

脱氧胆酸和壳聚糖双修饰的牡荆素脂质体制备及口服动力学研究

宋亚琼^{1,2}, 李 晓^{1,2}, 穆卫卫^{1,2}, 季少平^{1,2,3*}

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 河南省核蛋白医学检测工程技术研究中心, 河南 郑州 450064

3. 河南大学, 河南 开封 475001

摘要: 目的 制备牡荆素脂质体 (vitexin liposomes, Vit-Lips)、壳聚糖修饰的 Vit-Lips (chitosan modified Vit-Lips, CS-Vit-Lips) 及脱氧胆酸和壳聚糖双修饰的 Vit-Lips (deoxycholic acid and chitosan co-modified Vit-Lips, DA/CS-Vit-Lips), 比较 3 种脂质体口服药动学行为。方法 合成脱氧胆酸-壳聚糖结合物 (deoxycholic acid-chitosan complex, DA/CS)。薄膜超声法制备 Vit-Lips, 采用包封率、载药量和粒径为考察指标, 单因素实验结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 Vit-Lips 处方, 引入壳聚糖和 DA/CS 分别制备 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips。透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 观察 3 种脂质体的微观结构, 比较其在模拟胃肠液中的粒径稳定性。考察牡荆素原料药及其 3 种脂质体在模拟胃肠液中释药情况, 研究释药机制。考察不同肠段对牡荆素及其 3 种脂质体的吸收情况, 计算肠吸收参数。按照 20 mg/kg 剂量 (以牡荆素计) 分别 ig 牡荆素原料药及其 3 种脂质体, 采集血样, 计算主要药动学参数及相对生物利用度。结果 Vit-Lips 最佳处方工艺: 磷脂与胆固醇用量比为 7.95:1, 脂药用量比为 9.63:1, 水化时间为 30.00 min。采用 0.8% 的壳聚糖溶液和 DA/CS 溶液分别制备 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips。Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 的包封率分别为 (82.31±0.96)%、(84.93±1.17)%、(85.15±1.38)%, 载药量分别为 (7.33±0.09)%、(6.24±0.08)%、(6.30±0.11)%, 平均粒径分别为 (197.70±5.07)、(233.06±7.19)、(237.93±6.96) nm, ζ 电位分别为 (-28.81±0.86)、(27.75±1.10)、(26.14±1.13) mV。3 种脂质体外观为类圆形的囊泡状。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 在模拟胃肠液中粒径稳定性高于 Vit-Lips。Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 分别将牡荆素的累积释放率提高至 91.02%、86.74% 和 83.15%, 3 者的释药过程均符合 Weibull 模型。3 种脂质体有效改善了牡荆素吸收速率常数 (K_a) 和表观吸收系数 (P_{app})。以牡荆素原料药为参考, Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 相对口服吸收生物利用度分别增加至 1.10 倍、3.08 倍和 4.70 倍, 其中, CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的半衰期 ($t_{1/2}$) 极显著性延长 ($P<0.01$), 达峰浓度 (C_{max}) 极显著性提高 ($P<0.01$)。结论 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 有效促进了牡荆素口服吸收, DA/CS-Vit-Lips 优势更明显, 为进一步研究奠定实验基础。

关键词: 牡荆素; 脂质体; 薄膜超声法; Box-Behnken 设计-响应面法; 壳聚糖; 脱氧胆酸; 修饰; 在体单向肠灌注; 药动学行为

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)12-4594-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.008

Preparation and oral pharmacokinetics study of vitexin liposomes co-modified with deoxycholic acid and chitosan

SONG Yaqiong^{1,2}, LI Xiao^{1,2}, MU Weiwei^{1,2}, JI Shaoping^{1,2,3}

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Henan Nuclear Protein Medical Testing Engineering Technology Research Center, Zhengzhou 450064, China

3. Henan University, Kaifeng 475001, China

Abstract: Objective Vitexin liposomes (Vit-Lips), chitosan modified Vit-Lips (CS-Vit-Lips) and deoxycholic acid and chitosan co-modified Vit-Lips (DA/CS-Vit-Lips) were prepared, and their oral pharmacokinetic behavior were compared. **Methods** Deoxycholic

收稿日期: 2026-01-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31371386); 国家自然科学基金项目 (30871239)

作者简介: 宋亚琼 (1989—), 女, 汉族, 硕士, 讲师, 研究方向为临床药学及心脑血管疾病治疗。E-mail: yagionsong@zzsqmc.edu.cn

*通信作者: 季少平 (1963—), 男, 博士, 教授, 研究方向为生物学及医学研究。E-mail: shaopingji@henu.edu.cn

acid-chitosan complex (DA/CS) was synthesized. Film-ultrasonic method was used to prepare Vit-Lips. Encapsulation rate, drug loading and particle size were used as evaluation indexes, single factor investigation combined with Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) were used to investigate the optimal prescriptions of Vit-Lips. CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips were prepared by introducing chitosan and DA/CS, respectively. Transmission electron microscopy (TEM) was used to observe the microstructure of the three kinds of liposomes, and their particle stability in gastrointestinal fluids were compared. Using vitexin as reference, the drug release of Vit-Lips, CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips in simulate gastrointestinal fluid were compared, and their drug release mechanism were also studied. The absorption of the vitexin and its three kinds of liposomes in different intestinal segments was investigated, and the intestinal absorption parameters were calculated. Blood samples were collected after gastric administration of vitexin and its three kinds of liposomes at a dose of 20 mg/kg (vitexin), respectively. Main pharmacokinetic parameters and relative oral bioavailability were also calculated. **Results** The optimal formulation of Vit-Lips: phospholipids to cholesterol dose ratio was 7.95:1, lipids to drug dose ratio was 9.63:1 and hydration time was 30.00 min. CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips were prepared using chitosan and DA/CS solution with mass fraction of 0.8%, respectively. Entrapment efficiency of Vit-Lips, CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips were (82.31 ± 0.96)%, (84.93 ± 1.17)%, (85.15 ± 1.38)%, drug loading were (7.33 ± 0.09)%, (6.24 ± 0.08)%, (6.30 ± 0.11)%, particles size were (197.70 ± 5.07), (233.06 ± 7.19), (237.93 ± 6.96) nm, and ζ potential were (-28.81 ± 0.86), (27.75 ± 1.10), (26.14 ± 1.13) mV, respectively. The appearance of three kinds of liposomes was spherical vesicular, particle stability of CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips was higher than that of Vit-Lips in simulated gastrointestinal fluid. Vit-Lips, CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips enhanced cumulative release rate to 91.02%, 86.74% and 83.15%, respectively. The drug release process of the three kinds of liposomes conformed to Weibull model. The three kinds of liposomes effectively improved the absorption rate constant (K_a) and apparent absorption coefficient (P_{app}) of vitexin. Compared to vitexin, Vit-Lips, CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips increased relative oral bioavailability to 1.10-fold, 3.08-fold and 4.70-fold, respectively. The half-life time ($t_{1/2}$) of CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips had significantly prolonged ($P < 0.01$) and the peak concentration (C_{max}) was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips effectively promoted the oral absorption of vitexin, and the advantage of DA/CS-Vit-Lips were more obvious, laying an experimental foundation for further research.

Key words: vitexin; liposomes; film-ultrasonic method; Box-Behnken design-response surface methodology; chitosan; deoxycholic acid; modify; *in situ* single-pass intestinal perfusion; pharmacokinetic behavior

牡荆素也称牡荆苷,多存在于山里红叶、山楂叶及果实中,属于黄酮碳苷类化合物。牡荆素具有降血糖、调血脂、改善阿尔茨海默病、预防缺氧缺血性脑损伤、治疗心肌缺血等活性^[1-2],临床使用价值大。然而,牡荆素在水中溶解度为 11.09 mg/L^[3],且介质 pH 值对其溶解度影响较小,因此,在胃肠道中溶出度较低。另外,牡荆素在 pH 2.0~7.0 介质中油水分配系数均小于 1.0^[4],属于生物药剂学分类系统中 IV 类药物,且胃肠道中消化酶、pH 值等易引起牡荆素降解,导致其生物利用度极低^[5],不利于牡荆素的临床应用。已有报道将牡荆素制备成磷脂复合物^[4]、脂质纳米粒^[5]、白蛋白纳米粒^[6]等,但磷脂复合物疏水性强,溶出度仍较低^[7];脂质纳米粒在体内的稳定性不高,且易被肠道壁上高度黏弹性黏液层阻挡而限制了药物吸收^[8-9];白蛋白纳米粒易变性,处方中常需引入毒性较大的化学交联剂。有必要开发稳定性高,易穿透胃肠道黏膜的牡荆素新型纳米给药系统。

脂质体是一种具有磷脂双分子层结构的纳米囊泡,生物相容性好,作为载体可增加药物体内吸

收^[9]。但机体胃肠道环境的 pH 值、各种消化酶等易对脂质体结构产生较大的破坏作用,导致药物泄漏。胃肠道壁上高黏弹性黏液层的阻挡是另一个影响脂质体体内吸收的重要因素^[10],极大减缓了药物进入血液循环的速度,影响了药物的体内吸收。许多学者提出有利用转运体介导的纳米递送系统来降低胃肠道黏膜的阻挡,从而达到高效跨膜吸收的目的。脱氧胆酸是一种胆汁酸,胆汁酸转运蛋白 (apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT) 是脱氧胆酸的重要转运体,具有高吸收率的特点。脱氧胆酸修饰的脂质体可通过 ASBT 介导的细胞内吞作用快速进入血液循环^[11],该途径可以穿越肠上皮的多重屏障,进一步提高脂质体口服吸收。对脂质体表面修饰是提高其体内稳定性的重要方法,其中壳聚糖修饰最为常见^[12]。基于此,本研究首先合成脱氧胆酸-壳聚糖结合物 (deoxycholic acid-chitosan complex, DA/CS),并修饰至牡荆素脂质体 (vitexin liposomes, Vit-Lips) 表面,得到脱氧胆酸和壳聚糖双修饰的牡荆素脂质体 (deoxycholic acid and chitosan co-modified vitexin liposomes, DA/CS-

