

半乳糖修饰的桔皮素仿生纳米粒的制备、表征和药动学评价

王改利¹, 高青¹, 李晓蒙¹, 郑雁¹, 孙晋鹏^{2,3}, 崔锋^{2,3*}

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 山西锦烁生物医药科技有限公司, 山西 晋中 030600

3. 亳州高新科创医药产业技术研究院有限公司, 安徽 亳州 236839

摘要: 目的 制备半乳糖修饰的桔皮素仿生纳米粒 (galactose modified tangeretin biomimetic nanoparticles, Gal-Tan-BNps), 并考察理化性质及口服药动学行为。方法 单因素考察处方工艺对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量和粒径的影响, 选择 PLGA 与药物用量比、*N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数和泊洛沙姆 188 质量分数作为主要影响因素, 采用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Gal-Tan-BNps 处方, 并测定包封率、载药量、粒径和 ζ 电位。透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 Gal-Tan-BNps 形貌, X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD) 法和差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析桔皮素晶型, 透析袋法考察 Gal-Tan-BNps 释药行为。比较 Caco-2 细胞对 Gal-Tan-BNps 和桔皮素纳米粒 (tangeretin nanoparticles, Tan-Nps) 的摄取能力。SD 大鼠 ig 给予 Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps, 测定血药浓度, 计算主要药动学参数和相对生物利用度。结果 Gal-Tan-BNps 最佳处方为 PLGA 与药物用量比为 9.33 : 1, *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.33%, 泊洛沙姆 188 质量分数为 0.81%。Gal-Tan-BNps 的包封率、载药量、粒径和 ζ 电位分别为 $(84.76 \pm 1.22) \%$ 、 $(8.04 \pm 0.11) \%$ 、 $(190.94 \pm 6.60) \text{ nm}$ 和 $(-19.92 \pm 0.97) \text{ mV}$ 。Gal-Tan-BNps 外貌呈圆形或椭圆形, Gal-Tan-BNps 在 24 h 内累积释放率达 77.13%, 释药行为符合 Weibull 模型, 包含快速和缓慢释药期。Caco-2 细胞对 Gal-Tan-BNps 的摄取能力优于 Tan-Nps, 荧光平均吸光度值存在显著性差异 ($P < 0.05$)。与桔皮素原料药相比, Gal-Tan-BNps 达峰时间 ($t_{\max}$) 延后至 $(3.06 \pm 0.75) \text{ h}$, 半衰期 ($t_{1/2}$) 延长至 $(5.71 \pm 1.47) \text{ h}$, 达峰浓度 ($C_{\max}$) 增加至 $(1\,196.44 \pm 230.89) \text{ ng/mL}$, 相对生物利用度提高至 6.43 倍。Gal-Tan-BNps 对桔皮素生物利用度的提高幅度高于 Tan-BNps。结论 Gal-Tan-BNps 包封率较高, 提高了桔皮素体外释放度及口服吸收生物利用度, 为后续研究奠定基础。

关键词: 桔皮素; 仿生纳米粒; 半乳糖; 修饰; Box-Behnken 响应面法; 晶型; 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(2025)23 - 8534 - 14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.007

Galactose modified tangeretin biomimetic nanoparticles: Preparation, characterization and pharmacokinetic evaluation

WANG Gaili¹, GAO Qing¹, LI Xiaomeng¹, ZHENG Yan¹, SUN Jinpeng^{2,3}, CUI Feng^{2,3}

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Shanxi Jinsuo Biomedical Technology Co., Ltd., Jinzhong 030600, China

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

Abstract: Objective To prepare galactose modified tangeretin biomimetic nanoparticles (Gal-Tan-BNps), and investigate its physicochemical properties and oral pharmacokinetic behavior. **Methods** The effects of formulations on the encapsulation efficiency, drug loading and particle size of Gal-Tan-BNps were investigated by single factor experiments. PLGA to drug dosage ratio, *N*-oleoyl-*D*-galactosamine quality fraction and poloxamer 188 quality fraction were used as main influencing factors, Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM) was employed to investigate the optimal prescriptions of Gal-Tan-BNps. Encapsulation rate, drug loading, particle size and ζ potential were all determined. Appearance of Gal-Tan-BNps was observed by transmission electron

收稿日期: 2025-07-19

基金项目: 山西省中医药科技创新工程项目 (2023kjzy009); 山西省中央引导地方科技发展资金项目 (YDZJSX2024B014); 山西省中医药管理局科研课题 (2023ZYCY2107)

作者简介: 王改利 (1990—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为临床药学。E-mail: 13721413618@163.com

*通信作者: 崔锋 (1982—), 男, 学士, 副研究员, 研究方向为制药新技术。E-mail: CuiF1982@qq.com

microscopy (TEM), crystal form of tangeretin in Gal-Tan-BNPs was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD) and differential scanning calorimetry (DSC), drug release behavior of Gal-Tan-BNPs was studied by dialysis bag method. The uptake capacity of Gal-Tan-BNPs and tangeretin nanoparticles (Tan-Nps) by Caco-2 cells were compared. SD rats were ig administered with Gal-Tan-BNPs and Tan-Nps, their main pharmacokinetic parameters and relative bioavailability were also calculated. **Results** Optimal formulations of Gal-Tan-BNPs were as follows: PLGA to drug ratio was 9.33:1, *N*-oleoyl-*D*-galactosamine quality fraction was 0.33%, and quality fraction of poloxamer 188 was 0.81%. Encapsulation efficiency, drug loading, particle size and ζ potential of Gal-Tan-BNPs were $(84.76 \pm 1.22)\%$, $(8.04 \pm 0.11)\%$, (190.94 ± 6.60) nm and (-19.92 ± 0.97) mV, respectively. The appearance Gal-Tan-BNPs were round or oval vesicles, and tangeretin existed in an amorphous form in Gal-Tan-BNPs. The cumulative release rate of Gal-Tan-BNPs reached 77.13% in 24 h, and its release behavior accorded with Weibull model including rapid and slow-release period. Caco-2 cells exhibited superior uptake capacity of Gal-Tan-BNPs compared to Tan-Nps, and their average density value had significantly difference ($P < 0.05$). Compared with tangeretin, peak time ($t_{\max}$) of Gal-Tan-BNPs was delayed to (3.06 ± 0.75) h, half-life ($t_{1/2}$) was prolonged to (5.71 ± 1.47) h, peak contraction ($C_{\max}$) increased to $(1\ 196.44 \pm 230.89)$ ng/mL, and relative bioavailability increased to 6.43-fold. Gal-Tan-BNPs enhanced the bioavailability of tangeretin to a greater extent than that of Tan-BNPs. **Conclusion** Gal-Tan-BNPs had a higher encapsulation rate, the cumulative release rate of tangeretin *in vitro* and oral bioavailability of tangeretin *in vivo* were improved greatly, which laying the foundation for subsequent research.

Key words: tangeretin; biomimetic nanoparticles; galactose; modified; Box-Behnken design-response surface method; crystal form; pharmacokinetic; bioavailability

桔皮素 (tangeretin, Tan), 又称橘红素, 主要存在于柑橘属植物根、茎中^[1], 属于甲氧基黄酮类成分, 该成分具有抑制哮喘、抗炎、抗肿瘤、降血糖、修复肝肾损伤等药理活性^[2-3], 因此, 在肿瘤、呼吸系统、糖尿病等疾病治疗中具有临床应用价值。按 3.0 g/kg 剂量 ig 给予大鼠桔皮素, 2 周内动物生存状态仍良好, 未检测到毒性反应^[4], 由于具有良好药理活性的药物常存在较大的毒副作用, 因此桔皮素具备较大的开发价值及临床转化价值。桔皮素脂溶性良好, 但桔皮素水中溶解度仅 23.25 mg/L^[5], 严重影响了溶出度, 属于生物药剂学分类系统 II 类药物。桔皮素稳定性受 pH 值影响较大, 在胃肠道内易降解^[6], 而且受各种蛋白外排作用的影响^[7], 导致大鼠口服绝对生物利用度仅为 6.02%^[8]。增溶技术和纳米技术均可有效改善难溶性药物的生物利用度, 但纳米技术的提升幅度大于增溶技术^[9]。目前, 桔皮素已有固体脂质纳米粒^[10]、自微乳^[3]、纳米结构脂质载体^[5]等纳米制剂研究, 由于改善了溶解度、提高溶出度及比表面积, 因而促进了药物体内吸收, 但由于肠道黏液层、肠道上皮及黏膜下的固有层等生理屏障极大阻碍了纳米药物渗透、转运及吸收, 限制了生物利用度的提高幅度^[11]。

仿生纳米粒 (biomimetic nanoparticles, BNPs) 具有低免疫原性、高转运效率、良好生物相容性等特点, 有助于克服肠道黏膜的各种生理屏障, 进一步提高生物利用度^[12]。大量研究证明, 肠道上皮细

胞中 Na^+ -葡萄糖共转运体 1 (sodium-glucose cotransporter 1, SGLT1) 可特异性介导半乳糖经肠道快速吸收^[13-14], 因而在纳米粒表面修饰半乳糖制成的 BNPs 通过 SGLT1 介导的主动转运途径可获得更高的肠道通透性^[14-15], 降低肠道生理屏障对纳米药物吸收的影响, 所以对纳米药物吸收具有明显的增益作用。近年来, 针对肠道转运体 SGLT1 开展的 BNPs 研究受到高度重视^[16], 是纳米制剂新的研究方向。聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 具有理想的生物相容性和生物可降解性, 体内代谢为乳酸和羟基乙酸, 其吸收和代谢机制已经明确, 具有可靠的生物安全性。鉴于此, 本研究以 PLGA 作为载体, 采用溶剂挥发法制备半乳糖修饰的桔皮素仿生纳米粒 (galactose modified tangeretin biomimetic nanoparticles, Gal-Tan-BNPs), Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Gal-Tan-BNPs 处方, 并进行理化性质表征。以桔皮素纳米粒 (tangeretin nanoparticles, Tan-Nps) 参考, 比较 Gal-Tan-BNPs 在细胞摄取、体内药动学行为及相对生物利用度等方面的差异, 期望通过本研究为桔皮素或其他难溶性中药成分的研究、开发提供新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

