会使脂质过量,也会影响粒径均一性^[21]。Cap-MSN@Lips 粒径随着总脂质与辣椒素用量比的增加总体呈增加趋势,可见总脂质与辣椒素用量比对 Cap-MSN@Lips 影响较大。当总脂质与辣椒素用量比为 5:1 时包封率和载药量相对较高,PDI 值相对较低,故后续以总脂质与辣椒素用量比 5:1 为中心,采用 BBD-RSM 对总脂质与辣椒素用量比 4:1~6:1 进行优化。

2.4.4 超声功率的影响 固定辣椒素投药量为 20 mg,MSN 与辣椒素用量比为 3:1,磷脂与胆固醇用量比为 4:1,脂质与辣椒素用量比为 5:1,超声时间为 15 min 条件下考察超声功率对 Cap-MSN@Lips 制备的影响,结果见表 4。当超声功率大于 175 W 时,Cap-MSN@Lips 包封率和载药量出现下降情况,且 PDI 值增大,可能是超声过大时影响了 Cap-MSN@Lips 表面磷脂双分子层的结构稳定性,导致药物泄漏^[12],同时 Cap-MSN@Lips 粒径均一性下降。由于超声功率为 150 W 时,Cap-MSN@Lips 包封率和载药量相对较高,且 PDI 值和粒径相对较小,因此,采用超声功率为 150 W 来制备 Cap-MSN@Lips。

表4 超声功率对 Cap-MSN@Lips 制备的影响考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Investigation of ultrasonic powder on preparation of Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

超声功率/W	包封率/%	载药量/%	PDI值	粒径/nm
100	91.66±0.92	10.16±0.17	0.235±0.013	177.55±7.02
125	92.03±1.12	10.15±0.24	0.171±0.010	178.88±6.35
150	92.24±1.45	10.22±0.20	0.130±0.011	175.97±5.44
175	89.17±1.02	9.81±0.23	0.156±0.016	177.84±6.01
200	85.68±1.34	9.44±0.12	0.198±0.008	183.23±6.22

2.4.5 超声时间的影响 固定辣椒素投药量为 20 mg,MSN 与辣椒素用量比为 3:1,磷脂与胆固醇用量比为 4:1,脂质与辣椒素用量比为 5:1,超声功率为 150 W 条件下考察超声时间对 Cap-MSN@Lips 制备的影响,结果见表 5。适当的超声时间有利于脂质在 Cap-MSN@Lips 表面融合^[20],因而包封率和载药量随着超声时间的适当增加而增加。超声时间大于 25 min 时,Cap-MSN@Lips 包封率和载药量出现下降情况,且 PDI 值增大,可能是超声时间过长,对 Cap-MSN@Lips 表面磷脂双分子层产生了破坏作用^[6],导致药物泄漏。由于超声时间为 20 min

表5 超声功率对 Cap-MSN@Lips 制备的影响考察
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Investigation of ultrasonic powder on preparation of Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

超声时间/min	包封率/%	载药量/%	PDI值	粒径/nm
5	88.68±1.15	9.56±0.20	0.269±0.015	205.75±6.11
10	91.14±1.36	9.84±0.11	0.191±0.013	179.78±6.98
15	92.67±0.98	10.18±0.17	0.136±0.009	174.06±5.47
20	94.42±1.12	10.70±0.28	0.102±0.017	175.81±4.89
25	89.77±1.61	9.64±0.12	0.147±0.012	178.79±5.66
30	86.85±1.58	9.14±0.19	0.169±0.016	190.53±6.01

时, Cap-MSN@Lips 包封率和载药量相对较高, PDI 值和粒径相对较小, 因此确定超声时间 20 min。

2.5 BBD-RSM 优化 Cap-MSN@Lips 处方

2.5.1 试验方案

根据“2.4”项下研究结果表明, MSN 与辣椒素用量比、磷脂与胆固醇用量比和总脂

质与辣椒素用量比是 Cap-MSN@Lips 主要影响因素, 故分别设置为 X_1 、 X_2 和 X_3 , 并作为自变量 (表 6)。包封率、载药量和 PDI 值是 Cap-MSN@Lips 主要质量指标, 故分别设置为 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 , 并作为因变量。期望 Cap-MSN@Lips 具有较高的包封率和载药量, 且较低的 PDI 值, 为从整体上控制 Cap-MSN@Lips 质量, 故将这 3 个因变量指标转换为归一值 (overall desirability, OD), OD 值计算过程为^[14]: 包封率 (d_1) 和载药量 (d_2) 采用公式 [$d = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$] 进行计算, PDI 值 (d_3) 采用公式 [$d = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$] 进行计算, 其中 M_i 为实际测量值, M_{\min} 和 M_{\max} 为该组试验中最小值和最大值; 归一值 $OD = (d_1 d_2 d_3)^{1/3}$ 。不同 Cap-MSN@Lips 处方组合及其包封率、载药量、PDI 值和 OD 值见表 6。

2.5.2 模型的建立以及方差分析

根据表 6 实验数

表6 BBD-RSM 因素水平与试验设计和结果 ($n = 3$)

Table 6 Factors levels and experimental design and results of BBD-RSM ($n = 3$)

试验号	X_1	X_2	X_3	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3	OD值	试验号	X_1	X_2	X_3	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3	OD值
1	2 : 1 (-1)	3 : 1 (-1)	5 : 1 (0)	74.56	9.33	0.209	0.000	10	3 : 1	4 : 1	5 : 1	93.46	10.17	0.107	0.964
2	4 : 1 (+1)	4 : 1 (0)	6 : 1 (+1)	92.45	8.21	0.132	0.000	11	3 : 1	3 : 1	6 : 1	82.92	8.24	0.167	0.141
3	3 : 1 (0)	4 : 1	5 : 1	92.91	10.11	0.108	0.942	12	3 : 1	4 : 1	5 : 1	92.74	10.27	0.110	0.959
4	3 : 1	5 : 1 (+1)	6 : 1	86.23	8.52	0.149	0.320	13	2 : 1	4 : 1	4 : 1	73.46	10.23	0.194	0.104
5	4 : 1	3 : 1	5 : 1	84.15	8.27	0.158	0.197	14	3 : 1	5 : 1	4 : 1	78.97	9.77	0.162	0.465
6	4 : 1	4 : 1	4 : 1 (-1)	86.86	9.53	0.129	0.686	15	4 : 1	5 : 1	5 : 1	86.72	8.63	0.193	0.273
7	3 : 1	4 : 1	5 : 1	93.82	10.32	0.101	0.980	16	3 : 1	3 : 1	4 : 1	78.53	9.66	0.140	0.503
8	2 : 1	5 : 1	5 : 1	72.60	8.93	0.164	0.000	17	2 : 1	4 : 1	6 : 1	80.67	8.84	0.198	0.229
9	3 : 1	4 : 1	5 : 1	93.14	10.22	0.105	0.973								

