

# 基于“药辅合一”理念薯蓣皂苷元-莱鲍迪苷 A 自组装胶束的制备、药动学及降血糖作用评价

蔡理军<sup>1</sup>, 王海军<sup>2</sup>, 张莉<sup>1</sup>, 丁书明<sup>1</sup>, 决利利<sup>3\*</sup>

1. 郑州工业应用技术学院, 河南 郑州 451100

2. 中国人民解放军联勤保障部队第九八八医院, 河南 郑州 450000

3. 周口职业技术学院, 河南 周口 466001

**摘要:** 目的 以莱鲍迪苷 A 为载体制备薯蓣皂苷元自组装胶束(diosgenin-rebaudioside A self-assembled nanomicelles, Dio-Reb A-SNM), 考察体内口服药动学及降血糖作用。方法 单因素实验考察 Dio-Reb A-SNM 处方工艺。选择莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比、薯蓣皂苷元质量浓度和超声时间为主要影响因素, 包封率和载药量的总评归一值为优化指标, 采用 Box-Behnken 设计-效应面法(Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM)优化 Dio-Reb A-SNM 处方工艺。透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)观察 Dio-Reb A-SNM 微观形态, X-射线粉末衍射法(X-ray powder diffraction, XRPD)分析薯蓣皂苷元在 Dio-Reb A-SNM 粉末中的晶型。考察 Dio-Reb A-SNM 在不同 pH 值介质中的饱和溶解度及体外释药行为。SD 大鼠分别 ig 给予薯蓣皂苷元和 Dio-Reb A-SNM, 测定血药浓度, 计算 Dio-Reb A-SNM 相对生物利用度。构建大鼠 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)模型, 比较薯蓣皂苷元和 Dio-Reb A-SNM 对 T2DM 大鼠血糖、血清天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、尿素氮和肌酐水平的影响。HE 染色法观察大鼠肝、肾病理情况。结果 Dio-Reb A-SNM 最佳处方: 莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比为 12.32:1, 薯蓣皂苷元质量浓度为 1.97 mg/mL, 超声时间为 20.20 min。Dio-Reb A-SNM 的包封率、载药量、粒径及  $\zeta$  电位分别为  $(93.59 \pm 0.63)\%$  和  $(5.65 \pm 0.07)\%$ 、 $(25.66 \pm 1.76)$  nm 和  $(-24.59 \pm 1.18)$  mV。Dio-Reb A-SNM 外貌为类球形, 薯蓣皂苷元在 Dio-Reb A-SNM 粉末中转变为无定形态。Dio-Reb A-SNM 极大提高了薯蓣皂苷元在不同 pH 介质中的饱和溶解度。Dio-Reb A-SNM 体外释药具有缓释特征, 18 h 内累积释放度提高至 90.94%, 释药过程符合 Weibull 模型。药动学结果显示, Dio-Reb A-SNM 的达峰时间( $t_{\max}$ )提前至  $(2.06 \pm 0.29)$  h, 半衰期( $t_{1/2}$ )延长至  $(8.39 \pm 1.94)$  h, 达峰浓度( $C_{\max}$ )和相对生物利用度分别增加至 3.59 倍和 6.82 倍。与薯蓣皂苷元(30 mg/kg)相比, Dio-Reb A-SNM(30 mg/kg)可使 T2DM 大鼠第 4 周血糖极显著下降( $P < 0.01$ ), 血清中 AST、ALT、尿素氮、肌酐水平均极显著降低( $P < 0.01$ ), 且肝、肾病理损伤进一步减轻。结论 Dio-Reb A-SNM 显著促进了薯蓣皂苷元口服吸收, 并提高了体内降血糖药效。

**关键词:** 薯蓣皂苷元; 莱鲍迪苷 A; 自组装胶束; Box-Behnken 设计-效应面法; 药动学; 生物利用度; 降血糖作用

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)16-6329-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.010

## Preparation, pharmacokinetics and hypoglycemic effects evaluation of diosgenin-rebaudioside A self-assembled nanomicelles based on “combined drug-excipient” strategy

CAI Lijun<sup>1</sup>, WANG Haijun<sup>2</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, DING Shuming<sup>1</sup>, JUE Lili<sup>3</sup>

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

2. The 988th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the People's Liberation Army, Zhengzhou 450000, China

3. Zhoukou Vocational Technical College, Zhoukou 466001, China

**Abstract: Objective** To prepare diosgenin-rebaudioside A self-assembled nanomicelles (Dio-Reb A-SNM), and evaluate its oral

收稿日期: 2026-01-12

基金项目: 河南省科技厅软科学研究项目(252400410062); 河南省高等学校重点科研项目计划(23B310010)

作者简介: 蔡理军(1991—), 男, 汉族, 高级实验师, 研究方向为临床药学及解剖学研究。Tel: (0371)62623434 E-mail: 2090512870@qq.com

\*通信作者: 决利利(1984—), 女, 汉族, 硕士, 副教授, 主要从事药动学及解剖学研究。Tel: (034)8218121 E-mail: 147374991@qq.com

pharmacokinetics and hypoglycemic effects *in vivo*. **Methods** Single factor experiment was employed to investigate the prescriptions of Dio-Reb A-SNM. The amounts ratio of rebaudioside A to diosgenin, diosgenin concentration and ultrasonic time were selected as main influencing factor, the overall desirability of envelopment efficiency and drug loading was employed as optimization index, and Box-Behnken response surface design method (BBD-RSM) was employed to optimize prescriptions of Dio-Reb A-SNM. Transmission electron microscope (TEM) was employed to observe the microscopic appearance of Dio-Reb A-SNM, and X-ray powder diffraction (XRPD) was employed to analyze the crystal form of diosgenin in Dio-Reb A-SNM powder. The saturated solubility and release behavior of Dio-Reb A-SNM were determined in different pH media. SD rats were administered intragastrically with diosgenin and Dio-Reb A-SNM, respectively. Blood drug concentration was determined, and the relative oral bioavailability of Dio-Reb A-SNM was calculated. The model of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in rats was established, and the effects of diosgenin and Dio-Reb A-SNM on hypoglycemic effects, serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urea nitrogen and creatinine level were compared. The histopathological state of liver and kidney was observed by HE staining method. **Results** The optimal formulations of Dio-Reb A-SNM: amounts ratio of rebaudioside A to diosgenin was 12.32:1, diosgenin concentration was 1.97 mg/mL and ultrasonic time was 20.20 min. Envelopment efficiency, drug loading, particle size and  $\zeta$  potential were  $(93.59 \pm 0.63)\%$ ,  $(5.65 \pm 0.07)\%$ ,  $(25.66 \pm 1.76)$  nm and  $(-24.59 \pm 1.18)$  mV, respectively. The appearance of Dio-Reb A-SNM were spherical. The crystal form of diosgenin changed into an amorphous form in Dio-Reb A-SNM powder. Dio-Reb A-SNM greatly improved the saturated solubility of diosgenin in different pH media. Drug release behavior of Dio-Reb A-SNM *in vitro* had obvious sustained-release characteristics, the cumulative release rate was increased to 90.94% in 18 h, and the drug release process conformed to Weibull model. Pharmacokinetics showed that  $t_{\max}$  of Dio-Reb A-SNM was shortened to  $(2.06 \pm 0.29)$  h,  $t_{1/2}$  was increased to  $(8.39 \pm 1.94)$  h,  $C_{\max}$  and oral relative bioavailability were increased to 3.59-fold and 6.82-fold, respectively. Compared with diosgenin group (30 mg/kg), Dio-Reb A-SNM (30 mg/kg) could significantly reduce the blood glucose of T2DM rats at the fourth week ( $P < 0.01$ ), and effectively reduced the AST, ALT, urea nitrogen and creatinine level in serum ( $P < 0.01$ ). The pathological damage of liver and kidney was further alleviated by Dio-Reb A-SNM. **Conclusion** Dio-Reb A-SNM significantly promoted the oral absorption of diosgenin and improved hypoglycemic efficacy *in vivo*.

**Key words:** diosgenin; rebaudioside A; self-assembled nanomicelles; Box-Behnken response surface design method; pharmacokinetic; bioavailability; hypoglycemic effects

薯蓣皂苷元广泛存在于薯蓣科、茜草科、姜科等植物中<sup>[1]</sup>,属于类固醇类化合物,具有降血糖、抗炎、调血脂、抗衰老、改善心血管功能、抗血小板聚集等活性<sup>[1-2]</sup>,可用于防治心脑血管疾病。小鼠按 400 mg/kg 剂量连续 ig 给予薯蓣皂苷元 90 d, 仍未见明显的不良反应<sup>[3]</sup>,安全性高,具备开发价值。薯蓣皂苷元在 pH 2.0~7.4 磷酸盐缓冲液(PBS)中的溶解度在 6.89~7.94  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[4]</sup>,表观油水分配系数在 1.36~1.58<sup>[4]</sup>,属于生物药剂学分类系统中 II 类药物,小鼠口服生物利用度仅为 4.3%<sup>[5]</sup>,极低的吸收程度导致药效未能充分发挥。薯蓣皂苷元有白蛋白纳米粒<sup>[4]</sup>、滴丸<sup>[6]</sup>、固体分散体<sup>[7]</sup>等研究,但滴丸和固体分散体稳定性差,进入机体后薯蓣皂苷元易重新析晶,影响了促吸收效果。胃肠道 pH 值、各种消化酶对白蛋白纳米粒结构稳定性影响较大,制备时需引入聚乙烯醇等化学交联剂,可能对消化道产生刺激性,存在安全隐患。

纳米胶束由两亲性高分子材料在水相中通过自组装行为形成一种纳米聚集体,粒径一般小于 100 nm,在递药方面具有较大的优势<sup>[8]</sup>。胶束常用

的两亲性高分子材料主要经化学合成得到,存在溶剂残留、价格昂贵、性质不稳定等缺陷,因而植物来源的两亲性成分受到研究者的青睐。

莱鲍迪苷 A 主要从甜叶菊 *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsl. 中提取得到<sup>[9]</sup>,莱鲍迪苷 A 由 1 个疏水性二萜和 2 个亲水性糖侧链组成,分散于水中可自组装形成具有核-壳结构的胶束,疏水性内核提供载药空间,因而莱鲍迪苷 A 可作为胶束的新型载体。莱鲍迪苷 A 被证实具有降血糖、降血压、抗炎、抗氧化等多种药理活性<sup>[10]</sup>,未发现关于莱鲍迪苷 A 的毒性报道,因此,将莱鲍迪苷 A 应用于医药领域可发挥自身制剂功能和药效作用的双重特点,属于一种典型的“药辅合一”成分,但目前鲜见将莱鲍迪苷 A 作为胶束载体的研究报道<sup>[11-12]</sup>。