HB10 型旋转蒸发仪, 艾卡 (广州) 仪器设备有限公司; 1260 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦科技

公司; CD-X15 型超声仪, 深圳市亦为实业有限公司; MSE125P-CE 型电子分析天平, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; NAI-WHC2 型磁力搅拌仪, 上海那艾实验仪器有限公司; Nano Series-2590 型激光粒度仪, 英国马尔文帕纳科公司; HDC-15K 型高速离心机, 上海泰坦科技股份有限公司; H/HWHS-00L 型恒温恒湿箱, 上海沪升仪器设备有限公司; JEM-2100 型透射电子显微镜(TEM), 日本电子株式会社; Leica confocal 118 SP5 型共聚焦显微镜, 德国徕卡公司; RCZ-8N 智能溶出试验仪, 杭州俊升科学器材有限公司; D8 Advance 型 X 射线粉末衍射仪, 德国布鲁克仪器公司; OLB-WD1000 型氮吹仪, 山东欧莱博科学仪器有限公司。

1.2 材料

桔皮素对照品, 批号 120912, 质量分数 98.6%, 四川省维克奇生物科技有限公司; 反式-1,2-二苯乙烯对照品, 批号 20240915, 质量分数 99.1%, 上海博飞美科化学科技有限公司; 桔皮素原料药, 批号 20220617, 质量分数 98.0%, 四川青益纯医药科技有限公司; *N*-油酰-*D*-半乳糖胺, 批号 20221025, 湖北威德利化学科技有限公司; 聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA), 相对分子质量为 38 000, 型号为 75:25, 德国 Evonik Industries 公司; 葡聚糖凝胶 G-50, 批号 230212, 上海研卉生物科技有限公司; 泊洛沙姆 188, 批号 WPAK524B, 德国 BASF 公司; 甘露醇, 批号 H45020272, 广西南宁化学制药责任有限公司; DiO 细胞膜绿色荧光探针(批号 C1038)、4%多聚甲醛(批号 0099)、4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI, 批号 0133), 上海碧云天生物技术股份有限公司。

1.3 细胞与动物

人结直肠癌 Caco-2 细胞株, 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; SD 大鼠, 清洁级, 雌雄各半, 体质量(200±20) g, 河南省动物实验中心提供[SCXK(豫)2020-0001], 实验通过郑州健康学院动物伦理委员会审批, 实验动物伦理编号为 202412-01。

2 方法与结果

2.1 Gal-Tan-BNps 的制备

取桔皮素原料药 30 mg, 处方量的 PLGA 置于茄形瓶中, 加入混合溶剂(丙酮-乙醇 7:3) 10 mL, 在转速为 1 000 r/min 磁力搅拌至溶解澄清, 作为有机相。取处方量的 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺和泊洛沙姆

188 溶于适量蒸馏水, 在转速为 1 000 r/min 磁力搅拌至溶解澄清, 即得水相。将有机相缓慢注入水中, 继续磁力搅拌 20 min, 在减压条件(0.07 MPa)下旋蒸除去有机溶剂, 超声 5 min, 依次过 0.80、0.45 μm 微孔滤膜, 即得 Gal-Tan-BNps 混悬液。

除不加桔皮素外, 同法制备空白纳米混悬液。

2.2 Gal-Tan-BNps 混悬液中桔皮素含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil BDS C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长为 265 nm; 进样量为 20 μL; 流动相为乙腈-0.5%乙酸水溶液(60:40); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 ℃。

2.2.2 Gal-Tan-BNps 供试品溶液的制备 精密吸取 Gal-Tan-BNps 混悬液 1 mL 至 50 mL 量瓶中, 加乙腈 40 mL, 超声 5 min, 放冷后加乙腈稀释定容, 摇匀后过 0.45 μm 微孔滤膜。取 2.5 mL 续滤液, 置于 10 mL 量瓶中, 加乙腈-0.5%乙酸水溶液(60:40), 稀释定容, 即得供试品溶液。

空白纳米混悬液供试品溶液同法制备。

2.2.3 桔皮素对照品溶液的配制 精密称取桔皮素对照品 24.80 mg 至 100 mL 量瓶中, 加 80 mL 乙腈并超声 5 min, 使之完全溶解, 放冷后加乙腈稀释定容, 即得 248.00 μg/mL 桔皮素对照品储备液, 密封置于-8 ℃冰箱中, 备用。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取桔皮素对照品储备液适量, 加乙腈稀释, 配制成质量浓度分别为 12.400、6.200、3.100、0.620、0.310、0.031 μg/mL 的系列桔皮素对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件, 进样测定各桔皮素质量浓度(*X*)的峰面积(*Y*), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得标准曲线回归方程 $Y=1\,284.30\,X+83.88$, $r=0.999\,8$, 结果表明桔皮素在 0.031~12.400 μg/mL 线性关系良好。

2.2.5 专属性考察 吸取空白纳米混悬液供试品溶液、桔皮素对照品溶液(3.100 μg/mL)和 Gal-Tan-BNps 供试品溶液, 分别进样测定, 结果见图 1, 可见辅料对桔皮素色谱峰无干扰, 专属性较高。

2.2.6 精密度考察 吸取质量浓度 12.400、3.100、0.031 μg/mL 桔皮素对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件分别连续进样检测峰面积, 结果其 RSD 分别为 0.36%、0.22%、0.37%, 结果表明该实验精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 取 Gal-Tan-BNps 供试品溶液, 分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定桔皮素峰面积, 计算其 RSD

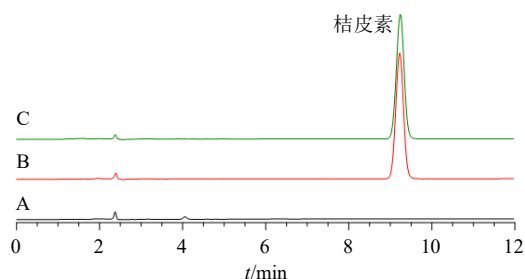


图 1 空白纳米混悬液供试品溶液 (A)、桔皮素对照品溶液 (B) 和 Gal-Tan-BNps 供试品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of blank sample (A), tangeretin reference substance (B) and Gal-Tan-BNps solution (C)

值为 0.84%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性考察 吸取同一份 Gal-Tan-BNps 混悬液，按照“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，结果桔皮素质量分数的 RSD 为 1.05%，结果表明该实验重复性良好。

2.2.9 加样回收率考察 分别精密吸取 9 份 Gal-Tan-BNps 混悬液，各 0.5 mL，分为低、中、高 3 个水平组，分别按 50%、100%、150%标示量加入桔皮素对照品，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，测定桔皮素总含量，计算其加样回收率。结果桔皮素的平均加样回收率为 100.16%，RSD 为 1.12%，结果表明该实验准确度较高。

2.2.10 样品测定 取 Gal-Tan-BNps 混悬液，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，计算桔皮素含量。

2.3 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的测定

取葡聚糖凝胶 G-50 粉末，加入纯化水，室温中静置 6 h 使之充分溶胀，装柱后备用。滴加 Gal-Tan-BNps 混悬液 0.2 mL，3 000 r/min 离心（离心半径 6.8 cm）30 s。继续滴加纯化水 0.2 mL 进行洗脱，重复洗脱 4 次，用 10 mL 量瓶收集洗脱液，加入 5 mL 混合溶剂（丙酮-乙醇 7：3），超声 10 min 后稀释定容，按照“2.2.1”项下色谱条件测定被包封进纳米粒中的桔皮素的质量 ($M_{\text{包封}}$)。另取 1 份同法制备的 Gal-Tan-BNps 混悬液，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并按照“2.2.1”项下色谱条件测定 Gal-Tan-BNps 中桔皮素总量 ($M_{\text{总量}}$)，计算包封率。再取 1 份同法制备的 Gal-Tan-BNps 混悬液，直接冻干，称定质量 (W_0)，计算载药量。

$$\text{包封率} = M_{\text{包封}} / M_{\text{总量}}$$

$$\text{载药量} = M_{\text{包封}} / W_0$$

取 Gal-Tan-BNps 混悬液适量，使用纯化水稀释 30 倍，置于比色皿中，测定其粒径和分散指数 (polydispersity index, PDI)。另取稀释后的 Gal-Tan-BNps 混悬液适量，置于电槽中，测定 ζ 电位。各个样品均测试 3 次，取平均值。

2.4 单因素考察 Gal-Tan-BNps 处方及工艺

2.4.1 PLGA 与药物用量比的考察 固定 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.03%、泊洛沙姆 188 质量分数为 0.80%、水相与有机相比比例为 5：1 的条件下，考察 PLGA 与药物用量比对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响，结果见表 1。Gal-Tan-BNps 包封率随着 PLGA 与药物用量比的增加而增加，当用量比大于 10：1 时，包封率增加趋势渐缓，而载药量呈下降趋势。Gal-Tan-BNps 粒径随着 PLGA 与药物用量比的增加呈先变小后增大趋势，可能是 PLGA 用量比例较小时，药物易附着在 Gal-Tan-BNps 表面^[16]，故粒径较大；PLGA 用量比例较大时，体系黏度较大，Gal-Tan-BNps 之间易发生粘连^[5]，导致粒径增大，因此，PLGA 与药物用量比对 Gal-Tan-BNps 影响较大。《中国药典》2025 年版四部 9014 项下规定微粒制剂包封率不得低于 80%，由于用量比为 10：1 时，Gal-Tan-BNps 包封率符合要求，为兼顾 Gal-Tan-BNps 载药量和粒径，故后续以 PLGA 与药物用量比 10：1 为中心对 8：1～12：1 区间继续优化。

