

Box-Behnken 设计-效应面法优化黄芩汤自组装纳米粒与特比萘芬共载药纳米粒的处方工艺研究

何沂灿^{1,2}, 陈家乐⁴, 邬子妍⁴, 袁海龙^{2,3*}, 沈成英^{1*}

1. 江西省人民医院(南昌医学院第一附属医院)药学部,江西 南昌 330006
 2. 成都中医药大学药学院,四川 成都 611137
 3. 中国人民解放军空军特色医学中心 药学部,北京 100142
 4. 南昌医学院药学院,江西 南昌 330052

摘要: 目的 优化黄芩汤自组装纳米粒 (self-assembled nanoparticles of Huangqin Decoction, HQD-SAN) 与特比萘芬 (terbinafine, TBF) 共载药纳米粒 (TBF-HQD-SAN NPs) 的处方工艺。方法 采用高速离心结合透析法拆分得到 HQD-SAN, 进一步包载 TBF 制备为 TBF-HQD-SAN NPs。在单因素考察的基础上, 以 HQD-SAN 质量浓度、磁力搅拌速度和搅拌时间为考察因素, 以 TBF 载药量、黄芩苷包封率及载药量为考察指标, 采用 3 因素 3 水平 Box-Behnken 设计 (Box-Behnken design, BBD) - 效应面法 (response surface methodology, RSM) 优化 TBF-HQD-SAN NPs 的处方和工艺。对最优处方和工艺制备的 TBF-HQD-SAN NPs 进行形貌、粒径分布、 ζ 电位及载药能力、溶解度进行表征, 并考察其对红色毛癣菌 *Trichophyton rubrum*、须癣毛癣菌 *T. mentagrophytes*、犬小孢子菌 *Microsporum canis* 的抗菌活性。结果 工艺优化分析表明, 所建 2 次回归模型拟合度优异 (R^2 均 >0.99), HQD-SAN 质量浓度、搅拌速度、搅拌时间及部分交互项对指标影响显著 ($P < 0.05$)。效应面分析显示, TBF 载药量随 HQD-SAN 质量浓度升高而降低, 随磁力搅拌速度、磁力搅拌时间先增后降; 黄芩苷包封率、载药量随 HQD-SAN 质量浓度升高而增加, 随磁力搅拌速度、磁力搅拌时间延长而降低。模型优选最优工艺为 HQD-SAN 质量浓度 5.6 mg/mL, TBF 5 mg, 蒸馏水 4 mL, 超声 (50 W, 40 kHz) 30 min, 760 r/min 磁力搅拌 1.5 h, 0.8 μ m 滤膜滤过, 即得; 验证实验中各指标实测值与预测值接近 ($RSD < 5\%$)。所得 TBF-HQD-SAN NPs 的粒径为 (185.10 ± 1.73) nm, 多分散指数 (polydispersity index, PDI) 为 0.22 ± 0.01 , ζ 电位为 (-15.17 ± 1.40) mV; TBF 包封率为 $(99.81 \pm 0.33)\%$, 载药量为 $(3.32 \pm 0.09)\%$; 黄芩苷包封率为 $(58.59 \pm 1.42)\%$, 载药量为 $(6.71 \pm 0.15)\%$; TBF、TBF-HQD-SAN 物理混合物 (physical mixture, PM)、TBF-HQD-SAN NPs 的平衡溶解度分别为 (2.27 ± 0.09) 、 (15.70 ± 1.66) 、 (78.20 ± 2.22) μ g/mL。抗菌实验结果显示, TBF-HQD-SAN NPs 的抗菌活性 (MIC 值为 $0.15 \sim 0.31$ μ g/mL, 以 TBF 计为 $4.98 \sim 10.13$ ng/mL) 显著优于 HQD-SAN (MIC 值为 $1.56 \sim 3.13$ mg/mL)、TBF (MIC 值为 $0.06 \sim 0.50$ μ g/mL) ($P < 0.05$)。结论 BBD 成功优化了 TBF-HQD-SAN NPs 处方和工艺, 该制剂粒径均一、载药性能优异, 且抗菌效果显著提升, 为其后续研究奠定了基础。

关键词: 黄芩汤; 自组装纳米粒; 特比萘芬; 共载药纳米粒; 黄芩苷; Box-Behnken 设计-效应面法; 抗皮肤癣菌

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)02-0474-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.009

Formulation optimization of Huangqin Decoction self-assembled and terbinafine co-loaded nanoparticles using Box-Behnken design-response surface method

HE Yican^{1,2}, CHEN Jiale⁴, WU Ziyan⁴, YUAN Hailong^{2,3}, SHEN Chengying¹

1. Jiangxi Provincial People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College), Nanchang 330006, China
 2. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
 3. Department of Pharmacy, Air Force Medical Center, PLA, Beijing 100142, China
 4. School of Pharmacy, Nanchang Medical College, Nanchang 330052, China

收稿日期: 2025-08-21

基金项目: 江西省卫生健康委科技计划 (202510005); 江西省自然科学基金青年项目 (20232BAB216124); 赣鄱俊才支持计划-高层次高技能领军人才培养工程 (赣人社字 [2024] 69 号)

作者简介: 何沂灿 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂、新剂型、新技术应用研究。Tel: 18083452487 E-mail: hychhh26@163.com

*通信作者: 沈成英, 女, 博士, 副主任中药师, 副教授, 研究方向为中药纳米给药系统研究。Tel: (0791)86891529 E-mail: 984075899@qq.com
 袁海龙, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新型给药系统。Tel: (010)66928505 E-mail: yhlpharm@126.com

