

柠檬苦素负载玉米醇溶蛋白/岩藻多糖纳米粒的制备、药动学及对高尿酸血症大鼠的保护作用

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

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 河南省核蛋白医学检测工程技术研究中心, 河南 郑州 450064

3. 河南大学, 河南 开封 475001

摘要: **目的** 制备柠檬苦素负载玉米醇溶蛋白/岩藻多糖纳米粒 (Lim-Zein/Fuc-NPs), 考察其体内药动学特征, 并评价其对高尿酸血症大鼠的肾脏保护作用。 **方法** 采用单因素实验结合 Box-Behnken 设计-效应面法优化 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方工艺; 通过透射电镜 (TEM) 观察 Lim-Zein/Fuc-NPs 微观形貌, 采用 X-射线粉末衍射法 (XRPD) 分析柠檬苦素 (Lim) 在 Lim-Zein/Fuc-NPs 中的晶型状态。测定 Lim-Zein/Fuc-NPs 饱和溶解度, 采用透析法比较 Lim 和 Lim-Zein/Fuc-NPs 在 pH 2.0、6.8 磷酸盐缓冲溶液中的体外释药行为。SD 大鼠分别 ig 给予 Lim 和 Lim-Zein/Fuc-NPs, 计算主要药动学参数及相对口服生物利用度。构建高尿酸血症大鼠模型, 比较 Lim 和 Lim-Zein/Fuc-NPs 对尿酸 (UA)、尿素氮 (BUN) 和血肌酐 (CRE) 水平的影响, 通过苏木精-伊红 (HE) 染色观察大鼠肾脏病理学变化。 **结果** Lim-Zein/Fuc-NPs 最佳处方工艺为: 玉米醇溶蛋白与 Lim 用量比 14.74 : 1.00, 岩藻多糖与玉米醇溶蛋白用量比 1.99 : 1.00, 制备时间 1.25 h。该工艺制备的 Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率、载药量、粒径及 Zeta 电位分别为 (84.31±0.96) %、(1.93±0.06) %、(185.77±4.69) nm、(-32.77±1.09) mV。Lim-Zein/Fuc-NPs 呈类球形, 无黏连现象。XRPD 结果显示, Lim 被包载后由晶态转变为无定形态, 饱和溶解度和 18 h 累积释放率较游离药物均大幅提升。体内药动学结果表明, 与 Lim 比较, Lim-Zein/Fuc-NPs 可显著改变药物体内吸收行为, 相对口服生物利用度提升至 7.25 倍。体内药效结果显示, Lim-Zein/Fuc-NPs 可极显著降低高尿酸血症大鼠血清 UA、BUN、CRE 水平 ($P<0.01$)。HE 染色结果证实 Lim-Zein/Fuc-NPs 能有效改善肾脏病理损伤。 **结论** Lim-Zein/Fuc-NPs 显著增加了 Lim 的溶解度、释放率及生物利用度, 进一步增强其对高尿酸血症大鼠的肾脏保护效果, 具备临床开发价值。

关键词: 柠檬苦素; 玉米醇溶蛋白; 岩藻多糖; 纳米粒; 生物利用度; 高尿酸血症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)09-3157-15

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.016

Limonin-loaded zein/alginate nanoparticles: Preparation, pharmacokinetics, and protective effects in hyperuricemic rats

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

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

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

3. Henan University, Kaifeng, 475001, China

Abstract: **Objective** To prepare limonin-loaded by zein-fucoidan nanoparticles (Lim-Zein/Fuc-NPs), and investigate its pharmacokinetics and protective effect on hyperuricemic rats *in vivo*. **Methods** Main influencing factors of Lim-Zein/Fuc-NPs were investigated by single factor experiments, Box-Behnken response surface design method was employed to optimize prescriptions of Lim-Zein/Fuc-NPs, and Lim-Zein/Fuc-NPs powder was prepared. Transmission electron microscope (TEM) was used to observe the microscopic appearance of Lim-Zein/Fuc-NPs, X-ray powder diffraction (XRPD) was employed to analyze the crystal form of Lim in Lim-Zein/Fuc-NPs powder. Saturated solubility and cumulative release rate of Lim-Zein/Fuc-NPs were determined. SD rats were administered intragastrically with Lim and Lim-Zein/Fuc-NPs respectively, their pharmacokinetic parameters and relative oral

收稿日期: 2026-04-07

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

作者简介: 宋亚琼 (1989—), 女, 汉族, 硕士, 讲师, 研究方向为临床药学及心脑血管相关疾病治疗。E-mail: songyaqiong1014@163.com

*通信作者: 季少平 (1963—), 男, 博士, 教授, 研究方向为基础医学。E-mail: shaopingji@henu.edu.cn

bioavailability were calculated. Hyperuricemic model was establish, and the effects of Lim and Lim-Zein/Fuc-NPs on uric acid (UA), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine (CRE) levels were compared. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to observe pathological changes in kidney tissue. **Results** Optimal formulations of Lim-Zein/Fuc-NPs: the amounts ratio of zein to limonin is 14.74 : 1.00, the amounts ratio of fucoidan to zein is 1.99 : 1.00, and the preparation time was 1.25 h. Envelopment efficiency, drug loading, particle size and Zeta potential were $(84.31 \pm 0.96) \%$, $(1.93 \pm 0.06) \%$, $(185.77 \pm 4.69) \text{ nm}$ and $(-32.77 \pm 1.09) \text{ mV}$, respectively. The appearance of Lim-Zein/Fuc-NPs were spheroidal with no adhesion phenomenon. The state of Lim changed into amorphous form in Lim-Zein/Fuc-NPs powder. Saturated solubility and cumulative release rate in 18 h were increased greatly. Compared with Lim, the *in vivo* pharmacokinetic behavior of Lim-Zein/Fuc-NPs changed significantly, and the relative oral bioavailability was increased to 7.25 times. The levels of UA, BUN, and CRE in Lim-Zein/Fuc-NPs group significantly decreased compared to Lim group ($P < 0.01$). HE staining confirmed that Lim-Zein/Fuc-NPs effectively improved the pathological changes of kidney tissue. **Conclusion** Lim-Zein/Fuc-NPs significantly increased the solubility, drug release rate and oral bioavailability of Lim, and enhanced the protective effect of Lim on hyperuricemic rats and possessing clinical development value.

Key words: limonin; zein; fucoidan; nanoparticles; bioavailability; hyperuricemia

高尿酸血症 (HUA) 是机体嘌呤代谢紊乱引发的血尿酸水平异常升高的代谢性疾病, 常与糖尿病、心血管疾病、肾脏损伤等慢性病共同发生^[1], 已成为危害公共卫生安全的重要隐患。当前临床上主要采用秋水仙碱、别嘌呤醇等药物治疗 HUA, 虽可缓解病情, 但易引起胃肠道刺激、超敏反应、肝肾损伤等不良反应^[1]。因此, 研发安全、高效、低毒的新型治疗药物尤为重要^[2]。

柠檬苦素 (Lim) 是一种天然三萜类活性成分, 广泛存在于芸香科、楝科等多种植物中^[3]。国内外研究证明 Lim 可用于防治 HUA^[4-5], 具有疗效好、安全性高等优势^[6], 可作为防治 HUA 的候选药物。但 Lim 水中溶解度仅为 $6.12 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[7], 且口服给药后首关效应显著^[8]。有研究表明, 大鼠口服 Lim 后的体内生物利用度不足 10%^[8], 极大制约了其体内吸收效率与抗 HUA 药效的发挥。基于此, 改善 Lim 水溶性与溶出度、减弱消化酶对其体内降解作用, 是提升其口服吸收效果、增强药理活性的核心突破口^[9]。目前针对 Lim 的制剂改良研究主要集中于纳米混悬剂^[7]、脂质纳米粒^[8]等新型递药系统。其中, 纳米混悬剂可有效改善 Lim 溶解度及溶出度低的缺陷, 但无法规避其体内快速降解问题, 易导致药物体内吸收量不足、药效衰减; 脂质纳米粒虽能实现药物的有效包载, 但处方工艺复杂, 研发及生产成本较高, 难以实现规模化生产及临床推广。

玉米醇溶蛋白 (Zein) 是玉米中含量最丰富的储备蛋白, 具有原料廉价易得、生物相容性好、可生物降解等优势, 在药物载体领域应用广泛^[10]。其分子结构中含大量的疏水性及亲水性氨基酸, 具备良好的自组装特性, 可有效包载药物并促进其体内释放及

吸收^[11-12], 是构建纳米递药系统的优良载体。但 Zein 对环境 pH 高度敏感, 仅使用该载体包载药物时存在包封率低、体内稳定性差等问题^[12-13], 限制了其应用效果。岩藻多糖 (Fuc) 是一种天然硫酸化杂多糖, 具有抗 HUA、抗炎、调节血脂等作用^[14], 属于“药辅合一”材料, 在生物医药领域颇受关注。理化性质研究表明, Zein 在弱酸性介质中溶解后表面带正电荷, 而 Fuc 溶解后表面带负电荷, 2 者可通过静电引力结合形成纳米聚集体, 从而为提高药物稳定性、促进吸收、增强药效奠定基础^[11]。基于此, 本研究采用 Zein 作为 Lim 载体, Fuc 为稳定剂, 制备柠檬苦素玉米醇溶蛋白/岩藻多糖纳米粒 (Lim-Zein/Fuc-NPs)。采用单因素结合 Box-Behnken 设计-效应面 (BBD-RSM) 法优化 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方工艺, 系统评价纳米粒的理化性质、口服药动学行为, 以及其对 HUA 模型大鼠的保护作用, 旨在为 Lim 制剂改良与临床转化开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪、Agilent1290-G6470A 型超高效液相色谱-质谱联用仪 (美国 Agilent 公司); HI2002 型 pH 计 (上海邦沃仪器设备有限公司); CL31R 型高速离心机 (美国 Thermo 公司); MSE125P-CE 型电子分析天平 (瑞士 Sartorius 仪器公司); MMS4Pro 型温控磁力搅拌器 (上海方瑞仪器有限公司); N-1100 型旋转蒸发器 (上海爱朗仪器有限公司); JEM-2100 透射电子显微镜 (TEM, 日本电子株式会社); Zetasizer Nono ZS-90 型粒度测定仪 (英国马尔文公司); Smartlab9 型 X 射线粉末衍射仪 (日本理学公司);