表 1 PLGA 与药物用量比对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effects of PLGA to drug dosage ratio on encapsulation rate, drug loading and particle size of Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

PLGA 与药物用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
6：1	58.92±2.01	8.16±0.11	229.70±4.12
8：1	71.12±1.97	7.67±0.14	197.46±6.37
10：1	82.46±0.68	7.34±0.07	187.54±4.03
12：1	83.31±1.12	6.16±0.08	201.10±5.90
14：1	83.50±2.23	5.49±0.12	214.59±7.53

2.4.2 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数的考察 固定 PLGA 与药物用量比 10：1、泊洛沙姆 188 质量分数为 0.80%、水相与有机相比比例为 5：1 的条件下，考察 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响，结果见表 2。随着 *N*-

表 2 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of <i>N</i> -oleoyl- <i>D</i> -galactosamine quality fraction on encapsulation rate, drug loading and particle size of Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
<i>N</i> -油酰- <i>D</i> -半乳糖胺质量分数/%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.01	69.75±1.44	6.27±0.06	232.79±9.92
0.02	73.99±1.32	6.69±0.06	205.23±5.58
0.03	83.68±0.91	7.62±0.09	187.62±4.69
0.04	78.95±1.10	6.92±0.10	185.44±7.15
0.05	74.68±0.84	6.84±0.11	178.95±4.00

油酰-*D*-半乳糖胺质量分数的增加, Gal-Tan-BNps 包封率和载药量均先增加后下降趋势, 可能由于 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺是一种表面活性剂^[16], 适当增加 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺浓度利于降低表面张力, 有利于形成 Gal-Tan-BNps, 且半乳糖基团提供的空间位阻也利于阻止药物泄漏, 从而使包封率和载药量增加; *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数过大时, 半乳糖基团的空间排除效应导致 Gal-Tan-BNps 稳定性下降, 进而影响包封率和载药量。随着 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数的增加, Gal-Tan-BNps 粒径呈逐渐下降趋势, 因此, *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量对 Gal-Tan-BNps 影响较大。 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.03% 时, Gal-Tan-BNps 包封率大于 80%, 载药量相对较大, 且粒径相对较小, 故以质量分数 0.03% 为中心对 0.02%~0.04% 区间继续优化。

2.4.3 泊洛沙姆 188 质量分数的考察 固定 PLGA 与药物用量比 10 : 1、*N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.03%、水相与有机相比比例为 5 : 1 的条件下, 分别考察泊洛沙姆 188 质量分数对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响, 结果见表 3。 Gal-Tan-

表 3 泊洛沙姆 188 质量分数对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of poloxamer 188 quality fraction on encapsulation rate, drug loading and particle size of Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
泊洛沙姆 188 质量分数/%	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.40	43.82±1.61	4.07±0.05	255.91±5.45
0.60	72.70±1.85	6.26±0.07	235.86±3.69
0.80	82.18±1.78	7.56±0.08	182.66±4.23
1.00	76.93±1.54	7.04±0.06	174.38±3.82
1.20	73.96±1.84	6.66±0.08	171.96±3.42

BNps 包封率和载药量, 随着洛沙姆 188 质量分数的增加, 呈现先增加后下降趋势, 说明一定浓度的表面活性剂有利于 Gal-Tan-BNps 的形成及载药^[17-18], 但洛沙姆 188 质量分数大于 0.80% 时, 包封率和载药量逐渐下降, 这可能是洛沙姆 188 浓度过大时易从 Gal-Tan-BNps 脱离, 从而在水相中形成胶束^[7], 而胶束对药物具有显著的增溶作用, 从而使其包封率和载药量下降。 Gal-Tan-BNps 粒径随着泊洛沙姆 188 质量分数增加而变小, 因此, 泊洛沙姆 188 质量分数对 Gal-Tan-BNps 影响较大。泊洛沙姆 188 质量分数为 0.80% 时, Gal-Tan-BNps 包封率大于 80%, 载药量相对较大, 且粒径相对较小, 故以质量分数 0.80% 为中心对 0.60%~1.00% 区间继续优化。

2.4.4 水相与有机相比比例的考察 固定 PLGA 与药物用量比 10 : 1、*N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.03%、洛沙姆 188 质量分数 0.80% 的条件下, 分别考察水相与有机相比比例对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响, 结果见表 4。 Gal-Tan-BNps 包封率和载药量, 随着水相与有机相比比例呈先增加后下降趋势, 可能是水相体积较小时不利于药物与 PLGA 材料在水相中自组装形成 Gal-Tan-BNps^[16]; 水相体积较大时会容纳更多的药物^[10], 进而影响 Gal-Tan-BNps 载药效率。 Gal-Tan-BNps 粒径随着水相与有机相比比例增加而下降, 可能是水相体积较大时降低了 Gal-Tan-BNps 之间的粘连几率^[5,13], 有利于降低粒径。水相与有机相比比例为 5 : 1 和 6 : 1 时, Gal-Tan-BNps 包封率、载药量和粒径均较为接近, 为便于后续冻干粉制备故选择水相与有机相比比例为 5 : 1。

2.5 BBD-RSM 优化 Gal-Tan-BNps 处方
2.5.1 试验方案 选择 PLGA 与药物用量比 (X_1)、

表 4 水相与有机相比比例对 Gal-Tan-BNps 包封率、载药量及粒径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of water phase to organic phase ratio on encapsulation rate, drug loading and particle size of Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
水相与有机相比比例	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
3 : 1	46.17±0.92	4.13±0.06	248.62±5.00
4 : 1	75.01±1.63	6.93±0.17	214.33±4.63
5 : 1	82.49±1.01	7.58±0.06	180.25±3.33
6 : 1	83.41±1.52	7.56±0.07	178.44±3.46
7 : 1	77.20±1.61	7.19±0.03	170.33±7.15

N-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数 (X_2) 和泊洛沙姆 188 质量分数 (X_3) 对 Gal-Tan-BNps 影响较大, X_1 、 X_2 、 X_3 水平设置见表 5, 低、中、高水平分别以 -1、0、+1 表示。包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2) 和粒径 (Y_3) 影响着纳米制剂的安全性、有效性, 故将 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 作为 Gal-Tan-BNps 因变量。为总体评价 Gal-Tan-BNps 质量, 采用 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 的总评归一值 (overall desirability, OD) 作为 BBD-RSM 的响应值, 并以 OD 值最大值作为优化目标。OD 值计算过程分为 3 步, 即①使用公式 $d_{\max} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$ 计算包封率和载药量; ②使用公式 $d_{\min} = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$ 计算 Gal-Tan-BNps 粒径, 式中 $M_{\max}$ 、 $M_{\min}$ 和 M_i 分别为最大值、最小值和实测值; ③包封率、载药量和粒径权重系数相同, 使用公式 $OD = (d_{\text{包封率}} d_{\text{载药量}} d_{\text{粒径}})^{1/3}$ 进行计算, 实验安排及结果见表 5。

表 5 BBD-RSM 试验设计及结果 ($n = 3$)

Table 5 Experimental design and results of BBD-RSM ($n = 3$)

序号	X_1	$X_2/\%$	$X_3/\%$	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/nm	OD
1	12 : 1 (+1)	0.3 (0)	0.6 (-1)	78.21	5.93	210.44	0.000
2	10 : 1 (0)	0.4 (+1)	1.0 (+1)	71.52	6.41	174.67	0.000
3	10 : 1	0.3	0.8 (0)	84.13	7.65	184.24	0.835
4	8 : 1 (-1)	0.3	1.0	77.79	8.56	228.14	0.400
5	10 : 1	0.2 (-1)	1.0	78.32	7.02	198.07	0.524
6	10 : 1	0.2	0.6	75.60	6.82	234.65	0.000
7	12 : 1	0.2	0.8	78.23	6.05	207.22	0.211
8	8 : 1	0.4	0.8	73.67	8.17	189.87	0.486
9	12 : 1	0.3	1.0	80.51	6.12	204.48	0.301
10	10 : 1	0.4	0.6	78.83	7.13	217.69	0.429
11	12 : 1	0.4	0.8	78.96	5.96	206.25	0.150
12	10 : 1	0.3	0.8	82.22	7.42	177.36	0.786
13	8 : 1	0.3	0.6	75.43	8.33	214.64	0.464
14	10 : 1	0.3	0.8	83.78	7.64	183.71	0.828
15	10 : 1	0.3	0.8	83.45	7.57	181.08	0.822
16	8 : 1	0.2	0.8	75.11	8.34	206.95	0.503
17	10 : 1	0.3	0.8	84.53	7.68	186.68	0.834

2.5.2 模型的建立以及分析 OD 值拟合方程为 $Y = 0.82 - 0.15 X_1 - 0.02 X_2 + 0.04 X_3 + 0.22 X_1 X_2 - 0.01 X_1 X_3 + 0.09 X_2 X_3 - 0.22 X_1^2 - 0.27 X_2^2 - 0.31 X_3^2$ 。该方程的 R^2 和 R_{adj}^2 分别为 0.996 8 和 0.992 7, 均大于 0.99, 说明实测值与模型预测值之间非常接近。模型 $P < 0.000 1$, 说明建立的数学模型指导意义强。模型的失拟项 F 值 = 0.195 3 ($P > 0.05$), 无显著性差异, 说明干扰因素对模型预测结果的影响可忽略。方差分析见表 6, 其中, X_2 具显著性差异 ($P < 0.05$), X_3 、 $X_1 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 均具极显著性差异 ($P < 0.01$)。

