

# 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

郭亚利<sup>1</sup>, 董晓函<sup>2</sup>, 李阳杰<sup>3\*</sup>

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 郑州工业应用技术学院, 河南 郑州 450041

3. 新疆科技学院, 新疆 库尔勒 841010

**摘要:** **目的** 使用茶皂素作为稳定剂制备金合欢素纳米混悬剂 (Ts-Aca-NPs), 考察口服相对吸收生物利用度和对高脂血症模型大鼠的治疗作用。**方法** 高压均质法制备 Ts-Aca-NPs。选择茶皂素质量浓度、均质压力和均质次数为主要影响因素, 单因素结合 Box-Behnken 设计-效应面法 (BBD-RSM) 优化 Ts-Aca-NPs 处方工艺。测定 Ts-Aca-NPs 粒径, 多分散指数 (PDI) 值及  $\zeta$  电位, 扫描电镜 (SEM) 观察 Ts-Aca-NPs 微观形貌, X 射线粉末衍射法 (XRPD) 分析晶型, 透析法考察 Ts-Aca-NPs 冻干粉在 pH 2.0、pH 6.8 磷酸盐缓冲液及水中的释药行为。ig 给予大鼠金合欢素和 Ts-Aca-NPs ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 以金合欢素计), 测定血药浓度, 考察口服相对吸收生物利用度。建立大鼠高脂血症模型, 考察 Ts-Aca-NPs 对高脂血症大鼠体质量、肝系数以及血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度胆固醇 (LDL-C)、高密度胆固醇 (HDL-C)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 及丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 的影响。**结果** Ts-Aca-NPs 最佳处方工艺: 茶皂素质量分数为 0.13%, 均质压力为 95 MPa, 均质次数为 10 次。Ts-Aca-NPs 平均粒径为  $(301.81 \pm 4.74) \text{ nm}$ , PDI 值为  $0.103 \pm 0.003$ ,  $\zeta$  电位为  $(-23.17 \pm 1.19) \text{ mV}$ 。Ts-Aca-NPs 形貌为不规则的纳米颗粒, 金合欢素在 Ts-Aca-NPs 冻干粉以晶态存在, 结晶度有所下降。Ts-Aca-NPs 极大提高了金合欢素在不同 pH 磷酸盐缓冲液中的溶解度, Ts-Aca-NPs 在 pH 2.0、pH 6.8 磷酸盐缓冲液及水中 12 h 累积溶出度均大于 90%。与金合欢素比较, Ts-Aca-NPs 半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 延长至  $(3.09 \pm 0.42) \text{ h}$ ,  $\text{AUC}_{0-t}$  增加至  $(1294.81 \pm 243.06) \text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 相对口服吸收生物利用度提高至 6.03 倍。与模型组比较, Ts-Aca-NPs 高剂量组 ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 体质量、肝系数、TC、TG、LDL-C、ALT 和 AST 均显著性下降 ( $P < 0.05, 0.01$ ), HDL-C 显著性升高 ( $P < 0.05$ ), 且治疗作用明显优于金合欢素原料药组 ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。**结论** Ts-Aca-NPs 极大提高了金合欢素的溶解度及溶出度, 有效提高了金合欢素生物利用度及调血脂作用。

**关键词:** 金合欢素; 茶皂素; 纳米混悬剂; Box-Behnken 设计-效应面法; 生物利用度; 调血脂作用

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)08-2233-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.08.017

## Preparation, pharmacokinetics and hypolipidemic effects of tea saponin-acacetin nanosuspensions based on “combined drug-excipient”

GUO Yali<sup>1</sup>, DONG Xiaohan<sup>2</sup>, LI Yangjie<sup>3</sup>

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Zhengzhou Institute of Technology, Zhengzhou 450041, China

3. Xinjiang University of Science & Technology, Kuerle 841010, China

**Abstract: Objective** To prepare tea saponin-acacetin nanosuspensions (Ts-Aca-NPs) using tea saponin as stabilizer, and investigate its relative oral bioavailability and therapeutic effects on hyperlipidemia model rats. **Methods** High pressure homogenization method was used to prepare Ts-Aca-NPs. The concentration of tea saponin, homogenization pressure, and homogenization times were selected as the main influencing factors, single factor experiments combined with Box-Behnken response surface design method (BBD-RSM) were used to optimize the optimal prescription process of Ts-Aca-NPs. Particle size, PDI value and  $\zeta$  potential of Ts-Aca-NPs were

收稿日期: 2024-12-07

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目计划 (23B310010); 新疆科技学院科研基金创新团队专项 (2024-KYTD02); 郑州市澍青医学高等专科学校青年骨干教师 (2022qngg04)

作者简介: 郭亚利 (1991—), 女, 硕士研究生, 讲师, 从事中医药及相关研究。E-mail: 773407035@qq.com

\*通信作者: 李阳杰 (1986—), 男, 副教授, 从事中药化学与质量标准研究。E-mail: 1053857029@qq.com

determined. Microscopic morphology was observed by scanning electron microscope (SEM). Crystal form was analyzed by X-ray powder diffraction (XRPD). Dialysis method was used to investigate the drug release behavior of Ts-Aca-NPs in pH 2.0, pH 6.8 phosphate buffer and water. Acacetin and Ts-Aca-NPs were administered orally ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , calculated by acacetin), blood drug concentration was determined, and the relative oral bioavailability was investigated. hyperlipidemia rats model was established, and studied the effects of Ts-Aca-NPs on the body weight, liver coefficient, total cholesterol (TC), triglyides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). **Results** Optimal prescription process of Ts-Aca-NPs: the concentration of tea saponin was 0.13%, homogenization pressure was 95 Mpa, and homogenization times was ten. Particle size, PDI and  $\zeta$  potential of Ts-Aca-NPs were  $(301.81 \pm 4.74) \text{ nm}$ ,  $0.103 \pm 0.003$  and  $(-23.17 \pm 1.19) \text{ mV}$ , respectively. The morphology of Ts-Aca-NPs was irregular nanoparticles. Acacetin existed as crystalline form in the lyophilized powder of Ts-Aca-NPs, and the crystallinity of acacetin decreased slightly. Ts-Aca-NPs significantly increased the solubility of acacetin in different pH phosphate buffer, and the cumulative dissolution of Ts-Aca-NPs in pH 2.0, pH 6.8 phosphate buffer and water were more than 90% in 12 h. Compared with acacetin, The  $t_{1/2}$  of Ts-Aca-NPs was enhanced to  $(3.09 \pm 0.42) \text{ h}$ ,  $\text{AUC}_{0-7}$  was increased to  $(1\ 294.81 \pm 243.06) \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$ , and relative oral bioavailability was enhanced to 6.03 times. Compared with model group, high-dose of Ts-Aca-NPs ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) could effectively decreased body weight, liver coefficient, TC, TG, LDL-C, ALT and AST ( $P < 0.05, 0.01$ ), and significantly increased HDL-C ( $P < 0.05$ ), and its therapeutic effects was better than that of acacetin ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). **Conclusion** Ts-Aca-NPs significantly improved the solubility and dissolution of acacetin, and effectively promoted bioavailability and hypolipidemic effects of acacetin *in vivo*.