考虑到莱鲍迪苷 A 自身理化性质及药理活性,为提高薯蓣皂苷元生物利用度以及降血糖药效,本研究制备了薯蓣皂苷元-莱鲍迪苷 A 自组装胶束(diosgenin-rebaudioside A self-assembled nanomicelles, Dio-Reb A-SNM),考察体内药动学行为和降血糖药效,期望为薯蓣皂苷元的研究开发及莱鲍迪苷 A 在

新型递药系统中的应用提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

MS105/A 型电子分析天平, 瑞士梅特勒托利多仪器有限公司; MDS-2008DS 型溶出仪, 宁波新芝生物科技股份有限公司; AREX-6 型恒温磁力搅拌器, 意大利 VELP 公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (HPLC), 美国安捷伦公司; GL-25MS 型高速离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; Zetasizer Nono ZS-90 型粒度测定仪, 英国马尔文公司; Strike 385 型旋转蒸发仪, 北京优莱博技术有限公司; JEM-2100 型透射电子显微镜, 日本电子株式会社; SCQ-5201B 型超声仪, 上海声彦超声波仪器有限公司; XD-6 型 X 粉末衍射仪, 北京普析通用仪器有限责任公司; YTLG-12A 型真空冷冻干燥机, 上海叶拓科技有限公司; MDF-86V838B 型超低温冰箱, 上海浚和仪器科技有限公司; LHS-150SC 型恒温恒湿箱, 上海康路仪器设备有限公司; G-999G 型血糖仪, 深圳爱奥乐医疗器械有限公司; CX43 型光学显微镜, 美国 Olympus 公司。

### 1.2 材料

药用辅料莱鲍迪苷 A, 批号 20220915, 质量分数为 98.6%, 云南西力生物技术股份有限公司; 丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品, 批号 110766-202021, 质量分数 99.5%, 中国食品药品检定研究院; 薯蓣皂苷元原料药, 批号 202204-1, 质量分数为 97.0%, 成都格利普生物科技有限公司; 薯蓣皂苷元对照品, 批号 220523, 质量分数 98.5%, 南京狄尔格医药科技有限公司; 高脂饲料, 批号 20230225, 沈阳茂华生物科技有限公司; 盐酸二甲双胍, 批号 20220601, 大连美仑生物技术有限公司; 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒, 批号 G1126, 北京索莱宝科技有限公司; 链脲佐菌素, 批号 51852K78, 美国 Sigma 公司; 血清肌酐测定试剂盒 (批号 C011-2-1)、尿素氮检测试剂盒 (批号 C013-2-1)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST, 批号 C009-2-1)、丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT, 批号 C010-2-2) 均购自南京建成生物有限公司。

### 1.3 动物

SD 大鼠, 清洁级, 购自河南省动物实验中心, 许可证号 SCXK (豫)-2022-0001, 雌雄各半, 体重为 (220±20) g。所有动物实验遵循郑州工业应用技术学院有关实验动物管理和使用的规定, 实验

单位使用许可证号 SYXK (豫) 2023-0012, 均符合 3R 原则, 动物伦理批准号为 DWLL-202504001。

## 2 方法与结果

### 2.1 Dio-Reb A-SNM 及其粉末的制备

取处方量莱鲍迪苷 A 和薯蓣皂苷元 50 mg 至适量蒸馏水中, 于一定超声功率下超声一定时间, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 除去不溶性颗粒, 即得 Dio-Reb A-SNM。Dio-Reb A-SNM 冻干粉末制备过程为 Dio-Reb A-SNM 置于 -30 °C 冻干机中冷冻 3 d, 然后抽真空, 真空度为 (50±5) Pa, 3 d 后取出, 即得 Dio-Reb A-SNM 粉末。

### 2.2 Dio-Reb A-SNM 中薯蓣皂苷元含量测定

**2.2.1 色谱条件** 流动相为 0.05% 甲酸水溶液-甲醇 (30:70); 体积流量为 1.0 mL/min; 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长 429 nm; 柱温为 30 °C; 进样体积为 20 μL。

**2.2.2 线性关系考察** 取薯蓣皂苷元对照品适量, 使用甲醇稀释配制成 1.0 mg/mL, 采用 0.05% 甲酸水溶液-甲醇 (30:70) 作为稀释溶剂, 分别稀释成 8.00、4.00、2.00、0.50、0.10、0.05 μg/mL, 测定各质量浓度 (X) 的峰面积 (Y), 得标准曲线回归方程  $Y=24.0157X-0.1246$ ,  $r=0.9998$ , 结果表明薯蓣皂苷元线性范围为 0.05~8.00 μg/mL。

**2.2.3 Dio-Reb A-SNM 供试品溶液的制备** 取 Dio-Reb A-SNM 1 mL 至 100 mL 量瓶中, 加入 0.05% 甲酸水溶液-甲醇 (30:70) 混合溶剂 80 mL, 超声 20 min 破坏胶束结构 (功率 270 W、频率 37 kHz), 继续稀释至刻度。精密取 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加 0.05% 甲酸水溶液-甲醇 (30:70) 混合溶剂定容, 摇匀, 即得 Dio-Reb A-SNM 供试品溶液。

**2.2.4 专属性考察** 取莱鲍迪苷 A 适量, 按照“2.2.3”项下方法制备阴性样品溶液。另取薯蓣皂苷元对照品溶液 (2.0 μg/mL) 和 Dio-Reb A-SNM 供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 结果见图 1。在检测波长 429 nm 处薯蓣皂苷元色谱峰专属性高。

**2.2.5 精密度考察** 取 0.05、2.00、8.00 μg/mL 薯蓣皂苷元对照品溶液分别测定 6 次, 薯蓣皂苷元峰面积的 RSD 分别为 0.66%、0.54% 和 0.36%, 结果表明该仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性考察** 吸取 Dio-Reb A-SNM 供试品溶液, 分别于制备后 0、2、6、12、18、24 h 进样测定, 薯蓣皂苷元峰面积的 RSD 为 0.80%, 结果表

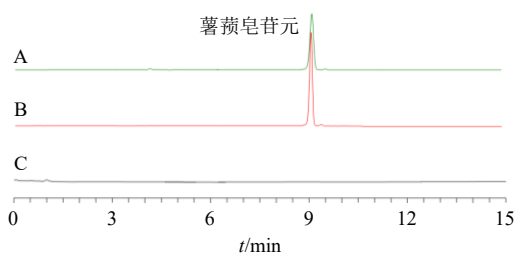


图1 Dio-Reb A-SNM 样品 (A)、薯蓣皂苷元对照品 (B) 和阴性样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of Dio-Reb A-SNM sample (A), diosgenin reference substance (B) and negative sample solution (C)

明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性考察** 取 Dio-Reb A-SNM 样品, 按照“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 测得薯蓣皂苷元质量浓度的 RSD 为 1.29%, 结果表明该实验重复性良好。

**2.2.8 加样回收率考察** 取 Dio-Reb A-SNM 样品 0.5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分成低、中、高 3 组, 每组 3 份, 按照薯蓣皂苷元含量的 80%、100% 和 120% 水平加入薯蓣皂苷元对照品, 分别制备成供试品溶液后进样测定, 薯蓣皂苷元的平均加样回收率为 100.44%, RSD 为 1.55%, 结果表明该方法准确度较高。

### 2.3 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量、粒径和 $\zeta$ 电位的测定

取 Dio-Reb A-SNM 过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜, 除去不溶性颗粒 (如薯蓣皂苷元原料药等), 测定续滤液中薯蓣皂苷元的量, 即为形成 Dio-Reb A-SNM 的量 ( $m_{\text{包载量}}$ ), 根据薯蓣皂苷元投药量 ( $m_{\text{投药量}}$ ) 计算包封率。根据薯蓣皂苷元和莱鲍迪苷 A 总质量 ( $m_{\text{总质量}}$ ) 计算 Dio-Reb A-SNM 的载药量。取 Dio-Reb A-SNM 加至比色皿中, 分别测定 Dio-Reb A-SNM 的多分散指数 (polydispersity index, PDI) 及粒径。取 Dio-Reb A-SNM 加至电槽内, 擦干外壁水分, 待液面齐平后测定  $\zeta$  电位。

$$\text{包封率} = m_{\text{包载量}} / m_{\text{投药量}}$$

$$\text{载药量} = m_{\text{包载量}} / m_{\text{总质量}}$$

### 2.4 单因素考察 Dio-Reb A-SNM 处方工艺

**2.4.1 莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比的考察** 固定薯蓣皂苷元质量浓度为 2.0 mg/mL, 超声功率为 270 W, 超声时间为 20 min 条件下, 考察莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响, 结果见表 1。莱鲍迪苷 A 与

表1 莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of amounts ratio of rebaudioside A to diosgenin amounts ratio on encapsulation rate, drug loading and particle size of Dio-Reb A-SNM ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比 | 包封率/%            | 载药量/%           | 粒径/nm            |
|------------------|------------------|-----------------|------------------|
| 5 : 1            | 53.65 $\pm$ 1.55 | 8.59 $\pm$ 0.08 | 39.41 $\pm$ 3.33 |
| 10 : 1           | 73.74 $\pm$ 1.90 | 6.63 $\pm$ 0.06 | 29.90 $\pm$ 3.54 |
| 15 : 1           | 89.68 $\pm$ 1.32 | 5.49 $\pm$ 0.07 | 23.92 $\pm$ 1.28 |
| 20 : 1           | 90.77 $\pm$ 1.31 | 4.31 $\pm$ 0.05 | 20.82 $\pm$ 1.44 |
| 25 : 1           | 92.76 $\pm$ 0.59 | 3.54 $\pm$ 0.06 | 16.35 $\pm$ 0.86 |

薯蓣皂苷元用量比, 由 5 : 1 增加至 25 : 1 时包封率逐渐增加, 而载药量逐渐下降, 这是由于增加莱鲍迪苷 A 用量比, 可为薯蓣皂苷元提供更多的载药空间<sup>[13]</sup>, 但莱鲍迪苷 A 用量过大时影响了载药效率, 导致载药量下降。Dio-Reb A-SNM 粒径呈逐渐下降趋势, 可见莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比对 Dio-Reb A-SNM 影响较大, 综合考虑包封率、载药量和粒径变化趋势, 选择两者用量比 10 : 1 ~ 20 : 1 进行后续优化。

