水飞蓟宾纳米混悬剂的制备与体外评价

张 领，程佳慧，常金花，刘喜纲*

（承德医学院中药研究所，河北省中药研究与开发重点实验室，河北承德 067000）

摘要：为提高难溶性药物水飞蓟宾的溶出度，本试验采用高压均质法制备水飞蓟宾纳米混悬剂（Sy-NS），并以粒径和多分散性指数（PDI）为指标，优化了处方因素（如稳定剂、投药量、冻干保护剂）和工艺参数。结果表明，由十二烷基硫酸钠（SDS）和聚乙烯基己内酰胺 - 聚乙酸乙烯酯 - 聚乙二醇接枝共聚物（Soluplus）组成复合稳定剂，且在药物、SDS 和 Soluplus 质量比为 60 ∶ 1 ∶ 9 的基础上高压均质，最后加入 6%蔗糖和 1%甘露醇为冻干保护剂，冷冻干燥可得到粒径为 409.3 nm、PDI 为 0.332 的 Sy-NS，冻干前后粒径变化小。以含 0.5% SDS 的水溶液为溶出介质，考察了 Sy-NS、物理混合物、原料药的溶出行为，结果显示 2 h 溶出率分别为 61.8%、31.9%、26.5%。红外光谱（IR）、差示扫描量热（DSC）和 X 射线衍射（XRD）分析结果表明，制备过程中药物的状态发生了改变。

关键词：水飞蓟宾；纳米混悬剂；高压均质法；溶出度；表征

中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)02-0233-07

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.02.010

Preparation and *in vitro* Evaluation of Silybinin Nanosuspension

ZHANG Ling, CHENG Jiahui, CHANG Jinhua, LIU Xigang*

(*Hebei Province Key Lab. of Research and Development for Chinese Medicine, Chinese Medicine Research Institute, Chengde Medical University, Chengde 067000*)

ABSTRACT: To improve the dissolution rate of insoluble drug silybinin, the silybinin nanosuspension (Sy-NS) was prepared by high pressure homogenization method. The formulation factors (such as the stabilizer, adding amount of drug and lyoprotectant) and process parameters were optimized with particle size and polydispersity index (PDI) as indicators. The results showed that the optimal nanosuspension was obtained by high pressure homogenization with sodium dodecyl sulfate (SDS) and polyvinyl caprolactam-polyvinyl acetate-polyethylene glycol graft copolymer (Soluplus) as the composite stabilizer and the mass ratio between drug, SDS and Soluplus of 60∶1∶9. The particle size and PDI of the freeze-dried product with the combination of 6% sucrose and 1% mannitol as lyoprotectants were 409.3 nm and 0.332. And no significant change in particle size was observed after lyophilization. The dissolution behaviors of Sy-NS, physical mixture and silybinin in aqueous solution containing 0.5% SDS were investigated, and the calculated dissolution rate at 2 h were 61.8%, 31.9%, and 26.5%, respectively. The results of infrared spectroscopy (IR), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD) showed that the state of silybinin was changed during the preparation process.

Key Words: silybinin; nanosuspension; high pressure homogenization; dissolution; characterization

水飞蓟宾（silybinin，**1**）是从菊科植物水飞蓟果实中提取分离所得的黄酮木质素类化合物，具有促进受损害细胞膜复原、保护正常肝脏细胞等功效，是传统的保肝药物，毒性小、不良反应轻微[1—5]。**1** 通过清除体内活性氧、抗肝组织纤维化等发挥对

收稿日期：2021-04-23

基金项目：河北省教育厅青年基金指令课题(QN2018057)