据, 使用 Design Expert V11.1.2.0 版本软件进行拟合, 得归一值 OD 的二次多元回归方程为 $Y_1 = 0.96 + 0.10 X_1 + 0.03 X_2 - 0.13 X_3 + 0.02 X_1 X_2 - 0.20 X_1 X_3 + 0.05 X_2 X_3 - 0.47 X_1^2 - 0.37 X_2^2 - 0.23 X_3^2$, 数学模型 R^2 和 R_{adj}^2 值分别为 0.998 6 和 0.996 7, 均大于 0.99, 表明该模型是有意义的, 仅有 0.33% 数据出现异常; 失拟

F 值为 0.105 9 (大于 0.05), 表明干扰因素可忽略, 证明建立的归一值 OD 数学模型可用于 Cap-MSN@Lips 处方研究。方程分析见表 7, 方程中 X_1 、 X_3 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 均具极显著性差异 ($P < 0.01$), 而 X_2 具显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.5.3 响应面优化与预测

固定 MSN 与辣椒素用

表7 OD 值方差分析

Table 7 Analysis of variance of OD value

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	2.36	9	0.26	539.88	<0.000 1	X_1^2	0.95	1	0.95	1 950.23	<0.000 1
X_1	0.09	1	0.09	174.39	<0.000 1	X_2^2	0.58	1	0.58	1 199.92	<0.000 1
X_2	5.88×10^{-3}	1	5.88×10^{-3}	12.11	0.010 3	X_3^2	0.23	1	0.23	477.36	<0.000 1
X_3	0.14	1	0.14	293.82	<0.000 1	残差	3.40×10^{-3}	7	3.40×10^{-3}		
$X_1 X_2$	1.47×10^{-3}	1	1.47×10^{-3}	3.02	0.125 8	失拟项	2.55×10^{-3}	3	2.55×10^{-3}	4.03	0.105 9
$X_1 X_3$	0.16	1	0.16	338.99	<0.000 1	纯误差	8.50×10^{-4}	4	8.50×10^{-4}		
$X_2 X_3$	0.01	1	0.01	24.33	0.001 7	总差	2.36	16	2.36		

量比 (X_1)、磷脂与胆固醇用量比 (X_2) 和总脂质与辣椒素用量比 (X_3) 某一因素 (固定因素均采用中间值), 分别采用 Design Expert V11.1.2.0 软件绘制两因素之间的三维曲面图。结果见图 3, 随着任意两因素组合的增加归一值 OD 均呈抛物线变化趋势。归一值 OD 越大代表 Cap-MSN@Lips 处方越理想,

故选择归一值 OD 最大值为优化目标, 取值区间为 0~1, 得 Cap-MSN@Lips 最佳处方为 MSN 与辣椒素用量比为 3.19:1 (修正为 3.2:1), 磷脂与胆固醇用量比为 4.01:1 (修正为 4.0:1), 总脂质与辣椒素用量比为 4.63:1 (修正为 4.6:1), 预测归一值 OD 为 1.0。

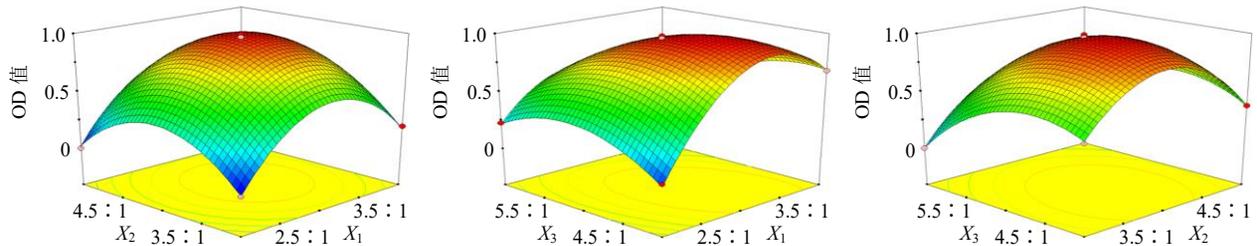


图 3 各因素与响应值的三维图

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

2.5.4 Cap-MSN@Lips 最佳处方验证及偏差 按照“2.5.3”项下修正后的处方平行制备 3 批 Cap-MSN@Lips, 分别测定包封率、载药量和 PDI 值, 并计算实测归一值 OD。以预测归一值 OD 为 1.0 为参考, 计算实测归一值 OD 的相对偏差。测定结果显示, 平均包封率、载药量和 PDI 值分别为 (93.88 ± 1.17) %、(10.36 ± 0.19) % 和 0.106 ± 0.011, 实测归一值 OD 及其相对偏差分别为 0.986 和 -1.40%, 表

明建立的归一值 OD 数学模型对 Cap-MSN@Lips 处方研究具有较强的指导意义。

2.6 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 质量指标比较

包封率、载药量等质量指标测定结果见表 8。Cap-MSN@Lips 平均包封率高于 Cap-MSN, 表明在 Cap-MSN 表面包覆脂质层利于增加包封率。Cap-MSN 载药量高于 Cap-MSN@Lips, 主要是因为 Cap-MSN@Lips 处方中引入磷脂和胆固醇等辅料所致。

表 8 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 的包封率、载药量、PDI 值、粒径及 ζ 电位测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Determination results of encapsulation efficiency, drug loading, PDI, particle size and ζ potential of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI值	ζ电位/mV
Cap-MSN	87.64 ± 0.96	20.55 ± 1.34	168.77 ± 4.26	0.086 ± 0.008	4.75 ± 0.33
Cap-MSN@Lips	93.88 ± 1.17	10.36 ± 0.19	176.76 ± 5.69	0.106 ± 0.011	-27.07 ± 0.88

Cap-MSN@Lips 平均粒径略大于 Cap-MSN (图 4-A), 这与 Cap-MSN@Lips 表面包覆的脂质层有关, 由于脂质层包覆在 Cap-MSN 表面时可能填充至 MSN 表面的介孔结构中, 因而导致 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 粒径差别不大。Cap-MSN 表面带正电荷, 而制备成 Cap-MSN@Lips 后表面电荷性质发生了很大改变 (图 4-B), 且 Cap-MSN@Lips 的 ζ 电位绝对值大于 Cap-MSN。

