

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

王 皓¹, 张佩琛¹, 范高洁¹, 张 宁¹, 郑 飞², 崔晓鸽^{1*}

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 上海医药工业研究有限公司, 上海 201203

摘要: **目的** 制备负载芹菜素玉米肽纳米粒 (Api-CP-NPs), 考察其口服药动学特征及对自发性高血压 (SH) 大鼠的治疗效果。**方法** 采用自组装法制备 Api-CP-NPs, 通过单因素实验结合 Box-Behnken 设计-响应面法优化处方工艺。运用透射电子显微镜 (TEM) 观察微观形貌、X-射线粉末衍射法 (XRPD) 分析晶体结构, 对纳米粒进行表征。比较芹菜素原料药与 Api-CP-NPs 在模拟胃、肠液中的降解动力学差异, 采用透析袋法研究 Api-CP-NPs 的体外释药行为。对 SH 大鼠分别 ig 给予芹菜素原料药与 Api-CP-NPs, 计算主要药动学参数。将 36 只雄性 SH 大鼠随机分为模型组、卡托普利 (阳性药, 10 mg·kg⁻¹) 组、玉米肽 (1.66 g·kg⁻¹) 组、芹菜素 (100 mg·kg⁻¹) 组及 Api-CP-NPs 低、高剂量 (50、100 mg·kg⁻¹) 组, 另取 6 只 WKY 大鼠作为对照组。给药后每周监测血压, 采用 ELISA 法测定血清中肾素 (REN)、血管紧张素 II (Ang II) 及醛固酮 (ALD) 含量, 苏木素-伊红 (HE) 染色法测量颈动脉厚度及观察血管病理形态。**结果** 优化得到的 Api-CP-NPs 最佳处方为: 玉米肽质量浓度 8.30 mg·mL⁻¹, 制备温度 47.50 °C, 制备时间 3.00 h。该条件下制备的 Api-CP-NPs, 包封率、载药量、粒径及 Zeta 电位分别为 (87.91±1.04) %、(5.33±0.12) %、(72.74±3.45) nm 及 (-18.98±0.63) mV。TEM 观察显示 Api-CP-NPs 呈不规则球形, XRPD 结果表明芹菜素在纳米粒中以无定形态存在。Api-CP-NPs 可显著降低芹菜素在模拟胃肠液中的降解速率, 同时大幅提高其在模拟肠液中的累积释放率。口服药动学结果显示, 与芹菜素原料药相比, Api-CP-NPs 的达峰时间 (*t*_{max}) 延迟至 (2.11±0.43) h, 达峰浓度 (*C*_{max}) 升高至 (2.58±0.87) μg·mL⁻¹, 半衰期 (*t*_{1/2}) 延长至 (5.50±1.76) h, 血药浓度-时间曲线下面积 (AUC_{0-*t*}) 提高 4.14 倍, 提示 Api-CP-NPs 可显著促进芹菜素的体内吸收。药效学结果显示, 与模型组相比, 芹菜素组在给药第 3、4 周血压显著下降 (*P*<0.05), 与芹菜素组相比, Api-CP-NPs 高剂量组给药第 2 周血压显著下降 (*P*<0.05), 第 3、4 周血压极显著下降 (*P*<0.01); 同时, 该组血清 Ang II、ALD 含量极显著降低 (*P*<0.01), 动脉中膜厚度极显著变薄 (*P*<0.01), 中膜结构紊乱情况明显改善。**结论** Api-CP-NPs 可显著提高芹菜素的体外稳定性, 促进其体内吸收, 进而增强芹菜素对 SH 大鼠的治疗效果。

关键词: 芹菜素; 玉米肽; Box-Behnken 设计-响应面法; 药动学; 自发性高血压大鼠; 肾素-血管紧张素-醛固酮系统

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)02-0603-14

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.019

Apigenin loaded by corn peptide nanoparticles: Preparation, oral pharmacokinetics and therapeutic effects on hypertensive rats

WANG Ming¹, ZHANG Peichen¹, FAN Gaojie¹, ZHANG Ning¹, ZHENG Fei², CUI Xiaoge¹

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai, 201203, China

Abstract: Objective To prepare apigenin-corn peptide nanoparticles (Api-CP-NPs) and investigate their oral pharmacokinetic characteristics and therapeutic effects on spontaneously hypertensive (SH) rats. **Methods** Api-CP-NPs were prepared by self-assembly method. The prescription and process were optimized by single factor experiments combined with Box-Behnken design-response surface methodology. The nanoparticles were characterized by transmission electron microscopy (TEM) for microscopic morphology and X-ray powder diffraction (XRPD) for crystal structure. The degradation kinetics of apigenin raw material and Api-CP-NPs in simulated gastrointestinal fluid were compared, and the *in vitro* drug release behavior of Api-CP-NPs was studied by dialysis

收稿日期: 2025-10-12

基金项目: 河南省科技攻关项目 (232102310384)

作者简介: 王 皓 (1989—), 女, 讲师, 研究方向为中医药临床与实验。E-mail: wangming54784@163.com

*通信作者: 崔晓鸽 (1983—), 女, 副教授, 研究方向为药学。E-mail: cuixg2007@126.com

bag method. SH rats were ig administered with apigenin raw material and Api-CP-NPs, and the main pharmacokinetic parameters were calculated. Thirty-six male SH rats were randomly divided into model group, captopril positive drug group ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), corn peptide group ($1.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), apigenin group ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and low and high dose Api-CP-NPs groups ($50, 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and another six WKY rats were used as the control group. Blood pressure was monitored weekly after administration. The contents of renin (REN), angiotensin II (Ang II) and aldosterone (ALD) in serum were determined by ELISA, and the pathological morphology of arterial vessels was observed by HE staining. **Results** The optimal prescription of Api-CP-NPs was obtained as follows: corn peptide mass concentration $8.30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, preparation temperature 47.50°C , and preparation time 3.00 h. Under these conditions, the encapsulation efficiency, drug loading, particle size and ζ potential of Api-CP-NPs were $(87.91 \pm 1.04)\%$, $(5.33 \pm 0.12)\%$, $(72.74 \pm 3.45) \text{ nm}$ and $(-18.98 \pm 0.63) \text{ mV}$, respectively. TEM observation showed that Api-CP-NPs were irregular spherical, and XRPD results indicated that apigenin existed in an amorphous state in the nanoparticles. Api-CP-NPs could significantly reduce the degradation rate of apigenin in simulated gastrointestinal fluid and greatly increase its cumulative release in simulated intestinal fluid. The oral pharmacokinetic results showed that compared with apigenin raw material, the peak time (t_{\max}) of Api-CP-NPs was delayed to $(2.11 \pm 0.43) \text{ h}$, the peak concentration (C_{\max}) increased to $(2.58 \pm 0.87) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the half-life ($t_{1/2}$) was prolonged to $(5.50 \pm 1.76) \text{ h}$, and the area under the blood concentration-time curve ($\text{AUC}_{0 \sim t}$) increased by 4.14 times, suggesting that Api-CP-NPs could significantly promote the *in vivo* absorption of apigenin. Pharmacodynamic results showed that compared with the model group, the apigenin group had a significant decrease in blood pressure at the 3rd and 4th weeks of administration ($P < 0.05$). Compared with the apigenin group, the high-dose Api-CP-NPs group had a significant decrease in blood pressure at the 2nd week of administration ($P < 0.05$), and a highly significant decrease at the 3rd and 4th weeks ($P < 0.01$). Meanwhile, the content of Ang II and ALD in the serum of this group was highly significantly reduced ($P < 0.01$), and the thickness of the arterial media was highly significantly thinned ($P < 0.01$), with a significant improvement in the disordered structure of the media. **Conclusion** Api-CP-NPs can significantly improve the *in vitro* stability of apigenin, promote its *in vivo* absorption, and thereby enhance the therapeutic effect of apigenin on SH rats.