作者简介：张 领(1996—)，女，硕士研究生，专业方向：中药制剂现代化。

通信作者：刘喜纲(1978—)，男，教授，从事中药制剂现代化研究。E-mail：liuxgmail@sina.com

肝损伤的保护作用[6]。然而，**1** 属于生物药剂学分类系统（BCS）Ⅱ类药物[1]，水溶性差、生物利用度低，很大程度上限制了 **1** 的应用。减小药物的粒径可增加药物的表面积，进而增加难溶性药物的溶出度。纳米混悬剂（nanosuspension，NS）是在溶液中加入少量表面活性剂，用适当的技术将药物粒子稳定在其所形成的分散体系中[7]，能提高药物的溶解度和生物利用度，适用于难溶于水和有机溶剂的药物。**1** 纳米混悬剂（**1**-NS）制备过程中，需要使用适量的稳定剂来降低粒子的聚集速度。良好的稳定剂可吸附在药物纳米晶体表面，提供足够的空间位阻或静电排斥力，防止粒子聚集[8]。常用的稳定剂分为离子型稳定剂（电荷稳定）和非离子型稳定剂（空间稳定），2 种稳定剂合用可使制剂具有更长效的稳定作用[8—9]。本研究联用离子型稳定剂与空间稳定型稳定剂，采用高压均质法制备 **1**-NS，考察均质压力和次数对 **1**-NS 平均粒径的影响，并用冷冻干燥法固化 **1**-NS，筛选了冻干保护剂种类和用量，表征所得 **1**-NS 的性质，为进一步的制剂研究提供参考。

1　仪器与试药

FSH-2 型高速分散均质机（常州市伟嘉仪器制造有限公司）；RC806 型溶出试验仪（天津市天大天发科技有限公司）；ZEN3690 型激光粒度测定仪（英国 Malvern 公司）；LGJ-220 型冷冻干燥机（北京四环科学仪器厂有限公司）；AH-2010 型高压均质机（AST 工程有限公司）；1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；DSC3 型差示扫描量热分析仪（瑞士梅特勒 - 托利多公司）；Nicolet iS50 型红外光谱仪（美国 Thermo Scientific 公司）；SmartLab 型 X 射线多晶衍射仪（日本理学公司）。

1 原料药（宝鸡市金台区科瑞仪器经销部，含量 94.1%，批号 HS236834198）；**1** 对照品（成都普菲德生物技术有限公司，含量≥ 98%，批号 170503）；聚乙烯基己内酰胺 - 聚乙酸乙烯酯 - 聚乙二醇接枝共聚物（Soluplus）和乙烯基吡咯烷酮 - 乙酸乙烯酯共聚物（PVP VA64）（德国 BASF 公司）；十二烷基硫酸钠（SDS，天津市光复精细化工研究所）；葡萄糖（天津市科密欧化学试剂有限公司）；甘露醇（天津百伦斯生物技术有限公司）；泊洛沙姆 407、羟丙甲纤维素（型号 E5）、维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯（TPGS）、蔗糖、α- 乳糖、海藻糖（北京凤礼精求医药股份有限公司）；甲醇和冰乙酸为色谱纯。

2　方法及结果

2.1　**1**-NS 的制备

2.1.1　高压均质法制备 **1**-NS 悬液

取水 60 ml 置 100 ml 烧杯中，精密加入一定量的稳定剂，搅拌至溶解。然后加入一定量的 **1** 原料药，继续搅拌使二者充分混匀，在高速分散均质机上以 1 100 r/min 的转速预分散 20 min。再将得到的混合液置高压均质机中，在 20 MPa 压力下循环 1 min，50 MPa 压力下循环 1.5 min，800、100 MPa 压力下分别循环 1 min，同时控制冷阱温度为 18 ℃，即得 **1**-NS 悬液。

将制备得到的 **1**-NS 悬液用超纯水稀释 80 倍后测定粒径和多分散性指数（PDI）。仪器工作参数为：以水为分散介质（折射率为 1.33），散射角度为 90 ℃，稳定 2 min 后测试，测试时间为 5.5 min。

2.1.2　**1**-NS 的固化

为提高 **1**-NS 的稳定性，采用冷冻干燥法将制得的 **1**-NS 悬液固化[10—12]。为了防止冷冻干燥过程中 **1**-NS 的团聚，需加入不同种类和浓度的冻干保护剂。冷冻干燥机的工作参数为：真空度 15 Pa，冷阱温度 －90 ℃，物料温度 －40 ℃。比较冷冻干燥前后 **1**-NS 粒径的变化。

2.2　**1**-NS 悬液的处方优化

2.2.1　单一稳定剂的筛选

精密称取 **1** 原料药 0.60 g，同时照药物与稳定剂质量比分别为 1 ∶ 1、5 ∶ 1 和 10 ∶ 1 称取不同稳定剂（泊洛沙姆 407、HPMC E5、TPGS、Soluplus、PVP VA64），照“**2.1.1**”项下方法操作，制备 **1**-NS 悬液，分别测定所得制品的粒径和 PDI，结果见表 1。