2.7 透射电镜观察 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 微观形貌

分别取 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 混悬液 0.1 mL 置于 5 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释定容并混匀, 滴至铜网上, 铺展后采用 2% 磷钨酸钠染色, 晾干后置于透射电镜上观察 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 微观形貌, 放大倍数为 13 000 倍。结果见图 5, Cap-

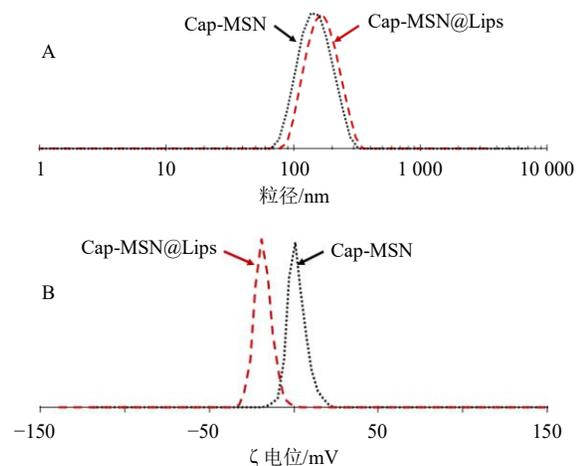


图 4 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 粒径分布 (A) 及 ζ 电位 (B)

Fig. 4 Particle size distribution (A) and ζ potential (B) of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips

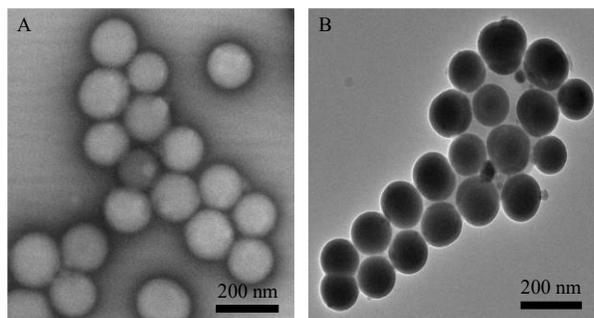


图5 Cap-MSN (A) 和 Cap-MSN@Lips (B) 的透射电镜图
Fig. 5 Transmission electron microscope of Cap-MSN (A) and Cap-MSN@Lips (B)

MSN (图 5-A) 和 Cap-MSN@Lips (图 5-B) 均呈圆形, 由于脂质层包覆在 Cap-MSN@Lips 表面, 透射电镜发射的电子束受到散射的影响导致接收到的电子数量极度减少, 进而使图像衬度变低^[19], 故 Cap-MSN@Lips 表面颜色比 Cap-MSN 更深。

2.8 Cap-MSN@Lips 冻干粉的制备工艺

取 Cap-MSN@Lips 混悬液, 精密量定体积, 加入质量浓度为 40 mg/mL 甘露醇, 按 2 mL/瓶分装至西林瓶, 敞口置于 -40°C 超低温冰箱预冻 3 d, 立即置于 -30°C 冷冻干燥机中, 抽真空, 3 d 后取出即得 Cap-MSN@Lips 冻干粉, 立即密封。Cap-MSN@Lips 混悬液、冻干粉及蒸馏水复溶后外观见图 6, Cap-MSN@Lips 冻干粉外观均饱满, 色泽均一, 复溶后 Cap-MSN@Lips 混悬液未见沉淀。

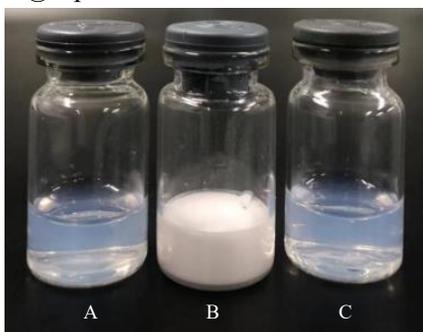


图6 Cap-MSN@Lips 混悬液 (A)、冻干粉 (B)、蒸馏水复溶后 (C) 的外观

Fig. 6 Appearance of Cap-MSN@Lips suspension (A), lyophilized powder (B) and redissolved by distilled water (C)

2.9 Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉晶型研究

采用 Cu-K α 靶进行扫描, 扫描速度为 $4^{\circ}/\text{min}$, 角度 (2θ) 为 $3^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 。取辣椒素、空白脂质 (磷脂+胆固醇)、MSN 粉末、甘露醇、物理混合物 (辣椒素与各种辅料比例同 Cap-MSN@Lips 冻干粉)、

Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉分别进行扫描。Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉 XRPD 结果见图 7。辣椒素在 7.3° 、 8.1° 、 12.4° 、 19.3° 、 19.5° 、 25.1° 等出现特征晶型峰, 在物理混合物 XRPD 中仍可观察到辣椒素在 8.1° 、 12.4° 、 25.1° 等处的特征晶型峰 (红色箭头所示), 其他晶型峰被辅料晶型峰掩盖。Cap-MSN 粉末的 XRPD 图谱中未观察到辣椒素晶型峰, 推测辣椒素进入 Cap-MSN 介孔内, 导致辣椒素晶型峰消失, 存在形式可能转变为无定形态。Cap-MSN@Lips 冻干粉也未观察到辣椒素晶型峰, 表明辣椒素在 Cap-MSN@Lips 冻干粉存在形式可能仍为无定形态, 但甘露醇的主要晶型峰仍存在。

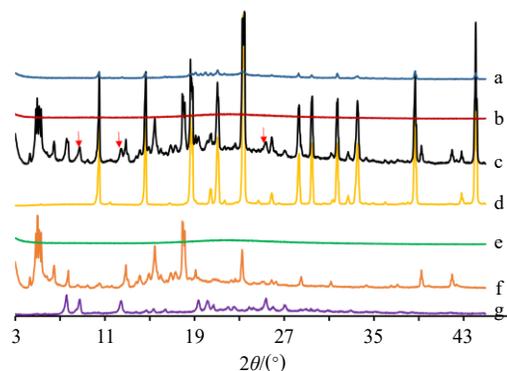


图7 Cap-MSN@Lips (a)、Cap-MSN (b)、物理混合物 (c)、甘露醇 (d)、MSN (e)、物理混合物 (f)、辣椒素 (g) 的 XRPD 结果

Fig. 7 XRPD results of Cap-MSN@Lips (a), Cap-MSN (b), physical mixture (c), mannitol (d), MSN (e), physical mixture (f) and capsaicin (g)