Key words: apigenin; corn peptide; Box-Behnken response surface design method; pharmacokinetics; spontaneously hypertensive rats; renin-angiotensin-aldosterone system

芹菜素属于黄酮类化合物, 外观为浅黄色结晶粉末, 可从柏科圆柏叶、卷柏科卷柏全草、伞形科植物旱芹叶等原料中提取获得^[1], 其中旱芹中的芹菜素含量最高。研究证实^[2-3], 芹菜素可通过调节血脂代谢紊乱、改善血管功能等机制发挥降压活性。然而, 化学合成类降压药物常存在较明显的毒性问题^[4], 相比之下, 基本无不良反应的芹菜素具有较高的开发潜力^[3]。但芹菜素存在显著的理化与体内过程缺陷: 其溶解度仅为 $1.93 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[5], 疏水性较强, 导致在胃肠道液中的累积溶出度仅为 $20\% \sim 30\%$ ^[6-7]; 同时, 芹菜素在体内易降解且代谢广泛^[8], 显著影响其体内吸收效率, 生物利用度不足 1.0% ^[5]。因此, 促进芹菜素溶出、降低其降解速率、提高稳定性, 是改善其生物利用度低问题的关键。目前已开发的芹菜素制剂新技术包括固体分散体^[7]、纳米乳^[8]、磷脂复合物(制备溶剂为四氢呋喃)^[6]、脂质纳米粒^[9]等, 但这些技术普遍存在制备工艺复杂、处方组成繁琐、含大量表面活性剂或存在有机溶剂残留等缺陷。因此, 开发处方工艺简单、无需添加表面活性剂、不使用毒性有机试剂的芹菜素新型制剂具有重要意义^[10-11]。

玉米肽于 2010 年被国家卫生部批准为新资源食品, 具有廉价易得的优势, 作为药物载体可显著降低研发成本, 且能保障制剂安全性^[12]。结构上, 玉米肽同时含有疏水性与亲水性氨基酸, 在水相中具有较强的自组装倾向, 可形成纳米级胶体分散体系^[13]; 其可通过范德华力、疏水作用力、氢键等相互作用与药物分子结合形成聚合物^[14-15], 该聚合物保留了玉米肽的自组装特性, 在水相中可自发形成结构稳定的“核-壳”型纳米粒, 进而实现对药物的负载。玉米肽的屏障作用可减少胃肠道内消化酶、pH 值波动等因素对药物的破坏, 从而保护药物活性、提高药物稳定性; 同时, 借助粒径效应可促进药物溶出, 进而提升生物利用度与药效^[16]。此外, 玉米肽本身具有降压、降糖、调脂等药理活性^[17], 属于“药辅合一”载体, 可辅助芹菜素发挥降压作用。

基于此, 本研究以玉米肽为纳米载体, 采用自组装法制备负载芹菜素的玉米肽纳米粒(Api-CP-NPs), 系统研究其制备工艺、理化性质、体内药动学特征及降压作用, 旨在为芹菜素提供新型给药制剂, 同时为 Api-CP-NPs 应用于高血压治疗提供新思路与理论借鉴。

1 材料

1.1 仪器

MSE125P-CE 型电子分析天平 (瑞士 Sartorius 仪器公司); CN10-08-3G 型恒温磁力搅拌器 (沧州泰鼎恒业试验仪器有限公司); 1200 型高效液相色谱仪 (HPLC, 美国 Agilent 公司); RV8 V-C 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 仪器公司); JEM-7700/FLASH 型透射电子显微镜 (日本 JEOL 公司); AXTAL-16M 型高速离心机 (盐城市安信实验仪器有限公司); ZS-90 型粒度测定仪 (英国 Malvern 公司); XY-FD-S15 型真空冷冻干燥机 (上海欣渝仪器有限公司); ARL/EQUINIX-3000 型 X 粉末衍射仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); RC806D 型溶出仪 (天津天大天发科技有限公司); ZX-DC 型氮吹仪 (北京众信佳仪科技有限公司); Chemray-240 型生化分析仪 (深圳雷杜生命科学股份有限公司); BP-2010 型血压测定仪 (北京软隆生物技术有限公司); SKZ-2 型光学显微镜 (德国 CZ 公司) 等。

1.2 药品与试剂

对照品芹菜素 (批号 111901-202203, 质量分数 99.0%)、水飞蓟宾 (批号 110856-202208, 质量分数 99.0%), 中国食品药品检定研究院; 玉米肽 (批号 20221016), 湖北海嘉生物科技有限公司; 芹菜素原料药 (批号 20221204, 质量分数 97.0%), 武汉克米克生物医药技术有限公司; 磷酸二氢钾 (批号 20231022), 国药集团化学试剂有限公司; 醋酸乙酯 (批号 20220810)、磷酸 (批号 20231105), 国药集团化学试剂有限公司; 卡托普利片 (批号 240612), 中美上海施贵宝制药有限公司; 血浆肾素 (REN, 批号 20250615)、血管紧张素 II (Ang II, 批号 20250319)、醛固酮 (ALD, 批号 20250428) ELISA 试剂盒, 郑州安图生物工程股份有限公司。

1.3 动物

雄性 SPF 级 WKY 大鼠和自发性高血压 (SH) 大鼠, 12 周龄, 河南省动物实验中心, 动物生产许可证号 SCXK (豫) 2025-0001 提供。所有动物实验均遵循郑州健康学院有关实验动物管理和使用的规定, 符合 3R 原则, 伦理批准号 2024-DWLL-04003。

2 方法和结果

2.1 Api-CP-NPs 的制备工艺

取处方量玉米肽粉末置于茄形瓶, 加入 50 mL 纯化水, 溶解澄清后置于一定温度的水浴中。取芹

菜素原料药 25 mg 溶于 5 mL 热乙醇, 缓慢滴加至玉米肽水溶液中, 磁力搅拌一定时间。减压旋蒸至无醇味, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得 Api-CP-NPs 混悬液。分装至西林瓶中 (液面高度约 0.8 cm), $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冻 3 d, 立即置于 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻干机中, 3 d 后取出即得淡黄色 Api-CP-NPs 固体粉末。

2.2 芹菜素含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 采用 Diamonsil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 体积流量 1.0 mL \cdot min⁻¹, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 流动相甲醇-水 (55:45) 等度洗脱, 进样量 10 μL , 检测波长为 268 nm。

2.2.2 供试品溶液的制备 取 Api-CP-NPs 混悬液 3.0 mL, 加入醋酸乙酯 3.0 mL, 涡旋 30 s, 8 500 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min, 取出上层有机相。重复提取 3 次, 合并有机相至 10 mL 量瓶, 加醋酸乙酯定容, 精密取 1 mL 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇定容, 即得 Api-CP-NPs 供试品溶液。

2.2.3 线性关系考察 精密称取芹菜素对照品, 甲醇稀释至质量浓度为 100.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的芹菜素母液。使用甲醇-水混合液 (55:45) 稀释, 配制质量浓度分别为 10.00、5.00、2.50、1.00、0.50、0.05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列对照品溶液, 以质量浓度 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 拟合线性方程 $Y = 24.125\ 7\ X + 1.782\ 6$, $r = 0.999\ 8$, 线性范围 0.05~10.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.4 专属性考察 取玉米肽分散于纯化水中, 作为阴性样品溶液, 另取 1.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芹菜素对照品溶液和 Api-CP-NPs 供试品溶液, 按“2.2.1”项下方法进样测定。结果见图 1, 芹菜素色谱峰专属性高。

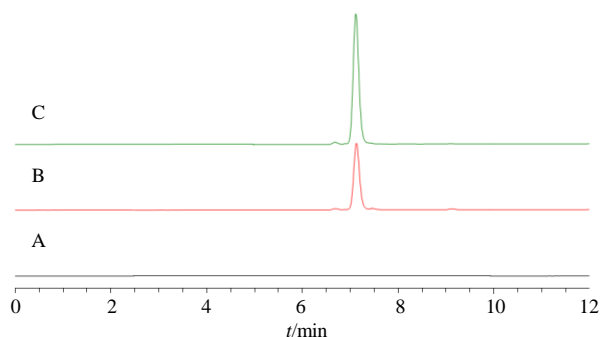


图 1 阴性样品 (A)、芹菜素对照品 (B) 和 Api-CP-NPs 溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of negative sample (A), apigenin reference substance (B) and Api-CP-NPs solution (C)

2.2.5 精密度考察 取质量浓度为 10.00、1.00、0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 芹菜素对照品溶液,按“2.2.1”项下方法进样测定,测得芹菜素峰面积的 RSD 分别为 0.27%、0.74%、0.66%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取 Api-CP-NPs 供试品溶液于分别于 0、2、4、6、12、24 h 进样检测,测得芹菜素峰面积 RSD 为 1.14%,表明供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性考察 平行制备 6 份 Api-CP-NPs 供试品溶液,测得芹菜素含量 RSD 为 1.20%,表明方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率考察 取已知含量的 Api-CP-NPs 混悬液 0.5 mL,分别置于 9 个 10 mL 量瓶中,分为低、中、高 3 个质量浓度组。按标示量 50%、100%、150%分别加入芹菜素对照品,摇匀后制备供试品溶液,进样测定。计算得低、中、高 3 个质量浓度组的平均加样回收率分别为 99.04%、101.50%、100.79%,RSD 值分别为 0.77%、1.56%、1.17%,表明该方法准确度良好,可用于测定 Api-CP-NPs 芹菜素含量。

2.3 包封率、载药量、粒径及 Zeta 电位测定

取 Api-CP-NPs 混悬液 5 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取 3 mL 续滤液按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定被包封芹菜素的量(M),根据芹菜素总投药量(M_1)计算包封率。取 Api-CP-NPs 混悬液冷冻干燥,精密称定质量(M_2),计算载药量。取 Api-CP-NPs 混悬液适量至样品池中,于粒度分析仪上测定粒径和 Zeta 电位,每份样品测定 3 次,取平均值。

$$\text{包封率} = M/M_1$$

$$\text{载药量} = M/M_2$$

2.4 单因素考察 Api-CP-NPs 处方工艺

2.4.1 玉米肽质量浓度考察 固定制备温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、制备时间 3 h,考察玉米肽质量浓度对 Api-CP-NPs 包封率的影响,结果见图 2。Api-CP-NPs 的包封率随玉米肽质量浓度的升高呈逐步上升趋势;究其原因,玉米肽用量越大,其提供的结合位点越多^[10],进而更有利于芹菜素的负载与 Api-CP-NPs 纳米粒的形成。当玉米肽质量浓度超过 10.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,Api-CP-NPs 的包封率趋于平稳,无显著性提升,提示芹菜素与玉米肽之间的结合反应已达到饱和状态。此时继续增加玉米肽质量浓度,对 Api-CP-NPs 包封率的提升无显著作用。综合考量实验成本

