葡聚糖修饰异甘草素/玉米醇溶蛋白纳米粒的制备、口服药动学及对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用

王 酩[1]，郭亚利[1]，巫鑫辉[1]，李 岩[1]，茹庆杰[2]，崔晓鸽[1*]

1. 郑州健康学院，河南 郑州 450064
2. 河南省第二人民医院，河南 郑州 451191

摘 要：目的 制备葡聚糖修饰异甘草素/玉米醇溶蛋白纳米粒（Dex-Iso/Zein-NPs），考察其在大鼠体内的口服药动学行为及对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用。**方法** 采用单因素试验联合 Box-Behnken 响应面法优化 Dex-Iso/Zein-NPs 处方工艺；透射电镜（TEM）表征纳米粒微观外貌；X-射线粉末衍射（XRPD）分析异甘草素晶型状态；测定纳米粒表观溶解度与体外释药行为，考察粉末储存稳定性。SD 大鼠 ig 给予异甘草素原料药、物理混合物及 Dex-Iso/Zein-NPs，HPLC 法检测血浆药物浓度，计算物理混合物与 Dex-Iso/Zein-NPs 的相对口服生物利用度；采用尿酸钠晶体注射法建立大鼠急性痛风性关节炎模型，对比异甘草素、物理混合物及 Dex-Iso/Zein-NPs 对大鼠踝关节肿胀度、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-1β（IL-1β）、环氧化酶-2（COX-2）水平的影响；苏木素-伊红（HE）染色观察滑膜组织病理改变。**结果** Dex-Iso/Zein-NPs 最优处方：玉米醇溶蛋白与异甘草素质量比 10.90∶1.00，反溶剂相与溶剂相体积比 3.15∶1.00，葡聚糖质量浓度 2.4 g·L^{-1}；所得纳米粒包封率（83.94±0.73）%，载药量（5.69±0.09）%，粒径（181.22±6.14）nm，Zeta 电位（−30.84±1.09）mV。纳米粒呈类球形，异甘草素在纳米粒中以无定形存在。Dex-Iso/Zein-NPs 可将异甘草素表观溶解度提升 34.17 倍，18 h 累积释放率达 88.10%；相对于异甘草素原料药，其相对口服生物利用度提高至 5.50 倍。相较于原料药，Dex-Iso/Zein-NPs 可显著降低大鼠踝关节肿胀度及 TNF-α、IL-1β、COX-2 水平（P＜0.01），作用优于物理混合物；HE 染色提示纳米粒可减轻滑膜炎症细胞浸润与组织病理损伤，药效与秋水仙碱组相近。**结论** Dex-Iso/Zein-NPs 可显著提高异甘草素表观溶解度、体外释放度及口服生物利用度，增强其对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用。

关键词：异甘草素；玉米醇溶蛋白；葡聚糖；纳米粒；生物利用度；急性痛风性关节炎

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 6376(2026)11 - 3968 - 13

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.11.014

Dextran modified isoliquiritigenin/zein nanoparticles: Preparation, oral pharmacokinetics and ameliorative effect on acute gouty arthritis in rats

WANG Ming[1], GUO Yali[1], WU Xinhui[1], LI Yan[1], RU Qingjie[2], CUI Xiaoge[1]

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China
2. The Second People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou 451191, China

Abstract: Objective To prepare dextran-modified isoliquiritigenin /zein nanoparticles (Dex-Iso/Zein-NPs) and evaluate their oral pharmacokinetics in rats as well as their therapeutic effects on acute gouty arthritis. **Methods** The formulation process of Dex-Iso/Zein-NPs was optimized using single-factor experiments combined with the Box-Behnken response surface methodology. Transmission electron microscopy (TEM) was used to characterize the morphology of the nanoparticles, while X-ray powder diffraction (XRPD) analyzed the crystalline state of isoliquiritigenin. The apparent solubility and in vitro drug release profiles of the nanoparticles were determined, along with evaluation of powder stability during storage. SD rats were orally administered with pure isoliquiritigenin, a physical mixture, or Dex-Iso/Zein-NPs; plasma drug concentrations were measured by HPLC to calculate the relative oral bioavailability of the physical mixture and Dex-Iso/Zein-NPs. An acute gouty arthritis model in rats was established via intra-articular injection of sodium urate crystals into the ankle joint. The effects of isoliquiritigenin, the physical mixture, and Dex-Iso/Zein-NPs on

收稿日期：2026-05-05

基金项目：河南省科技攻关项目（232102310384）

作者简介：王 酩（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

ankle joint swelling, tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), and cyclooxygenase-2 (COX-2) levels were compared. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to assess histopathological changes in synovial tissues. **Results** The optimal formulation of Dex-Iso/Zein-NPs was achieved at a Zein-to- isoliquiritigenin mass ratio of 10.90∶1.00, an anti-solvent-to-solvent volume ratio of 3.15∶1.00, and a dextran concentration of 2.4 $g·L^{-1}$. The resulting nanoparticles exhibited an encapsulation efficiency of (83.94 ± 0.73)%, drug loading of (5.69 ± 0.09)%, particle size of (181.22 ± 6.14) nm, and zeta potential of (−30.84 ± 1.09) mV. The nanoparticles were nearly spherical, and isoliquiritigenin existed in an amorphous form within them. Dex-Iso/Zein-NPs increased the apparent solubility of isoliquiritigenin by 34.17-fold, with a cumulative release rate reaching 88.10% over 18 hours, and enhanced its relative oral bioavailability by 5.50-fold. Compared to the pure drug, Dex-Iso/Zein-NPs significantly reduced ankle joint swelling and levels of TNF-α, IL-1β, and COX-2 in rats ($P < 0.01$), showing superior efficacy to the physical mixture. HE staining revealed that the nanoparticles alleviated synovial tissue inflammatory cell infiltration and tissue damage, with therapeutic effects comparable to those of colchicine. **Conclusion** Dex-Iso/Zein-NPs significantly improved the solubility, *in vitro* release, and oral bioavailability of isoliquiritigenin, thereby enhancing its therapeutic effect on acute gouty arthritis in rats.

Key words: isoliquiritigenin; zein; dextran; nanoparticles; bioavailability; acute gouty arthritis

急性痛风性关节炎是由尿酸钠晶体在关节及周围组织沉积而引发的一种代谢免疫类疾病，可造成关节活动性炎症、肿胀、剧烈疼痛，其发病率呈逐年上升趋势[1]。临床上常用治疗急性痛风性关节炎药物主要有糖皮质激素、非甾体抗炎药、秋水仙碱等，虽可改善症状，减少患者疼痛，但常会引发胃肠道、心血管等相关的不良反应[1]。中医药治疗急性痛风性关节炎具有标本兼顾、多靶点调控、用药相对安全等优势[2]，在长期临床实践中得到了广泛认可。异甘草素（Iso）属于多酚黄酮类成分，可从红血藤、甘草、黄芪等中药中提取得到[3]，具有明确的抗炎活性，现有研究证实其可用于急性痛风性关节炎的治疗[4-5]。据文献报道[6]，Iso 在纯化水及模拟胃肠液中溶解度均低于 5.0 $μg·mL^{-1}$，属于生物药剂学分类系统中 II 类药物，较强的疏水性导致溶出度极低。Iso 受胃肠道 pH 值、消化酶作用发生降解[6]，体内稳定性差，且受外排蛋白的影响，进一步限制药物体内吸收[7]。因此，需要借助新制剂技术来提高 Iso 生物利用度[8-9]。目前已有自微乳[5]、纳米复合物[6]、纳米混悬剂[10]等研究报道，但纳米复合物体内稳定性不足，药物与载体易重新解离；自微乳处方工艺复杂，大规模生产难度较高，且表面活性剂含量较高，易刺激胃肠道；纳米混悬剂由于无载体保护作用，可能会加剧药物在胃肠道中降解，从而影响促吸收程度。因此有必要构建一种不含表面活性剂、结构稳定性高、处方组成简单的新型给药系统[11]，为 Iso 研发提供新思路。

玉米醇溶蛋白（Zein）是玉米胚乳中同时富含亲水性和疏水性氨基酸的一种蛋白质，在水相中溶解后可通过自组装形成疏水基团向内、亲水基团朝外的纳米聚集体[12]；其中疏水腔提供了载药空间，有助于提高难溶性药物的分散性及体内稳定性。Zein 生物相容性好，廉价易得，极大降低了研发成本，因而成为难溶性药物理想的递送载体[13]。但 Zein 自组装形成纳米粒的稳定性不高，药物易泄漏，包封率较低，进而影响所载药物体内吸收程度及药效。葡聚糖（Dex）同样具有较好生物相容性及安全性，在水相中溶解后表面携带负电荷[14]；而 Zein 在弱酸性介质中携带正电荷，因此 Dex 易吸附在 Zein 纳米聚集体表面，从而改善单一 Zein 纳米粒稳定性差、包封率低的问题[15]，且制备过程无需使用表面活性剂，简化了处方，更利于临床推广。本研究以 Zein 和 Dex 作为 Iso 递药载体，通过自组装法制备葡聚糖修饰异甘草素/玉米醇溶蛋白纳米粒（Dex-Iso/Zein-NPs），采用单因素结合 Box-Behnken 设计-效应面（BBD-RSM）法优化 Dex-Iso/Zein-NPs 处方工艺，并考察其对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用，为后续研究奠定基础。