2.10 溶解度测定

取过量的辣椒素原料药、Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉, 分别置于 25°C 的 pH 2.0 PBS, 超声 20 min 后, 以 600 r/min 磁力搅拌 2 d, 分别于 12 500 r/min 离心 (离心半径 6.4 cm) 30 min, 测定上清液中辣椒素质量浓度。同法考察各个样品在蒸馏水和 pH 6.8 PBS 中的溶解度。结果见表 9, 辣椒素溶解度随着 pH 值升高而下降, 表明 pH 值对其溶解度有一定影响。辣椒素在 Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉中的溶解度均有极显著性增加 ($P < 0.01$), 其中 Cap-MSN@Lips 冻干粉溶解度略高于 Cap-MSN 粉末, 可能与 Cap-MSN@Lips 处方中磷脂等辅料增溶作用有关。

2.11 体外释药行为比较及模型拟合

分别称取辣椒素原料药、Cap-MSN 粉末和 Cap-

表9 溶解度考察结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Results of solubility test ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
	pH 2.0 PBS	蒸馏水	pH 6.8 PBS
辣椒素原料药	23.19 \pm 0.32	15.69 \pm 0.15	13.50 \pm 0.16
Cap-MSN	672.88 \pm 5.79**	584.73 \pm 4.52**	546.87 \pm 3.77**
Cap-MSN@Lips	684.05 \pm 6.10**	605.13 \pm 5.96**	556.47 \pm 5.81**

与辣椒素原料药相比: ** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs capsaicin bulk drug.

MSN@Lips 冻干粉适量 (辣椒素含量均为 15 mg), 加入 6 mL 空白介质, 转移至透析袋 (截留相对分子质量为 8 000~14 000) 中, 扎紧后置于 1 000 mL 的 pH 2.0 PBS (含质量分数为 0.5% SDS), 介质温度为 37 °C, 转速为 75 r/min, 分别 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 h 取样 5 mL, 取样后及时补加 5 mL 空白介质。2 h 取样后将介质更换为 1 000 mL 的 pH 6.8 PBS (含质量分数为 0.5% SDS), 于 3、4、6、8、10、12 h 取样 5 mL, 取样后及时补加 5 mL 空白介质。

另采用质量分数为 0.5% SDS 蒸馏水作为释药介质, 同法考察各个样品在蒸馏水中的释药行为。各样品分别于 12 500 r/min 离心 (离心半径为 6.4 cm) 20 min, 测定上清液中辣椒素含量。各样品在模拟胃肠液和蒸馏水中的释药行为结果分别见图 8-A、B。结果辣椒素、Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 在模拟胃肠液中 12 h 累积释放度分别为 44.17%、88.04%和 84.76%, 在蒸馏水中 12 h 累积释放度分别为 38.55%、95.71%和 91.43%, 结果表明 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 均可提高辣椒素释放度, 可能与 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 极大降低了辣椒素粒度、改变了辣椒素的晶型状态、增加辣椒素溶解度等因素有关^[14]。

表10 药物释放模型和相关系数

Table 10 Fitting release model and coefficient

样品	模型	模拟胃肠液		蒸馏水	
		拟合方程	R^2	拟合方程	R^2
Cap-MSN	零级释药	$M_t/M_\infty = 0.054 3 t + 0.402 2$	0.540 2	$M_t/M_\infty = 0.058 5 t + 0.459 3$	0.520 4
	一级释药	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.155 2 t - 0.580 9$	0.779 4	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.255 1 t - 0.672 2$	0.852 5
	Higuchi	$M_t/M_\infty = 0.246 7 t^{1/2} + 0.187 2$	0.827 1	$M_t/M_\infty = 0.268 8 t^{1/2} + 0.022 2$	0.814 2
	Weibull	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.489 6 \ln t - 0.356 1$	0.913 2	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.956 2 \ln t - 1.540 8$	0.966 3
Cap-MSN@Lips	零级释药	$M_t/M_\infty = 0.060 6 t + 0.247 2$	0.770 3	$M_t/M_\infty = 0.071 3 t + 0.171 9$	0.855 9
	一级释药	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.143 5 t - 0.236 2$	0.939 7	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.188 1 t - 0.039 2$	0.996 4
	Higuchi	$M_t/M_\infty = 0.249 1 t^{1/2} + 0.056 4$	0.953 1	$M_t/M_\infty = 0.277 4 t^{1/2} + 0.023 8$	0.983 1
	Weibull	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.682 1 \ln t - 1.051 5$	0.989 8	$\ln \ln [1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.956 2 \ln t - 1.540 8$	0.989 8

M_t 为 t 时累积释放度, t 为时间, M_∞ 为 $t \rightarrow \infty$ 时累积释放率, M_t/M_∞ 为 t 时累积释放百分率。

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

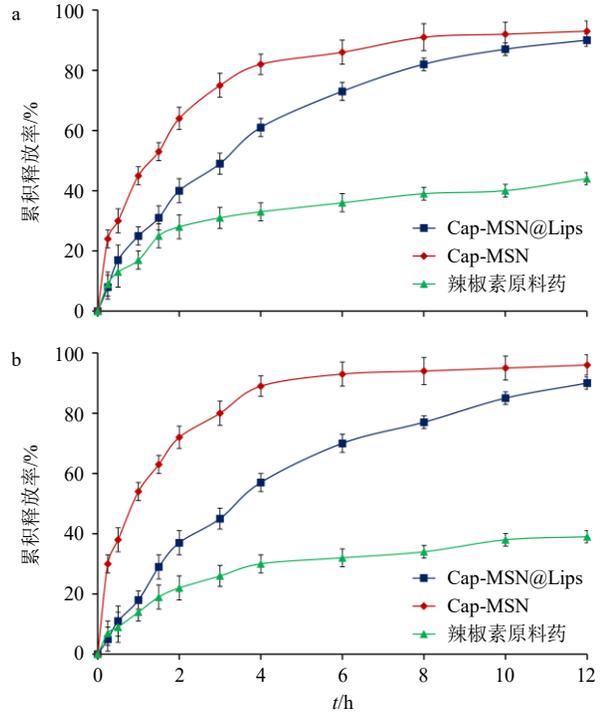


图8 模拟胃肠液 (a) 和蒸馏水 (b) 中释放曲线的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Comparison of drug release profiles in simulated gastrointestinal juice (a) and distilled water (b) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Cap-MSN@Lips 各时间点累积释放度均低于 Cap-MSN, 表明 Cap-MSN@Lips 具有明显的控释作用和缓释特征。