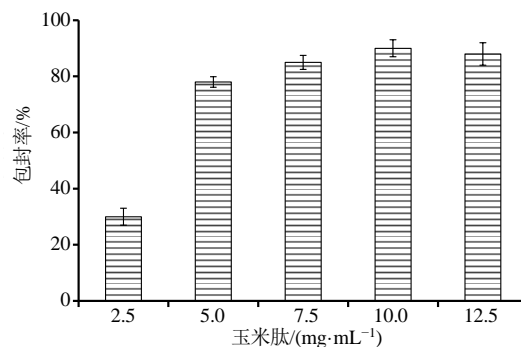


图 2 玉米肽质量浓度对包封率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effects of corn peptide concentration on envelopment efficiency ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与包封率效果,为以较低的玉米肽用量获得高包封率 Api-CP-NPs 最优处方,后续实验选择 5.0~10.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 进行优化。

2.4.2 制备温度考察 固定制备时间 3 h、玉米肽质量浓度 10.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,考察制备温度对 Api-CP-NPs 包封率的影响,结果见图 3。适当升高制备温度可促进芹菜素与玉米肽的相互结合,进而提高 Api-CP-NPs 的包封率;但当制备温度超过 50 $^{\circ}\text{C}$ 时,Api-CP-NPs 的包封率反而呈下降趋势。推测其原因,一方面过高的温度会降低芹菜素与玉米肽的结构稳定性,削弱二者间的相互作用^[13];另一方面可能对已形成的 Api-CP-NPs 聚集体结构产生破坏。综上所述,制备温度对 Api-CP-NPs 的包封率具有显著影响。鉴于 50 $^{\circ}\text{C}$ 时包封率达到相对峰值,后续实验选取 40~60 $^{\circ}\text{C}$ 进一步优化。

2.4.3 制备时间考察 固定制备温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、玉米肽质量浓度 10.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,考察制备时间对 Api-CP-NPs 包封率的影响,实验结果见图 4。玉米肽与芹菜素的结合反应具有一定时效性,适当

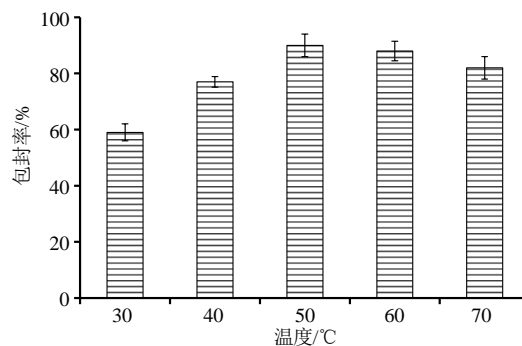


图 3 制备温度对包封率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effects of prepare temperature on envelopment efficiency ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

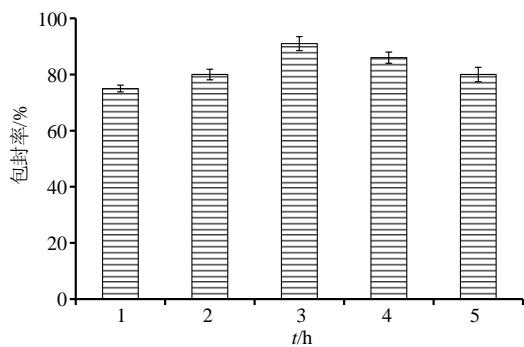


图 4 制备时间对包封率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Effects of prepare time on envelopment efficiency ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

延长制备时间可使二者的相互作用更充分，进而有助于提升 Api-CP-NPs 的包封率^[13-14]。但当制备时间超过 4.0 h 时，Api-CP-NPs 的包封率反而呈下降趋势，推测该现象与芹菜素、玉米肽及已形成的 Api-CP-NPs 自身稳定性受损密切相关^[13]。以上结果表明，在 Api-CP-NPs 的制备过程中，制备时间的把控至关重要。鉴于 3.0 h 时 Api-CP-NPs 的包封率达到相对峰值，后续实验将以 3.0 h 为中心，在 2.0~4.0 h 进一

步优化。

2.5 Box-Behnken 设计-响应面法 (BBD-RSM) 优化 Api-CP-NPs 处方工艺

2.5.1 实验设计及结果 根据单因素实验考察结果，选择玉米肽质量浓度 (X_1)、制备温度 (X_2) 及制备时间 (X_3) 分别作为自变量，包封率 (Y) 为因变量，根据 BBD-RSM 进行 3 因素 3 水平共计 17 次实验，优化 Api-CP-NPs 处方工艺，实验因素水平、设计及结果见表 1。

2.5.2 Api-CP-NPs 包封率数学模型建立及方差分析 使用 Design Expert V13.0.1 对表 1 中的数据进行拟合，得 Y 的多元二次项方程 $Y=89.15+3.99 X_1-2.89 X_2+0.93 X_3-1.25 X_1 X_2-1.48 X_1 X_3-0.71 X_2 X_3-6.52 X_1^2-6.98 X_2^2-5.28 X_3^2$ 。方差结果表明 (表 2)，模型 $P=0.003\ 9$ ，说明模型具有极显著性意义 ($P<0.01$)； R^2 和 R_{adj}^2 分别为 0.968 2 和 0.956 9，均大于 0.95，说明实验结果与模拟结果相关性良好；Api-CP-NPs 数学模型的失拟项 $P=0.127\ 9$ ，无统计学意义，说明干扰因素不会对拟合结果带来显著性影响。Api-CP-NPs 包封率数学模型中的 X_2 具

表 1 BBD-RSM 实验因素水平、设计及结果

Table 1 BBD-RSM factor level, test design and results

序号	$X_1/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$X_2/^{\circ}\text{C}$	X_3/h	$Y/\%$	序号	$X_1/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$	$X_2/^{\circ}\text{C}$	X_3/h	$Y/\%$
1	5.0(-1)	50(0)	4(1)	73.51	10	10.0	50	4	83.27
2	7.5(0)	50	3(0)	86.64	11	7.5	60	2	74.43
3	7.5	50	3	91.23	12	10.0	50	2	84.15
4	7.5	40(-1)	4	80.75	13	7.5	50	3	91.34
5	10.0(1)	40	3	81.94	14	5.0	40	3	76.22
6	7.5	40	2(-1)	77.72	15	5.0	60	3	71.84
7	7.5	50	3	87.55	16	7.5	50	3	88.97
8	7.5	60(1)	4	74.64	17	5.0	50	2	68.46
9	10.0	60	3	72.58					

表 2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P	项目	平方和	自由度	均方	F 值	P
模型	777.51	9	86.39	9.22	0.003 9	X_1^2	178.95	1	178.95	19.11	0.003 3
X_1	127.28	1	127.28	13.59	0.007 8	X_2^2	205.24	1	205.24	21.92	0.002 3
X_2	66.93	1	66.93	7.15	0.031 8	X_3^2	117.35	1	117.35	12.53	0.009 5
X_3	6.86	1	6.86	0.73	0.420 3	残差	65.55	7	9.36		
$X_1 X_2$	6.20	1	6.20	0.66	0.442 6	失拟项	47.54	3	15.85	3.52	0.127 9
$X_1 X_3$	8.79	1	8.79	0.94	0.364 9	纯偏差	18.01	4	4.50		
$X_2 X_3$	1.99	1	1.99	0.21	0.659 0	总离差	843.06	16			

有显著性 ($P < 0.05$), 且 X_1 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 具有极显著性 ($P < 0.01$)。根据 F 值可知, 各因素对 Api-CP-NPs 包封率影响顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$ 。

使用 Design Expert V13.0.1 绘制相应曲面图, 结果见图 5。随着任意 2 个自变量增加, 包封率均呈先增加后下降趋势, 是典型的抛物线形态, 其顶

点为包封率理论最大值。设置 Api-CP-NPs 包封率优化目标为最大值, 范围为 50%~100%, 得到 Api-CP-NPs 最佳处方: X_1 为 $8.30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, X_2 为 $47.61 \text{ }^\circ\text{C}$, X_3 为 3.06 h, 预测包封率为 90.16%。根据实际操作情况, 对工艺参数进行微调: X_1 保持不变, X_2 调整为 $47.5 \text{ }^\circ\text{C}$, X_3 调整为 3 h。