**2.4.2 薯蓣皂苷元质量浓度的考察** 固定莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比为 15 : 1, 超声功率为 270 W, 超声时间为 20 min 条件下, 考察薯蓣皂苷元质量浓度对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响, 通过考察薯蓣皂苷元质量浓度来确定水相用量, 结果见表 2。随着薯蓣皂苷元质量浓度由 1.0 mg/mL 增加至 3.0 mg/mL, 包封率和载药量逐渐增加后下降, 可能是薯蓣皂苷元质量浓度较低时水相用量较大, Dio-Reb A-SNM 结构稳定性下降, 在超声条件下薯蓣皂苷元容易进入水相<sup>[13]</sup>, 故包封率和载药量较低; 薯蓣皂苷元质量浓度较高时水相用量较少, 可能影响莱鲍迪苷 A 自组装特性<sup>[14]</sup>, 进而影

表2 薯蓣皂苷元质量浓度对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effects of diosgenin concentration on encapsulation rate, drug loading and particle size of Dio-Reb A-SNM ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 薯蓣皂苷元/(mg·mL <sup>-1</sup> ) | 包封率/%            | 载药量/%           | 粒径/nm            |
|------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| 1.0                          | 65.76 $\pm$ 1.61 | 4.14 $\pm$ 0.04 | 18.92 $\pm$ 1.71 |
| 1.5                          | 75.43 $\pm$ 1.41 | 4.48 $\pm$ 0.09 | 23.14 $\pm$ 1.87 |
| 2.0                          | 90.64 $\pm$ 0.53 | 5.66 $\pm$ 0.05 | 23.56 $\pm$ 0.80 |
| 2.5                          | 85.47 $\pm$ 0.63 | 5.18 $\pm$ 0.06 | 26.70 $\pm$ 1.34 |
| 3.0                          | 81.36 $\pm$ 0.64 | 4.83 $\pm$ 0.05 | 31.11 $\pm$ 2.24 |

响载药。粒径随着薯蓣皂苷元质量浓度增加而增大,可见薯蓣皂苷元质量浓度对 Dio-Reb A-SNM 有较大影响。薯蓣皂苷元质量浓度为 2.0 mg/mL 时,包封率和载药量相对较大,粒径小于 30 nm,故以 2.0 mg/mL 为中心对薯蓣皂苷元质量浓度 1.5~2.5 mg/mL 进行后续优化。

**2.4.3 超声功率的考察** 固定莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比为 15:1,薯蓣皂苷元质量浓度 2.0 mg/mL,超声时间为 20 min 条件下,考察超声功率对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响,结果见表 3。随着超声功率由 90 W 增加至 450 W, Dio-Reb A-SNM 包封率和载药量均呈先增加后下降趋势,可能是适当的超声功率利于 Dio-Reb A-SNM 的形成,但超声功率过大时可能对 Dio-Reb A-SNM 结构产生破坏,使薯蓣皂苷元进入水相<sup>[13]</sup>,故对其包封率和载药量产生影响。粒径随着超声功率的增加而下降,由于超声功率为 270 W 时包封率和载药量相对较大,粒径低于 30 nm,故采用超声功率 270 W 来制备 Dio-Reb A-SNM。

表 3 超声功率对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effects of ultrasonic power on encapsulation rate, drug loading and particle size of Dio-Reb A-SNM ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 超声功率/W | 包封率/%      | 载药量/%     | 粒径/nm      |
|--------|------------|-----------|------------|
| 90     | 82.50±0.91 | 5.12±0.04 | 38.87±1.77 |
| 180    | 86.92±1.86 | 5.37±0.08 | 32.19±1.81 |
| 270    | 91.77±1.21 | 5.68±0.07 | 24.00±1.95 |
| 360    | 89.82±0.85 | 5.61±0.02 | 23.69±1.48 |
| 450    | 83.84±1.24 | 5.50±0.07 | 22.44±1.90 |

**2.4.4 超声时间的考察** 固定莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比为 15:1,薯蓣皂苷元质量浓度 2.0 mg/mL,超声功率为 270 W 条件下,考察超声时间对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响,结果见表 4。当超声时间由 5 min 增加至 40 min 时, Dio-Reb A-SNM 包封率和载药量均呈先增加后下降趋势,可见适当的超声时间有利于莱鲍迪苷 A 和薯蓣皂苷元形成 Dio-Reb A-SNM;但超声时间过长时可能对薯蓣皂苷元自身稳定性及 Dio-Reb A-SNM 结构稳定性产生破坏<sup>[15]</sup>,进而影响包封率和载药量;粒径随着超声时间的延长呈下降趋势;可见超声时间对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径影响较大。由于超声时间为 20 min 时,包封率大于

表 4 超声时间对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Effects of ultrasonic time on encapsulation rate, drug loading and particle size of Dio-Reb A-SNM ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 超声时间/min | 包封率/%      | 载药量/%     | 粒径/nm      |
|----------|------------|-----------|------------|
| 5        | 77.15±1.85 | 4.75±0.09 | 32.55±0.09 |
| 10       | 84.18±1.30 | 5.29±0.07 | 29.51±3.45 |
| 20       | 91.80±1.17 | 5.63±0.06 | 24.14±1.12 |
| 30       | 81.65±0.60 | 5.05±0.11 | 22.36±1.60 |
| 40       | 77.60±0.66 | 4.78±0.10 | 21.01±2.33 |

90%,且载药量相对较大,故后续以 20 min 为中心,对超声时间 10~30 min 进行后续优化。

## 2.5 Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 Dio-Reb A-SNM 处方工艺

**2.5.1 优化方案设计** 单因素考察发现莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比、薯蓣皂苷元质量浓度和超声时间对 Dio-Reb A-SNM 包封率、载药量和粒径的影响较大,故分别作为自变量  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ ,各自变量分别设置高、中、低 (+1、0、-1) 水平。由于 Dio-Reb A-SNM 的粒径均小于 50 nm,为简化研究方案,故不再将粒径纳入优化指标。选择包封率和载药量作为因变量  $Y_1$  和  $Y_2$ ,并转换成总评归一值 (overall desirability, OD),转换过程为:①使用公式  $d_{\max} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$  计算  $d_{\text{包封率}}$  和  $d_{\text{载药量}}$ ;② $OD = 0.5 d_{\text{包封率}} + 0.5 d_{\text{载药量}}$  以 OD 为评价指标,采用 BBD-RSM 优化 Dio-Reb A-SNM 处方工艺,包封率、载药量及 OD 值计算结果见表 5。

**2.5.2 模型拟合及方差分析** 采用 Design Expert 软件 (版本 V12.0.3.0) 对 Dio-Reb A-SNM 不同处方工艺组合的 OD 值进行拟合,得拟合方程:  $OD = 0.72 - 0.13 X_1 - 0.02 X_2 + 0.02 X_3 + 3.97 \times 10^{-3} X_1 X_2 + 0.02 X_1 X_3 + 0.03 X_2 X_3 - 0.13 X_1^2 - 0.16 X_2^2 - 0.24 X_3^2$ ,作为数学模型,并对该数学模型及各来源项进行方差分析,结果见表 6。数学模型  $P=0.000 1$ ,说明该模型具有应用价值;失拟项  $P=0.387 9$ ,无显著性意义,说明干扰因素未对拟合结果产生显著性影响。数学模型相关系数  $R^2$  和  $R_{\text{adj}}^2$  分别为 0.973 8 和 0.940 1,均大于 0.94,说明拟合结果与实测结果之间具有相关性,仅有 5.99% 数据不能用该模型解释。OD 值数学模型中  $X_1$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$  和  $X_3^2$  具有极显著性差异 ( $P<0.01$ )。

表5 试验组合及相应结果 ( $n=3$ )Table 5 Experiments combinations and corresponding results ( $n=3$ )

| 试验号 | $X_1$       | $X_2/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$ | $X_3/\text{min}$ | $Y_1/\%$ | $Y_2/\%$ | OD    |
|-----|-------------|--------------------------------------|------------------|----------|----------|-------|
| 1   | 10 : 1 (-1) | 2.0 (0)                              | 30 (+1)          | 77.65    | 6.92     | 0.473 |
| 2   | 15 : 1 (0)  | 1.5 (-1)                             | 30               | 82.41    | 5.17     | 0.348 |
| 3   | 10 : 1      | 1.5                                  | 20 (0)           | 80.57    | 7.08     | 0.589 |
| 4   | 10 : 1      | 2.0                                  | 10 (-1)          | 77.42    | 6.85     | 0.455 |
| 5   | 15 : 1      | 2.5 (+1)                             | 30               | 81.93    | 5.11     | 0.324 |
| 6   | 20 : 1 (+1) | 2.0                                  | 30               | 85.91    | 4.01     | 0.277 |
| 7   | 15 : 1      | 2.0                                  | 20               | 91.54    | 5.51     | 0.686 |
| 8   | 15 : 1      | 2.0                                  | 20               | 93.26    | 5.66     | 0.763 |
| 9   | 15 : 1      | 2.0                                  | 20               | 90.87    | 5.49     | 0.662 |
| 10  | 15 : 1      | 1.5                                  | 10               | 83.42    | 5.15     | 0.377 |
| 11  | 15 : 1      | 2.0                                  | 20               | 93.44    | 5.62     | 0.763 |
| 12  | 20 : 1      | 1.5                                  | 20               | 85.73    | 4.01     | 0.271 |
| 13  | 20 : 1      | 2.5                                  | 20               | 86.12    | 4.05     | 0.289 |
| 14  | 10 : 1      | 2.5                                  | 20               | 80.35    | 7.14     | 0.592 |
| 15  | 15 : 1      | 2.0                                  | 20               | 91.88    | 5.58     | 0.708 |
| 16  | 15 : 1      | 2.5                                  | 10               | 79.82    | 4.94     | 0.235 |
| 17  | 20 : 1      | 2.0                                  | 10               | 83.81    | 3.94     | 0.200 |

表6 数学模型方差分析

Table 6 Variance analysis of mathematical model

| 来源       | 自由度 | 平方和                   | 均方                    | F 值    | P 值      |
|----------|-----|-----------------------|-----------------------|--------|----------|
| 模型       | 9   | 0.61                  | 0.07                  | 28.91  | 0.000 1  |
| $X_1$    | 1   | 0.14                  | 0.14                  | 61.78  | 0.000 1  |
| $X_2$    | 1   | $2.64 \times 10^{-3}$ | $2.64 \times 10^{-3}$ | 1.13   | 0.323 0  |
| $X_3$    | 1   | $3.02 \times 10^{-3}$ | $3.02 \times 10^{-3}$ | 1.29   | 0.293 1  |
| $X_1X_2$ | 1   | $6.31 \times 10^{-5}$ | $6.31 \times 10^{-5}$ | 0.03   | 0.874 1  |
| $X_1X_3$ | 1   | $8.50 \times 10^{-4}$ | $8.50 \times 10^{-4}$ | 0.36   | 0.565 5  |
| $X_2X_3$ | 1   | $3.46 \times 10^{-3}$ | $3.46 \times 10^{-3}$ | 1.48   | 0.263 3  |
| $X_1^2$  | 1   | 0.07                  | 0.07                  | 28.35  | 0.001 1  |
| $X_2^2$  | 1   | 0.10                  | 0.10                  | 43.65  | 0.000 3  |
| $X_3^2$  | 1   | 0.24                  | 0.24                  | 103.55 | <0.000 1 |
| 残差       | 7   | 0.02                  | $2.34 \times 10^{-3}$ |        |          |
| 失拟相      | 3   | $8.10 \times 10^{-3}$ | $2.70 \times 10^{-3}$ | 1.31   | 0.387 9  |
| 总偏差      | 4   | $8.26 \times 10^{-3}$ | $2.06 \times 10^{-3}$ |        |          |
| 总离差      | 16  | 0.62                  |                       |        |          |