Abstract: Objective To optimize the formulation process of co-loaded nanoparticles (TBF-HQD-SAN NPs) comprising self-assembled nanoparticles of Huangqin Decoction (黄芩汤) (HQD-SAN) and terbinafine (TBF). **Methods** The HQD-SAN was obtained with high-speed centrifugation combined with dialysis and then TBF was further loaded to prepare TBF-HQD-SAN NPs. Based on the single-factor investigation, taking the concentration of HQD-SAN, the speed of magnetic stirring and the stirring time as the investigation factors, and the drug loading (DL) of TBF, the encapsulation efficiency and the DL of baicalin as the investigation indicators, the formulation and process of TBF-HQD-SAN NPs were optimized by using the 3-factor 3-level Box-Behnken design (BBD)-response surface methodology (RSM). The optimized TBF-HQD-SAN NPs were characterized for morphology, particle size distribution, ζ potential, and drug-loading capacity. Their saturated solubility was determined, and their antifungal activity against *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, and *Microsporum canis* was investigated. **Results** The TBF-HQD-SAN NPs process was optimized by BBD. The established quadratic regression model had excellent fit (all $R^2 > 0.99$), and the concentration of HQD-SAN, stirring speed, stirring time and some interaction terms had significant effects on the indicators ($P < 0.05$). The effect surface analysis showed that the drug loading of TBF decreased with the increase of HQD-SAN concentration and first increased and then decreased with the stirring speed/time. The encapsulation rate/drug loading of baicalin increases with the increased of HQD-SAN concentration and decreased with the extension of stirring speed/time. The optimal process for model selection was as follows: HQD-SAN concentration 5.6 mg/mL, TBF 5 mg, distilled water 4 mL, ultrasonic (50 W, 40 kHz) for 30 min, magnetic stirring at 760 r/min for 1.5 h, and filtration through 0.8 μm filter membrane. The measured values of each index in the verification experiment were close to the predicted values (RSD < 5%). The particle size of the NPs was (185.10 ± 1.73) nm, the polydispersity index (PDI) was 0.22 ± 0.01 , and the ζ potential was (-15.17 ± 1.40) mV. The encapsulation efficiency and DL of TBF were $(99.81 \pm 0.33)\%$ and $(3.32 \pm 0.09)\%$, respectively, while those of baicalin were $(58.59 \pm 1.42)\%$ and $(6.71 \pm 0.15)\%$, respectively. The equilibrium solubility was (2.27 ± 0.09) $\mu\text{g}/\text{mL}$ for TBF alone, (15.70 ± 1.66) $\mu\text{g}/\text{mL}$ for the TBF-HQD-SAN physical mixture (PM), and (78.20 ± 2.22) $\mu\text{g}/\text{mL}$ for the TBF-HQD-SAN NPs. The antifungal experiment showed that the antifungal activity of TBF-HQD-SAN NPs (with MIC values ranging from 0.15—0.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$, equivalent to 4.98—10.13 ng/mL based on TBF content) was significantly superior to that of HQD-SAN (MIC value 1.56—3.13 mg/mL) and TBF alone (MIC value 0.06—0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($P < 0.05$). **Conclusion** The BBD successfully optimized the formulation and preparation process of TBF-HQD-SAN NPs. The resulting NPs demonstrated uniform particle size, excellent drug-loading performance, and significantly enhanced antifungal efficacy, laying a foundation for further research.

Key words: Huangqin Decoction; self-assembled nanoparticles; terbinafine; co-loaded nanoparticles; baicalin; Box-Behnken design-response surface method; anti-dermatophyte

皮肤癣菌病，简称皮癣，是由致病性皮肤癣菌引起的皮肤、毛发、甲板等的浅表真菌感染，是人群中发病率最高的感染性皮肤病。皮癣的主要症状包括皮疹、鳞屑、瘙痒等，其较难治愈且容易反复发作和再感染^[1-2]，严重影响患者的生活质量。根据《中国体癣和股癣诊疗指南（基层实践版 2022）》的推荐，局部外用抗真菌药物是治疗皮癣的首选，其中特比萘芬（terbinafine，TBF）是治疗皮肤癣菌病的一线用药^[3]。目前，TBF 外用制剂上市的有乳膏剂、搽剂、喷雾剂等，但是，TBF 水溶性差、皮肤渗透与滞留较差，导致吸收慢及治疗时间延长。为克服这些缺点，进一步提高药效，减少给药剂量及耐药，国内外学者开展了一系列该药的新剂型如纳米乳、固体脂质纳米粒、环糊精包合物、脂质体、醇质体等^[4]，但是，这些制剂都存在一定的局限性，如载药量低、药物泄露及潜在的辅料毒性^[5-6]等，限制了进一步的开发应用。

近年来，伴随超分子化学及纳米技术的发展，

中药的很多物相形式和特征被发现和揭示。中药化学成分来源广泛、结构独特、修饰位点众多，汤剂煎煮过程中极易发生化学成分间的相互作用而聚集或超分子组装形成纳米聚集体（self-assembled nanoparticles，SAN）^[7-9]。据报道，中药 SAN 的形成涉及多糖、蛋白及小分子活性成分等多种成分的参与，能够同时改善多种成分的溶解或吸收^[10-11]，可以发挥更好的多组分共递送能力，为开发新型纳米递药系统提供了新思路。

课题组前期研究证实，黄芩汤（Huangqin Decoction, HQD）能够显著抑制临床常见皮肤癣菌如红色毛癣菌 *Trichophyton rubrum*、须癣毛癣菌 *T. mentagrophytes*、犬小孢子菌 *Microsporum canis* 等的菌丝生长、生物量合成、孢子萌发，表现出较好的防治皮肤癣菌病作用^[12]。进一步的 HQD 不同相态抗皮肤癣菌的谱效关系研究显示，黄芩汤自组装纳米粒（self-assembled nanoparticles of Huangqin Decoction, HQD-SAN）是 HQD 抗皮肤癣菌的活性

相态^[13]；经成分解析，发现 HQD-SAN 主要由两亲性的多糖和蛋白为载体，包载黄芩苷、黄芩素等主要成分组成，由此赋予了 HQD-SAN 具有活性与载体的双重功能^[11]。此外，实验中还发现，HQD-SAN 与 TBF 联用具有协同抗皮肤癣菌作用，这为开发 TBF 新型递药系统提供了新思路。本研究采用单因素结合 Box-Behnken 设计（Box-Behnken design, BBD）-效应面法（response surface methodology, RSM）优化黄芩汤自组装纳米粒与 TBF 共载药纳米粒（TBF-HQD-SAN NPs）的处方和工艺，为 TBF-HQD-SAN NPs 体内外评价及下一步开发研究提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-2010A 型高效液相色谱仪，日本岛津公司；360ES 225SM-DR (E) 型号电子天平，普利赛斯称重设备有限公司；SCIENTZ-18N/A 型冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；CSB23054 型金尼克超声波清洗器，合肥金尼克机械制造有限公司；BY-R20 型高速离心机，北京白洋医疗器械有限公司；Zetasizer Pro 型纳米粒度电位仪，马尔文帕纳科公司；S-4800 型扫描电子显微镜，日本 Hitachi 公司；MS-H280-Pro 型数显加热型磁力搅拌器，大龙兴创实验仪器股份公司；SPX-25085H-II 型生化培养箱，上海新苗医疗器械制造有限公司。

1.2 试剂与耗材

黄芩饮片（批号 24032511，产地山西）、白芍饮片（批号 23052506，产地安徽）、炙甘草饮片（批号 22051001，产地内蒙古）、大枣饮片（批号 23112115，产地山东），均购自江西彭氏国药堂饮片有限公司，经江西省人民医院药学部应萍副主任中药师鉴定，黄芩为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、白芍为毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、炙甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎的炮制加工品、大枣为鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。

特比萘芬对照品（批号 M04HS177029，质量分数 98%）、纤维素透析袋（截留相对分子质量 8 000~10 000）购自上海源叶生物科技有限公司；黄芩苷对照品，批号 HS81115B1，质量分数 98%，购自宝鸡市辰光生物科技有限公司；色谱甲醇（批号 H2203277，质量分数 ≥99.9%）、3-吗啉丙磺酸（批

号 B2223455），购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；色谱乙腈，批号 WXBFB3729V，西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；葡萄糖对照品（批号 A501991-0500，质量分数 ≥99.5%）、琼脂粉（批号 A505255-0250）均购自生工生物工程（上海）股份有限公司；RPMI 1640 培养基，批号 2802313，购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司；聚山梨酯-20，批号 223Y011，购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 菌株

红色毛癣菌 *Trichophyton rubrum* (Castell.) Sabour.、须癣毛癣菌 *T. mentagrophytes* (C. P. Robin) Sabour.、犬小孢子菌 *Microsporum canis* E. Bodin ex Guég. 来源为全国卫生健康委委员会真菌病监测网江西分中心暨江西省人民医院临床医学研究所分离鉴定并保存。