Vit-Lips), 并比较牡荆素脂质体 (vitexin liposomes, Vit-Lips)、壳聚糖修饰牡荆素脂质体 (chitosan modified vitexin liposomes, CS-Vit-Lips) 和 DA/CS-Vit-Lips 的体外稳定性、释药行为及药动学行为, 为牡荆素新型给药系统研发提供新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FA2204N 型电子分析天平、BSA 224S 型电子分析天平, 瑞士赛多利斯科学仪器有限公司; 1200 型高效液相色谱仪 (HPLC), 美国安捷伦科技公司; LGJ-12 型冻干机, 深圳市三莉科技有限公司; CD-X15 型超声仪, 深圳市亦为实业有限公司; 6700 型傅里叶红外光谱仪、F200X 型透射电子显微镜, 美国赛默飞世尔科技公司; Nano Series-2590 型激光粒度仪, 英国马尔文有限公司; BY-400C 型离心机, 北京白洋医疗器械有限公司; Plus 型 pH 计, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; HB10 型旋转蒸发器, 德国 IKA 仪器公司; SH-2-001 型磁力搅拌器, 常州市亿能实验仪器厂; PLATILAB 340 型超低温冰箱, 杭州俊升科学器材有限公司; BT-50EA 型蠕动泵, 重庆杰恒蠕动泵有限公司; RCZ-8N 型智能溶出试验仪, 杭州俊升科学器材有限公司; NEC160-2A 型氮气吹扫仪, 星辰科技 (山东) 有限公司。

1.2 材料与动物

牡荆素对照品, 批号 M12GB148216, 质量分数 99.0%, 上海源叶生物科技有限公司; 牡荆素原料药, 批号 wkq21081713, 质量分数 98.0%, 四川省维克奇生物科技有限公司; 大黄素对照品, 批号 110756-201913, 质量分数 96.0%, 中国食品药品检定研究院; 壳聚糖, 相对分子质量 330 000, 脱乙酰度 90%, 批号 20220223, 浙江省金壳药业有限公司; 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (EDC), 批号 20221206, 湖北摆渡化学有限公司; G-10 型葡聚糖, 相对分子质量 10 000, 批号 20231100, 上海科博瑞生物科技有限公司; 脱氧胆酸, 批号 221015, 湖北楚盛威化工有限公司; *N*-羟基丁二酰亚胺 (NHS), 批号 20220620, 武汉浩荣生物科技有限公司; 大豆磷脂, 批号 20231122, 质量分数 98.0%, 上海辅必成医药科技有限公司; 胆固醇, 批号 20230915, 广州克拉玛尔试剂科技有限公司; 磷酸二氢钾 (批号 20240405)、冰乙酸 (批号 20230122)、磷酸 (批号 20231127), 国药集团化学试剂有限公司; 戊巴比妥钠, 批号 MCK19228, 南京北鱼生物科技有限公司;

甘露醇, 批号 20240105, 四川博利恒药业有限公司; 乳糖, 批号 201222, 西安新枫达药用辅料有限公司。

SD 大鼠, 质量 220~240 g, 雌雄兼用, 河南省动物实验中心提供, 许可证号 SCXK (豫) 2020-0001。动物实验经郑州健康学院实验动物伦理委员会批准, 批准号为 2023-SQLL-EC-20230915-1007-0000087。

2 方法与结果

2.1 DA/CS 的制备及表征

2.1.1 制备工艺 取脱氧胆酸 1.2 g 和 EDC 0.4 g, 溶于 100 mL 二甲基亚砜, 800 r/min 磁力搅拌 0.5 h, 加 NHS 0.8 g, 再次以 800 r/min 磁力搅拌 0.5 h。取壳聚糖 4.0 g 溶于 100 mL 的 1% 冰醋酸溶液中, 加入 100 mL 甲醇, 超声脱气。将两者合并, 在 40 °C 下 800 r/min 磁力搅拌 24 h, 采用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 值调至 8.0 (合成路线见图 1)。12 500 r/min 离心 10 min, 收集沉淀物, 依次用纯化水、乙醇洗涤 3 次, 减压旋蒸除去溶剂, 置真空干燥箱中过夜, 即得 DA/CS。

2.1.2 傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 表征 分别取脱氧胆酸、壳聚糖、DA/CS 和物理混合物 (脱氧胆酸+壳聚糖, 比例同 DA/CS) 样品, 均加入溴化钾 (样品与溴化钾质量比例为 1:100), 研磨至均匀分散, 压片, 测试其 FTIR 图谱。测试条件: 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描波数范围为 400~4 000 cm⁻¹, 扫描次数为 16 次, 结果见图 2。壳聚糖在可能含有未完全脱乙酰基的情况, 在 FTIR 中出现与酰胺键相关的特征吸收峰, 故 1 689.6 cm⁻¹ 处特征峰属于壳聚糖的 C=O 振动峰。DA/CS 在该处出现 1 680.0、1 701.3 cm⁻¹ 2 个振动峰, 属于新形成酰胺键的 C=O 振动峰和壳聚糖的 C=O 振动峰。脱氧胆酸和壳聚糖物理混合物的 FTIR 图谱中未发现酰胺键的特征振动峰, 说明 DA/CS 是一种不同于脱氧胆酸和壳聚糖物理混合物的物质。

2.2 Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 的制备

取处方量的磷脂和胆固醇, 溶于 10 mL 氯仿中, 另取 20 mg 牡荆素溶于 20 mL 甲醇, 将 2 种有机相合并, 置于圆底烧瓶中, 45 °C 水浴中磁力搅拌 (800 r/min) 0.5 h, 减压旋蒸除去有机溶剂 (转速为 60 r/min), 得均匀、透明的含药脂质薄膜。置于 45 °C 水浴中, 加入 30 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 值为 6.8), 磁力搅拌 (800 r/min) 水化一定时间, 200 W

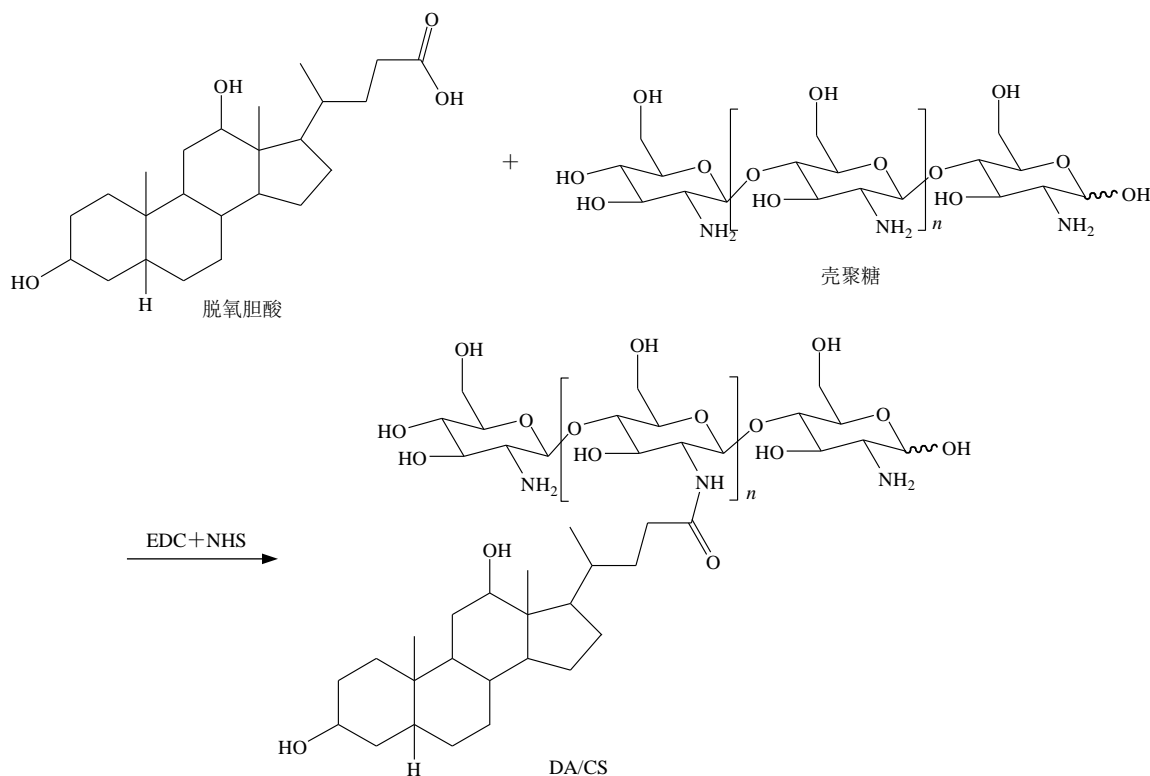


图1 DA/CS合成路线图

Fig. 1 Synthesis scheme of DA/CS

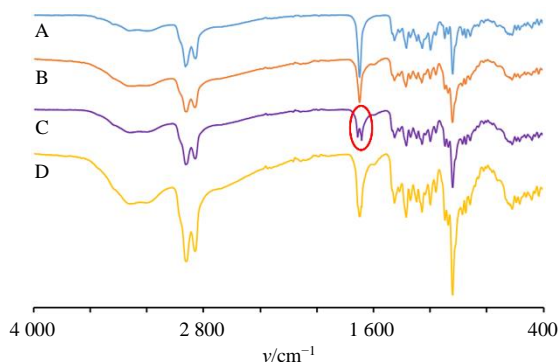


图2 脱氧胆酸(A)、壳聚糖(B)、DA/CS(C)和物理混合物(D)的FTIR图

Fig. 2 FTIR images of deoxycholic acid (A), chitosan (B), DA/CS (C) and physical mixture (D)

功率下超声,置于10℃冰箱中降温,过0.45 μm 微孔滤膜,即得 Vit-Lips 混悬液。同法制备空白脂质体 (blank liposomes, B-Lips) 混悬液 (不含牡荆素)。在 Vit-Lips 混悬液中加入适量壳聚糖溶液制备 CS-Vit-Lips, 在 Vit-Lips 混悬液中加入适量 DA/CS 溶液制备 DA/CS-Vit-Lips。