**Key words:** acacetin; tea saponin; nanosuspensions; Box-Behnken response surface design method; bioavailability, hypolipidemic effects

随着生活水平的提高,高血脂、肥胖、脂肪肝等糖脂代谢性疾病的患病率迅速增加,且高脂血症患者的年龄呈年轻化趋势。临床上常用的调脂药物常存在肝毒性、胃肠道刺激等不良反应,因此,不良反应小且疗效显著的中药药效成分成为药物开发的首选方向。

金合欢素(Aca)为天然黄酮类化合物,可从金合欢树、菊花、大蓟、洋槐树等植物提取得到,研究显示 Aca 具有调血脂、调节血糖异常、抗动脉粥样硬化等活性<sup>[1]</sup>。洪毅祥<sup>[2]</sup>按  $900 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  连续对小鼠 ig Aca 2 周,未发现小鼠死亡情况,表明其具有良好的使用安全性,因此在医疗领域具有较高的应用价值与开发潜力。Aca 在 pH 2.0~9.0 水相中溶解度仅为  $7.50\sim 32.06 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ <sup>[3]</sup>,油水分配系数为  $0.14\sim 0.80$ <sup>[3-4]</sup>,说明其亲水性与亲脂性均较差,属于生物药剂学分类系统中的 IV 类药物。同时, Aca 的溶出速率和溶出度较低,大鼠体内口服生物利用度仅为 2.34%<sup>[5]</sup>,严重制约了其药效的发挥。解决 Aca 口服吸收较差问题,首要任务是改善其溶解度、溶出速率和溶出度等缺陷。目前针对 Aca 的制剂开发研究有磷脂复合物、脂质纳米粒、二氧化硅纳米粒等<sup>[4,6]</sup>,但磷脂复合物由于黏性大<sup>[4]</sup>,导致四氢呋喃等有机溶剂极易残留于磷脂复合物内部,严重影响制剂安全性;脂质纳米粒存在载药量低,制备处方工艺较复杂等问题;二氧化硅纳米粒存在体内蓄

积风险<sup>[7]</sup>,安全性有待验证。

纳米混悬剂(NPs)可极大改善难溶性药物溶解度、溶出速率、溶出度及生物利用度,具有载药量高、制备工艺简单、质量可控等优势<sup>[8-10]</sup>。纳米混悬剂通常采用化学合成的表面活性剂或非离子型聚合物作为稳定剂<sup>[10-11]</sup>,但表面活性剂存在溶血、毒性等安全隐患;非离子型聚合物稳定效果不佳,往往需要联合其他稳定剂才能维持纳米混悬剂的体系稳定<sup>[11]</sup>,因而增加了处方辅料种类及复杂性。天然来源的表面活性剂安全性良好,可避免传统化学合成类稳定剂潜在的安全风险。五环三萜皂苷类化合物是天然表面活性剂的重要来源,如三七总皂苷、甘草素等<sup>[12]</sup>。茶皂素(Ts)主要从山茶科等植物中提取得到,也属于五环三萜皂苷类化合物<sup>[13-14]</sup>,具有保护胃肠道、抗炎、调血脂等作用<sup>[14]</sup>,属于“药辅合一”理论范畴,且体内可被生物降解,安全性良好。Ts 相对分子质量较大,且结构上含电负性的基团,可通过空间位阻、静电排斥及物理吸附等多重机制来维持纳米混悬剂的稳定性<sup>[15]</sup>,但目前鲜见将 Ts 作为稳定剂应用于制备 NPs。

鉴于此,本研究结合 Ts 独特的理化性质和药理活性,运用“药辅合一”理念,以 Ts 作为稳定剂制备 Aca 纳米混悬剂(Ts-Aca-NPs),单因素实验结合 Box-Behnken 设计-效应面法(BBD-RSM)筛选 Ts-Aca-NPs 处方,并进行稳定性、药动学、调血脂等评价,旨在

为 Ts 应用于新型纳米制剂开发研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

U3000 型高效液相色谱仪、Thermo Finnigan LCQ 液质联用仪、Corona Veo 型电喷雾检测器, 美国赛默飞仪器公司; DF-101S 型磁力搅拌器, 郑州东晟仪器设备有限公司; Ti-Lab 型均质机, 上海泰坦科技股份有限公司; JEOL-3010 型扫描电镜 (SEM), 日本 JEOL 公司; MSE 125P-CE 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; Nano-S90 型粒度分析仪, 英国 Malvern 公司; RC1208D 型溶出仪, 常州德杜精密仪器有限公司; D8 型 X 射线粉末衍射仪, 瑞士 BRUKER 公司; FD-1A-50 型冷冻干燥机, 上海贺帆仪器有限公司; WJ-BX 型超低温冰箱, 宁波五嘉仪器设备有限公司; ND300-1 型氮气吹扫仪, 北京佳航博创科技有限公司; RM2016 型病理切片机, 德国 LEICA 公司; CX43 型光学显微镜, 日本 Olympus 公司。

### 1.2 药品与试剂

Aca 原料药 (批号 SRD241024, 质量分数 98%), 西安瑞茂生物科技有限公司; Ts (批号 20231103), 陕西米尔生物科技有限公司; Aca 对照品 (批号 C16H1205, 质量分数 99%), 南京春江生物工程有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30, 批号 20201101), 上海昌昱化工新材料有限公司; 羟丙基甲基纤维素 (HPMC, 批号 20220415), 山东阜盈生物工程有限公司; 泊洛沙姆 188 (P188, 批号 20231206), 武汉荣灿生物科技有限公司; 十二烷基硫酸钠 (SDS, 批号 2211SDS015), 广州捷倍斯生物科技有限公司; 乳糖 (批号 20231107), 镇江市康富生物工程有限公司; 淫羊藿苷对照品 (批号 110737-202017, 质量分数 98.1%), 中国食品药品检定研究院; 阿托伐他汀 (批号 MB1021), 大连美仑生物技术有限公司; 高脂饲料 (批号 20230720), 江苏美迪森生物医药有限公司; 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 试剂盒 (批号分别为 AUZ3166、AUZ3178、AUZ3140、AUZ3171、AUZ3187 和 AUZ3180), 美国 Beckman Coulter 公司; 4% 甲醛固定液 (批号 22192875), 武汉博士德生物公司。

