

负载异鼠李素的 ZIF-8 纳米粒的构建、表征及对肺癌荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究

田 莉¹, 潘思影¹, 董晓函², 李 娜¹, 刘俊保^{3*}

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 郑州工业应用技术学院, 河南 郑州 451100

3. 河南省人民医院, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 构建负载异鼠李素的类沸石咪唑酯骨架材料-8 (ZIF-8) 纳米粒 (isorhamnetin loaded by ZIF-8 nanoparticles, ZIF-8@Iso), 评价 ZIF-8@Iso 体内组织分布及对肺癌荷瘤小鼠的抗肿瘤作用。方法 采用自组装法制备 ZIF-8 纳米粒粉末, 采用浸渍法制备 ZIF-8@Iso。选择 ZIF-8 与异鼠李素质量比、异鼠李素质量浓度和制备时间作为 ZIF-8@Iso 主要影响因素, 采用包封率、载药量和粒径的总评归一值 (overall desirability, OD) 为指标, 使用 Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 ZIF-8@Iso 处方工艺。X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD)、透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 及 BET 比表面积分析仪对 ZIF-8@Iso 进行表征。考察 ZIF-8@Iso 的丁达尔现象、pH 值敏感性、血浆稳定性、溶血安全性及储存稳定性。采用 Lewis 肺癌细胞建立肿瘤模型, 评价 ZIF-8@Iso 体内组织分布及抗肿瘤效果。采用 HE 染色法观察肿瘤组织病理学变化。**结果** 通过 XRPD、TEM 及傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 分析, 表明 ZIF-8 纳米粒粉末制备成功。ZIF-8@Iso 最佳处方工艺: ZIF-8 与异鼠李素质量比为 2.50 : 1, 异鼠李素质量浓度为 2.05 mg/mL, 制备时间为 12.00 h。ZIF-8@Iso 的平均包封率、载药量、粒径和 ζ 电位分别为 $(84.82 \pm 0.56) \%$ 、 $(24.05 \pm 0.16) \%$ 、 $(136.94 \pm 0.29) \text{ nm}$ 和 $(30.66 \pm 1.15) \text{ mV}$ 。异鼠李素在 ZIF-8@Iso 中可能以无定形态存在, ZIF-8@Iso 粒径均一, ZIF-8@Iso 比表面积、孔容和孔径均低于 ZIF-8。ZIF-8@Iso 混悬液具有丁达尔现象, 体外释药具有 pH 敏感性。ZIF-8@Iso 血浆稳定性、溶血安全性及储存稳定性均良好。ZIF-8@Iso 在肿瘤组织中相对摄取率 (relative uptake efficiency, RUE) 达 2.12, 极大提高了其靶向性。体内抗肿瘤结果显示, ZIF-8@Iso (50 mg/kg) 将异鼠李素抑瘤率由 46.15% 提高至 62.64%。HE 染色结果显示, ZIF-8@Iso 组肿瘤细胞大面积坏死, 坏死程度高于异鼠李素组。**结论** 成功构建了 ZIF-8@Iso, 包封率较高, 具有良好的 pH 敏感性, 增加了异鼠李素对肺癌荷瘤小鼠的抗肿瘤作用, 值得进一步开发研究。

关键词: 异鼠李素; ZIF-8; 总评归一值; Box-Behnken 设计-效应面法; 丁达尔现象; pH 敏感; 抗肿瘤

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)19-7040-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.016

Construction, characterization and antitumor effects on lung cancer-bearing mice of isorhamnetin loaded by ZIF-8 nanoparticles

TIAN Li¹, PAN Siying¹, DONG Xiaohan², LI Na¹, LIU Junbao³

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 451100, China

3. Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective Isorhamnetin loaded by zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanoparticles (ZIF-8@Iso) were constructed, and their *in vivo* tissue distribution and antitumor effects on lung cancer-bearing mice *in vivo* was also evaluated. **Methods** ZIF-8 nanoparticles powder was prepared by self-assembly method, and ZIF-8@Iso was prepared by impregnation method. The mass ratio

收稿日期: 2025-05-12

基金项目: 河南省 2024 年科技发展计划项目 (242102310581); 河南省高等学校重点科研项目 (23B310016); 河南省省级骨干教师 (教职成 [2024]38 号-382)

作者简介: 田 莉 (1982—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为临床药学及肿瘤治疗。Tel: (0371)86176371 E-mail: tianli827206@126.com

*通信作者: 刘俊保 (1966—), 男, 博士, 主任医师, 研究方向为中西医结合肿瘤学。Tel: (0371)67673852 E-mail: Zhongyi450003@163.com

of ZIF-8 to isorhamnetin, concentration of isorhamnetin and preparation time were selected as the main influencing factors of ZIF-8@Iso. Overall desirability (OD) of the encapsulation rate, drug loading and particle size was taken as the index, Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) was used to optimize the prescription process of ZIF-8@Iso. X-ray powder diffraction (XRPD), transmission electron microscopy (TEM) and specific surface area analyzer (SSA) were employed to characterize ZIF-8@Iso. Tyndall phenomenon, pH-sensitivity, plasma stability, hemolysis safety and storage stability of ZIF-8@Iso were also studied. Lewis's lung cancer cell was used to establish tumor model, and the *in vivo* tissue distribution and antitumor effect of ZIF-8@Iso were evaluated. The pathology changes of tumor tissue were observed by HE staining method. **Results** The successful preparation of ZIF-8 nanoparticles powder was proved by XRPD, TEM and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis. Optimal prescription process of ZIF-8@Iso as follows: the mass ratio of ZIF-8 to isorhamnetin was 2.50:1, concentration of isorhamnetin was 2.05 mg/mL and preparation time was 12.00 h. Average encapsulation rate, drug loading, particle size and ζ potential were $(84.82 \pm 0.56)\%$, $(24.05 \pm 0.16)\%$, (136.94 ± 0.29) nm and (30.66 ± 1.15) mV, respectively. Isorhamnetin might exist as an amorphous form in ZIF-8@Iso, and the particle size of ZIF-8@Iso was uniform. Specific surface area, pore volume and pore size of ZIF-8@Iso were lower than those of ZIF-8. ZIF-8@Iso suspension showed obvious Tyndall phenomenon, and *in vitro* drug release was pH-sensitive. The plasma stability, hemolysis safety and storage stability of ZIF-8@Iso were all perfect. The relative uptake efficiency (RUE) of ZIF-8@Iso in tumor tissue reached 2.12, greatly improving the tumor targeting. *In vivo* antitumor results showed that ZIF-8@Iso (50 mg/kg) increased the inhibition rate of isorhamnetin from 46.15% to 62.64%. The results of HE staining showed that there was a large area of necrosis in the tumor cells of the ZIF-8@Iso group, the degree of necrosis was higher than that of isorhamnetin group. **Conclusion** ZIF-8@Iso was successfully constructed with high encapsulation rate and pH-sensitivity. ZIF-8@Iso increased the antitumor effects of isorhamnetin on lung cancer-bearing mice, which was worth further developing and studying.

Key words: isorhamnetin; ZIF-8; overall desirability; Box-Behnken design-response surface method; Tyndall phenomenon; pH-sensitive; antitumor

肿瘤是当今世界普遍关注的公共卫生问题，发病率 and 死亡率逐年攀升，但化疗药物不良反应比较大，因此亟需开发一种安全、有效的中药活性成分抗肿瘤药物^[1]。异鼠李素 (isorhamnetin, Iso) 是沙棘中的重要黄酮类化合物，研究表明异鼠李素对肺癌、宫颈癌、结肠癌、胃癌、皮肤癌等均有较强的抑制活性^[2-3]，通过阻滞肿瘤细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞迁徙及侵袭、抑制致癌基因表达、诱导活性氧的产生等作用机制发挥抗肿瘤活性^[2]，与化疗药物联用后还具有减毒增效作用^[3]。

异鼠李素虽具有一定毒性，但不良反应远小于化疗药物^[2]，因此，异鼠李素可作为抗肿瘤药物候选药。异鼠李素在 25 °C 温度时溶解度仅 224.97 mg/L^[4]，属于生物药剂学分类系统中 II 类药物^[5]，由于原料药存在疏水性强、粒度较大、体内无靶向性等缺点，极大限制了异鼠李素抗肿瘤药效。目前关于异鼠李素新型制剂研究报道有磷脂复合物、二氧化硅纳米粒、自微乳等^[5-7]，但磷脂复合物稳定性及分散性差，影响了成药性；二氧化硅纳米粒在体内存在降解难、靶向性差等问题^[8]；自微乳辅料种类多，处方中表面活性剂具有溶血风险，使用安全性不高。

利用肿瘤组织的高渗透长滞留效应可实现纳

米制剂的被动靶向，但单纯依靠被动靶向很难使药物在肿瘤部位有效蓄积，影响了抗肿瘤效果。利用肿瘤微环境较低的 pH 值以及肿瘤细胞内含体和溶酶体的酸性环境来触发定位释药，进而实现靶向治疗，是肿瘤靶向制剂主要研究方向之一，但目前 pH 敏感纳米制剂存在处方复杂、辅料昂贵、pH 敏感性差等缺陷^[9-10]。金属有机骨架材料是由无机金属离子与有机配体通过配位键、氢键等自组装形成的一种纳米多孔载体，具有比表面积大、粒径小、安全性高、辅料廉价等优势^[11]，近年来在医药领域的应用颇受关注。

类沸石咪唑酯骨架-8 (zeolitic imidazolate frameworks-8, ZIF-8) 属于金属有机骨架材料的一种优良纳米材料，由锌离子 (Zn^{2+}) 和 2-甲基咪唑经自组装构成的一种拓扑结构纳米材料^[12]，锌离子 (Zn^{2+}) 是机体重要的过渡金属，而咪唑基团是机体系统中组氨酸的重要组成部分，因而采用 Zn^{2+} 与 2-甲基咪唑构建的 ZIF-8 纳米材料具有较高的使用安全性，可作为药物载体应用于医药领域。此外，ZIF-8 具有优良的 pH 敏感性，在微酸性环境中骨架结构可被瓦解破坏，使负载的药物在肿瘤的微酸环境快速释放^[13]，具有优良的肿瘤靶向性。故本研究首先采用自组装法制备了 ZIF-8 纳米粒，并采用浸渍

法制备负载异鼠李素的 ZIF-8 纳米粒 (isorhamnetin loaded by ZIF-8 nanoparticles, ZIF-8@Iso), Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 ZIF-8@Iso 处方, 对 ZIF-8@Iso 的 pH 敏感性、血浆稳定性、溶血安全性、体内组织分布及抗肿瘤作用等进行评价, 为 ZIF-8@Iso 后续研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