2.3 牡荆素含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱为 Cosmosil C_{18} 柱 (250 $\text{mm} \times 4.6 \text{ mm}$, 5 μm); 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长为

340 nm ; 流动相为甲醇-0.2%甲酸水溶液 (45 : 55), 等度洗脱; 进样量 20 μL ; 体积流量为 1.0 mL/min ; 理论塔板数以牡荆素计不低于 5 000。

2.3.2 线性关系考察 采用甲醇配制 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牡荆素对照品储备液, 取适量, 采用甲醇和 0.2% 甲酸水溶液混合溶剂 (45 : 55) 稀释配制成 12.00、6.00、3.00、1.20、0.60、0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列牡荆素对照品溶液, 测定各质量浓度 (X) 的峰面积 (Y), 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=26.1126C+0.7825$, $r=0.9998$, 牡荆素的线性范围为 0.06~12.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.3.3 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 供试品溶液的制备 取 Vit-Lips 混悬液 1 mL 和甲醇 30 mL , 置于 50 mL 量瓶中, 超声 5 min 破坏脂质体结构, 提取游离药物, 加入甲醇稀释定容。取 2.5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 使用甲醇和 0.2% 甲酸水溶液混合溶剂 (45 : 55) 稀释至刻度, 摇匀即得 Vit-Lips 供试品溶液。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 供试品溶液同法制备。

2.3.4 专属性考察 取空白脂质体混悬液 (不含牡荆素), 按照“2.3.3”项下方法制备阴性样品溶液, 另取牡荆素对照品溶液 (1.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 供试品溶液, 按照

“2.3.1”项下色谱条件进样测定。各个样品的色谱图见图 3，结果表明磷脂、胆固醇及其他辅料未干扰牡荆素色谱峰，专属性较高。

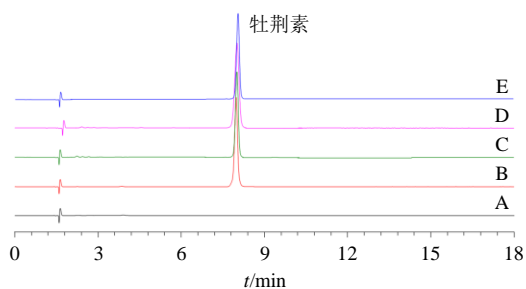


图 3 阴性样品 (A)、牡荆素对照品 (B)、Vit-Lips 样品 (C)、CS-Vit-Lips 样品 (D)、DA/CS-Vit-Lips 样品 (E) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of negative sample (A), vitexin reference substance (B), Vit-Lips sample (C), CS-Vit-Lips sample (D) and DA/CS-Vit-Lips sample (E)

2.3.5 精密度考察 取“2.3.2”项下制备的质量浓度分别为 0.06、1.20、12.00 μg/mL 的牡荆素对照品溶液，分别按照“2.3.1”项下色谱条件进样分析，连续测定 6 次，牡荆素峰面积的 RSD 分别为 0.24%、0.16%、0.33%，结果表明该仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 取按照“2.3.3”项下方法制备的 Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 供试品溶液，于制备后 0、2、6、12、24、48 h，按照“2.3.1”项下色谱条件进样，分别测定荆素峰面积，RSD 分别为 0.84%、0.43%、0.71%，结果表明 Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性考察 分别取“2.2”项下制备的 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液，按照“2.3.3”项下方法分别制备供试品溶液 6 份，按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定，结果牡荆素质量分数的 RSD 为 0.94%、1.12%、0.86%，表明 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液供试品制备方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率考察 精密吸取 0.5 mL 的 Vit-Lips 混悬液，置于 50 mL 量瓶中，共 9 份，分成 3 组，分别加入牡荆素对照品 50% (低)、100% (中) 和 150% (高)，按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液后，按照“2.3.1”项下色谱条件进样分析，测定牡荆素总含量，计算得 Vit-Lips 混悬液中牡荆素的平均加样回收率为 99.09%，RSD 为 1.19%。

分别精密吸取 0.5 mL 的 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-

Vit-Lips 混悬液，同法操作，测得 CS-Vit-Lips 中牡荆素的平均加样回收率为 100.17%，RSD 为 1.22%，测得 DA/CS-Vit-Lips 中牡荆素的平均加样回收率为 99.67%，RSD 为 0.85%，结果表明该方法的准确度较高。

2.4 3 种脂质体质量指标的测定

取葡聚糖凝胶 1 g，置于纯化水中过夜，将活化的葡聚糖凝胶填充于色谱柱中，从色谱柱顶端加入 4 倍色谱柱体积的纯化水，静置 6 h。再从色谱柱顶端加入 Vit-Lips 混悬液 1 mL，使用纯化水洗脱，收集洗脱液，计算牡荆素包封量 (W_1)。精密吸取 Vit-Lips 混悬液 1 mL，测定总牡荆素的量 (W_0)，另外精密吸取 1 mL 的 Vit-Lips 混悬液直接冻干，称定质量 (W)。计算 Vit-Lips 中牡荆素的包封率和载药量。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 中牡荆素的包封率、载药量同法测定。

$$\text{包封率} = W_1/W_0$$

$$\text{载药量} = W_1/W$$

取 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液分别置于比色皿中，擦净表面水分后使用粒径分析仪测定粒径和多分散指数 (polydispersity index, PDI)。另取 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液分别置于专用电槽中，擦净表面水分后使用粒径分析仪测定 ζ 电位，每份样品重复测定 3 次，取均值。

2.5 Vit-Lips 处方工艺单因素考察

2.5.1 磷脂与胆固醇用量比对 Vit-Lips 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响 使用磷脂和胆固醇作为 Vit-Lips 的脂质，磷脂提供载药空间，胆固醇主要起稳定脂质体结构的作用。在牡荆素用量、脂药用量比、水化时间和超声时间分别为 20 mg、10 : 1、30 min 和 10 min 的条件下，考察磷脂与胆固醇比例对 Vit-Lips 影响，结果见表 1。Vit-Lips 包封率

表 1 磷脂与胆固醇用量比的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Investigation of phospholipids to cholesterol dose ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

磷脂与胆固醇用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
4 : 1	66.15 ± 0.97	5.91 ± 0.03	196.57 ± 8.83	-25.66 ± 0.46
6 : 1	72.91 ± 1.31	6.64 ± 0.08	199.65 ± 8.18	-28.42 ± 1.23
8 : 1	80.40 ± 1.09	7.17 ± 0.04	200.79 ± 4.39	-30.54 ± 0.90
10 : 1	76.66 ± 1.07	6.77 ± 0.06	223.89 ± 6.57	-28.11 ± 0.56
12 : 1	72.72 ± 0.59	6.55 ± 0.05	242.34 ± 7.55	-26.36 ± 1.13

和载药量随着磷脂与胆固醇用量比的增加均呈先增加后下降趋势，这是由于适当比例的胆固醇用量利于增加 Vit-Lips 结构稳定性，但胆固醇用量比例过大时占据了磷脂双分子层载药空间^[9]，进而影响了 Vit-Lips 载药；胆固醇用量比例过小时影响了 Vit-Lips 稳定性，药物易泄漏，故 Vit-Lips 包封率和载药量下降。Vit-Lips 粒径随着磷脂与胆固醇比例增加而增大。 ζ 电位绝对值越大越利于 Vit-Lips 稳定，当磷脂与胆固醇比例为 8:1 时，Vit-Lips 的 ζ 电位绝对值相对最高。综合考虑磷脂与胆固醇用量比对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响趋势，后续以 8:1 为中心对磷脂与胆固醇用量比 6:1~10:1 优化，期望得到精确的磷脂与胆固醇用量比。

2.5.2 脂药用量比对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响 在牡荆素用量、磷脂与胆固醇用量比、水化时间和超声时间分别为 20 mg、8:1、30 min 和 10 min 条件下考察脂药用量比对 Vit-Lips 影响，结果见表 2。随着脂药用量比的增加 Vit-Lips 包封率逐渐增加，脂药用量比大于 10:1 后包封率大于 80%；而 Vit-Lips 载药量呈先增大后下降，这是由于增加脂药用量比过大会影响 Vit-Lips 载药效率。随着脂药用量比的增加 Vit-Lips 粒径先下降后增大，可能是脂药用量比影响了牡荆素在 Vit-Lips 中的分布，进而影响了粒径^[12]。脂药用量比大于 10:1 后，Vit-Lips 的 ζ 电位绝对值大于 30 mV，说明提高脂药用量比利于增加 Vit-Lips 稳定性。综合考虑磷脂与胆固醇用量比对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响趋势，后续以 10:1 为中心，对脂药用量比 8.5:1~11.5:1 进行优化，期望得到精确的脂药用量比。

2.5.3 水化时间对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响 在牡荆素用量、磷脂与胆固醇用量比、脂药用量比和超声时间分别为 20 mg、8:1、10:1 和 10 min 条件下考察脂药用量比对 Vit-Lips 影响，结果见表 3。随着水化时间的延长 Vit-Lips 包封率和

表 2 脂药比用量的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Investigation of lipids-drug dose ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

脂药用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
7.0:1	66.10±1.07	7.18±0.04	239.47±5.01	-23.68±0.42
8.5:1	74.88±1.16	7.70±0.07	219.04±6.34	-27.89±1.22
10.0:1	80.87±1.15	7.19±0.07	199.61±5.27	-31.40±0.64
11.5:1	82.23±0.65	7.46±0.05	216.95±7.36	-31.77±0.89
13.0:1	83.25±1.44	5.94±0.04	235.48±5.04	-30.44±1.31

表 3 水化时间的考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Investigation of hydration time ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

水化时间/min	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
10	57.73±1.68	5.18±0.04	279.88±5.49	-21.67±1.13
20	71.73±1.19	6.34±0.06	246.50±4.23	-26.18±0.57
30	82.23±1.34	7.26±0.04	199.96±4.22	-31.23±0.82
40	77.29±0.92	6.86±0.07	198.19±7.38	-26.39±0.75
50	72.89±0.26	6.42±0.02	220.12±5.93	-25.18±0.83