1　材料

1.1　仪器

HJ-4A 型磁力搅拌器（金坛区西城新瑞仪器厂）；MSE125P-CE 型电子分析天平（瑞士 Sartorius 仪器公司）；ALX 型高速离心机（武汉塞维尔生物科技有限公司）；EYELA 型旋转蒸发仪（南京惠恒科学仪器有限公司）；1200 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；JEM-2100 透射电子显微镜（日本电子株式会社）；DW-86L26 型超低温冰箱（青岛海尔股份有限公司）；WLP-208 型粒度测定仪（辽宁丹东华宇仪器有限公司）；X-6100 型 X 粉末衍射仪（日本岛津公司）；4000FD 型冷冻干燥机（上海比朗

仪器制造有限公司）；SOTAX 型溶出仪（瑞士 SOTAX 公司）；GSJ100 恒温恒湿箱（上海苏盈试验仪器有限公司）；Multiskan FC 型酶标仪（美国 Thermo 公司）；荧光显微镜（德国 Carl Zeiss 公司）。

1.2 材料

对照品 Iso（批号 C03A8Q41092，质量分数 99.0%）、秋水仙碱（批号 S12O8C45499，质量分数 98.5%）、Zein（批号 S12025）均购自上海源叶生物科技有限公司；乙酰苯胺（批号 250701，质量分数 99.2%，深圳子科生物科技有限公司）；Iso 原料药（批号 230422，质量分数 97.0%，湖北萃园生物科技有限公司）；Dex（批号 240225，河北利华生物科技有限公司）；尿酸钠（批号 C14461966，质量分数 99.0%，上海麦克林生化科技有限公司）；肿瘤坏死因子-α（TNF-α，批号 JL1320）、白细胞介素-1β（IL-1β，批号 JL20896）和环氧化酶-2（COX-2，批号 JL21044）试剂盒购自江莱生物科技有限公司。

1.3 动物

清洁级 SD 大鼠购自河南省动物实验中心，生产许可证号 SCXK（豫）2022-0001，体质量 180～200 g。本实验经郑州健康学院审批，动物伦理批准号 2023-SQLL-EC-20230915-1007-0000076。

2 方法与结果

2.1 Dex-Iso/Zein-NPs 的制备

取处方量的 Zein 和 50 mg Iso 溶于体积为 20 mL、体积分数为 80%乙醇，作为溶剂相。取处方量 Dex 溶于 pH 4.0 磷酸盐缓冲液（PBS），取适当体积作为反溶剂相，溶剂相和反溶剂相均经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。将溶剂相缓慢滴加至反溶剂相，在 25 ℃室温环境中以 600 r·min^{-1} 磁力搅拌 3 h，45 ℃下减压旋蒸 30 min 至无醇味，参考原始反溶剂相体积补加纯化水即得 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液。使用 Zein 和 Dex 制备阴性样品。

2.2 Iso 含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 采用 Diamonsil C_{18}（150 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，流动相为乙腈-水（65∶35），体积流量 1.0 mL·min^{-1}，进样量 10 μL，检测波长 372 nm，柱温 35 ℃。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 Iso 适量，用乙腈配制成质量浓度为 200 μg·mL^{-1} 的对照品储备液备用。

2.2.3 Dex-Iso/Zein-NPs 和阴性样品溶液的制备 精密吸取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液 1 mL 至 50 mL 量瓶中，加乙醇稀释并定容，250 W 超声 10 min，此时 Zein 沉于底部。将混悬液以 10 000 r·min^{-1} 离心 6 min，精密取 2 mL 上清液至 10 mL 量瓶中，加乙腈-水混合溶剂（65∶35）稀释定容，摇匀即得。取阴性样品同法制备阴性样品溶液。

2.2.4 专属性考察 取 Dex-Iso/Zein-NPs、阴性样品和质量浓度为 1.0 μg·mL^{-1} 的 Iso 对照品溶液分别进样测定，结果见图 1，Iso 色谱峰专属性良好。

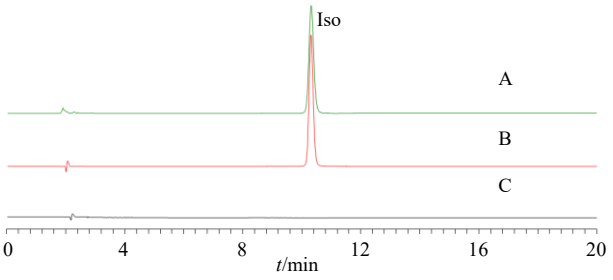


图 1 Dex-Iso/Zein-NPs (A)、Iso 对照品 (B) 和阴性样品 (C) 溶液的 HPLC 色谱图

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

2.2.5 线性关系考察 精密吸取 Iso 对照品储备液适量，采用乙腈-水（65∶35）稀释成质量浓度分别为 10.00、5.00、2.50、1.00、0.50、0.05 μg·mL^{-1} 的对照品溶液，分别按“2.2.1”项下方法检测。以 Iso 质量浓度（X）与峰面积（Y）回归，得标准曲线方程 Y=24.115 6 X+0.090 4，r=0. 999 8，线性范围 0.05～10.00 μg·mL^{-1}。

2.2.6 精密度考察 取质量浓度分别为 10.00、2.50、0.05 μg·mL^{-1} 的 Iso 对照品溶液，分别测定 6 次，峰面积 RSD 分别为 0.40%、0.22%、0.58%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 将 Dex-Iso/Zein-NPs 供试品溶液置于室温，于 0、2、4、6、12、24 h 测定 Iso 峰面积，其 RSD 值为 0.77%（n=6），表明供试品溶液稳定性良好。

2.2.8 重复性考察 取 1 份 Dex-Iso/Zein-NPs 样品。按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，分别测定 Iso 含量，其 RSD 为 1.34%（n=6），表明方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率考察 精密取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液 0.5 mL 置于 50 mL 量瓶中，共 9 份，分成 3 组。根据 Iso 初始含量分别加入初始含量 50%（低）、100%（中）、150%（高）的 Iso 对照品，分别制备成供试品溶液，测定 Iso 峰面积，使用随行标准曲线计算 Iso 总含量。根据 Iso 初始含量及加入量计

算得低、中、高 3 组 Iso 平均回收率依次为 101.77%、98.94%、100.45%，RSD 依次为 1.14%、0.84%、1.37%（n＝3），表明方法准确度较高。

2.3　主要质量指标的测定

取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液，经 0.45 μm 微孔滤膜滤过除去未包封的游离药物，精密取 2 mL 续滤液至截留相对分子质量为 3 000 的超滤管中，50 W 超声排出气泡，10 000 r·min^{-1} 离心 10 min，超滤管内即为 Dex-Iso/Zein-NPs，使用 80%乙醇提取后测定被包封 Iso 的量（M_1），根据 Iso 总含量（M_0）计算包封率；根据 Iso、Zein、Dex 总质量（M）计算载药量。取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液，于粒度分析仪上测定多分散性指数（PDI）、粒径及 Zeta 电位。

包封率＝M_1/M_0

载药量＝M_1/M

2.4　单因素考察 Dex-Iso/Zein-NPs 处方

2.4.1　Zein 与 Iso 用量比考察　固定 Dex 质量浓度 2.5 g·L^{-1}，反溶剂相与溶剂相体积比 3∶1，考察 Zein 与 Iso 用量比对 Dex-Iso/Zein-NPs 包封率、载药量、粒径的影响，结果见表 1。包封率呈先升后降趋势；Zein 比例较低时，部分 Iso 未被完全包载，包封率较低；Zein 比例过高则 Dex 相对不足，影响了 Dex-Iso/Zein-NPs 表面 Dex 的修饰量[16]，药物易泄漏。载药量持续降低，说明 Zein 与 Iso 用量比对载药量影响较大，需确保包封率基础上降低 Zein 用量。Dex-Iso/Zein-NPs 粒径呈先变小后增大趋势，可能是 Zein 与 Iso 用量比较低时过多的 Iso 吸附在 Dex-Iso/Zein-NPs 表面，造成粒径偏大；但用量比过高时 Dex-Iso/Zein-NPs 相互聚集概率增加，导致粒径增长。《中国药典》2025 年版四部规定，微粒制剂包封率不得低于 80%，兼顾到包封率、载药量及粒径，故后续以 11∶1 为中心对 Zein 与 Iso 用量比 8∶1～14∶1 进行优化。