HM-S 型磁力搅拌器, 德国 Heidolph 公司; MSE 125P-CE 型电子天平, 美国 Sartorius 公司; SN-P150 型超声仪, 广东洁盟超声实业有限公司; XRD-500 型粉末衍射仪, 安东帕(上海)商贸有限公司; TG16-WS 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; Zetasizer Nono ZS-90 型粒度测定仪, 英国马尔文公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; HT7800 型透射电子显微镜(TEM), 日立科学仪器(北京)有限公司; 2500 Select 型溶出仪, 兴和仪器(上海)有限公司; UV-2100 型紫外-可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; Summit 型傅里叶变换红外光谱仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; ASAP 2020 型 BET 比表面积分析仪, 美国 Micromeritics 公司; CF40-8 型细胞培养箱, 北京昊诺斯科技有限公司; RM2016 型病理切片机, 德国 Leica 公司; SKZ-2 型光学显微镜, 德国 Carl Zeiss 公司。

1.2 材料

异鼠李素原料药, 批号 202306-1P, 质量分数为 97.2%, 西安天宝生物科技有限公司; 异鼠李素对照品, 批号 110860-202205, 质量分数为 99.1%, 中国食品药品检定研究院; HE 染色试剂盒(批号 20241008)、4%多聚甲醛(批号 P1112), 北京索莱宝科技有限公司; 2-甲基咪唑(批号 20220525)、六水合硝酸锌(批号 20220705), 国药集团化学试剂有限公司; 顺铂注射液, 批号 601220104, 江苏豪森药业集团有限公司。

1.3 细胞与动物

小鼠 Lewis 细胞购自上海安为生物科技有限公司。C57BL/6 裸鼠体重为 20~24 g, 购自河南省实验动物中心, 动物生产许可证号 SCXK(豫)2022-001, 雌雄各半。动物实验遵循郑州健康学院经有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则, 动物实验伦理批准号为 DWLL-202404-02。

2 方法与结果

2.1 ZIF-8 粉末制备及表征

2.1.1 ZIF-8 粉末的制备 采用自组装方法制备 ZIF-8。取 2-甲基咪唑 3.5 g, 溶于 60 mL 纯化水, 另取六水合硝酸锌 1.5 g, 溶于 60 mL 纯化水, 在磁力搅拌速度为 1 200 r/min 条件下将硝酸锌水溶液加缓慢至 2-甲基咪唑水溶液中, 室温环境中反应 12 h 后得到乳白色混悬液。将混悬液 14 500 r/min 离心(离心半径 6.5 cm) 20 min, 弃去上清液并收集沉淀, 置于 50 °C 真空干燥箱中过夜, 取出, 即得 ZIF-8 粉末。

2.1.2 傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 分析 测试条件: 环境湿度小于 30%, 仪器分辨率为 4.0 cm^{-1} , 扫描次数为 16 次, 背景次数为 2 次, 扫描范围 400~4 000 cm^{-1} 。取 ZIF-8 粉末约 1 mg, 加入 100 mg 的 KBr 并研细, 压片后测试 ZIF-8 的 FT-IR 图谱。结果见图 1-A, 2 988.47、2 898.01 cm^{-1} 处的吸收峰分别为甲基和咪唑环中 C-H 伸缩振动吸收峰; 1 482.64 cm^{-1} 处吸收峰为 C=N 伸缩振动峰; 1 437.44、1 309.27、1 172.69 cm^{-1} 处的吸收峰为咪唑环中 C-N 的伸缩振动吸收峰; 在 999.14、768.58、696.14 cm^{-1} 处吸收峰为咪唑环中 C=C 键的弯曲振动峰; 423.82 cm^{-1} 处的吸收峰归属于 Zn-N 的特征峰, 是 Zn^{2+} 与 2-甲基咪唑配位形成。另外, 在 3 100~3 600 cm^{-1} 处吸收峰出现了比较宽的吸收峰, 该处吸收峰一般与 -OH 相关, 可能是 ZIF-8 粉末具有较大的比表面积, 极易吸附空气中水分所致^[14], 提示 ZIF-8 粉末储存时应注意防潮。

2.1.3 X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction,

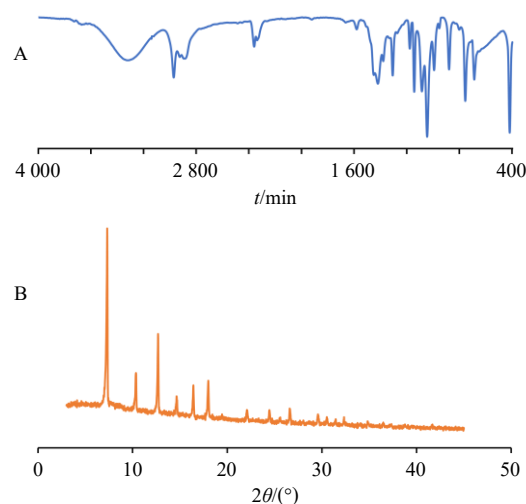


图 1 ZIF-8 的 FT-IR (A) 和 XRPD (B) 图谱

Fig. 1 FT-IR (A) and XRPD (B) spectrums of ZIF-8

XRPD) 分析 测试条件: Cu-K α 靶, 衍射角度 (2θ) 范围为 $3^{\circ}\sim 45^{\circ}$, 测试速度为 $5^{\circ}/\text{min}$ 。取 ZIF-8 纳米粒粉末约 10 mg 置于样品槽, 玻璃片压平后扫描 ZIF-8 的 XRPD 图谱。结果见图 1-B, ZIF-8 在 7.4° 、 10.1° 、 12.7° 、 14.5° 、 16.2° 、 18.0° 、 22.2° 、 24.3° 、 26.4° 等处出现 ZIF-8 特征衍射峰, 与相关研究报道一致^[12]。

2.1.4 ZIF-8 混悬液外观及 TEM 分析 取 ZIF-8 粉末分散至纯化水中, 外观见图 2-A, ZIF-8 混悬液具有明显的乳光。取适量 ZIF-8 混悬液置于 TEM 下观察 ZIF-8 形貌 (放大倍数为 15000)。结果见图 2-B, ZIF-8 纳米粒在水中分散性良好, 棱角明显, 与相关研究报道的 ZIF-8 形貌一致^[12-13], 粒径约 100 nm。

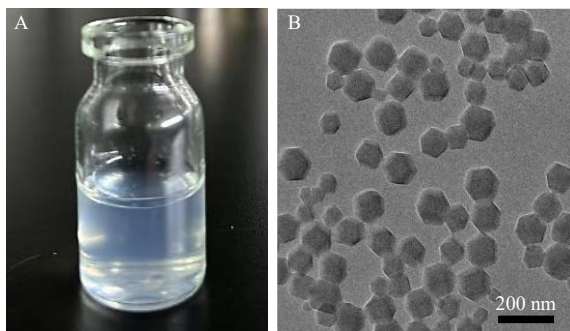


图 2 ZIF-8 的混悬液外观 (A) 和 TEM 图 (B)

Fig. 2 Suspension appearance (A) and TEM images (B) of ZIF-8

2.1.5 粒径及 ζ 电位的测定 取适量 ZIF-8 粉末分散于 10 mL 纯化水中, 涡旋 2 min 后测定 ZIF-8 纳米粒粒径和分散指数 (polydispersity index, PDI)。另取 ZIF-8 混悬液适量至 ζ 电位专用电槽中, 擦拭干净后测定 ζ 电位。测得 ZIF-8 纳米粒平均粒径为 (93.43 ± 6.07) nm, 与 TEM 分析结果一致; PDI 值为 0.074 ± 0.007 , 平均 ζ 电位为 (31.19 ± 1.29) mV, 可能是 ZIF-8 骨架上二甲基咪唑残基发生离子化, 从而使 ζ 电位为正值^[14]。

2.2 ZIF-8@Iso 的制备

取 50 mg 异鼠李素溶于一定体积的乙醇中, 加入处方量 ZIF-8 粉末, 水浴温度为 45°C 条件下磁力搅拌一定时间。14 500 r/min 离心 (离心半径 6.5 cm) 20 min, 弃去上清液。置于 60°C 恒温水浴中减压旋蒸除尽乙醇, 置于 50°C 真空干燥箱中过夜, 取出即得 ZIF-8@Iso 粉末。

2.3 ZIF-8@Iso 中异鼠李素含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ 柱 (150 mm $\times$ 3.9 mm, 5 μm); 流动

相为甲醇-0.1%甲酸水溶液 (65:35); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30°C ; 进样体积为 10 μL ; 检测波长为 370 nm。

2.3.2 对照品溶液配制 精密称取异鼠李素对照品 20.84 mg 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解后定容, 即得质量浓度为 208.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 异鼠李素对照品储备液。

2.3.3 线性关系考察 取“2.3.2”项下对照品储备液, 采用甲醇-0.1%甲酸水溶液 (65:35) 稀释制成质量浓度分别为 10 240.0、5 210.0、1 024.0、512.0、256.0、51.2 ng/mL 的系列对照品溶液, 分别按照“2.3.1”项下色谱条件测定峰面积 (Y), 并与异鼠李素质量浓度 (X) 进行线性回归, 得标准曲线回归方程: $Y = 24.6681X + 1.0854$, $r = 0.9999$, 结果表明异鼠李素在 51.2~10 240.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2.3.4 ZIF-8@Iso 供试品溶液的制备 精密称取 ZIF-8@Iso 粉末 10 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加入浓度为 0.1 mol/L HCl 溶液 5 mL, 超声 5 min, 加乙腈稀释定容。过 0.45 μm 微孔滤膜除去不溶性颗粒, 精密吸取 0.5 mL 续滤液至 10 mL 量瓶中, 加甲醇-0.1%甲酸水溶液 (65:35) 稀释定容, 即得 ZIF-8@Iso 供试品溶液。

2.3.5 专属性考察 取 ZIF-8 粉末和 ZIF-8@Iso 粉末, 按照“2.3.4”项下方法分别制备阴性样品溶液和 ZIF-8@Iso 供试品溶液, 另取异鼠李素对照品溶液 (质量浓度为 1.024 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测, 结果见图 3, 结果表明异鼠李素色谱峰无干扰, 该实验专属性高。

2.3.6 精密度考察 取质量浓度分别为 10.240 0、1.024 0、51.2 ng/mL 的异鼠李素对照品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件分别测定 6 次, 测得异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 0.28%、0.64%、0.50%, 结果表明该实验日内精密度良好; 各质量浓度对照品溶