载药量呈现先增加后下降趋势，可能是适当的水化时间利于 Vit-Lips 包封牡荆素，但水化时间过长时可能对磷脂化学稳定性和 Vit-Lips 结构稳定性产生不利影响^[7,9]，导致药物泄露。Vit-Lips 粒径随着水化时间的延长呈先下降后增加趋势，而 ζ 电位绝对值呈先增大后下降趋势，说明水化时间对 Vit-Lips 质量指标影响较大。综合考虑水化时间比对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响趋势，后续以 30 min 为中心对水化时间 20~40 min 进行优化，期望得到精确的水化时间。

2.5.4 超声时间对包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响 在牡荆素用量、磷脂与胆固醇用量比、脂药用量比和水化时间分别为 20 mg、8:1、10:1 和 30 min 条件下考察超声时间对 Vit-Lips 影响，结果见表 4。当不进行超声时 Vit-Lips 包封率大于 80%，但粒径达 (286.22±13.12) nm。超声时间增加时 Vit-Lips 包封率、载药量和 ζ 电位绝对值呈下降趋势，说明超声会对 Vit-Lips 产生破坏，稳定性下降。综合考虑超声时间比对 Vit-Lips 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位的影响趋势，最终选择较短的超声时间即 5 min 来制备 Vit-Lips，以降低超声对 Vit-Lips 稳定性的影响。

2.6 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface methodology, BBD-RSM) 优化 Vit-Lips 处方工艺

2.6.1 BBD-RSM 试验方案设计及其结果 磷脂与胆固醇用量比、脂药用量比和水化时间作为 Vit-Lips

表 4 超声时间考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Investigation of ultrasonic time ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

超声时间/min	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	ζ 电位/mV
0	81.66±1.82	7.32±0.10	286.22±13.12	-30.25±0.99
5	84.12±0.91	7.40±0.13	199.96±9.05	-30.94±1.05
10	82.84±0.37	7.25±0.07	198.28±8.40	-30.79±1.48
15	75.31±0.79	6.75±0.06	221.99±8.13	-27.68±1.26
20	72.43±1.38	6.36±0.03	235.09±5.46	-25.01±1.33

主要影响因素, 分别标记为 X_1 、 X_2 、 X_3 , 水平设置分为 3 个等级即-1 (低)、0 (中) 和+1 (高)。包封率、载药量和粒径分别作为 Vit-Lips 优化指标, 分别标记为 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 。为得到包封率、载药量和粒径均较理想的 Vit-Lips 处方工艺, 采用总评归一值 (overall desirability, OD) 作为包封率、载药量和粒径的总体评价指标, OD 值计算过程分为 3 步: ①使用公式 $d_{\max}=(M_i-M_{\min})/(M_{\max}-M_{\min})$ 计算 Vit-Lips 包封率 $d_{\text{包封率}}$ 和载药量 $d_{\text{载药量}}$, 式中 M_i 、 M_{\max} 和 M_{\min} 分别代表实测值、最大值和最小值; ②使用公式 $d_{\min}=(M_{\max}-M_i)/(M_{\max}-M_{\min})$ 计算 Vit-Lips 粒径 $d_{\text{粒径}}$; ③按照 $OD=(d_{\text{包封率}} d_{\text{载药量}} d_{\text{粒径}})^{1/3}$ 计算 OD 值。BBD-RSM 试验设计及结果见表 5。

2.6.2 模型的建立以及分析 采用 Design Expert 软

件 (版本 V12.0) 对数据作拟合, 得 OD 值的 2 次多元回归方程: $Y_1=0.870-0.020 X_1-0.070 X_2-0.040 X_3+6.70 \times 10^{-4} X_1 X_2+0.080 X_1 X_3-0.240 X_2 X_3-0.450 X_1^2-0.170 X_2^2-0.330 X_3^2$, 作为 OD 值数学模型, 该模型 R_{adj}^2 和 R^2 分别为 0.997 8 和 0.995 0, 均大于 0.99, 说明拟合值和实验值关联性良好。方差分析结果见表 6, OD 值数学模型 $P<0.000 1$; 失拟项 F 值为 1.77, 其 P 值为 0.291 6, 无显著性差异, 表明该数学模型具有极显著性意义, 未知因素不会引起拟合结果出现较大偏差, 可靠性高。OD 值数学模型中 X_1 项具显著性差异 ($P<0.05$), X_2 、 X_3 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 项均具显著性差异 ($P<0.01$)。

2.6.3 效应面优化与预测 采用 Design Expert 软件

表 5 BBD-RSM 试验设计及结果 ($n=3$)

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

序号	X_1	X_2	X_3/min	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/nm	OD 值	序号	X_1	X_2	X_3/min	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/nm	OD 值
1	8 : 1 (0)	8.5 : 1 (-1)	40 (+1)	75.44	7.79	214.65	0.630	10	6 : 1	11.5 : 1 (+1)	30	76.72	6.12	206.97	0.205
2	6 : 1 (-1)	10.0 : 1 (0)	20 (-1)	72.91	6.56	246.98	0.200	11	8 : 1	11.5 : 1	20	76.95	6.03	241.64	0.579
3	8 : 1	10.0 : 1	30 (0)	81.26	7.33	198.50	0.836	12	8 : 1	11.5 : 1	40	74.26	5.95	211.63	0.000
4	8 : 1	10.0 : 1	30	83.56	7.45	205.11	0.883	13	10 : 1	11.5 : 1	30	76.42	5.99	234.75	0.149
5	6 : 1	10.0 : 1	40	70.70	6.32	210.82	0.000	14	6 : 1	8.5 : 1	30	71.57	7.36	206.55	0.348
6	10 : 1 (+1)	10.0 : 1	20	73.93	6.68	255.27	0.000	15	8 : 1	10.0 : 1	30	83.13	7.39	204.42	0.864
7	8 : 1	8.5 : 1	20	72.82	7.56	248.16	0.258	16	8 : 1	10.0 : 1	30	82.50	7.38	195.95	0.891
8	10 : 1	8.5 : 1	30	71.68	7.41	231.26	0.290	17	8 : 1	10.0 : 1	30	82.96	7.30	198.77	0.871
9	10 : 1	10.0 : 1	40	70.91	6.44	229.58	0.123								

表 6 方差分析

Table 6 Variance analysis

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.91	9	0.21	354.89	<0.000 1	X_1^2	0.87	1	0.87	1 448.96	<0.000 1
X_1	4.55×10^{-3}	1	4.55×10^{-3}	7.61	0.028 2	X_2^2	0.12	1	0.12	197.49	<0.000 1
X_2	0.04	1	0.04	73.64	<0.000 1	X_3^2	0.47	1	0.47	790.16	<0.000 1
X_3	9.95×10^{-3}	1	9.95×10^{-3}	16.63	0.004 7	残差	4.19×10^{-3}	7	5.98×10^{-4}		
$X_1 X_2$	1.80×10^{-6}	1	1.80×10^{-6}	3.01×10^{-3}	0.957 8	失拟项	2.39×10^{-3}	3	7.96×10^{-4}	1.77	0.291 6
$X_1 X_3$	0.03	1	0.03	43.46	0.000 3	纯误差	1.80×10^{-3}	4	4.50×10^{-4}		
$X_2 X_3$	0.23	1	0.23	378.19	<0.000 1	总差	1.91	16			

(版本 V12.0) 绘制 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 对 OD 值的三维图, 结果见图 4。随着 X_1 、 X_2 或 X_3 的增加, OD 值均呈先增大后下降趋势, 说明 X_1 、 X_2 或 X_3 的取值范围对 OD 值影响较大。以 OD 值最大值为优化目标, 得到 Vit-Lips 最佳处方工艺: 磷脂与胆固醇用量比 X_1 为 7.95 : 1、脂药用量比 X_2 为 9.63 : 1, 水化时间 X_3 为 30.31 min (修正为 30.00 min), 预测

OD 值为 0.908。

2.6.4 Vit-Lips 最佳工艺确认 按照“2.6.3”项确定的最佳处方工艺参数制备 3 批 Vit-Lips, 并考察其包封率、载药量和粒径, 结果见表 7, 平均包封率为 $(82.42 \pm 0.92) \%$, 平均载药量为 $(7.36 \pm 0.07) \%$, 平均粒径为 $(195.65 \pm 4.31) \text{nm}$ 。按照“2.6.1”项下计算方法, 实际 OD 值为 0.886 ± 0.030 。根据“2.6.3”

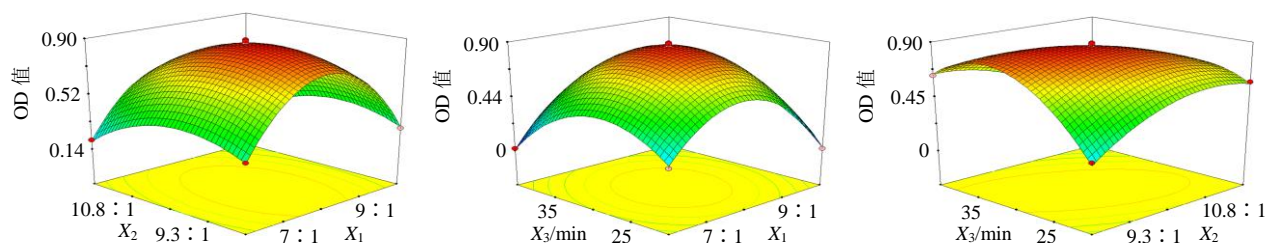


图4 各个因素与OD值的三维图

Fig. 4 Three-dimensional plot of independent factors and OD values

表7 处方验证结果

Table 7 Prescription verification results

批次	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
第1批	83.24±0.77	7.37±0.05	196.94±3.22
第2批	82.61±1.03	7.43±0.09	190.85±5.19
第3批	81.43±0.96	7.29±0.08	199.17±4.30