由表 1 可知，采用稳定剂 TPGS 与 Soluplus 时所得的 **1**-NS 粒径较小。但试验中观察到，在以 TPGS 为稳定剂制备 **1**-NS 的过程中会出现明显的药物析出现象，故选用 Soluplus 为稳定剂。

2.2.2　复合稳定剂组成的筛选

Soluplus 属于空间稳定型稳定剂，而离子型稳定剂可通过静电排斥力发挥稳定作用[13]，2 种类型

的稳定剂合用可使 **1**-NS 悬液的稳定性更强。因此，采用 Soluplus 与离子型表面活性剂 SDS 组成复合稳定剂（二者质量比分别为 9 ∶ 1、7 ∶ 3、6 ∶ 4）。照“**2.1.1**”项下方法制备药物与复合稳定剂质量比为 1 ∶ 1、3 ∶ 1、5 ∶ 1、6 ∶ 1、10 ∶ 1（固定 **1** 原料药用量为 0.3 g）的 **1**-NS 悬液，并测定粒径和 PDI 以筛选复合稳定剂的组成比例。结果见表 2。

由表 2 可见，药物与复合稳定剂比为 6 ∶ 1 且 Soluplus ∶ SDS 为 9 ∶ 1 和药物与复合稳定剂比为 3 ∶ 1 且 Soluplus ∶ SDS 为 6 ∶ 4 的处方粒径较小，分别为 522.0 和 519.5 nm，PDI 分别为 0.357 和 0.404。前者 PDI 值较小，且粒径的 SD 值也较小，故选用药物与复合稳定剂比为 6 ∶ 1 且 Soluplus ∶ SDS 为 9 ∶ 1 的组合，即 **1** ∶ SDS ∶ Soluplus=60 ∶ 1 ∶ 9（*m*/*m*）。

2.2.3 投药量的筛选

选用“**2.2.2**”项下筛选得到药物与复合稳定剂的比例，照“**2.1.1**”项方法制备投药量分别为 0.3、0.6、1.8 和 3 g（即分别为 0.5%、1%、3%、5%）的 **1**-NS 悬液，并测定粒径和 PDI，结果见图 1。

在药物浓度为 1%时所得 **1**-NS 的粒径、PDI 最小，故最终选定药物浓度为 1%。

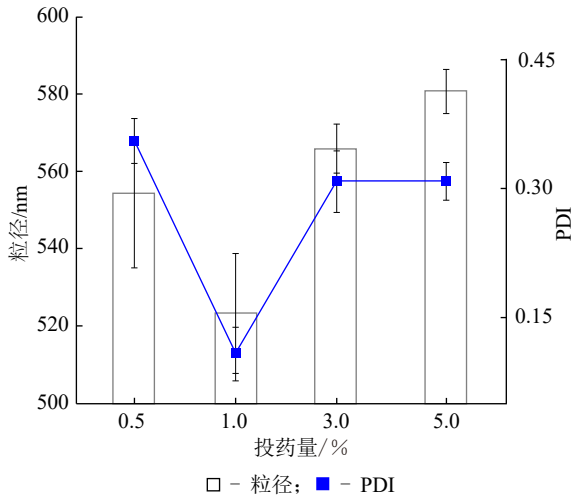


图 1 投药量对 1-NS 粒径和 PDI 的影响（*n*=3）

Fig.1 Effect of Feeding Amount of Drug on Particle Size and PDI of **1**-NS（*n*=3）

2.3 1-NS 高压均质工艺的优化

在“**2.2.3**”项下的筛选结果基础上，对高压均质过程的压力和循环时间进行优化。循环方法为：先以 20 MPa 压力循环至 **1**-NS 粒径、PDI 不变，以此类推，再进行 50、80、110 MPa 压力下的循环，得到不同压力下的最佳均质时间，结果见表 3。

经对压力和时间的优化，得到 **1**-NS 高压均质

表 1 稳定剂种类及用量对 1-NS 粒径和 PDI 的影响（$\bar{x}\pm s$，*n*=3）

Tab.1 Effects of Type and Amount of Stabilizers on Particle Size and PDI of **1**-NS（$\bar{x}\pm s$, *n*=3）