表 6 OD 值方差分析

Table 6 Variance analysis of OD value

误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.47	9	0.16	241.46	<0.000 1
X_1	0.18	1	0.18	261.07	<0.000 1
X_2	3.76×10^{-3}	1	3.76×10^{-3}	5.57	0.049 2
X_3	0.01	1	0.01	20.39	0.002 7
$X_1 X_2$	4.77×10^{-4}	1	4.77×10^{-4}	0.70	0.429 6
$X_1 X_3$	0.03	1	0.03	49.16	0.000 2
$X_2 X_3$	0.23	1	0.23	334.96	<0.000 1
X_1^2	0.20	1	0.20	287.74	<0.000 1
X_2^2	0.30	1	0.30	446.66	<0.000 1
X_3^2	0.42	1	0.42	613.43	<0.000 1
残差	4.75×10^{-3}	7	6.79×10^{-4}		
失拟项	3.11×10^{-3}	3	1.04×10^{-3}	2.53	0.195 3
纯偏差	1.64×10^{-3}	4	4.10×10^{-4}		
总离差	1.48	16			

2.5.3 效应面优化与最佳处方 采用 Design Expert V13.0 绘制 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 对 OD 值三维曲面图, 随着任意 2 因素的增加, Gal-Tan-BNps 的 OD 值均呈现先增大后减小趋势, 呈抛物线形态, 结果见图 2。Gal-Tan-BNps 的 OD 值存在最高点, 以 OD 值的最大值作为优化目标, 得 Gal-Tan-BNps 最佳处方: PLGA 与药物用量比为 9.33 : 1, *N*-油酰-*D*-半乳糖胺质量分数为 0.33%, 泊洛沙姆 188 质量分数为 0.81%, 预测 OD 最大值为 0.867。

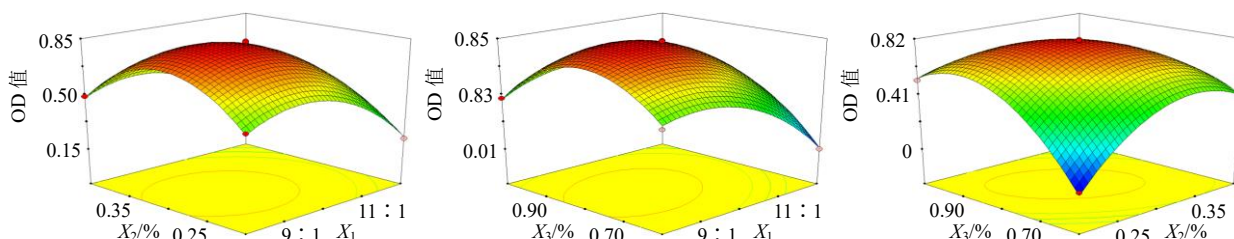


图 2 影响因素对 OD 值的响应面图

Fig. 2 Response surface of influence factors on OD value

2.5.4 处方验证及 OD 值相对偏差的计算 按最优处方平行制备 3 批 Gal-Tan-BNps 混悬液, 各个指标测得结果见表 7, 3 批样品的平均包封率为 $(84.76 \pm 1.22)\%$, 平均载药量为 $(8.04 \pm 0.11)\%$, 平均粒径为 (190.94 ± 6.60) nm。

按照“2.5.1”项下方法计算得到实际 OD 值为 0.863。则 OD 值相对偏差 = (实测 OD 值 - 预测 OD 值) / 预测 OD 值, 根据预测 OD 值 (0.867), 计算得实测 OD 值相对偏差仅 -0.46%, 说明数学模型指导意义强。

表 7 验证试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Results of verification test ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

批次	包封率/%	载药量/%	粒径/%
1	85.97 ± 0.94	7.91 ± 0.06	185.25 ± 5.16
2	83.53 ± 1.17	8.12 ± 0.11	198.17 ± 6.74
3	84.77 ± 1.13	8.08 ± 0.09	189.41 ± 4.89

2.6 Tan-Nps 的制备及与 Gal-Tan-BNps 各项指标比较

2.6.1 Tan-Nps 的制备 用泊洛沙姆 188 代替 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺, 其余均参考 Gal-Tan-BNps 处方工艺制备 Tan-Nps 混悬液, 依次过 0.80、0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.6.2 各项指标的比较 各项指标见表 8, Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps 各项指标存在较大差异。Gal-Tan-BNps 包封率和载药量均高于 Tan-Nps, 粒径和 PDI 值大于 Tan-Nps, ζ 电位绝对值小于 Tan-Nps, 可能导致 Gal-Tan-BNps 混悬液的稳定性低于 Tan-Nps 混悬液。Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps 粒径分布情况及 ζ 电位见图 3。

2.7 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 微观形貌

Tan-Nps 混悬液 0.1 mL 置于离心管中, 加入 5 mL 蒸馏水, 摇匀。取适量滴至铜网上, 滴入 2% 磷钨酸钠染色, 摇晃使之铺展, 晾干, 于透射电子显微镜上观察形貌。取 Gal-Tan-BNps 混悬液 0.1 mL 同法操作, 结果见图 4。Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 形貌均呈圆形或椭圆形。

表 8 Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps 各项指标比较结果

($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Every indicator comparison result of Gal-Tan-BNps and Tan-Nps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	包封率/%	载药量/%	粒径/%	PDI	ζ 电位/mV
Tan-Nps	80.37 ± 1.06	7.72 ± 0.12	176.70 ± 5.04	0.109 ± 0.008	-23.46 ± 1.13
Gal-Tan-BNps	84.16 ± 0.84	8.03 ± 0.09	192.32 ± 4.78	0.132 ± 0.012	-19.92 ± 0.97

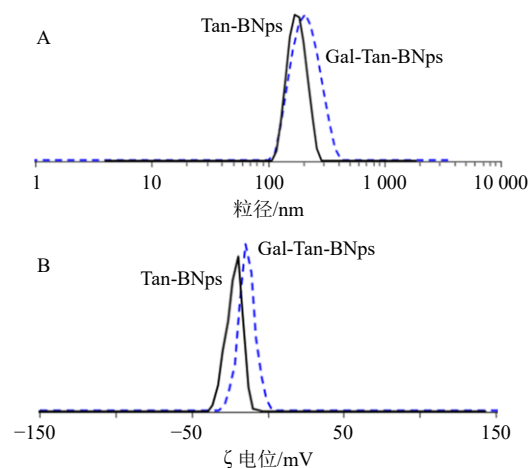


图 3 Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps 的粒径分布 (A) 和 ζ 电位 (B)

Fig. 3 Particle size distribution (A) and ζ potential (B) of Gal-Tan-BNps and Tan-Nps

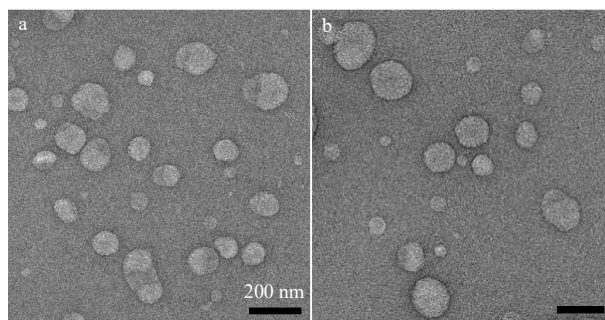


图 4 Tan-Nps (a) 和 Gal-Tan-BNps (b) 的 TEM 图

Fig. 4 TEM of Tan-Nps (a) and Gal-Tan-BNps (b)

2.8 仪器分析

2.8.1 X 射线粉末衍射 (X-ray powder diffraction, XRPD) 分析 分别取 Tan-Nps 混悬液、Gal-Tan-BNps 混悬液和空白纳米粒 (不含桔皮素) 混悬液直接冻干 (均不加冻干保护剂)。扫描参数: 步长为 0.02°, 扫描速率为 4°/min, 角度 (2θ) 为 3°~45°, Cu-Kα 靶。分别取桔皮素、空白纳米粒粉末、物理混合物 (桔皮素与辅料比例同 Gal-Tan-BNps 粉末, 仅作简单混合)、Tan-Nps 粉末和 Gal-Tan-BNps 粉末适量, 分别进行 XRPD 扫描, 结果见图 5。桔皮素在 7.7°、9.2°、12.2°、14.6°、27.7°、29.4° 等处出现特征晶型衍射峰, 这些衍射峰在物理混合物中仍出现, 说明药物与辅料简单混合后形成的物理混合物未能诱导桔皮素晶型变化。Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 粉末的 XRPD 图谱中桔皮素特征晶型峰均消失, 说明桔皮素晶型可能发生改变。

2.8.2 差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 分析 取“2.8.1”项下各个样品

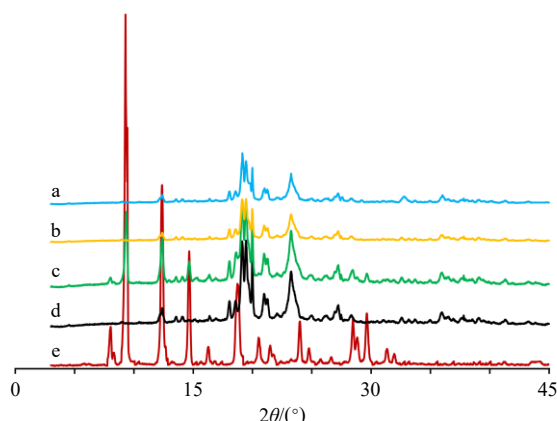


图 5 Gal-Tan-BNPs (a)、Tan-Nps (b)、物理混合物 (c)、空白纳米混悬液 (d)、桔皮素原料药 (e) 的 XRPD 结果
Fig. 5 XRPD results of Gal-Tan-BNPs (a), Tan-Nps (b), physical mixture (c), blank nanosuspension (d), and hesperidin bulk drug (e)