项下 Vit-Lips 最佳处方的预测 OD 值 (0.908), 实际 OD 值相对偏差仅-2.42%, 说明建立的 OD 值数学模型预测性能良好。

2.7 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的制备处方确定

采用 1% 乙酸溶液配制壳聚糖溶液, 备用。取 Gen-Lip 混悬液 10 mL, 缓慢加入壳聚糖溶液, 600 r/min 磁力搅拌 0.5 h, 静置 2 h 后 10 000 r/min 离心 (离心半径 6.8 cm) 10 min, 弃去上清液, 加入 pH 6.5 PBS 10 mL, 重悬, 测定 CS-Vit-Lips 的 ζ 电位。

采用 1% 乙酸溶液配制 DA/CS 溶液, 同法制备 DA/CS-Vit-Lips。结果见表 8, 壳聚糖溶液或 DA/CS

表8 壳聚糖或 DA/CS 质量分数对 CS-Vit-Lips 或 DA/CS-Vit-Lips ζ 电位的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Effects of chitosan or DA/CS concentration on CS-Vit-Lips or DA/CS-Vit-Lips ζ potential ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

壳聚糖/ %	CS-Vit-Lips ζ 电位/mV	DA/CS/ %	DA/CS-Vit-Lips ζ 电位/mV
0.5	-25.95±2.96	0.5	-19.88±1.86
0.6	-20.04±1.87	0.6	-14.94±1.01
0.7	4.90±0.58	0.7	0.66±2.23
0.8	30.22±1.91	0.8	20.53±2.31
1.0	30.45±1.50	1.0	20.85±1.84
1.2	30.68±1.44	1.2	21.02±1.79

表9 质量指标的测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Determination results of quality indicators ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
Vit-Lips	82.31±0.96	7.33±0.09	197.70±5.07	0.121±0.009	-28.81±0.86
CS-Vit-Lips	84.93±1.17	6.24±0.08	233.06±7.19	0.128±0.011	27.75±1.10
DA/CS-Vit-Lips	85.15±1.38	6.30±0.11	237.93±6.96	0.133±0.006	26.14±1.13

溶质量分数大于 0.8% 时, CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的 ζ 电位趋于稳定。为减少修饰剂用量, 故选择壳聚糖溶液或 DA/CS 溶液质量分数为 0.8% 分别制备 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips。

2.8 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 表征

2.8.1 粒径及 ζ 电位的测定 按照“2.4”项下测试方法, 分别测定 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的包封率、载药量、粒径、PDI 值和 ζ 电位, 结果见图 5 及表 9。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 包封率高于 Vit-Lips, 可能与脂质体表面的修饰层阻止了浅、表层药物泄漏有关, 同时也导致 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 粒径大于 Vit-Lips; CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 载药量低于 Vit-Lips, 主要

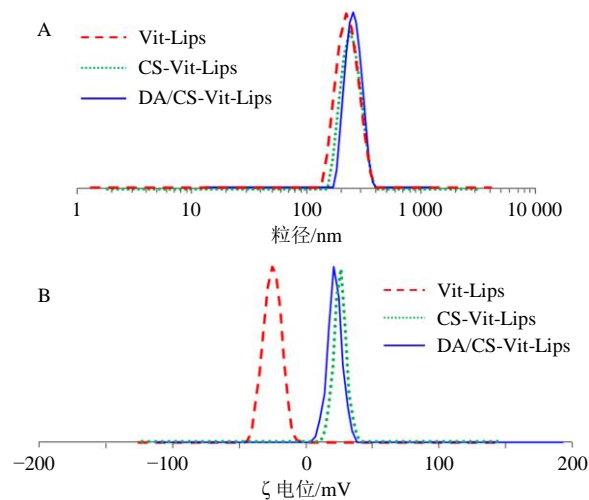


图5 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 粒径分布 (A) 和 ζ 电位 (B)

Fig. 5 Particle size distribution (A) and ζ potential (B) of Vit-Lips, CS-Vit-Lips and DA/CS-Vit-Lips

是由于 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 处方中分别引入了壳聚糖和 DA/CS 所致；Vit-Lips 的 ζ 电位为负值，而 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的 ζ 电位转变为正值，主要是由于壳聚糖是一种带正电荷的多糖，包覆在脂质体表面后引起电荷性质改变^[12]。

2.8.2 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察微观形态 分别取稀释后的 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液，滴至铜网上，铺展后用磷钨酸钠 (质量分数为 2%) 染色，晾干，使用 TEM 观察 3 种脂质体形貌。结果见图 6，Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 均为类圆形的囊泡。

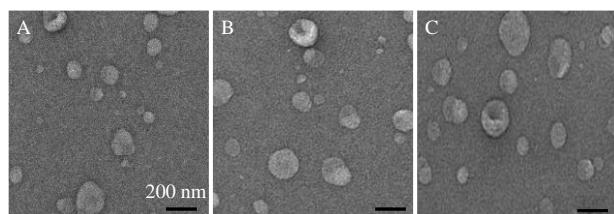


图 6 Vit-Lips (A)、CS-Vit-Lips (B) 和 DA/CS-Vit-Lips (C) 的 TEM 图

Fig. 6 TEM diagram of Vit-Lips (A), CS-Vit-Lips (B) and DA/CS-Vit-Lips (C)

2.9 大鼠在体单向肠灌流实验

2.9.1 Krebs-Ringer's (K-R) 缓冲液的配制 称取氯化钾 0.35 g、碳酸氢钠 1.37 g、氯化镁 0.02 g、氯化钠 7.8 g、氯化钙 0.37 g、磷酸二氢钠 0.32 g 和葡萄糖 1.4 g 置于 1.0 L 蒸馏水，超声溶解并摇匀，即得 K-R 缓冲液^[13]。

2.9.2 肠道对牡荆素物理吸附考察 取禁食过夜 SD 大鼠，ip 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉，打开腹腔，取小肠段，生理盐水冲出内容物，分别置于 37 °C 的牡荆素、Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 肠灌流液中，于 0、2 h 取样，测定牡荆素质量浓度。结果显示，孵育 2 h 后牡荆素质量浓度变化均小于 2.0%，证明肠段对牡荆素基本无吸附作用，不会对实验结果产生大的影响。

2.9.3 空白肠灌流液的制备及在体单向肠灌流实验 取禁食过夜 SD 大鼠，ip 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉，仰卧于保温垫上 (37 °C)，固定四肢，打开腹腔，分离十二指肠、空肠、回肠和结肠，生理盐水冲出内容物。用手术剪刀在各肠段剪开 1 个小口，但并未剪断，插管后用尼龙绳扎紧。用纱布覆盖大鼠腹部，并在纱布上滴加适量生理盐水，以保持脏

器的湿润环境。开启蠕动泵，K-R 缓冲液体积流量为 1.0 mL/min，平衡 15 min，再采用 K-R 缓冲液继续平衡 15 min (体积流量调整为 0.2 mL/min)，间隔 15 min 更换收集容器，记录质量，收集流出液即得空白肠灌流液，备用。取牡荆素、Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 灌流液同法操作，灌流完毕后剪下各肠段，测量内径及长度。重量法对流出液体积进行校正，将各个样品以 8000 r/min 离心 (离心半径 6.8 cm) 15 min，按照“2.3.1”项下色谱条件测定牡荆素质量浓度，计算吸收速率常数 (K_a) 和表观吸收系数 (P_{app})^[14-15]。

$$K_a = (1 - C_{out}V_{out}/C_{in}V_{in})Q/2\pi r l$$

$$P_{app} = Q \ln(C_{out}V_{out}/C_{in}V_{in})/2\pi r l$$

C_{in} 、 V_{in} 分别为流进灌流液质量浓度、体积， C_{out} 、 V_{out} 分别为流出灌流液质量浓度、体积； Q 为灌流液体积流量， r 、 l 分别为肠段内径、长度

2.9.4 肠灌流溶液的配制 取牡荆素适量，加入 0.5% CMC-Na 溶液助悬，采用空白肠灌流液稀释至 80 μ g/mL，即得牡荆素肠灌流液。取 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液适量，采用空白肠灌流液稀释分别至 80 μ g/mL，即得 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 肠灌流液。各个灌流液均临用现配，按照“2.9.3”项下方法进行实验，计算 K_a 和 P_{app} 值。

2.9.5 实验结果 牡荆素及 3 种脂质体 K_a 和 P_{app} 测定结果见表 10。牡荆素在十二指肠、空肠、回肠和结肠的 K_a 和 P_{app} 值均极低，这与牡荆素本身水溶性及脂溶性较差有关，难以透过肠道屏障进入血液循环，是牡荆素生物利用度较低的重要原因。与牡荆素十二指肠、空肠、回肠和结肠的 K_a 和 P_{app} 值相比，Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的 K_a 和 P_{app} 值均得到极显著性改善 ($P < 0.01$)，表明 3 种脂质体均可改善牡荆素肠道吸收。与 Vit-Lips 的 K_a 和 P_{app} 值相比，CS-Vit-Lips 在各个肠段的 K_a 和 P_{app} 值均有显著性差异 ($P < 0.05$)；DA/CS-Vit-Lips 在十二指肠和空肠有显著性增加 ($P < 0.05$)，而在回肠和结肠段有极显著性增加 ($P < 0.01$)，可能是 ASBT 主要分布于回肠和结肠段，DA/CS-Vit-Lips 可在 ASBT 介导的细胞内吞作用快速进入血液循环，从而增加了牡荆素肠吸收。与 CS-Vit-Lips 相比，DA/CS-Vit-Lips 的 P_{app} 在回肠和结肠也有显著性或极显著性增加 ($P < 0.05$ 、0.01)，证明 DA/CS 修饰更能促进牡荆素肠吸收。

表 10 牡荆素原料药及 3 种脂质体 K_a 和 P_{app} 测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 10 K_a and P_{app} values of vitexin and its three kinds of liposomes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

肠段	牡荆素原料药		Vit-Lips		CS-Vit-Lips		DA/CS-Vit-Lips	
	$K_a/(\times 10^{-6} \text{ s}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$	$K_a/(\times 10^{-5} \text{ s}^{-1})$	$P_{app}/(\times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$
十二指肠	3.31 ± 1.80	3.35 ± 1.58	0.95 ± 0.44**	1.38 ± 0.69**	1.77 ± 0.70**#	1.88 ± 0.99**#	1.83 ± 0.70**#	1.93 ± 0.73**#
空肠	6.63 ± 3.36	6.76 ± 2.94	1.14 ± 0.42**	1.18 ± 0.77**	1.59 ± 0.35**#	1.65 ± 0.73**#	1.54 ± 0.35**#	1.72 ± 0.58**#
回肠	4.14 ± 0.25	4.21 ± 2.36	1.15 ± 0.56**	1.20 ± 0.74**	1.51 ± 0.49**#	1.78 ± 0.84**#	4.64 ± 0.49**##	5.44 ± 2.14**##ΔΔ
结肠	2.98 ± 0.29	3.01 ± 1.87	1.02 ± 0.47**	1.05 ± 0.58**	1.49 ± 0.56**#	1.75 ± 0.78**#	2.32 ± 0.56**##	2.50 ± 1.08**##Δ

与牡荆素原料药比较: ** $P < 0.01$; 与 Vit-Lips 比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与 CS-Vit-Lips 比较: Δ $P < 0.01$ ΔΔ $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs vitexin bulk drug; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs Vit-Lips; Δ $P < 0.05$ ΔΔ $P < 0.01$ vs CS-Vit-Lips.