2 方法与结果

2.1 HQD-SAN 的分离与表征

2.1.1 HQD-SAN 的分离 参考文献方法^[11]分离 HQD-SAN。按质量比 3:2:2:2 称取黄芩、白芍、炙甘草、大枣饮片各 18、12、12、12 g，混匀，加入 10 倍量水，煎煮 1 h，趁热滤过；药渣加 8 倍量水，煎煮 1 h，趁热滤过；合并 2 次滤液，浓缩，制成含生药 1 g/mL 的 HQD 提取液。提取液在 11 269×g 条件下离心 30 min，取上清液，经 0.45 μm 微孔滤膜抽滤后，将滤液加至透析袋（每次 5 mL，共 54 mL）中，随即将透析袋装入加有水 1 000 mL 的烧杯中，25 °C、200 r/min 透析 30 min；取出透析袋中的样品，11 269×g 离心 30 min。上述透析-离心操作重复 2 次，透析袋中的样品即为 HQD-SAN，冷冻干燥，备用。HQD-SAN 得率（得率=HQD-SAN 冻干粉质量/HQD 提取液冻干粉质量）为 49.89%。

2.1.2 粒径分布与形态表征 取 HQD-SAN 冻干粉适量，加水超声（50 W、40 kHz）分散后，采用粒度（分析）仪测定 HQD-SAN 的粒径和 ζ 电位。结果 HQD-SAN 的粒径为 (144.80±2.91) nm (n=3)，多分散指数（polydispersity index, PDI）为 0.28±0.08 (n=3)，ζ 电位为 (-7.33±1.38) mV (n=3)。将适量 HQD-SAN 溶液稀释后置铜网上干燥，透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM) 下观察，结果见图 1，可见 HQD-SAN 呈较为均一的球形。

2.2 TBF-HQD-SAN NPs 的制备

精密称取适量 HQD-SAN 和 5 mg 的 TBF，置于

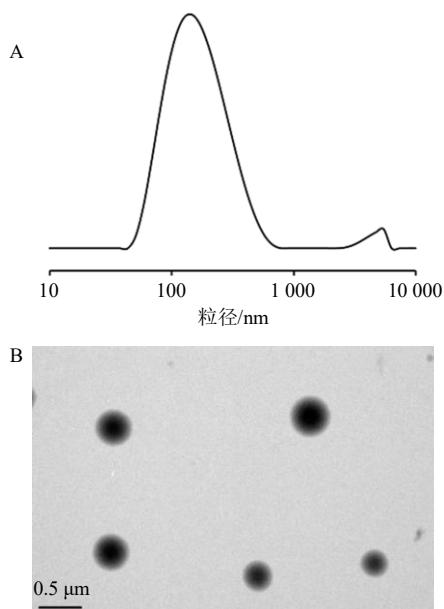


图1 HQD-SAN 的粒径分布 (A) 和 TEM 图 (B)
Fig. 1 HQD-SAN particle size distribution (A) and TEM diagram (B)

10 mL 西林瓶中, 加入 4 mL 蒸馏水, 超声 (50 W、40 kHz) 30 min, 加入磁力搅拌子在一定磁力搅拌速度下磁力搅拌一定时间, 样品过 0.8 μm 微孔滤膜, 即得。同法不加入 TBF, 制备空白 NPs。

2.3 TBF-HQD-SAN NPs 粒径、PDI 及 ζ 电位的测定

取适量“2.2”项下的溶液, 置于样品池中, 于粒度分析仪中测定 TBF-HQD-SAN NPs 的粒径、PDI 及 ζ 电位。

2.4 TBF-HQD-SAN NPs 指标成分定量测定方法建立

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Shim-pack GIS C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液, 等度洗脱: 0~60 min, 41%甲醇; 检测波长: 276 nm(黄芩苷)、222 nm(TBF); 柱温 40 °C; 体积流量 1 mL/min; 进样量 5 μL。以目标化合物峰计算, 色谱柱的理论塔板数均>10 000。

2.4.2 对照品溶液的制备 称取 TBF 和黄芩苷对照品各 5 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶内, 加入甲醇, 超声 (50 W、40 kHz) 5 min 溶解, 并定容至刻度线, 即得各对照品母液, 分别取上述对照品母液适量, 置于 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 制成质量浓度为 TBF 40.56 μg/mL 对照品溶液和黄芩苷 209 μg/mL 对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 制备 TBF-HQD-SAN NPs, 精密吸取 1 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 加入甲

醇超声 (50 W、40 kHz) 溶解, 定容至刻度线, 摆匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得 TBF-HQD-SAN NPs 供试品溶液。

2.4.4 专属性考察 分别取“2.4.2”“2.4.3”项下的对照品溶液和 TBF-HQD-SAN NPs 供试品溶液, 在“2.4.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图, 结果见图 2。可见, TBF、黄芩苷分离效果好, 且无阴性干扰, 表明该方法专属性良好。

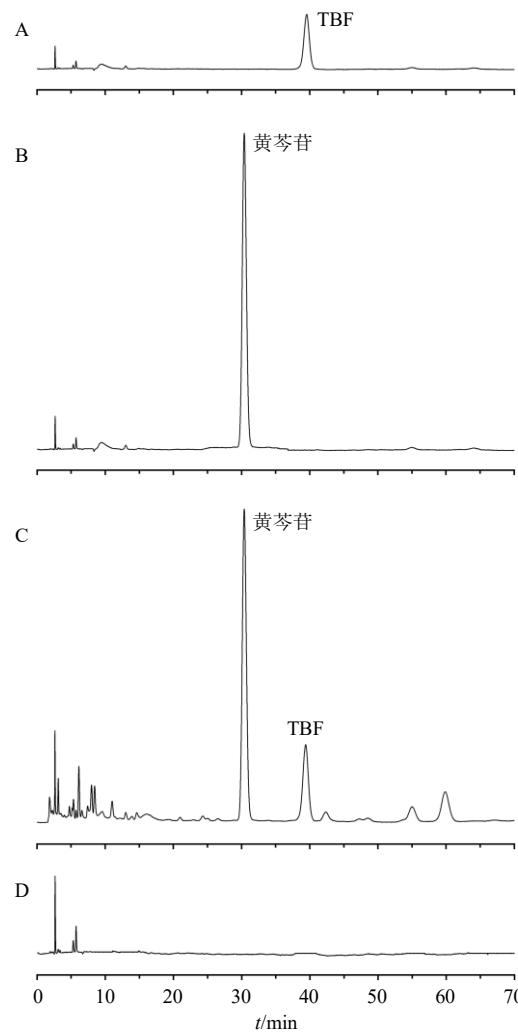


图2 TBF 对照品溶液 (A)、黄芩苷对照品溶液 (B)、TBF-HQD-SAN NPs 供试品溶液 (C)、溶剂甲醇 (D) 的专属性 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of TBF control solution (A), baicalin control solution (B), TBF-HQD-SAN nanoparticles (C), solvent methanol (D)