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

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

Zein 与 Iso 用量比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
5∶1	62.77±0.85	7.49±0.06	261.83±9.12
8∶1	71.28±1.25	6.36±0.04	228.07±4.55
11∶1	82.16±0.93	5.75±0.04	181.03±6.89
14∶1	76.72±1.05	4.36±0.07	188.40±4.16
17∶1	73.46±0.57	3.57±0.07	210.43±3.83

2.4.2　反溶剂相与溶剂相体积比考察　固定 Zein 与 Iso 用量比 11∶1、Dex 质量浓度 2.5 g·L^{-1}，考察反溶剂相与溶剂相体积比对 Dex-Iso/Zein-NPs 包封率、载药量、粒径的影响，结果见表 2。包封率和载药量呈先增加后下降趋势；可能是反溶剂相体积较小时 Dex-Iso/Zein-NPs 表面 Dex 修饰量不足，药物易泄漏；反溶剂相体积过大时体系对 Zein 的溶解能力下降，引发 Zein 析出，进而降低药物包载效率[17]。反溶剂相与溶剂相体积比对 Dex-Iso/Zein-NPs 粒径同样具有较大影响。综合各项指标，后续以 3.0∶1.0 为中心，对反溶剂相与溶剂相体积比 2.5∶1.0～3.5∶1.0 进行优化。

表 2　反溶剂相与溶剂相体积比的影响（$\bar{x}\pm s$，n＝3）

Table 2　Influence of volume ratio between anti-solvent phase to solvent phase（$\bar{x}\pm s$，n＝3）

反溶剂相与溶剂相积比	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
2.0∶1.0	61.82±1.53	4.50±0.06	234.06±7.33
2.5∶1.0	71.55±0.58	5.08±0.07	212.39±7.90
3.0∶1.0	80.57±0.88	5.72±0.05	182.82±6.78
3.5∶1.0	76.03±0.94	5.07±0.05	216.26±5.50
4.0∶1.0	72.58±0.68	4.67±0.06	239.71±5.06

2.4.3　Dex 质量浓度考察　固定 Zein 与 Iso 用量比 11∶1、反溶剂相与溶剂相体积比 3∶1，考察 Dex 质量浓度对 Dex-Iso/Zein-NPs 包封率、载药量、粒径的影响，结果见表 3。随 Dex 质量浓度升高，包封率持续上升，载药量则呈先升高后降低的变化；粒径呈先减小后增大趋势。其原因可能为，适度提高 Dex 质量浓度可使 Dex-Iso/Zein-NPs 结构更致密、稳定性提升[14]，但 Dex 质量浓度过高会增厚纳米粒表面涂层，造成粒径增大。综合包封率、载药量与粒径指标，后续以 2.5 g·L^{-1} 为中心，在 2.0～3.0 g·L^{-1} 进行优化。

2.5　BBD-RSM 法优化 Dex-Iso/Zein-NPs 处方工艺

2.5.1　实验方案及结果　参考单因素结果，以 Zein 与 Iso 用量比（X_1）、反溶剂相与溶剂相体积比（X_2）

表 3　Dex 质量浓度的影响（$\bar{x}\pm s$，n＝3）

Table 3　Influence of Dex mass concentration（$\bar{x}\pm s$，n＝3）

Dex 质量浓度/(g·L^{-1})	包封率/%	载药量/%	粒径/nm
1.5	63.40±1.12	4.72±0.07	239.01±4.80
2.0	73.57±1.07	5.30±0.03	219.01±8.12
2.5	82.71±1.09	5.63±0.07	187.39±7.92
3.0	82.87±0.77	5.36±0.04	208.77±5.48
3.5	83.67±0.70	5.22±0.03	225.62±7.87

及 Dex 质量浓度（X_3）作为主要影响因素，包封率（Y_1）、载药量（Y_2）、粒径（Y_3）为优化指标[17]，本研究使用该 3 个质量指标的总评归一值（OD）进行筛选。Dex-Iso/Zein-NPs 17 个处方组合以及各评价结果见表 4。

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

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

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

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

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

2.5.2 模型拟合及方差分析 使用 Design Expert V11.0 软件建立自变量和因变量 OD 值间的数学关系，拟合 OD 方程为 $OD=0.82-3.64\times10^{-3}X_1+0.08X_2+0.03X_3-0.08X_1X_2-0.15X_1X_3-0.09X_2X_3-0.50X_1^2-0.13X_2^2-0.16X_3^2$，期望使用 X_1、X_2 和 X_3 间的数学关系预测 Dex-Iso/Zein-NPs 的 OD 值。数学模型、各个自变量及其组合、平方和分解项的方差分析结果见表 5。失拟项 $P=0.102\,7$（$P>0.05$），说明干扰因素对数学模型影响可忽略，拟合结果的参考意义较高。模型判定系数 R^2 和调整判定系数 R_{adj}^2 用于衡量数学模型的拟合精准度，数值越接近 1.0 代表数学模型对实验数据的拟合程度越高，本模型 R^2 和 R_{adj}^2 分别为 0.993 0 和 0.984 0，说明构建的模型可用于优化 Dex-Iso/Zein-NPs 处方工艺。数学模型中，X_2、X_1X_3、X_1^2、X_2^2 和 X_3^2 具有极显著性差异（$P<0.01$）。X_3、X_1X_2、X_2X_3 具有显著性差异（$P<0.05$）。

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/(g·L^{-1})	Y_1/%	Y_2/%	Y_3/nm	OD 值
1	11∶1 (0)	3.0∶1.0 (0)	2.5 (0)	81.25	5.57	180.51	0.792
2	14∶1 (1)	3.0∶1.0	2.0 (−1)	72.67	4.39	200.19	0.241
3	11∶1	3.0∶1.0	2.5	83.04	5.66	186.74	0.820
4	14∶1	3.0∶1.0	3.0 (1)	74.91	4.22	194.53	0.000
5	11∶1	2.5∶1.0 (−1)	3.0	75.23	5.31	190.44	0.562
6	11∶1	3.0∶1.0	2.5	82.94	5.58	183.13	0.817
7	11∶1	2.5∶1.0	2.0	69.97	5.67	211.47	0.305
8	14∶1	3.5∶1.0 (1)	2.5	77.65	4.45	241.16	0.182
9	8∶1 (−1)	3.0∶1.0	2.0	68.76	6.44	241.15	0.000
10	11∶1	3.5∶1.0	2.0	78.89	6.07	210.89	0.675
11	11∶1	3.5∶1.0	3.0	77.92	5.57	216.89	0.555
12	14∶1	2.5∶1.0	2.5	72.79	4.36	206.71	0.217
13	8∶1	3.0∶1.0	3.0	74.44	6.01	236.97	0.376
14	11∶1	3.0∶1.0	2.5	84.06	5.70	184.78	0.855
15	11∶1	3.0∶1.0	2.5	81.63	5.59	183.34	0.792
16	8∶1	3.5∶1.0	2.5	75.12	6.22	244.13	0.303
17	8∶1	2.5∶1.0	2.5	71.96	6.27	249.22	0.000

表 5 方差分析结果

Table 5 Variance analysis results

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	1.55	9	0.17	110.32	<0.000 1	X_1^2	1.07	1	1.07	683.32	<0.000 1
X_1	1.06×10^{-4}	1	1.06×10^{-4}	0.07	0.801 9	X_2^2	0.08	1	0.08	48.07	0.000 2
X_2	0.05	1	0.05	32.81	0.000 7	X_3^2	0.10	1	0.10	66.61	<0.000 1
X_3	9.32×10^{-3}	1	9.32×10^{-3}	5.96	0.044 7	残差	0.01	7	1.56×10^{-3}	4.11	
X_1X_2	0.03	1	0.03	17.23	0.004 3	失拟项	8.26×10^{-3}	3	2.76×10^{-3}		0.102 7
X_1X_3	0.10	1	0.10	60.94	0.000 1	纯偏差	2.68×10^{-3}	4	6.70×10^{-4}		
X_2X_3	0.04	1	0.04	22.72	0.002 0	总离差	1.56	16			

2.5.3　响应面及处方工艺确定　各因素与 OD 的响应面图，见图 2，变化趋势呈抛物线形态。以 OD 值最大值为优化目标，应用 Design Expert V11.0 软件处理后得到 Dex-Iso/Zein-NPs 最佳处方为：Zein 与 Iso 用量比 10.90∶1.00，反溶剂相与溶剂相体积比 3.15∶1.00，Dex 质量浓度为 2.4 g·L^{-1}，预测 OD 值为 0.870。