2.10 3 种脂质体冻干粉体的制备

取 0.5 g 甘露醇和 0.3 g 乳糖，置于适量纯化水中，超声得到澄清溶液，加入 Vit-Lips 混悬液，震荡混匀后加纯化水，使甘露醇和乳糖总质量分数为 5%，分装至西林瓶中，-45 °C 预冻 2 d 后冷冻干燥 2 d，即得 Vit-Lips 冻干粉。添加冻干机升温程序，在 3 h 内缓慢升温至 25 °C，保存 3 h 后取出后密封。同法制备 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉，外观见图 7。Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 混悬液均有乳光，各自冻干粉色泽均一，外观饱满。



图 7 Vit-Lips (A) 及其冻干粉 (a)、CS-Vit-Lips (B) 及其冻干粉 (b)、DA/CS-Vit-Lips (C) 及其冻干粉 (c) 外观

Fig. 7 Appearance of Vit-Lips (A) and its lyophilized powder (a), CS-Vit-Lips (B) and its lyophilized powder (b), and DA/CS-Vit-Lips (C) and its lyophilized powder (c)

2.11 3 种脂质体冻干粉粒径稳定性考察

取 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉适量，加入 10 mL pH 2.0 PBS 复溶，转移至透析袋（平均截留相对分子质量为 8 000）中，尼龙绳扎紧，置于 900 mL、pH 2.0 PBS 中，开启溶出仪，溶出杯外部水温设置为 37 °C，转速为 75 r/min，分别于 0、1、2 h 在透析袋中取样 0.5 mL，静置 2 h 后取上清液测定粒径。2 h 后将释药介质更换为 900 mL、pH 6.8 PBS，同法进行实验，分别于 3、4、6、8、12 h 在透析袋中取样 0.5 mL，同法测定粒径。结果见图 8，Vit-Lips 在 4 h 时平均粒径已大于

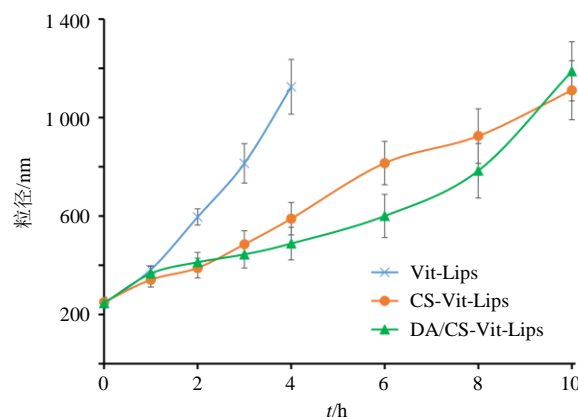


图 8 3 种脂质体冻干粉粒径稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Particle size stability of three kinds of liposome lyophilized powders ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

1 000 nm，表明 Vit-Lips 粒径稳定性不高。

CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 在 10 h 时平均粒径大于 1 000 nm，在 3~8 h 时间段 DA/CS-Vit-Lips 平均粒径小于 CS-Vit-Lips，说明 DA/CS-Vit-Lips 稳定性高于 CS-Vit-Lips。可能是 DA/CS 分子量及网络空间大于壳聚糖，所以 DA/CS 修饰 DA/CS-Vit-Lips 更利于维持其囊泡结构。

2.12 3 种脂质体冻干粉体外释药研究

取牡荆素原料药、Vit-Lips 冻干粉、CS-Vit-Lips 冻干粉和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉适量，使牡荆素含量均为 5 mg，加入 5 mL pH 2.0 PBS（含 1% SDS），密封至透析袋中（平均截留相对分子质量为 8 000）。使用 900 mL、pH 2.0 PBS（含 1% SDS）作为介质，溶出杯外部水温设置为 37 °C，开启溶出仪，转速为 75 r/min，于 0、0.5、1、2 h 取样 5 mL，每次取样后补充 5 mL 的 pH 2.0 PBS（含 1% SDS）。2 h 后立即将释药介质更换为 900 mL、pH 6.8 PBS（含 1% SDS），于 3、4、6、8、12、18、24 h 取样 5 mL，每次取样后补充 5 mL、pH 6.8 PBS（含 1% SDS）。

10 000 r/min 离心 5 min, 测定上清液中牡荆素含量, 计算各点累积释放度。结果见图 9, 牡荆素原料药在释药介质中释放度较低, 是牡荆素生物利用度较低的重要原因。Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 分别将牡荆素累积释放度至 91.02%、86.74% 和 83.15%, 有助于改善牡荆素体内吸收瓶颈。与 Vit-Lips 释药行为相比, CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 缓释行为更为明显, 主要与表面的修饰层有关, 增加了牡荆素的释药阻力^[9]。释药模型拟合结果见表 11, Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 释药过程与 Weibull 模型拟合度最高, 说明牡荆素的 3 种脂质体体外释药过程均含快速、缓慢释药过程^[7]。

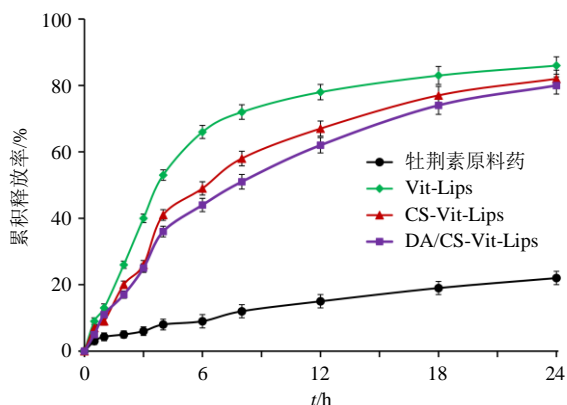


图 9 牡荆素 3 种脂质体释放曲线的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 9 Comparison of release profiles of three kinds of vitexin liposomes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.13 3 种脂质体冻干粉稳定性研究

取密封于西林瓶的 Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉样品, 置于温度为 35 °C、相对湿度为 65% 的恒温恒湿箱中, 分别于 0、1、2、3、6 个月取样, 加入纯化水复溶后测定包封率, 并计算渗漏率。取适量纯化水复溶后样品测定粒径, 结果见表 12。Vit-Lips 冻干粉在第 6 个月时渗漏率接近 9%, 而 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉渗漏率不足 2%; Vit-Lips 冻干粉在第 6 个月时粒径大于 300 nm, 而 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉粒径均小于 270 nm。数据表明, CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉稳定性高于 Vit-Lips 冻干粉, 可能是由于 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 表面的修饰层有关, 利于提高储存稳定性^[12]。

渗漏率 = (新制备测得的包封率 - 储存过程中测得的包封率) / 新制备测得的包封率

2.14 牡荆素及其 3 种脂质体冻干粉的口服药动学研究

2.14.1 分组、给药剂量及取血方案 将禁食 12 h 的 24 只 SD 大鼠随机分为牡荆素原料药组、Vit-Lips 冻干粉组、CS-Vit-Lips 冻干粉组和 DA/CS-Vit-Lips 冻干粉组, 按照 20 mg/kg (以牡荆素计) 剂量 ig 给药^[16]。分别于 0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12 h 眼眶后静脉丛取血, 血样置于肝素浸润离心管中, 3 000 r/min 离心 (离心半径为 6.8 cm) 2 min,

表 11 药物释放模型和相关系数

Table 11 Drug release model and correlation coefficient

模型	Vit-Lips		CS-Vit-Lips		DA/CS-Vit-Lips	
	拟合方程	R ²	拟合方程	R ²	拟合方程	R ²
零级模型	$M_t/M_\infty = 0.075 2 t + 0.214 3$,	0.820 5	$M_t/M_\infty = 0.071 8 t + 0.144 2$	0.884 4	$M_t/M_\infty = 0.070 3 t + 0.116 0$	0.906 8
一级模型	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.249 0 t - 0.109 9$	0.973 9	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.174 2 t - 0.065 0$	0.978 1	$\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.155 8 t - 0.040 0$	0.984 1
Higuchi 模型	$M_t/M_\infty = 0.300 8 t^{1/2} + 0.005 2$	0.951 2	$M_t/M_\infty = 0.278 8 t^{1/2} - 0.038 7$	0.968 1	$M_t/M_\infty = 0.269 7 t^{1/2} + 0.056 3$	0.968 6
Weibull 模型	$\ln \ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.782 6 \ln t - 2.000 7$	0.996 4	$\ln \ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 1.008 5 \ln t - 1.686 6$	0.988 8	$\ln \ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 1.032 7 \ln t - 1.869 4$	0.989 9

t 为时间, M_t/M_∞ 为 t 时间累积释放百分率, M_∞ 为 ∞ 时累积释放度, M_t 为 t 时间累积释放度。

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

表 12 3 种牡荆素脂质体冻干粉的稳定性考察结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 12 Stability investigation results of three kinds of vitexin liposome lyophilized powders ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	渗漏率/%					粒径/%				
	0 个月	1 个月	2 个月	3 个月	6 个月	0 个月	1 个月	2 个月	3 个月	6 个月
Vit-Lips	1.22 ± 0.05	2.00 ± 0.07	3.47 ± 0.26	6.34 ± 0.41	8.96 ± 0.68	206.77 ± 5.24	210.61 ± 6.78	232.08 ± 7.48	268.82 ± 9.60	313.44 ± 11.73
CS-Vit-Lips	1.14 ± 0.08	1.26 ± 0.05	1.53 ± 0.09	1.70 ± 0.12	1.85 ± 0.10	236.90 ± 6.99	244.16 ± 5.25	249.38 ± 6.91	248.55 ± 8.64	257.19 ± 9.17
DA/CS-Vit-Lips	1.17 ± 0.09	1.29 ± 0.11	1.45 ± 0.08	1.68 ± 0.13	1.77 ± 0.15	243.65 ± 7.25	250.18 ± 6.14	253.60 ± 9.20	258.03 ± 8.06	261.71 ± 8.69