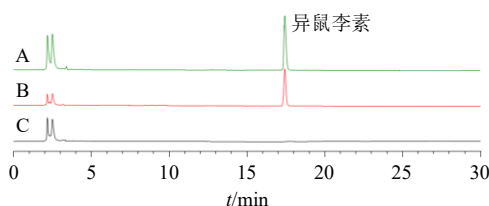


图 3 ZIF-8@Iso 供试品溶液 (A)、异鼠李素对照品溶液 (B) 和阴性样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of ZIF-8@Iso test solution (A), isorhamnetin reference substance solution (B) and negative sample solution (C)

液连续测试 6 d, 每天 1 次, 测得异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 0.54%、0.75%、0.68%, 结果表明该实验日间精密度良好。

2.3.7 稳定性考察 取 ZIF-8@Iso 供试品溶液置于室温, 分别于 0、3、6、9、12、24 h, 按照“2.3.1”项下色谱条件测定异鼠李素峰面积, 计算得异鼠李素峰面积的 RSD 为 1.70%, 结果表明 ZIF-8@Iso 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.8 重复性考察 取同一份 ZIF-8@Iso 粉末, 平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 测得异鼠李素质量浓度的 RSD 为 1.38%, 结果表明该实验重复性良好。

2.3.9 加样回收率考察 精密称取 ZIF-8@Iso 粉末 5 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 共 9 份, 分成 3 组, 分别按照异鼠李素标示量 50% (低)、100% (中) 和 150% (高) 水平加入异鼠李素对照品, 后续按照“2.3.4”项下方法制备供试品溶液, 测定异鼠李素总量。计算得异鼠李素的平均加样回收率为 101.77%, RSD 为 1.47%, 结果表明该实验的测定准确度较高。

2.4 ZIF-8@Iso 包封率和载药量的测定

取 ZIF-8@Iso 粉末分散于纯化水中, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 除去未被负载的异鼠李素, 取续滤液测定 ZIF-8@Iso 中被负载异鼠李素的质量 (M_1), 根据制备 ZIF-8@Iso 时异鼠李素的总投药量 (M_0), 计算 ZIF-8@Iso 中异鼠李素的包封率和载药量。

$$\text{包封率} = M_1/M_0$$

$$\text{载药量} = M_1/W$$

W 代表异鼠李素和 ZIF-8 总量

2.5 ZIF-8@Iso 处方工艺单因素考察

2.5.1 ZIF-8 与异鼠李素质量比考察 在异鼠李素质量浓度为 2.0 g/L、制备时间为 12.0 h 的条件下考察 ZIF-8 与异鼠李素质量比对 ZIF-8@Iso 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响, 结果见表 1。随着 ZIF-8 与异鼠李素质量比的增加, ZIF-8@Iso 包封率逐渐增加, 说明增加 ZIF-8 用量利于提高包封率, 但 ZIF-8 与异鼠李素质量比大于 2.5 : 1 后, 包封率增加趋势渐缓; ZIF-8@Iso 载药量呈逐渐下降趋势, 提示 ZIF-8 用量过大时影响其载药量。ZIF-8@Iso 粒径随着 ZIF-8 与异鼠李素质量比增加呈逐渐下降趋势, 可能是 ZIF-8 与异鼠李素质量比较小时, 药物附着在 ZIF-8@Iso 表面, 导致粒径较大; ZIF-8 与异鼠李素质量比较大时减少了药物在 ZIF-8@Iso 表面的附着, 因而粒径逐渐变小^[14], 但 ZIF-8@Iso 的粒径仍大于

表 1 ZIF-8 与异鼠李素质量比的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of mass ratio of ZIF-8 to isorhamnetin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

ZIF-8 与异鼠李素质量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
1.5 : 1	65.18 $\pm$ 1.10	24.88 $\pm$ 0.49	166.26 $\pm$ 6.13	28.14 $\pm$ 1.40
2.0 : 1	74.86 $\pm$ 0.94	24.17 $\pm$ 0.21	154.10 $\pm$ 7.44	30.24 $\pm$ 0.87
2.5 : 1	84.43 $\pm$ 1.27	23.79 $\pm$ 0.30	139.77 $\pm$ 5.98	30.77 $\pm$ 1.15
3.0 : 1	85.75 $\pm$ 1.13	21.16 $\pm$ 0.26	130.68 $\pm$ 6.69	32.86 $\pm$ 1.36
3.5 : 1	85.96 $\pm$ 1.40	19.04 $\pm$ 0.18	125.04 $\pm$ 7.27	33.43 $\pm$ 1.28

ZIF-8。ZIF-8@Iso 的 ζ 电位总体呈增大趋势, 当 ZIF-8 与异鼠李素质量比 2.5 : 1 时, 包封率大于 80%, 载药量大于 20%, 粒径小于 150 nm, ζ 电位大于 30 mV, 因此后续以 ZIF-8 与异鼠李素质量比 2.5 : 1 为中心, 对质量比 2.0 : 1~3.0 : 1 进行优化。

2.5.2 异鼠李素质量浓度考察 通过改变乙醇体积来调整异鼠李素质量浓度。在 ZIF-8 与异鼠李素质量比为 2.5 : 1、制备时间为 12.0 h 条件下分别考察异鼠李素质量浓度对 ZIF-8@Iso 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响。结果见表 2, ZIF-8@Iso 包封率和载药量随着异鼠李素质量浓度增加均呈先增加后下降趋势, 可能是异鼠李素质量浓度较低时体系乙醇体积较大, 异鼠李素易溶于乙醇中, 不利于 ZIF-8 材料对药物的吸附, 因而 ZIF-8@Iso 包封率和载药量较低; 药物质量浓度过高时体系乙醇溶剂体积较小, 不利于 ZIF-8 与异鼠李素之间配位络合^[15], 影响了 ZIF-8@Iso 包封率和载药量。ZIF-8@Iso 粒径随着异鼠李素质量浓度增大而增大, 而 ζ 电位变化不大。结合考察情况, 选择异鼠李素质量浓度 1.5~2.5 g/L 进行优化。

2.5.3 制备时间考察 在 ZIF-8 与异鼠李素质量比为 2.5 : 1、异鼠李素质量浓度为 2.0 g/L 的条件下考察制备时间对 ZIF-8@Iso 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响。结果见表 3, ZIF-8@Iso 包封率和载

表 2 异鼠李素质量浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of mass concentration of isorhamnetin ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

异鼠李素/ (g·L ⁻¹)	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
1.0	70.48 $\pm$ 0.82	19.87 $\pm$ 0.16	130.25 $\pm$ 7.11	31.42 $\pm$ 1.21
1.5	72.33 $\pm$ 1.12	20.56 $\pm$ 0.33	134.79 $\pm$ 7.96	33.73 $\pm$ 1.07
2.0	85.42 $\pm$ 0.95	24.13 $\pm$ 0.25	143.60 $\pm$ 5.42	32.15 $\pm$ 0.96
2.5	79.06 $\pm$ 1.10	22.54 $\pm$ 0.30	153.19 $\pm$ 8.03	31.83 $\pm$ 0.96
3.0	76.84 $\pm$ 1.54	20.77 $\pm$ 0.28	165.84 $\pm$ 7.59	32.74 $\pm$ 1.24

表 3 制备时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of preparation time ($\bar{x} \pm s, n = 3$)				
制备时间/h	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
8	71.72 $\pm$ 1.32	20.32 $\pm$ 0.20	138.93 $\pm$ 5.16	30.19 $\pm$ 0.99
10	74.62 $\pm$ 0.91	21.34 $\pm$ 0.13	144.15 $\pm$ 8.02	32.68 $\pm$ 1.12
12	85.07 $\pm$ 0.84	24.22 $\pm$ 0.17	146.66 $\pm$ 7.75	31.74 $\pm$ 1.24
14	79.84 $\pm$ 1.14	22.19 $\pm$ 0.22	168.72 $\pm$ 9.80	31.56 $\pm$ 1.36
16	75.79 $\pm$ 0.97	21.47 $\pm$ 0.16	177.90 $\pm$ 7.04	30.77 $\pm$ 1.45

药量随着制备时间的增加呈先增加后下降趋势，这是由于异鼠李素负载至 ZIF-8 内部需要一定时间，故制备时间较短时会影响 ZIF-8@Iso 包封率和载药量；但制备时间过长时可能影响异鼠李素及 ZIF-8 稳定性^[15]，导致 ZIF-8@Iso 包封率和载药量下降。粒径随着制备时间的延长而增大，可能是制备时间较短时药物未完全进入 ZIF-8 内部，对 ZIF-8 自身框架影响较小，故粒径较小；制备时间过长时导致 ZIF-8 自身框架结构变大^[16]，使 ZIF-8@Iso 粒径明显增大。制备时间对 ζ 电位影响不大，结合考察情况，选择制备时间 10~14 h 进行优化。

2.6 BBD-RSM 优化 ZIF-8@Iso 处方工艺

2.6.1 实验方案 ZIF-8 与异鼠李素质量比、异鼠李素质量浓度和制备时间分别作为 ZIF-8@Iso 主要

影响因素，依次标记为 X_1 、 X_2 、 X_3 。根据单因素考察结果， X_1 、 X_2 、 X_3 水平设置见表 4。选择 ZIF-8@Iso 包封率、载药量和粒径作为优化指标，依次标记为 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 。为了得到包封率、载药量和粒径均优的 ZIF-8@Iso 处方工艺，故将包封率、载药量和粒径转换为总评归一值 (overall desirability, OD)，OD 值计算过程：包封率 (d_1) 和载药量 (d_2) 计算公式为 d_1 或 $d_2 = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$ ，粒径 (d_3) 计算公式为 $d_3 = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$ ，包封率 (d_1)、载药量 (d_2) 和粒径 (d_3) 公式中 M_i 、 $M_{\max}$ 和 $M_{\min}$ 分别代表该组试验中某指标的实测值、最大值和最小值；包封率 (d_1)、载药量 (d_2) 和粒径 (d_3) 3 个指标，同等重要，计算公式为 $OD = (d_1 d_2 d_3)^{1/3}$ 。

2.6.2 OD 值数学模型建立及方差分析 使用软件 Design Expert V12 随机生成 17 个试验组合，分别按照组合制备 ZIF-8@Iso，并测定包封率、载药量和粒径，计算 OD 值，实验结果见表 4。拟合得到 ZIF-8@Iso OD 值二次多元方程为 $Y = 0.880 + 0.029 X_1 + 0.058 X_2 - 0.022 X_3 - 0.089 X_1 X_2 + 0.120 X_1 X_3 - 0.081 X_2 X_3 - 0.370 X_1^2 - 0.290 X_2^2 - 0.390 X_3^2$ 。方差分析见表 5，构建的 ZIF-8@Iso OD 值数学模型的 P 值 $< 0.000 1$ ，具有极显著性意义；失拟项 P 值 =