释药模型拟合结果见表 10, 相关系数 R^2 越大表明拟合度越高, Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 在模拟胃肠液中释药过程均符合 Weibull 模型, 且 Cap-MSN@Lips 的 Weibull 模型相关系数 R^2 大于 Cap-MSN。Cap-MSN 在蒸馏水中释药过程符合 Weibull 模型, 而 Cap-MSN@Lips 更符合一级模型。

2.12 Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉稳定性研究

取 Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉分别密封于西林瓶中,置于温度为 30 °C、湿度为 65% 的恒温恒湿箱中,分别于 0、1、2、3、6 月取样,加入蒸馏水分散后测定包封率、粒径和 PDI 值。结果见表 11, Cap-MSN 粉末在第 6 月时包封率低于

80%,且粒径和 PDI 值均变大,表明稳定性不佳。Cap-MSN@Lips 冻干粉包封率基本未发生变化(仍大于 90%),粒径基本未发生变化;PDI 值有所增大,但仍远小于 0.3,表明 Cap-MSN@Lips 冻干粉储存稳定性高于 Cap-MSN 粉末。可能是由于 Cap-MSN@Lips 表面的脂质修饰层阻止了药物泄漏所致,制成冻干粉也利于提高制剂储存稳定性^[16]。

表 11 Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 冻干粉稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Stability of Cap-MSN and Cap-MSN@Lips lyophilized powder ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/月	Cap-MSN粉末			Cap-MSN@Lips冻干粉		
	包封率/%	粒径/nm	PDI	包封率/%	粒径/nm	PDI
0	87.85±1.17	148.40±4.89	0.090±0.008	93.74±0.91	168.84±5.05	0.109±0.015
1	87.67±0.94	147.24±5.52	0.086±0.009	93.80±1.12	167.14±4.65	0.103±0.009
2	86.43±1.22	151.80±5.43	0.093±0.012	93.45±1.36	170.79±6.26	0.111±0.014
3	82.77±1.46	163.79±4.97	0.127±0.011	92.78±1.22	169.41±5.77	0.115±0.011
6	78.81±0.89	183.26±7.18	0.159±0.014	90.80±0.97	172.29±7.12	0.118±0.013

2.13 口服药动力学研究

2.13.1 试验方案 取辣椒素、Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 冻干粉适量,加入 0.5% 的 CMC-Na 水溶液配制混悬液。取 SD 大鼠 18 只随机分为 3 组,每组 6 只(雌雄各半),ig 剂量以辣椒素计均为 25 mg/kg。SD 大鼠禁食 12 h,分别使用灌胃针将辣椒素、Cap-MSN 粉末和 Cap-MSN@Lips 混悬液缓慢推送注入 SD 大鼠胃内,立即计时,辣椒素组于 0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8 h 取血约 250 μL,根据实际情况 Cap-MSN 组增加 12 h 取血点,血样置于含肝素抗凝剂的离心管中,3 000 r/min 离心 2 min,取上层血浆冷冻保存。经前期预实验考察发现, Cap-MSN@Lips 药动学行为发生了较大变化,故 Cap-MSN@Lips 取血点调整为 0.5、1、2、2.5、3、4、6、8、10、12 h,同法制备、保存血浆样品。

2.13.2 血浆样品处理过程 精密称取格列本脲对照品,采用乙腈溶解,稀释配制质量浓度为 1 200 ng/mL,作为内标溶液。取冷冻血浆样品置于 37 °C 水浴解冻,精密取 100 μL 置于离心管中,加入内标溶液 50 μL 和提取溶剂(二氯甲烷-正己烷-异丙醇 75 : 75 : 5) 1 mL,涡旋 3 min 得混悬液。8 000 r/min 离心(离心半径为 6.4 cm) 6 min,取上层有机层,40 °C 的氮气流吹干,于残渣中加入 100 μL 乙腈超声溶解,再次 8 000 r/min 离心(离心半径为 7.2 cm) 6 min,即得含内标的血浆样品溶液。

2.13.3 血浆对照品溶液配制及标准曲线 配制质量浓度为 1 600、800、400、200、100、25 ng/mL 辣

椒素对照品溶液,分别精密取 100 μL,分别使用 40 °C 的氮气流吹干,加入 100 μL 空白血浆混匀,即得质量浓度为 1 600、800、400、200、100、25 ng/mL 辣椒素对照品溶液。按照“2.13.2”项下方法操作,按照“2.2.1”项下色谱条件检测,记录辣椒素和格列本脲峰面积,并计算峰面积比值(Y)。采用辣椒素质量浓度(X)对 Y 进行线性回归,得方程 $Y=0.6724X+0.0817$, $r=0.9962$,结果表明辣椒素血浆对照品线性范围为 25~1 600 ng/mL。

2.13.4 专属性考察 取空白血浆溶液、血浆对照品溶液(辣椒素质量浓度 25 ng/mL,含格列本脲内标)和 Cap-MSN ig 给药 8 h 样品溶液(含格列本脲内标)分别按照“2.2.1”项下色谱条件进样检测。结果见图 9,辣椒素和格列本脲可完全分离,专属性高。

2.13.5 精密度考察 取 25、400、1 600 ng/mL 血浆对照品溶液,分别连续进样 6 次,测定辣椒素和格列本脲峰面积,计算得辣椒素峰面积的 RSD 分别为 6.98%、4.45%、3.10%,结果表明日内精密度良好。各个血浆对照品溶液每天分别测定 1 次,连续 6 d,计算得辣椒素峰面积的 RSD 分别为 5.20%、5.57%、4.81%,结果表明日间精密度良好。

2.13.6 稳定性考察 取血样品置于室温(温度 25 °C,相对湿度 55%),分别于 0、3、6、9、12、24 h 进样测定辣椒素和格列本脲峰面积,计算得辣椒素峰面积的 RSD 为 8.11%,表明血浆样品在 24 h 内稳定性良好。

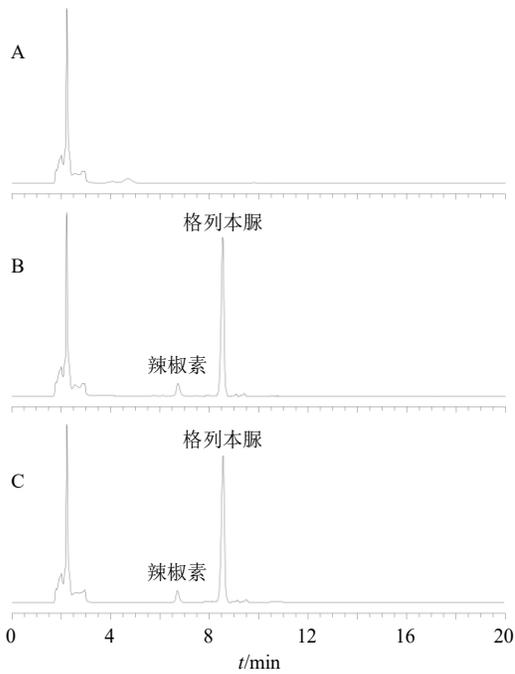


图9 空白血浆 (A)、空白血浆+辣椒素 (B) 和血浆样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 9 HPLC of blank plasma (A), blank plasma + capsaicin (B) and plasma sample solution (C)