### 1.3 动物

清洁级 SD 大鼠, 雌雄各半, 购自河南斯克贝

斯生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK (豫) 2020-0005, 体质量 (180±20) g。本研究经郑州健康学院伦理委员会审核, 严格执行实验动物管理和使用的规定, 实验动物伦理号 DW-202401-6。

## 2 方法与结果

### 2.1 Ts-Aca-NPs 的制备

采用高压均质法制备 Ts-Aca-NPs<sup>[9-11]</sup>。称取处方量的稳定剂溶于 50 mL 蒸馏水, 以 600 r·min<sup>-1</sup> 磁力搅拌溶解至澄清, 得到含稳定剂的水相。取 Aca 原料药 30 mg 加至上述水相, 在一定均质压力下循环均质数次, 置冰浴中冷却, 混悬液经 0.80 μm 微孔滤膜滤过, 补加蒸馏水至 50 mL 即得 Ts-Aca-NPs 混悬液。采用相同方法制备不含 Aca 的混悬剂。

### 2.2 Aca 含量测定

**2.2.1 色谱条件** 采用 Agilent SB C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为 0.2% 甲酸水溶液-乙腈 (45:55); 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 268 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 Aca 对照品 10.00 mg 至 100 mL 量瓶中, 加入乙腈超声溶解, 得质量浓度为 100.00 μg·mL<sup>-1</sup> Aca 对照品储备液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密量取 Ts-Aca-NPs 混悬液 1.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 加 80 mL 乙腈超声溶解, 使用 0.2% 甲酸水溶液-乙腈 (45:55) 定容至刻度线, 摇匀即得 Ts-Aca-NPs 供试品溶液。同法制备不含 Aca 的空白混悬剂溶液。

**2.2.4 线性关系考察** 取“2.2.2”项对照品储备液, 用乙腈稀释配制质量浓度为 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 μg·mL<sup>-1</sup>, 按“2.2.1”项下方法检测, 以 Aca 质量浓度 (X) 对峰面积 (Y) 进行回归, 拟合回归方程:  $Y=26.7894X+1.1423$ ,  $r=0.9999$ , 线性范围 0.05~10.00 μg·mL<sup>-1</sup>。

**2.2.5 专属性考察** 取 Aca 对照品溶液、Ts-Aca-NPs 供试品溶液和空白混悬剂溶液, 分别按“2.2.1”项下条件检测。结果见图 1, Aca 色谱峰未受杂质干扰, 专属性良好。

**2.2.6 精密度考察** 取质量浓度为 0.05、1.00、10.00 μg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液, 分别按“2.2.1”项下条件检测, Aca 峰面积 RSD 分别为 0.89%、0.23% 和 0.26% ( $n=6$ ), 表明仪器精密度良好。

**2.2.7 重复性考察** 取 Ts-Aca-NPs 混悬液, 按“2.2.3”项方法制备 6 份 Ts-Aca-NPs 供试品溶液,

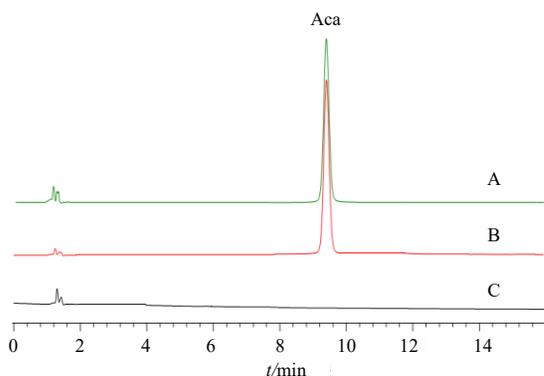


图 1 Ts-Aca-NPs 样品溶液 (A)、Aca 对照品 (B) 和空白混悬剂 (C) 溶液的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of Ts-Aca-NPs sample solution (A), acacetin reference substance (B) and blank suspension (C) solutions

测得 Aca 含量的 RSD 值为 1.48%，表明该法重复性良好。

**2.2.8 稳定性考察** 取 Ts-Aca-NPs 供试品溶液置于室温 (温度为 25 °C，湿度为 55%)，分别于配制 0、4、8、12、18、24 h 进行测定，测得 Aca 质量浓度的 RSD 值为 0.66% ( $n=6$ )，表明 Ts-Aca-NPs 供试品溶液在室温环境中稳定性良好。

**2.2.9 加样回收率考察** 精密量取 9 份 Ts-Aca-NPs 混悬液各 0.5 mL 置 9 个 100 mL 量瓶中，分成低、中、高 3 组。分别按 Aca 含量的 50%、100% 和 150% 加入 Aca 对照品，按“2.2.3”方法制备 Ts-Aca-NPs 供试品溶液后测定 Aca 含量。计算得 Aca 低、中、高回收率分别为 101.27%、98.67% 和 100.91%，RSD 分别为 1.60%、1.92% 和 1.90%，表明该法准确度较高。

### 2.3 粒径、多分散指数 (PDI) 值及 $\zeta$ 电位测定

取 Ts-Aca-NPs 混悬液 0.2 mL 加至 5 mL 蒸馏水中，震荡混匀，取 4 mL 至比色皿中，于粒度分析仪上分别测定 Ts-Aca-NPs 的 PDI 和粒径。另取适量 Ts-Aca-NPs 混悬液至  $\zeta$  电位样品池中，测定 Ts-Aca-NPs 的  $\zeta$  电位。

### 2.4 单因素考察 Ts-Aca-NPs 处方

**2.4.1 稳定剂种类考察** 固定稳定剂质量分数为 0.15%，均质压力为 100 MPa，均质次数为 8 次，按“2.1”项下方法制备 Ts-Aca-NPs，考察稳定剂种类对 Ts-Aca-NPs 粒径、PDI 及  $\zeta$  电位的影响，结果见表 1。

HPMC、SDS、PVP K30、P188 作为稳定剂时 Aca-NPs 粒径均  $>700$  nm，PDI 值均  $>0.3$ ，这是由

表 1 不同稳定剂的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 1 Effects of different types of stabilizers ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