粉末，置于铝盘中，压制后待测。DSC 测试条件：保护气为氮气，扫描范围 25~350 °C，加热速率 10 °C/min。结果见图 6，桔皮素在 160.6 °C 出现熔点峰，但在物理混合物中桔皮素熔点峰提前至 146.9 °C，可能是物理混合物中 PLGA 熔点较低，加热温度逐渐升高时，PLGA 先行熔融成高温液体，进而使桔皮素熔点峰提前。Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 粉末的 DSC 图谱与物理混合物的 DSC 图谱有很大差别，推测桔皮素在 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 中存在形式均发生了改变。

2.8.3 傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 分析 分别取桔皮素原料药、PLGA、*N*-油酰-*D*-半乳糖胺、物理混合物 (桔皮素与辅料比例同 Gal-Tan-BNps 粉末，仅作简

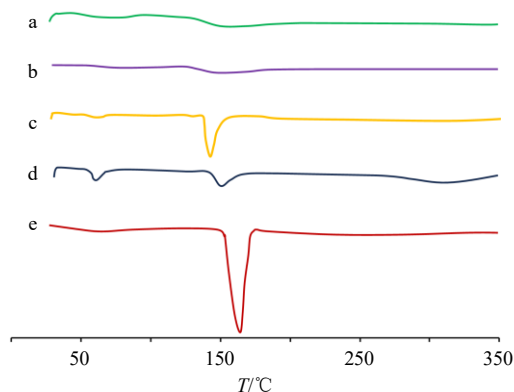


图 6 Gal-Tan-BNPs (a)、Tan-Nps (b)、物理混合物 (c)、空白纳米混悬液 (d)、桔皮素原料药 (e) 的 DSC 结果
Fig. 6 DSC results of Gal-Tan-BNPs (a), Tan-Nps (b), physical mixture (c), blank nanosuspension (d), and hesperidin bulk drug (e)

单混合)、Tan-Nps 粉末和 Gal-Tan-BNps 粉末适量，按质量比 1:100 加入溴化钾研磨成细粉，压片测试。测试条件：空扫 2 次，分辨率为 4.0 cm⁻¹，样品扫描次数为 16 次，光阑为 100.0。结果见图 7。桔皮素 FT-IR 图谱中，2 800~3 000 cm⁻¹ 处属于 C-H 键的伸缩振动峰，1 652 cm⁻¹ 处属于羰基伸缩振动峰。*N*-油酰-*D*-半乳糖胺在 3 100~3 500 cm⁻¹ 处出现属于 N-H 键的伸缩振动峰。在 Tan-Nps 的 FT-IR 图谱中可见桔皮素特征吸收振动峰，但未见 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺 N-H 键的特征伸缩振动峰；而在 Gal-Tan-BNps 的 FT-IR 图谱中，除了桔皮素特征吸收振动峰外还可观察到 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺的 N-H 键特征伸缩振动峰，推测 Gal-Tan-BNps 表面覆盖半乳糖修饰基团。此外，Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 粉末的 FT-IR 结果还表明桔皮素和载体 PLGA 之间并无明显的分子间相互作用。

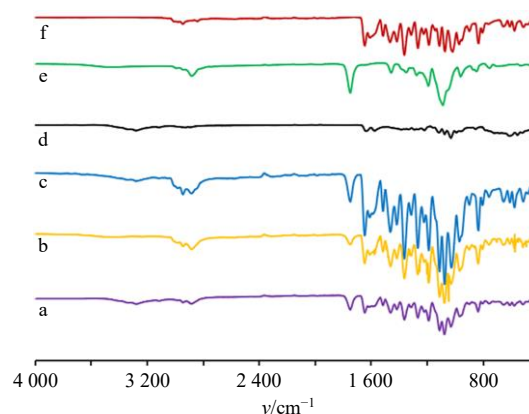


图 7 Gal-Tan-BNPs (a)、Tan-Nps (b)、物理混合物 (c)、*N*-油酰-*D*-半乳糖胺 (d)、PLGA (e)、桔皮素原料药 (f) 的 FT-IR 结果

Fig. 7 FT-IR results of Gal-Tan-BNPs (a), Tan-Nps (b), physical mixture (c), *N*-oleoyl-*D*-galactosamine (d), PLGA (e), and hesperidin bulk drug (f)

2.9 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉制备

取 Tan-Nps 混悬液，精密量定体积，加入甘露醇适量，使最终质量分数为 4%，溶解后轻轻摇匀，按 2 mL/瓶分装至西林瓶中。冻干过程分为预冻和升华干燥阶段，总冻干时间为 48 h，按冻干程序 (0~2 h, 0~-35 °C; 2~12 h, -35 °C; 12~14 h, -35~-30 °C; 14~16 h, -30~-20 °C; 16~24 h, -20 °C; 24~30 h, -20~-10 °C; 30~36 h, -10~25 °C; 36~48 h, 25 °C) 进行冻干，得到 Tan-Nps 冻干粉，密封，同法制备 Gal-Tan-BNps 冻干粉。

冻干前、后样品外观见图 8，Tan-Nps 和 Gal-Tan-

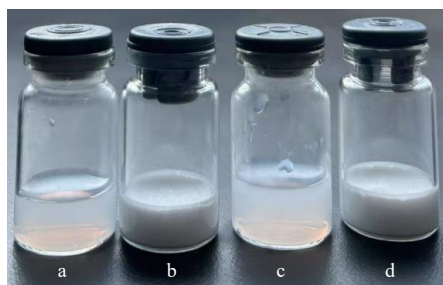


图 8 Tan-Nps (a) 及其冻干粉 (b) 和 Gal-Tan-BNps (c) 及其冻干粉 (d) 的外观

Fig. 8 Appearance of Tan-Nps (a) and its lyophilized powder (b), Gal-Tan-BNps (c) and its lyophilized powder (d) BNps 混悬液略带乳光, 冻干粉外观均呈饱满状态。Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉复溶后测定各项指标, 结果见表 9。与冻干前 (表 8) 相比, Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉的包封率均有所下降, 但 Gal-Tan-BNps 冻干粉包封率仍大于 80%, 符合《中国药典》2025 年版四部 9014 项下对微粒制剂包封率的要求 (大于 80%)。

另外, Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉粒径有所增加, 但均小于 200 nm; PDI 值有所增加, 但仍小于 0.3, 表明粒径均一性仍良好。

2.10 体外释药行为及模型拟合

取桔皮素原料药 20 mg, 分散于 5 mL 的 pH 2.0

表 9 Gal-Tan-BNps 和 Tan-Nps 冻干粉复溶后各项指标比较结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Every indicator comparison result of Gal-Tan-BNps and Tan-Nps lyophilized powder after redissolved by water ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	包封率/%	粒径/%	PDI	ζ 电位/mV
Tan-Nps 冻干粉	77.43 $\pm$ 1.13	188.96 $\pm$ 6.14	0.128 $\pm$ 0.010	-20.71 $\pm$ 0.86
Gal-Tan-BNps 冻干粉	82.10 $\pm$ 1.04	198.50 $\pm$ 5.08	0.144 $\pm$ 0.014	-18.58 $\pm$ 0.56

表 10 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 释药模型拟合结果

Table 10 Drug release model fitting results of Tan-Nps and Gal-Tan-BNps

模型	拟合方程	
	Tan-Nps	Gal-Tan-BNps
一级模型	$\ln(1-M_t/M_\infty) = -0.0783t - 0.3096, R^2 = 0.9201$	$\ln(1-M_t/M_\infty) = -0.0582t - 0.2337, R^2 = 0.9115$
Higuchi 模型	$M_t/M_\infty = 0.1771t^{1/2} + 0.1006, R^2 = 0.9274$	$M_t/M_\infty = 0.1628t^{1/2} + 0.0554, R^2 = 0.9463$
Weibull 模型	$\ln[-\ln(1-M_t/M_\infty)] = 0.6343 \ln t - 1.2300, R^2 = 0.9856$	$\ln[-\ln(1-M_t/M_\infty)] = 0.6624 \ln t - 1.5820, R^2 = 0.9740$

M_∞ 和 M_t 分别为 ∞ 和 t 时间的累积释放度, M_t/M_∞ 为 t 时间累积释放百分率。

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

2.11 细胞内化研究

2.11.1 DiO 标记 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 的制备 取桔皮素原料药 30 mg, 按照 PLGA 与药物用量比

磷酸盐缓冲液 (PBS), 转移至透析袋 (截留相对分子质量 10 000) 中, 尼龙绳扎紧两端, 置于转篮中。采用体积为 1.0 L、温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 pH 2.0 PBS 作为介质, 溶出仪转速为 75 r/min, 分别于 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 h 取样, 并补加同体积 pH 2.0 PBS。3 h 时间点完成取样后, 立即将释药介质更换为 pH 6.8 PBS, 并于 4、6、8、12、18、24 h 取样, 补加同体积 pH 7.4 PBS 8 500 r/min 转速下, 将样品离心 (离心半径 6.8 cm) 5 min, 测定桔皮素含量。同法考察 Tan-Nps 冻干粉和 Gal-Tan-BNps 冻干粉释药行为, 结果见图 9。桔皮素原料药由于溶解度差、粒度大等原因导致累积释放率仅 23.71%^[9]。Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 在 0~4 h 释药相对较快, 属于快速释药期; 4~24 h 属于缓慢释药期, 累积释放率分别为 86.09% 和 77.13%, 结果表明, Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 极大提高了桔皮素累积释放率。释药模型拟合结果见表 10, Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 释药过程与 Weibull 模型拟合度最高, 说明均表现出典型的双相释药行为。