2.13.7 重复性考察 取辣椒素 ig 1 h 的血浆样品，按照“2.13.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示，辣椒素质量浓度的 RSD 为 6.03%，结果表明该方法重复性良好。

2.13.8 加样回收率考察 配制质量浓度分别为 25、400、1 600 ng/mL 辣椒素血浆样品，按照“2.13.2”项下方法操作，进样测定辣椒素和格列本脲峰面积，计算辣椒素测得质量浓度，与配制质量浓度比较，计算加样回收率。结果显示，辣椒素的平均加样回收率为 96.76%，RSD 为 5.08%，结果表明该实验准确度较高。

2.13.9 检测限和定量限考察 取质量浓度为 25

ng/mL 的辣椒素血浆对照品溶液，逐步稀释后测定并记录信噪比。结果显示，定量限（信噪比 10 : 1）为 5 ng/mL，检测限（信噪比 3 : 1）为 2.5 ng/mL。

2.13.10 药动力学结果 辣椒素原料药、Cap-MSN 和 Cap-MSN@Lips 药-时曲线见图 10，拟合结果显示，辣椒素原料药、Cap-MSN 及 Cap-MSN@Lips 均符合二室模型。使用 DAS 2.0 软件统计矩模型，拟合 $t_{1/2}$ 和 MRT 药动力学参数， t_{max} 和 C_{max} 为实测值， AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 采用梯形法计算，结果见表 12。与辣椒素原料药相比，Cap-MSN 的 t_{max} 、 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 参数，均有显著性或极显著变化 ($P < 0.05$ 、 0.01)，其中 t_{max} 显著性提前至 (0.95 ± 0.22) h， C_{max} 极显著性增加至 ($1\,342.34 \pm 248.61$) ng/mL，相对生物利用度提高至 3.49 倍，表明 Cap-MSN 可增加辣椒素体内吸收。

Cap-MSN@Lips 的主要药动力学参数与辣椒素相比，均有极显著性差异 ($P < 0.01$)，其中 t_{max} 极显著性延后至 (2.56 ± 0.62) h， $t_{1/2}$ 极显著性延长至 (5.79 ± 0.94) h， C_{max} 极显著性增加至 (893.71 ± 222.17) ng/mL，相对生物利用度提高至 6.19 倍。

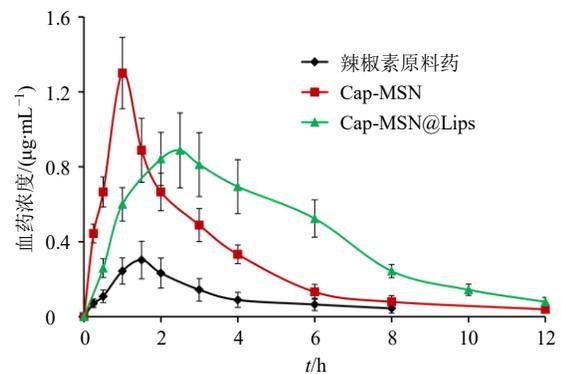


图 10 辣椒素原料药、Cap-MSN、Cap-MSN@Lips 的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 10 Drug concentration-time curves of capsaicin bulk drug, Cap-MSN, Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 12 辣椒素原料药、Cap-MSN、Cap-MSN@Lips 的药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 12 Pharmacokinetic parameters of capsaicin bulk drug, Cap-MSN, Cap-MSN@Lips ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	辣椒素原料药	Cap-MSN	Cap-MSN@Lips
t_{max}	h	1.44 ± 0.23	$0.95 \pm 0.22^*$	$2.56 \pm 0.62^{*##}$
$t_{1/2}$	h	3.13 ± 0.51	2.97 ± 0.49	$5.79 \pm 0.94^{*##}$
MRT	h	4.18 ± 0.82	4.12 ± 0.77	$7.65 \pm 1.28^{*##}$
C_{max}	ng·mL ⁻¹	305.17 ± 57.02	$1\,342.34 \pm 248.61^{**}$	$893.71 \pm 222.17^{*##}$
AUC_{0-t}	ng·h·mL ⁻¹	$1\,014.13 \pm 286.41$	$3\,536.06 \pm 630.92^{**}$	$6\,279.40 \pm 972.32^{*##}$
$AUC_{0-\infty}$	ng·h·mL ⁻¹	$1\,042.69 \pm 313.75$	$3\,604.81 \pm 693.09^{**}$	$6\,409.68 \pm 1\,019.91^{*##}$

与辣椒素原料药相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 Cap-MSN 相比: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs capsaicin bulk drug; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs Cap-MSN.

与 Cap-MSN 相比, Cap-MSN@Lips 的药动学参数也均有显著性差异($P < 0.05, 0.01$), Cap-MSN@Lips 抑制了 C_{max} 波动, 延长了 $t_{1/2}$ 和 MRT, 进一步增加了辣椒素体内吸收。

2.14 胃黏膜刺激性评价

2.14.1 分组、给药及模型制备 取 30 只 SD 大鼠(雌雄各半), 分为对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、辣椒素原料组(25 mg/kg)、Cap-MSN 组(25 mg/kg) 和 Cap-MSN@Lips 组(25 mg/kg), 均用 0.5% 的 CMC-Na 水溶液配制灌胃液, 每组 6 只(雌雄各半), 每天 ig 给药 1 次, 连续给药 7 d。第 7 天给药后禁食禁水 12 h, 除对照组外, 各组大鼠 ig 5 mL 无水乙醇建立胃溃疡模型, 记录各组大鼠精神状态。

ip 异戊巴比妥钠进行麻醉, 立即脱颈椎处死大鼠后摘取胃器官, 生理盐水清洗 3 次, 擦拭干净后置于 5% 福尔马林溶液固定 1 d, 梯度乙醇脱水后二甲苯透明处理, 石蜡包埋, 切片, HE 染色^[7], 置显微镜下观察。