**2.5.3 响应面及处方工艺确定** 使用 Design Expert 软件 (版本 V12.0.3.0) 绘制自变量与因变量的响应面图, 结果见图 2, OD 值均表现出抛物线的变化趋

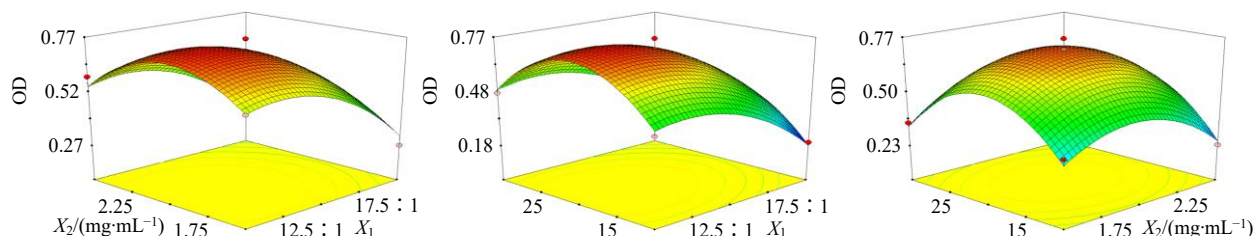


图2 不同因素与 OD 值的响应面

Fig. 2 Response surface plots of different factors and OD value

势。选择 OD 值优化目标为最大值, 得 Dio-Reb A-SNM 的最佳处方工艺为莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元用量比为 12.32 : 1, 薯蓣皂苷元质量浓度为 1.97 mg/mL, 超声时间为 20.20 min, OD 值为 0.776。

**2.5.4 Dio-Reb A-SNM 处方工艺验证** 制备 3 批 Dio-Reb A-SNM, 测定包封率和载药量, 并按照“2.5.1”项下方法计算 OD 值。结果见表 7, 3 批 Dio-Reb A-SNM 的平均包封率和载药量分别为  $(93.59 \pm 0.63)\%$  和  $(5.65 \pm 0.07)\%$ 。以预测 OD 值 (0.776) 为参考, 3 批 OD 值相对偏差分别为 -0.64%、0.52%

表7 处方验证结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 7 Prescription verification results ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 批次 | 包封率/%            | 载药量/%           | OD 值  |
|----|------------------|-----------------|-------|
| 1  | $93.53 \pm 0.59$ | $5.65 \pm 0.05$ | 0.771 |
| 2  | $93.74 \pm 0.76$ | $5.67 \pm 0.04$ | 0.780 |
| 3  | $93.48 \pm 0.79$ | $5.60 \pm 0.10$ | 0.761 |

和 -1.93%, 说明 OD 值数学模型的预测能力较高。另测得 Dio-Reb A-SNM 的平均粒径为  $(25.66 \pm 1.76)$  nm, PDI 为  $0.060 \pm 0.009$ ,  $\zeta$  电位为  $(-24.59 \pm 1.18)$  mV, 粒径分布及  $\zeta$  电位见图 3。

## 2.6 Dio-Reb A-SNM 的理化性质研究

**2.6.1 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察** TEM 测定条件: 放大倍数为 12 000, 加速电压为 200 kV。将 Dio-Reb A-SNM 涂敷在铜网上, 使用磷钨酸钠 (质量分数为 1.5%) 染色, 置于 45 °C 真空干燥箱中烘干, 用于 TEM 测定, 结果见图 4。可见, Dio-Reb A-SNM 形状为类球形, 观察到的粒径与激光粒度仪测得结果一致。

**2.6.2 稀释稳定性考察** 取 Dio-Reb A-SNM, 测定粒径及薯蓣皂苷元含量 ( $m_0$ )。分别使用 pH 2.0、6.8 PBS 稀释 20 倍, 置于 37 °C 水浴中, 800 r/min 磁力

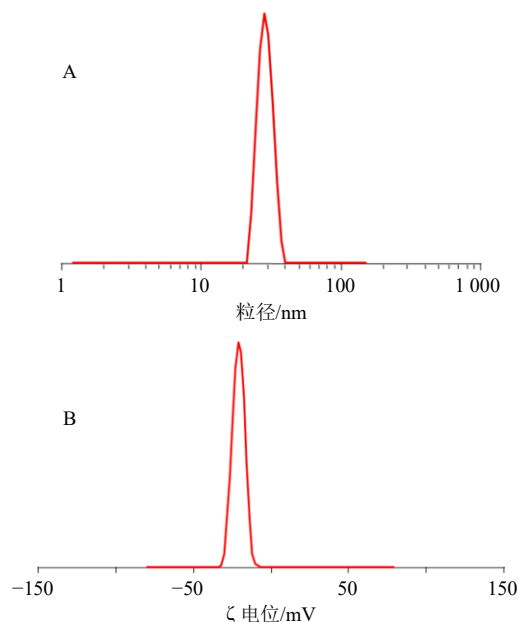


图 3 Dio-Reb A-SNM 的粒径分布 (A) 和  $\zeta$  电位 (B)  
Fig. 3 Particle size distribution (A) and  $\zeta$  potential (B) of Dio-Reb A-SNM

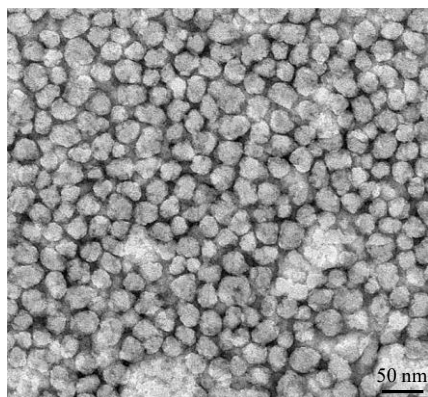


图 4 Dio-Reb A-SNM 的 TEM 图  
Fig. 4 TEM diagram of Dio-Reb A-SNM

搅拌 24 h, 使用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 测定粒径及薯蓣皂苷元剩余含量 ( $m_1$ )。结果显示, Dio-Reb A-SNM 稀释前的平均粒径为  $(25.36 \pm 2.98)$  nm, 在 pH 2.0、6.8 PBS 稀释后的平均粒径分别为  $(24.91 \pm 2.57)$ 、 $(24.62 \pm 3.14)$  nm, 粒径略有下降, 但均无显著性变化 ( $P > 0.05$ )。与稀释前相比, Dio-Reb A-SNM 在 pH 2.0、6.8 PBS 中薯蓣皂苷元剩余百分含量分别为 98.39% 和 96.54%, 均大于 95%。说明 Dio-Reb A-SNM 稀释稳定性良好, 同时也说明 Dio-Reb A-SNM 具有 pH 值稳定性。

$$\text{剩余百分含量} = m_1/m_0$$

**2.6.3 X 射线粉末衍射法 (X-ray powder diffraction, XRPD) 分析** 取薯蓣皂苷元原料药、莱鲍迪苷 A、

物理混合物 (薯蓣皂苷元与莱鲍迪苷 A 比例同 Dio-Reb A-SNM) 和 Dio-Reb A-SNM 粉末适量, 分别采用 XRPD 对角度 ( $2\theta$ ) 范围  $3^\circ \sim 45^\circ$  进行测试, 扫描速度为  $4^\circ/\text{min}$ , 结果见图 5。薯蓣皂苷元在  $6.5^\circ$ 、 $13.7^\circ$ 、 $16.4^\circ$ 、 $17.3^\circ$ 、 $17.7^\circ$  等处出现特征衍射峰, 莱鲍迪苷 A 在  $9.6^\circ$ 、 $12.6^\circ$ 、 $18.3^\circ$ 、 $29.0^\circ$  等处出现特征衍射峰, 在物理混合物 XRPD 图谱中, 薯蓣皂苷元与莱鲍迪苷 A 各自特征晶型仍均可见, 表明简单混合未使薯蓣皂苷元和莱鲍迪苷 A 晶型发生变化。在 Dio-Reb A-SNM 粉末的图谱中, 仅可观测到部分莱鲍迪苷 A 的晶型峰, 但强度大幅度下降, 而薯蓣皂苷元特征晶型峰均消失, 据此推测薯蓣皂苷元在 Dio-Reb A-SNM 中可能转变为无定形态。

**2.6.4 Dio-Reb A-SNM 粉末复溶后质量指标及溶解度测定** 将 Dio-Reb A-SNM, 按照“2.1”项下方法直接冻干, 得 Dio-Reb A-SNM 粉末。Dio-Reb A-SNM 及 Dio-Reb A-SNM 粉末复溶后, 均可观察到明显的丁达尔现象 (图 6), 说明 Dio-Reb A-SNM 粉末复溶后仍是一种胶体分散体系。

按照“2.3”项下方法测得 Dio-Reb A-SNM 粉末复溶后的平均包封率为  $(92.43 \pm 1.03)\%$ , 载药量为

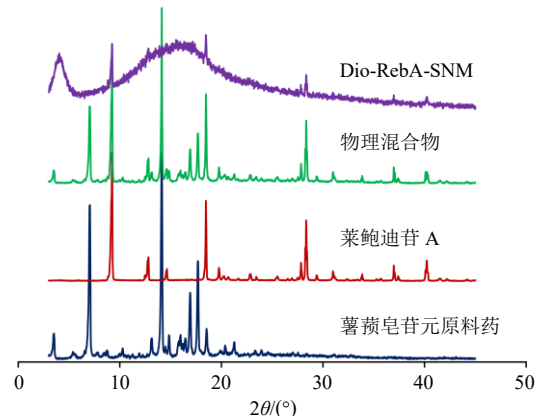


图 5 各样品的 XRPD 结果  
Fig. 5 XRPD results of each sample



图 6 Dio-Reb A-SNM (a) 及其粉末复溶后 (b) 外观以及二者的丁达尔现象 (c, d)