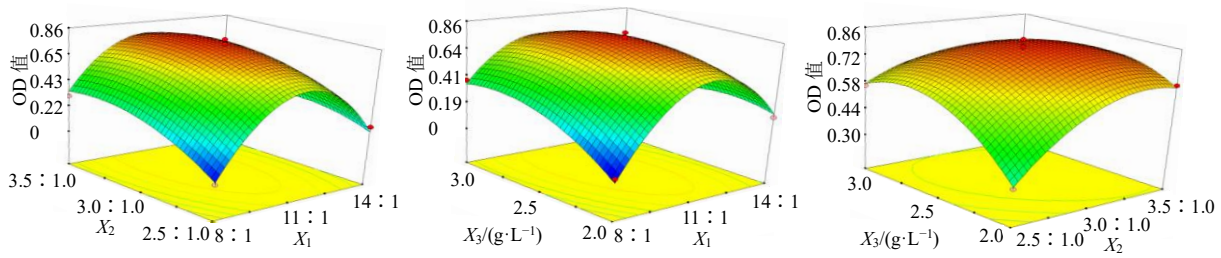


图 2　各因素与 OD 值的响应面图

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

2.5.4　处方验证　制备 3 批 Dex-Iso/Zein-NPs，各批次实验结果见表 6。平均包封率、载药量和粒径分别为（83.94±0.73）%、（5.69±0.09）%和（181.22±6.14）nm。根据预测 OD 值为 0.870，计算实测 OD 值相对偏差为−0.46%，证明实验结果与预测结果相关性良好。粒径服从正态分布特征（图 3）；平均 PDI 值为 0.081±0.005，粒径均一性良好，Zeta 电位为（−30.84±1.09）mV，见图 3。

2.6　TEM 观察 Dex-Iso/Zein-NPs 外貌

取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液涂敷在 400 目铜网上，使用 1.0%磷钨酸钠染色，TEM 拍照结果见图 4。Dex-Iso/Zein-NPs 形貌为类球形，无明显聚集现象。

表 6　实验结果及 OD 值（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Table 6　Experiment results and OD value（$\bar{x}\pm s$，n=3）

批次	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	OD 值
1	84.10±0.95	5.68±0.06	183.77±6.10	0.856
2	83.50±0.52	5.73±0.16	178.47±5.31	0.877
3	84.23±0.73	5.66±0.02	181.43±7.99	0.865

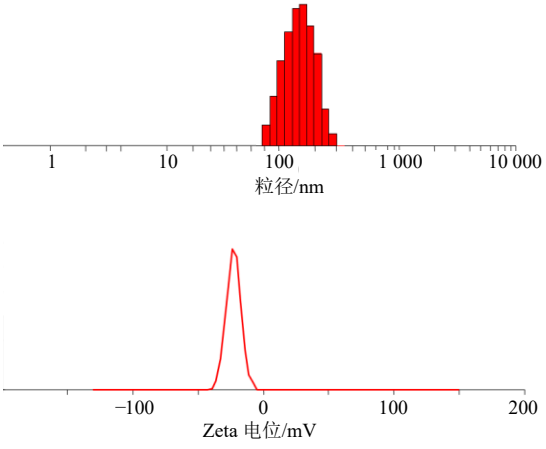


图 3　Dex-Iso/Zein-NPs 粒径分布和 Zeta 电位

Fig. 3　Particle size distribution and Zeta potential of Dex-Iso/Zein-NPs

2.7　Dex-Iso/Zein-NPs 冻干粉末制备及表观溶解度测定

2.7.1　Dex-Iso/Zein-NPs 粉末的制备　取 Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液，使用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，12 500 r·min^{-1} 离心 30 min，弃去上清液。将混悬液于−35 ℃冰箱预冻 3 d，然后于−35 ℃冻干机中冷冻干燥，即得 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末，各样品外观见图 5。Dex-Iso/Zein-NPs 粉末重新分散后的混悬液

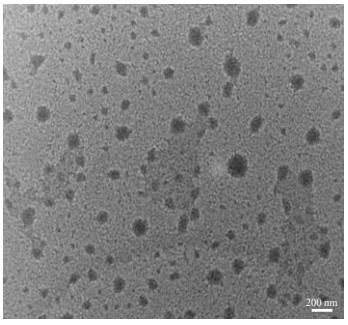


图 4　Dex-Iso/Zein-NPs 的 TEM 图（×14 500）

Fig. 4　TEM image of Dex-Iso/Zein-NPs (×14 500)

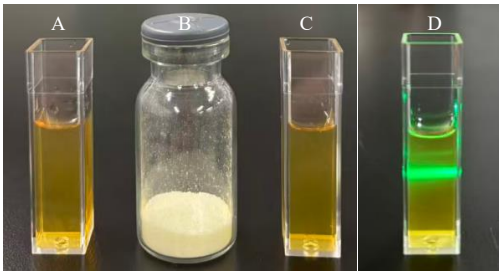
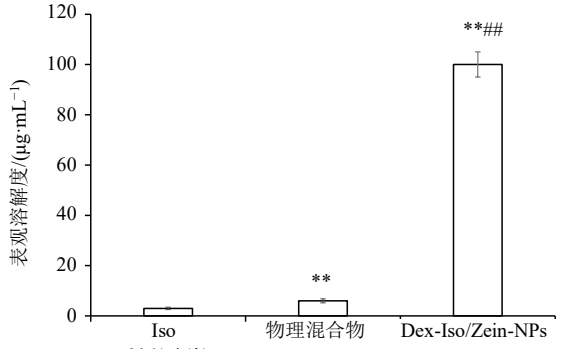


图 5　Dex-Iso/Zein-NPs 混悬液（A）、粉末（B）、纯化水重新分散（C）及其丁达尔现象（D）

Fig. 5　Dex-Iso/Zein-NPs suspension (A), powder (B), redispersed by purified water (C) and its Tyndall effect (D)

具有明显丁达尔效应，说明该混悬液是一种胶体分散体系。Dex-Iso/Zein-NPs 粉末重新分散的平均包封率、载药量、粒径、PDI 值和 Zeta 电位分别为（82.36±0.80）%、（5.60±0.04）%、（185.17±7.02）nm、0.089±0.006 和（−31.11±1.04）mV，各指标与冻干前相比均无显著性变化（P＞0.05）。

2.7.2 表观溶解度分析 取过量 Iso、物理混合物（Iso、Zein、Dex 处方同 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末）和 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末分别置于纯化水中，超声 10 min 使各样品均成过饱和状态，25 ℃水浴中 600 r·min^{-1} 磁力搅拌 3 d，10 000 r·min^{-1} 离心 10 min，测定上清液中 Iso 含量。结果见图 6，物理混合物和 Dex-Iso/Zein-NPs 表观溶解度分别极显著性提高至 2.02、34.17 倍（P＜0.01），且 Dex-Iso/Zein-NPs 表观溶解度极显著性高于物理混合物（P＜0.01）。



与 Iso 比较：$^{**}P$＜0.01；与物理混合物比较：$^{\#\#}P$＜0.01。

$^{**}P$ < 0.01 *vs* Iso; $^{\#\#}P$ < 0.01 *vs* physical mixture.

图 6 各样品表观溶解度测定结果（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Fig. 6 Apparent solubility results of each sample ($\bar{x}\pm s$, n=3)

2.8 X-射线粉末衍射法（XRPD）分析晶型

取 Iso 原料药、Zein、Dex、物理混合物和 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末适量，设置扫描角度（2θ）3°～45°扫描速度 4 °·min^{-1}，对各样品进行 XRPD 测试，结果见图 7。Iso 尖锐晶型衍射峰主要集中在 3°～40°，物理混合物 XRPD 图谱仍可观察到 Iso 特征衍射峰，但出峰位置未发生显著变化。Dex-Iso/Zein-NPs 粉末 XRPD 图谱中 Iso 特征衍射峰消失，说明 Iso 晶型可能发生了转变。

2.9 Dex-Iso/Zein-NPs 释药行为考察

取 Iso 原料药、物理混合物及 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末适量，各组 Iso 投药量均为 10 mg，置于一端封口的透析袋（截留相对分子质量 10 000）内，向袋中加入 pH 2.0 PBS 5 mL，扎紧透析袋另一端，摇匀后放入转篮。设置转速 75 r·min^{-1}，释放介质体积 1 L，介质温度 37 ℃。先以 pH 2.0 PBS 为释放介质，分别于 0.25、0.50、1.00、2.00 h 取样 5 mL，并同步补加等体积同温 pH 2.0 PBS；随后更换为 1 L pH 6.8 PBS 继续开展体外释药实验，于 4、6、8、12、18 h 按相同方式取样与补液。样品经 10 000 r·min^{-1} 离心 6 min 后，取上清进样检测，结果见图 8。随释放时间延长，Iso 原料药组累积释放缓慢，18 h 累积释放率仅 35.87%；物理混合物组 18 h 累积释放率可达 43.27%，推测是混合物中 Zein 与 Dex 提升了 Iso 的表观溶解度所致[17]；Dex-Iso/Zein-NPs 组 18 h 累积释放率达 88.10%，显著高于 Iso 原料药组与物理混合物组。