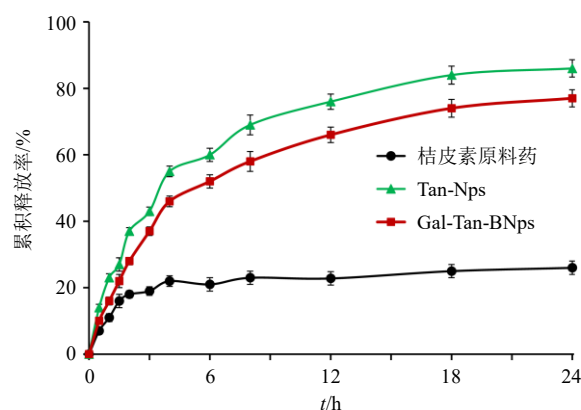


图 9 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 释药曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 9 Drug release profiles of Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

9.33 : 1 称取 PLGA, DiO 荧光探针 3.0 mg, 一同置于茄形瓶中, 加入混合溶剂 (丙酮-乙醇 7 : 3) 10 mL, 在转速为 1 000 r/min 磁力搅拌至溶解澄清,

作为有机相。取适量 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺和泊洛沙姆 188 置于 50 mL 水相,使两者质量分数分别为 0.33%和 0.81%,1 000 r/min 转速下磁力搅拌至溶解澄清,作为水相。将有机相缓慢注入水相中,继续磁力搅拌 20 min,在减压(0.07 MPa)条件下旋蒸除去有机溶剂,超声 5 min,依次过 0.80、0.45 μm 微孔滤膜,采用葡聚糖凝胶 G-50 除去游离的 DiO,即得 DiO 标记的 Gal-Tan-BNps。

用泊洛沙姆 188 代替 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺,其余均参考 DiO 标记的 Gal-Tan-BNps 处方工艺来制备 DiO 标记的 Tan-Nps。

2.11.2 实验过程 取处在对数生长期的 Caco-2 细胞,用胰蛋白酶中消化,用预冷 pH 7.4 的 PBS 溶液洗涤,置于高速离心机中以 10 000 r/min 离心 5 min 得细胞悬液。取细胞悬液以每孔 2×10^5 接种在 6 孔板,置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养培养箱中过夜。弃去培养液,加入含 DiO 标记的 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 的培养液(DiO 终质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$),置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中 6 h。弃去培养液,用预冷 pH 7.4 的 PBS 溶液洗涤 3 次,除去未进入 Caco-2 细胞的药物,加入 4%多聚甲醛固定 15 min。用预冷 pH 7.4 的 PBS 溶液洗涤 3 次,用 DAPI 对细

胞核染色 15 min,再用预冷 pH 7.4 的 PBS 溶液洗涤 3 次,以去除多余 DAPI,封片,使用共聚焦激光扫描显微镜进行观察。另设置对照组(pH 7.4 的 PBS 溶液),同法进行观察。

2.11.3 细胞内化及荧光平均吸光度 (average absorbance, A_a) 值考察结果 荧光显微镜观察结果见图 10,绿色荧光越强代表 Caco-2 细胞摄取率越高,细胞内化能力越强。对照组无绿色荧光, Tan-Nps 对 Caco-2 细胞具有一定的侵染能力,在细胞周围及内部出现绿色荧光。Gal-Tan-BNps 荧光强度明显强于 Tan-Nps,说明 Gal-Tan-BNps 比 Tan-Nps 具有更强的细胞内化能力。这是因为 Caco-2 细胞中 SGLT1 可介导半乳糖修饰的 Gal-Tan-BNps 快速进入细胞内部,进一步增加了药物摄取率^[19],有利于提高口服吸收程度。荧光 A_a 值分析方法:每组内每张切片随机挑选至少 3 个 200 倍视野进行拍照,使组织充满视野,保证背景光一致,应用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行分析,得出累积吸光度(cumulative absorbance, A_c)值和组织像素面积(tissue pixel area, TPA), $A_a = A_c / \text{TPA}$ 。结果显示, Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 的 A_a 分别为 0.011 ± 0.002 和 0.019 ± 0.004 ,且两者之间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

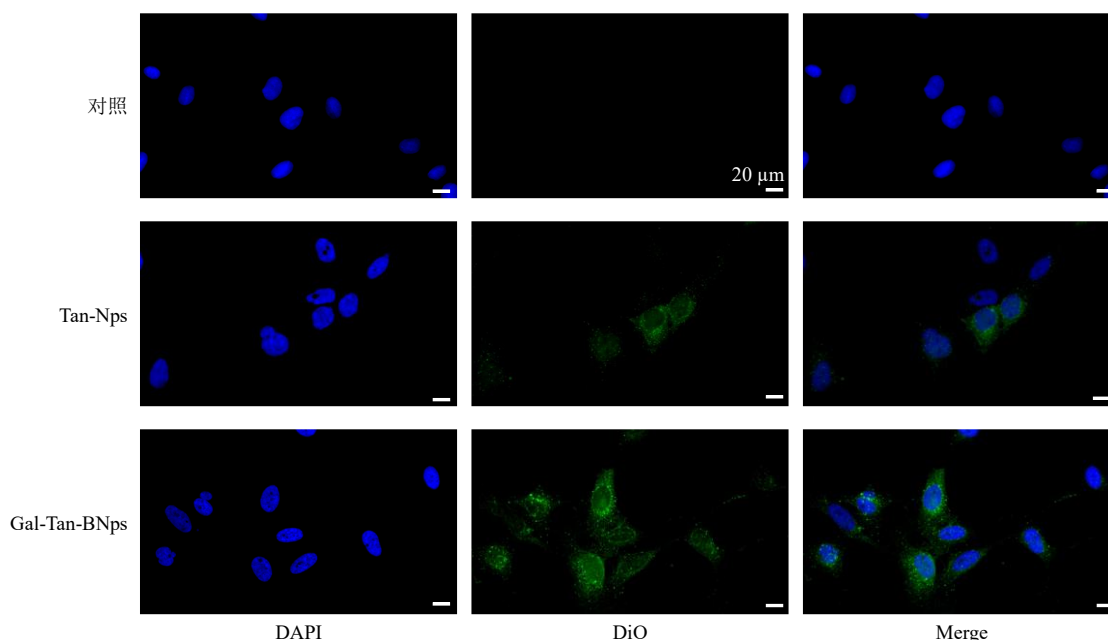


图 10 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 与 Caco-2 细胞孵育后的荧光显微镜图像

Fig.10 Fluorescence microscope images of Tan-Nps and Gal-Tan-BNps after incubation with Caco-2 cells

2.12 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉稳定性考察

取新制备的 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉,充氮气后密封于西林瓶中,置于 30 $^\circ\text{C}$ 、60%恒温恒

湿箱中,分别于 0、1、2、3、6 个月取样,分别测定包封率、载药量和粒径。结果见表 11,第 6 个月时, Tan-Nps 冻干粉包封率低于 80%,达不到《中国

表 11 Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 冻干粉稳定性结果
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Stability results of Tan-Nps and Gal-Tan-BNps freeze-dried powder ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

月/日	Tan-Nps 冻干粉			Gal-Tan-BNps 冻干粉		
	密封率/%	载药量/%	粒径/nm	密封率/%	载药量/%	粒径/nm
0	77.51±0.52	7.49±0.05	205.28±5.22	83.25±1.28	7.87±0.12	202.44±5.09
1	77.68±0.60	7.43±0.06	206.64±7.70	83.11±1.06	7.88±0.10	209.98±3.85
2	76.54±1.06	7.33±0.06	214.24±4.15	81.96±1.22	7.72±0.07	215.47±5.41
3	76.42±1.28	7.35±0.09	222.30±4.96	81.69±1.29	7.70±0.06	218.16±5.25
6	73.35±0.90	6.87±0.04	236.25±3.84	80.56±0.74	7.65±0.09	223.26±3.96

药典》2025 年版四部 9014 项下对微粒制剂密封率大于 80%的要求;而 Gal-Tan-BNps 冻干粉密封率可满足相关要求。Gal-Tan-BNps 载药量下降幅度和粒径增长幅度均小于 Tan-Nps 冻干粉,可能是由于 Tan-BNps 处方中的泊洛沙姆 188 具有较强的增溶作用,易引起 Tan-BNps 浅表层药物进入水相,同时在浓度梯度驱使下 Tan-BNps 内部药物向浅表层扩散,最终导致 Tan-BNps 药物分布发生较大改变及稳定性下降。Gal-Tan-BNps 处方中引入适量的 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺,降低了泊洛沙姆 188 对 Gal-Tan-BNps 结构及稳定性的影响,因此, Gal-Tan-BNps 更具备研究价值。

2.13 口服药动力学研究

2.13.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil BDS C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长为 265 nm; 进样量为 20 μL; 流动相为乙腈-0.5%乙酸水溶液 (42:58); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 30 ℃。

2.13.2 ig 溶液的配制及试验方案 禁食过夜的 18 只 SD 大鼠,随机分为桔皮素组、Tan-Nps 冻干粉组和 Gal-Tan-BNps 冻干粉组,每组含雌、雄各 3 只,共 6 只。采用 0.5% CMC-Na 溶液配制 ig 液,ig 剂量以桔皮素计均为 50 mg/kg。ig 后分别于 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h 采用乙醚麻醉法进行麻醉,使用肝素浸润的玻璃毛细管于眼眶后静脉丛采血约 0.2 mL,立即覆以棉球止血,将血样于 3 000 r/min 转速下离心 (离心半径 6.4 cm) 3 min,取上层血浆,冷冻保存。