D-1A50 型真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); FADT-800RC 型溶出仪(上海富科思分析仪器有限公司); MFV-12 型智能氮吹仪(广州得泰仪器科技有限公司); CX43 型光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 材料

对照品 Lim(批号 S312101826, 质量分数 98%, 上海士锋生物科技有限公司); 多潘立酮(批号 L1909153, 质量分数 98%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); Zein(批号 F082306, 天津陌玛科技有限公司); 原料药 Lim(批号 20210502, 质量分数 97.0%, 南京道斯夫生物科技有限公司); Fuc(批号 A-2022H, 威海人生药业有限公司); 别嘌呤(批号 20221008, 合肥久联制药有限公司); 氧嗪酸钾(批号 BCG6675, 美国 Sigma Aldrich 公司); 4%甲醛固定液(批号 22192875, 武汉博士德生物公司); 尿酸(货号 105-000476-00)、尿素氮(BUN, 货号 105-000452-00)、肌酐(CRE, 货号 105-000457-00)检测试剂盒均购于深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; 苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(批号 G1120, 北京索莱宝科技有限公司)。

1.3 动物

清洁级雄性 SD 大鼠购自河南省动物实验中心, 生产许可证号 SCXK(豫)2020-0001, 体质量 180~200 g。实验经郑州健康学院审批, 动物伦理批准号 2023-SQLL-EC-20230915-1007-0000087。

2 方法与结果

2.1 Lim-Zein/Fuc-NPs 的制备

精密称取 50 mg Lim 与处方量 Zein, 置于 10 mL 80%乙醇水溶液中充分溶解, 采用 0.45 μm 微孔滤膜滤过去除不溶性杂质, 所得滤液作为有机溶剂相; 另取处方量 Fuc, 溶于 40 mL pH 4.0 磷酸盐缓冲液(PBS), 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过除杂, 配制得到水相。在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴、600 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 磁力搅拌条件下, 将有机溶剂相缓慢滴加至水相中, 持续搅拌适宜时间; 随后于 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴减压旋转蒸发完全去除体系内乙醇, 加入纯化水定容至 40 mL, 再次经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液。

2.2 Lim 含量测定方法的建立

2.2.1 供试品的制备 取 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液 2 mL 至 50 mL 量瓶中, 加入乙醇, 300 W 超声 10 min, 使 Zein 析出, 静置 1 h 后加乙醇稀释定

容。10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取 2 mL 上清液至 50 mL 量瓶中, 加乙腈-水(60:40)定容即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取 Lim 适量, 用乙腈配制成质量浓度为 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 母液备用。

2.2.3 色谱条件 采用 Dikma- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-水(60:40), 检测波长 220 nm, 体积流量 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。

2.2.4 专属性考察 参考 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方方取 Zein 和 Fuc, 按“2.2.1”项下方法制备阴性样品溶液, 另取 Lim-Zein/Fuc-NPs 供试品溶液和 Lim 对照品母液分别进样测定。结果见图 1, Lim 色谱峰不受辅料干扰, 专属性高。

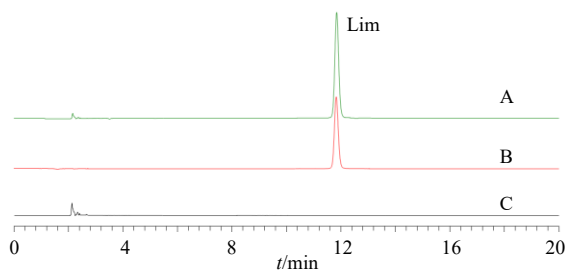


图 1 Lim-Zein/Fuc-NPs (A)、Lim 对照品 (B) 和阴性样品 (C) 溶液的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC spectrums of Lim-Zein/Fuc-NPs (A), Lim reference substance (B) and negative sample (C) solution

2.2.5 线性关系考察 精密量取 Lim 母液适量, 使用乙腈-水(60:40)稀释, 配制成质量浓度为 10.00、5.00、2.50、1.00、0.50、0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 对照品溶液。以质量浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 拟合标准曲线方程 $Y=14.9283X+0.0609$, $r=0.9998$, 线性范围 0.05~10.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.6 精密度考察 取质量浓度分别为 10.00、2.50、0.05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 对照品溶液, 分别测定 6 次, 测得峰面积 RSD 分别为 0.24%、0.55%、0.36% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性考察 取 Lim-Zein/Fuc-NP 混悬液, 按“2.2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 测得 Lim 含量 RSD 为 1.51% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.2.8 稳定性考察 取 Lim-Zein/Fuc-NPs 供试品溶液, 于制备 0、2、4、6、12、24 h 测定 Lim 含量, 其 RSD 值为 0.77% ($n=6$), 表明 Lim-Zein/Fuc-NPs 供试品溶液室温放置 24 h 稳定性良好。

2.2.9 加样回收率考察 精密量取 Lim-Zein/Fuc-

NPs 混悬液 1 mL 置于 50 mL 量瓶中, 共 9 份, 分成 3 组, 每组 3 份。按 Lim 含量 50%、100%、150% 加入 Lim 对照品, 分别制备供试品溶液, 测定 Lim 含量。Lim 平均回收率分别为 101.75%、98.70%、100.04%, RSD 均 $\leq$ 1.50%, 表明方法准确度良好。

2.3 Lim-Zein/Fuc-NPs 质量指标测定

取 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液, 经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过除去不溶性杂质; 精密量取 2 mL 滤液置于截留相对分子质量 10 000 的超滤管内, 8 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min。收集超滤管内沉淀, 加入 20 mL 乙醇超声提取其中 Lim, 再次 8 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min, 测定提取液中包封 Lim 质量 (M_1), 结合制备时投入 Lim 总质量 (M) 计算包封率。另取等量 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液直接冷冻干燥, 称量冻干纳米粒总质量 (M_0), 计算载药量。取滤过后纳米粒混悬液, 采用激光粒度仪测定粒径与 Zeta 电位, 每份样品平行测定 3 次, 取平均值。

$$\text{包封率} = M_1/M$$

$$\text{载药量} = M_1/M_0$$

2.4 单因素考察 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方工艺

2.4.1 Zein 与 Lim 用量比考察 固定 Fuc 与 Zein 用量比为 2 : 1、制备时间为 1.5 h, 考察 Zein 与 Lim 用量比对 Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率、载药量、粒径的影响, 结果见表 1。随着 Zein 与 Lim 用量比的增加, Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率逐渐增加, 载药量呈先增加后下降的趋势, 说明增加 Zein 用量利于提高包封率^[12]; 但 Zein 用量过大时影响了 Lim-Zein/Fuc-NPs 载药效率, 载药量下降; Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径在 180.97~192.92 nm, 且差异极小。《中国药典》2025 年版四部微粒制剂指导原则规定, 微粒制剂包封率不得低于 80%, 兼顾到 Lim-Zein/Fuc-NPs 载药量, 故后续以 Zein 与 Lim 用量比 15 : 1 为中心点对 10 : 1~20 : 1 进行优化。

表 1 Zein 与 Lim 用量比的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Influence of amounts ratio of Zein to Lim ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Zein 与 Lim 用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
5 : 1	40.97 $\pm$ 1.34	1.99 $\pm$ 0.10	186.24 $\pm$ 3.99
10 : 1	64.14 $\pm$ 1.17	2.06 $\pm$ 0.06	192.92 $\pm$ 2.56
15 : 1	83.34 $\pm$ 1.33	1.85 $\pm$ 0.05	184.61 $\pm$ 5.25
20 : 1	85.01 $\pm$ 1.14	1.28 $\pm$ 0.06	185.23 $\pm$ 4.66
25 : 1	85.33 $\pm$ 1.11	1.09 $\pm$ 0.04	180.97 $\pm$ 3.91

2.4.2 Fuc 与 Zein 用量比考察 固定 Zein 与 Lim 用量比 15 : 1、制备时间为 1.5 h, 考察 Fuc 与 Zein 用量比对 Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率、载药量、粒径的影响, 结果见表 2。随着 Fuc 与 Zein 用量比的增加, 纳米粒包封率持续上升, 载药量则逐步降低。已有研究证实 Fuc 可提升 Lim-Zein/Fuc-NPs 稳定性^[12-13], 提高 Fuc 相对用量有利于改善药物包封效果; 但若 Fuc 占比过高, 体系中游离 Fuc 过量, 会降低载体载药效率, 最终造成载药量下降。纳米粒粒径随 Fuc 配比提升同步增大, 原因在于 Fuc 可吸附于纳米粒表面发挥稳定作用, 其添加比例越高, 颗粒水化粒径越大^[13]。Fuc 与 Zein 用量比为 2.0 : 1.0 时包封率大于 80%, 可同时兼顾载药量与粒径 2 项指标。后续以 Fuc 与 Zein 用量比为 2.0 : 1.0 为中心点对 1.5 : 1.0~2.5 : 1.0 进行优化。