稳定剂	1∶1		5∶1		10∶1	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
泊洛沙姆407	620.2±16.6	0.281±0.054	602.2±25.4	0.256±0.007	610.5±22.8	0.303±0.057
HPMC E5	655.2±16.9	0.197±0.078	651.9±19.2	0.353±0.066	613.8±15.9	0.197±0.041
TPGS	537.5±11.5	0.182±0.086	548.0±25.5	0.268±0.080	539.9±24.7	0.350±0.078
Soluplus	580.8±18.3	0.145±0.060	579.9±31.9	0.398±0.060	531.8±17.7	0.453±0.093
PVP VA64	662.8±3.0	0.300±0.034	638.3±11.5	0.280±0.071	694.5±25.6	0.328±0.068

表 2 复合稳定剂组成和药物与复合稳定剂比例对 1-NS 粒径和 PDI 的影响（$\bar{x}\pm s$，*n*=3）

Tab.2 Effects of Composite Stabilizer Composition and Ratio of Drug to Composite Stabilizer on Particle Size and PDI of **1**-NS（$\bar{x}\pm s$, *n*=3）

药物与复合稳定剂质量比	复合稳定剂质量比9∶1		复合稳定剂质量比7∶3		复合稳定剂质量比6∶4	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
1∶1	670.6±72.5	0.569±0.071	574.2±53.5	0.564±0.127	594.2±51.4	0.595±0.091
3∶1	647.7±52.8	0.570±0.182	643.2±33.1	0.546±0.036	519.5±21.5	0.404±0.121
5∶1	641.0±21.9	0.562±0.103	571.0±8.3	0.454±0.047	588.3±17.7	0.473±0.069
6∶1	522.0±19.2	0.357±0.019	596.1±64.2	0.557±0.123	658.7±60.0	0.685±0.179
10∶1	607.0±0.9	0.516±0.032	541.2±10.0	0.428±0.028	577.3±18.2	0.461±0.042

的工艺参数为：在 20、50、80、110 MPa 压力下分别均质 1、4、6、8 min。

2.4 1-NS 冷冻干燥工艺的优化

2.4.1 单一冻干保护剂的筛选

分别称取不同种类（海藻糖、乳糖、葡萄糖、蔗糖和甘露醇）和不同浓度（1%、2%、3%、4%、5%和 6%）的冻干保护剂 2 ml 于 EP 管中，加入纯水 200 μl，振荡至冻干保护剂完全溶解，再分别加入上述优化的 **1**-NS 悬液 1 ml，振荡混匀，放入西林瓶中于冷冻干燥机中冻干，取出后目测观察 **1**-NS 形态，并测定其粒径和 PDI，结果见图 2。

以蔗糖和葡萄糖为单一冻干保护剂时，冻干前后的 **1**-NS 粒径变化最小，但外观形态有塌陷、皱缩、表面不平整、有颗粒感的情况，虽以甘露醇为保护剂时冻干前后粒径变化较大，但 **1**-NS 外观无皱缩现象、表面平整、光滑，因此需要进行复合保护剂的筛选。

2.4.2 复合冻干保护剂的筛选

根据上述结果，采用冻干前后粒径变化较小、冻干品外观形态较好时所用的蔗糖（6%）或葡萄糖（5%），再加入甘露醇组成复合冻干保护剂，考察蔗糖（6%）或葡萄糖（5%）与 0.1%、0.5%、1%和 3%的甘露醇组成复合冻干保护剂的保护效果。结果见表 4。

由表 4 可知，采用 6%蔗糖和 1%甘露醇作为复合冻干保护剂，粒径为 409.3 nm、PDI 为 0.332，冻干前后粒径变化小，故最终选用 6%的蔗糖加 1%的甘露醇复合作为冻干保护剂制备 **1**-NS。

2.5 1-NS 的含量测定

2.5.1 溶液的制备

对照品贮备液：精密称取 **1** 对照品约 3 mg，置 10 ml 量瓶中，加适量甲醇超声溶解，放冷后加甲醇定容，得 300 μg/ml 对照品贮备液。

供试品溶液：取 **1**-NS 样品，置 25 ml 量瓶中，

表 3　在不同压力及时间制备的 1-NS 的粒径、PDI（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.3　Particle Size and PDI of **1**-NS Prepared at Different Pressures and Different Operating Time（$\bar{x}\pm s$, n=3）