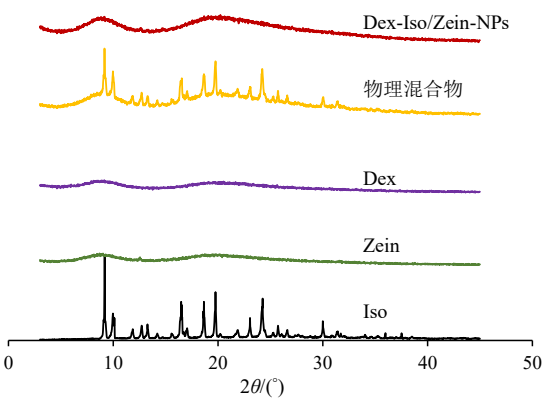


图 7 各样品 XRPD 结果

Fig. 7 XRPD results of each sample

2.10 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末稳定性考察

取 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末密封于自封袋，抽真空后置于−8 ℃冰箱，分别于 0、1、2、3、6 个月取样，根据冻干前混悬液体积，使用相同体积纯化水重新分散后测试包封率、载药量、粒径和 Zeta 电位。

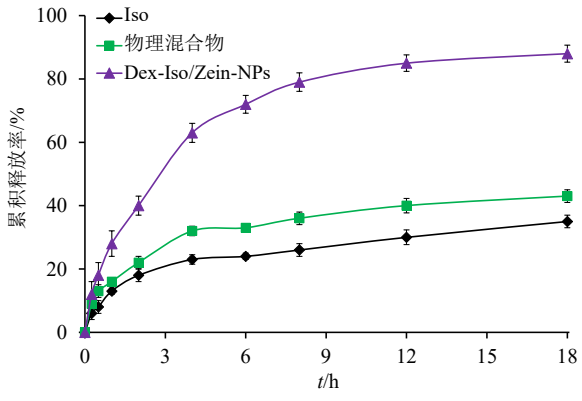


图 8 各样品体外释放曲线（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Fig. 8 *In vitro* release profiles of each group ($\bar{x}\pm s$, n=3)

结果见表 7，Dex-Iso/Zein-NPs 包封率和载药量总体呈下降趋势，但包封率仍未低于 80%；粒径总体呈增长趋势，但 6 个月后粒径仍小于 200 nm，Zeta 电位绝对值仍大于 30 mV，说明该混悬液稳定性较高，证明 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末在密封、低温环境中储存稳定性良好。

表 7　Dex-Iso/Zein-NPs 粉末在 6 个月内各质量指标变化（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Table 7　Changes of quality indicators of Dex-Iso/Zein-NPs powder in 6 months ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

时间/月	包封率/%	载药量/%	粒径/nm	Zeta 电位/mV
0	82.74±1.01	5.57±0.04	188.70±5.41	−30.81±0.96
1	82.78±0.84	5.62±0.07	189.01±7.02	−31.04±0.71
2	82.23±0.99	5.56±0.09	185.34±6.56	−30.77±1.13
3	82.04±0.67	5.51±0.05	190.78±3.96	−30.97±0.81
6	81.61±1.15	5.49±0.07	194.93±4.78	−31.05±1.20

2.11　口服药动学行为考察

2.11.1　色谱条件　参考“2.2.1”项下方法，将进样量提高至 20 μL，其余条件均不变。

2.11.2　给药及取血方案　取 Iso、物理混合物和 Dex-Iso/Zein-NPs 分散于 0.5%的 CMC-Na 水溶液中，临用现配。取 18 只 SD 大鼠随机分为 3 组，ig 给药剂量均为 100 mg·kg^{-1}（以 Iso 计）[10]。分别于 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00 h 于眼眶后静脉丛取血约 250 μL，抗凝化处理后 3 500 r·min^{-1} 离心 2 min 即得。

2.11.3　内标溶液的配制及血浆样品处理　取乙酰苯胺适量，用乙腈配制质量浓度为 1 μg·mL^{-1} 的对照品溶液，作为内标溶液。取乙酰苯胺内标和血浆溶液各 100 μL 至离心管中，使用 1 mL 甲醇提取乙酰苯胺和 Iso，同时使血浆中蛋白等内源性杂质变性沉淀。10 000 r·min^{-1} 离心 5 min，取出上层有机相至离心管中，在 37 ℃水浴上挥干，加入 100 μL 乙腈复溶，即得血浆样品溶液[6]。取空白血浆，除不加乙酰苯胺外同法制备空白血浆溶液。

2.11.4　血浆对照品溶液的配制及线性关系考察　使用空白血浆配制 Iso 质量浓度为 2 500.00、2 000.00、1 250.00、500.00、100.00、33.33 ng·mL^{-1} 的血浆对照品溶液（乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}）。按“2.11.1”项下色谱条件将进样测定，以 Iso 和乙酰苯胺峰面积比（Y）与 Iso 质量浓度（X）进行线性回归，拟合方程 $Y=0.002\,2X-0.055\,6$，$r=0.998\,7$，线性范围 33.33～2 500 ng·mL^{-1}。

2.11.5　专属性考察　取空白血浆溶液、Iso 质量浓度为 33.33 ng·mL^{-1} 血浆对照品溶液（乙酰苯胺质量浓度为 1 μg·mL^{-1}）和 ig Dex-Iso/Zein-NPs 12 h 的血浆样品溶液（乙酰苯胺质量浓度为 1 μg·mL^{-1}），按“2.11.1”项下色谱条件将进样测定。结果见图 9，Iso 和乙酰苯胺色谱峰专属性良好。

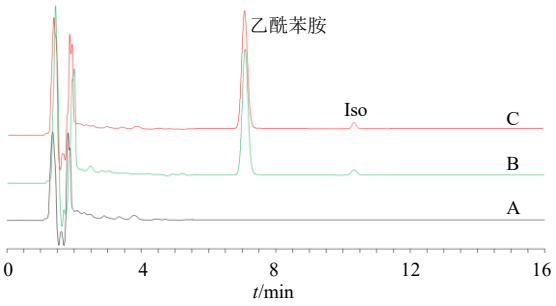


图 9　空白血浆溶液 (A)、血浆样品溶液 (含内标, B) 和血浆对照品溶液 (含内标, C) 的 HPLC 图

Fig. 9　HPLC chromatograms of blank plasma solution (A), plasma sample solution (including internal standard, B) and plasma standard solution (including internal standard, C)

2.11.6　精密度考察　取 Iso 质量浓度分别为 33.33、1 250、2 500 ng·mL^{-1} 血浆对照品溶液（乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}），分别测定 6 次，记录 Iso 和乙酰苯胺峰面积，根据随行标准曲线计算 Iso 质量浓度 RSD 值分别为 7.19%、3.66%、3.01%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

2.11.7　重复性考察　以空白血浆配制 Iso 质量浓度为 1 250 ng·mL^{-1} 质控样品，按“2.11.3”项下方法制备 6 份血浆样品溶液，乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}，按“2.11.1”项下方法进样分析，记录 Iso 和乙酰苯胺峰面积，根据随行标准曲线计算 Iso 含量 RSD 值为 6.64%（$n=6$），表明方法重复性良好。

2.11.8　稳定性考察　取 Iso 质量浓度为 1 250 ng·mL^{-1} 质控样品溶液，乙酰苯胺质量浓度为 1 μg·mL^{-1}，分别于 0、3、6、12、18、24 h 测定 Iso 和乙酰苯胺峰

面积，根据随行标准曲线计算 Iso 含量 RSD 值为 5.18%（n=6），表明样品溶液稳定性良好。

2.11.9 提取回收率和基质效应考察 按“2.11.3”项下方法，用空白血浆配制 Iso 质量浓度分别为 33.33、1 250.00、2 500.00 ng·mL^{-1} 质控样品溶液，乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}，按“2.11.1”项下方法进样测定 Iso 和乙酰苯胺峰面积峰面积（A_1）；参考“2.11.3”项下方法将 100 μL 空白血浆处理成残渣，加入 Iso 和乙酰苯胺对照品，使 Iso 质量浓度为 33.33、1 250、2 500 ng·mL^{-1}，其中乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}，同法进样测定，记录 Iso 和乙酰苯胺峰面积（A_2），计算 Iso 提取回收率（A_1/A_2）分别为 101.36%、103.17%、97.24%，乙酰苯胺提取回收率为 98.05%。使用乙腈配制 Iso 质量浓度分别为 33.33、1 250、2 500 ng·mL^{-1} 对照品溶液，其中乙酰苯胺质量浓度均为 1 μg·mL^{-1}，同法进样测定，记录 Iso 和乙酰苯胺峰面积（A_3），计算 Iso 基质效应（A_2/A_3）分别为 98.70%、104.35%、102.52%，乙酰苯胺基质效应为 99.09%。上述结果均符合生物样品分析方法指导原则要求，提示本方法样品前处理提取效率稳定，血浆基质对 Iso 的检测无显著增强或抑制作用。