Fig. 6 Appearance of Dio-Reb A-SNM (a) and reconstitution of its powder (b), and Tyndall effects of their (c, d)

( $5.52 \pm 0.07$ )%，平均粒径为( $26.09 \pm 2.55$ ) nm， $\zeta$  电位为( $-23.94 \pm 0.96$ ) mV，各个指标与 Dio-Reb A-SNM 冻干前相比均无显著性差异。

取过量薯蓣皂苷元原料药和 Dio-Reb A-SNM 粉末，分别置于 pH 2.0、4.5、6.8、7.4 PBS 及蒸馏

水中，超声 10 min（功率 270 W、频率 37 kHz），于 25 °C 恒温振荡器中振摇 2 d，使用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过各个样品，取续滤液测定薯蓣皂苷元质量浓度，结果见表 8。Dio-Reb A-SNM 极大地提高了薯蓣皂苷元在各个介质中的溶解度 ( $P < 0.01$ )。

表 8 饱和溶解度测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 8 Determination results of saturated solubility ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 样品               | 饱和溶解度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ |                        |                        |                        |                       |
|------------------|---------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
|                  | pH 2.0 PBS                                  | pH 4.5 PBS             | pH 6.8 PBS             | pH 7.4 PBS             | 蒸馏水                   |
| 薯蓣皂苷元原料药         | $3.79 \pm 0.07$                             | $3.44 \pm 0.06$        | $5.12 \pm 0.09$        | $5.91 \pm 0.12$        | $0.24 \pm 0.01$       |
| Dio-Reb A-SNM 粉末 | $112.06 \pm 2.03^{**}$                      | $109.57 \pm 1.61^{**}$ | $115.98 \pm 1.87^{**}$ | $117.43 \pm 1.50^{**}$ | $96.71 \pm 1.48^{**}$ |

与薯蓣皂苷元原料药比较:  $^{**}P < 0.01$ 。

$^{**}P < 0.01$  vs diosgenin bulk drug.

## 2.7 Dio-Reb A-SNM 体外释药行为研究

**2.7.1 透析袋吸附性考察** 取薯蓣皂苷元对照品溶液适量，加入 1.0 L pH 2.0 PBS（含 0.2% SDS）( $V_1$ ，透析外液体积)，使薯蓣皂苷元质量浓度为 10  $\mu\text{g/mL}$  ( $C_0$ )，作为透析外液。取透析袋（截留相对分子质量 8 000~14 000），加入 pH 2.0 PBS（含 0.2% SDS）5 mL ( $V_2$ ，透析内液体积)，作为透析内液。在温度为 ( $37.0 \pm 0.2$ ) °C，转速为 75 r/min 的条件下持续搅拌 18 h，测定透析外液中薯蓣皂苷元质量浓度 ( $C_t$ )，计算透析袋的吸附率。

$$\text{吸附率} = [C_0V_1 - C_t(V_1 + V_2)] / C_0V_1$$

同法考察薯蓣皂苷元在 pH 6.8 PBS（含 0.2% SDS）介质中的吸附率<sup>[6]</sup>。结果显示，薯蓣皂苷元在 pH 2.0、6.8 PBS 中透析袋的吸附率分别仅 2.79% 和 2.43%，说明透析袋对薯蓣皂苷元吸附作用较小，对实验结果影响不大。

**2.7.2 方案及结果** 取薯蓣皂苷元原料药和物理混合物适量，使其中的薯蓣皂苷元均为 20 mg，分别置于透析袋中（截留相对分子质量 8 000~14 000），加入 pH 2.0 PBS（含 0.2% SDS）5 mL，两端扎紧。溶出杯中加入 pH 2.0 PBS（含 0.2% SDS）1.0 L，转速为 75 r/min，开启溶出仪，温度恒定在 37 °C 时，将样品同时放入溶出杯中进行实验。分别于 0.5、1.0、1.5、2.0 h 取样 5 mL，立即补加 5 mL pH 2.0 PBS。2.0 h 时间点取样后将介质更换为 1.0 L pH 6.8 PBS，分别于 2、4、6、8、10、12、18 h 分别取样 5 mL，立即补加 5 mL pH 6.8 PBS。Dio-Reb A-SNM 使用 pH 2.0、6.8 PBS 作为释药介质，同法考察释药行为。各样品进样测定前，均使用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜进行滤过。分别绘制各样品的释药曲线，结果见图 7。薯

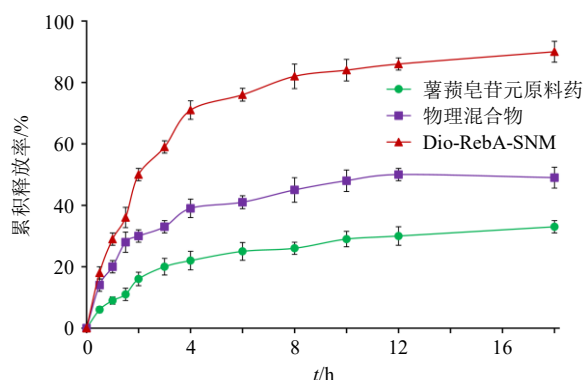


图 7 各个样品的体外释放曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 7 *In vitro* release curves of each sample ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

薯蓣皂苷元原料药、物理混合物和 Dio-Reb A-SNM 在 18 h 累积释放率分别为 32.76%、49.17%、90.94%，说明莱鲍迪苷 A 可促进薯蓣皂苷元溶出，可能与莱鲍迪苷 A 增溶作用有关<sup>[11]</sup>，但促释放效果较 Dio-Reb A-SNM 差。Dio-Reb A-SNM 释药过程包含快速释药期和缓慢释药期，释药模型的拟合结果见表 9，Dio-Reb A-SNM 释药过程与 Weibull 释放模型拟合度最高。

## 2.8 Dio-Reb A-SNM 粉末稳定性考察

取冻干前 Dio-Reb A-SNM，测定薯蓣皂苷元的

表 9 Dio-Reb A-SNM 的释放模型

Table 9 Fitting release model of Dio-Reb A-SNM

| 模型         | 拟合方程                                                      | $r$     |
|------------|-----------------------------------------------------------|---------|
| 一级模型       | $\ln(1 - M_t/M_\infty) = -0.124 4 t - 0.414 7$            | 0.911 5 |
| Higuchi 模型 | $M_t/M_\infty = 0.207 3 t^{1/2} + 0.152 7$                | 0.902 6 |
| Weibull 模型 | $\ln \ln[1/(1 - M_t/M_\infty)] = 0.704 5 \ln t - 1.016 2$ | 0.980 9 |

$t$  代表时间;  $M_t$  和  $M_\infty$  分别为  $t$  和  $\infty$  时的累积释放度;  $M_t/M_\infty$  为  $t$  时间累积释放百分率。

$t$  was time;  $M_t$  and  $M_\infty$  were cumulative release degrees at time  $t$  and  $\infty$ , respectively;  $M_t/M_\infty$  was cumulative release percentage at  $t$ .

初始总量 ( $m_0$ )。取 Dio-Reb A-SNM 粉末加入蒸馏水振荡复溶,使用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过除去析出的薯蓣皂苷元,测定续滤液中薯蓣皂苷元的剩余总量 ( $m_i$ ),计算 Dio-Reb A-SNM 沉降率。将 Dio-Reb A-SNM 粉末密封置于温度 35  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 65% 的恒温恒湿箱中,分别于 0、1、2、3、6 个月取样,测定结果见表 10。Dio-Reb A-SNM 粉末储存 6 个月时各指标与第 0 个月相比均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),表明 Dio-Reb A-SNM 粉末储存稳定性良好。

$$\text{沉降率} = (m_0 - m_i) / m_0$$

表 10 Dio-Reb A-SNM 粉末稳定性结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 10 Stability results of Dio-Reb A-SNM powder

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

| t/月 | 沉降率/%           | 包封率/%            | 载药量/%           | 粒径/nm            | $\zeta$ 电位/mV     |
|-----|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|
| 0   | 2.33 $\pm$ 0.09 | 92.51 $\pm$ 1.10 | 5.50 $\pm$ 0.09 | 26.02 $\pm$ 3.51 | -24.06 $\pm$ 1.11 |
| 1   | 2.38 $\pm$ 0.13 | 92.30 $\pm$ 0.89 | 5.52 $\pm$ 0.14 | 26.92 $\pm$ 2.39 | -23.61 $\pm$ 0.87 |
| 2   | 2.64 $\pm$ 0.10 | 92.37 $\pm$ 1.04 | 5.53 $\pm$ 0.10 | 27.79 $\pm$ 3.40 | -23.56 $\pm$ 0.90 |
| 3   | 2.59 $\pm$ 0.15 | 91.79 $\pm$ 0.95 | 5.46 $\pm$ 0.13 | 29.44 $\pm$ 2.76 | -22.89 $\pm$ 1.23 |
| 6   | 2.53 $\pm$ 0.07 | 91.86 $\pm$ 1.12 | 5.45 $\pm$ 0.08 | 28.50 $\pm$ 2.28 | -23.03 $\pm$ 0.85 |

## 2.9 口服药动力学研究

**2.9.1 给药及采血方案** 取薯蓣皂苷元原料药、物理混合物(薯蓣皂苷元与莱鲍迪苷 A 比例同 Dio-Reb A-SNM 粉末)和 Dio-Reb A-SNM 粉末适量,分散于 0.5% CMC-Na 水溶液中,即得各个样品的 ig 混悬液。取 SD 大鼠 18 只,随机分成薯蓣皂苷元组、物理混合物组和 Dio-Reb A-SNM 组,根据大鼠体质量按 30 mg/kg 剂量(以薯蓣皂苷元计)ig。分别于 0.5、1、2、3、4、6、8、12、18 h 眼眶后静脉丛采血约 0.25 mL,置肝素化离心管混匀,3 500 r/min 离心(离心半径 8.6 cm)3 min,取血浆待测。

**2.9.2 血浆样品的处理**<sup>[4]</sup> 乙腈配制 500 ng/mL 丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品溶液。精密取 100  $\mu\text{L}$  丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品溶液和 100  $\mu\text{L}$  血浆样品置离心管中,加入甲醇 1 mL,密封涡旋 3 min,将混悬液 8 500 r/min 离心(离心半径 8.6 cm)10 min,蛋白等杂质沉淀于底部,取有机层氮气吹干,加 100  $\mu\text{L}$  甲醇复溶后测定。

**2.9.3 线性关系考察** 取健康 SD 大鼠,按 30 mg/kg 注射戊巴比妥钠溶液,立即心脏取血 5 mL,置肝素化离心管,振荡后 3 500 r/min 离心(离心半径 8.6 cm)3 min,得空白血浆。采用空白血浆配制 1 800.0、900.0、450.0、300.0、45.0、22.5 ng/mL 薯蓣皂苷元血浆对照品。按照“2.9.2”项下方法操作,得到含丹参酮 II<sub>A</sub> 的系列薯蓣皂苷元血浆对照品溶液。按照