2.4.5 线性关系考察 取 TBF、黄芩苷对照品适量, 精密称定, 经甲醇溶解, 逐级稀释制成系列质量浓度梯度的混合对照品溶液, 在“2.4.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为

横坐标(X)绘制标准曲线,进行线性回归,得到TBF标准曲线回归方程为 $Y=155.349X-34.161$, $r=0.9996$, 线性范围 $1.01\sim40.56\text{ }\mu\text{g/mL}$; 黄芩苷标准曲线回归方程为 $Y=37.337X-5.042.1$, $r=1.0000$, 线性范围 $10.48\sim209.60\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.6 精密度试验 取“2.4.2”项下对照品溶液适量,在“2.4.1”项下色谱条件下进样6次,测定黄芩苷、TBF的峰面积,计算得黄芩苷、TBF峰面积的RSD分别为0.31%、1.43%,结果表明该仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性试验 取“2.4.3”项下TBF-HQD-SAN NPs适量,精密吸取1mL,置于5mL量瓶中,加入甲醇,超声(50W、40kHz)溶解,定容并摇匀,分别于制备后0、2、4、8、12、24h,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录黄芩苷、TBF峰面积,计算得到其峰面积RSD值分别为0.15%、1.72%,表明供试品溶液在24h内稳定性较好。

2.4.8 重复性试验 按照“2.4.3”项下方法平行制备6份供试品溶液,按照“2.4.1”项下色谱条件进行测定,计算得黄芩苷、TBF质量分数的RSD分别为1.65%、2.16%,结果表明该方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率试验 取已测知黄芩苷、TBF含量的TBF-HQD-SAN NPs 2.6 mg,精密称定样品6份,按各成分质量浓度1:1的比例,精密加入对照品(60.75 μg/mL的黄芩苷5mL、3.77 μg/mL的TBF 2.5 mL),加适量甲醇溶解,并定容至10mL,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,按照“2.4.1”项下色谱条件进行测定,记录各成分峰面积,并计算其加样回收率。结果显示黄芩苷、TBF的平均加样回收率分别为100.39%、100.08%,RSD值分别为1.25%、2.00%,结果表明该方法的准确度良好。

2.4.10 超滤膜回收率 取“2.4.2”项下的TBF、黄芩苷对照品母液,加入纯水稀释,经过0.22 μm微孔滤器滤过后,得到质量浓度分别为58.21、56.81 μg/mL的混合对照品溶液,作为100%的游离药物,在“2.4.1”项色谱条件下测定,作为游离药物超滤前测定值。取游离药物400 μL,置于截留相对分子质量3 000超滤离心管中,在15 000 r/min条件下离心(离心半径50 mm)10 min进行预饱和,弃去超滤液。按照上述操作再离心,取超滤液测定,作为超滤液测定值。计算超滤膜回收率(超滤膜回收率=超滤液测定值/超滤前测定值),TBF、黄芩苷的超滤膜回收率分别为92.52%、96.87%,RSD分别为

1.42%、0.72%,结果表明非特异性吸附影响可忽略不计。

2.5 包封率和载药量测定

取“2.2”项下的TBF-HQD-SAN NPs溶液1mL置于5mL量瓶中,加入甲醇,超声(50W、40kHz)溶解,定容至刻度后,0.45 μm微孔滤膜滤过,在“2.4.1”项色谱条件下进样测定黄芩苷或TBF总量(W_2)。取TBF-HQD-SAN NPs溶液400 μL,置于“2.4.9”项下经过预饱和的超滤管(截留相对分子质量3 000)中,在13 000 r/min条件下离心(离心半径50 mm)5 min,取续滤液稀释2倍,超声(50 W、40 kHz)5 min,13 000 r/min离心5 min,取上清液进行HPLC测定黄芩苷、TBF游离药物量(W_1)。按照文献方法^[14]分别计算包封率和载药量。

$$\text{包封率}=(W_2-W_1)/W_2$$

$$\text{载药量}=(W_2-W_1)/W_3$$

W_1 为游离药物的量, W_2 为系统中药物的总量, W_3 为HQD-SAN药物称样质量

2.6 单因素试验考察

2.6.1 磁力搅拌速度 固定HQD-SAN质量浓度为5 mg/mL和TBF 5 mg,磁力搅拌时间为2 h,考察磁力搅拌速度400、600、800、1 000、1 200 r/min对TBF-HQD-SAN NPs的粒径、PDI分布、 ζ 电位、包封率和载药量的影响,结果见表1。结果显示,不同磁力搅拌速度对粒径、PDI、 ζ 电位及TBF包封率无显著影响;随着磁力搅拌速度的增加,TBF载药量先增后降,黄芩苷包封率和载药量逐步下降,综合考虑,选择磁力搅拌速度为600~1 000 r/min进行下一步研究。

2.6.2 磁力搅拌时间 固定HQD-SAN质量浓度为5 mg/mL和TBF 5 mg,磁力搅拌速度为800 r/min,考察磁力搅拌时间0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h对共载药纳米粒的粒径分布、 ζ 电位、包封率和载药量的影响,结果见表2。结果显示,不同磁力搅拌时间对粒径、PDI、 ζ 电位及TBF包封率无显著影响;随着磁力搅拌时间的延长,TBF载药量先增后降,黄芩苷包封率和载药量逐步下降,综合考虑,选择磁力搅拌时间为1.0~3.0 h进行下一步研究。

2.6.3 HQD-SAN质量浓度 固定TBF 5 mg,磁力搅拌速度和时间为800 r/min和2.0 h,考察HQD-SAN质量浓度4、5、6、7、8 mg/mL对共载药纳米粒的粒径分布、 ζ 电位、包封率和载药量的影响,结果见表3。结果显示,HQD-SAN质量浓度对粒径、

表1 磁力搅拌速度对共载纳米粒的粒径分布、 ζ 电位、包封率和载药量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 1 Effect of magnetic stirring speed on particle size distribution, ζ potential, encapsulation efficiency, and drug loading of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

磁力搅拌速度/ (r·min ⁻¹)	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%		载药量/%	
				TBF	黄芩苷	TBF	黄芩苷
400	167.40±6.27	0.22±0.02	-12.01±0.14	97.51±4.31	53.65±1.78	1.43±0.13	6.31±0.22
600	176.30±11.69	0.21±0.01	-12.07±0.82	97.92±1.82	49.63±2.20	2.36±0.14	5.86±0.22
800	177.37±7.71	0.21±0.04	-15.00±1.71	99.06±1.01	43.81±1.79	2.67±0.08	5.13±0.17
1 000	175.97±8.30	0.20±0.02	-14.26±1.19	98.30±1.95	40.03±1.18	2.80±0.13	4.66±0.13
1 200	168.33±7.10	0.23±0.03	-14.23±2.95	100.00±0.00	36.49±0.79	1.74±0.12	4.26±0.10

表2 磁力搅拌时间对共载纳米粒的粒径分布、 ζ 电位、包封率和载药量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Effects of magnetic stirring time on particle size distribution, ζ potential, encapsulation efficiency, and drug loading of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