稳定剂	平均粒径/nm	PDI 值	$\zeta$ 电位/mV
HPMC	1 014.19 $\pm$ 85.23	0.649 $\pm$ 0.067	-22.79 $\pm$ 1.09
SDS	742.52 $\pm$ 71.16	0.528 $\pm$ 0.058	-18.74 $\pm$ 0.97
PVP K30	817.87 $\pm$ 66.05	0.496 $\pm$ 0.045	-19.06 $\pm$ 1.05
P188	912.46 $\pm$ 58.94	0.517 $\pm$ 0.041	-14.16 $\pm$ 1.19
Ts	371.69 $\pm$ 30.17	0.113 $\pm$ 0.017	-21.94 $\pm$ 1.33

于各种稳定剂在质量分数较大时才可达到良好的稳定效果<sup>[9-11,16]</sup>，在质量分数仅为 0.15% 时稳定效果较差。Ts 在质量分数为 0.15% 时制得的 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值均相对最小，可能与 Ts 临界胶束浓度较大、多效应稳定机制等因素有关<sup>[15]</sup>，故选择 Ts 作为 Aca-NPs 稳定剂。

**2.4.2 Ts 质量分数考察** 固定均质压力为 100 MPa，均质次数为 8 次，按“2.1”项下方法制备 Ts-Aca-NPs，考察不同 Ts 质量分数对 Ts-Aca-NPs 粒径、PDI 及  $\zeta$  电位的影响。结果见表 2。

表 2 Ts 质量分数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 2 Effects of Ts mass fraction ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Ts 质量分数/%	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
0.05	946.93 $\pm$ 58.90	0.418 $\pm$ 0.037	-14.45 $\pm$ 1.43
0.10	462.75 $\pm$ 51.22	0.247 $\pm$ 0.023	-18.96 $\pm$ 1.29
0.15	355.41 $\pm$ 36.77	0.119 $\pm$ 0.016	-23.27 $\pm$ 1.29
0.20	367.18 $\pm$ 41.86	0.180 $\pm$ 0.028	-22.60 $\pm$ 0.97
0.25	414.82 $\pm$ 45.08	0.224 $\pm$ 0.033	-20.78 $\pm$ 1.35

随着 Ts 质量分数增加 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值呈先变小后增大趋势，可能是 Ts 质量分数较低时稳定效果较差，导致 Ts-Aca-NPs 粒径较大且分布不均匀。Ts 质量分数过高时体系黏度过大，不利于粒径下降，且 Ts-Aca-NPs 表面会吸附过多的 Ts<sup>[9]</sup>，反而导致 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值增大， $\zeta$  电位绝对值下降。可见 Ts 质量分数对 Ts-Aca-NPs 影响较大，当 Ts 质量分数为 0.15% 时 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值相对较小， $\zeta$  电位绝对值相对较大，故后续以质量分数 0.15% 为中心，对 0.10%~0.20% 进行优化。

**2.4.3 均质压力考察** 固定 Ts 质量分数为 0.15%，均质次数为 8 次，按“2.1”项下方法制备 Ts-Aca-NPs，考察不同均质压力对 Ts-Aca-NPs 粒径、PDI 及  $\zeta$  电位的影响。结果见表 3。

Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值随着均质压力的增加均呈先变小后增大趋势，可能是均质压力较小时

表 3 均质压力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 3 Effects of homogeneous pressure ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

均质压力/MPa	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
60	392.75±38.11	0.273±0.020	-20.79±1.20
80	388.23±34.54	0.138±0.018	-23.77±1.02
100	349.60±39.08	0.123±0.021	-24.87±0.97
120	387.41±33.94	0.145±0.019	-23.01±1.13
140	424.87±41.26	0.240±0.028	-19.84±1.02

提供的能量不足, 导致 Ts-Aca-NPs 粒径较大, 且均一性较差<sup>[16]</sup>; 均质压力过大时可能影响 Ts 在 Ts-Aca-NPs 表面的吸附, 稳定性下降, 从而使 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值均明显变大, 同时体系的温度过高, 也会对 Ts-Aca-NPs 稳定性产生不利影响<sup>[16-17]</sup>。表明均质压力对 Ts-Aca-NPs 有较大影响, 当均质压力为 100 MPa 时 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值相对较小,  $\zeta$  电位绝对值相对较大, 故后续以均质压力 100 MPa 为中心, 对 80~120 MPa 进行优化。

**2.4.4 均质次数的考察** 固定 Ts 质量分数为 0.15%, 均质压力为 100 MPa, 按“2.1”项下方法制备 Ts-Aca-NPs, 考察不同均质次数对 Ts-Aca-NPs 粒径、PDI 及  $\zeta$  电位的影响, 结果见表 4。

Ts-Aca-NPs 粒径及 PDI 值随着均质次数的增加呈先下降后增加趋势, 可能是均质次数较少时影响了均质效果, 使 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值较大; 但均质次数过多时反而使 Ts-Aca-NPs 趋向重新聚集, 导致粒径及 PDI 值增大<sup>[17]</sup>, 且  $\zeta$  电位绝对值变

表 4 均质次数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 4 Effects of homogeneous times ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

均质次数	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
5	515.87±56.34	0.309±0.040	-18.99±0.86
8	356.22±40.71	0.130±0.023	-24.01±1.11
10	301.74±34.76	0.113±0.015	-23.96±1.24
12	368.90±37.07	0.165±0.018	-22.14±1.20
15	407.52±40.13	0.224±0.026	-18.43±1.46

低, 体系稳定性下降。表明均质次数对 Ts-Aca-NPs 有较大影响, 当均质次数为 10 次时 Ts-Aca-NPs 粒径和 PDI 值相对较小, 故后续以均质次数 10 次为中心, 对均质次数 8~12 次进行优化。

## 2.5 BBD-RSM 优化 Ts-Aca-NPs 处方工艺

**2.5.1 试验设计及结果** Ts-Aca-NPs 处方工艺考察发现, Ts 质量分数 ( $X_1$ )、均质压力 ( $X_2$ ) 和均质次数 ( $X_3$ ) 影响较大作为自变量, 选择 Ts-Aca-NPs 粒径 ( $Y_1$ ) 和 PDI 值 ( $Y_2$ ) 分别作为因变量, 为获得粒径和 PDI 值均较小的 Ts-Aca-NPs 处方工艺, 以粒径和 PDI 值的总评归一值 (OD) 进行筛选。由于粒径和 PDI 值同等重要, 故两者权重均设置为 0.5。根据 BBD-RSM 进行 3 因素 3 水平共计 17 次实验, 对 Ts-Aca-NPs 处方工艺进行优化, 实验因素水平、设计及结果见表 5。