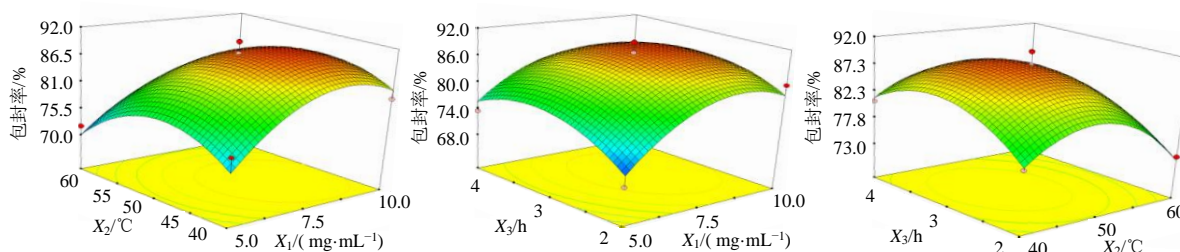


图 5 影响因素对 Api-CP-NPs 包封率的影响

Fig. 5 Influence of factors on encapsulation rate of Api-CP-NPs

2.5.3 Api-CP-NPs 最佳处方工艺验证 平行制备 3 批 Api-CP-NPs 混悬液, 测得 Api-CP-NPs 平均包封率为 $(87.91 \pm 1.04) \%$, 根据数学模型预测包封率 (90.16%), 计算得实际包封率相对偏差仅 -2.50%, 证明“2.5.2”项下建立的包封率数学模型可用于 Api-CP-NPs 处方工艺优化。测得 Api-CP-NPs 载药量、平均粒径和 Zeta 电位分别为 $(5.33 \pm 0.12) \%$ 、 $(72.74 \pm 3.45) \text{ nm}$ 和 $(-18.98 \pm 0.63) \text{ mV}$ 。Api-CP-NPs 粒径分布图和 Zeta 电位分别见图 6。

取 Api-CP-NPs 混悬液置西林瓶中, 用红色激光笔沿水平方向照射, 可观察到明显的丁达尔现象 (图 7-A)。Api-CP-NPs 混悬液按“2.1”项下冻干参数制备成粉末 (外观图 7-B), 再次加入纯化水分散

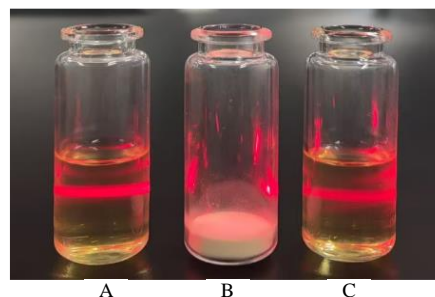


图 7 Api-CP-NPs 混悬液 (A)、粉末 (B) 和纯化水复溶 (C) 的丁达尔效应图

Fig. 7 Tyndall effect diagram of Api-CP-NPs suspension (A), Api-CP-NPs powder (B) and redispersed by purified water (C)

后仍可观察到丁达尔现象 (图 7-C), 说明 Api-CP-NPs 混悬液是一种胶体分散体系, 自组装性质良好。

2.6 透射电镜 (TEM) 观察 Api-CP-NPs 形貌

取 Api-CP-NPs 混悬液分别滴至铜网上, 加 1.0% 磷钨酸钠水溶液染色, 晾干后置于 TEM 下进行观察。结果见图 8, Api-CP-NPs 混悬液的 TEM 中可观察到纳米颗粒外貌呈不规则的球形。

2.7 X-射线粉末衍射 (XRPD) 分析冻干粉晶型

将芹菜素、玉米肽、物理混合物 (芹菜素和玉米肽比例同 Api-CP-NPs) 和 Api-CP-NPs 粉末置于玛瑙研钵中研磨成细粉后进行测试, 设置 XRPD 测试速度为 $3^\circ \cdot \text{min}^{-1}$, 角度 (2θ) 为 $3^\circ \sim 45^\circ$, 发射源为 Cu-K α 靶, 结果见图 9。芹菜素在 6.3° 、 9.2° 、 11.2° 、 14.4° 、 15.3° 等处晶型衍射峰较强, 在 26.6° 出现宽而钝的衍射峰重叠区。玉米肽 XRPD 图谱未见特征晶

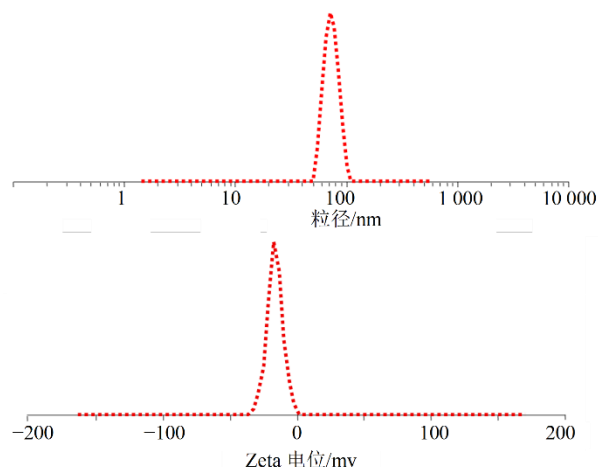


图 6 Api-CP-NPs 粒径分布和 Zeta 电位

Fig. 6 Distribution of particle size and Zeta potential of Api-CP-NPs

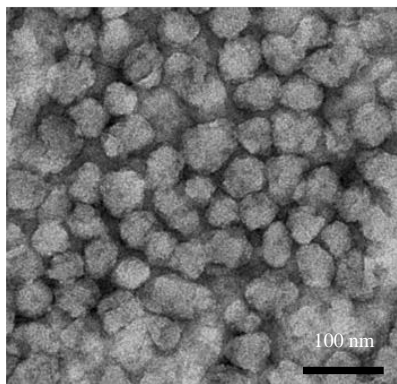
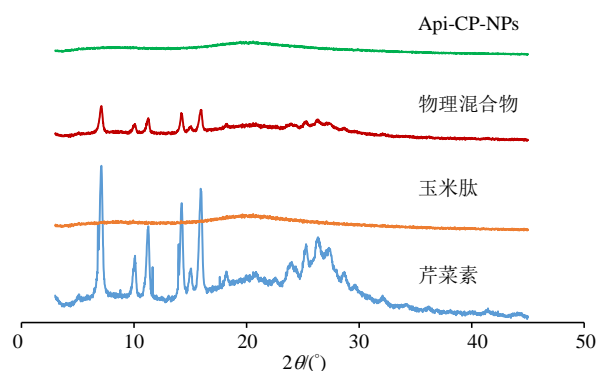
图 8 Api-CP-NPs 的 TEM 图 ($\times 14\,500$)Fig. 8 TEM image of Api-CP-NPs ($\times 14\,500$)

图 9 XRPD 结果

Fig. 9 Results of XRPD

型衍射峰, 而物理混合物 XRPD 图谱仍可观察到芹菜素特征晶型衍射峰。Api-CP-NPs 粉末 XRPD 图谱未见芹菜素晶型衍射峰, 总体呈现出玉米肽 XRPD 图谱的基本轮廓, 且 Api-CP-NPs 粉末 XRPD 图谱与物理混合物有很大差别, 说明芹菜素在 Api-CP-NPs 冻干粉中晶态可能转变为无定型状态。

2.8 芹菜素和 Api-CP-NPs 降解动力学考察

取芹菜素及 Api-CP-NPs 粉末适量, 分别用模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80) 和模拟肠液 (含 1% 聚山梨酯 80) 配制成质量浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (以芹菜素计, C_0), $37\text{ }^\circ\text{C}$ 摇床中, 于 0、2、4、6、8、12 h 取样, 立即测定芹菜素含量 (C), 并计算剩余百分率 (C/C_0)。采用一级动力学方程对实验数据进行拟合, 结果见图 10。芹菜素在模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80) 和模拟肠液 (含 1% 聚山梨酯 80) 中降解动力学方程分别为 $Y=0.006\,25-0.110\,4\,X$, $r=0.984\,2$ 和 $Y=0.026\,0-0.198\,4\,X$, $r=0.998\,9$, 由降解速率常数可知芹菜素在模拟肠液中降解速率 $0.198\,4$ 大于模拟胃液的降解速率常数 $0.110\,4$, 说明芹菜素在模拟肠液中稳定性更差。Api-CP-NPs 在模拟胃液 (含 1% 聚

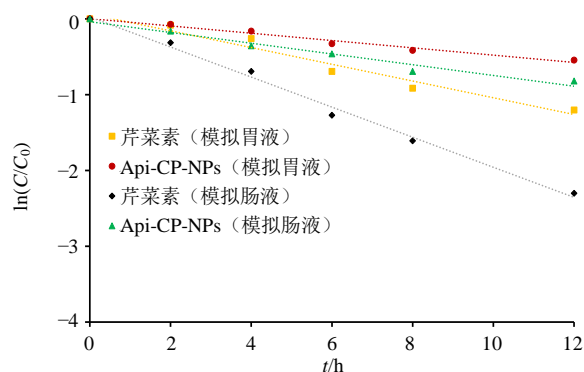


图 10 降解动力学曲线

Fig. 10 Degradation kinetics curves

山梨酯 80) 和模拟肠液 (含 1% 聚山梨酯 80) 中降解动力学方程分别为 $Y=0.003\,2-0.048\,2\,X$, $r=0.989\,7$ 和 $Y=-0.070\,8\,X-0.038\,0$, $r=0.981\,2$, 降解速率常数分别降低至 $0.048\,2$ 和 $0.070\,8$, 证明 Api-CP-NPs 提高了芹菜素在模拟胃、肠液中的稳定性。