2.11.10 药动学结果 各样品药-时曲线见图 10，

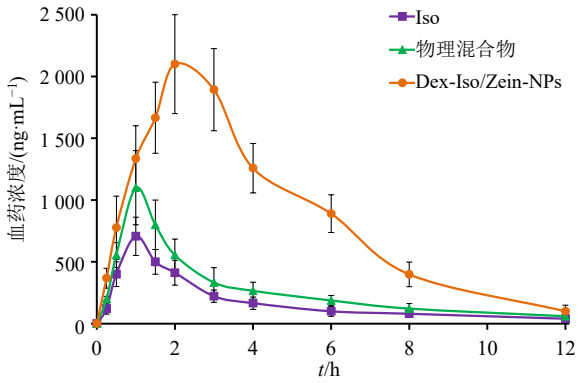


图 10 药-时曲线（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Fig. 10 Plasma concentration-time profiles ($\bar{x}\pm s$, n=6)

采用 DAS 2.0 软件非房室模型计算药动学参数，结果见表 8。与 Iso 相比，物理混合物相对生物利用度提高至 1.87 倍，说明 Zein 和 Dex 有助于增加 Iso 的体内吸收。Dex-Iso/Zein-NPs 中 Iso 药动学行为发生了较大变化，峰浓度（C_{max}）和半衰期（$t_{1/2}$）、药时曲线下面积（$AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$）均具有极显著性变化（P<0.01），达峰时间（t_{max}）显著性延后（P<0.05），Dex-Iso/Zein-NPs 相对吸收生物利用度提高至 5.50 倍。与物理混合物相比，Dex-Iso/Zein-NPs 各药动学参数仍有显著性差异（P<0.05、0.01），说明 Dex-Iso/Zein-NPs 促吸收效果更好。

表 8 各组样品中 Iso 主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Table 8 Main pharmacokinetic parameters of Iso in each sample ($\bar{x}\pm s$, n=6)

参数	单位	Iso	物理混合物	Dex-Iso/Zein-NPs
t_{max}	h	0.95±0.22	1.11±0.26	2.18±0.53$^{*\#}$
$t_{1/2}$	h	2.76±0.40	2.93±0.47	5.32±1.78$^{**\#\#}$
C_{max}	ng·mL^{-1}	705.12±143.65	1 114.88±204.37**	2 096.04±475.81$^{**\#\#}$
$AUC_{0\sim t}$	ng·mL^{-1}·h	2 046.11±337.74	3 834.18±387.01**	11 247.12±1 614.53$^{**\#\#}$
$AUC_{0\sim\infty}$	ng·mL^{-1}·h	2 104.86±350.26	3 905.70±409.85**	12 268.37±1 723.80$^{**\#\#}$

与 Iso 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* Iso; $^{\#}P$ < 0.05 $^{\#\#}P$ < 0.01 *vs* physical mixture.

2.12 Dex-Iso/Zein-NPs 对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用

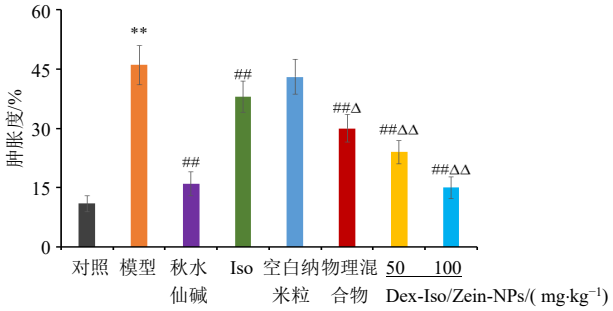
2.12.1 实验方案 取健康 SD 大鼠，采用细绳结扎法测量大鼠造模前右侧踝关节周长（C_0）。造模前给药 7 d 后用 1 mL 注射针沿跟腱内侧以 30～40°角刺入右侧踝关节腔，按剂量 20 mg·kg^{-1} 注射 50 μL 尿酸钠晶体混悬液[18]。造模 12 h 后选择大鼠精神状态不佳、关节及周围组织红肿明显、足爪卷曲、跛行步态特征明显的大鼠作为模型[18-19]。

取 42 只造模成功大鼠，随机分为模型组、秋水仙碱（阳性药，0.3 mg·kg^{-1}）组[20]、Iso（100 mg·kg^{-1}）组[5]、空白纳米粒组（Zein 和 Dex 用量同 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末）、物理混合物组（Iso、Zein 和 Dex 用量同高剂量 Dex-Iso/Zein-NPs 粉末）、Dex-Iso/Zein-NPs 低、高剂量（50、100 mg·kg^{-1}）组，另设置对照组，每组 6 只。除对照组和模型组（给予 0.9%氯化钠溶液）外，其他各给药组均在造模前 7 d 每日 ig 给药 1 次。造模后再连续给药 7 d，末次给药 6 h 后结扎法再次测量大鼠右侧踝关节的周长（C_1），计算肿胀度[20]。实验结束后 ip 1%戊巴比妥

钠麻醉后颈椎脱臼处死，以右侧踝关节为中心上下分别量取 0.5 cm 剪断，收集踝关节内的关节滑液至离心管内，置−20 ℃冰箱保存。同时取出滑膜组织，依次经 75%～100%乙醇脱水，等体积的无水乙醇与二甲苯混合液透明处理，二甲苯浸泡 20 min，浸蜡 3 次包埋，切片，苏木素-伊红（HE）染色，于光学显微镜下观察各组动物滑膜组织的病理情况[21]。

肿胀度＝$(C_1-C_0)/C_0$

2.12.2　肿胀度测定结果　结果见图 11。与对照组相比，模型组踝关节肿胀度显著升高（$P<0.01$），表明尿酸钠诱导的急性痛风性关节炎建模成功。与模型组相比，空白纳米粒组对踝关节肿胀度无明显改善作用（$P>0.05$），其他各给药组踝关节肿胀度均极显著下降（$P<0.01$）。与 Iso 组相比，物理混合物组踝关节肿胀度显著性下降（$P<0.05$），表明物理混合物提高了 Iso 药效；Dex-Iso/Zein-NPs 低、高剂量组踝关节肿胀度均极显著性下降（$P<0.01$），



与对照组比较：$^{**}P<0.01$；与模型组比较：$^{\#\#}P<0.01$；与 Iso 组比较：$^{\Delta}P<0.05$　$^{\Delta\Delta}P<0.01$。

$^{**}P<0.01$ *vs* control group; $^{\#\#}P<0.01$ *vs* model group; $^{\Delta}P<0.05$　$^{\Delta\Delta}P<0.01$ *vs* Iso group.

图 11　大鼠踝关节肿胀度结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Fig. 11　Results of ankle swelling rate of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表明 Dex-Iso/Zein-NPs 药效更强。与秋水仙碱相比，Dex-Iso/Zein-NPs 高剂量组踝关节肿胀度无显著性差异（$P>0.05$），说明 Dex-Iso/Zein-NPs 高剂量组可达到秋水仙碱相似的治疗效果。

2.12.3　关节滑液炎症因子测定结果　ELISA 法检测各组大鼠关节滑液中 TNF-α、IL-1β 和 COX-2 水平，结果见表 9。与对照组相比，模型组关节滑液中炎症因子水平均出现极显著升高（$P<0.01$），表明尿酸钠诱导的急性痛风性关节炎建模成功。与模型组相比，空白纳米粒组炎症因子水平均无显著性差异（$P>0.05$），其他各给药组炎症因子水平均极显著下降（$P<0.01$）。与 Iso 组相比，物理混合物组 TNF-α、COX-2 水平有所下降（$P>0.05$），IL-1β 显著性下降（$P<0.05$），说明辅料在一定程度上可辅助降低炎症因子水平。Dex-Iso/Zein-NPs 低、高剂量组炎症因子水平均显著性或极显著性下降（$P<0.05$、0.01），随着剂量增加炎症因子抑制作用愈明显。与秋水仙碱相比，Dex-Iso/Zein-NPs 高剂量组 IL-1β 和 COX-2 无显著性差异（$P>0.05$），而 TNF-α 显著性下降（$P<0.05$），说明 Dex-Iso/Zein-NPs 高剂量组可达到秋水仙碱相似的改善效果。

2.12.4　HE 染色结果　结果见图 12。对照组大鼠滑膜组织结构完整，无炎症细胞浸润；模型组大鼠滑膜组织排列紊乱，炎症细胞浸润明显（绿色箭头），纤维组织增生（黄色箭头），表明滑膜组织病变严重；秋水仙碱组大鼠滑膜组织排列规则，炎症细胞浸润现象明显减弱，说明秋水仙碱治疗效果明显；Iso 组和物理混合物组在一定程度上改善了滑膜组织病变，但滑膜组织排列紊乱仍较紊乱，炎症细胞浸润现象仍较严重，物理混合物组改善效果明显优于 Iso 组。空白纳米粒组对滑膜组织病变未见明显