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

$M_i$ 、 $M_{\max}$  和  $M_{\min}$  分别为粒径、PDI 实测值、最大值和最小值

$$OD = 0.5 \times d_{\min}(Y_1) + 0.5 \times d_{\min}(Y_2)$$

表 5 BBD-RSM 实验因素水平、设计及结果

Table 5 Experimental factors levels, design and results of BBD-RSM

序号	$X_1/\%$	$X_2/\text{MPa}$	$X_3/\text{次}$	$Y_1/\text{nm}$	$Y_2$	OD	序号	$X_1/\%$	$X_2/\text{MPa}$	$X_3/\text{次}$	$Y_1/\text{nm}$	$Y_2$	OD
1	0.10(-1)	100(0)	8(-1)	368.42	0.308	0.157	10	0.15	120	8	351.73	0.174	0.560
2	0.20(1)	120(1)	10(0)	357.34	0.177	0.526	11	0.10	120	10	404.54	0.265	0.104
3	0.15(0)	100	10	307.11	0.101	0.948	12	0.15	120	12	360.89	0.208	0.434
4	0.15	80(-1)	8	380.87	0.208	0.340	13	0.15	100	10	312.57	0.107	0.908
5	0.15	100	10	296.25	0.111	0.976	14	0.10	100	12	353.32	0.216	0.451
6	0.20	100	12(1)	356.64	0.293	0.249	15	0.10	80	10	362.14	0.204	0.438
7	0.15	100	10	304.69	0.114	0.929	16	0.20	100	8	358.56	0.185	0.501
8	0.15	100	10	314.21	0.103	0.910	17	0.20	80	10	377.69	0.196	0.384
9	0.15	80	12	343.52	0.154	0.648							

**2.5.2 模型拟合与方差分析** 使用 Design Expert V11.1.2.0 版本对实验数据进行拟合, 得 OD 值的二次多元回归方程为:  $Y = 0.93 + 0.06 X_1 - 0.02 X_2 + 0.03 X_3 + 0.12 X_1 X_2 - 0.14 X_1 X_3 - 0.11 X_2 X_3 - 0.36 X_1^2 - 0.21$

$X_2^2 - 0.23 X_3^2$ , 由  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  系数绝对值大小可知, 自变量对 OD 值影响顺序为  $X_1 > X_3 > X_2$ 。模型  $R^2$  和  $R_{\text{Adj}}^2$  分别为 0.986 9 和 0.970 1, 说明实际值与模型预测值吻合度较高。方差分析结果见表 6, 模型  $P <$

表 6 方差分析结果

Table 6 Results of variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1.29	9	0.14	58.72	<0.000 1	$X_1^2$	0.56	1	0.56	228.37	<0.000 1
$X_1$	0.03	1	0.03	13.36	0.008 1	$X_2^2$	0.18	1	0.18	74.59	<0.000 1
$X_2$	$4.25 \times 10^{-3}$	1	$4.25 \times 10^{-3}$	1.74	0.228 1	$X_3^2$	0.22	1	0.22	92.25	<0.000 1
$X_3$	$6.29 \times 10^{-3}$	1	$6.29 \times 10^{-3}$	2.58	0.152 0	残差	0.02	7	$2.44 \times 10^{-3}$		
$X_1X_2$	0.06	1	0.06	23.36	0.001 9	失拟项	0.01	3	$4.60 \times 10^{-3}$	5.67	0.063 6
$X_1X_3$	0.07	1	0.07	30.58	0.000 9	纯偏差	$3.25 \times 10^{-3}$	4	$8.12 \times 10^{-4}$		
$X_2X_3$	0.05	1	0.05	19.29	0.003 2	总离差	1.30	16			

0.000 1, 具有极显著性差异, 说明该模型有意义; 失拟项  $P=0.063 6 > 0.05$ , 无显著性差异, 证明构建的数学模型可信度较高。数学模型中  $X_1$ 、 $X_1X_2$ 、 $X_1X_3$ 、 $X_2X_3$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$  均具极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

采用 Design Expert V11.1.2.0 绘制  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  对 OD 值的三维曲面图 (图 2), OD 值随着另外 2 因素增加呈现先下降后增大趋势, 说明 OD 存在最

大值, 采用 Box-Behnken 响应面法优化 Ts-Aca-NPs 处方工艺是可行的。设置 Ts-Aca-NPs 的 OD 值最小化为优化目标, 取值范围为 0~1, 得 Ts-Aca-NPs 最佳处方为 Ts 质量分数为 0.13%、均质压力为 94.28 MPa, 均质次数为 9.77 次, OD 值为 1.000。为便于实际操作, 均质压力调整为 95.00 MPa, 均质次数调整为 10 次。

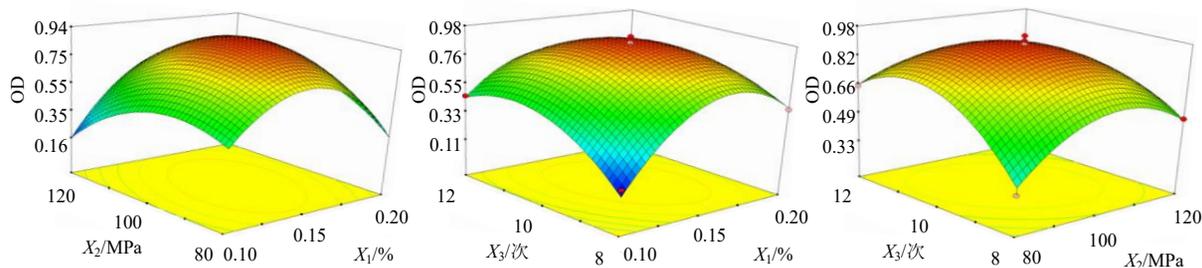


图 2  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  对 OD 值影响的响应面图

Fig. 2 Response surface plot of  $X_1$ ,  $X_2$  and  $X_3$  on OD value

### 2.6 Ts-Aca-NPs 最佳处方验证

按调整后的处方工艺平行制备 3 批 Ts-Aca-NPs, 结果见表 7。计算得 Ts-Aca-NPs 平均粒径为  $(301.81 \pm 4.74)$  nm, PDI 值为  $0.103 \pm 0.003$ ,  $\zeta$  电位为  $(-23.17 \pm 1.19)$  mV, 见图 3, 可能是由于 Ts 分子结构上含电负性的羧酸基<sup>[15]</sup>, 吸附于 Ts-Aca-NPs 表面后使之表现出一定的电负性, 利于增加体系的稳定性。计算得实际 OD 值为  $0.969 \pm 0.03$ , 与数学模型预测 OD 值(1.000)也非常接近, RSD 为 2.94%, 证明预测值和实际值的相关性良好。

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

Table 7 Prescription verification result ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