表 4 BBD-RSM 因素水平、试验设计及结果

Table 4 Factor levels , experimental design and results of BBD-RSM															
试验号	X_1	$X_2/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	粒径/nm	OD 值	试验号	X_1	$X_2/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	粒径/nm	OD 值
1	2.5 : 1 (0)	1.5 (-1)	10 (-1)	74.51	21.03	171.86	0.098	10	2.0 : 1	2.0	14	73.92	24.54	172.25	0
2	2.5 : 1	2.0 (0)	12 (0)	84.48	23.77	136.44	0.938	11	2.5 : 1	2.0	12	82.96	23.55	139.11	0.864
3	2.0 : 1 (-1)	2.5 (+1)	12	72.92	24.21	157.81	0.304	12	3.0 : 1	2.0	14	77.54	19.06	166.24	0.218
4	2.5 : 1	2.0	12	73.13	23.62	147.26	0.794	13	2.5 : 1	2.5	10	74.83	21.19	156.15	0.366
5	2.5 : 1	1.5	14 (+1)	73.28	20.76	165.17	0.201	14	2.5 : 1	2.5	14	73.71	20.87	170.28	0.146
6	2.0 : 1	1.5	12	71.94	23.75	153.86	0	15	2.5 : 1	2.0	12	84.45	24.22	145.69	0.870
7	2.5 : 1	2.0	12	85.33	24.31	140.23	0.952	16	3.0 : 1	2.0	10	72.67	18.11	148.73	0
8	2.0 : 1	2.0	10	72.49	23.89	150.77	0.280	17	3.0 : 1	2.5	12	75.73	20.88	166.26	0.273
9	3.0 : 1 (+1)	1.5	12	76.44	18.94	143.74	0.326								

表 5 OD 值方差分析

Table 5 Analysis of variance for OD value											
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	1.90	9	0.21	45.12	<0.000 1	X_1^2	0.57	1	0.57	121.56	<0.000 1
X_1	6.76×10^{-3}	1	6.76×10^{-3}	1.44	0.269 1	X_2^2	0.35	1	0.35	75.38	<0.000 1
X_2	0.03	1	0.03	5.73	0.047 8	X_3^2	0.64	1	0.64	137.03	<0.000 1
X_3	4.03×10^{-3}	1	4.03×10^{-3}	0.86	0.384 6	残差	0.03	7	4.69×10^{-3}		
X_1X_2	0.03	1	0.03	6.86	0.035 4	失拟项	0.02	3	5.52×10^{-3}	1.36	0.374 9
X_1X_3	0.06	1	0.06	13.27	0.008 3	绝对误差	0.02	4	4.06×10^{-3}		
X_2X_3	0.02	1	0.03	5.76	0.046 6	总和	1.94	16			

0.374 9>0.05, 表明干扰对拟合结果影响极小。OD 值的 R^2 和 R_{adj}^2 分别为 0.983 1 和 0.961 3, 均接近 1.000, 说明数据模型拟合结果与实测结果具有较高的相关性。OD 值数学模型中 X_2 、 X_1X_2 、 X_2X_3 具有显著性差异 ($P<0.05$), 而 X_1X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 具有极显著性差异 ($P<0.01$)。根据方差分析 F 值可知 (表 5), 各因素对 ZIF-8@Iso OD 值影响顺序为异鼠李素浓度>ZIF-8 与异鼠李素质量比>制备时间。

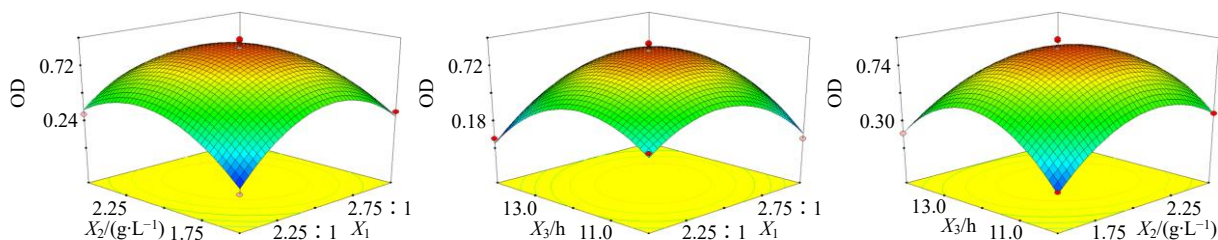


图 4 自变量与 OD 值的响应面

Fig. 4 Response surface of independent factors and OD value

2.6.4 ZIF-8@Iso 处方工艺验证 平行制备 3 批 ZIF-8@Iso, 测定结果见表 6, 计算得平均包封率为 $(84.82\pm0.56)\%$, 载药量为 $(24.05\pm0.16)\%$, 粒径为 (136.94 ± 0.29) nm, 粒径分布见图 5-A。ZIF-8@Iso 粒径大于 ZIF-8, 主要是 ZIF-8@Iso 负载药物所致。根据“2.6.1”项下 OD 值计算过程, 计算得实际 OD 值为 0.956, 以预测 OD 值 (0.962) 为参考, 计算得实际 OD 值相对偏差为-0.62%, 表明构建的 OD 值数学模型指导意义较强。

按照“2.1.5”项下方法操作, 测得 ZIF-8@Iso 的 PDI 值为 0.072 ± 0.008 , ζ 电位为 (30.66 ± 1.15) mV, 见图 5-B。将 ZIF-8@Iso 粉末分散于纯化水中, 使用红色激光笔侧面照射, 可观察到丁达尔现象 (图 6), 表明 ZIF-8@Iso 混悬液呈胶体分散状态, 而

表 6 处方验证结果

Table 6 Prescription verification results

批次	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	OD 值	平均 OD 值
第 1 批	84.18	24.21	137.22	0.947	0.956
第 2 批	85.17	23.89	136.64	0.959	
第 3 批	85.11	24.04	136.96	0.963	

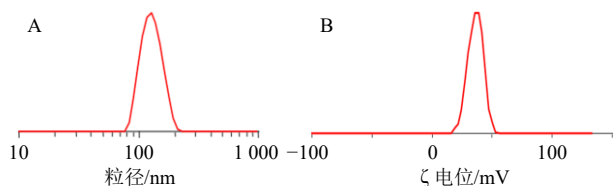


图 5 ZIF-8@Iso 的粒径 (A) 和 ζ 电位 (B)

Fig. 5 Particle size (A) and ζ potential (B) of ZIF-8@Iso

2.6.3 响应面与最佳处方确定 因素交互作用响应面见图 4, OD 值随着另外任意 2 因素增加均呈先上升后下降趋势, 因此 OD 值存在最大值。设置 OD 最大值为优化目标, 优化区间为 0~1, 得 ZIF-8@Iso 最佳处方工艺为 ZIF-8 与异鼠李素质量比为 2.51:1 (修正为 2.50:1), 异鼠李素质量浓度为 2.05 g/L, 制备时间为 11.93 h (修正为 12.00 h), 预测 OD 值为 0.962。

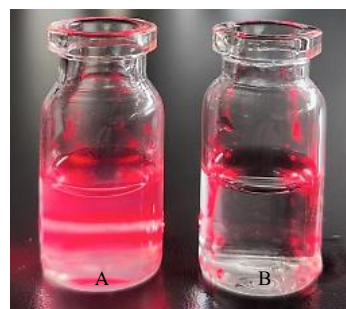


图 6 ZIF-8@Iso 混悬液 (A) 和纯化水 (B) 的丁达尔实验

Fig. 6 Tyndall experiments of ZIF-8@Iso suspension (A) and purified water (B)

纯化水无丁达尔现象。

2.7 ZIF-8@Iso 的 TEM 观察

取 ZIF-8 粉末分散至纯化水中, 置于 TEM 下 (15 000 倍) 观察 ZIF-8 形貌。按照“2.1.4”项下方法测试 ZIF-8@Iso 的 TEM。结果见图 7, ZIF-8@Iso 粒径均一。与 ZIF-8 的 TEM 结果 (图 2-B) 相比, ZIF-8@Iso 的 TEM 形貌发生了变化, 棱角尖锐度下降, 且 ZIF-8@Iso 之间有粘连现象, 这也是 ZIF-8@Iso 粒径大于 ZIF-8 的原因^[17]。

2.8 ZIF-8@Iso 的 XRPD 分析

取异鼠李素、ZIF-8 粉末、物理混合物 (异鼠李素和 ZIF-8 的比例同 ZIF-8@Iso, 仅作简单混合) 和 ZIF-8@Iso 粉末适量, 按照“2.1.3”项下方法进行 XRPD 分析, 结果见图 8。异鼠李素在 9.5° 、 10.1° 、 13.8° 、 17.8° 等处特征衍射峰强度相对较强, 为异鼠李素特征晶型峰, 在物理混合物 XRPD 图谱中仍可

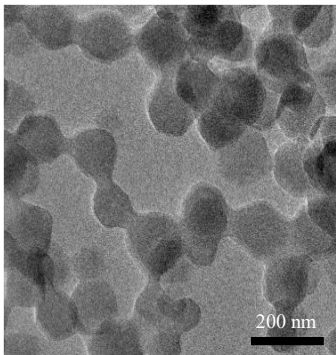


图 7 ZIF-8@Iso 的 TEM 图
Fig. 7 TEM image of ZIF-8@Iso

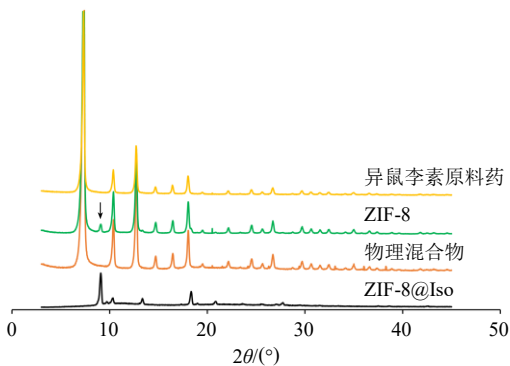


图 8 异鼠李素原料药、ZIF-8、物理混合物和 ZIF-8@Iso 的 XRPD 图谱
Fig. 8 XRPD spectrum of isorhamnetin bulk drug, ZIF-8, physical mixture and ZIF-8@Iso

见异鼠李素在 9.5° 处特征晶型峰（箭头所示），异鼠李素其他晶型峰被 ZIF-8 晶型峰掩盖，推测简单混合并未使异鼠李素晶态发生改变。在 ZIF-8@Iso 的 XRPD 图谱中仅显示 ZIF-8 的特征晶型峰，而异鼠李素的特征晶型峰消失，说明 ZIF-8@Iso 中的异鼠李素晶态可能发生了改变，推测是由于异鼠李素负载进入 ZIF-8 内部时，在限域作用下对药物晶型起到了较大的抑制作用^[11]。