磁力搅拌 时间/h	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%		载药量/%	
				TBF	黄芩苷	TBF	黄芩苷
0.5	167.27±22.63	0.21±0.02	-12.42±1.10	100.00±0.00	67.07±4.64	1.40±0.17	7.79±0.53
1.0	168.90±9.74	0.19±0.04	-12.96±2.59	99.42±0.63	64.62±3.70	2.46±0.16	7.64±0.47
2.0	181.23±6.54	0.22±0.04	-13.84±4.72	98.42±1.46	56.89±4.25	3.04±0.24	6.66±0.45
3.0	185.03±8.81	0.19±0.02	-14.36±1.94	99.46±0.94	46.85±1.27	3.23±0.13	5.50±0.17
4.0	168.60±15.79	0.20±0.02	-12.80±1.41	99.07±1.61	38.84±3.24	1.93±0.20	4.45±0.33

表3 HQD-SAN 质量浓度对共载纳米粒的粒径分布、 ζ 电位、包封率和包封率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Effects of HQD-SAN concentration on particle size distribution, ζ potential, encapsulation efficiency, and drug loading of nanoparticles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

HJD-SAN/ (mg·mL ⁻¹)	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	包封率/%		载药量/%	
				TBF	黄芩苷	TBF	黄芩苷
4	163.17±0.45	0.22±0.01	-15.36±1.89	98.68±2.03	41.92±3.51	2.53±0.11	4.92±0.38
5	170.63±9.19	0.20±0.02	-15.93±1.53	98.30±1.95	50.37±2.17	3.18±0.18	5.84±0.26
6	169.97±11.05	0.19±0.01	-13.29±1.40	100.00±0.00	57.05±3.61	3.25±0.09	6.65±0.40
7	179.40±13.50	0.21±0.01	-13.94±2.35	100.00±0.00	62.45±3.61	2.88±0.06	7.38±0.38
8	179.00±7.23	0.21±0.03	-15.88±1.19	100.00±0.00	63.57±2.48	2.47±0.15	7.37±0.26

PDI、 ζ 电位及 TBF 包封率无显著影响；随着 HQD-SAN 质量浓度的增加，TBF 载药量先增后降，黄芩苷包封率和载药量逐步增加，综合考虑，选择 HQD-SAN 质量浓度为 5~7 mg/mL 进行下一步研究。

2.7 BBD-RSM 优化 TBF-HJD-SAN NPs 处方工艺

2.7.1 因素与水平设计 在单因素试验的基础上，选择 HQD-SAN 质量浓度 (X_1)、磁力搅拌速度 (X_2) 和磁力搅拌时间 (X_3) 为考察因素。对于响应指标的选择，由于 TBF 的包封率对上述因素的变化不敏感（其值始终高于 97%，未呈现规律性趋势），不宜作为优化指标，因此，以对各考察因素变化敏感且趋势明确的 TBF 载药量 (Y_1)、黄芩苷包封率 (Y_2)、黄芩苷载药量 (Y_3) 为考察指标，采用 3 因素 3 水平的 BBD 优化 TBF-HJD-SAN NPs 的处方和工艺，

设计包括重复试验的中心点和一系列多维试验点。因素水平、试验安排及结果见表 4。本研究中， Y_1 与 Y_3 以“最大值”为评价标准，为核心考察指标； Y_2 以“适宜值”为评价标准，作为次要考察指标，通过该评价体系筛选最优工艺参数。

2.7.2 2 次回归方程的建立 使用 Design-Expert 13 软件对 BBD 试验设计数据进行分析，以 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 为响应指标，分别比较了线性模型、双因素交互模型、2 次模型及 3 次模型。通过方差分析进行模型间比较，最终筛选出最佳拟合模型。结果表明，多元 2 次模型的方差分析具有统计学意义 ($P < 0.05$)，因此被选定用于进一步分析。其 2 次多元回归方程分别为 $Y_1 = 3.250 - 0.5588 X_1 + 0.1764 X_2 + 0.2009 X_3 - 0.0075 X_1 X_2 - 0.235 X_1 X_3 + 0.1741 X_2 X_3 - 0.0001 X_1^2 - 0.0001 X_2^2 - 0.0001 X_3^2$ 。

表 4 BBD 试验因素水平、试验设计及结果 ($n = 3$)
 Table 4 Factor levels, experimental design and results of
 BBD ($n = 3$)

编号	$X_1/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$X_2/(\text{r}\cdot\text{min}^{-1})$	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$
1	5 (-1)	600 (-1)	2.0 (0)	2.37	49.33	5.89
2	5 (-1)	1 000 (+1)	2.0 (0)	2.82	38.86	4.57
3	5 (-1)	800 (0)	1.0 (-1)	2.40	65.10	7.58
4	5 (-1)	800 (0)	3.0 (+1)	3.20	46.52	5.54
5	6 (0)	600 (-1)	1.0 (-1)	1.12	70.37	8.44
6	6 (0)	1 000 (+1)	1.0 (-1)	1.04	44.55	5.32
7	6 (0)	600 (-1)	3.0 (+1)	1.25	44.86	5.35
8	6 (0)	1 000 (+1)	3.0 (+1)	1.87	36.01	4.20
9	6 (0)	800 (0)	2.0 (0)	3.24	56.39	6.63
10	6 (0)	800 (0)	2.0 (0)	3.20	58.54	6.83
11	6 (0)	800 (0)	2.0 (0)	3.28	59.07	6.86
12	6 (0)	800 (0)	2.0 (0)	3.40	59.99	6.96
13	6 (0)	800 (0)	2.0 (0)	3.11	56.89	6.63
14	7 (+1)	600 (-1)	2.0 (0)	1.13	64.81	7.58
15	7 (+1)	1 000 (+1)	2.0 (0)	1.55	35.32	4.14
16	7 (+1)	800 (0)	1.0 (-1)	1.89	64.65	7.71
17	7 (+1)	800 (0)	3.0 (+1)	1.75	54.02	6.44

0.144 2 X_1^2 - 1.130 X_2^2 - 0.792 2 X_3^2 ; $Y_2 = 58.180 + 2.370 X_1 - 9.330 X_2 - 7.910 X_3 - 4.750 X_1X_2 + 1.990 X_1X_3 + 4.240 X_2X_3 - 1.240 X_1^2 - 9.860 X_2^2 + 0.630 X_3^2$;
 $Y_3 = 6.780 + 0.290 X_1 - 1.130 X_2 - 0.940 X_3 - 0.530 X_1X_2 + 0.190 X_1X_3 + 0.490 X_2X_3 - 0.130 X_1^2 - 1.110 X_2^2 + 0.160 X_3^2$ 。各评价指标的多元 2 次模型的方差分析结果如表 5 所示, 3 个响应指标的 2 次模型调

表 6 HQD-SAN NPs 各评价指标的 BBD 回归模型和方差分析
 Table 6 Regression models and ANOVA of BBD for HQD-SAN NPs

表 5 各评价指标的多元 2 次模型的方差分析结果
 Table 5 Analysis of variance for quadratic models of various evaluation indices

评价指标	连续性 P 值	失拟性 P 值	R ²	校正 R ²	预测 R ²	标准方差
Y ₁	<0.000 1	0.289 6	0.991 2	0.979 9	0.913 7	0.124 1
Y ₂	<0.000 1	0.368 5	0.990 1	0.977 3	0.911 5	1.620 0
Y ₃	<0.000 1	0.236 8	0.991 4	0.980 4	0.910 3	0.177 6