表 2 Fuc 与 Zein 用量比影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Influence of amounts ratio Fuc to Zein ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fuc 与 Zein 用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
1.0 : 1.0	69.36 $\pm$ 0.86	2.21 $\pm$ 0.09	180.54 $\pm$ 6.35
1.5 : 1.0	74.10 $\pm$ 0.78	1.94 $\pm$ 0.03	182.23 $\pm$ 3.04
2.0 : 1.0	83.63 $\pm$ 1.00	1.80 $\pm$ 0.06	184.86 $\pm$ 3.64
2.5 : 1.0	84.28 $\pm$ 1.39	1.53 $\pm$ 0.03	199.16 $\pm$ 7.20
3.0 : 1.0	85.32 $\pm$ 0.86	1.30 $\pm$ 0.06	215.25 $\pm$ 4.24

2.4.3 制备时间的考察 固定 Zein 与 Lim 用量比 15 : 1、Fuc 与 Zein 用量比为 2 : 1, 考察制备时间对 Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率、载药量、粒径的影响, 结果见表 3。随着制备时间的延长, Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率和载药量均呈先升高后下降的趋势, 可能是由于纳米粒的形成需要一定时间; 但制备时间过长时可能导致 Zein 变性^[13]、Lim 降解^[3]等, 因而使包封率及载药量下降。当制备时间为 1.5 h 时包封率大于 80%, 载药量相对较大, 粒径小于 200 nm, 故后续以 1.5 h 为中心点对 1.0~2.0 h 进行优化。

表 3 制备时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

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

制备时间/h	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
0.5	44.06 $\pm$ 1.99	1.05 $\pm$ 0.04	186.68 $\pm$ 9.40
1.0	67.33 $\pm$ 1.45	1.46 $\pm$ 0.06	179.01 $\pm$ 8.12
1.5	83.39 $\pm$ 1.17	1.84 $\pm$ 0.02	187.38 $\pm$ 5.43
2.0	79.53 $\pm$ 0.53	1.65 $\pm$ 0.09	185.44 $\pm$ 3.96
2.5	74.00 $\pm$ 0.21	1.60 $\pm$ 0.03	182.28 $\pm$ 2.37

2.5 BBD-RSM 法优化 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方工艺

2.5.1 实验设计及结果 参考单因素结果,选取 Zein 与 Lim 用量比 (X_1)、Fuc 与 Zein 用量比 (X_2) 及制备时间 (X_3) 作为 Lim-Zein/Fuc-NPs 主要影响因素,包封率 (Y_1)、载药量 (Y_2)、粒径 (Y_3) 选为优化指标,并转换为总评归一值 (OD),使用 OD 值作为 BBD-RSM 的响应值。根据 BBD-RSM 进行

3 因素、3 水平共计 17 次实验,实验设计及结果见表 4。

$$d_{\text{包封率}} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$d_{\text{载药量}} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$d_{\text{粒径}} = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$$

$$OD = (d_{\text{包封率}} \times d_{\text{载药量}} \times d_{\text{粒径}})^{1/3}$$

M_i 、 $M_{\max}$ 和 $M_{\min}$ 分别为包封率、载药量和粒径实测值、最大值和最小值

表 4 BBD-RSM 实验因素水平、设计及结果
Table 4 BBD-RSM factor level, test design and results

序号	X_1	X_2	X_3/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y_3/nm	OD 值
1	15 : 1 (0)	1.5 : 1.0 (-1)	1.0 (-1)	73.15	1.94	185.64	0.639
2	15 : 1	2.0 : 1.0 (0)	1.5 (0)	83.66	1.87	180.74	0.781
3	20 : 1 (1)	2.0 : 1.0	2.0 (1)	79.97	1.62	216.56	0.257
4	15 : 1	2.0 : 1.0	1.5	84.19	1.88	187.56	0.743
5	20 : 1	2.5 : 1.0 (1)	1.5	85.18	1.27	190.57	0.000
6	15 : 1	2.0 : 1.0	1.5	82.73	1.85	181.58	0.754
7	15 : 1	2.0 : 1.0	1.5	84.29	1.90	190.23	0.730
8	15 : 1	2.5 : 1.0	1.0	73.68	1.39	183.69	0.350
9	15 : 1	2.0 : 1.0	1.5	82.97	1.86	185.54	0.734
10	10 : 1 (-1)	2.5 : 1.0	1.5	70.66	2.01	189.43	0.534
11	20 : 1	2.0 : 1.0	1.0	77.97	1.46	192.34	0.421
12	10 : 1	1.5 : 1.0	1.5	64.14	2.44	193.41	0.000
13	20 : 1	1.5 : 1.0	1.5	77.05	1.56	186.96	0.504
14	15 : 1	1.5 : 1.0	2.0	73.87	1.91	219.48	0.000
15	10 : 1	2.0 : 1.0	2.0	65.16	2.08	217.49	0.120
16	15 : 1	2.5 : 1.0	2.0	75.81	1.44	217.08	0.171
17	10 : 1	2.0 : 1.0	1.0	72.66	2.23	189.73	0.634

2.5.2 模型拟合及方差分析 以 OD 值为因变量,以 X_1 、 X_2 和 X_3 作为自变量,根据表 4 中实验数据使用 Design Expert V10.0.2 软件建立因变量 (OD 值) 和自变量 (X_1 、 X_2 和 X_3) 之间的数学关系,得 OD 值二次三项式方程为: $OD = 0.75 - 0.01 X_1 - 0.01 X_2 - 0.19 X_3 - 0.26 X_1 X_2 + 0.09 X_1 X_3 + 0.11 X_2 X_3 - 0.21 X_1^2 - 0.28 X_2^2 - 0.18 X_3^2$ 。方差分析结果见表 5,模型失拟项 $P = 0.0924$ ($P > 0.05$),模型 $P < 0.0001$,模型判定系数 R^2 和调整判定系数 R_{adj}^2 分别为 0.9817 和 0.9581,说明干扰或未知因素对预测结果的影响可忽略,建立的数学模型具有极显著性意义,预测值和实验值之间相关性良好,因此该数学模型可用于优化 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方工艺。OD 值数学模型中, X_3 、 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 和 X_3^2 具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。 X_1 和 X_2 对 OD 值响应不

显著性 ($P > 0.05$),但 2 者交互作用极显著 ($P < 0.01$),说明这 2 个因素并非独立作用于 OD 值,2 者之间可能存在较强的协同或拮抗作用,提示单独考虑任一因素无法准确反映其对 OD 值的真实影响,忽略其交互作用,可能导致模型预测偏差,因此这 2 个因素对 Lim-Zein/Fuc-NPs 较为重要。

2.5.3 响应面及处方工艺确定 Design Expert V10.0.2 软件绘制响应面图,结果见图 2,随着 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 $X_2 X_3$ 增加 OD 值均呈先增加后下降趋势。选择 OD 最大值作为优化目标,得到 Lim-Zein/Fuc-NPs 最佳处方为 Zein 与 Lim 用量比为 14.74 : 1.00, Fuc 与 Zein 用量比为 1.99 : 1.00,制备时间为 1.25 h,预测 OD 值为 0.801。

2.5.4 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方验证 制备 3 批 Lim-Zein/Fuc-NPs,测定结果见表 6。根据预测 OD

表 5 方差分析

Table 5 Analysis of variance

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.36	9	0.15	148.55	<0.000 1	X_1^2	0.19	1	0.19	183.80	<0.000 1
X_1	1.41×10^{-3}	1	1.41×10^{-3}	1.39	0.277 5	X_2^2	0.33	1	0.33	321.73	<0.000 1
X_2	9.67×10^{-4}	1	9.67×10^{-4}	0.95	0.361 5	X_3^2	0.14	1	0.14	133.94	<0.000 1
X_3	0.28	1	0.28	276.16	<0.000 1	残差	7.10×10^{-3}	7	1.02×10^{-3}		
X_1X_2	0.27	1	0.27	265.04	<0.000 1	失拟项	5.46×10^{-3}	3	1.82×10^{-3}	4.42	0.092 4
X_1X_3	0.03	1	0.03	30.18	0.000 9	纯偏差	1.65×10^{-3}	4	4.11×10^{-4}		
X_2X_3	0.05	1	0.05	52.12	0.000 2	总离差	1.36	16			

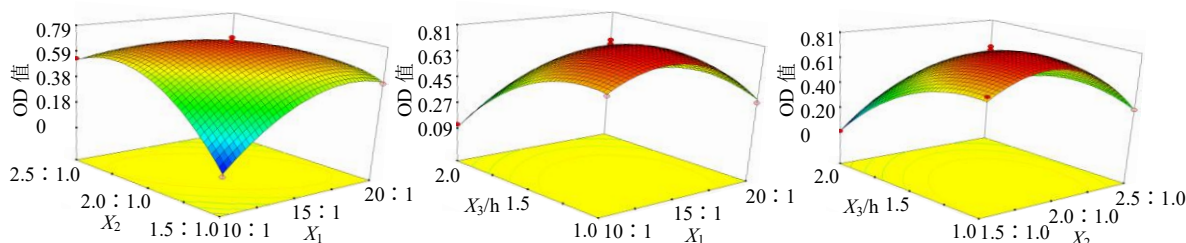


图 2 各因素对 OD 值的响应面图

Fig. 2 Response surface images of each factor on OD value

表 6 处方验证结果及 OD 值相对偏差 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 6 Results of prescription validation and relative deviation of OD value ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