时间/min	20 MPa		50 MPa		80 MPa		110 MPa	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
1	737.6±17.8	0.254±0.121	835.7±24.3	0.532±0.024	677.5±18.6	0.337±0.050	476.2±2.1	0.282±0.080
2	838.6±127.8	0.585±0.178	737.9±36.2	0.414±0.057	564.9±6.3	0.293±0.031	451.4±15.4	0.276±0.037
4	762.7±49.1	0.539±0.085	674.0±17.5	0.490±0.044	548.9±105	0.272±0.012	436.3±4.9	0.289±0.027
6	—	—	—	—	486.4±4.0	0.277±0.035	411.9±1.7	0.236±0.049
8	—	—	—	—	515.4±4.6	0.246±0.034	402.5±2.2	0.176±0.050

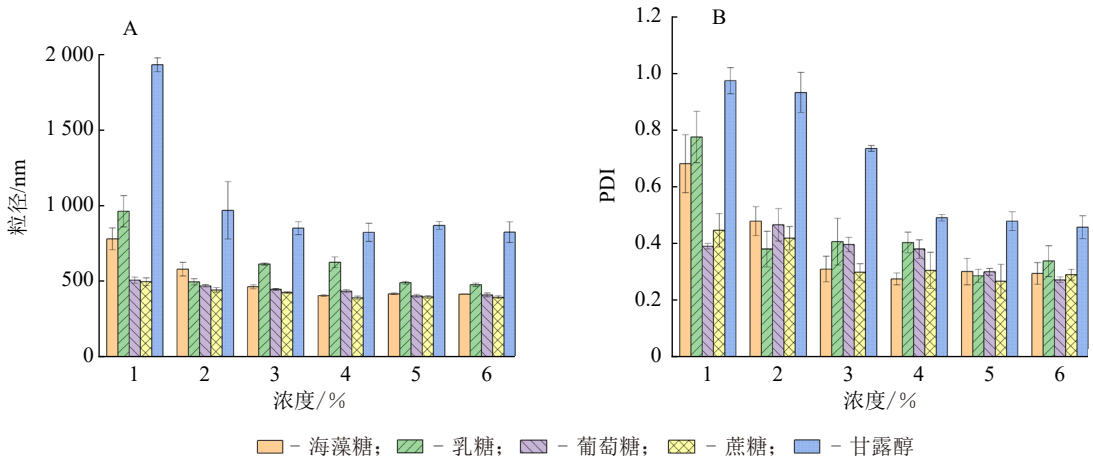


图 2　冻干保护剂种类和浓度对 1-NS 粒径（A）和 PDI（B）的影响（n=3）

Fig.2　Effects of Type and Concentration of Lyoprotectant on Particle Size（A）and PDI（B）of **1**-NS（n=3）

表 4 用不同复合冻干保护剂得到的 1-NS 的粒径、PDI（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.4 Particle Size and PDI of **1**-NS Prepared with Different Combined Lyoprotectants（$\bar{x}\pm s$, n=3）

甘露醇/%	5%葡萄糖		6%蔗糖	
	粒径	PDI	粒径	PDI
0.1	426.4±11.19	0.393±0.059	423.0±9.19	0.358±0.045
0.5	445.4±11.38	0.385±0.029	422.6±9.45	0.311±0.015
1	430.5±9.95	0.323±0.053	409.3±12.61	0.332±0.060
3	446.3±16.31	0.368±0.072	408.7±17.66	0.353±0.021

加甲醇超声溶解，放冷后定容。精密移取上述溶液 1 ml 置 10 ml 量瓶中，加甲醇定容，过滤，取上清液，备用。

2.5.2 色谱条件

色谱柱 Kromasil C_{18} 柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）；流动相 甲醇：0.5%冰乙酸（48：52）；检测波长 278 nm；流速 1.0 ml/min；柱温 30 ℃；进样量 10 μl [14]。

2.5.3 方法学考察

本试验采用 HPLC 法测定 **1** 含量与溶出度，方法专属性强，线性范围为 1～61 μg/ml，回收率为 97.55%～103.50%、RSD 为 1.14%～3.20%，精密度、稳定性的 RSD 均小于 2%，符合要求。