整决定系数 (R^2) 均大于 0.99, 表明模型拟合良好; 其失拟项 P 值均小于 0.01, 进一步说明该模型能有效用于指标预测。

2.7.3 各模型回归系数的方差分析和显著性检验

3 个拟合方程的相关系数说明设计模型拟合程度良好, 可用此模型对 TBF-HQD-SAN NPs 的处方和工艺进行分析与预测。从表 6 回归系数的显著性检验可知, 模型 Y_1 中 X_1 、 X_2 、 X_3 的 1 次项和 2 次项, X_1 与 X_3 、 X_2 与 X_3 的交互项达到了显著水平 ($P < 0.05$), 其他项不显著。模型 Y_2 中 X_1 、 X_2 、 X_3 的 1 次项, X_2 的 2 次项, X_1 与 X_2 、 X_1 与 X_3 、 X_2 与 X_3 的交互项达到了显著水平 ($P < 0.05$), 其他项不显著。模型 Y_3 中 X_1 、 X_2 、 X_3 的 1 次项, X_2 的 2 次项, X_1 与 X_2 、 X_2 与 X_3 的交互项达到了显著水平 ($P < 0.05$), 其他项不显著。删除不显著项, 得到的简化方程为

$$Y_1 = 3.250 - 0.5588 X_1 + 0.1764 X_2 + 0.2009 X_3 - 0.235 X_1 X_3 + 0.1741 X_2 X_3 - 0.1442 X_1^2 - 1.130 X_2^2 - 0.7922 X_3^2; Y_2 = 58.180 + 2.370 X_1 - 9.330 X_2 - 7.910$$

$X_3 = 4.750 X_1 X_2 + 1.990 X_1 X_3 + 4.240 X_2 X_3 - 9.860 X_2^2$; $Y_3 = 6.780 + 0.290 X_1 - 1.130 X_2 - 0.940 X_3 - 0.530 X_1 X_2 + 0.490 X_2 X_3 - 1.110 X_2^2$ 。

2.7.4 效应面分析与优化 使用 Design-Expert 13 软件, 根据回归方程分析结果, 选择对各指标有显著影响的 2 个因素, 另 1 因素设为中心点值, 做出相应的曲面图(图 3)。图 3-a~c 显示, 在 X_3 为 2.0 h 时, TBF 载药量随着 X_1 的增加而降低, 随着 X_2 的增加先增后降; 在 X_2 为 800 r/min 时, TBF 载药量随着 X_1 、 X_3 的增加而降低; 在 X_1 为 6 mg/mL 时, TBF 载药量随着 X_2 和时间的增加而先增后降。图

3-d~f 显示, 在 X_3 为 2 h 时, 黄芩苷包封率随着 X_1 的增加而增加, 随着 X_2 的增加而降低; 在 X_2 为 800 r/min 时, 黄芩苷包封率随着 X_1 的增加而增加, 随着 X_3 的延长而降低; 在 X_1 为 6 mg/mL 时, TBF 载药量随着 X_2 的增加而先增后降, 随着 X_3 的延长而降低。图 3-g~i 显示, 在 X_3 为 2 h 时, 黄芩苷载药量随着 X_1 的增加而增加, 随着 X_2 的增加而先增后降; 在 X_2 为 800 r/min 时, 黄芩苷载药量随着 X_1 的增加而增加, 随着 X_3 的延长而降低; 在 X_1 为 6 mg/mL 时, 黄芩苷载药量随着 X_2 的增加而先增后降, 随着 X_3 的延长而降低。

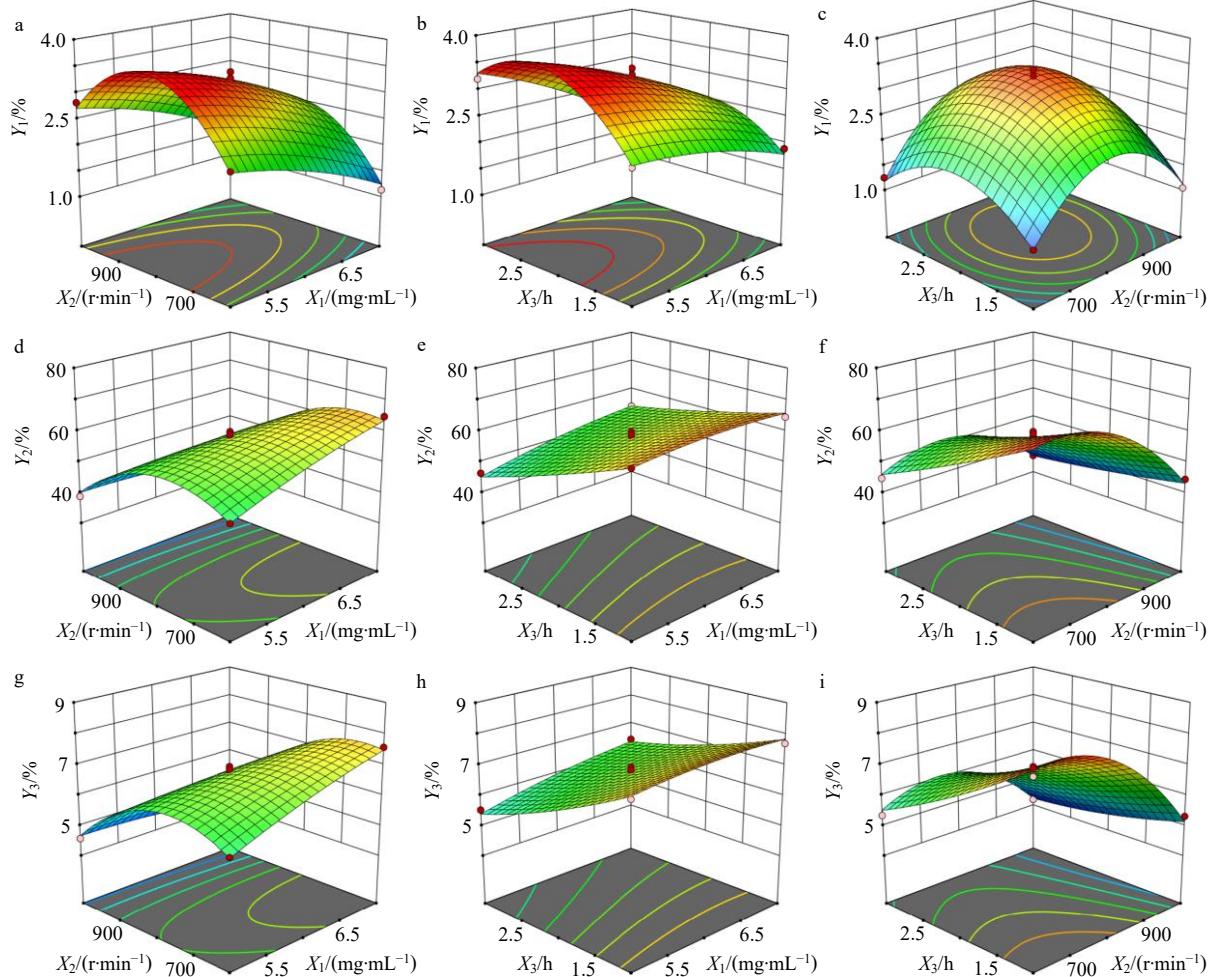


图 3 考察因素 X_1 、 X_2 、 X_3 对响应值 Y_1 (a~c)、 Y_2 (d~f)、 Y_3 (g~i) 影响的三维效应曲面图

Fig. 3 3D response surface plot for effects of factors X_1 , X_2 , and X_3 on response values Y_1 (a~c), Y_2 (d~f), and Y_3 (g~i)