批次	粒径/nm	PDI
1	$302.46 \pm 6.11$	$0.102 \pm 0.090$
2	$296.77 \pm 4.86$	$0.101 \pm 0.070$
3	$306.19 \pm 5.94$	$0.106 \pm 0.060$

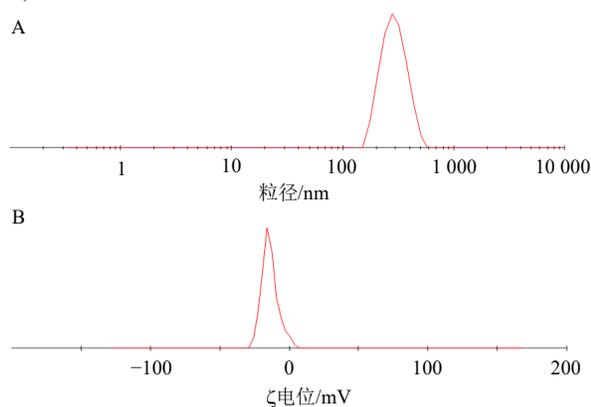


图 3 Ts-Aca-NPs 粒径分布 (A) 和  $\zeta$  电位 (B) 图

Fig. 3 Particle size distribution (A) and  $\zeta$  potential (B) of Ts-Aca-NPs

### 2.7 扫描电镜观察

取 Ts-Aca-NPs 混悬液, 加入蒸馏水稀释 50 倍后滴至导电胶上 (乙醇冲洗 3 遍), 晾干后喷金 60 s,

置于扫描电镜下,放大至 12 500 倍后观察 Ts-Aca-NPs 微观形貌。结果见图 4, Ts-Aca-NPs 形貌为不规则的纳米颗粒。扫描电镜测得的是 Ts-Aca-NPs 干燥后的粒径,而粒度仪测得的是 Ts-Aca-NPs 水化径,故扫描电镜观察到的粒径小于粒度仪测得粒径。

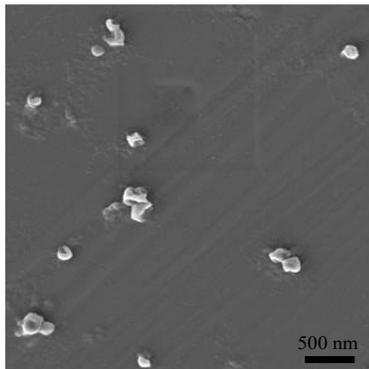


图 4 Ts-Aca-NPs 扫描电镜图

Fig. 4 SEM of Ts-Aca-NPs

## 2.8 Ts-Aca-NPs 冻干粉末的制备及溶解度测定

**2.8.1 冻干粉末的制备** 精密量取 Ts-Aca-NPs 混悬液 20 mL,加入乳糖(质量分数为 4%),混匀,按每瓶 2 mL 分装至西林瓶,置于-40 °C 超低温冰箱,3 d 后取出立即置于-30 °C 冷冻干燥机中,抽至真空,3 d 后取出并立即密封,即得 Ts-Aca-NPs 冻干粉。参考 Ts-Aca-NPs 处方分别称取 Ts 和乳糖,同法制备空白冻干粉。

Aca 原料药混悬液、Ts-Aca-NPs 混悬液、Ts-Aca-NPs 冻干粉及 Ts-Aca-NPs 冻干粉复溶后外观见图 5,原料药混悬液可看到大量不溶药物,而 Ts-Aca-NPs 混悬液及 Ts-Aca-NPs 冻干粉复溶后样品呈现澄清状态。Ts-Aca-NPs 冻干粉蒸馏水复溶后测得平均粒径为  $(348.96 \pm 10.13)$  nm, PDI 为 0.127 ± 0.014,  $\zeta$  电位为  $(-20.85 \pm 1.04)$  mV。

**2.8.2 Ts-Aca-NPs 冻干粉质量分数的测定** 精密取 Ts-Aca-NPs 冻干粉约 10 mg ( $M_1$ ),置于 100 mL 量瓶中,加入混合溶剂(乙腈:水=3:1)约 80 mL,超声 15 min 得混悬液,冷却,加混合溶剂定容,摇

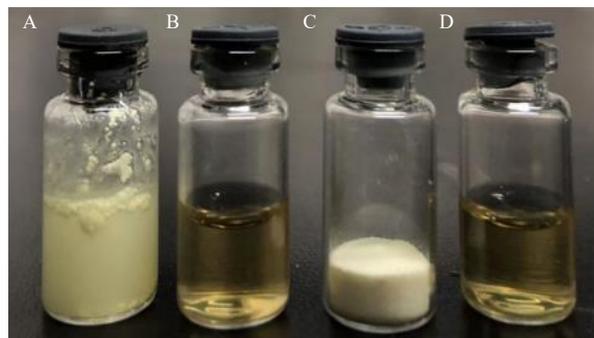


图 5 Aca 混悬液 (A)、Ts-Aca-NPs 混悬液 (B)、冻干粉 (C) 和蒸馏水复溶 (D) 外观

Fig. 5 Appearance of acacetin suspension (A), Ts-Aca-NPs suspension (B), lyophilized powder (C) and lyophilized powder sample redissolved by water (D)

匀后测定 Aca 含量 ( $M_2$ ),计算 Ts-Aca-NPs 冻干粉质量分数。结果显示,3 批 Ts-Aca-NPs 冻干粉平均质量分数为  $(1.43 \pm 0.03)$  %。

$$\text{质量分数} = M_2/M_1$$

**2.8.3 溶解度测定** 取过量 Aca 原料药、物理混合物 [Aca+空白冻干粉(比例同 Ts-Aca-NPs 冻干粉)] 和 Ts-Aca-NPs 冻干粉置于三角瓶中,加 20 mL 蒸馏水得混悬液,以 300 W 超声 20 min,底部仍可见黄色颗粒沉淀。密封,固定在恒温 25 °C 的振荡器上,以  $40 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  震荡 3 d。取混悬液于  $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,测定样品在蒸馏水中溶解度。分别配制 pH 2.0、4.5、6.0、6.8、7.4 磷酸盐缓冲液 (PBS),同法测定各样品的质量浓度,结果见表 8。物理混合物在一定程度上提高了 Aca 的溶解度,可能与 Ts 增溶作用有关<sup>[13]</sup>,但提高幅度较低。与 Aca 相比, Ts-Aca-NPs 冻干粉溶解度显著增加 ( $P < 0.01$ ),推测与 Ts-Aca-NPs 极大降低了 Aca 粒径有关<sup>[9]</sup>。

## 2.9 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析

取 Ts-Aca-NPs 混悬液 20 mL,除不添加乳糖,其余均按“2.8.1”项下操作,制备 Ts-Aca-NPs 粉末,以排除 Ts-Aca-NPs 冻干粉中乳糖对 FT-IR 分