2.14.2 胃黏膜损伤的测定方法 选取胃黏膜损伤面的最大直径 d_1 , 用游标卡尺测量并记录, 与之垂直最宽处作为胃黏膜损伤的宽度 d_2 , 计算胃黏膜损

伤面积(S), 公式为 $S = \pi \times d_1/2 \times d_2/2$ 。胃黏膜损伤指数评分标准为胃黏膜穿孔记 6 分, 总胃黏膜损伤面积大于 51 mm² 记 5 分, 总胃黏膜损伤面积 38~50 mm² 记 4 分, 总胃黏膜损伤面积 26~37 mm² 记 3 分, 总胃黏膜损伤面积 13~25 mm² 记 2 分, 总胃黏膜损伤面积 1~12 mm² 记 1 分。

2.14.3 胃黏膜刺激性评价结果 各组动物胃黏膜病理结果见图 11。对照组大鼠胃黏膜表面细胞致密, 腺体顶部圆润完整, 未见异常(图 11-A); 阳性对照组胃黏膜表面无黏液层, 腺体顶部缺失, 细胞排列异常(图 11-B); 辣椒素原料组胃黏膜表面细胞致密, 腺体顶部圆润完整(图 11-C), 无明显异常现象; Cap-MSN 组大鼠黏膜有一定程度损伤, 黏液层部分缺失(图 11-D), 但 Cap-MSN 胃黏膜损伤程度远小于阳性对照组。Cap-MSN@Lips 组黏液层未见缺失, 腺体顶部圆润(图 11-E), 表明 Cap-MSN@Lips 对胃黏膜无损伤。

2.14.4 胃黏膜损伤结果 各组动物胃黏膜损伤评分结果见表 13。可见, Cap-MSN 组胃黏膜损伤指数为 0.88 ± 0.29 , 极显著性高于 Cap-MSN@Lips 组($P < 0.01$), 表明 Cap-MSN 可引起胃黏膜损伤, 而 Cap-MSN@Lips 组未见胃黏膜损伤, 安全性良好。

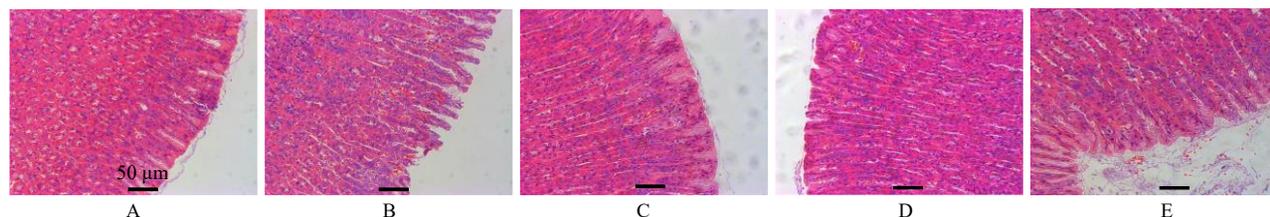


图 11 对照组(A)、阳性对照组(B)、辣椒素组(C)、Cap-MSN组(D)和 Cap-MSN@Lips组(E)胃黏膜损伤病理形态
Fig. 11 Pathological morphology of gastric mucosal injury of blank group (A), positive control group (B), capsaicin group (C), Cap-MSN group (D) and Cap-MSN@Lips group (E)

表 13 小鼠精神状态及胃黏膜损伤指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 13 Mental status and gastric mucosal injury index of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	精神状态	胃黏膜损伤指数
对照	—	精神状态良好, 饮食正常	0.00 ± 0.00
模型	—	精神萎靡, 四肢颤抖	4.64 ± 0.53**
辣椒素原料药	25	精神尚可, 饮食正常	0.00 ± 0.00
Cap-MSN	25	精神尚可, 饮食及活动量略低于对照组	0.88 ± 0.29**
Cap-MSN@Lips	25	精神状态良好, 饮食及活动量正常	0.00 ± 0.00##

与对照组相比: ** $P < 0.01$; 与 Cap-MSN 组相比: ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs Cap-MSN group.

3 讨论

本研究采用薄膜水化法制备了 Cap-MSN@Lips, 制备工艺与脂质体相似。推测 Cap-MSN@Lips

形成过程为随着体系中无水乙醇缓慢除去, 辣椒素逐渐吸附、沉积于 MSN 介孔内部从而形成 Cap-MSN, 将其分散至 PBS 并对脂质膜进行水化时, 由

于 Cap-MSN 表面带正电荷, 而磷脂带负电荷^[22], 所以在静电引力作用下磷脂等脂质逐渐覆盖在 Cap-MSN 表面形成脂质体包覆层, 即形成 Cap-MSN@Lips。Cap-MSN 作为支撑骨架时 Cap-MSN@Lips 粒径一般小于 200 nm, 故未将粒径纳入 BDD-RSM 的优化指标。

辣椒素和格列苯脲在 280 nm 处均有强吸收, 检测灵敏度高, 两者溶解性质相似, 且在 HPLC 色谱图上可完全达到分离, 因此选择格列苯脲作为内标物质。Cap-MSN 的 t_{\max} 显著性提前, 这主要是由于辣椒素以无定形态吸附于 Cap-MSN 介孔中, 且 Cap-MSN 介孔处于开放状态, 因而溶出速率较快, 导致 Cap-MSN 的 t_{\max} 显著性提前和 C_{\max} 显著性增加。Cap-MSN 相对生物利用度提高至 3.49 倍, 主要与 Cap-MSN 改变了辣椒素存在状态、提高了辣椒素溶解度及溶出度、增加了比表面积等因素有关^[10,14]。

Cap-MSN@Lips 的 t_{\max} 显著性延后, 这是由于 Cap-MSN@Lips 内部药物释放需要穿透 Cap-MSN@Lips 表面的脂质层, 因而对药物释放起到阻滞作用, 有助于有效抑制 C_{\max} 剧烈波动^[20]。Cap-MSN@Lips 表面脂质层增加了生物相容性, 缓释特征明显, $t_{1/2}$ 显著性延长, 发挥了二氧化硅纳米粒和脂质体双重促吸收作用^[21,23], 因而进一步增加了辣椒素生物利用度。