批次	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	OD 值
第 1 批	84.19 ± 0.74	1.94 ± 0.04	185.64 ± 4.59	0.781
第 2 批	83.71 ± 0.93	1.90 ± 0.07	180.95 ± 3.17	0.793
第 3 批	85.02 ± 1.21	1.95 ± 0.05	190.72 ± 5.02	0.754

值 (0.801), 实测 OD 值的相对偏差为-3.12%, 证明数学模型适用性良好。3 批 Lim-Zein/Fuc-NPs 平均包封率、载药量和粒径分别为 (84.31 ± 0.96) %、(1.93 ± 0.06) %和 (185.77 ± 4.69) nm。另测得 Lim-Zein/Fuc-NPs 平均 Zeta 电位为 (-32.77 ± 1.09) mV, 说明纳米粒表面带负电荷, 主要是 Lim-Zein/Fuc-NPs 表层 Fuc 硫酸根质子化所致^[13]。Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径分布和 Zeta 电位见图 3。

2.6 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末的制备及溶解度测定

2.6.1 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末的制备 将 Lim-Zein/Fuc-NPs 置-35 °C 冰箱预冻 2 d, 于-35 °C 真空冻干机中干燥 3 d 即得 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末, 密封保存在-10 °C 冰箱中。Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液、粉末及纯化水复溶后样品外观见图 4, Lim-Zein/Fuc-NPs 冻干前及纯化水重新分散后的混悬液均带浅蓝色乳光。Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末纯化水复溶后测得平均包封率、载药量、粒径和 Zeta 电位分

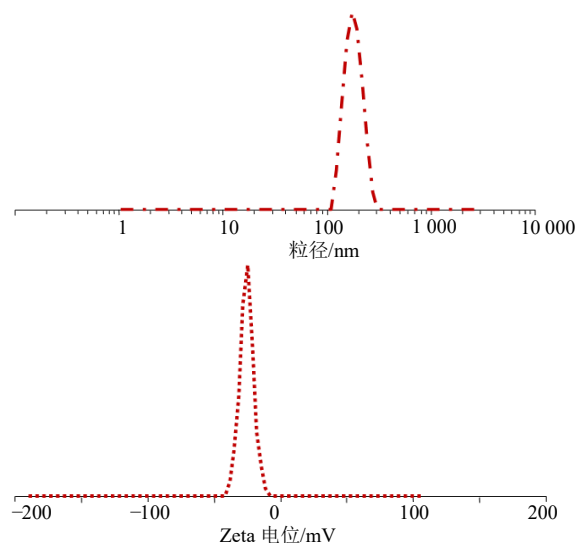


图 3 Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径和 Zeta 电位

Fig. 3 Particle size and Zeta potential of Lim-Zein/Fuc-NPs

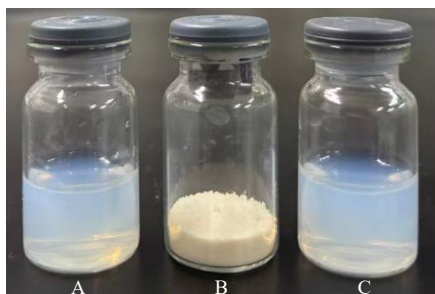
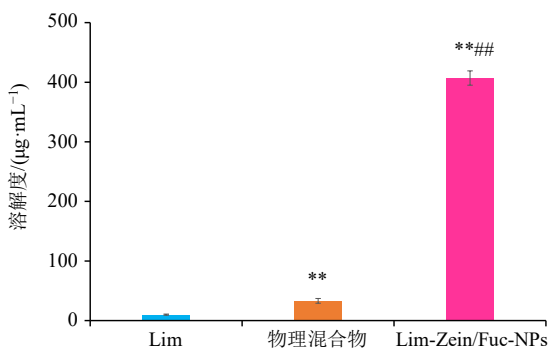


图 4 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液 (A)、粉末 (B) 及其纯化水复溶 (C) 外观

Fig. 4 Appearance of Lim-Zein/Fuc-NPs suspension (A), powder (B) and redispersed by purified water (C)

别为 $(82.07 \pm 1.15)\%$ 、 $(1.86 \pm 0.07)\%$ 、 (196.90 ± 5.14) nm 和 (-33.11 ± 0.76) mV, 包封率和载药量有所下降, Zeta 电位绝对值有所增加, 但均无显著性差异 ($P > 0.05$); 粒径有所增长, 但仍小于 200 nm, 表明 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末具有良好的重分散性。

2.6.2 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末溶解度测定 按照 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方分别称取 Lim、Zein 和 Fuc, 简单混匀后作为物理混合物。取过量 Lim、物理混合物和 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末置于 10 mL 纯化水中, 超声 20 min, 此时混悬液底部仍有 Lim 沉淀。置于 25 °C 恒温水浴中, 在 $600 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下磁力搅拌 2 d, $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 测定 Lim 浓度, 结果见图 5。与 Lim 相比, 物理混合物中 Lim 溶解度极显著性增加 ($P < 0.01$), 由于物理混合物中的 Zein 和 Fuc 具有一定的乳化作用^[10-11], 提高了 Lim 的溶解度。与 Lim 或物理混合物相比, Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末溶解度均具有极显著性增加 ($P < 0.01$),



与 Lim 比较: ** $P < 0.01$; 与物理混合物比较: *** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs Lim; *** $P < 0.01$ vs physical mixture.

图 5 各样品溶解度测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Solubility determined results of each sample ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

这可能与 Lim-Zein/Fuc-NPs 极大降低了 Lim 粒度、改变了 Lim 晶型以及辅料自身增溶等原因有关。

2.7 TEM 观察 Lim-Zein/Fuc-NPs 微观形貌

取 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液 0.1 mL 涂敷在 400 目的铜网上, 铺展后滴加 0.1 mL 1.0% 磷钨酸钠, 晾干。置于 TEM 观察, 结果见图 6。Lim-Zein/Fuc-NPs 形貌均为类球形, 无黏连现象, 可能是由于 Lim-Zein/Fuc-NPs 表层 Fuc 提供了较大的空间位阻^[13], 阻止了 Lim-Zein/Fuc-NPs 聚集。

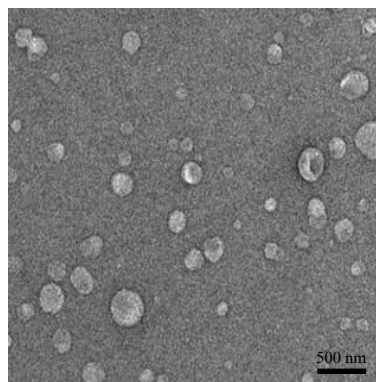


图 6 Lim-Zein/Fuc-NPs 混悬液 TEM 图 ($\times 14\,500$)

Fig. 6 TEM image of Lim-Zein/Fuc-NPs suspension ($\times 14\,500$)

2.8 pH 值对 Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径和 Zeta 电位的影响

药物口服进入胃肠道后, 需经历酸性及碱性环境, 因此有必要考察不同 pH 值对 Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径和 Zeta 电位的影响。取 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末 10 mg, 分别分散至 20 mL、37 °C 的 pH 2.0、4.0、4.5、5.5、6.8、7.4 的 PBS 中, 12 h 后测定粒径和 Zeta 电位。结果见图 7, Lim-Zein/Fuc-NPs 在 pH 2.0

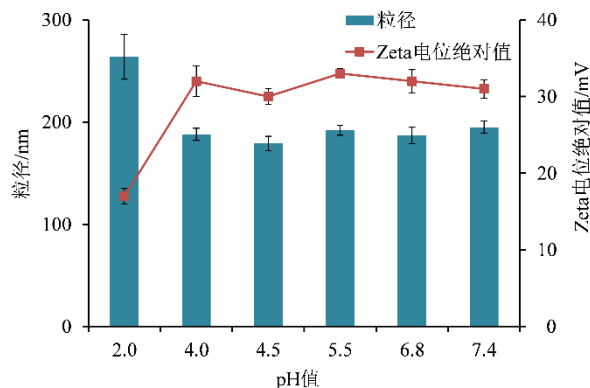


图 7 pH 值对 Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径和 Zeta 电位的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 7 Effects of pH value on particle size and zeta potential of Lim-Zein/Fuc-NPs ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

中粒径大于 250 nm, Zeta 电位绝对值小于 20 mV, 可能是 Fuc 在较低 pH 介质中发生了较为剧烈的质子化, Lim-Zein/Fuc-NPs 表面的电荷量降低, 导致电荷排斥力下降, 引起纳米粒子的聚集^[10], 从而使粒径增长。Lim-Zein/Fuc-NPs 在 pH 值 4.0~7.4 的 PBS 中粒径均小于 200 nm, Zeta 电位绝对值均大于 30 mV, 表明 Lim-Zein/Fuc-NPs 可抵抗 pH 值对其自身结构的影响。

2.9 X-射线粉末衍射法 (XRPD) 分析晶型

取 Lim、Zein、Fuc、物理混合物和 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末适量, 使用 XRPD 仪器对各个样品进行扫描, 扫描角度 (2θ) 范围为 $3^{\circ}\sim 45^{\circ}$, 见图 8。Lim 在扫描角度 $10^{\circ}\sim 25^{\circ}$ 出现大量晶型衍射峰, 其中在 11.8° 和 12.2° 两处衍射峰最强, 而 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方中 Zein 和 Fuc 均无特征晶型衍射峰。在物理混合物 XRPD 图谱中可观察到 Lim 主要特征衍射峰, 但在 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末 XRPD 图谱中 Lim 特征衍射峰均消失, 证明 Lim-Zein/Fuc-NPs 是不同于物理混合物的一种物质, 同时也说明 Lim-Zein/Fuc-NPs 引起 Lim 晶型改变, 转变为无定形态。