2.9 Api-CP-NPs 体外释药考察

取 20 mg 芹菜素和 Api-CP-NPs 粉末适量 (芹菜素含量为 20 mg), 分别置于透析袋中 (截留平均相对分子质量 $3\,500$), 加入 5 mL 模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80), 两端密封, 放入转篮中。温度为 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、体积为 1.0 L 模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80) 作为介质, 转速为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 于 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00 h 分别取样 3 mL , 取样后补加 3 mL 模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80)。分别测定样品中芹菜素含量, 计算各时间点累积释放率。同法考察芹菜素和 Api-CP-NPs 粉末在模拟肠液 (含 1% 聚山梨酯 80) 中的释药行为, 结果见图 11。芹菜素在模拟胃液 (含 1% 聚山梨酯 80) 和中模拟肠液 (含 1% 聚山梨酯 80) 中 12 h 累积释放率分别为 24.17% 和 15.04% , 而 Api-CP-NPs 在相同条件下 12 h 累积释放率增加至 62.81% 和 56.56% , 可能与 Api-CP-NPs 降低了芹菜素降解速率、提高了稳定性、降低了芹菜素粒度等因素有关^[10]。

2.10 Api-CP-NPs 粉末稳定性考察

取新制备、密封于西林瓶中 Api-CP-NPs 粉末若干份, 置于加速条件 (温度 $35\text{ }^\circ\text{C}$, 湿度 65%) 恒温恒湿箱中, 分别 0、1、2、3、6 个月取样, 加纯化水分散后经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 测定包封率、载药量、粒径和 Zeta 电位, 结果见表 3。Api-CP-NPs 粉末加速条件下放置 6 个月后包封率大于

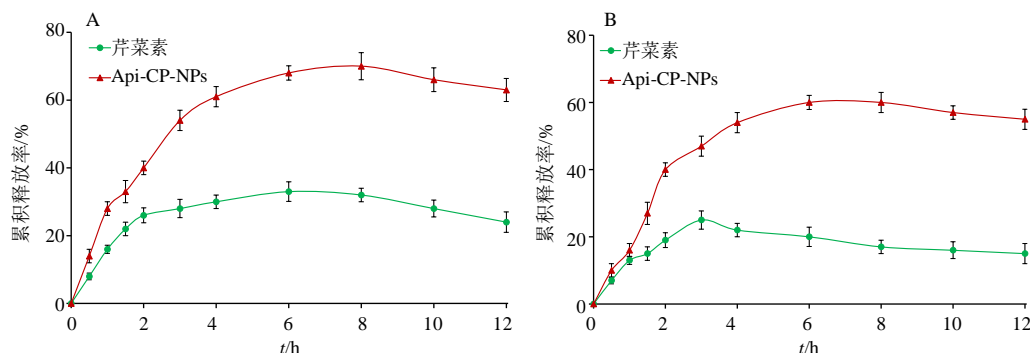


图 11 样品在模拟胃液 (A) 和模拟肠液 (B) 中的释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 11 Release profiles of samples in simulated gastric fluids (A) and simulated intestinal fluids (B) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

表 3 Api-CP-NPs 粉末稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Stability results of Api-CP-NPs powder ($\bar{x} \pm s, n=3$)

时间/月	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	Zeta 电位/mV
0	89.14 ± 1.47	5.36 ± 0.18	74.22 ± 5.09	-17.79 ± 0.73
1	88.89 ± 0.99	5.31 ± 0.11	69.84 ± 4.13	-18.01 ± 0.54
2	88.95 ± 0.77	5.29 ± 0.17	71.45 ± 3.71	-17.93 ± 0.86
3	88.71 ± 1.05	5.19 ± 0.09	73.88 ± 3.79	-17.48 ± 0.70
6	86.83 ± 1.08	5.13 ± 0.12	75.90 ± 4.66	-17.54 ± 0.65

85%，载药量仍大于 5%，粒径和 Zeta 电位基本未变，证明 Api-CP-NPs 粉末储存稳定性良好。

2.11 Api-CP-NPs 的药动力学研究

2.11.1 色谱条件 同“2.2.1”项下方法。

2.11.2 给药方案 取芹菜素原料药、物理混合物（芹菜素和玉米肽比例同 Api-CP-NPs）和 Api-CP-NPs 粉末适量分散于 0.5% 的 CMC-Na 水溶液中。取 18 只禁食 12 h 的雄性 SH 大鼠，随机分成 3 组，每组 6 只。按照 100 mg·kg⁻¹ 剂量 ig 给药，各实验组分别于给药前及给药后 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0 和 12.0 h 眼眶静脉丛取血 0.2 mL，置肝素化离心管，混匀防止血样凝血。3 000 r·min⁻¹ 离心 3 min，取血浆冷冻保存。

2.11.3 血浆样品处理方法 配制 1.0 μg·mL⁻¹ 水飞蓟宾（内标）对照品溶液，备用。将冷冻血浆置于 37 °C 水浴中解冻，精密取 0.1 mL 至离心管，加入 0.1 mL 水飞蓟宾对照品溶液（1.0 μg·mL⁻¹）、0.02 mL 冰醋酸和 1.5 mL 甲醇，涡旋 3 min，即得混悬液。6 500 r·min⁻¹ 离心 4 min，取上清液，氮气缓慢吹干。加入甲醇 0.1 mL 复溶，6 500 r·min⁻¹ 离心 4 min，即得血浆样品溶液，在 24 h 内完成分析测试。

2.11.4 血浆对照品的配制和标准曲线 甲醇配制质量浓度为 3.00、1.50、1.00、0.50、0.25、0.02 μg·mL⁻¹

芹菜素对照品溶液，分别精密取 0.1 mL，氮气缓慢吹干，分别精密加入 0.1 mL 空白血浆，涡旋 5 min 即得芹菜素血浆对照品溶液。按“2.11.2”方法处理，测定水飞蓟宾和芹菜素的峰面积，以两者比值（Y）与芹菜素质量浓度（X）回归，得方程：Y=1.65X-0.95，r=0.997 4，线性范围 0.02~3.00 μg·mL⁻¹。

2.11.5 专属性考察 取空白血浆，按“2.11.2”项下处理得到空白血浆溶液，另取 0.02 μg·mL⁻¹ 芹菜素血浆对照品溶液和物理混合物给药 12 h 血样品溶液，按“2.2.1”项下色谱条件检测，结果见图 12，芹菜素色谱峰专属性较高。

2.11.6 稳定性考察 取物理混合物组给药 3 h 血浆样品溶液，于 0、3、6、9、12、24 h 检测水飞蓟宾与芹菜素峰面积，计算得芹菜素质量浓度的 RSD 为 6.06%（n=6），表明稳定性良好。

2.11.7 精密度考察 取 3.00、1.00、0.02 μg·mL⁻¹ 芹菜素血浆对照品溶液（含水飞蓟宾），分别测试芹菜素和内标峰面积，结果显示芹菜素质量浓度的 RSD 值依次为 3.15%、5.27% 和 5.09%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.11.8 重复性考察 取质量浓度为 1.00 μg·mL⁻¹ 芹菜素质控样品溶液（含水飞蓟宾），平行制备 6 份血浆样品溶液，检测水飞蓟宾与芹菜素峰面积，

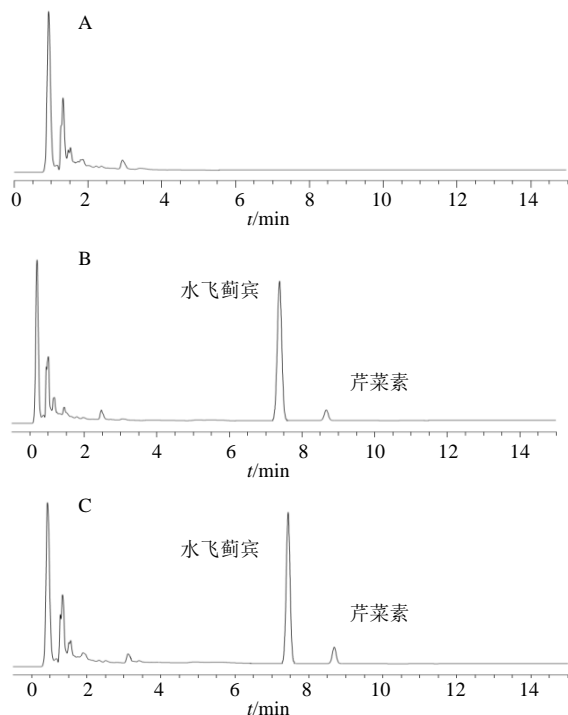


图 12 空白血浆 (A)、血浆对照品溶液 (含内标, B)、血浆样品溶液 (含内标, C) 的 HPLC 图

Fig. 12 HPLC chromatograms of blank plasma (A), plasma reference solution (including internal standard, B) and plasma sample solution (including internal standard, C)