2.9 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 纳米粒比表面积分析及孔径分布

使用比表面积分析仪测试 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 比表面积、孔容及孔径分布，比较 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 之间的差异。N₂ 吸附-洗脱曲线见图 9-A，ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 的 N₂ 吸附-洗脱等温曲线基本重合，说明 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 都具有微孔结构^[18]。ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 孔径分布曲线见图 9-B，由表 7 可知，ZIF-8@Iso 比表面积、孔容和孔径均低于 ZIF-8，这是由于异鼠李素填充 ZIF-8 内部孔道所致，表明异鼠李素被 ZIF-8 成功负载。

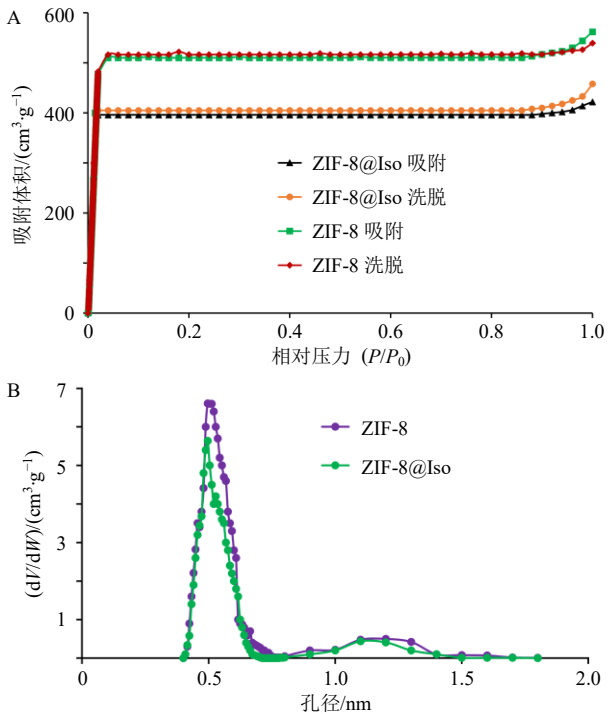


图 9 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 的 N₂ 吸附-脱附等温线 (A) 与孔径分布曲线 (B)
Fig. 9 N₂ adsorption-desorption isotherms (A) and pore-size distribution curves (B) of ZIF-8 and ZIF-8@Iso

表 7 ZIF-8 和 ZIF-8@Iso 的比表面积、微孔孔容和平均孔径
Table 7 Specific surface areas, pore volumes and average pore sizes of ZIF-8 and ZIF-8@Iso

样品	比表面积/ (m ² ·g ⁻¹)	微孔孔容/ (cm ³ ·g ⁻¹)	平均孔径/ nm
ZIF-8	1 711.06	0.66	0.53
ZIF-8@Iso	1 426.75	0.55	0.48

2.10 ZIF-8@Iso 体外释药考察

取 ZIF-8@Iso 粉末适量，使异鼠李素含量为 15 mg，转移至透析袋（截留相对分子质量 8 000）中，并加入 pH 5.0 磷酸盐缓冲液（PBS）5 mL，两端扎紧，震荡使 ZIF-8@Iso 充分分散，置于转篮中。溶出杯中加入 pH 5.0 PBS 1 000 mL，预热至（37.0±0.2）℃，转篮转速为 75 r/min，于 0.5、1.0、2.0、3.0、6.0、9.0、12.0、18.0、24.0、48.0 h 取样 3 mL，每次取样后于溶出杯中补加 pH 5.0 PBS 3 mL，样品 10 000 r/min 离心（离心半径 6.5 cm）5 min，测定上清液中异鼠李素含量。同法考察 ZIF-8@Iso 在 pH 5.5、6.5、7.4 PBS 中的释药行为。在相同条件下考察异鼠李素原料药（含量为 15 mg）在 pH 5.0、5.5、6.5、7.4 PBS 中的释药行为。结果见图 10，当介质

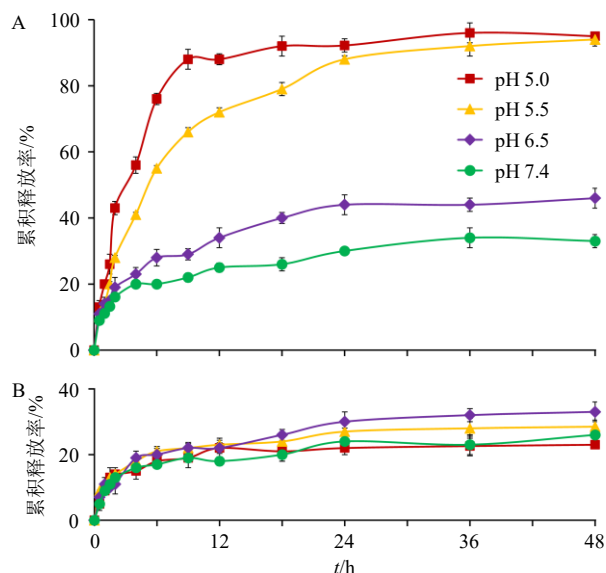


图 10 ZIF-8@Iso (A) 和异鼠李素原料药 (B) 在不同 pH 值 PBS 中体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 10 *In vitro* release curves of ZIF-8@Iso (A) and isorhamnetin bulk drug (B) in PBS with different pH values ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

pH 值大于 6.5 时 ZIF-8@Iso 释药相对困难, 介质 pH 小于 5.5 时 ZIF-8@Iso 释药相对容易(图 10-A), 表明 ZIF-8@Iso 具有 pH 敏感性。异鼠李素原料药在 pH 5.0、5.5、6.5、7.4 PBS 中释药均较低(图 10-B), 且释药行为无明显的 pH 敏感性。

2.11 血浆稳定性

通过考察 ZIF-8@Iso 在不同时间的粒径变化来考察 ZIF-8@Iso 在血浆中的稳定性。将 ZIF-8@Iso 分别在 37 °C 的 PBS 及含 50% 血浆的 PBS 中孵育^[19], 分别于 6、12、24、48 h 取样测定粒径。结果见表 8, 在含 50% 血浆 PBS 中孵育后的粒径分布有所增长, 但 48 h 平均粒径仍小于 200 nm, 这是由于 ZIF-8 材料在偏碱性介质中稳定性良好, 利于维持 ZIF-8@Iso 纳米结构。

2.12 溶血试验

2.12.1 2% 红细胞悬液的制备 取健康小鼠, ip 1% 戊巴比妥钠溶液(生理盐水配制), 摘眼球取血, 加

表 8 血浆稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Plasma stability results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

t/h	平均粒径/nm	
	PBS	50% 血浆的 PBS
6	155.14 ± 10.24	168.19 ± 13.24
12	152.79 ± 11.07	162.71 ± 10.51
24	159.64 ± 8.44	170.73 ± 14.27
48	158.25 ± 10.96	183.92 ± 11.26

入 10 倍量生理盐水, 3 000 r/min 离心 3 min, 弃去上清, 重复洗涤至上清无红色, 再用生理盐水配成 2% 的悬液(体积比)。

2.12.2 试验方法 按表 9 所示方法分别制备样品。1~8 号管均含 2% 红细胞悬液 2.5 mL, 1~6 号管分别加入不同体积的 ZIF-8@Iso 混悬液, 再加入适量生理盐水, 使 ZIF-8@Iso 最终质量浓度依次为 0.2、0.4、0.8、1.6、2.0、4.0 mg/mL。7 号管再加入 2.5 mL 生理盐水, 由于细胞外界溶液浓度与细胞内液浓度相同, 不会发生溶血, 故作为阴性对照。8 号管再加入 2.5 mL 纯化水, 由于细胞外界溶液浓度远小于细胞内液, 因而发生渗透作用而吸水, 最终会因吸水过多而破裂, 发生溶血现象, 故 8 号管作为阳性对照。将各管置于 37 °C 恒温水浴中孵育 1 h, 3 000 r/min 离心 3 min, 于 416 nm 处用紫外-可见分光光度计测定上清液中吸光度(A)值, 计算溶血率[溶血率=(A_{样品}-A_{阴性})/(A_{阳性}-A_{阴性})]。结果(表 9)显示, ZIF-8@Iso 质量浓度小于 2.0 mg/mL 时溶血率均小于 5%, 说明在此质量浓度下使用时安全性良好, 但质量浓度为 4.0 mg/mL 时溶血率大于 5%。

表 9 溶血试验

Table 9 Hemolysis test

试验号	2% 红细胞悬液/mL	生理盐水/mL	ZIF-8@Iso 混悬液体积/mL	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	纯化水/mL	溶血率/%
1	2.5	2.4	0.1	0.2	0.0	2.15
2	2.5	2.3	0.2	0.4	0.0	3.22
3	2.5	2.1	0.4	0.8	0.0	2.96
4	2.5	1.7	0.8	1.6	0.0	3.42
5	2.5	1.5	1.0	2.0	0.0	3.78
6	2.5	0.5	2.0	4.0	0.0	13.42
7	2.5	2.5	0.0	0.0	0.0	0.00
8	2.5	0.0	0.0	0.0	2.5	100.00

2.13 ZIF-8@Iso 储存稳定性考察

将 ZIF-8@Iso 粉末密封于西林瓶中, 并用压盖器密封, 置恒温恒湿箱(湿度 60%、温度 40 °C), 于 1、2、3、6 个月取样, 加入纯化水分散, 过 0.45 μm 微孔滤膜除去析出的异鼠李素, 测定续滤液中异鼠李素的量(M_t), 以新制备 ZIF-8@Iso 中异鼠李素的量(M₀)为参考, 计算 ZIF-8@Iso 沉降率, 沉降率=(M₀-M_t)/M₀。同时测定 ZIF-8@Iso 混悬液粒径和 ζ 电位, 结果见表 10。密封后的 ZIF-8@Iso 粉末在加速条件下放置 6 个月时沉降率小于 2%, 粒径小于 200 nm, ζ 电位仍大于 30 mV, 表明 ZIF-8@

表 10 ZIF-8@Iso 稳定性考察结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 10 Results of ZIF-8@Iso stability test ($\bar{x} \pm s, n=3$)

t/月	沉降率/%	粒径/nm	PDI 值	ζ 电位/mV
0	0.27±0.05	139.12±4.81	0.079±0.008	33.44±1.25
1	1.14±0.11	136.89±7.22	0.074±0.004	32.19±0.85
2	0.98±0.13	140.53±6.80	0.082±0.005	34.06±1.12
3	1.37±0.14	143.16±7.91	0.078±0.009	33.75±1.28
6	1.60±0.10	153.99±4.29	0.088±0.010	31.71±0.94