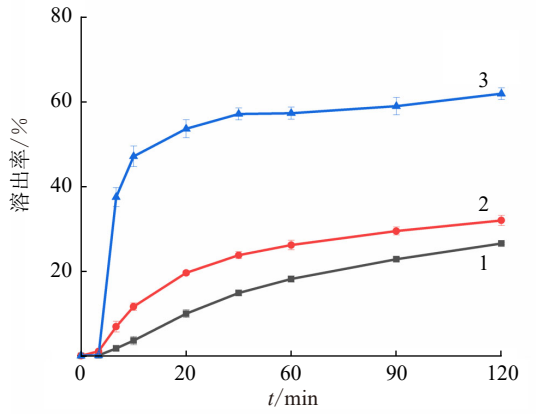
2.5.4 **1**-NS 含量测定

取 **1**-NS 样品，按“**2.5.1**”项下方法制备供试品溶液，进样测定，记录峰面积。最终测得 **1**-NS 平均含量为（9.7±0.4）%（n=3）。

2.6 溶出度测定

按《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0931 桨法，转速 100 r/min，温度（37±0.5）℃，溶出介质为 0.5% SDS 的水溶液 900 ml，分别取 **1**-NS、物理混合物（PM，**1**：SDS：Soluplus：蔗糖：甘露醇 =60：1：9：360：60）及 **1** 原料药（均相当于 **1** 10 mg）置溶出杯中验试。分别于 5、10、15、30、45、60、90、120 min 取样 2 ml（同时补加同温等量的溶出介质），经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液照“**2.5.2**”项下色谱条件进行溶出度测定，绘制溶出曲线，结果见图 3。

由图 3 可见，**1**-NS、PM、**1** 原料药的 2 h 溶出率分别为 61.8%、31.9%、26.5%。



1－**1** 原料药；2－PM；3－**1**-NS

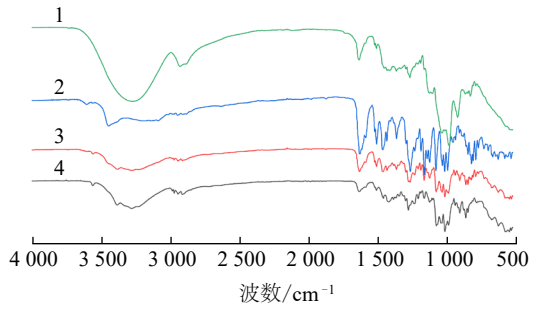
图 3 0.5% SDS 溶液中的溶出曲线（n=3）

Fig.3 Dissolution Curves in 0.5% SDS Solution（n=3）

2.7 理化性质鉴别

2.7.1 红外光谱（IR）分析

取样品［即 **1** 原料药、**1**-NS、PM 和混合载体（不含药物，其他组分和比例与 PM 相同）］适量，与适量溴化钾研磨、混合均匀后压片，在 500～4 000 cm^{-1} 波数范围内进行红外光谱扫描，记录相应谱图，见图 4。



1－**1**-NS；2－**1** 原料药；3－PM；4－ 混合载体

图 4 不同样品的红外光谱图

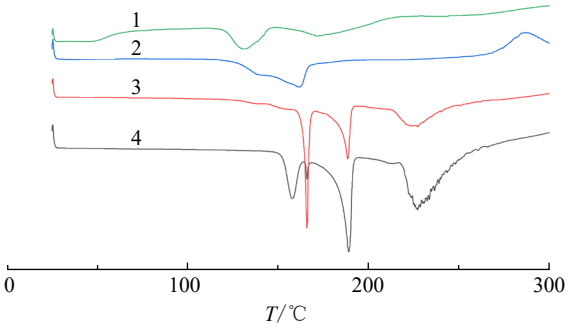
Fig.4 Infrared Spectra of Different Samples

1 分子结构中存在 C＝O、−OH 等结构，在 3 606、3 445 cm^{-1} 处存在 −OH 峰，1 628 cm^{-1} 处存在 C＝O 峰，PM 中 C＝O 峰和 −OH 峰分别出现在 1 633 cm^{-1} 处和 3 558、3 381、3 279 cm^{-1} 处，混合载体中 C＝O 峰和 −OH 峰出现在 1 632 cm^{-1} 处和 3 559、3 383、3 278 cm^{-1} 处。**1**-NS 在 3 281、