芹菜素质量浓度 RSD 为 4.87%，表明方法重复性良好。

2.11.9 提取回收率和基质效应考察^[18] 分别取芹菜素质量浓度为 3.00 (高)、1.00 (中)、0.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (低) 质控样品 (含 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水飞蓟宾)，按“2.11.3”处理得到质控样品溶液，测定峰面积 (A)。精密取 0.1 mL 空白血浆，共 9 份，按“2.11.3”处理 (不加水飞蓟宾)，加入 0.02 mL 冰醋酸和 1.5 mL 甲醇，涡旋 3 min，6 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 4 min，取上清液氮气缓慢吹干，加入芹菜素和水飞蓟宾，涡旋

3 min，使芹菜素浓度为 3.00、1.00、0.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (均含 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水飞蓟宾)，测定峰面积 (B)。计算回收率 (A/B)，高、中、低质量浓度芹菜素和水飞蓟宾提取回收率分别为 96.36%、102.29%、95.94%和 101.77%。分别取芹菜素质量浓度为 3.00 (高)、1.00 (中)和 0.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (低)对照品溶液 (含 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水飞蓟宾)，测定峰面积 (C)，计算基质效应 (B/C)，高、中、低质量浓度芹菜素和水飞蓟宾提取回收率分别为 95.81%、103.24%、97.05%和 98.17%。结果表明，芹菜素和水飞蓟宾提取回收率较高，基质效应较小。

2.11.10 药动学结果 芹菜素、物理混合物和 Api-CP-NPs 药动学曲线见图 13，采用 DAS 2.0 药动学软件非房室模型进行分析，各个样品的药动学参数结果见表 4。与芹菜素相比，物理混合物组达峰时间 (t_{max})、最高血药浓度 (C_{max})、半衰期 ($t_{1/2}$)、血药浓度时间曲线下面积 ($\text{AUC}_{0\sim t}$) 均有一定程度提高，但无显著性差异 ($P>0.05$)， $\text{AUC}_{0\sim t}$ 增加 1.19 倍，表明玉米肽可在一定程度上影响芹菜素药动学行为，并增加其吸收；Api-CP-NPs 药动学行为发生了显著改

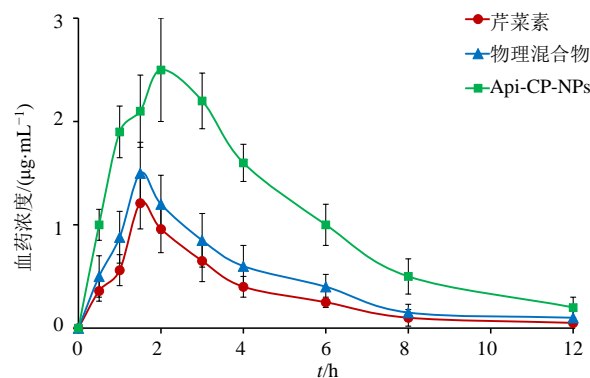


图 13 药-时曲线 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 13 Profiles of plasma concentration-time ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表 4 主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 4 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

参数	单位	芹菜素	物理混合物	Api-CP-NPs
t_{max}	h	1.54 ± 0.39	1.60 ± 0.37	$2.11\pm 0.43^{* \#}$
C_{max}	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	1.22 ± 0.43	1.46 ± 0.58	$2.58\pm 0.87^{* \# \#}$
$t_{1/2}$	h	3.15 ± 0.71	3.23 ± 0.64	$5.50\pm 1.76^{* \#}$
$\text{AUC}_{0\sim t}$	$\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	3.34 ± 0.93	3.96 ± 1.00	$13.84\pm 2.80^{* \# \#}$
$\text{AUC}_{0\sim\infty}$	$\text{h}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	3.62 ± 0.98	4.11 ± 1.07	$14.41\pm 2.96^{* \# \#}$

与芹菜素组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与物理混合物组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs apigenin group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs physical mixture group.

变, t_{\max} 延后至 (2.11 ± 0.43) h, C_{\max} 增加至 $(2.58 \pm 0.87) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t_{1/2}$ 延长至 (5.50 ± 1.76) h, $\text{AUC}_{0 \sim 4}$ 增加至 4.14 倍, 表明 Api-CP-NPs 显著促进了芹菜素体内吸收 ($P < 0.05$ 、 0.01), 为提高芹菜素药效奠定基础。

2.12 Api-CP-NPs 降血压作用研究

2.12.1 实验分组及给药 取 SH 雄性大鼠 36 只, 随机分成 6 组, 即模型 (纯化水) 组、卡托普利 (阳性药, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) [19] 组、玉米肽 ($1.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 参考 Api-CP-NPs 高剂量组的玉米肽用量) 组、芹菜素 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组、Api-CP-NPs 低、高剂量 (50 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组 6 只, 每日 ig 给药 1 次, 连续给药 4 周。另取 6 只健康 WKY 大鼠 ig 给予等量纯化水作为对照组。

2.12.2 大鼠血压的测定 将大鼠置于 37°C 恒温箱中适应性饲养 0.5 h, 在清醒状态下采用尾动脉测压仪测定其尾动脉血压。每只大鼠连续测量 3 次, 取 3 次测量的平均值作为该大鼠的最终血压值。血压测定频率为每周 1 次, 且固定于每周一 9:00~10:00 进行。实验结果见表 5。

与对照组相比, 模型组大鼠在各时间点的血压

均呈极显著升高 ($P < 0.01$), 表明所建立的高血压模型稳定可靠, 可用于后续药效学研究。与模型组相比, 玉米肽组大鼠在实验第 3、4 周血压出现显著下降 ($P < 0.05$), 证实玉米肽具有一定降血压活性, 提示其作为 Api-CP-NPs 的给药辅料时, 可发挥辅助降压作用[12]; 芹菜素组大鼠在第 3、4 周血压亦显著下降 ($P < 0.05$), 说明芹菜素本身具有降压效果, 但整体药效强度仍有提升空间。Api-CP-NPs 组的降压效果呈现明显的剂量相关性, 随给药剂量增加, 降压作用逐步增强: 该组大鼠在第 3、4 周血压均出现极显著下降 ($P < 0.01$), 表明 Api-CP-NPs 可显著增强芹菜素的降压药效。与芹菜素组相比, Api-CP-NPs 低剂量组在各时间点的血压无显著差异 ($P > 0.05$), 提示 Api-CP-NPs 有助于降低芹菜素的给药剂量, 在保证药效的同时减少用药量。与模型组及芹菜素组相比, Api-CP-NPs 高剂量组的降压效果更优且起效更早: 第 2 周血压即出现显著下降 ($P < 0.05$), 第 3、4 周血压进一步呈极显著下降 ($P < 0.01$), 充分说明 Api-CP-NPs 可显著提升芹菜素的降压效果, 且高剂量下表现出更优的药效学特性。

表 5 各组大鼠的血压测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Blood pressure results of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	血压/mmHg				
		第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
对照	—	105.58 ± 12.14	108.24 ± 15.20	93.94 ± 9.96	96.73 ± 11.75	107.70 ± 13.68
模型	—	$152.81 \pm 8.99^{**}$	$160.84 \pm 13.77^{**}$	$183.71 \pm 14.25^{**}$	$204.95 \pm 16.31^{**}$	$215.51 \pm 17.46^{**}$
卡托普利	0.01	154.01 ± 11.12	158.03 ± 11.43	$163.19 \pm 12.17^{\#}$	$162.82 \pm 13.48^{\#\#}$	$152.94 \pm 12.97^{\#\#}$
玉米肽	1.66	153.35 ± 13.17	158.76 ± 10.68	175.93 ± 13.98	$185.98 \pm 12.79^{\#}$	$180.60 \pm 17.17^{\#}$
芹菜素	0.10	152.44 ± 10.53	158.71 ± 14.46	173.28 ± 9.90	$180.46 \pm 14.73^{\#}$	$177.33 \pm 15.81^{\#}$
Api-CP-NPs	0.05	153.69 ± 9.85	157.87 ± 12.15	170.35 ± 10.64	$174.77 \pm 15.55^{\#\#}$	$173.87 \pm 14.73^{\#\#}$
	0.10	153.86 ± 11.06	159.98 ± 10.28	$163.74 \pm 12.91^{\#\Delta}$	$166.14 \pm 16.84^{\#\#\Delta}$	$158.80 \pm 16.62^{\#\#\Delta\Delta}$

1 mmHg=0.133 kPa; 与对照组比较: $^{**}P < 0.01$; 与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$; 与芹菜素组比较: $^{\Delta}P < 0.05$ $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

1 mmHg=0.133 kPa; $^{**}P < 0.01$ vs control group; $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ vs model group; $^{\Delta}P < 0.05$ $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ vs apigenin group.