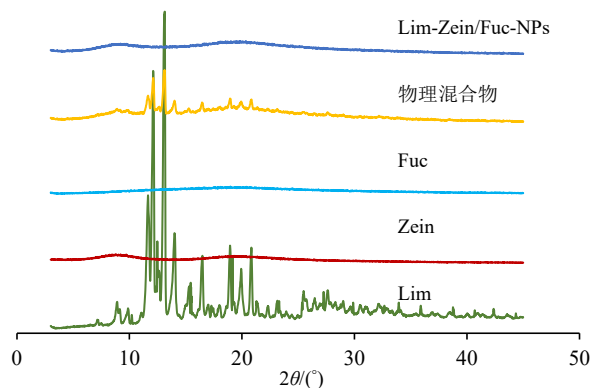


图 8 XRPD 结果
Fig. 8 XRPD results

2.10 Lim-Zein/Fuc-NPs 释药行为考察

Lim 在含 0.5% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 的 pH 2.0、6.8 的 PBS 中饱和溶解度分别为 63.74 、 $48.50\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。据此计算, 10 mg Lim 置于 1.0 L 上述 2 种释放介质中均可满足体外释药漏槽条件。精密称取适量 Lim 原料药、物理混合物及 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末, 控制各组样品中 Lim 总量均为 10 mg, 将样品转移至截留相对分子质量 8 000 的透析袋内, 加入 5 mL 含 0.5% SDS 的 pH 2.0 PBS 后扎紧透析袋两端。向溶出杯中加入 1.0 L 含 0.5% SDS 的 pH 2.0 PBS, 体系

恒温维持 $(37\pm 0.2)^{\circ}\text{C}$, 设置转篮转速 $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 开展释药实验, 分别于 0、0.5、1.0、2.0 h 各取样 5 mL。随后更换释放介质为 1.0 L 含 0.5% SDS 的 pH 6.8 PBS, 其余实验条件保持不变重复操作, 并于 3、4、6、8、12、18 h 时间点各吸取 5 mL 释放液。每次取样后立即补加等体积同温度空白介质; 所有待测样品于 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 去除不溶性固体颗粒, 取上清液测定 Lim 含量。释药结果如图 9 所示, 游离 Lim 原料药 18 h 累积释放率仅为 16.17%; 物理混合物和 Lim-Zein/Fuc-NPs 分别将 Lim 18 h 累积释放率提高至 36.90% 和 80.46%。该结果表明, Lim-Zein/Fuc-NPs 对 Lim 具备更显著的促释放作用。

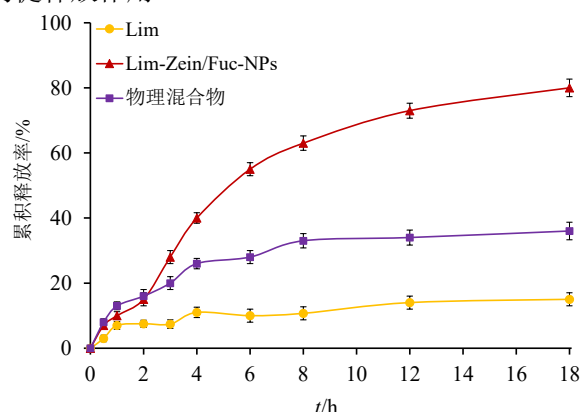


图 9 各样品体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 9 Release profiles *in vitro* of each sample ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.11 口服药动力学行为考察

2.11.1 色谱条件 采用 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (100 mm×2.1 mm, $1.8\ \mu\text{m}$) 色谱柱; 体积流量 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-甲醇 (1:1); 进样体积 $5\ \mu\text{L}$; 柱温 30°C 。

2.11.2 质谱条件 采用正离子模式, 多级反应监测 (MRM), 电喷雾离子源 (ESI), 雾化气压力为 275 kPa, 干燥气 (N_2) 温度为 325°C , 干燥气体积流量 $10.0\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。多潘立酮 (内标) 定量离子对为 $m/z\ 426.3 \rightarrow 175.2$, Lim 定量离子对 $m/z\ 471.2 \rightarrow 161.1$ 。

2.11.3 实验方案 分别取 Lim、物理混合物和 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末置于 0.5% 的 CMC-Na 水溶液中, 涡旋 2 min, 使之分散成均匀混悬液。取 18 只 SD 大鼠禁食 12 h, 随机分为 Lim 组、物理混合物组和 Lim-Zein/Fuc-NPs 组, 根据各只 SD 大鼠体质量, 按 Lim $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量分别 ig 给药, Lim 和物理

混合物组大鼠分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0 h 于大鼠眼眶后静脉丛取血量约 200 μL ，抗凝剂处理后 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 3 min，冷冻保存血浆。前期对 Lim-Zein/Fuc-NPs 药动学行为进行了考察，发现在 18 h 时间点仍可有效检测出血药浓度，故增加 18 h 取血点。

2.11.4 内标溶液的配制及血浆样品的处理 取多潘立酮适量，用乙腈配制质量浓度为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 多潘立酮对照品溶液，备用。精密量取 50 μL 血浆样品、50 μL 多潘立酮对照品溶液和 500 μL 甲醇置于同一离心管中，涡旋 3 min 得混悬液，再加入 1.0 mL 醋酸乙酯，再次涡旋 3 min。 $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min，取上层，使用氮气吹干，加入乙腈 50 μL 复溶，即得。

2.11.5 血浆对照品溶液的配制及标准曲线 取空白血浆，参考“2.11.3”处理方法制备质量浓度为 2000、1000、500、100、50、10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 血浆对照品溶液（多潘立酮质量浓度均为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），按“2.11.1”项下条件测定多潘立酮与 Lim 峰面积，计算两者比值（ Y ），并与 Lim 浓度（ X ）做回归分析，得方程 $Y=483.17X-8.12$ ， $r=0.998\,6$ ，线性范围 10~2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.11.6 专属性考察 取空白血浆溶液、Lim-Zein/Fuc-NPs 给药 12.0 h 的血浆样品溶液（多潘立酮浓度为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）和 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 血浆对照品溶液（多潘立酮质量浓度为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），按“2.11.1”项下条件测定。结果见图 10，Lim 和多潘立酮色谱峰专属性较高。

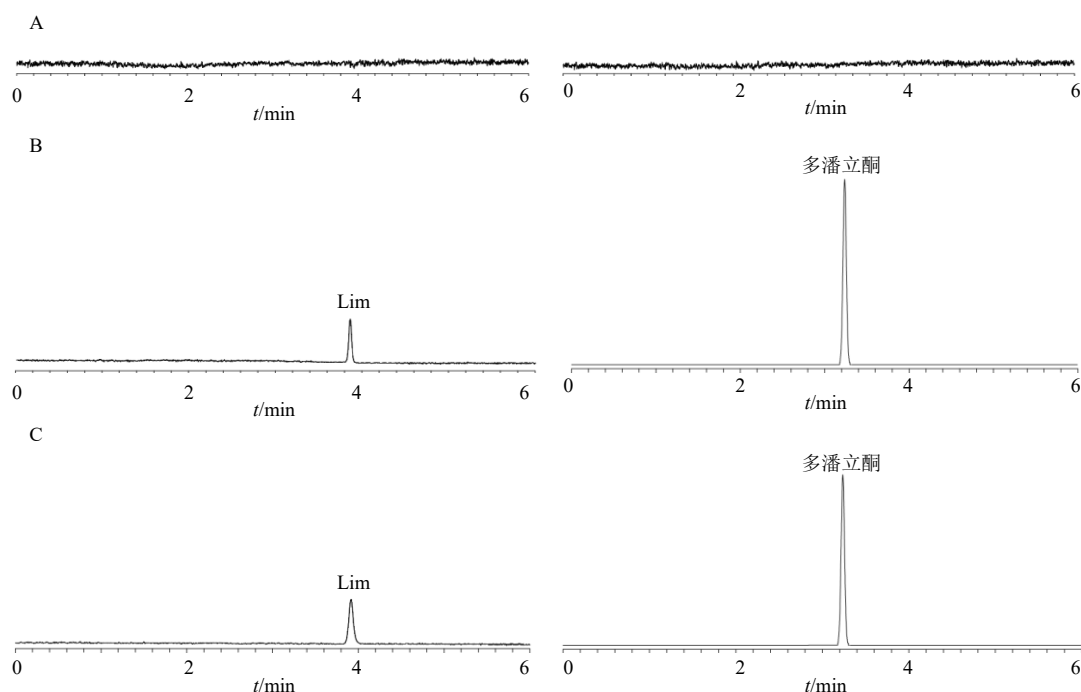


图 10 空白血浆溶液 (A)、血浆样品溶液 (含内标, B) 和血浆对照品溶液 (含内标, C) 的 MRM 图

Fig. 10 MRM chromatograms of blank plasma solution (A), plasma sample solution (including internal standard, B) and plasma reference solution (including internal standard, C)

2.11.7 精密度考察 取质量浓度分别为 10、500、2 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 血浆对照品溶液（多潘立酮质量浓度均为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），分别连续测定 6 次，多潘立酮和 Lim 峰面积比的 RSD 值分别为 7.10%、3.66%、3.19%（ $n=6$ ），表明仪器精密度良好。

2.11.8 重复性考察 取质量浓度为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 质控样品（多潘立酮质量浓度均为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），