2.7.5 处方和工艺验证 通过 Design-Expert 13 实验设计软件优化后预测得到最佳制备工艺条件为 $X_1 = 5.6 \text{ mg/mL}$, $X_2 = 760 \text{ r/min}$, $X_3 = 1.5 \text{ h}$ 。确定处方和工艺条件如下: 称取 5.6 mg/mL HQD-SAN 和 5 mg TBF 于 10 mL 西林瓶中, 加入 4 mL 蒸馏水, 超声 (50 W、40 kHz) 30 min, 加入磁力搅拌子,

放置于磁力搅拌仪上, 在 760 r/min 速度下搅拌 1.5 h, 样品过 0.8 μm 的滤膜, 即得。按照“2.5”方法采用 HPLC 法测定 TBF 和黄芩苷的包封率和载药量。可见, 模型对 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 的预测值分别为 3.25%、58.18%、6.78%。实际测量值如表 7 所示, 结果显示, 实际测量值和预测值接近, 表明该模型的预测

表7 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 实际测量值 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 7 Measured values of Y_1 , Y_2 , and Y_3 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$
实际测量值	3.24 ± 0.14	59.05 ± 0.35	6.83 ± 0.24
预测值	3.25	58.18	6.78

性良好。

2.8 TBF-HQD-SAN NPs 的表征

2.8.1 粒径分析与 ζ 电位 按照“2.8.5”项下工艺制备 TBF-HQD-SAN NPs, 依照“2.3”项下步骤测定粒径、PDI、 ζ 电位。TBF-HQD-SAN NPs 测定粒径为 (185.10 ± 1.73) nm, PDI 为 0.22 ± 0.01 , ζ 电位为 (-15.17 ± 1.40) mV。

2.8.2 形貌分析 取 TBF-HQD-SAN NPs 溶液适量涂于碳涂层铜网上, 在室温下干燥, TEM 观察其形态。结果如图 4 所示, NPs 形态呈均一的球形。

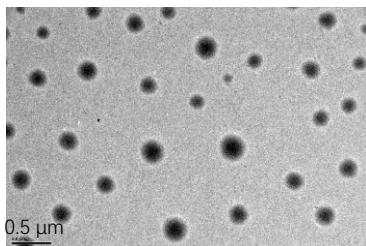


图4 TBF-HQD-SAN NPs TEM图

Fig. 4 TEM diagram of TBF-HQD-SAN NPs

2.8.3 包封率和载药量的测定 按照“2.5”项下方法测定 TBF-HQD-SAN NPs 中黄芩苷和 TBF 的包封率和载药量。结果显示, 黄芩苷的包封率和载药量分别为 $(58.59 \pm 1.42)\%$ 和 $(6.71 \pm 0.15)\%$, TBF 的包封率和载药量分别为 $(99.81 \pm 0.33)\%$ 和 $(3.32 \pm 0.09)\%$ 。

2.9 饱和溶解度的测定

根据文献测定饱和溶解度^[15], 分别取 TBF 原料药、HQD-SAN 与 TBF 物理混合物(physical mixture, PM) (由 3.24% TBF 与 96.76% HQD-SAN, 在离心管中涡旋 5 min, 混匀即得, 记为 TBF-HQD-SAN PM)、TBF-HQD-SAN NPs 各 250 mg, 加入 PBS 6.0 溶液 5 mL, 超声 (50 W、40 kHz) 10 min, 制成过饱和溶液, 置于 32 °C 的恒温震荡箱中, 100 r/min 震荡 48 h, 在 13 000 r/min 条件下离心 (离心半径 50 mm) 5 min, 上清溶液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 在“2.2.3”项下色谱条件测定并计算其 TBF 含量。结果如表 8 所示, TBF-HQD-SAN NPs 中 TBF 的溶解度为 TBF 原料药的 34.45 倍、物理混合物的 4.98 倍。

表8 不同样品中 TBF 的饱和溶解度测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 8 Determination of TBF saturated solubility in different samples ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	饱和溶解度/(μg·mL ⁻¹)
TBF	2.27 ± 0.09
TBF-HQD-SAN PM	15.70 ± 1.66
TBF-HQD-SAN NPs	78.20 ± 2.22

2.10 药敏性考察

参照临床和实验室标准协会 (CLSI) 的《丝状真菌肉汤稀释抗真菌药敏试验的参考方法》^[16], 通过 1% 聚山梨酯-20 的 0.85% NaCl 无菌溶液将红色毛癣菌、须癣毛癣菌、犬小孢子菌收集, RPMI 1640 培养基配制成终浓度为 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ CFU/mL 的菌悬液。取无菌 96 孔板, 各加入 RPMI 1640 培养基 100 μL, 然后在第 1 列中依次加入 100 μL 质量浓度为 1.25 mg/mL 的 TBF-HQD-SAN NPs、1.25 mg/mL 的 TBF-HQD-SAN PM、2 μg/mL 的 TBF 以及 200 mg/mL 的 HQD-SAN, 用移液枪混匀后吸取 100 μL 至第 2 孔, 依次进行 2 倍稀释至第 15 孔。TBF-HQD-SAN NPs、TBF-HQD-SAN PM 的终质量浓度为 0.037 5~625.0 μg/mL; TBF 的终质量浓度为 0.062 5~1 000.0 μg/mL; HQD-SAN 的终质量浓度为 6.25~1.00 × 10⁵ μg/mL。1~15 孔和 17 孔中加入配制好的菌悬液 100 μL, 第 16 孔作为阴性对照, 第 17 孔作为阳性对照。将 96 孔板置于霉菌孵育箱中培养 6 d, 肉眼观察各试验孔皮肤癣菌的生长情况, 并与阳性、阴性对照孔相比较, 以肉眼观察到无皮肤癣菌生长的最低药物质量浓度即为最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 值, 上述实验平行 3 份, 实验结果见表 9。结果显示, HQD-SAN 对 3 种菌的 MIC 值为 $1.56 \times 10^3 \sim 3.13 \times 10^3$ μg/mL, TBF 对 3 种菌的 MIC 值为 0.06~0.50 μg/mL, TBF-HQD-SAN NPs 对 3 种菌的 MIC 值为 0.15~0.31 μg/mL, 以 TBF 计算, MIC 值为 4.98~10.13 ng/mL, 说明将 TBF 载入 HQD-SAN 后, 其抗菌效果增加 12.50~50 倍, TBF-HQD-SAN NPs 的抗菌活性显著优于 HQD-SAN、TBF ($P < 0.05$)。