2.13.3 血浆样品的处理 精密称取反式-1,2-二苯乙烯对照品,采用甲醇稀释配制成质量浓度为 600 ng/mL,作为内标溶液。取醋酸乙酯 1 mL,置于离心管中,分别精密加入 100 μL 血浆样品和 100 μL 内标溶液,涡旋 60 s,于 12 500 r/min 高速下离心

(离心半径 6.8 cm) 5 min,使蛋白等杂质沉淀下去。取上清液于 37 ℃氮吹仪中吹干,加入 100 μL 甲醇涡旋 60 s,复溶后再次 12 500 r/min 离心 (离心半径 6.8 cm) 5 min,得到含反式-1,2-二苯乙烯内标的血浆样品溶液。

2.13.4 标准曲线及线性关系考察 取健康 SD 大鼠,按 0.005 mL/g 剂量注射 1%戊巴比妥钠溶液,麻醉后心脏取血,置于肝素浸润的离心管中,置于离心机中,以 3 000 r/min 离心 (离心半径 6.4 cm) 3 min,即得空白血浆。采用空白血浆配制桔皮素质量浓度分别为 1 600、800、400、100、50、25 ng/mL 的血浆样品,按照“2.13.3”项下方法处理得到血浆对照品溶液,按照“2.13.1”项下方法测定。以桔皮素和反式-1,2-二苯乙烯的峰面积比为纵坐标 (*Y*),桔皮素质量分数为横坐标 (*X*),进行线性回归,得回归方程为 $Y=0.0017X+0.0645$, $r=0.9980$,结果表明桔皮素线性范围为 25~1 600 ng/mL。

2.13.5 专属性考察 取空白血浆样品,按照“2.13.3”项下方法处理得到空白血浆溶液,另取桔皮素血浆对照品 (25 ng/mL) 和血浆样品溶液 (桔皮素给药 12 h),分别按照“2.13.1”项下色谱条件进样测定。色谱图见图 11,桔皮素色谱峰未受杂质干扰,表明该方法专属性高。

2.13.6 稳定性试验 取血浆样品溶液,分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样测定,结果桔皮素和反式-1,2-二苯乙烯峰面积比的 RSD 为 5.57%,结果表明血浆样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.13.7 精密度试验 取质量浓度为 25、400、1 600 ng/mL 的质控样品分别作为低、中、高水平,分别测定 6 次,测得桔皮素和反式-1,2-二苯乙烯峰面积比的 RSD 值分别为 6.18%、5.06%、1.87%;连续测试 6 d,每天测试 1 次,测得桔皮素和反式-1,2-二苯乙烯峰面积比的 RSD 值分别为 4.70%、5.86%、4.89%,结果表明血浆对照品溶液日间、日间精密度良好。

2.13.8 重复性试验 取质量浓度为 400 ng/mL 的质控样品,按照“2.13.3”项下方法制备 6 份血浆样品溶液,测定桔皮素和反式-1,2-二苯乙烯面积,计算得桔皮素质量浓度的 RSD 为 5.19%,结果表明该实验重复性良好。

2.13.9 回收率试验 分别采用空白血浆配制桔皮素质量浓度为 25、400、1 600 ng/mL 的血浆对照品溶液 (均含反式-1,2-二苯乙烯内标),各 3 份,测定

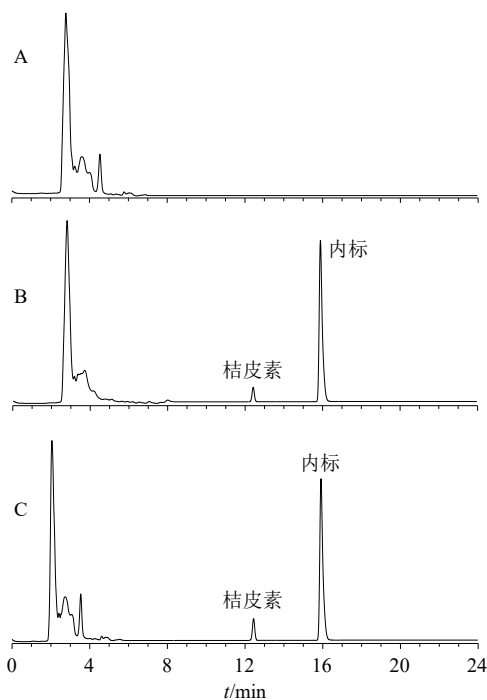


图 11 空白血浆 (A)、桔皮素对照品+内标 (B) 和血浆样品 (桔皮素给药 12 h)+内标溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 11 HPLC of blank plasma (A), tangeretin reference substance + internal standard (B) and plasma samples (orangenin administered for 12 h) + internal standard solution (C)

桔皮素质量浓度,并以实际配制质量浓度(25、400、1 600 ng/mL)为参考,计算回收率。结果显示,平均回收率为 95.15%,RSD 为 6.14%,结果表明该实验准确度较高。

2.13.10 药动力学研究结果 桔皮素原料药、Tan-Nps、Gal-Tan-BNps 的药-时曲线见图 12。使用 DAS 2.0 软件包拟合桔皮素原料药、Tan-Nps 和 Gal-Tan-BNps 主要药动力学参数,结果见表 12。与桔皮素原

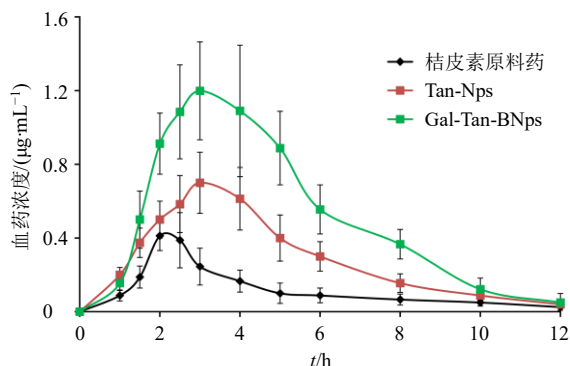


图 12 桔皮素原料药、Tan-Nps、Gal-Tan-BNps 的药物浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 12 Drug quality fraction-time curves of citrinin bulk drug, Tan-Nps, Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 12 桔皮素原料药、Tan-Nps、Gal-Tan-BNps 的药动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 12 Pharmacokinetic parameters of citrinin bulk drug, Tan-Nps, Gal-Tan-BNps ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	桔皮素原料药	Tan-Nps	Gal-Tan-BNps
$t_{\max}$	h	1.95 ± 0.68	$2.89 \pm 0.82^*$	$3.06 \pm 0.75^*$
$t_{1/2}$	h	3.54 ± 0.61	$4.94 \pm 1.36^*$	$5.71 \pm 1.47^{**}$
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	411.76 ± 105.23	$698.05 \pm 173.12^*$	$1196.44 \pm 230.89^{**\#}$
$AUC_{0 \sim t}$	ng·h·mL ⁻¹	1102.26 ± 184.70	$3773.14 \pm 529.97^{**}$	$7086.72 \pm 949.15^{***\#}$
$AUC_{0 \sim \infty}$	ng·h·mL ⁻¹	1153.20 ± 190.55	$3856.01 \pm 648.86^{**}$	$7181.14 \pm 1003.74^{***\#}$

与桔皮素原料药比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$; 与 Tan-Nps 比较:

$^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ 。

$^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs tangeretin bulk drug; $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ vs Tan-Nps.

料药相比, Tan-Nps 的达峰时间 ($t_{\max}$) 显著性延后 ($P < 0.05$), 半衰期 ($t_{1/2}$) 显著性延长 ($P < 0.05$), 达峰浓度 ($C_{\max}$) 和血药浓度-时间曲线下面积 ($AUC_{0 \sim t}$) 等显著性提高 ($P < 0.05$ 、0.01), 相对生物利用度增加至 3.42 倍, 说明 Tan-Nps 促进了桔皮素口服吸收。与桔皮素原料药相比, Gal-Tan-BNps 的 $t_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{\max}$ 和 $AUC_{0 \sim t}$ 等参数, 均发生显著性或极显著性改变 ($P < 0.05$ 、0.01), 相对生物利用度增加至 6.43 倍, 其增加幅度高于 Tan-Nps。与 Tan-Nps 相比, Gal-Tan-BNps 的 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0 \sim t}$ 、 $AUC_{0 \sim \infty}$ 等参数存在显著性或极显著性差异 ($P < 0.05$ 、0.01), 证明, Gal-Tan-BNps 对桔皮素药动力学行为影响更大, 促吸收作用更明显。

3 讨论

N-油酰-*D*-半乳糖胺结构中含 1 个半乳糖胺(亲水部分)和 1 个油酰基(亲脂部分), 具有良好的两亲性, 具有表面活性作用^[16], 可降低药物与载体形成 BNps 过程中的表面张力, 因此, *N*-油酰-*D*-半乳糖胺可应用于纳米给药系统研究。*N*-油酰-*D*-半乳糖胺结构上油酰基具有良好的亲脂性, 与亲脂性载体 PLGA 之间的亲和性良好^[15-16], 因此油酰基端可插入 Gal-Tan-BNps 脂质载体 PLGA 内部, 从而达到修饰半乳糖的目的。*N*-油酰-*D*-半乳糖胺结构上亲水端位于 Gal-Tan-BNps 表面, 不仅增加了 Gal-Tan-BNps 亲水性, 降低穿透肠道黏液层阻力^[20-21], 而且可被肠道上皮细胞 SGLT1 特异性识别, 通过主动转运等途径从而进一步增加药物吸收^[16]。

Tan-Nps 包封率和载药量均低于 Gal-Tan-BNps, 可能是 Tan-Nps 处方中泊洛沙姆 188 对药物的增溶作用远大于 *N*-油酰-*D*-半乳糖胺, 诱导药物