表 8 溶解度测定结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 8 Results of solubility determination ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

样品	溶解度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$					
	水	pH 2.0	pH 4.5	pH 6.0	pH 6.8	pH 7.4
Aca	$23.44 \pm 0.13$	$9.18 \pm 0.21$	$18.02 \pm 0.20$	$26.03 \pm 0.26$	$25.70 \pm 0.18$	$20.89 \pm 0.14$
物理混合物	$26.79 \pm 0.18$	$11.26 \pm 0.24$	$21.11 \pm 0.27$	$30.56 \pm 0.34$	$28.46 \pm 0.22$	$25.56 \pm 0.18$
Ts-Aca-NPs	$452.53 \pm 6.66^{**}$	$409.85 \pm 7.13^{**}$	$444.50 \pm 7.17^{**}$	$479.43 \pm 8.03^{**}$	$470.12 \pm 6.16^{**}$	$260.06 \pm 7.74^{**}$

与 Aca 比较:  $^{**}P < 0.01$ 。

$^{**}P < 0.01$  vs Aca.

析的影响。设定扫描次数为 16，光阑为 100.0，分辨率为 4.0。取 Aca、Ts、物理混合物（Aca 与 Ts 比例同 Ts-Aca-NPs）和 Ts-Aca-NPs 粉末适量，按质量比 1:100 加入溴化钾研磨成超细粉并压片，测试结果见图 6。

在 Ts 的 FT-IR 图谱中， $3412.17\text{ cm}^{-1}$  附近宽峰是 Ts 羟基伸缩振动峰， $2928.26$ 、 $2844.71$ 、 $1401.85\text{ cm}^{-1}$  附近吸收峰属于 Ts 甲基、亚甲基伸缩振动峰。在 Aca FT-IR 图谱中， $3193.29\text{ cm}^{-1}$  是 Aca 酚羟基伸缩振动，在物理混合物 FT-IR 图谱中仍可观察到该峰（ $3193.32\text{ cm}^{-1}$ ），但在 Ts-Aca-NPs 的 FT-IR 图谱中消失，推测 Aca 酚羟基可能与 Ts 分子之间发生了氢键等作用力。

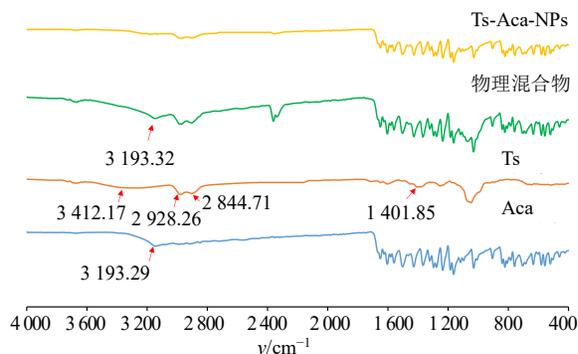


图 6 FT-IR 曲线  
Fig. 6 FT-IR curves

### 2.10 Ts-Aca-NPs 冻干粉晶型研究

X 射线粉末衍射 (XRPD) 条件: Cu-Kα 靶, 扫描速度为  $4^\circ\cdot\text{min}^{-1}$ , 扫描角度 ( $\theta$ ) 为  $3^\circ\sim 45^\circ$ 。取 Aca 原料药、Ts、乳糖、物理混合物和 Ts-Aca-NPs 冻干粉适量进行 XRPD 扫描, 结果见图 7。Aca 原料药在  $6.5^\circ$ 、 $9.5^\circ$ 、 $10.1^\circ$ 、 $12.8^\circ$ 、 $14.3^\circ$  等出现特征晶型峰, 在 Ts-Aca-NPs 冻干粉 XRPD 中仍可观察到, 表明 Aca 在 Ts-Aca-NPs 冻干粉中晶型未发生改变。与物理混

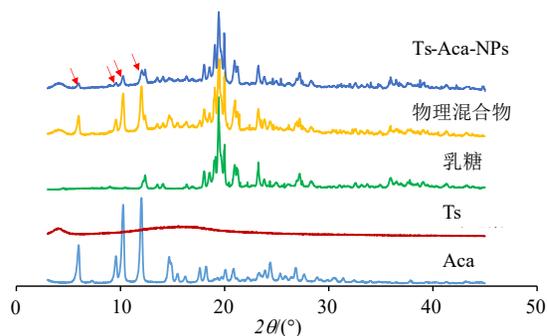


图 7 XRPD 结果  
Fig. 7 Results of XRPD

合物相比, Aca 在 Ts-Aca-NPs 冻干粉中晶型强度下降, 可能与处方中辅料的晶型抑制作用有关。

### 2.11 Ts-Aca-NPs 冻干粉体外释药行为考察

取 Aca 原料药和 Ts-Aca-NPs 冻干粉适量, 其中 Aca 含量均为 20 mg, 分别加入 5 mL 蒸馏水 (含 1% SDS), 转移至透析袋 (截留相对分子质量 8 000), 扎紧。取 1 000 mL 蒸馏水 (含 1% SDS) 抽滤脱气, 置于溶出杯中, 使之恒温在  $(37.0\pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 转速设置为  $75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 分别于 0、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00、4.00、6.00、8.00、12.00 h 取样 5 mL, 并补加 5 mL 蒸馏水 (含 1% SDS), 经  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  滤膜滤过后测定 Aca 质量浓度。同法分别测定 Aca 原料药和 Ts-Aca-NPs 冻干粉在 pH 2.0 及 pH 6.8 PBS (含 1% SDS) 介质中的释药行为, 结果见图 8。Aca 原料药在蒸馏水、pH 2.0 及 pH 6.8 PBS 12 h 累积释放均较低, Ts-Aca-NPs 极大提高了 Aca 在不同介质中的释药速率, 12 h 累积释放率均达 90% 以上, 可能与 Ts-Aca-NPs 极大提高了 Aca 溶解度、降低粒径等因素有关<sup>[8-9]</sup>。

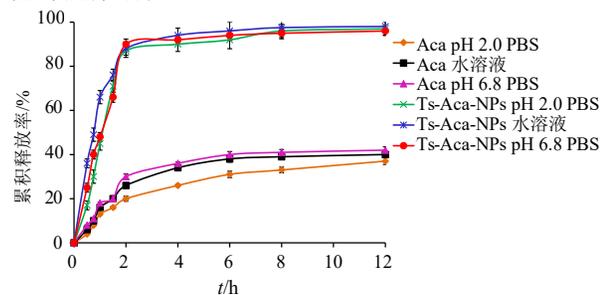


图 8 Aca 和 Ts-Aca-NPs 体外释放曲线 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )  
Fig. 8 Release curve *in vitro* of acetaminophen and Ts-Aca-NPs ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