制备 6 份供试品溶液，测定多潘立酮和 Lim 峰面积，计算得 Lim 质量浓度 RSD 值为 6.19%（ $n=6$ ），表明方法重复性良好。

2.11.9 稳定性考察 取质量浓度为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Lim 质控样品溶液（多潘立酮质量浓度均为 $500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），于 0、3、6、12、18、24 h 测得多潘立酮和 Lim 峰面积比的 RSD 值为 4.07%（ $n=6$ ），

表明稳定性良好。

2.11.10 提取回收率和基质效应考察^[15-16] 取质量浓度 10、500、2 000 ng·mL⁻¹ 的 Lim 质控样品溶液 (多潘立酮质量浓度均为 500 ng·mL⁻¹), 按“2.11.1”条件测定多潘立酮和 Lim 峰面积 (*A*), 各质量浓度样本平行测定 3 份取平均值。取 50 μL 空白血浆, 在不加 Lim 和多潘立酮前提下按“2.11.3”方法处理, 然后加入 Lim 和多潘立酮对照品, 使 Lim 质量浓度为 10、500 和 2 000 ng·mL⁻¹ (多潘立酮质量浓度均为 500 ng·mL⁻¹), 测定多潘立酮和 Lim 峰面积 (*B*), 平行测定 3 份取平均值, 计算多潘立酮和 Lim 提取回收率 (*A/B*)。多潘立酮及低、中、高质量浓度 Lim 提取回收率分别为 102.71%、98.01%、103.98%、96.04%。取质量浓度分别为 10、500、2 000 ng·mL⁻¹ 的 Lim 对照品溶液 (均不含血浆, 多潘立酮浓度均为 500 ng·mL⁻¹), 测定多潘立酮和 Lim 峰面积 (*C*), 计算基质效应 (*B/C*)。多潘立酮及低、中、高质量浓度 Lim 的基质效应分别为 96.17%、104.52、97.88%、95.44%。因此, “2.11.3”项下的血浆样品预处理方法具有提取回收率高、基质效应小的特点。

2.11.11 药动学结果 药-时曲线见图 11。使用 DAS 2.0 软件非房室模型分别计算各样品的药动学参数, 结果见表 7。与 Lim 相比, 物理混合物中 Lim 的达峰时间 (*t*_{max}) 和半衰期 (*t*_{1/2}) 无显著变化

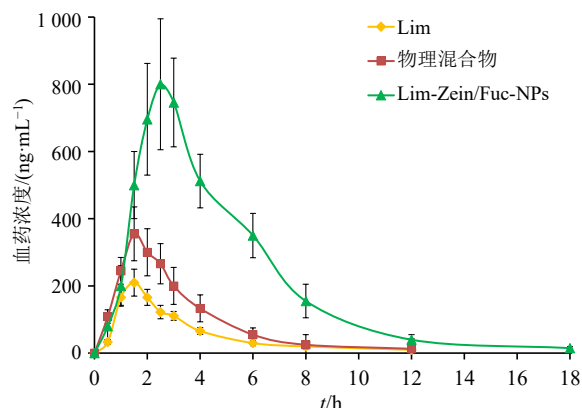


图 11 血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 11 Plasma concentration-time profiles ($\bar{x} \pm s$, $n=6$) ($P>0.05$), 而峰浓度 ($C_{\max}$)、药时曲线下面积 ($AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$) 有极显著性增加 ($P<0.01$), 物理混合物中 Lim 的相对口服吸收生物利用度提高至 2.05 倍。Lim-Zein/Fuc-NPs 的 *t*_{max} 显著性延后 ($P<0.05$), *t*_{1/2} 显著性延长 ($P<0.05$), 且 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 及 $AUC_{0\sim\infty}$ 均具有极显著性提高 ($P<0.01$), Lim-Zein/Fuc-NPs 相对口服吸收生物利用度提高至 7.25 倍。与物理混合物相比, Lim-Zein/Fuc-NPs 的 *t*_{max} 和 *t*_{1/2} 具有显著性差异 ($P<0.05$), 且 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 及 $AUC_{0\sim\infty}$ 具有极显著性差异 ($P<0.01$), 表明 Lim-Zein/Fuc-NPs 进一步改变了 Lim 药动学行为, 促吸收作用更佳。

表 7 各组样品中 Lim 主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 7 Main pharmacokinetic parameters of Lim in each sample ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

参数	单位	Lim	物理混合物	Lim-Zein/Fuc-NPs
<i>t</i> _{max}	h	1.46±0.27	1.51±0.31	2.60±0.78*#
<i>t</i> _{1/2}	h	3.05±1.39	3.47±1.66	6.27±1.71*#
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	215.18±33.63	361.47±84.16**	813.71±213.40***#
$AUC_{0\sim t}$	ng·mL ⁻¹ ·h	636.11±71.97	1 306.27±137.03**	4 611.54±570.12***#
$AUC_{0\sim\infty}$	ng·mL ⁻¹ ·h	654.40±75.65	1 325.33±144.16**	4 694.85±619.73***#

与 Lim 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 Lim; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs physical mixture.

2.12 Lim-Zein/Fuc-NPs 的降尿酸药效评价

2.12.1 实验方案 取 SD 雄性大鼠每天 9:00 按 2.0 g·kg⁻¹ ig 氧嗪酸钾, 连续干预 7 d, 构建 HUA 模型^[17-18]。于末次 ig 氧嗪酸钾后 6 h 经眼眶后静脉丛取血, 3 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 提取上层血清, 分别测定血清尿酸、尿素氮 (BUN) 和肌酐 (CRE) 含量。尿酸水平 >650 μmol·L⁻¹, 表明造模成功^[17]。

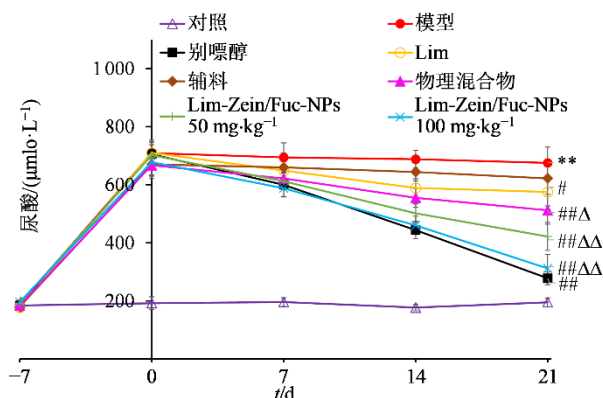
实验设置 6 只 SD 雄性大鼠作为空白对照组 (给

予 0.9%氯化钠溶液); 另取 42 只造模成功的 HUA 大鼠, 随机分为 7 组, 每组 6 只, 分别为模型组 (0.9%氯化钠溶液)、别嘌醇 (阳性药, 100 mg·kg⁻¹) 组^[19]、Lim (100 mg·kg⁻¹) 组^[4]、辅料组 (Fuc 与 Zein 配比同 Lim-Zein/Fuc-NPs 高剂量组)、物理混合物组 (Lim 与辅料配比同 Lim-Zein/Fuc-NPs 高剂量组) 及 Lim-Zein/Fuc-NPs 低、高剂量 (50、100 mg·kg⁻¹) 组。各组大鼠每天 9:00 时分别 ig 给予对应浓度的

0.9%氯化钠溶液或受试药物,连续干预 21 d。

分别于给药第 0、7、14、21 天 15:00 时,经大鼠眼眶后静脉丛采血,3 000 r·min⁻¹ 离心 3 min 后分离上层血清,检测血清尿酸水平。给药第 21 天 15:00 时,采用 1%戊巴比妥钠溶液 ip 麻醉大鼠,即刻心脏采血 5 mL,经 3 000 r·min⁻¹ 离心 3 min 分离血清,检测血清 BUN、CRE 含量。采血结束后剥离大鼠肾脏组织,置于 4%多聚甲醛固定液中保存,备用后续实验。

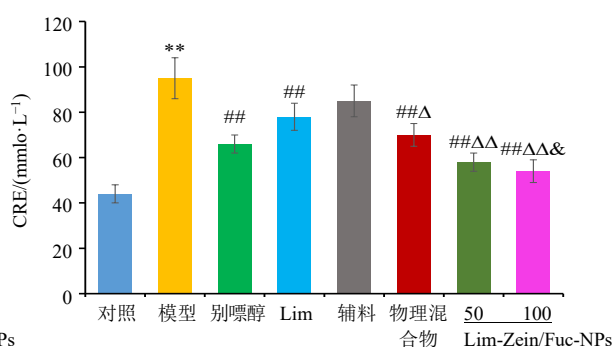
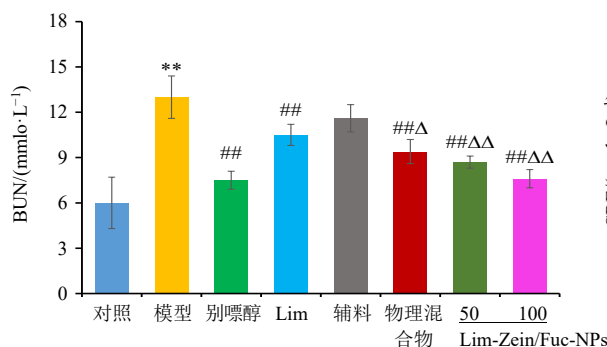
2.12.2 尿酸含量测定结果 各组大鼠血清尿酸检测结果见图 12。干预第 21 天,与对照组相比,模型组大鼠血清尿酸水平极显著升高 ($P<0.01$)。相



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$;
与 Lim 组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ 。
** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs Lim group.