进入水相,影响了 Tan-Nps 的载药效率。Gal-Tan-BNps 粒径大于 Tan-Nps,可能是 Gal-Tan-BNps 表面修饰的半乳糖基团所致,同时也影响了粒径均一性,导致 Gal-Tan-BNps 的 PDI 值大于 Tan-Nps。Gal-Tan-BNps 的 ζ 电位绝对值小于 Tan-Nps,可能是表面修饰的半乳糖对电荷起到了一定的屏蔽作用所致^[20]。

桔皮素在 Gal-Tan-BNps 中晶型状态发生了改变,对药物溶解度、释药速率、释放度等产生积极影响^[10,17]。Gal-Tan-BNps 表现出双相释药行为,即快速释药和缓慢释药,可能与桔皮素在 Gal-Tan-BNps 分布情况有关。分布在 Gal-Tan-BNps 浅表层的药物由于释药阻力低、粒径小、比表面积大等原因^[10],导致前期释药较快,利于快速达到所需血药浓度;而分布于 Gal-Tan-BNps 内部的药物,需要克服载体的阻滞作用,待载体溶蚀后药物才能释放出去^[10],故表现出缓释特点,利于维持血药浓度,提高生物利用度,并增强药效。Gal-Tan-BNps 缓释特征优于 Tan-Nps,可能与 Gal-Tan-BNps 表面修饰的半乳糖基有关,进一步增加了释药阻力。

按 3.0 g/kg 剂量 ig 给予大鼠桔皮素,2 周内未检测到毒性反应^[3],说明桔皮素毒性极小。药效学研究显示^[22],桔皮素给药剂量大于 10 mg/kg,即可表现出明显的药效,根据 HPLC 法检测血浆中桔皮素的难易程度,并结合桔皮素药动学研究情况^[5],故选择 50 mg/kg ig 剂量进行药动学研究。与桔皮素原料药相比,Tan-Nps 的 $t_{\max}$ 显著性延后($P<0.05$),可能与 Tan-Nps 本身具有缓释特征有关,这种释药特征同时也对 $t_{1/2}$ 产生了较大影响,使 $t_{1/2}$ 显著性延后($P<0.05$),利于桔皮素充分吸收^[23-24]。Tan-Nps 将桔皮素相对生物利用度增加至 3.42 倍,可能是由于 Tan-Nps 增加了桔皮素体内释放度及浓度梯度,利于增加口服吸收;Tan-Nps 粒径较小,极大提高了桔皮素的比表面积,增加了与胃肠道吸收部位的接触几率,利于药物经胞间转运、淋巴转运等途径进入体循环^[24];桔皮素为典型的晶型药物,而在 Tan-Nps 中转变为无定形药物,无定形药物比晶型药物更易吸收^[10,25];包封于 Tan-Nps 内部的药物,在载体的保护作用下降低了 pH 值、消化酶等对药物破坏几率,利于增加桔皮素体内吸收。因而在多种有利因素共同作用下 Tan-Nps 极大增加了桔皮素口服吸收^[26-27]。

与 Tan-Nps 相比, Gal-Tan-BNps 促进桔皮素体

内吸收效果更为明显,主要与 Gal-Tan-BNps 表面修饰的半乳糖配体有关,可使 Gal-Tan-BNps 被肠道上皮细胞 SGLT1 介导的主动转运途径实现 Gal-Tan-BNps 快速吸收,降低了肠黏膜屏障作用,减少了桔皮素在胃肠道暴露几率;Gal-Tan-BNps 表面修饰的半乳糖配体提供了空间位阻^[28],降低了肠道环境对 Gal-Tan-BNps 结构的破坏,增加了稳定性,利于 Gal-Tan-BNps 发挥纳米制剂内吞、胞饮等特殊吸收机制从而增加生物利用度^[29-30]。李伟宏等^[5]制备了橘红素(也称桔皮素)纳米结构脂质载体,相对生物利用度提高 4.59 倍;杨丽萍等^[10]制备了桔皮素固体脂质纳米粒,其相对生物利用度提高 4.10 倍,但提高幅度均低于本研究的 Gal-Tan-BNps (6.43 倍),因此 Gal-Tan-BNps 更具研究价值。

本研究完成了 Gal-Tan-BNps 处方工艺、药物晶型、细胞摄取、体外释药、稳定性、口服药动学等评价,发现 Gal-Tan-BNps 包封率较高,符合《中国药典》2025 年版四部 9014 项下对微粒制剂包封率的要求(大于 80%),冻干粉储存稳定性良好,且极大提高了桔皮素生物利用度,为合理评价 Gal-Tan-BNps 成药性提供了研究资料。本实验初步完成了 Gal-Tan-BNps 冻干粉 6 个月的稳定性研究,后续继续考察其长期稳定性。Gal-Tan-BNps 的小试、中试等也是重点研究内容,结合本文研究结果合理调整制备参数,并评价 Gal-Tan-BNps 对桔皮素降血糖、肾损伤修复等药效的影响^[20,31],进一步丰富 Gal-Tan-BNps 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] 李占芳,许伟,宋建建,等. HPLC-QAMS 法测定金果含片中哈巴苷、哈巴俄苷、柚皮芸香苷、橙皮苷、川陈皮素、橘红素、麦冬甲基黄烷酮 A 和甲基麦冬二氢高异黄酮 B [J]. 药物评价研究, 2021, 44(9): 1916-1922.
- [2] 李影,李微,刘大朋,等. 桔皮素调节 Jagged1/Notch 信号通路对肺癌 HCC827 细胞生物学行为的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(9): 2201-2208.
- [3] 田欣,陈珺,黄慧灵,等. 橘红素对去卵巢大鼠子宫及血清激素、骨代谢和炎症因子的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(4): 249-255.
- [4] Ting Y W, Chiou Y S, Jiang Y K, et al. Safety evaluation of tangeretin and the effect of using emulsion-based delivery system: Oral acute and 28-day sub-acute toxicity study using mice [J]. Food Res Int, 2015, 74: 140-150.
- [5] 李伟宏,高娟,王风云,等. 橘红素 2 种脂质纳米粒的

- 制备、表征和口服吸收生物利用度评价 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8031-8042.
- [6] 湛瑾璟. 陈皮黄酮的高效制备、转化及其抑制非酶糖基化的机理研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2022.
- [7] 张怡, 成雨竹, 区展纶, 等. 橘红素自微乳给药系统的制备及体内吸收研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(8): 833-837.
- [8] Elhennawy M G, Lin H S. Determination of tangeretin in rat plasma: Assessment of its clearance and absolute oral bioavailability [J]. *Pharmaceutics*, 2017, 10(1): 3.
- [9] 宋文颖, 于雅琴. 芹菜素磷脂复合物纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(2): 357-363.
- [10] 杨丽萍, 李伟宏. 桔皮素固体脂质纳米粒制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(11): 3520-3527.
- [11] 安秋旭, 霍代夏, 刘媛媛, 等. 仿生纳米载体提高口服药物生物利用度的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2023, 54(11): 1545-1552.
- [12] 曹桑博, 王敏, 谢鹏. 阿立哌唑自乳化释药系统的制备与质量评价 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(3): 571-577.
- [13] 陈玥雯, 杨紫薇, 田冠芳, 等. 转运体和代谢酶介导的中药相互作用研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1852-1860.
- [14] Wang A Q, Liu Y Y, Xiong W G, *et al.* Targeting inflammatory lesions facilitated by galactosylation modified delivery system eudragit/gal-PLGA@Honokiol for the treatment of ulcerative colitis [J]. *J Pharm Sci*, 2024, 113(9): 2744-2755.
- [15] Xing Y B, Li X, Cui W W, *et al.* Glucose-modified zein nanoparticles enhance oral delivery of docetaxel [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(7): 1361.
- [16] 李岩. 半乳糖化纳米粒提高伊马替尼口服生物利用度的研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2020.
- [17] 徐志杰. 白屈菜红碱 PLGA 纳米粒的制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2022, 44(10): 3091-3097.
- [18] 陈晓乐, 韩笑, 宫建泉, 等. 表面活性剂改良牛蒡多糖粒径工艺优化及其结构表征 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(21): 140-147.
- [19] 刘婕. 环境自适应型 shCD163/DOX@cRGD-DDD 纳米药物抑制胶质瘤增殖和自我更新的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2022.
- [20] 李明, 辛娟, 王远侠, 等. 聚乙二醇修饰杨梅苷固体脂质纳米粒制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2024, 46(4): 1102-1109.
- [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] 杨发科, 杨兴, 张志毕, 等. 橘叶化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中成药, 2024, 46(9): 2972-2979.
- [23] 毛利紧, 朱家豪, 郝海军. 芒果苷纳米囊泡的制备、表征和药动学研究 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(6): 1389-1397.
- [24] 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.
- [25] 刘雄英, 周韵秋, 于恩江, 等. 芹菜素纳米胶束的制备工艺优化及质量评价 [J]. 中南药学, 2023, 21(2): 386-391.
- [26] 张体鹏, 决利利. 白屈菜红碱 2 种脂质体的制备和口服生物利用度比较 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5568-5579.
- [27] 管庆霞, 周小影, 刘宇萌, 等. 甘草次酸介导的马钱子碱自组装纳米粒的体内药动学研究 [J]. 中南药学, 2023, 21(2): 306-311.
- [28] 薛晓菲, 李会晓, 詹丽倩, 等. 半乳糖修饰 pH 敏感型青蒿琥酯纳米囊泡的制备、组织分布与抗肿瘤评价 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(9): 2579-2591.
- [29] 张强, 罗曦, 包永睿, 等. 生物膜仿生纳米制剂研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(5): 544-552.
- [30] 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.
- [31] 陈炼, 韩珊, 王宝林, 等. 白头翁皂苷 B5 及其衍生物对脂多糖诱导急性肾损伤小鼠药效学研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1452-1458.

[责任编辑 郑礼胜]