Iso 储存稳定性较高。ZIF-8 是一种多空纳米材料，较易吸潮，因此，ZIF-8@Iso 粉末需做好防潮措施。

2.14 体内组织分布研究

2.14.1 肿瘤模型的建立 使用胰酶消化 Lewis 肺癌细胞，800 r/min 离心 5 min，收集细胞，PBS 洗涤 2 次，并制成终密度为 1.0×10^7 个/mL。取 6 周龄的 C57BL/6 小鼠，于右侧背部 sc Lewis 细胞悬液 0.2 mL，并正常饲养。每天用游标卡尺测量 1 次瘤体的长 (a) 和宽 (b)，计算肿瘤体积 (V): $V=a \times b^2 \times \pi/6$ 。选取肿瘤体积为 (100 ± 15) mm³、触之稍硬的荷瘤小鼠作为肿瘤模型。

2.14.2 实验分组 取禁食 72 只荷瘤小鼠，随机分成异鼠李素注射液组和 ZIF-8@Iso 组，按 50 mg/kg (以异鼠李素计) 分别尾静脉注射给药，于 0.17、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 h 乙醚麻醉后立即断髓法处死小鼠，分别取出心、肝、脾、肺、肾、脑及肿瘤组织，冷冻保存。

2.14.3 组织样品的制备 取心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织，室温解冻，滤纸吸干表面水分后称定质量，加入等质量的生理盐水，置于匀浆机中进行匀浆。精密吸取匀浆液 400 μL 和 2 mol/L 盐酸溶液 200 μL 置于离心管中，涡旋混匀后置于 65 ℃ 水浴中 30 min，加入醋酸乙酯 500 μL，密封并涡旋 5 min，10 000 r/min 离心 (离心半径 6.5 cm) 10 min，取上清液氮气吹干，加入 100 μL 乙腈复溶残渣，再次以 10 000 r/min 离心 (离心半径 6.5 cm) 10 min，即得。

2.14.4 色谱条件及标准曲线的绘制 参考“2.3.1”项下色谱条件，将流动相调整为甲醇-0.1%甲酸水溶液 (70:30)，其他测试条件均不变。分别取各个空白组织样品，按照“2.14.3”项下方法处理，分别加入异鼠李素对照品，配制成异鼠李素质量浓度均为 0.1、0.5、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 的各个组织对照品溶液并分别进样测定。以异鼠李素质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，进行线性回归，

得心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织对照品溶液方程分别为 $Y=265.15 X+18.26$, $r=0.996 4$; $Y=248.10 X-8.94$, $r=0.998 0$; $Y=253.91 X-12.33$, $r=0.996 4$; $Y=262.76 X-12.33$, $r=0.996 8$; $Y=239.84 X+14.16$, $r=0.997 8$; $Y=246.58 X-18.48$, $r=0.997 3$; $Y=255.56 X+14.44$, $r=0.996 2$ ，所以异鼠李素在 0.1~20.0 μg/mL 线性关系均良好。

2.14.5 专属性考察 取分别各个组织的空白样品溶液、异鼠李素对照品溶液 (0.1 μg/mL) 和待测样品溶液 (异鼠李素注射给药 4.00 h)，分别按照“2.14.4”项下调整后的色谱条件进行测定，色谱图见图 11，各个组织内源性杂质未对异鼠李素色谱峰产生干扰，专属性高。

2.14.6 稳定性考察 分别取心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织质控样品置于室温，分别于 0、4、8、12、16、24 h 测定，计算得异鼠李素质量浓度的 RSD 依次为 4.82%、5.17%、5.58%、6.08%、4.87%、5.16% 和 6.60%，表明各组织样品溶液稳定性良好。

2.14.7 精密度和准确度考察 分别取异鼠李素浓度为 0.1、2.0、20.0 μg/mL 的心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织质控样品，分别按照“2.14.3”项下方法处理后连续测定 6 次，计算日内精密度 (RSD)，代入随行标准曲线计算异鼠李素质量浓度，并计算相对偏差 (RE)。相同浓度的血浆、心、肝、脾、肺、肾和肿瘤组织质控样品分别连续测定 6 d，计算日间精密度 (RSD) 和相对偏差 (RE)。结果见表 11，表明日内、日间精密度及准确度均良好。

2.14.8 加样回收率 取空白心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织空白匀浆液，分别按照“2.14.3”项下方法处理，加入异鼠李素对照品，配制成异鼠李素质量浓度分别为 0.1、2.0、20.0 μg/mL 各个组织的质控样品溶液，各质量浓度均 6 份。另采用甲醇配制质量浓度分别为 0.1、2.0、20.0 μg/mL 异鼠李素对照品溶液，分别进行测定。将各个组织质控样品溶液中异鼠李素峰面积与异鼠李素对照品溶液的峰面积进行对比，计算加样回收率。结果见表 11，血浆及各个组织样品的平均加样回收率在 95.23%~104.28%，RSD 小于 5%，表明准确度较高。

2.14.9 体内组织分布及靶向性评价结果 异鼠李素注射剂和 ZIF-8@Iso 在荷瘤小鼠体内各个组织、各个时间点的分布情况分别结果分别见表 12。采用相对摄取率 (relative uptake efficiency, RUE) 评价 ZIF-8@Iso 组织靶向性，RUE 值越大表示组织靶向

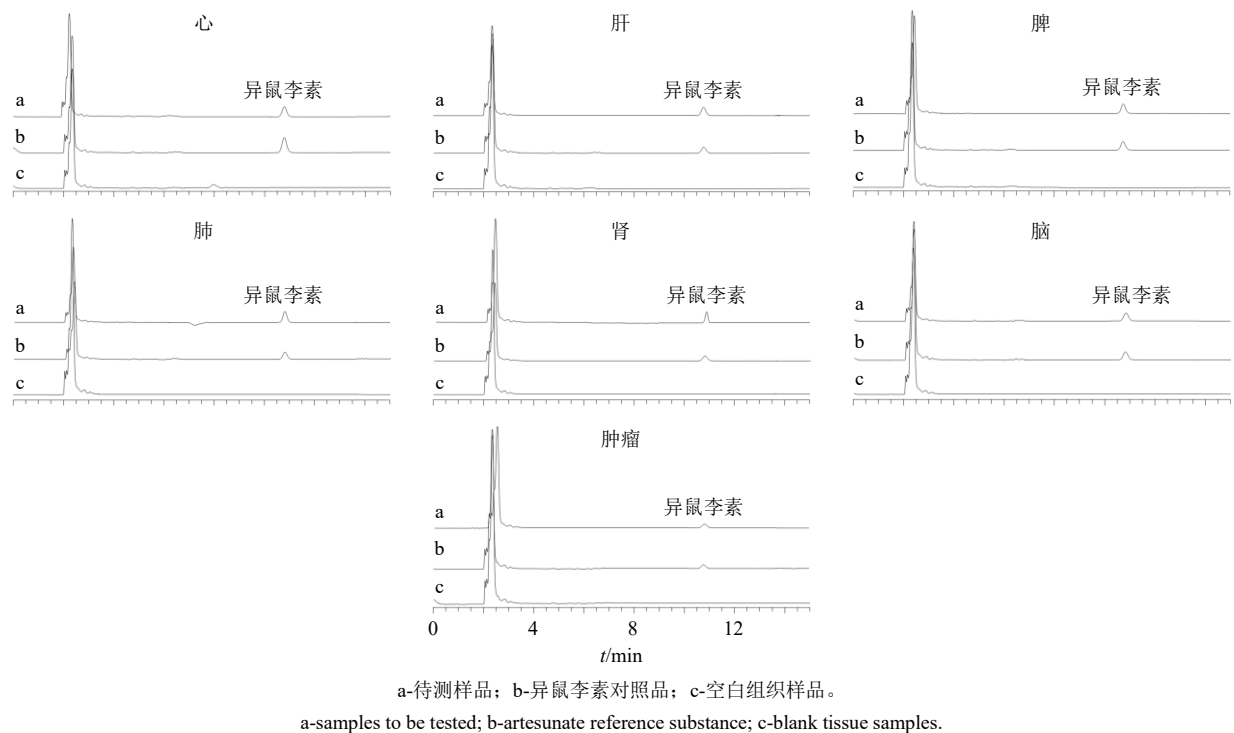


图 11 心、肝、脾、肺、肾、脑和肿瘤组织的 HPLC 图
Fig. 11 HPLC chromatograms of heart, liver, spleen, lung, kidney, brain and tumor tissues

表 11 精密度、准确度和回收率结果
Table 11 Precision, accuracy and recovery rate results

样品	异鼠李素/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内精密度 RSD/%	日内精密度 RE/%	日间精密度 RSD/%	日间精密度 RE/%	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/ %	样品	异鼠李素/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内精密度 RSD/%	日内精密度 RE/%	日间精密度 RSD/%	日间精密度 RE/%	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD/ %
心	0.1	6.34	7.26	4.15	3.26	95.11	98.96	4.29	肾	0.1	5.07	-2.87	5.55	5.94	100.28	95.23	4.25
	2.0	5.84	-4.52	6.08	-5.19	103.52				2.0	2.75	4.26	4.02	-1.13	95.23		
	20.0	5.79	3.19	2.84	6.25	98.26				20.0	4.06	3.16	4.93	4.26	103.24		
肝	0.1	3.70	4.26	3.85	-4.33	104.23	98.93	4.68	脑	0.1	2.98	-6.84	2.06	-3.33	101.29	104.28	2.90
	2.0	7.41	-5.15	4.09	-0.82	95.68				2.0	3.85	5.16	3.75	2.56	104.28		
	20.0	4.32	1.05	4.82	1.19	96.87				20.0	6.23	-0.92	5.24	7.16	98.24		
脾	0.1	6.04	-2.26	5.24	2.36	97.18	104.26	3.67	肿瘤	0.1	5.69	5.60	6.12	-5.23	99.14	97.89	3.47
	2.0	4.29	-4.16	3.57	-5.43	104.26				2.0	7.11	-4.77	4.29	-4.16	97.89		
	20.0	5.07	-0.98	6.20	6.19	103.24				20.0	4.26	7.12	5.18	5.22	104.29		
肺	0.1	3.24	1.25	3.85	5.28	102.26	98.26	2.65									
	2.0	4.82	3.17	5.19	-3.16	98.46											
	20.0	5.19	7.06	4.28	-4.28	97.27											