图 12 各组大鼠血清尿酸含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 12 Serum uric acid levels in rats of each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: ## $P<0.01$; 与 Lim 组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$; 与别嘌醇组比较: * $P<0.05$ 。
** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs Lim group; * $P<0.05$ vs allopurinol group.

图 13 各组大鼠血清 BUN 和 CRE 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 13 Determination results of serum BUN and CRE content in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

较于模型组, 辅料组大鼠同期血清尿酸仅轻度下降, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); Lim 组大鼠血清尿酸显著降低 ($P<0.05$), 说明 Lim 可降低 HUA 模型大鼠体内尿酸水平。物理混合物组、Lim-Zein/Fuc-NPs 低剂量与高剂量组大鼠第 21 天血清尿酸均呈极显著降低 ($P<0.01$)。与 Lim 组相比, 物理混合物组大鼠第 21 天血清尿酸水平显著下降 ($P<0.05$), 结合已有文献报道^[14-15], 初步推断该现象由 Fuc 协同发挥降尿酸作用所致; Lim-Zein/Fuc-NPs 低、高剂量组大鼠同期血清尿酸均极显著降低 ($P<0.01$), 证明纳米制剂 Lim-Zein/Fuc-NPs 可大幅提升 Lim 降尿酸药效, 且其降低血清尿酸的效果呈剂量相关性。

2.12.3 BUN 和 CRE 含量结果 血清 BUN 和 CRE 是评价肾功能的常见指标^[20-21], 各组大鼠 BUN 和 CRE 含量测定结果见图 13。与对照组相比, 模型组大鼠血清 BUN 和 CRE 含量均极显著升高 ($P<0.01$), 表明 HUA 大鼠肾功能受损严重。与模型组相比, 辅料组 BUN 和 CRE 含量有一定程度下降, 但无统计学意义 ($P>0.05$); Lim、物理混合物组及 Lim-Zein/Fuc-NPs 低、高剂量组 BUN 和 CRE 含量均极显著下降 ($P<0.01$), 表明均可缓解 HUA 对肾功能造成的损伤, 具有肾脏保护作用^[22]。与 Lim 组相比, 物理混合物组 BUN 和 CRE 含量具有显著性下降 ($P<0.05$), 而 Lim-Zein/Fuc-NPs 低和高剂量组 BUN 和 CRE 含量均呈极显著下降 ($P<0.01$), 说明 Lim-Zein/Fuc-NPs 极大增加了 Lim 药效, 且降 BUN 和 CRE 效果与 Lim-Zein/Fuc-NPs 剂量呈正相关。与别嘌醇组相比, Lim-Zein/Fuc-NPs 高剂量组

CRE 含量下降具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.12.4 HE 染色结果 使用 4%多聚甲醛溶液固定肾脏组织,进行乙醇梯度脱水、石蜡包埋、切片等,使用 HE 染色观察各组大鼠肾脏组织病理学变化,结果见图 14。对照组肾脏结构正常;模型组肾小管萎缩,炎症细胞浸润现象明显,纤维组织及肾小球系膜细胞增;Lim 和物理混合物组

纤维组织增生和炎症细胞浸润现象有所改善,肾小管萎缩有所缓解,但治疗作用相对较弱;辅料组纤维组织增生和炎症细胞浸润现象仍较严重,未表现有效的治疗作用。随着 Lim-Zein/Fuc-NPs 剂量的增加,肾脏病变的缓解情况随之增加,其中 Lim-Zein/Fuc-NPs 高剂量组病理情况与阳性组接近。

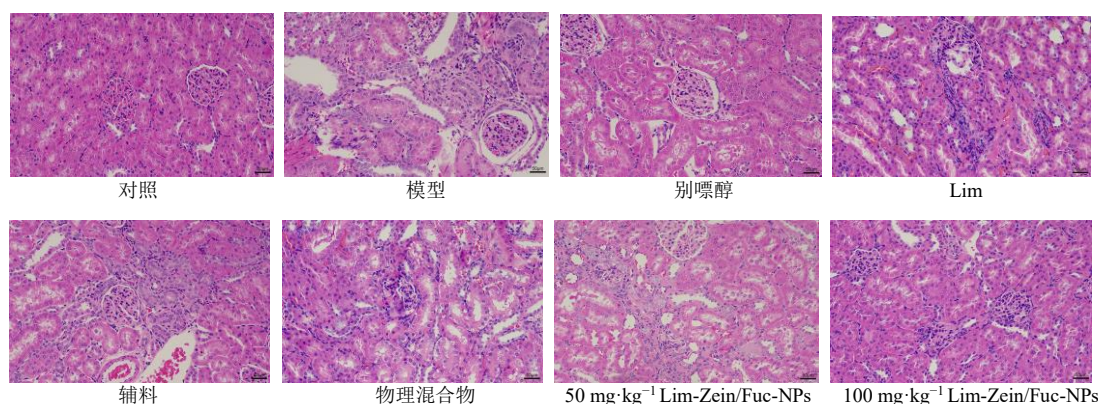


图 14 各组大鼠肾脏组织 HE 染色 (×200)

Fig. 14 HE staining of kidney tissues in each group of rats (× 200)

2.13 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,经正态性检验及方差齐性检验。以配对独立样本 t 检验用于比较两组间的差异,Turkey's 为事后检验的单因素方法分析用于比较多组间的差异, $P < 0.05$ 判定组间存在显著差异。

3 讨论

Zein 和 Lim 在水中溶解度均较差,但均易溶于 80%无水乙醇,故选之作为有机相。Fuc 易溶于水,作为水相。将含 Zein 和 Lim 的溶剂相加至 Fuc 的水相时,由于溶剂性质的改变,诱导 Zein 和 Lim 达到过饱和状态,逐渐析出并自发聚集形成纳米颗粒。Zein 在 pH 4.0 PBS 中携带正电荷,而 Fuc 表面携带负电荷,因而在静电引力作用下 Fuc 可包覆在 Lim-Zein/Fuc-NPs 表面^[12-13],在 Fuc 提供的静电排斥力、空间位阻等作用下提高了 Lim-Zein/Fuc-NPs 结构稳定性,为后续应用奠定基础。前期考察发现水浴温度 Lim-Zein/Fuc-NPs 的制备有一定影响,随着水浴温度的升高 Lim-Zein/Fuc-NPs 包封率和载药量随之增加,但水浴温度高于 50 °C 时包封率和载药量逐渐下降,为缩短制备时间并兼顾到包封率和载药量,最终采用水浴温度 50 °C 进行制备。

Lim-Zein/Fuc-NPs 制备过程未使用化学类表面活性剂及毒性有机溶剂等,因而 Lim-Zein/Fuc-NPs 使用安全性较高,临床推广潜力更大。

Lim 疏水性强、溶解度低,且在弱碱性介质中易降解^[8],导致累积释放率仅 16.17%。物理混合物在一定程度上增加了 Lim 累积释放率,可能是与 Zein 和 Fuc 增加了 Lim 亲水性、提高了溶解度等原因有关。Lim-Zein/Fuc-NPs 促 Lim 释放效果远大于物理混合物,除了 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方中 Zein 和 Fuc 具有促释放作用外,可能还与 Lim-Zein/Fuc-NPs 改变 Lim 晶型、降低粒径、提高溶解度等原因有关。Lim-Zein/Fuc-NPs 在模拟胃液中累积释放率低于物理混合物,可能是由于 Zein 在酸性介质中溶解度较差,导致 Lim-Zein/Fuc-NPs 结构不易被破坏,增加了 Lim 的释放阻力。当样品转移到模拟肠液时 Lim-Zein/Fuc-NPs 出现了突释情况,这可能是 Zein 和 Fuc 在碱性介质中易被降解,导致 Lim-Zein/Fuc-NPs 结构易被破坏,降低了释药阻力所致^[10]。

物理混合物将 Lim 的相对口服吸收生物利用度提高至 2.05 倍,说明物理混合物中 Zein 和 Fuc 对 Lim 体内吸收产生了一定的积极作用,可能是由于 Zein 可抵抗消化酶对药物的降解、破坏作用^[23],利

于增加体内吸收量; Zein 可增加药物肠道黏附性^[13], 有助于促进药物吸收; 物理混合物可增加 Lim 溶解度及释放度, 因而在多种因素共同作用下提高了 Lim 的生物利用度, 但物理混合物促吸收作用相对有限。Lim-Zein/Fuc-NPs 的 $t_{\max}$ 显著性延后, 可能与 Lim-Zein/Fuc-NPs 在胃液中释药相对困难有关^[10], Lim-Zein/Fuc-NPs 结构稳定性较高, 从而对药物释放起到了较大的阻滞作用, 影响了吸收速度, 最终使 $t_{\max}$ 显著性延后。同时也使 Lim-Zein/Fuc-NPs 的 $t_{1/2}$ 极显著性延后, 极大改变了 Lim 药动学行为, 利于 Lim 充分吸收。Lim-Zein/Fuc-NPs 的 $C_{\max}$ 和 $AUC_{0\sim t}$ 均极显著增加 ($P<0.01$), 可能是 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方中 Zein 和 Fuc 对 Lim 具有一定的促吸收作用; Lim-Zein/Fuc-NPs 改变了 Lim 晶型 (转变为无定形态)、提高了溶解度及溶出度^[24], 解决了 Lim 体内吸收瓶颈; Lim-Zein/Fuc-NPs 结构稳定性较高, 对包封于内部的 Lim 起到保护作用, 利于提高其体内稳定性及吸收量; Lim-Zein/Fuc-NPs 粒径小于 200 nm, 利于 Lim 经胞间转运、淋巴转运等途径进入血液循环^[25], 极大提高了吸收效率, 因而 Lim-Zein/Fuc-NPs 相对生物利用度得到极大提高。