防止溶血,取血浆至空白离心管,作好标记后冷冻保存。

2.14.2 血浆样品的处理过程 取100 μL 血浆样品、0.5 mL 甲醇和20 μL 大黄素内标溶液(1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 甲醇配制)置于离心管中,密封,涡旋2 min 得混悬液,8 500 r/min 离心(离心半径6.8 cm)5 min,弃去沉淀物,将上清液使用氮气缓慢吹干。残渣加入100 μL 混合溶剂(甲醇-0.2%甲酸水溶液95:5)复溶,8 500 r/min 离心(离心半径6.8 cm)5 min,即得。

2.14.3 线性关系考察 取健康SD大鼠,ip 戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后心脏取血,置于肝素浸润离心管中,3 000 r/min 离心(离心半径为6.8 cm)2 min,得空白血浆,备用。采用甲醇配制质量浓度分别为2 000、1 000、500、100、50、25 ng/mL 牡荆素对照品溶液,分别精密取100 μL 至离心管中,使用氮气缓慢吹干,加入100 μL 空白血浆超声5 min 复溶,分别精密取100 μL ,按照“2.14.2”项下处理方法处理得到质量浓度分别为2 000、1 000、500、100、50、25 ng/mL 牡荆素血浆对照品溶液(含内标),取20 μL 上清液,按照“2.3.1”项下色谱系统测定牡荆素和大黄素峰面积,计算两者峰面积比(Y),以牡荆素质量浓度(X)对 Y 进行线性回归,得回归方程 $Y=0.0022X-0.1904$, $r=0.9970$,结果表明牡荆素在25~2 000 ng/mL 线性关系良好。

2.14.4 专属性考察 取100 μL 空白血浆,按照“2.14.2”项下方法处理得到空白血浆溶液,另取牡荆素血浆对照品溶液(25 ng/mL)和牡荆素组12 h 的血浆样品溶液,按照“2.3.1”项下色谱系统进样测定,色谱图见图10,牡荆素和大黄素均不受杂质色谱峰干扰,专属性高。

2.14.5 精密度考察 吸取牡荆素质量浓度分别为2 000、500、25 ng/mL 血浆对照品溶液,分别连续测试6次,记录牡荆素和大黄素峰面积,两者峰面积比值的RSD分别为2.69%、5.44%、7.21%,结果表明该仪器精密度良好。

2.14.6 稳定性考察 配制牡荆素质量浓度为500 ng/mL 质控样品(含大黄素内标),于制备后0、2、4、6、12、18 h 分别进样测定牡荆素和大黄素峰面积,两者峰面积比值的RSD为7.76%,结果表明血浆样品在18 h 内稳定性良好。

2.14.7 重复性考察 配制牡荆素质量浓度为500 ng/mL 质控样品(含大黄素内标),平行制备6份供

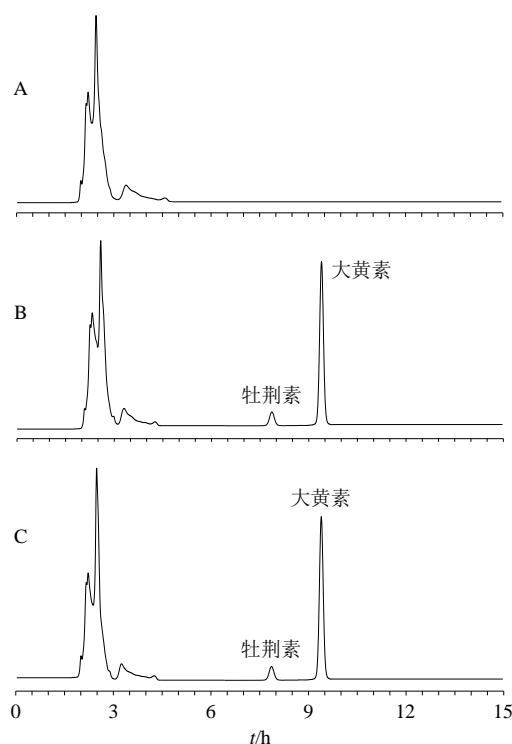


图10 空白血浆(A)、血浆样品(B)和血浆对照品(C)的HPLC图

Fig. 10 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B) and plasma reference substance (C)

试品溶液,测定牡荆素和大黄素峰面积,带入随行标准曲线计算牡荆素质量浓度。结果显示,牡荆素质量浓度的RSD为5.06%,结果表明该实验重复性良好。

2.14.8 加样回收率考察 使用甲醇配制质量浓度为2 000、500、25 ng/mL 的牡荆素对照品溶液,分别取100 μL ,分别加入20 μL 大黄素内标溶液(1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)置于离心管中,氮气缓慢吹干,分别加入100 μL 空白血浆,超声5 min 复溶得混悬液,按照“2.14.2”项下处理方法处理后得到质量浓度分别为2 000、500、25 ng/mL 牡荆素质控血浆样品溶液(含内标)。分别取20 μL 上清液,按照“2.3.1”项下色谱系统测定牡荆素和大黄素峰面积,带入随行标准曲线计算牡荆素测得质量浓度,与实际质量浓度对比计算回收率。牡荆素平均回收率为101.55% ($n=9$),RSD为6.85%,表明准确度较高。

2.14.9 药动力学结果 牡荆素、Vit-Lips、CS-Vit-Lips和DA/CS-Vit-Lips的药动力学曲线见图11。使用3P97药动力学软件对实验数据进行处理,结果见表13。与牡荆素原料药相比,Vit-Lips的 C_{max} 显著增大($P<0.05$),但 AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 无显著性差异,Vit-Lips

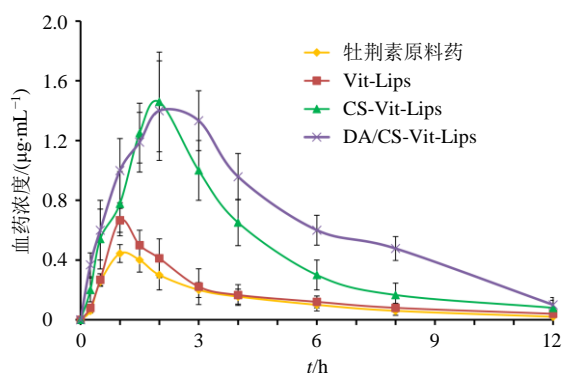


图 11 牡荆素原料药、Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 11 Profiles of plasma concentration-time of vitexin bulk drug, Vit-Lips, CS-Vit-Lips, DA/CS-Vit-Lips ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 13 牡荆素原料药、Vit-Lips、CS-Vit-Lips、DA/CS-Vit-Lips 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 13 Pharmacokinetic parameters of vitexin bulk drug, Vit-Lips, CS-Vit-Lips, DA/CS-Vit-Lips ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	牡荆素原料药	Vit-Lips	CS-Vit-Lips	DA/CS-Vit-Lips
t_{max}	h	0.96 ± 0.17	0.98 ± 0.12	2.03 ± 0.39 ^{**###}	2.64 ± 0.58 ^{**###}
$t_{1/2}$	h	2.17 ± 0.24	2.31 ± 0.32	4.23 ± 0.36 ^{**###}	5.85 ± 0.79 ^{**###Δ}
MRT	h	2.74 ± 0.29	3.02 ± 0.37	5.84 ± 0.51 ^{**###}	7.59 ± 1.04 ^{**###Δ}
C_{max}	ng·mL ⁻¹	442.58 ± 60.55	670.06 ± 104.22 [*]	1 426.77 ± 164.03 ^{**###}	1 396.72 ± 201.85 ^{**###}
AUC_{0-t}	ng·h·mL ⁻¹	1 654.13 ± 252.90	1 813.16 ± 372.37	5 098.26 ± 1423.08 ^{**###}	7 770.85 ± 1 621.47 ^{**###Δ}
$AUC_{0-∞}$	ng·h·mL ⁻¹	1 682.54 ± 273.79	1 994.21 ± 313.43	5 304.99 ± 1690.41 ^{**###}	7 949.73 ± 1 779.85 ^{**###Δ}

与牡荆素原料药比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 Vit-Lips 比较: ^{###} $P < 0.01$; 与 CS-Vit-Lips 比较: ^Δ $P < 0.05$ 。

^{**} $P < 0.01$ vs vitexin bulk drug; ^{###} $P < 0.01$ vs Vit-Lips; ^Δ $P < 0.05$ vs CS-Vit-Lips.