辣椒素对胃黏膜有一定的刺激作用^[7,24], 因此将辣椒素开发成口服制剂需考察其胃黏膜刺激情况。辣椒素原料药并未表现出明显的胃黏膜损伤作用, 可能与辣椒素溶解度差、给药剂量较低 (25 mg/kg) 等因素有关^[8]。Cap-MSN 对胃黏膜具有一定的损伤, 可能是因为 Cap-MSN 极大提高了辣椒素溶解度、释药速率和释放度, 导致局部高辣椒素浓度过高, 从而对胃黏膜造成损伤。Cap-MSN@Lips 对胃黏膜基本无损伤, 可能是由于 Cap-MSN@Lips 中辣椒素释放较为缓慢, 降低了辣椒素对胃黏膜的刺激性; 处方中磷脂具有修复胃黏膜损伤的功能^[25]; 载体的屏蔽作用有助于降低辣椒素与胃黏膜的直接接触^[26], 从而降低胃黏膜损伤, 因此, Cap-MSN@Lips 使用安全性高于 Cap-MSN。

Zhao 等^[26]制备了辣椒素包合物, 有效解决了辣椒素的胃黏膜刺激性问题, 但相对生物利用度仅提高至 1.39 倍。田莉等^[8]报道的辣椒素纳米结构脂质载体的相对生物利用度仅提高至 3.73 倍, 可能是

该类型纳米制剂在胃肠道易被破坏有关^[27-28]。Bera 等^[10]报道的辣椒素固体分散体, 虽极大改善了辣椒素溶解度及溶出速率, 利于促进体内吸收, 但并未考虑到辣椒素胃肠道刺激性, 因而推广意义不大。

本研究完成了 Cap-MSN@Lips 制备工艺、药动学及胃黏膜刺激性评价, 结果表明 Cap-MSN@Lips 具有较高的包封率, 储存稳定性良好, 在有效提高了辣椒素的相对口服生物利用度 (提高至 6.19 倍) 的前提下同时解决了辣椒素胃黏膜刺激性问题, 为后续药效学等研究奠定了实验基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邓明华, 邓巧玲, 华玮, 等. 辣椒果实辣椒素类物质生物合成分子遗传学研究进展 [J]. 湖南生态科学学报, 2024, 11(2): 111-120.
- [2] 鞠洪远, 李克柔, 董英伟. 辣椒素对心血管疾病防治作用的研究进展 [J]. 心血管康复医学杂志, 2023, 32(6): 645-649.
- [3] 宛君. 植烷三醇溶致液晶透皮性能研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2019.
- [4] 谭思荣. 壳聚糖微球体内分布及载辣椒碱微球药动学研究 [D]. 广州: 广东药学院, 2013.
- [5] Choi Y, Shin B S, Kim M G, et al. Micro-sample analysis of capsaicin by liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay and application to oral absorption study [J]. *Acta Chromatogr*, 2013, 25(2): 363-376.
- [6] Saito A, Yamamoto M. Acute oral toxicity of capsaicin in mice and rats [J]. *J Toxicol Sci*, 1996, 21(3): 195-200.
- [7] 项群然. 缓解辣椒素致胃肠损伤的益生菌筛选及其发酵乳制备研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [8] 田莉, 李伟宏, 王风云, 等. 辣椒素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(5): 1403-1409.
- [9] Bhagwat D A, Swami P A, Nadaf S J, et al. Capsaicin loaded solid SNEDDS for enhanced bioavailability and anticancer activity: *In-vitro*, *in-silico*, and *in-vivo* characterization [J]. *J Pharm Sci*, 2021, 110(1): 280-291.
- [10] Bera S, Maity S, Ghosh B, et al. Development and characterization of solid dispersion system for enhancing the solubility and dissolution rate of dietary capsaicin [J]. *Curr Drug Ther*, 2020, 15(2): 143-151.
- [11] 房伟, 王彦阁, 王奎鹏, 等. 木犀草素磷脂复合物介孔二氧化硅纳米粒的制备、表征和药动学研究 [J]. *现代药物与临床*, 2025, 40(2): 330-340.
- [12] 唐静, 张付利, 决利利, 等. 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 [J]. *中草药*, 2024,

- 55(14): 4700-4710.
- [13] Shah P, Rajput S J. Investigation of *in vitro* permeability and *in vivo* pharmacokinetic behavior of bare and functionalized MCM-41 and MCM-48 mesoporous silica nanoparticles: A burst and controlled drug release system for raloxifene [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2019, 45(4): 587-602.
- [14] 杨丽萍, 王海军, 李伟宏, 等. 载芒果苷的氨基修饰介孔二氧化硅纳米粒的制备及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2542-2552.
- [15] 冯易. 肿瘤微环境响应型介孔硅纳米药物用于协同抗肿瘤研究 [D]. 成都: 电子科技大学, 2022.
- [16] 翟芷淇, 付悦, 张馨月, 等. 槲皮素脂质体抑制小鼠肺组织炎症作用的研究 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(1): 50-55.
- [17] Fu N K, Li A, Zhang J, *et al.* Liposome-camouflaged iodinated mesoporous silica nanoparticles with high loading capacity, high hemodynamic stability, high biocompatibility and high radiopacity [J]. *Int J Pharm*, 2024, 650: 123700.
- [18] Rathnayake K, Patel U, Hunt E C, *et al.* Fabrication of a dual-targeted liposome-coated mesoporous silica core-shell nanoassembly for targeted cancer therapy [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(38): 34481-34498.
- [19] 陈晨, 王彦阁, 宋亚男, 等. 冰片修饰金丝桃苷脂质体的制备及经鼻给药药动学行为和脑靶向性考察 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 1967-1978.
- [20] 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.
- [21] 程子明, 薛雪. 姜黄素脂质包裹纳米粒的制备及药动学研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(6): 837-843.
- [22] 沈英, 黄雅菲, 宋帆帆, 等. 利格列汀壳聚糖-磷脂自组装纳米粒的制备及体内外评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(2): 345-352.
- [23] Qiu Y, Zhuo Y, Ye Y Y, *et al.* Yolk-shell cationic liposomes overcome mucus and epithelial barriers for enhanced oral drug delivery [J]. *Giant*, 2024, 17: 100221.
- [24] 聂乾忠. 辣椒素类物质对试验鼠生理功能影响研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [25] 温健, 刘文, 宋朔尧, 等. 吴茱萸碱磷脂复合物自微乳给药系统的胃溃疡靶向效应及保护作用评价 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 171-180.
- [26] Zhao Y Y, Sun C N, Shi F, *et al.* Preparation, characterization, and pharmacokinetics study of capsaicin via hydroxypropyl-beta-cyclodextrin encapsulation [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(1): 130-138.
- [27] 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.
- [28] 王丹, 任宁君, 史步新. 托伐普坦纳米结构脂质载体的制备与药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(4): 765-775.

[责任编辑 郑礼胜]