“2.2.1”项下色谱条件测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积,以两者峰面积比为纵坐标 ( $Y$ ),薯蓣皂苷元质量浓度为横坐标 ( $X$ ),进行线性回归,得标准曲线回归方程:  $Y = 0.0047X - 0.2548$ ,  $r = 0.9984$ ,结果表明在以丹参酮 II<sub>A</sub> 为内标的情况下,薯蓣皂苷元在 22.5~1 800.0 ng/mL 存在良好的线性关系。

**2.9.4 专属性考察** 取空白血浆样品 100  $\mu\text{L}$ ,按照“2.9.2”项下方法处理,得空白血浆溶液。另取薯蓣皂苷元血浆对照品溶液(22.5 ng/mL)和血浆样品溶液(薯蓣皂苷元给药 18 h)分别进样测试,结果见图 8。结果表明,薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 色谱峰专属性均较高。

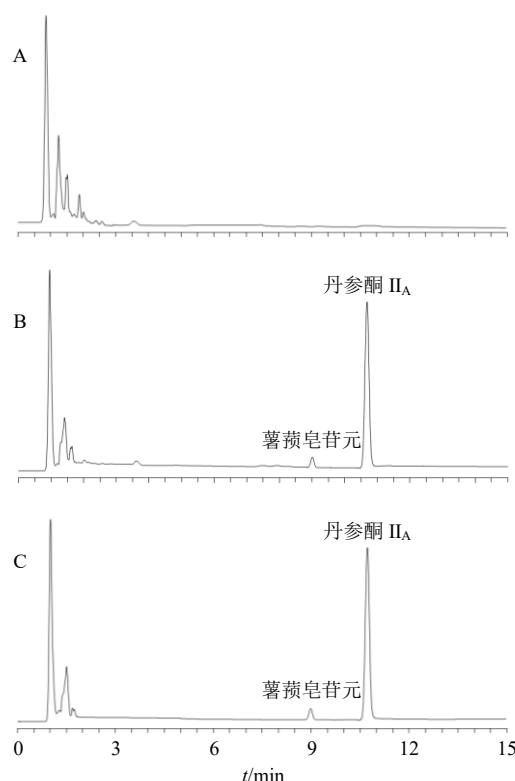


图 8 空白血浆 (A)、血浆样品 (B) 和血浆对照品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC chromatograms of blank plasma (A), plasma sample (B) and plasma reference solution (C)

**2.9.5 精密度考察** 取质量浓度分别为 22.5、450.0、1 800.0 ng/mL 薯蓣皂苷元血浆对照品溶液(丹参酮 II<sub>A</sub> 质量浓度为 500 ng/mL),连续测试 6 次,测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积,两者峰面积比值的 RSD 值分别为 8.86%、6.13%、4.47%,结果表明该试验精密度良好。

**2.9.6 稳定性考察** 取质量浓度为 450 ng/mL 质控样品,按照“2.9.2”项下方法处理得血浆样品溶液

(含丹参酮 II<sub>A</sub>), 于 0、2、4、8、12、24 h 进样测试, 测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积, 两者峰面积比值的 RSD 值为 4.10%, 结果表明血浆样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.9.7 提取回收率及基质效应考察** 取薯蓣皂苷元质量浓度分别为 22.5、450.0、1 800.0 ng/mL 的质控样品 (丹参酮 II<sub>A</sub> 质量浓度为 500 ng/mL), 按照“2.9.2”项下方法处理得质控样品溶液, 测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积, 记作  $A_1$ ; 取 100  $\mu$ L 空白血浆, 加入 1 mL 甲醇后, 按照“2.9.2”项下方法处理 (不加薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub>), 得残渣, 再分别加入薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品溶液适量, 使薯蓣皂苷元质量浓度为 22.5、450.0、1 800.0 ng/mL, 丹参酮 II<sub>A</sub> 质量浓度为 500 ng/mL, 进样测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积, 记作  $A_2$ , 采用  $A_1/A_2$  计算提取回收率。结果显示, 丹参酮 II<sub>A</sub> 提取回收率为 95.13%, 低、中、高质量浓度质控样品中薯蓣皂苷元提取回收率分别为 103.21%、96.18%、96.99%。在不引入空白血浆前提下, 配制薯蓣皂苷元质量浓度分别为 22.5、450.0、1 800.0 ng/mL 对照品溶液 (丹参酮 II<sub>A</sub> 质量浓度为 500 ng/mL), 进样分析, 测定薯蓣皂苷元和丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积, 记作  $A_3$ , 采用公式  $A_2/A_3$  计算基质效应。结果显示, 丹参酮 II<sub>A</sub> 基质效应为 95.09%, 低、中、高质量浓度薯蓣皂苷元基质效应分别为 96.10%、103.70%、97.48%。因此该方法提取回收率高, 基质效应低。

**2.9.8 定量限和检出限测定** 取质量浓度为 22.5 ng/mL 薯蓣皂苷元血浆对照品, 逐步稀释, 检测信噪比 ( $S/N$ )。结果显示定量限 ( $S/N$  约为 10) 为 4.5 ng/mL, 检出限 ( $S/N$  约为 3) 为 1.5 ng/mL。

**2.9.9 药动学结果** 绘制薯蓣皂苷元、物理混合物

和 Dio-Reb A-SNM 的药-时曲线, 结果见图 9。

采用 DAS 2.0 软件处理血药浓度数据, 主要药动学参数见表 11。与薯蓣皂苷元相比, 物理混合物的达峰时间 ( $t_{\max}$ ) 和半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 具有显著性变化 ( $P<0.05$ ), 而达峰浓度 ( $C_{\max}$ )、血药浓度-时间曲线下面积 ( $AUC_{0\sim t}$ ) 及血药浓度-时间曲线下面积 ( $AUC_{0\sim\infty}$ ) 具有极显著性增加 ( $P<0.01$ ), 说明菜鲍迪苷 A 可影响薯蓣皂苷元的药动学行为, 并促进薯蓣皂苷元口服吸收,  $C_{\max}$  和相对生物利用度提高至 1.78 倍和 2.14 倍。Dio-Reb A-SNM 的  $t_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$  及  $AUC_{0\sim\infty}$  具有极显著性变化 ( $P<0.01$ ), 其中  $t_{\max}$  提前至 ( $2.06\pm 0.29$ ) h,  $t_{1/2}$  延长至 ( $8.39\pm 1.94$ ) h,  $C_{\max}$  和相对生物利用度增加至 3.59 倍和 6.82 倍。与物理混合物相比, Dio-Reb A-SNM 的  $t_{\max}$  和  $t_{1/2}$  具有显著性变化 ( $P<0.05$ ), 而其  $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$  及  $AUC_{0\sim\infty}$  具有极显著性增加 ( $P<0.01$ ), 说明 Dio-Reb A-SNM 对薯蓣皂苷元药动学行为影响更大, 促吸收作用更明显。

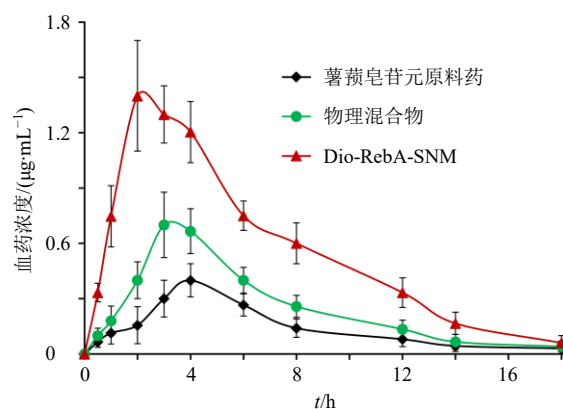


图 9 各个样品的药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 9 Profiles of plasma concentration-time of each sample ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

表 11 各个样品的主要药动学参数 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 11 Main pharmacokinetic parameters of each sample ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 参数                  | 单位                    | 薯蓣皂苷元原料药               | 物理混合物                       | Dio-Reb A-SNM                  |
|---------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| $t_{\max}$          | h                     | $4.09 \pm 0.83$        | $3.22 \pm 0.57^*$           | $2.06 \pm 0.29^{***}$          |
| $t_{1/2}$           | h                     | $4.93 \pm 0.98$        | $6.05 \pm 1.60^*$           | $8.39 \pm 1.94^{***}$          |
| $C_{\max}$          | ng·mL <sup>-1</sup>   | $397.85 \pm 113.68$    | $707.56 \pm 194.23^{**}$    | $1\,429.60 \pm 381.74^{***}$   |
| $AUC_{0\sim t}$     | ng·h·mL <sup>-1</sup> | $2\,036.01 \pm 321.79$ | $4\,362.50 \pm 561.77^{**}$ | $13\,896.43 \pm 1026.96^{***}$ |
| $AUC_{0\sim\infty}$ | ng·h·mL <sup>-1</sup> | $2\,071.76 \pm 350.66$ | $4\,496.11 \pm 596.82^{**}$ | $14\,129.98 \pm 1189.73^{***}$ |

与薯蓣皂苷元原料药比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ ; 与物理混合物比较: # $P<0.05$  ### $P<0.01$ 。

\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs diosgenin bulk drug; # $P<0.05$  ### $P<0.01$  vs physical mixture.