性越强。结果见表 13，ZIF-8@Iso 组肿瘤组织 RUE 最高，表明 ZIF-8@Iso 能明显增加肿瘤组织的药物蓄积量，有助于增强药效、降低不良反应。

$$\text{RUE} = \text{AUC}_{\text{ZIF-8@Iso}} / \text{AUC}_{\text{异鼠李素注射液}}$$

AUC 为药-时曲线下面积

2.15 ZIF-8@Iso 体内抗肿瘤实验

2.15.1 实验方案 将 40 只荷瘤小鼠随机分成对照组（生理盐水）、顺铂组（25 mg/kg，LD₅₀ 为 131.5

mg/kg，注射剂量约为 1/5 的 LD₅₀）、异鼠李素组（50 mg/kg）、ZIF-8@Iso 低剂量组（25 mg/kg）和 ZIF-8@Iso 高剂量组（50 mg/kg）。每 3 天注射给药 1 次，第 5 次注射给药 3 d 后，记录各组荷瘤小鼠体质量。采用断髓法处死荷瘤小鼠，完整剥离瘤体，置于滤纸上吸干水分，记录肿瘤质量，计算各个药物的抑瘤率[抑瘤率=(1-给药组平均瘤质量/模型对照组平均瘤质量)]。

表 12 异鼠李素注射剂和 ZIF-8@Iso 在荷瘤小鼠体内组织分布 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 12 *In vivo* tissue sistribution of isorhamnetin injection and ZIF-8@Iso in tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

制剂	t/h	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)						
		心	肝	脾	肺	肾	脑	肿瘤
异鼠李素注射剂	0.17	1.28±0.34	5.18±1.16	3.55±1.43	3.33±0.65	3.23±0.72	2.43±0.75	1.60±0.61
	0.50	2.97±0.61	10.40±1.82	7.10±1.20	3.83±0.57	4.30±1.09	2.88±0.71	2.72±0.73
	1.00	2.08±0.64	6.83±0.96	4.18±1.17	2.60±0.73	1.87±0.68	2.37±0.99	1.97±0.58
	2.00	0.97±0.31	4.23±0.98	2.33±0.85	1.00±0.34	0.40±0.11	1.52±0.54	1.15±0.46
	4.00	0.30±0.13	1.05±0.29	0.61±0.28	0.47±0.08	0.21±0.09	0.27±0.08	0.47±0.15
	6.00	0.16±0.09	0.43±0.10	0.29±0.07	0.20±0.06	0.11±0.06	0.19±0.04	0.14±0.06
ZIF-8@Iso	0.17	1.02±0.44*	6.65±1.28*	3.12±0.77	3.63±0.99	3.07±0.50	2.05±0.36	3.37±0.93**
	0.50	2.15±0.69*	14.07±2.22**	6.43±0.60**	4.78±0.96*	3.63±0.94*	2.01±0.68*	6.87±0.89**
	1.00	1.35±0.45**	10.87±2.52**	3.20±0.67**	2.97±0.84	1.35±0.52	1.66±0.30*	3.68±1.32**
	2.00	0.88±0.37	6.94±1.01**	1.18±0.32**	1.07±0.29	0.68±0.21*	1.05±0.38*	2.36±0.78**
	4.00	0.32±0.15	1.98±0.45*	0.63±0.27	0.59±0.13	0.11±0.05	0.29±0.20	0.95±0.13**
	6.00	0.12±0.04	1.03±0.32*	0.32±0.09	0.12±0.04	0.06±0.03	0.12±0.04	0.21±0.09*

与异鼠李素注射剂相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs artesunate injection.

表 13 靶向性参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 13 Targeting parameter ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	AUC/($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$)		RUE
	异鼠李素注射剂	ZIF-8@Iso	
心	5.22±0.77	3.96±0.40	0.76
肝	18.75±2.24	30.21±4.78	1.61
脾	11.17±2.11	8.29±1.25	0.74
肺	6.94±0.85	6.90±0.93	0.99
肾	4.91±0.66	4.33±0.71	0.88
脑	6.32±0.53	4.47±0.68	0.71
肿瘤	5.60±0.58	11.85±2.00	2.12

2.15.2 实验结果 15 d 后各组荷瘤小鼠肿瘤外观见图 12, 肿瘤外观体积大小顺序为对照组>ZIF-8@Iso 低剂量组>异鼠李素组>ZIF-8@Iso 高剂量组>顺铂组。各组荷瘤小鼠在不同时间点肿瘤体积变化结果见图 13, 瘤质量、抑瘤率及体质量结果见表 14。对照组小鼠肿瘤体积在各个时间点生长最快, 15 d 时肿瘤体积达 $(1\,522.47 \pm 246.98) \text{ mm}^3$ 。异鼠李素组 (50 mg/kg) 在各个时间点肿瘤体积小于对照组, 说明异鼠李素具有抑瘤作用, 与相关报道研究一致^[2]。异鼠李素组 (50 mg/kg) 相比, ZIF-8@Iso 低剂量组 (25 mg/kg) 在各个时间点肿瘤体积与无显著性差异 ($P > 0.05$); 而 ZIF-8@Iso 高剂量组 (50 mg/kg) 在 9、12、15 d 时肿瘤体积极显著性下降 ($P < 0.01$), 15 d 时的抑瘤率 (62.64%) 远大于异鼠李素组 (46.15%), 表明在给药剂量相同前提下 ZIF-8@Iso 可进一步增加异鼠李素抗肿瘤药效。与对照组小鼠

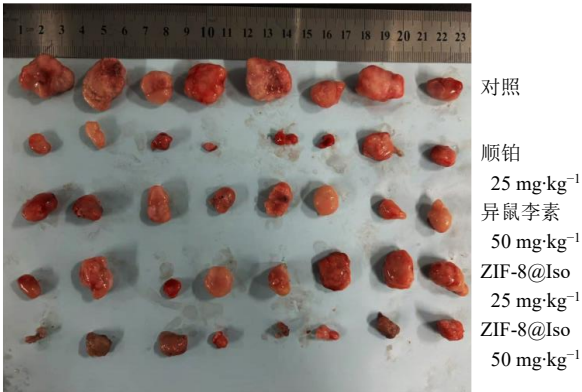
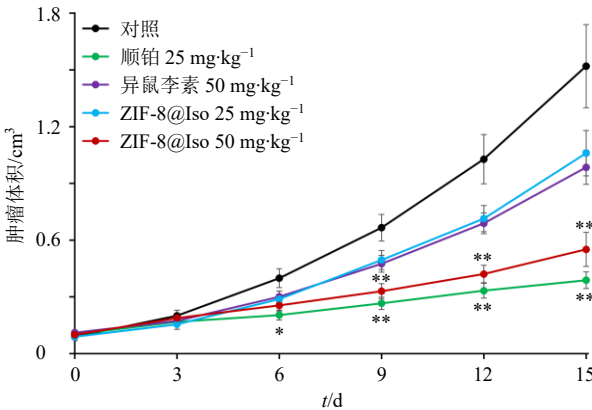


图 12 荷瘤小鼠的肿瘤外观

Fig. 12 Tumor appearance of tumor-bearing mice



与异鼠李素组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs isorhamnetin group.

图 13 荷瘤小鼠肿瘤体积变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 13 Tumor volume changes in tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

表 14 体内抑瘤率结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 14 Antitumor inhibition rate results *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	瘤质量/ g	抑瘤率/ %	体质量/ g
对照	—	0.91±0.18	—	26.89±2.13
顺铂	25	0.19±0.11**	79.12	21.74±2.42**
异鼠李素	50	0.49±0.18**	46.15	25.40±1.97
ZIF-8@Iso	25	0.53±0.21**	41.76	25.95±2.54
	50	0.34±0.15**#	62.64	26.68±2.68

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与异鼠李素组相比: # $P < 0.05$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.01$ vs isorhamnetin group.

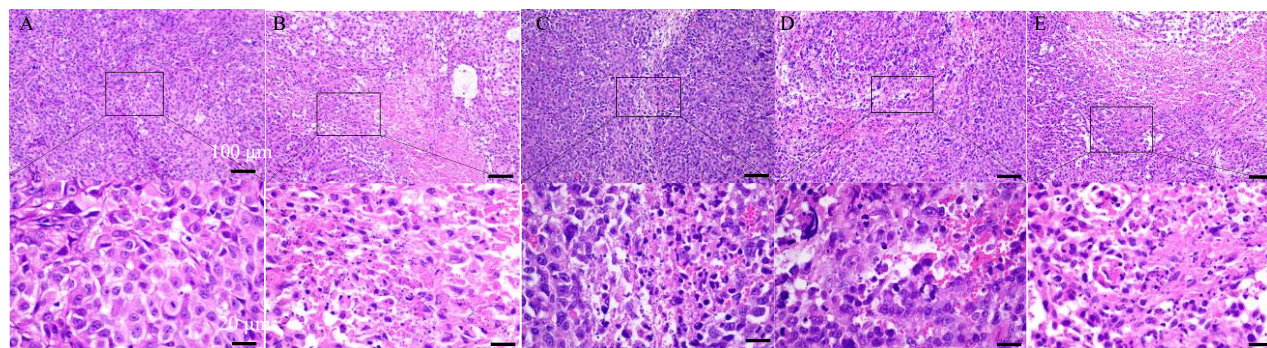


图 14 各组小鼠肿瘤组织病理学变化

Fig. 14 Pathological changes of tumor tissues in mice of each group

破裂现象,表明异鼠李素具有抗肿瘤作用,但病理图上仍可观察到大量正常肿瘤细胞(图 14-C),因此,异鼠李素抗肿瘤药效待进一步提高;ZIF-8@Iso 低剂量组也可观察到少量肿瘤细胞核破裂现象,仍存在一定量的肿瘤细胞(图 14-D),而 ZIF-8@Iso 高剂量组肿瘤细胞核破裂现象较 ZIF-8@Iso 低剂量组更为严重(图 14-E),肿瘤细胞大幅减少,表明治疗效果更佳。

3 讨论

目前,常使用甲醇等有机溶剂作来制备金属有机骨架材料^[15],但由于金属有机骨架具有极大的比表面积及孔容,导致有机溶剂很难处理完全,但有机溶剂残留可能影响对金属有机骨架材料及负载药物的稳定性产生不利影响,因而在医药领域应用受到一定限制。为解决上述问题,本研究采用纯化水作为制备溶剂,在常温下通过调整 2-甲基咪唑、六水合硝酸锌、纯化水等用量也成功合成了 ZIF-8 材料,并通过傅里叶变换红外光谱、X 射线粉末衍射、透射电镜等进行了表征,表明可以使用纯化水代替甲醇等有机溶剂来制备的 ZIF-8 纳米粒,为金属有机骨架材料的相关研究提供了有益借鉴,也为