表 9　各组大鼠关节滑液中 IL-1β、TNF-α 及 COX-2 水平测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Table 9　Determination results of IL-1β, TNF-α, and COX-2 levels in synovial fluid of joints of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	IL-1β/(μg·L^{-1})	TNF-α/(μg·L^{-1})	COX-2/(μg·L^{-1})
对照	—	0.78±0.14	1.45±0.20	1.75±0.24
模型	—	2.16±0.21**	5.78±0.38**	2.46±1.20**
秋水仙碱	0.3	1.06±0.14$^{\#\#}$	2.69±0.25$^{\#\#}$	1.78±0.16$^{\#\#}$
Iso	100	1.70±0.08$^{\#\#}$	4.26±0.26$^{\#\#}$	2.16±0.20$^{\#\#}$
空白纳米粒	1 400	2.04±0.22	5.33±0.44	2.41±1.19
物理混合物	100＋1 400	1.62±0.10$^{\#\#}$	3.87±0.28$^{\#\#\Delta}$	2.09±0.15$^{\#\#}$
Dex-Iso/Zein-NPs	50	1.45±0.11$^{\#\#\Delta\Delta}$	2.92±0.21$^{\#\#\Delta\Delta}$	1.94±0.17$^{\#\#\Delta}$
	100	1.09±0.09$^{\#\#\Delta\Delta}$	2.29±0.16$^{\#\#\Delta\Delta\&}$	1.73±0.16$^{\#\#\Delta\Delta}$

与对照组比较：$^{**}P<0.01$；与模型组比较：$^{\#\#}P<0.01$；与 Iso 组比较：$^{\Delta}P<0.05$　$^{\Delta\Delta}P<0.01$；与秋水仙碱组比较：$^{\&}P<0.05$。

$^{**}P<0.01$ *vs* control group; $^{\#\#}P<0.01$ *vs* model group; $^{\Delta}P<0.05$　$^{\Delta\Delta}P<0.01$ *vs* Iso group; $^{\&}P<0.05$ *vs* colchicine group.

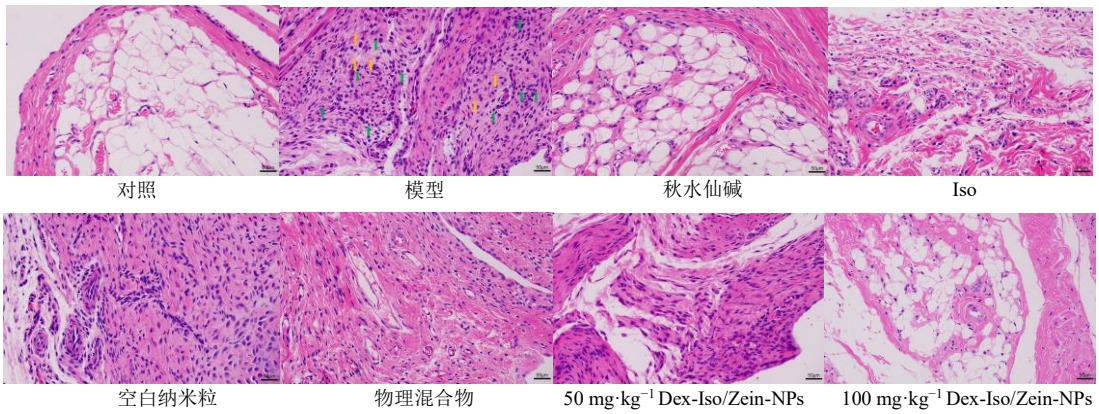


图 12 各组大鼠滑膜组织病理学（×200）

Fig. 12 Synovial tissue pathology of each group of rats (×200)

改善。Dex-Iso/Zein-NPs 低、高剂量组均改善了滑膜组织病变，随着剂量增加改善效果愈加明显。Dex-Iso/Zein-NPs 高剂量组滑膜组织病理情况与阳性组相近，滑膜组织结构趋向完整，炎症细胞浸润现象得到极大缓解。

2.13 统计学分析

数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示，使用 SPSS 22.0 软件单因素方差分析（One-way ANOVA）和 Duncan 多重比较方法进行显著性分析，$P<0.05$ 判定存在显著差异。

3 讨论

Zein 和 Iso 可溶于 80%乙醇，因此选用该体系作为溶剂相；加入反溶剂相时有机相性质发生变化，诱导 Zein 发生自组装行为，Iso 在疏水作用下进入 Zein 疏水性载药空间。将溶剂相滴入反溶剂相后，体系极性发生改变，Zein 因溶解度下降发生自组装，包裹 Iso 形成纳米粒，后续减压旋蒸去除体系中残留乙醇。但此时纳米颗粒相互聚集倾向较大，导致粒径急剧增长，甚至发生沉淀。Zein 与 Dex 在 pH 4.0 的 PBS 中表面携带相反电荷，在静电引力作用自组装形成 Dex-Iso/Zein-NPs，在 Dex 提供的静电排斥力、空间位阻等作用下有效阻止了纳米颗粒聚集，提升体系稳定性。该制备过程无需引入表面活性剂，临床推广意义较大。

负载入 Dex-Iso/Zein-NPs 后，Iso 晶型发生了较大变化，转变为无定形状态。一方面 Zein 和 Dex 均是无定形材料，可对 Iso 晶型起到抑制作用；另一方面 Iso 极性基团可能与 Zein 和 Dex 之间发生络合作用[6]，共同诱导晶型转变。该变化为提高 Iso 表观溶解度、释药速度及累积释放率奠定基础[22]，也有助于提高 Iso 生物利用度、增强药效。Dex-Iso/Zein-NPs 释药过程表现出明显的缓释特征，原因在于 Dex-Iso/Zein-NPs 结构的稳定性得到有效提高，而且 Dex-Iso/Zein-NPs 表面具有 Dex 修饰层可阻滞内部 Iso 向外释放，延缓药物释放[13]。该缓释作用能够改变 Iso 体内药动学行为，实现长效治疗作用。

药动学结果显示，物理混合物中 Iso 的 C_{max}、$AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$极显著性增加（$P<0.01$），提示 Zein 和 Dex 增加了 Iso 的体内吸收，其机制可能是 Zein、Dex 增加了 Iso 表观溶解度及释放率，利于体内吸收；Dex 能提高肠道交换物质速率，促进肠道蠕动[23]，增加 Iso 肠道吸收量。Dex-Iso/Zein-NPs 的 t_{max} 显著性延后，主要与 Dex-Iso/Zein-NPs 缓释特点有关，延缓了药物吸收[22]。$t_{1/2}$ 极显著性延长，除了缓释作用外，也可能是 Dex-Iso/Zein-NPs 结构稳定性较高，降低了消化酶、胃肠道 pH 值等因素对 Iso 的降解，提升药物后期吸收水平[24]。Dex-Iso/Zein-NPs 促吸收作用更优，物理混合物可将 Iso 相对生物利用度提升至 1.87 倍；而 Dex-Iso/Zein-NPs 不仅提高 Iso 表观溶解度与溶出度、将 Iso 转为无定形态以利于吸收，同时纳米粒粒径更小，可改变 Iso 胃肠道吸收途径[22,25]，降低 Iso 首关效应[8]，进一步提升吸收效率。

Iso ig 给予 100～400 mg·kg^{-1} 时即可对大鼠痛风性关节炎具有改善作用[5,23]，考虑到 Dex-Iso/Zein-NPs 可增加 Iso 体内吸收，为确保实验大鼠安全、规避不良反应，故最终选择 100 mg·kg^{-1} 剂量进行药效学评价；且该剂量下 Iso 原料药血药浓度检测可满足 HPLC 法分析要求。物理混合物在一定程度上增加了 Iso 表观溶解度、释放率及生物利用度，

因而物理混合物可增加 Iso 对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用。Dex-Iso/Zein-NPs 进一步增强了 Iso 药效，主要与 Dex-Iso/Zein-NPs 提高了 Iso 生物利用度有关[25-26]。空白纳米粒本身几乎无抗炎活性，说明 Dex-Iso/Zein-NPs 药效来源于包载的 Iso，排除载体自身作用带来的干扰。

综上，本研究使用植物来源 Zein 和 Dex 构建 Dex-Iso/Zein-NPs，并使用 BBD-RSM 法优化了 Dex-Iso/Zein-NPs 处方工艺，经验证实验确认该制备工艺重复性良好。Dex-Iso/Zein-NPs 粉末在密封、低温环境保存 6 个月时包封率仍大于 80%，表明在该条件储存时稳定性良好。Dex-Iso/Zein-NPs 显著增加了 Iso 生物利用度，增强 Iso 对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用，具备进一步开发价值。后续将围绕制剂毒性、作用机制、联合用药及其对相关并发症的影响开展研究[27-28]，完善相关研究数据。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 张光明, 荚龙, 翟启麟, 等. 玄七健骨片联合美洛昔康治疗膝骨关节炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(8): 2041-2045.
Zhang G M, Jia L, Zhai Q L, et al. Clinical study of Xuanqi Jiangu Tablets combined with meloxicam in treatment of knee osteoarthritis [J]. Drugs Clin, 2025, 40(8): 2041-2045.