2.12.3 大鼠血清中 REN、Ang II 和 ALD 含量测定 给药 4 周后, 各组大鼠分别采集血浆样本, 于 $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min, 取上清液, 采用 ELISA 法检测血浆中 REN、Ang II、ALD 的含量[20], 实验结果见表 6。与对照组相比, 模型组大鼠血浆 REN、Ang II 及 ALD 水平均极显著升高 ($P < 0.01$), 此为高血压模型成功建立的特征性表现。与模型组相比, 各给药组大鼠血浆 REN 水平无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而血

浆 Ang II 及 ALD 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 提示该干预措施有助于降低血压。上述结果表明, 玉米肽本身具备一定的降压活性, 体现出“药辅合一”的应用优势。与芹菜素组相比, Api-CP-NPs 低剂量组大鼠血浆 Ang II 及 ALD 水平虽呈下降趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 Api-CP-NPs 高剂量组大鼠血浆 Ang II 及 ALD 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 证实 Api-CP-NPs 可显著增强芹菜素的降压药效。

表 6 各组大鼠血清中 REN、Ang II、ALD 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 6 REN, Ang II and ALD content in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	REN/(ng·mL ⁻¹)	Ang II/(pg·mL ⁻¹)	ALD/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	31.77±11.24	92.54±26.99	172.67±48.19
模型	—	105.14±33.27**	280.13±53.41**	330.44±61.34**
卡托普利	0.01	85.91±26.98	133.85±27.56##	223.90±50.56##
玉米肽	1.66	90.17±31.20	189.92±46.79#	263.61±39.27#
芹菜素	0.10	87.03±25.61	213.44±50.43#	251.88±30.75#
Api-CP-NPs	0.05	86.54±29.15	180.28±37.15#	246.35±36.41#
	0.10	78.30±20.96	146.03±25.28##Δ	213.79±29.83##Δ

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$; 与芹菜素组比较: Δ $P<0.05$ ΔΔ $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group; Δ $P<0.05$ ΔΔ $P<0.01$ vs apigenin group.

2.12.4 大鼠右颈动脉 HE 染色 采用 CO₂室息法处死大鼠后,迅速解剖并分离右侧颈动脉,将血管组织置于福尔马林固定液中固定 3 d。经固定、石蜡包埋、连续切片及 HE 染色处理后,观察各组大鼠颈动脉血管的病理形态变化,结果见图 14。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对每张切片的 5 个不同位点进行血管厚度测量,取平均值作为最终检测数据。结果显示,与对照组动脉厚度(0.113±0.006) mm 相比,模型组动脉厚度显著升高至(0.178±0.009) mm,且血管中膜结构紊乱,提示模型组大鼠动脉内皮细胞受损严重。卡托普利组动脉厚度显著降至(0.120±0.004) mm,中膜结构基本恢复正常,表明卡托普利可显著改善动脉内皮细胞损伤状况。玉米肽组动脉厚度为(0.162±0.006)mm,芹菜素组动脉厚度为(0.151±0.005)mm,两组血管厚度较模型组均有一定下降,但中膜结构

仍存在较明显紊乱,提示 2 种物质对动脉损伤的改善作用有限。Api-CP-NPs 低剂量组与高剂量组动脉厚度分别为(0.155±0.008) mm 和(0.129±0.004) mm,均较模型组显著下降,且血管中膜结构紊乱程度随剂量升高逐渐减轻,呈明显剂量相关性。上述结果表明,Api-CP-NPs 可有效改善大鼠动脉内皮细胞损伤,缓解动脉血管壁增厚,为高血压疾病的治疗提供了实验依据。

2.13 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,数据均已 $\bar{x} \pm s$ 方式表示,组间比较使用独立样本 t 检验, $P<0.05$ 判定差异具有统计学意义。

3 讨论

为降低化学合成载体的毒性、提升制剂安全性,近年来,以天然植物成分为载体制备纳米粒已成为胶体分散体系领域的研究热点^[10-11]。纳米粒的

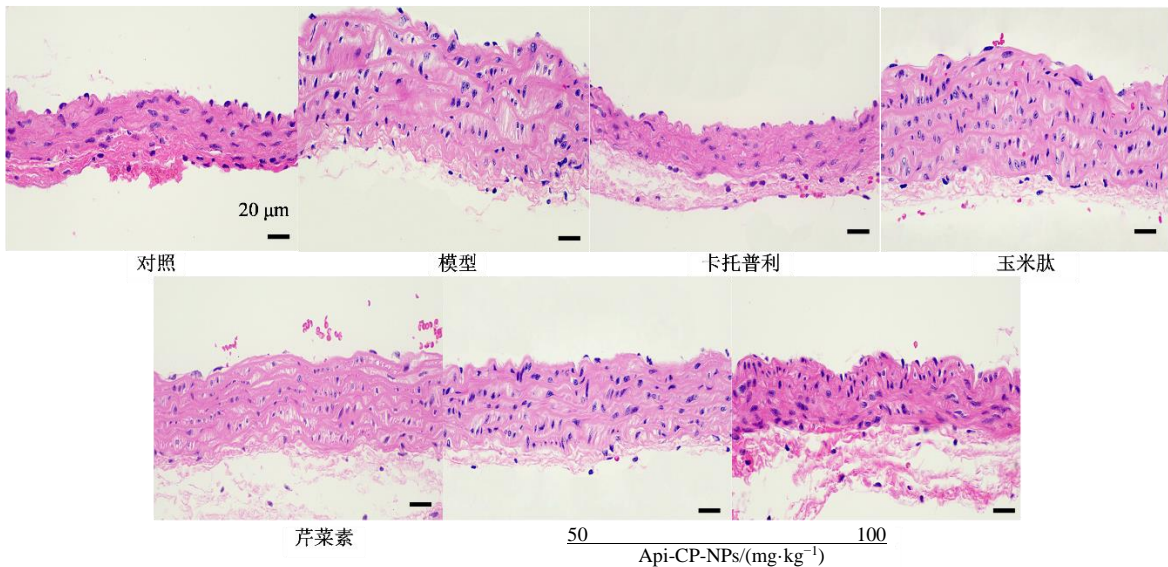


图 14 各组大鼠动脉 HE 染色 (×400)

Fig. 14 Arterial HE staining of each group of rats (×400)

包封率不仅关乎制剂的释药行为、储存稳定性等体外特性,亦会影响药动力学、药效学等体内效果。因此,2025 年版《中国药典》四部 9014 微粒制剂指导原则对包封率作出明确规定,要求其不得低于 80%。基于此,本研究首先系统考察了玉米肽质量浓度、制备温度及制备时间对 Api-CP-NPs 包封率的影响趋势,进而设计 3 因素 3 水平的 BBD-RSM 优化 Api-CP-NPs 的处方工艺。结果显示,最优处方工艺制备的 Api-CP-NPs 包封率达 $(87.91 \pm 1.04)\%$,符合 2025 年版《中国药典》四部 9014 微粒制剂指导原则要求,为后续药动力学及药效学研究奠定了坚实的实验基础。

为提升 Api-CP-NPs 混悬液的稳定性,便于其储存与运输,本课题组采用冻干法将其制备为粉末制剂。丁达尔实验结果显示,Api-CP-NPs 粉末重新分散于纯化水后仍可观察到显著的丁达尔现象,证实其具备优良的自组装特性,表明冻干过程未破坏 Api-CP-NPs 的核心性质,有利于后续研究与实际应用。通常,纳米混悬液需添加冻干保护剂(如乳糖等)方可制备成冻干粉末^[9],这不仅显著降低制剂载药量,还增加制备成本;此外,含乳糖制剂不适用于高血糖等特定患者群体,限制了其临床应用。本研究制备的 Api-CP-NPs 粉末无需添加冻干保护剂,不仅提升了制剂载药量、降低了生产成本,还提高了使用安全性^[21],因而具有更高的研究价值与推广潜力,同时也为纳米制剂的研发提供了新策略。

芹菜素在胃肠液中易降解,这可能是其累积释放度与生物利用度偏低的主要原因之一,进而严重影响药效发挥。降解动力学研究结果表明,Api-CP-NPs 粉末可显著降低芹菜素在胃、肠液中的降解速率,有效改善了芹菜素稳定性欠佳的问题。但由于释放后的芹菜素仍无法完全规避胃肠液的降解作用,Api-CP-NPs 在模拟胃、肠液中释药后期的累积释放度出现轻微下降,但仍显著高于芹菜素原料药。

与芹菜素原料药相比,Api-CP-NPs 的 $AUC_{0 \sim t}$ 提升至 4.14 倍,其原因可能在于:①Api-CP-NPs 降低了芹菜素的降解速率、提升了其稳定性与累积释放率;②Api-CP-NPs 粒径小于 100 nm,更易黏附于胃肠道黏液层,可减少药物直接排泄,提升芹菜素吸收概率^[22-23],同时纳米药物可通过细胞旁路转运、派伊尔氏结 M 细胞等特殊途径实现高效吸收;③芹菜素在 Api-CP-NPs 粉末中以无定形态存在,