体质量相比,异鼠李素组、ZIF-8@Iso 低和高剂量组体质量无显著性差异,但顺铂组荷瘤小鼠体质量极显著性下降($P < 0.01$),提示顺铂不良反应较高。

2.15.3 苏木精-伊红染色(HE)观察各组小鼠肿瘤组织病理变化 用 4%多聚甲醛固定肿瘤组织,石蜡包埋,切片脱蜡,HE 染色,脱水封片,置于光学显微镜下(100 倍和 400 倍)观察肿瘤组织病理变化。结果(图 14)显示,模型组小鼠肿瘤细胞无坏死现象,边界清晰(图 14-A);阳性组肿瘤细胞核破裂严重,出现大量坏死现象,表明肿瘤细胞大量死亡(图 14-B);异鼠李素组出现少量肿瘤细胞核

ZIF-8 纳米粒在新型药物递送系统中的应用提供了参考资料。

采用金属有机骨架材料负载药物主要有一步法和浸渍法(也称吸附法)。一步法是将药物、2-甲基咪唑和 Zn^{2+} 溶液同时加入反应体系中,在 Zn^{2+} 和 2-甲基咪唑自组装形成纳米粒的同时负载药物,但药物分子结构中一般含有羟基、苯环、羰基等配位基团,容易与 Zn^{2+} 共同竞争 2-甲基咪唑配位点^[20],故影响了包封率和载药量,甚至导致粒径和 PDI 值变大。本研究采用吸附法制备 ZIF-8@Iso,首先制备 ZIF-8 纳米粒,由于 ZIF-8 具有极大的比表面积和孔容,为异鼠李素提供了大量的吸附位点,利于将异鼠李素负载至 ZIF-8 纳米粒内部孔道中。

本研究对 ZIF-8 与异鼠李素质量比、异鼠李素浓度和制备时间分别进行了单因素考察,在确定影响趋势的前提下,以包封率、载药量和粒径的总评归一值为优化指标,采用 BBD-RSM 优化了 ZIF-8@Iso 处方,表明采用浸渍法制备 ZIF-8@Iso 时具有影响因素少、工艺重复性好、包封率高、粒径小等优势。由于 ZIF-8 纳米粒平均孔径仅约 0.50 nm,异鼠李素被负载至 ZIF-8 纳米粒孔道后在限域效应

下使得异鼠李素难以以结晶的形式存在^[21], 因而导致异鼠李素的存在状态及粒度发生了极大变化, 这种变化利于提高异鼠李素的溶解度及溶出度^[22], 从而解决了异鼠李素理化缺陷, 为提高抗肿瘤药效奠定基础。ZIF-8@Iso 的 pH 敏感性考察结果显示, 异鼠李素在不同 pH 值介质中释药无明显差异, 且释放度均较小, 可能与原料药粒度大、溶解度差等原因有关^[5]。

但 ZIF-8@Iso 在不同 pH 值介质中释药行为表现出明显的差异, 表明 ZIF-8@Iso 释药具有 pH 值敏感性, 且这种 pH 释药敏感性并非由异鼠李素在不同 pH 介质中溶解度差异引起。ZIF-8@Iso 在较低 pH 值介质中释药相对容易, 释药速率和释放度较高, 主要是由于 ZIF-8 骨架上咪唑环的不饱和氮原子在酸性介质中容易质子化^[14-15], 导致 ZIF-8 骨架被瓦解, 进而使负载的药物快速释放出去。由于肿瘤组织内缺氧特征和糖酵解增强, 导致的碳酸、乳酸增多, 是肿瘤部位微酸环境形成的主要原因, 采用 pH 敏感材料 ZIF-8 来负载抗肿瘤药物, 为实现靶向治疗、提高药效等奠定了基础。

据报道^[23], 异鼠李素口服后裸鼠的半数致死量 (median lethal dose, LD₅₀) 为 2 671.31 mg/kg, 体内注射其 LD₅₀ 的 1/30 即约 90 mg/kg 时未见动物死亡现象, 说明该剂量安全性较高。根据已有报道^[2], 异鼠李素注射剂量大于 20 mg/kg 时即可表现出抗肿瘤药效, 结合前期预实验最终确定异鼠李素注射剂量为 50 mg/kg。体内抗肿瘤试验结果显示, ZIF-8@Iso 有助于提高药效, 且抗肿瘤药效存在剂量依赖性。ZIF-8@Iso 高剂量组肿瘤抑制率 (62.64%) 低于顺铂组 (79.12%), 但顺铂给药 15 h 后小鼠体质量出现显著性下降, 表明顺铂不良反应较大, 可能是顺铂经注射进入机体后通过血液循环分布到机体器官及肿瘤组织, 从而发挥抗肿瘤作用, 但传统化疗药物无法区分肿瘤细胞和正常细胞, 极大影响了肿瘤靶向性^[24], 因此, 容易产生一系列不良反应。异鼠李素不仅具有抗肿瘤作用, 还具有保护机体肾脏、肝脏、心脏等作用^[3], 体现出中药活性成分在肿瘤治疗时独特优势^[19,25], 因而使用安全性远高于化疗药物顺铂, 结果表明, 本研究制备的 ZIF-8@Iso 具有较高的研究价值。此外, ZIF-8@Iso 与顺铂联用后是否具有增效减毒等作用^[26-27], 需要进一步研究并确认, 这也是后续研究的重点方向。

综上, 本研究采用金属有机骨架 ZIF-8 成功构

建了 ZIF-8@Iso 纳米粒, 最佳处方工艺重复性良好, 包封率及载药量较高。由于 ZIF-8@Iso 粒径较小, 可发挥肿瘤组织的高渗透长滞留效应, 同时 ZIF-8@Iso 具有明显的 pH 敏感性, 有助于实现异鼠李素在肿瘤微酸性环境在快速释放, 在双重作用机制下极大提高了 ZIF-8@Iso 治疗靶向性。ZIF-8@Iso 有助于降低异鼠李素的给药剂量, 并显著增强了异鼠李素体内抗肿瘤药效, 因此构建的 ZIF-8@Iso 可作为异鼠李素新型递药载体, 值得进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 曹然, 汪国玉, 陈美玲, 等. 2018—2022 年中国科学院合肥肿瘤医院新型抗肿瘤药应用分析 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(9): 2342-2350.
- [2] 张洋, 王静, 那丽莎, 等. 异鼠李素通过上调 SLC25A25-AS1 对胃癌发展的影响 [J]. 中国药房, 2025, 36(8): 932-938.
- [3] 朱悦. 基于钱静教授临床经验的菟丝子及有效成分对卵巢生殖功能保护作用及机制探析 [D]. 扬州: 扬州大学, 2024.
- [4] 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.
- [5] 陈晓敏, 曹伶俐, 崔伟峰. 鼠李素磷脂复合物的处方工艺优化、表征及体外溶出度考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(4): 399-403.
- [6] Liu H J, Han J X, Lv Y, *et al.* Isorhamnetin and anti-PD-L1 antibody dual-functional mesoporous silica nanoparticles improve tumor immune microenvironment and inhibit YY1-mediated tumor progression [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 208.
- [7] Zhao G Y, Duan J Z, Xie Y, *et al.* Effects of solid dispersion and self-emulsifying formulations on the solubility, dissolution, permeability and pharmacokinetics of isorhamnetin, quercetin and kaempferol in total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, 39(7): 1037-1045.
- [8] 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.
- [9] 汪洁, 顾雪梅, 张思雨, 等. 甘草次酸和叶酸共修饰双靶向 pH 敏感黄芩苷/姜黄素共载脂质体的制备及评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(12): 2816-2829.
- [10] 王灵晓, 韦皖豫, 范琪, 等. pH 响应型自门控 Fe₃O₄@SiO₂ 材料的合成及载药应用研究 [J]. 化学研究与应用, 2024, 36(7): 1545-1552.

- [11] Peng X Q, Tang S S, Tang D T, *et al.* Autonomous metal-organic framework nanorobots for active mitochondria-targeted cancer therapy [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(23): eadh1736.
- [12] 朱禹, 刘嘉钰, 张启媛, 等. ZIF-8@HKUST-1 复合吸附剂的构筑及四环素吸附性能研究 [J]. 化学研究与应用, 2023, 35(5): 1075-1081.
- [13] Liang J, Zhang W W, Wang J, *et al.* Development of the Cu/ZIF-8 MOF acid-sensitive nanocatalytic platform capable of chemo/chemodynamic therapy with improved anti-tumor efficacy [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(22): 19402-19412.
- [14] 康杰. ZIF-8 的制备及其性能研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2021.
- [15] 王涛丽, 张广辉, 张莉, 等. 负载二氢杨梅素 ZIF-8 纳米粒的制备、表征及抗肿瘤评价 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(5): 1224-1235.
- [16] 赵锦岳. 用于小分子气体分离的 ZIF-8 膜的制备与研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2022.
- [17] 蔡润泽, 黄啟良, 潘灿平, 等. 沸石咪唑酸酯骨架-8 负载二氯吡啶酸纳米载药体系制备及性能研究 [J]. 农药学报, 2024, 26(6): 1094-1104.
- [18] 邹雨航. MOF 载药缝合线的制备及抗菌促愈性能研究 [D]. 上海: 东华大学, 2023.
- [19] 陈聪慧, 张佩语. 双靶向共载紫杉醇及白藜芦醇纳米系统构建及其体外抗多药耐药肿瘤研究 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 395-402.
- [20] 陈功森, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 不同类型金属有机骨架材料合成及载雷公藤红素工艺研究 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5673-5681.
- [21] 孙丽, 李瑞华, 吉媛媛, 等. 高良姜素自胶束化固体分散体的制备、口服药动学和降血糖作用评价 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(1): 143-156.
- [22] 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.
- [23] 马素丽. 柴胡抑制胃癌生长的活性成分分析及其作用机制研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2021.
- [24] 曹伶俐, 刘素梅. 甜菊糖苷-高良姜素纳米复合物的制备及其理化性质评价 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(6): 1506-1514.
- [25] 田莉, 李伟宏, 张付利. 木犀草素磷脂复合物白蛋白纳米粒的制备及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(10): 3280-3290.
- [26] 张训发, 廉唱唱, 桂双英, 等. 顺铂前药纳米载药系统联合丁硫氨酸亚砷亚胺增强肿瘤化疗效果的研究 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(12): 2601-2607.
- [27] 曹明, 柯刚, 钟钰, 等. 中药单体联合化学药抗胶质母细胞瘤纳米制剂研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4276-4286.

[责任编辑 郑礼胜]