## 2.10 Dio-Reb A-SNM 降血糖作用研究

### 2.10.1 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)

模型的建立 取 SD 大鼠饲养于温度 25  $^{\circ}$ C、相对湿度 65%和 12 h 光照/12 h 黑暗的环境中, 使用高脂

饲料饲养 4 周, 按 60 mg/kg 剂量 ip 链脲佐菌素溶液, 每天 1 次, 连续注射 3 d。3 d 后, 于大鼠尾静脉取血, 测定血糖值。各只大鼠空腹血糖值在 17.2~22.6 mmol/L, 表明成功建立了 T2DM 模型<sup>[17]</sup>。

**2.10.2 实验方案及降血糖作用评价** 取 6 只正常大鼠作为对照组 (等量生理盐水)。将 36 只 T2DM 大鼠随机分为 6 组, 即模型组 (等量生理盐水)、阳性药组 (二甲双胍, 200 mg/kg)<sup>[16]</sup>、薯蓣皂苷元组 (30 mg/kg)<sup>[2]</sup>、莱鲍迪苷 A 组 (370 mg/kg, 剂量参考 Dio-Reb A-SNM 高剂量组中的莱鲍迪苷 A 含量)、Dio-Reb A-SNM 低剂量 (20 mg/kg) 组和 Dio-Reb A-SNM 高剂量 (30 mg/kg) 组。每天 8:00 开始

给药, 每天 1 次, 连续给药 4 周, 每周测定血糖 1 次。结果见表 12, 与对照组相比, 模型组在各时间点血糖值均极显著性升高 ( $P<0.01$ ), 证明建模有效。薯蓣皂苷元组和莱鲍迪苷 A 组血糖值随着干预时间的延长而逐步降低, 说明薯蓣皂苷元和莱鲍迪苷 A 均具有抑制血糖升高作用。与薯蓣皂苷元 (30 mg/kg) 组相比, Dio-Reb A-SNM 低剂量 (20 mg/kg) 组在各个时间点血糖值均无显著性差异 ( $P>0.05$ ); Dio-Reb A-SNM 高剂量 (30 mg/kg) 组在第 3 周有显著性降低 ( $P<0.05$ ), 在第 4 周有极显著性降低 ( $P<0.01$ ), 证明 Dio-Reb A-SNM 具有增强薯蓣皂苷元降血糖药效的作用。

表 12 各组实验大鼠在不同时间的血糖值 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 12 Blood glucose values at different time of experimental rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别            | 剂量/<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | 血糖值/(mmol·L <sup>-1</sup> ) |              |              |               |                |
|---------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|----------------|
|               |                               | 0 周                         | 1 周          | 2 周          | 3 周           | 4 周            |
| 对照            | —                             | 6.02±0.67                   | 6.17±0.83    | 6.58±1.01    | 6.90±0.76     | 6.58±1.39      |
| 模型            | —                             | 24.85±1.75**                | 25.80±0.97** | 25.63±1.94** | 27.12±1.72**  | 30.02±3.02**   |
| 阳性药           | 200                           | 25.03±1.62                  | 24.13±2.20   | 20.37±3.77## | 17.45±1.38##  | 12.97±1.03##   |
| 薯蓣皂苷元         | 30                            | 26.08±1.96                  | 23.08±2.38   | 22.42±1.82## | 19.58±2.33##  | 17.30±1.36##   |
| 莱鲍迪苷 A        | 370                           | 25.47±1.57                  | 24.47±1.52   | 21.95±1.36## | 20.70±1.85##  | 17.47±1.33##   |
| Dio-Reb A-SNM | 20                            | 25.27±0.83                  | 25.02±1.14   | 23.40±1.21   | 18.32±1.75##  | 16.75±1.04##   |
|               | 30                            | 23.62±1.47                  | 24.73±1.13   | 21.35±1.75## | 17.40±1.84##Δ | 11.62±1.66##ΔΔ |

与对照组比较: \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较: # $P<0.05$  ## $P<0.01$ ; 与薯蓣皂苷元组比较: Δ $P<0.05$  ΔΔ $P<0.01$ ; 表 13 同。

\*\* $P<0.01$  vs normal group; # $P<0.05$  ## $P<0.01$  vs model group; Δ $P<0.05$  ΔΔ $P<0.01$  vs diosgenin group; Same as table 13.

**2.10.3 生化指标的测定** 取血浆 1.0 mL, 于 3 500 r/min 离心 3 min, 取血清分别测定 AST、ALT、尿素氮和肌酸酐, 结果见表 13。与对照组相比, 模型组 AST、SLT、尿素氮和肌酸酐, 均极显著性升高 ( $P<0.01$ ), 表明模型组大鼠的肝、肾受损严重。与模型组相比, 各给药组的 AST、SLT、尿素氮和肌酸酐均显著性或极显著性降低 ( $P<0.05$ 、0.01), 表明大鼠肝、肾受损情况减轻。与薯蓣皂苷元组相比 (30 mg/kg), Dio-Reb A-SNM 低剂量 (20 mg/kg)

组的 AST、尿素氮和肌酸酐无显著性差异, 而 ALT 显著性下降 ( $P<0.05$ ); Dio-Reb A-SNM 高剂量组 (30 mg/kg) 的 AST、ALT、尿素氮和肌酸酐均有极显著性下降 ( $P<0.01$ ), 证明 Dio-Reb A-SNM 进一步减轻了大鼠肝、肾受损情况。

**2.10.4 肝、肾病理结果** 取肝组织置福尔马林中固定, 脱水后浸泡于 4%多聚甲醛, 石蜡包埋, 切片 (厚度约 5 μm), HE 染色, 结果见图 10。对照组大鼠的肝组织结构正常, 模型组大鼠肝脏中存在大量

表 13 各组实验大鼠各项生化指标测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 13 Various biochemical indicators results of experimental rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别            | 剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | AST/(U·L <sup>-1</sup> ) | ALT/(U·L <sup>-1</sup> ) | 尿素氮/(mmol·L <sup>-1</sup> ) | 肌酸酐/(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
|---------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照            | —                         | 71.98±8.74               | 116.70±26.02             | 4.95±0.82                   | 31.57±4.00                  |
| 模型            | —                         | 172.23±14.55**           | 217.05±20.53**           | 8.90±0.63**                 | 58.88±6.86**                |
| 阳性药           | 200                       | 82.17±9.48##             | 135.10±11.26##           | 5.32±0.81##                 | 35.18±3.38##                |
| 薯蓣皂苷元         | 30                        | 139.47±9.89#             | 176.82±11.16#            | 6.40±0.50##                 | 40.45±6.29##                |
| 莱鲍迪苷 A        | 370                       | 146.13±12.24#            | 180.68±25.05#            | 6.33±0.51##                 | 39.67±8.28##                |
| Dio-Reb A-SNM | 20                        | 144.82±16.38#            | 160.53±11.79##Δ          | 6.83±1.23##                 | 40.05±8.80##                |
|               | 30                        | 80.02±14.95##ΔΔ          | 121.33±12.27##ΔΔ         | 5.25±0.51##ΔΔ               | 34.77±5.28##ΔΔ              |

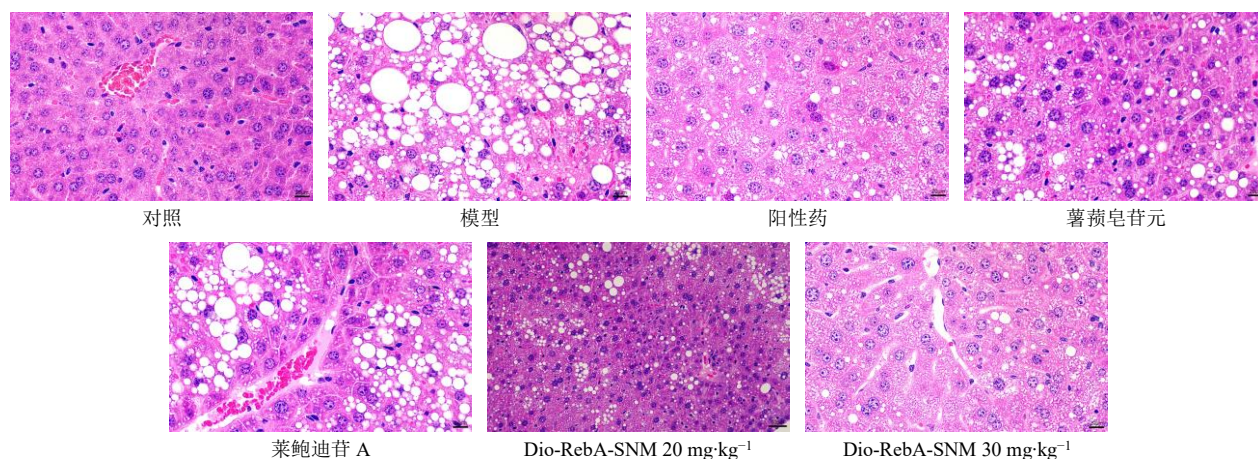


图 10 各组大鼠肝组织病理学 (×200)

Fig. 10 Liver tissue pathology in each group of rats (×200)

的脂质空泡, 表明肝脏中脂质沉积, 而阳性组、薯蓣皂苷元组、莱鲍迪苷 A 组、Dio-Reb A-SNM 低和高剂量组脂质空泡大小和数量均减少, 表明肝损伤及肝脂肪变性减轻。与薯蓣皂苷元 (30 mg/kg) 组相比, Dio-Reb A-SNM 高剂量 (30 mg/kg) 组改善情况更明显。

肾组织切片同法制备, 结果见图 11。对照组肾

组织结构正常, 模型组肾小球基底膜增厚, 大量的炎性细胞浸润, 肾小管严重变性。而阳性组、薯蓣皂苷元组、莱鲍迪苷 A 组、Dio-Reb A-SNM 低和高剂量组肾组织病理学损伤程度均减轻。其中 Dio-Reb A-SNM 高剂量 (30 mg/kg) 组肾组织病理学变化程度与阳性药组接近, 病理改善情况优于薯蓣皂苷元 (30 mg/kg) 组。

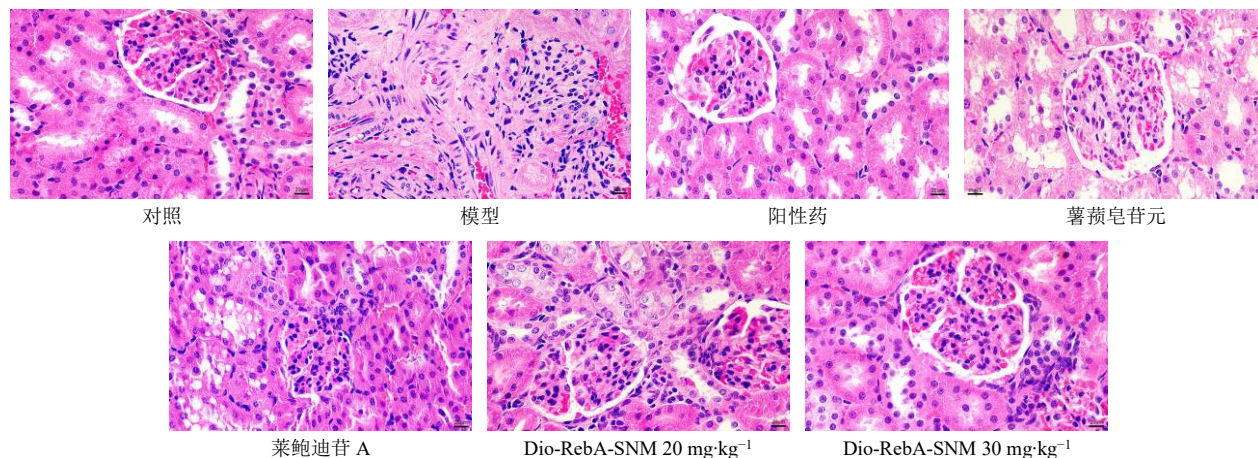


图 11 各组大鼠肾组织病理学 (×200)