3 讨论

在复方汤剂中分离出的纳米相态, 对于难溶性成分表现出较强包载能力, 并能显著性提高溶解性的特点, 表明纳米相态以作为难溶性药物的优良载体^[17~18]。前期研究表明, HQD 具较好的抗皮肤癣菌

表9 TBF-HQD-SAN NPs 抗皮肤癣菌的 MIC 值 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 9 MIC values of TBF-HQD-SAN NPs against dermatophytes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

皮肤癣菌	MIC 值/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)			
	TBF	HQD-SAN	TBF-HQD-SAN PM (以 TBF 计)	TBF-HQD-SAN NPs (以 TBF 计)
红色毛癣菌	0.06	1.56×10^3	0.61 (0.019 92)	0.15 (0.004 98)
须癣毛癣菌	0.50	3.13×10^3	1.22 (0.040 52)	0.31 (0.010 13)
犬小孢子菌	0.13	3.13×10^3	1.22 (0.040 52)	0.25 (0.004 98)

活性, 其 HQD-SAN 中的有效成分、蛋白及多糖含量较其他相态较高且抗菌作用是最佳的^[11]。本实验采用 BBD-RSM 优化 HQD-SAN 与 TBF 的处方工艺, 旨在设计并筛选 TBF-HQD-SAN NPs 的制备工艺, 进一步通过药敏实验评价其抗菌活性, 以期获得一种能提高 TBF 溶解度、增强抗菌药效的外用制剂, 为后续体内外研究提供研究依据。

本实验采用物理超声结合磁力搅拌的方法, 将 HQD-SAN 与 TBF 制备为纳米制剂, 通过单因素考察结合 3 因素 3 水平 BBD-RSM 筛选最佳制备处方工艺。优选 HQD-SAN 质量浓度旨在充分发挥其作为药物载体的效能, 以提高共载药纳米粒的载药量; 同时优选磁力搅拌速度和磁力搅拌时间为共载药纳米粒的形成创造适宜条件, 确保 TBF-HQD-SAN NPs 粒径小于 200 nm 且均一, 从而利于渗透皮肤。

已有研究表明, 中药复方拆分出的纳米相态可通过氢键、非共价键等形式结合难溶性成分以提高其溶解度^[7,19], 本制剂正是基于 HQD-SAN 与 TBF 的分子相互作用, 构建共载药纳米粒, 显著改善了 TBF 溶解度, 并解决了 TBF 水溶性差的问题。药敏实验表明, 将 TBF 载入 HQD-SAN 后, 其抗菌效果较单独使用 TBF 提高了 12.5~50 倍。推测原因之一可能是 HQD-SAN 中有效成分黄芩苷、黄芩素等抗菌活性成分通过干扰代谢通路、破坏细胞膜的完整性、降低外排泵的活性等机制^[20-21], 抑制癣菌对 TBF 产生耐药性, 从而增加了其药效; 另一方面可能是纳米制剂促进了 TBF 被癣菌摄取。

经处方和工艺验证, 确定最佳制备工艺为取 5.6 mg/mL HQD-SAN 和 5 mg 的 TBF, 加入 4 mL 蒸馏水, 超声 30 min, 加入磁力搅拌子, 放置于磁力搅拌仪上, 在 760 r/min 速度下搅拌 1.5 h, 过 0.8 μm 的滤膜为最佳制备工艺。本制剂经 HPLC 法测定 TBF 载药量、黄芩苷包封率、黄芩苷载药量, 测量值分别为 3.24%、59.05%、6.83%, 结果显示实际测量值和模型测量值接近, 表明该方法合理可靠, 为

解决 TBF 难溶性和皮肤滞留差等问题提供了新思路。后续研究将围绕共载药纳米粒的药效学(如抗菌机制)和药动学(在体透皮实验、皮肤滞留量考察、体外释放实验)展开深入研究, 为皮肤癣菌病的临床治疗探索新途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 Numan R S, Farhan M S, Abdullah B A, et al. Review of the clinical types of dermatophytes [J]. *J Res Appl Sci Biotechnol*, 2024, 3(3): 104-112.
- 2 Deng R X, Wang X W, Li R Y. Dermatophyte infection: From fungal pathogenicity to host immune responses [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1285887.
- 3 吕雪莲. 中国体癣和股癣诊疗指南(基层实践版 2022) [J]. 中国真菌学杂志, 2022, 17(3): 177-182.
- 4 邢文善, 路芳, 王秋香. 盐酸特比萘芬药物制剂的研究进展 [J]. 中国药房, 2016, 27(4): 553-555.
- 5 岳鹏飞, 万晶, 胡鹏翼, 等. 中药固体化纳米混悬给药系统的研究进展与思考 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 625-629.
- 6 晋亚婧. 盐酸特比萘芬/羟丙基-β-环糊精包合物的制备与表征 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- 7 王凤霞, 陈芳雯, 沈成英, 等. 中药汤剂煎法的科学内涵研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(4): 994-999.
- 8 赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 等. 中药煎煮的化学反应机制研究现状 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 890-899.
- 9 沈成英, 胡菲, 朱君君, 等. 中药自组装纳米粒的形成及应用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(19): 4875-4880.
- 10 张婉蒙. 白虎汤液中纳米相态的拆分及形成规律研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- 11 何沂灿, 申宝德, 沈成英, 等. 黄芩汤相态拆分及其抗皮肤癣菌作用研究 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3099-3108.
- 12 沈成英, 罗忠, 章佩, 等. 黄芩汤的抗须癣毛癣菌活性及作用机制研究 [J]. 中国药房, 2024, 35(3): 311-315.
- 13 沈成英, 吴文明, 侯雄军, 等. 黄芩汤指纹图谱建立及不同相态抗皮肤癣菌活性谱效关系研究 [J]. 中国药

- 房, 2023, 34(6): 687-692.
- [14] 温沁楠, 张锐, 魏朵朵, 等. 纳米药物包封率测定中的影响因素分析及对策 [J]. 江西中医药大学学报, 2024, 36(1): 120-123.
- [15] 李梦雅, 丁玉, 辛娟, 等. 马来酰亚胺修饰延胡索乙素纳米粒的制备、药动学及其对急性肝损伤的保护作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(9): 2565-2578.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. 1st ed. CLSI supplement M61 [S]. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017: 1-6.
- [17] 管庆霞, 周小影, 吕邵娃, 等. 中药复方汤剂多成分自组装纳米相态的形成原理及现状探析 [J]. 海南医学学院学报, 2023, 29(11): 872-880.
- [18] 赵军宁, 蒋建东, 陈春英, 等. 方剂纳米体药物发现 (FDD): 多靶点药物技术创新与新药发现的新策略 [J]. 中国药学杂志, 2025, 60(16): 1661-1672.
- [19] 刘若雨, 王祖驰, 李肖. 中药自组装超分子研究进展 [J]. 药学学报, 2025, 60(9): 2752-2767.
- [20] Meng X, Kang M N, Yu Z Y, et al. Synergistic antibacterial activity of baicalin in combination with oxacillin sodium against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *FEBS Open Bio*, 2025, 15(4): 608-621.
- [21] Wang Y H, Su J F, Zhou Z Y, et al. Baicalein resensitizes multidrug-resistant gram-negative pathogens to doxycycline [J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(3): e04702-e04722.

[责任编辑 郑礼胜]