1 635 cm^{-1} 处存在 -OH 峰和 C = O 峰，峰变宽变缓的原因可能是制备过程导致药物与载体发生了相互作用。

2.7.2　差示扫描量热（DSC）分析

取样品适量（同“**2.7.1**”项），均匀放入铝盘内，进行 DSC 分析。测试条件：升温速度 10 ℃/min，扫描范围 25 ～ 300 ℃。结果见图 5。



1 - **1**-NS；2 - **1** 原料药；3 - PM；4 - 混合载体

图 5　不同样品的 DSC 曲线

Fig.5　DSC Curves of Different Samples

如图 5 所示，**1** 在 161 ℃存在熔融峰，结合文献资料[15]，推测在 PM 和混合载体中的 188、229 ℃附近的熔融峰为蔗糖和 SDS。PM 中 166 ℃出现熔融峰可能为甘露醇的熔融峰，由于 **1** 的熔点与甘露醇较接近，其峰被掩盖，但 150 ℃附近仍可见与 **1** 相似的曲线。而在 **1**-NS 中 130 和 180 ℃附近存在宽的熔融峰，其中 180 ℃为蔗糖的熔融峰，而 130 ℃出现的新特征峰表明制备过程中可能发生药物状态的改变。

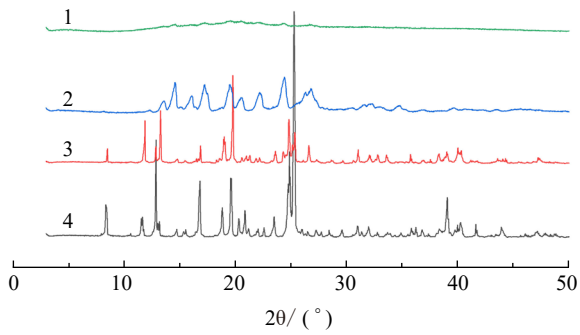
2.7.3　X 射线衍射（XRD）分析

取样品适量（同“**2.7.1**”项）进行 XRD 分析。测试条件为：波长（Cu 靶）1.540 6 nm，工作电流 40 mA，工作电压 40 kV，扫描范围 5 ～ 50 °，结果见图 6。

1-NS 与 **1** 原料药、PM、空白载体相比，主要衍射峰的出峰位置一致，但 **1**-NS 的峰强度明显减弱，表明高压均质后 **1** 状态发生改变[16]。

3　讨论

高压均质法制备纳米混悬剂，根据均质化的原理可分为三类，微射流法、活塞缝隙均质法和超音速液体流法。本试验选用的活塞缝隙式高压均质法技术成熟，具有较好的重现性，同时可避免微生物污染。Soluplus 具有增溶作用，常作为固体分散体的载体材料。在 **1**-NS 制备过程中，Soluplus 作为非离子型表面活性剂[10]，通过占据晶体的生长位点，抑制晶体生长，为 **1**-NS 提供空间稳定作用。SDS 为离子型表面活性剂，毒性和刺激性较阳离子表面活性剂低、易溶于水，可在药物表面形成静电层，通过静电排斥力阻止药物分子聚集沉降。二者联合使用可更好抑制奥斯瓦尔德熟化现象，使样品粒径更小、更稳定。



1 - **1**-NS；2 - **1** 原料药；3 - PM；4 - 混合载体

图 6　不同样品的 X 射线衍射图

Fig.6　X-Ray Diffraction Patterns of Different Samples

在测定粒径的过程中，为了减少稀释对粒径的影响，曾考察了不同样品浓度和稀释倍数对样品粒径、PDI 的影响。在高压均质后，将 0.5%、1%、3%、5% 的 **1**-NS 分别稀释 200、133、100、80、66、57、50 倍后进行粒径测量。结果显示在上述范围内，各组均在稀释倍数为 80 倍时得到较好的测量结果，故本研究选择稀释倍数为 80 倍，即在药物浓度为 1% 时由 25 μl 稀释到 2 ml。在高压均质过程中随着均质压力增大和均质时间的延长，在一定压力和时间范围内，**1**-NS 的粒径逐渐减小，但当均质次数持续增加时，**1**-NS 的粒径趋于稳定。粒径的减小可能导致 **1** 理化性质的改变，IR、XRD、DSC 的表征结果表明，**1**-NS 中药物状态发生了改变。溶出度试验结果表明，**1**-NS 在 0.5% SDS 水溶液中

120 min时溶出率达到61.8%，明显高于原料药，可见制成**1**-NS可提高原料药的溶出速度和程度，为进一步制剂的开发提供了参考。

参考文献：

[1] LOGUERCIO C, FESTI D. Silybin and the liver: from basic research to clinical practice [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, **17**(18): 2288-2301.