Lim-Zein/Fuc-NPs 增强了 Lim 对 HUA 模型大鼠的降尿酸作用, 一方面 Lim-Zein/Fuc-NPs 提高了 Lim 生物利用度, 利于其充分发挥药效^[26]; 另一方面 Lim-Zein/Fuc-NPs 处方中 Fuc 本身具有辅助降低 HUA 大鼠尿酸的作用^[14-15]。但 Fuc 是否与 Lim 具有协调治疗作用, 还需进一步研究。综上, 本研究使用天然来源的 Zein 和 Fuc 成功制备了 Lim-Zein/Fuc-NPs, 降低了研发即及生产成本、提高了使用安全性, 利于后续临床推广。Zein 和 Fuc 不仅有助于增加 Lim 体内吸收量, 而且辅助增强了 Lim 对 HUA 大鼠的降尿酸作用, 体现了“药辅合一”的设计理念^[25], 为中医药临床转化提供了新的研发思路。但 Fuc 较易吸潮, 易导致 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末变质, 可能对药效产生不利影响, 因此 Lim-Zein/Fuc-NPs 粉末对包装及储存条件要求较高, 后续也将针对这一问题进行研究, 并开展影响因素实验及稳定性实验, 进一步丰富 Lim-Zein/Fuc-NPs 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] 柏胜男, 汪孟曦, 甘莹, 等. 中医辨证方剂治疗高尿酸

血症的研究进展 [J]. 中医药导报, 2025, 31(7): 121-124, 129.

Bai S N, Wang M X, Gan Y, et al. Research progress on the treatment of hyperuricemia with TCM syndrome differentiation formulas [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2025, 31(7): 121-124, 129.

[2] 何丽, 张楠, 陈磊, 等. 基于 CiteSpace 的中药治疗高尿酸血症肾病的研究现状及趋势 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(6): 1344-1357.

He L, Zhang N, Chen L, et al. Analysis of research status and trend of traditional Chinese medicine in treatment of hyperuricemia nephropathy by CiteSpace [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(6): 1344-1357.

[3] 王夜梅. 柑橘籽中柠檬苦素的提取纯化及其微胶囊化研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2023.

Wang YM. Study on extraction, purification and microencapsulation of limonin from citrus seeds [D]. Chongqing: Southwest University, 2023.

[4] 陈洁. 柠檬苦素通过 HIF-1 α /iNOS 通路改善高尿酸血症认知障碍神经炎症的作用机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2024.

Chen J. Study on the mechanism of limonin in ameliorating the neuroinflammation of hyperuricemia-induced cognitive impairment through HIF-1 α /iNOS pathway [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2024.

[5] Wei X Q, Fan X Y, Chai W J, et al. Dietary limonin ameliorates heart failure with preserved ejection fraction by targeting ferroptosis via modulation of the Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis: An integrated transcriptomics and metabolomics analysis [J]. Food Funct, 2025, 16(9): 3553-3574.

[6] 刘芳, 熊宁宁, 邹冲, 等. 柠檬苦素胶囊 I 期临床耐受性试验 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(9): 1032-1036.

Liu F, Xiong N N, Zou C, et al. Phase I human tolerance clinical study of limonin capsule [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2015, 20(9): 1032-1036.

[7] 王柯静, 决利利, 常宝珠, 等. 柠檬苦素纳米混悬剂和冻干粉的制备及体外评价 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(13): 1471-1478.

Wang K J, Jue L L, Chang B Z, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of limonin nanosuspension and its lyophilized powder [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(13): 1471-1478.

[8] 陈永顺, 杨斌. 马来酰亚胺修饰的柠檬苦素纳米粒的制备、表征及其口服药动学研究 [J]. 中草药, 2025, 56(2): 487-498.

- Chen Y S, Yang B. Maleimide-modified limonin nanoparticles: Preparation, characterization and its oral pharmacokinetics study [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(2): 487-498.
- [9] 何蕾, 庞小红, 张冬梅, 等. 白杨素纳米晶体的制备与药效评价 [J]. 解放军药理学学报, 2023, 36(5): 391-395.
He L, Pang X H, Zhang D M, et al. Preparation and pharmacodynamic evaluation of chrysin nanocrystals [J]. Pharm J Chin People's Liberation Army, 2023, 36(5): 391-395.
- [10] 章宏. 玉米醇溶蛋白-岩藻多糖复合纳米体系的构建及其递送疏水性活性物质研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021.
Zhang H. Study on the construction of zein-fucoidan composite nanosystem and its delivery of hydrophobic active substances [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2021.
- [11] 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: 141197.
- [12] 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.
Lü X G, Zhang P, Li M, et al. Apigenin-zein nanocomposite coated with dextran: Preparation and physicochemical property evaluation [J]. Chem Res Appl, 2025, 37(10): 2965-2976.
- [13] 王肖云, 李泽运, 王赞, 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] 唐欢欢, 李琪, 周向东. 岩藻多糖的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(7): 1786-1792.
Tang H H, Li Q, Zhou X D. Research progress on pharmacological effects of fucoidan [J]. Drugs Clin, 2023, 38(7): 1786-1792.
- [15] 陈婷婷, 葛国丽, 刘娜, 等. 大豆苷元磷脂复合物壳聚糖纳米粒的制备、药动学及调血脂作用评价 [J]. 药物评价研究, 2026, 49(6): 2070-2083.
Chen T T, Ge G L, Liu Na, et al. Daidzein phospholipid complex-chitosan nanoparticles: Preparation, pharmacokinetics and lipid-regulating effects [J]. Drug Eval Res, 2026, 49(6): 2070-2083.
- [16] 康雨, 谢燕, 黄丽姣, 等. 紫辛鼻鼈颗粒在大鼠体内的药动学研究 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(8): 2224-2232.
- Kang Y, Xie Y, Huang L J, et al. Pharmacokinetic study of zixin biqu granules in rats [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(8): 2224-2232.
- [17] 王傲, 梁武, 付田民, 等. A 生元粉在高尿酸血症中的降尿酸效果研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(6): 26-33.
Wang A, Liang W, Fu T M, et al. Study on the uric acid-lowering effects of postbiotic powder in hyperuricemia [J]. J Food Saf Qual, 2025, 16(6): 26-33.
- [18] 姜溪, 只德广, 赵秀义, 等. 痛风康宁片对高尿酸血症的预防作用及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1595-1603.
Jiang X, Zhi D G, Zhao X Y, et al. Study on prophylactic effects and mechanism of Tongfeng Kangning Tablets on hyperuricemia [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(7): 1595-1603.
- [19] 熊心怡, 刘利平, 冯杰, 等. 蛹虫草提取物对高尿酸血症大鼠的降尿酸作用及机制 [J]. 生物技术通报, 2024, 40(11): 34-46.
Xiong X Y, Liu L P, Feng J, et al. Effect and mechanism of *Cordyceps militaris* extract on lowering uric acid in hyperuricemia rats [J]. Biotechnol Bull, 2024, 40(11): 34-46.
- [20] 陈炼, 韩珊, 王宝林, 等. 白头翁皂苷 B5 及其衍生物对脂多糖诱导急性肾损伤小鼠药效学研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1452-1458.
Chen L, Han S, Wang B L, et al. Pharmacodynamic study of hederacoside C and its derivative on lipopolysaccharide induced acute kidney injury in mice [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(7): 1452-1458.
- [21] 汪静, 宋雅雯, 黄子龙, 等. 红景天苷通过 TLR4/Myd88/NF- κ B 通路对顺铂诱导的小鼠急性肾损伤的保护作用 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(9): 2163-2167.
Wang J, Song Y W, Huang Z L, et al. Protective effect of salidroside on cisplatin induced acute kidney injury in mice by TLR4/Myd88/NF- κ B pathway [J]. Drugs Clin, 2025, 40(9): 2163-2167.
- [22] 郑润博, 冉亚兰, 彭诗琴, 等. 皱皮木瓜叶提取物降尿酸及美白活性 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(9): 1715-1723.
Zheng R B, Ran Y L, Peng S Q, et al. Whitening and uric acid-lowering activities of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai leaf extract [J]. Nat Prod Res Dev, 2025, 37(9): 1715-1723.
- [23] 何鲜. 基于“蛋-盒”结构构建响应性凝胶系统共包埋

- 合生元对肠炎的缓解作用研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2025.
- He X. A responsive gel system based on an “Egg-box” structure co-embedded with synbiotics and its mitigating effect on colitis [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2025.
- [24] 王丽, 高小玲, 李思翰, 等. 高良姜素 pH 敏感胶束的构建及体外抗肿瘤活性研究 [J]. 化学与生物工程, 2026, 43(5): 57-64.
- Wang L, Gao X L, Li S H, et al. Construction and *in vitro* anti-tumor activity of galangin pH-sensitive micelles [J]. Chem Bioeng, 2026, 43(5): 57-64.
- [25] 尹元元, 耿燕娜, 孙晋鹏, 等. 异甘草素-玉米肽纳米复合物分子模拟对接、制备及体内外评价 [J]. 中草药, 2025, 56(21): 7749-7761.
- Yin Y Y, Geng Y N, Sun J P, et al. Isoliquiritigenin-corn peptide nano complexes: Molecular simulation docking, preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(21): 7749-7761.
- [26] 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.

[责任编辑 孙英杰]