Fig. 11 Kidney tissue pathology of rats in each group (×200)

### 2.11 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析, 数据表示方式为  $\bar{x} \pm s$ , 组间比较使用独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  时判定存在显著差异,  $P < 0.01$  时判定存在极显著差异。

### 3 讨论

Dio-Reb A-SNM 粉末分散于水中时仍可形成胶体分散体系, 具有明显的丁达尔现象, 其粒径、 $\zeta$  电位等理化性质与冻干前 Dio-Reb A-SNM 一致, 可能是由于 Dio-Reb A-SNM 继承了莱鲍迪苷 A 自组装

性质所致<sup>[11-12]</sup>。XRPD 结果表明薯蓣皂苷元可能以无定形态或分子状态存在于 Dio-Reb A-SNM, 通过改变晶型、降低粒度等作用极大提高了薯蓣皂苷元溶解度及释放度<sup>[18-19]</sup>。董亚楠等<sup>[4]</sup>制备了薯蓣皂苷元白蛋白纳米粒, 在 pH 2.0~7.4 PBS 中薯蓣皂苷元溶解度增加至 78.86~103.45  $\mu\text{g/mL}$ , 本研究制备的 Dio-Reb A-SNM 在 pH 2.0~7.4 PBS 中薯蓣皂苷元溶解度增加至 109.57~117.43  $\mu\text{g/mL}$ , 溶解度提高幅度更具优势。小分子增溶剂如聚山梨酯等也可极大提高薯蓣皂苷元溶解度, 但使用安全性不及天

然植物来源的莱鲍迪苷 A, 而且莱鲍迪苷 A 本身具有降血糖等药理活性, 因此, Dio-Reb A-SNM 更具研究价值。

胶束是两亲性聚合物的聚集体, 相对分子质量可达数万甚至数十万<sup>[19]</sup>, 薯蓣皂苷元的相对分子质量仅 414.63, 因此, 选择截留相对分子质量 8 000~14 000 的透析袋, 此时, 薯蓣皂苷元分子可自由通过透析袋, 而 Dio-Reb A-SNM 则被截留在透析袋内部<sup>[13]</sup>。测得薯蓣皂苷元在 0.2% SDS 溶液中溶解度为  $(89.47 \pm 1.83) \mu\text{g/mL}$ , 为达漏槽条件, 故薯蓣皂苷元和物理混合物的释药介质中加入 0.2% SDS。释药结果显示, Dio-Reb A-SNM 极大地改变了薯蓣皂苷元的释药行为, 使之同时具有速释和缓释特点, 速释行为有助于快速起效, 缓释行为有助于维持药效, 从而为增加薯蓣皂苷元口服吸收、增强药效等奠定基础。物理混合物中薯蓣皂苷元相对生物利用度得到一定程度提高, 可能是莱鲍迪苷 A 具有表面活性剂作用<sup>[13]</sup>, 增加了薯蓣皂苷元溶解度及溶出度, 从而增加了吸收。Dio-Reb A-SNM 的  $t_{\text{max}}$  极显著性提高, 可能是 Dio-Reb A-SNM 前期释药较快, 缩短了薯蓣皂苷元进入体循环时间; Dio-Reb A-SNM 粒径不足 30 nm, 可快速穿过胃肠上皮表面黏液层进入血液循环, 最终使 Dio-Reb A-SNM 的  $t_{\text{max}}$  提前, 利于薯蓣皂苷元快速起效<sup>[20]</sup>。

Dio-Reb A-SNM 的  $t_{1/2}$  极显著延长, 可能与 Dio-Reb A-SNM 缓慢释药行为有关。Dio-Reb A-SNM 极大提高了薯蓣皂苷元相对口服生物利用度, 可能是 Dio-Reb A-SNM 使薯蓣皂苷元粒径极大下降, 可快速通过小肠上皮细胞经内吞作用进入体循环, 从而有助于避免首关效应等<sup>[21]</sup>; Dio-Reb A-SNM 改变了薯蓣皂苷元晶型、提高了溶解度, 利于肠道渗透吸收<sup>[21]</sup>; Dio-Reb A-SNM 处方中莱鲍迪苷 A 本身可增加薯蓣皂苷元体内吸收作用, 因此在多种积极因素共同作用下 Dio-Reb A-SNM 显著增加了薯蓣皂苷元口服吸收<sup>[22-23]</sup>。

董亚楠等<sup>[4]</sup>制备的薯蓣皂苷元白蛋白纳米粒, 相对生物利用度仅提高至 3.77 倍; 段黎娟等<sup>[6]</sup>制备的薯蓣皂苷元滴丸, 相对生物利用度仅提高至 4.53 倍; Liu 等<sup>[7]</sup>制备的薯蓣皂苷元无定形固体分散体, 相对生物利用度提高至 5.69 倍, 均低于 Dio-Reb A-SNM 相对生物利用度 (6.82 倍), 说明 Dio-Reb A-SNM 更具研究开发价值。药效学显示, Dio-Reb A-SNM 提高了薯蓣皂苷元降血糖药效, 主要是由于

Dio-Reb A-SNM 提高了薯蓣皂苷元生物利用度, 利于增强药效<sup>[21]</sup>。莱鲍迪苷 A 具有一定的降血糖作用, 体现了本研究“药辅合一”的设计理念<sup>[15,24-25]</sup>。但莱鲍迪苷 A 与薯蓣皂苷元是否具有协同降血糖药效、两者最佳配比等还需要进一步探究。

综上, 本研究采用天然来源的莱鲍迪苷 A 作为载体制备了 Dio-Reb A-SNM, 具有开发费用低、处方工艺简单等特点。Dio-Reb A-SNM 粉末显著促进了薯蓣皂苷元口服吸收, 并增强了降血糖药效, 为进一步研究开发奠定了实验基础。后续对 Dio-Reb A-SNM 小试、中试及非临床研究 (急性及长期毒性等) 进行考察, 为全面评价 Dio-Reb A-SNM 成药性提供更丰富的研究资料。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 刘姿宇, 朱文斌, 冯博, 等. 薯蓣皂苷元的药理活性及其机制研究进展 [J]. 中国医药科学, 2023, 13(3): 34-37.
- [2] 钟玉杰. 薯蓣皂苷元对 3-氯-1,2-丙二醇肾细胞毒性的保护作用及机制研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [3] 郭亚春, 安高, 赵晓菲, 等. 薯蓣皂苷元对昆明鼠的亚慢性毒性实验 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(9): 1823-1827.
- [4] 董亚楠, 柳超, 董姣姣, 等. 薯蓣皂苷元白蛋白纳米粒制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(7): 2110-2116.
- [5] Okawara M, Tokudome Y, Todo H, *et al.* Enhancement of diosgenin distribution in the skin by cyclodextrin complexation following oral administration [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(1): 36-40.
- [6] 段黎娟, 黄小强, 贾安, 等. 薯蓣皂苷元滴丸制备工艺优化及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2024, 46(3): 947-951.
- [7] Liu P, Zhou J Y, Chang J H, *et al.* Soluplus-mediated diosgenin amorphous solid dispersion with high solubility and high stability: Development, characterization and oral bioavailability [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 2959-2975.
- [8] 王慧弟, 张金坤, 郭进. 负载  $\alpha$ -常春藤皂苷聚合物胶束的制备与体内外评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 123-129.
- [9] 缪晴, 萨比哈·帕合尔丁, 曾思瑀, 等. 基于天然低共熔溶剂的甜叶菊中甜菊糖绿色提取方法及优化 [J]. 植物学报, 2021, 56(6): 722-731.
- [10] Gupta E, Mohammed A, Mishra N, *et al.* Antioxidant and

- anti-diabetic potential of rebaudioside A and a mixture of steviol glycosides in alloxan-induced diabetic rats [J]. *Indian J Nat Prod Resour*, 2021, 12(3): 391-399.
- [11] Wang T, Gao Z, Guo C L, *et al.* A novel nanomicelle based on rebaudioside A: An oral nanoplatform with enhanced nephroprotective effect of myricetin [J]. *Int J Pharm X*, 2025, 10: 100389.
- [12] Liu C Z, Niu M C, Wang Y B, *et al.* Self-assembled rebaudioside a nanomicelles: A novel delivery system for mangiferin to increase oral bioavailability [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(29): 18303-18315.
- [13] 王酩, 张佩琛, 范高洁, 等. 玉米肽负载芹菜素纳米粒的制备、口服药动学及对高血压大鼠的治疗作用 [J]. *药物评价研究*, 2026, 49(2): 603-616.
- [14] 吕小改, 张攀, 李梦, 等. 葡聚糖涂层的芹菜素-玉米醇溶蛋白纳米复合物的制备及理化性质评价 [J]. *化学研究与应用*, 2025, 37(10): 2965-2976.
- [15] 尚丹, 张广辉, 李晓婷, 等. 基于“药辅合一”的甜菊素-隐丹参酮自胶束化固体分散体制备、表征及体内评价 [J]. *中草药*, 2025, 56(13): 4621-4633.
- [16] 王涛丽, 张广辉, 张莉, 等. 负载二氢杨梅素 ZIF-8 纳米粒的制备、表征及抗肿瘤评价 [J]. *药物评价研究*, 2025, 48(5): 1224-1235.
- [17] 王群, 唐甜甜, 刘文, 等. 黄芪六一汤抗糖尿病肾病的药效组分筛选研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(4): 730-745.
- [18] 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.
- [19] 李俊. OpiCa1-PEG-PLGA 纳米胶束的制备及其对小鼠致死性心脏猝死的拮抗效应 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2024.
- [20] 董亚楠, 任书强, 柳超, 等. 蒙花苷巯基化纳米胶束的制备、表征及其口服吸收生物利用度评价 [J]. *中草药*, 2023, 54(23): 7776-7787.
- [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] 决利利, 梁婧, 李晓婷, 等. 松果菊苷固体脂质纳米粒的制备及其在体肠吸收特性、体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2022, 44(8): 2429-2434.
- [23] 王改利, 高青, 李晓蒙, 等. 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 [J]. *中草药*, 2025, 56(23): 8534-8547.
- [24] 赵文萃, 赵庆兰, 赵洪昌, 等. 胆甾醇琥珀酰基白及多糖自组装纳米粒的制备及其表征 [J]. *解放军药学报*, 2023, 36(4): 283-286.
- [25] 王鑫, 范鑫, 郑佳俊, 等. 基于“药辅合一”的牛至精油-石榴皮多酚纳米乳制备及性能研究 [J]. *中草药*, 2025, 56(10): 3513-3522.

[责任编辑 郑礼胜]