选择磷脂与胆固醇用量比、脂药用量比和水化时间作为 Vit-Lips 主要影响因素, 采用包封率、载药量和粒径的归一值作为 Vit-Lips 优化指标, 并使用 Box-Behnken 响应面法对 Vit-Lips 处方工艺进行了精确优化, 最终筛选出包封率及载药量相对较高、且粒径相对较小的 Vit-Lips 处方工艺, 为后续体内、外评价奠定了实验基础。

普通脂质体在机体胃肠道中稳定性差, 易导致药物泄露, 极大影响了脂质体促进药物溶出、增加药物体内吸收等作用^[12], 所以提高普通脂质体在胃肠道中的结构稳定性至关重要。本研究分别制备了壳聚糖修饰的 CS-Vit-Lips 和 DA/CS 修饰的 DA/CS-Vit-Lips, 通过研究发现 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 结构稳定性大于 Vit-Lips, 主要得益于 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 表面修饰层提供了较大的空间位阻, 形成一层水化膜及“构象云”^[9], 降低了介质、消化酶等因素对脂质体结构的破坏作用。DA/CS-Vit-Lips 结构稳定性高于 CS-Vit-Lips, 为进一步

相对口服吸收生物利用度小幅度增加至 1.10 倍。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 各个药动学参数均有极显著性变化 ($P < 0.01$), 相对口服吸收生物利用度分别 3.08 倍和 4.70 倍, 提高幅度远大于 Vit-Lips。与 CS-Vit-Lips 相比, DA/CS-Vit-Lips 的 $t_{1/2}$ 、MRT、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-∞}$ 均有显著性提高 ($P < 0.05$), 说明 DA/CS-Vit-Lips 长循环效果更具优势, 且促吸收作用大于 CS-Vit-Lips。

3 讨论

药物与磷脂在有机溶剂中可能形成药物-磷脂复合物^[17], 该复合物极大提高了药物与脂质体材料的亲和性, 因此将药物与磷脂等材料在有机溶剂中搅拌一定时间利于提高包封率。但由于磷脂热稳定性不高, 搅拌时间不易过长。参考单因素考察结果,

增加牡荆素体内吸收奠定基础。

由于牡荆素存在水溶性差、粒度大等自身缺陷, 导致释药速率及释放度均较低。Vit-Lips、CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 极大提高了牡荆素的释药速率及释放度, 根据奥斯瓦尔德方程可知, 药物溶解度与粒度直接相关, 由于 3 种脂质体使药物粒度转变为纳米级别, 进而对牡荆素溶解度及释放行为产生积极影响^[3]。

Vit-Lips 作为一种普通脂质体, 结构稳定性较差, 故药物释放相对容易, 导致释药速率和累积释放度相对较高。与 Vit-Lips 相比, CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 的缓释特征更明显, 这是由于壳聚糖和 DA/CS 修饰层提供了较大的空间位阻, 覆盖在 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 表面后增加了释药阻力, 故影响了释药速率和累积释放度。DA/CS 相对分子质量大于壳聚糖, 所以 DA/CS 提供的阻滞作用比壳聚糖更大, 导致 DA/CS-Vit-Lips 缓释特征比 CS-Vit-Lips 更明显, 可能会进一步影响牡荆素

体内药动学行为^[18]。由于 DA/CS-Vit-Lips 在机体胃肠道中释药影响因素较多,建立的体外释药方法无法完全模拟体内实际释药行为,因此研究 DA/CS-Vit-Lips 体外释药与体内药物吸收之间的相关性,需全面分析 DA/CS-Vit-Lips 释药的影响因素、机体胃肠道的真实环境等,后续还需进一步完善体外释药的分析方法。

口服药动学研究显示, Vit-Lips 在一定程度上增加了牡荆素的口服吸收,仅小幅度增加至 1.10 倍。这是由于普通脂质体极易受到胃肠道消化酶、内容物、pH 值等因素影响,使脂质体结构遭到破坏,最终影响了脂质体对药物的保护作用及促吸收作用^[19]。CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 相对口服吸收生物利用度增加分别至 3.08 倍和 4.70 倍,增加幅度远大于 Vit-Lips,可能是由于 Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 表面修饰层降低了肠道环境对脂质体结构的破坏几率,利于发挥脂质体促吸收作用;牡荆素被包裹在脂质体内部,提高了药物稳定性,利于增加药物体内吸收量^[20]。

牡荆素的释放度得到极大改善,解决了体内吸收瓶颈;CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 属于胶体给药系统,较小的粒径极大增加了牡荆素与胃肠道接触面积,增加了药物吸收几率^[21-22],因而 CS-Vit-Lips 和 DA/CS-Vit-Lips 最终有效增加了牡荆素的口服吸收。与 CS-Vit-Lips 相比,DA/CS-Vit-Lips 的药动学行为发生了更大变化,其中 $t_{1/2}$ 和 MRT 显著性延长 ($P < 0.05$),可能是由于肠道的 ASBT 与脱氧胆酸亲和力较高,ASBT 介导吸收途径有助于克服肠道的屏障,从而极大提高了 DA/CS-Vit-Lips 吸收效率^[23],使后期血药浓度增加,导致 $t_{1/2}$ 和 MRT 发生极大变化,表现出更明显的长循环特征,同时也使 DA/CS-Vit-Lips 的 $AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim \infty}$ 显著性高于 CS-Vit-Lips,极大增加了药物吸收量^[24-25]。DA/CS-Vit-Lips 促吸收作用优于 CS-Vit-Lips,证明采用 DA/CS 修饰脂质体的必要性和可行性,因而 DA/CS-Vit-Lips 更具有研究开发价值。

本研究完成了 DA/CS-Vit-Lips 处方工艺优化,具有包封率高、缓释特征、储存稳定性良好等优势,与 CS-Vit-Lips 相比 DA/CS-Vit-Lips 进一步促进了牡荆素口服吸收,为脱氧胆酸修饰纳米给药系统研究提供了借鉴价值。将来继续对 DA/CS-Vit-Lips 药效、毒性等进行评价^[26],以进一步丰富 DA/CS-Vit-Lips 研究资料,为成药性评价提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 盛亚男,王长远. 牡荆素预防和治疗疾病作用机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(17): 2156-2161.
- [2] 王杰,荀航,袁海华,等. 基于网络药理学和铁死亡探讨牡荆苷改善心肌缺血再灌注损伤的潜在作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(5): 1123-1133.
- [3] 曹霞. 微流控技术牡荆素脂质体的制备及光热和光动力协同抗肿瘤研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2022.
- [4] 王媛媛. 山楂叶提取物磷脂复合物的构建及其口服生物利用度研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [5] Gu C B, Liu Z W, Yuan X H, *et al.* Preparation of vitexin nanoparticles by combining the antisolvent precipitation and high pressure homogenization approaches followed by lyophilization for dissolution rate enhancement [J]. *Molecules*, 2017, 22(11): 2038.
- [6] 王强. 牡荆素白蛋白纳米粒的制备及其药动学研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2023.
- [7] 王丽,高小玲,李思翰,等. 五味子乙素-磷脂酰胆碱复合物制备工艺优化及理化性质研究 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(7): 2115-2123.
- [8] 刘艳菊,武月丹,位小杰,等. 包载金丝桃苷的磷脂酰胆碱/壳聚糖自组装纳米粒的制备、表征及其口服药动学研究 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 819-830.
- [9] 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.
- [10] 姚杰,姬新颖,张体鹏,等. 聚乙二醇和八聚精氨酸双修饰漆黄素脂质体的制备、表征及体内外评价 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1564-1579.
- [11] Razmjooei M, Hosseini S M H, Yousefi G, *et al.* Exploiting apical sodium-dependent bile acid transporter (ASBT)-mediated endocytosis with multi-functional deoxycholic acid grafted alginate amide nanoparticles as an oral insulin delivery system [J]. *Pharm Res*, 2024, 41(2): 335-353.
- [12] 王涛丽,李登云,张莉,等. 壳聚糖包覆芒果苷脂质体的制备、表征及口服药动学评价 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(18): 2122-2128.
- [13] 彭紫薇,黄嘉怡,李花花,等. 基于在体单向肠灌注法探究滑膜炎颗粒的肠吸收特性 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(10): 2343-2350.
- [14] 刘羿廷,马旭彤,王继林,等. 黄芩苷-小檗碱复合物纳米晶的制备和在体肠吸收评价 [J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(1): 102-107.
- [15] 郭娅丽,文丽梅,代武,等. 松果菊苷自微乳给药系统的制备及在体肠吸收特性研究 [J]. 中草药, 2025,

- 56(18): 6569-6579.
- [16] 崔升淼, 魏秀芳, 张建, 等. HPLC-MS/MS 测定血浆中的牡荆素及其大鼠体内药动学研究 [J]. 中药材, 2012, 35(7): 1120-1123.
- [17] 房伟, 王奎鹏, 韩德恩. 漆黄素纳米结构脂质载体制备及其体内药动学评价 [J]. 中成药, 2025, 47(6): 1796-1804.
- [18] 夏志丹, 张忠元. 载木犀草素纳米胶束的制备及其大鼠体内药动学研究 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(10): 2179-2185.
- [19] 陈晓敏, 曹伶俐, 崔伟锋. 脂质体包覆的辣椒素介孔二氧化硅纳米粒的制备、药动学和胃黏膜刺激性评价 [J]. 中草药, 2025, 56(15): 5393-5406.
- [20] 杨丽萍, 王海军, 李伟宏, 等. 载芒果苷的氨基修饰介孔二氧化硅纳米粒的制备及口服药动学评价 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2542-2552.
- [21] 李秋艳, 谢鹏. 硝苯地平纳米晶体的制备及其在大鼠体内的药动学评价 [J]. 中国药师, 2024, 27(4): 570-579.
- [22] 郭亚利, 董晓函, 李阳杰. 基于“药辅合一”的茶皂素-金合欢素纳米混悬剂制备及其药动学与调血脂作用研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2233-2246.
- [23] 李帅男, 赵春英, 孙长山, 等. 脱氧胆酸修饰姜黄素口服脂质体的制备及药物动力学评价 [J]. 沈阳药科大学学报, 2025, 42(7): 608-614.
- [24] Deng F Y, Bae Y H. Effect of modification of polystyrene nanoparticles with different bile acids on their oral transport [J]. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2023, 48: 102629.
- [25] Ma Y H, Wang W, Li C H, *et al.* Ursodeoxycholic acid-decorated zwitterionic nanoparticles for orally liver-targeted close-looped insulin delivery [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(7): 2302677.
- [26] 叶倩, 汪祺, 林志, 等. *N*-亚硝基二甲胺和 *N*-亚硝基二乙胺的小鼠重复给药毒性及遗传毒性研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 57-67.

[责任编辑 郑礼胜]