而无定形药物通常具有更高的溶解速率与吸收效率。在上述多重有益因素的协同作用下,芹菜素的口服吸收效率得到显著提升。

WKY 大鼠与 SH 大鼠为同一种属,但其在高血压表型上存在显著差异。其中 SH 大鼠是评价降压药效的理想实验动物模型,WKY 大鼠则作为血压对照组,用于对比分析 SH 大鼠血压等核心指标的变化,进而精准评估药物的疗效与作用机制。降压药效实验结果显示,在给药剂量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的条件下,Api-CP-NPs 的降压效果显著优于芹菜素原料药。其原因一方面在于 Api-CP-NPs 处方中的玉米肽本身具有降压活性,可发挥辅助降压作用;另一方面,Api-CP-NPs 的生物利用度远高于芹菜素原料药,从而显著增强了其降压药效。

本研究通过对 Api-CP-NPs 的理化性质、储存稳定性、体内药动力学及降压药效学进行系统研究,证实 Api-CP-NPs 具有良好的成药性,有效改善了芹菜素口服吸收不佳的问题,并显著增强了其降压药效。本研究的核心优势在于,所选药物(芹菜素)与载体玉米肽均无明显不良反应,且 Api-CP-NPs 处方中不含有化学合成载体及表面活性剂,有效保障了制剂的安全性,充分彰显了中医药在疾病治疗中的独特优势^[24],具有进一步开发研究的价值。未来将进一步开展 Api-CP-NPs 的中试生产、急性毒性及长期毒性等研究,为其全面的成药性评价提供关键实验数据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张焱,丛方地.天然芹菜素高效提取方法的研究进展[J].化工与医药工程,2025,46(4): 54-61.
Zhang Y, Cong F D. Research progress on the efficient extraction methods of natural apigenin [J]. Chem Pharm Eng, 2025, 46(4): 54-61.
- [2] 孙华林,田奎蓉,洪业,等.芹菜不同部位提取物对调节大鼠高血压与血脂代谢紊乱作用机制研究[J].食品工业科技,2020,41(7): 289-294.
Sun H L, Tian K R, Hong Y, et al. Mechanism of extracts from different parts of celery on regulating hypertension and dyslipidemia in rats [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(7): 289-294.
- [3] 隋海霞.芹菜素安全性和降血压作用及其机制的实验研究[D].上海:中国疾病预防控制中心,2009.
Sui H X. Study on the safety evaluation of apigenin and its

- effect on decreasing blood pressure as well as its possible mechanisms [D]. Shanghai: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2009.
- [4] 张淑, 王华. 超药品说明书剂量使用苯磺酸氨氯地平治疗难治性高血压有效性和安全性分析 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 138-146.
- Zhang S, Wang H. Analyses of efficacy and safety of off-label use of amlodipine besylate in resistant hypertension patients [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(1): 138-146.
- [5] 张留超, 李高中, 刘勇华, 等. 芹菜素固体分散体胃漂浮片制备、药动学评价及体内外相关性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(19): 6519-6528.
- Zhang L C, Li G S, Liu Y H, et al. Apigenin solid dispersion gastric floating tablet: Preparation, oral pharmacokinetics and *in vitro-in vivo* correlation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(19): 6519-6528.
- [6] 宋文颖, 于雅琴. 芹菜素磷脂复合物纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(2): 357-363.
- Song W Y, Yu Y Q. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of nanosuspensions of apigenin phospholipids complex [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(2): 357-363.
- [7] 李伟宏, 孟醒, 王风云, 等. 芹菜素-Soluplus 固体分散体制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2023, 45(6): 1754-1759.
- Li W H, Meng X, Wang F Y, et al. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of apigenin-Soluplus solid dispersions [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(6): 1754-1759.
- [8] 张旭敏. 茶皂素稳定化芹菜素纳米乳释药体系的构建及体外评价研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2022.
- Zhang X M. Construction and *in vitro* evaluation of a nanoemulsion drug release system for stabilization of apigenin with tea saponin [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [9] 王风云, 李伟宏. 芹菜素纳米结构脂质载体的制备及其体内抗肿瘤活性研究 [J]. 中成药, 2022, 44(7): 2081-2087.
- Wang F Y, Li W H. Preparation and *in vivo* anti-tumor activity of apigenin nanostructured lipid carriers [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(7): 2081-2087.
- [10] 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.
- Cao L L, Liu S M. Preparation and physicochemical property evaluation of stevioside-galangin nanocomposites [J]. Chem Res Appl, 2025, 37(6): 1506-1514.
- [11] 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.
- Guo Y L, Dong X H, Li Y J. Preparation, pharmacokinetics and hypolipidemic effects of tea saponin-acacetin nanosuspensions based on “combined drug-excipient” [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(8): 2233-2246.
- [12] 闫昌誉, 李怡芳, 李晓敏, 等. 玉米肽的研究与应用进展 [J]. 今日药学, 2021, 31(5): 321-333, 338.
- Yan C Y, Li Y F, Li X M, et al. Progress on the research and application of corn peptides [J]. Pharm Today, 2021, 31(5): 321-333, 338.
- [13] 王肖云, 李泽运, 王贇, 等. 负载五味子乙素的玉米醇溶蛋白/葡聚糖纳米粒处方优化、表征及口服药动学研究 [J]. 中草药, 2025, 56(16): 5749-5762.
- Wang X Y, Li Z Y, Wang Y et al. Schisandrin B-loaded by zein/dextran nanoparticles: Prescription optimization, characterization and oral pharmacokinetics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(16): 5749-5762.
- [14] 常影, 焦岩, 刘庆松, 等. 玉米肽负载叶黄素纳米粒的结构表征及释放性能研究 [J]. 食品科技, 2021, 46(2): 238-243.
- Chang Y, Jiao Y, Liu Q S, et al. Structural characterization and release property of lutein loaded corn peptide nanoparticles [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(2): 238-243.
- [15] Feng Z R, Shao B, Yang Q L, et al. The force of Zein self-assembled nanoparticles and the application of functional materials in food preservation [J]. Food Chem, 2025, 463(Pt 1): 141197.
- [16] 储晓婷, 周梅, 汪康, 等. 不同粒径聚乙二醇化维生素K1 脂质体的制备及体内外评价 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1323-1331.
- Chu X T, Zhou M, Wang K, et al. Preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation of PEGylated vitamin K1 liposomes with different particle sizes [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(7): 1323-1331.
- [17] Cagnin C, de Fátima Garcia B, de Souza Rocha T, et al. Bioactive peptides from corn (*Zea mays* L.) with the potential to decrease the risk of developing non-communicable chronic diseases: In silico evaluation [J]. Biology, 2024, 13(10): 772.
- [18] 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.
- Li M Y, Ding Y, Xin J, et al. Maleimide-modified tetrahydropalmatine nanoparticles: Preparation, pharmacokinetics and evaluation of protective effects on acute liver injury [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(9): 2565-2578.

- [19] 周理强, 杨鸥, 龚吕东, 等. 三七花茶对自发性高血压大鼠的降压作用及机制研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2025, 46(7): 82-88.
- Zhou L Q, Yang O, Gong L, et al. Study on the antihypertensive effect and mechanism of notogingseng flower tea on spontaneously hypertensive rats [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2025, 46(7): 82-88.
- [20] 马春艳, 陈雨微, 黄家君, 等. 大黄素和芹菜素对高血压大鼠的肾脏保护及抗氧化作用 [J]. 中药药理与临床, 2018, 34(4): 69-73.
- Ma C Y, Chen Y W, Huang J J, et al. Renal protection and antioxidant effect of emodin and apigenin on spontaneously hypertensive rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2018, 34(4): 69-73.
- [21] 王彦阁, 陈晨, 丁林, 等. 以甜菊糖苷为载体的二氢杨梅素纳米胶束的制备、表征及口服生物利用度评价 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8011-8022.
- Wang Y G, Chen C, Ding L, et al. Preparation, characterization and oral bioavailability evaluation of dihydromyricetin nanomicelles using stevioside as carriers [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(23): 8011-8022.
- [22] 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.
- Chen X M, Cao L L, Cui W F. Liposomes-coated mesoporous silica nanoparticles loaded with capsaicin: Preparation, pharmacokinetic and gastric mucosa irritation evaluation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(15): 5393-5406.
- [23] 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.
- Li Q Y, Xie P. Preparation of nifedipine nanocrystals and its *in vivo* pharmacokinetics evaluation in rats [J]. China Pharm, 2024, 27(4): 570-579.
- [24] 魏闪闪, 张晓宇, 卢凯, 等. 黄芪多糖-皂苷纳米聚集体对心肾共损伤小鼠心肾功能的保护作用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(10): 2863-2878.
- Wei S S, Zhang X Y, Lu K, et al. Protective effect of *Astragalus* polysaccharide-saponin nano complexes on cardiac and renal functions in mice with co-injury of heart and kidney [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(10): 2863-2878.

[责任编辑 孙英杰]