[2] 胡 珊. “甘飞保肝注射液”的制备、质量标准及对小鼠保肝作用研究[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2014.

[3] SOLEIMANI V, DELGHANDI P S, MOALLEM S A, *et al*. Safety and toxicity of silymarin, the major constituent of milk thistle extract: an updated review [J]. *Phytother Res*, 2019, **33**(6): 1627-1638.

[4] BI X, YUAN Z, QU B, *et al*. Piperine enhances the bioavailability of silybin via inhibition of efflux transporters BCRP and MRP2 [J]. *Phytomedicine*, 2019, **54**: 98-108.

[5] 辛 鑫, 胡义扬, 冯 琴. 水飞蓟宾治疗非酒精性脂肪性肝病研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2018, **28**(3): 189-192.

[6] 杨婷婷, 王 伟, 李国全, 等. 水飞蓟宾对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, **22**(10): 102-106.

[7] GOEL S, SACHDEVA M, AGARWAL V. Nanosuspension technology: recent patents on drug delivery and their characterizations [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2019, **13**(2): 91-104.

[8] VIJAY A, MEENAKSHI B. Stability issues related to nanosuspensions: a review [J]. *Pharm Nanotechnol*, 2013, **1**(2): 85-92.

[9] 刘 阳, 谢 锦, 许俊男, 等. 药物固体纳米晶体稳定性关键影响因素的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2018, **49**(8): 1073-1082.

[10] 王言才. 水飞蓟宾纳米晶释药系统的构建与评价[D]. 济南: 山东大学博士学位论文, 2011.

[11] MALAMATARI M, SOMAVARAPU S, TAYLOR K M G, *et al*. Solidification of nanosuspensions for the production of solid oral dosage forms and inhalable dry powders [J]. *Exp Opin Drug Deliv*, 2016, **13**(3): 435-450.

[12] 刘 凯, 童达君, 何 媛. 白藜芦醇纳米混悬液的制备及固化[J]. 药学研究, 2016, **35**(4): 222-225.

[13] 叶小强, 司俊仁, 李新月, 等. 新型接枝聚合物Soluplus®的结构性质及在药剂学中的应用[J]. 吉林医药学院学报, 2015, **36**(5): 368-372.

[14] 刘家阳, 高 岩, 贾宏欣, 等. 高效液相色谱法测定保健食品中水飞蓟宾含量的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, **23**(6): 1422-1423.

[15] 王莉芳, 陈孝男, 李 军, 等. 龙血竭酚类提取物纳米混悬剂的制备及体外溶出研究[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(11): 2236-2243.

[16] 张盛伟, 李湘洲, 李文生, 等. 姜黄素纳米混悬剂的制备及其表征[J]. 林产化学与工业, 2016, **36**(2): 109-114.

(上接第213页)

[7] 李 丽, 杨进波. 局部皮肤用药的生物等效性研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, **32**(24): 2327-2340.

[8] 王 超, 陆 军, 郭春梅. UPLC-MS/MS法检测祛痘类化妆品中盐酸特比萘芬含量 [J]. 日用化学品科学, 2020, **43**(4): 36-39.

[9] BRETERNITZ M, FLACH M, PRÄBLER J, *et al*. Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and cohesion assessed by sequential tape stripping; a randopmized, controlled study [J]. *Br J Dermatol*, 2007, **156**(2): 231-240.

[10] GARVIE-COOK H, FREDERIKSEN K, PETERSSON K, *et al*. Biophysical elucidation of the mechanism of enhanced drug release and topical delivery from polymeric film-forming systems [J]. *J Control Release*, 2015, **212**: 103-112.

[11] DICK I P, SCOTT R C. Pig ear skin as an i*n-vitro* model for human skin permeability [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1992, **44**(8): 640-645.

[12] KIENZLER J L, QUEILLE-ROUSSEL C, MUGGLESTONE C, *et al*. Stratum corneum pharmacokinetics of the antifungal drug, terbinafine, in a novel topical formulation, for single-dose application in dermatophytoses [J]. *Curr Med Res Opin*, 2007, **23**(6): 1293-1302.