[2] 张赛, 余思佳, 陈莉, 等. 基于自噬调控机制探讨中医药防治痛风性关节炎的研究进展 [J]. 中草药, 2026, 57(8): 3223-3239.
Zhang S, Yu S J, Chen L, et al. Research progress on traditional Chinese medicine for prevention and treatment of gouty arthritis based on autophagy regulatory mechanisms [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2026, 57(8): 3223-3239.

[3] 刘晓丹, 刘俊, 李云, 等. 甘草提取物及有效成分抗代谢相关脂肪性肝病的药理作用及机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(3): 642-649.
Liu X D, Liu J, Li Y, et al. Pharmacological effects and mechanisms of licorice extracts and active ingredients in metabolic associated fatty liver disease [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(3): 642-649.

[4] 樊乐, 熊自仁, 袁功武, 等. 异甘草素对骨关节炎的作用及机制的研究进展 [J]. 生物骨科材料与临床研究, 2026, 23(2): 68-72.
Fan L, Xiong Z R, Yuan G W, et al. Research progress on the effects and mechanisms of isoliquiritigenin in osteoarthritis [J]. Orthop Biomech Mater Clin Study, 2026, 23(2): 68-72.

[5] 张康奕. 异甘草素自微乳制剂及药效学研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
Zhang K Y. Preparation of isoliquiritigenin self-microemulsion and its pharmacodynamics [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2020.

[6] 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.

[7] Lee Y K, Chin Y W, Bae J K, et al. Pharmacokinetics of isoliquiritigenin and its metabolites in rats: Low bioavailability is primarily due to the hepatic and intestinal metabolism [J]. Planta Med, 2013, 79(17): 1656-1665.

[8] 李芝颖. 玉米醇溶蛋白-透明质酸-花色苷纳米体系制备及生物利用度研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2025.
Li Z Y. Preparation and bioavailability of zein-hyaluronic acid-anthocyanin nanoparticles [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2025.

[9] 郑妩媚, 谢燕, 范明松, 等. 基于“药辅合一”的香菇多糖-土木香内酯纳米晶制备、药动学及对 H1N1 流感病毒感染小鼠的治疗作用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(12): 3627-3640.
Zheng W M, Xie Y, Fan M S, et al. Preparation, pharmacokinetics and therapeutic effect of H1N1 influenza virus infection in mice of lentinan-alantolactone nanocrystals based on “unification of medicines and excipients” [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(12): 3627-3640.

[10] 刘勇华, 张留超, 郭晓娜. 异甘草素纳米混悬剂的制备及其体内药动学研究 [J]. 中成药, 2022, 44(5): 1379-1385.
Liu Y H, Zhang L C, Guo X N. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of isoliquiritigenin nanosuspensions [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(5): 1379-1385.

[11] 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.

[12] 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.

[13] 闫婧怡, 黄进, 高梓博, 等. 基于反溶剂法的玉米醇溶蛋白-白藜芦醇纳米体系的制备、表征与抗氧化性能研究 [J]. 畜牧与饲料科学, 2025, 46(6): 1-8.

Yan J Y, Huang J, Gao Z B, et al. Study on preparation, characterization, and antioxidant activity of resveratrol-zein nanoparticle systems based on the anti-solvent method [J]. Anim Husb Feed Sci, 2025, 46(6): 1-8.

[14] 高仕奇. 基于葡聚糖的促感染创面愈合水凝胶的设计构建及应用研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2024.
Gao S Q. Research on the design, construction and application of dextran-based hydrogel for infected wound healing [D]. Guilin: Guilin Medical College, 2024.

[15] Albogamy N T S, Aboushoushah S F, Aljoud F, et al. Preparation and characterization of dextran-zein-curcumin nanoconjugate for enhancement of curcumin bioactivity [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2023, 34(14): 1891-1910.

[16] 窦迎港, 党艳艳. 玉米醇溶蛋白-葡聚糖-叶黄素微胶囊的制备及性能研究 [J]. 中国调味品, 2024, 49(12): 200-208.
Dou Y G, Dang Y Y. Study on preparation and properties of zein-dextran-lutein microcapsules [J]. China Condiment, 2024, 49(12): 200-208.

[17] 王肖雲, 李泽运, 王赟, 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.

[18] 范冰冰, 张琪, 应天昊, 等. 痹祺胶囊联合秋水仙碱通过 NLRP3 通路对大鼠急性痛风性关节炎的改善作用 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(11): 2708-2716.
Fan B B, Zhang Q, Ying T H, et al. Biqi Capsules and colchicine combination therapy improve the acute gouty arthritis via regulating NLRP3 pathway [J]. Drugs Clin, 2025, 40(11): 2708-2716.

[19] 曹运, 倪洪岗, 凌珑, 等. 苗药搜山虎对急性痛风性关节炎大鼠的影响及机制分析 [J]. 医学理论与实践, 2025, 38(22): 3790-3793, 3800.
Cao Y, Ni H G, Ling L, et al. Effects and mechanism analysis of Miao medicine Soushanhu on acute gouty arthritis in rats [J]. J Med Theory Pract, 2025, 38(22): 3790-3793, 3800.

[20] 张长江, 漆翔宇, 程勇, 等. 隐丹参酮通过 JAK2/STAT3 轴调控巨噬细胞极化改善大鼠痛风性关节炎 [J]. 天然产物研究与开发, 2026, 38(5): 1040-1049.
Zhang C J, Qi X Y, Cheng Y, et al. Cryptotanshinone improves gouty arthritis in rats by regulating macrophage polarization through the JAK2/STAT3 axis [J]. Nat Prod Res Dev, 2026, 38(5): 1040-1049.

[21] 梁晓伟, 何佳, 高翔, 等. 白头翁皂苷 B_4 栓剂改善大鼠痛风药效学研究 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1466-1474.
Liang X W, He J, Gao X, et al. Pharmacodynamic study of *Pulsatilla* saponin B_4 suppository in treatment of gout in rats [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(7): 1466-1474.

[22] 房伟, 王奎鹏, 韩德恩. 漆黄素纳米结构脂质载体制备及其体内药动学评价 [J]. 中成药, 2025, 47(6): 1796-1804.
Fang W, Wang K P, Han D E. Preparation of fisetin-loaded nanostructured lipid carriers and evaluation of their *in vivo* pharmacokinetics [J]. Chin Tradit Pat Med, 2025, 47(6): 1796-1804.

[23] 任广慧. 异甘草素-β-环糊精包合物对II型胶原蛋白诱导的类风湿性关节炎大鼠的影响 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2012.
Ren G H. The effects of ISL-β-CD complex on the RA induced by type II collagen in rats [D]. Yinchuan: Ningxia Medical University, 2012.

[24] 刘懿航, 耿洁, 刘利平, 等. β-葡聚糖调节肠道菌群健康效应机制及构效关系研究进展 [J]. 食品科学, 2025, 46(24): 352-360.
Liu Y H, Geng J, Liu L P, et al. Research progress on the mechanism and structure-activity relationship of β-glucans in regulating the health effects of gut microbiota [J]. Food Sci, 2025, 46(24): 352-360.

[25] 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.
Wang M, Zhang P C, Fan G J, et al. Apigenin loaded by corn peptide nanoparticles: Preparation, oral pharmacokinetics and therapeutic effects on hypertensive rats [J]. Drug Eval Res, 2026, 49(2): 603-616.

[26] 刘艳菊, 闫晓宇, 王永飞, 等. 聚乙二醇修饰大黄素/大黄酸脂质体温敏凝胶的制备、表征及对溃疡性结肠炎的治疗作用 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 5006-5018.
Liu Y J, Yan X Y, Wang Y F, et al. Preparation, characteration and therapeutic effects on ulcerative colitis of PEGylated emodin/rhein-liposomes thermosensitive gel [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(14): 5006-5018.

[27] 谢凤华, 郑建平, 李嘉毅. 四妙方联合化学药治疗痛风的研究进展 [J]. 解放军药学学报, 2024, 40(3): 289-293.
Xie F H, Zheng J P, Li J Y. Research progress in pharmacological action and drug combination of simiaofang in the treatment of gout [J]. Pharm J Chin PLA, 2024, 40(3): 289-293.

[28] 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 Tables on hyperuricemia [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(7): 1595-1603.

[责任编辑 孙英杰]