### 2.12 Ts-Aca-NPs 冻干粉稳定性考察

取 Ts-Aca-NPs 冻干粉密封于西林瓶中, 于  $10^\circ\text{C}$  冰箱中储存, 放置 0、1、2、3、6 个月取样, 分别测定粒径、PDI 值和  $\zeta$  电位。结果见表 9, 与新

表 9 Ts-Aca-NPs 冻干粉稳定性 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 9 Stability of lyophilized powder of Ts-Aca-NPs ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

取样时间/个月	粒径/nm	PDI 值	$\zeta$ 电位/mV
0	$350.19\pm 8.44$	$0.124\pm 0.013$	$-22.25\pm 1.14$
1	$354.18\pm 10.71$	$0.128\pm 0.010$	$-21.74\pm 0.90$
2	$349.60\pm 7.69$	$0.122\pm 0.009$	$-23.16\pm 1.45$
3	$367.79\pm 11.14$	$0.143\pm 0.014$	$-22.87\pm 1.17$
6	$385.23\pm 12.75$	$0.157\pm 0.018$	$-22.53\pm 0.89$

制备冻干粉粒径相比,第 6 个月平均粒径有所增长,但仍小于 400 nm; PDI 值有所变大,但仍小于 0.2,表明粒径均一性仍良好;  $\zeta$  电位绝对值无明显改变,因此 Ts-Aca-NPs 冻干粉在 10 °C 冰箱中储存 6 个月稳定性良好。较少的 Ts 用量可维持 Ts-Aca-NPs 稳定性,其原因可能在于 Ts 通过发挥多重稳定机制(包括静电排斥、空间位阻及物理吸附等),同时借助其自身具备的抗氧化、抑菌等活性<sup>[13,15]</sup>,从而有效提升了 Ts-Aca-NPs 的储存稳定性。

## 2.13 口服药动学研究

**2.13.1 色谱与质谱条件** 采用 ZORBAX C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.1%甲酸=25:75; 进样量为 5  $\mu$ L; 体积流量为 0.2 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温为 30 °C。使用电喷雾电离(ESI)源在负离子模式下检测,检测温度 550 °C,离子喷涂电压 4 500 V,气帘气为 241 kPa,分析离子对分别为  $m/z$  675.28→513.09 (内标,淫羊藿苷)和  $m/z$  283.11→268.01 (Aca)。

**2.13.2 实验方案** 取 Aca 原料药、物理混合物(Aca 与辅料比例同 Ts-Aca-NPs 冻干粉)和 Ts-Aca-NPs 冻干粉适量,给药前使用 0.5%的 CMC-Na 水溶液配制 ig 液。取 18 只禁食过夜 SD 大鼠,随机分为 Aca 组、物理混合物组和 Ts-Aca-NPs 组,每组雌雄各半,ig 剂量均为 50 mg·kg<sup>-1</sup> (以 Aca 计)<sup>[16]</sup>。乙醚麻醉后于眼眶后静脉丛取血,取血量均约 200  $\mu$ L, Aca 和物理混合物组取血点为 0.25、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00 h。由于 Ts-Aca-NPs 组在 8 h 时仍可有效检出 Aca,故 Ts-Aca-NPs 组增加 8 h 取血点。3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 2 min,取血浆至空白离心管,密封后冷冻保存。

**2.13.3 内标溶液的配制及血浆样品溶液的制备** 精密称取淫羊藿苷对照品适量,采用乙腈配制成 600 ng·mL<sup>-1</sup>,作为内标溶液。将血浆样品置于室温解冻,分别精密取血浆和内标溶液各 50  $\mu$ L 至离心管中,加入 1.5 mL 乙腈后密封,涡旋 5 min 使之充分混匀,6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min 沉淀蛋白。取上层至离心管,置于 40 °C 氮吹仪中,缓慢吹干,加 50  $\mu$ L 乙腈密封后超声复溶,再次 6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min 即得含淫羊藿苷内标的血浆样品溶液。

**2.13.4 线性关系考察** 空白血浆配制 Aca 质量浓度为 800、400、200、100、50、5 ng·mL<sup>-1</sup> 血浆对照品,分别取 50  $\mu$ L,按照“2.13.3”项下制备 800、400、200、100、50、5 ng·mL<sup>-1</sup> (淫羊藿苷质量浓度均为

600 ng·mL<sup>-1</sup>) 血浆对照品溶液,按“2.13.1”条件检测。以 Aca 质量浓度 ( $X$ ) 为横坐标,淫羊藿苷与 Aca 峰面积比 ( $Y$ ) 为纵坐标,拟合方程为  $Y=0.0041X-0.1426$ ,  $r=0.9984$ ,线性范围 5~800 ng·mL<sup>-1</sup>。

**2.13.5 专属性考察** 取空白血浆溶液、Ts-Aca-NPs 血浆样品溶液 (ig 8 h 时间点) 和血浆对照品溶液 (Aca 质量浓度为 5 ng·mL<sup>-1</sup>),分别按“2.13.1”项下条件测定,结果见图 9,证明该法专属性较高。

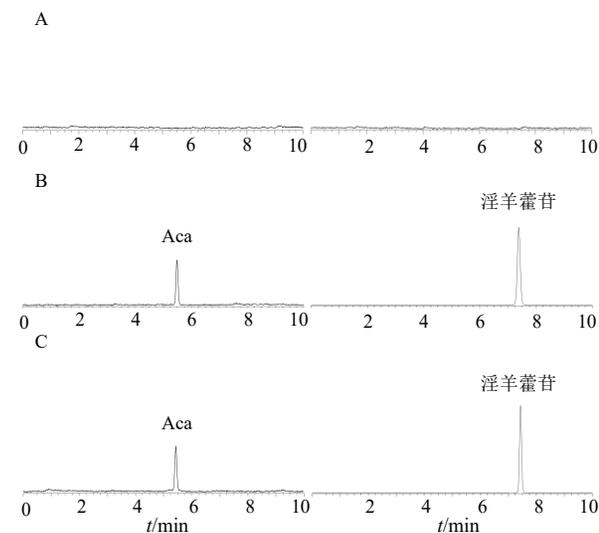


图 9 空白血浆 (A)、血浆样品溶液 (含内标, B)、血浆对照品溶液 (含内标, C) 的 UPLC-MS/MS 色谱图

Fig. 9 UPLC-MS/MS chromatograms of blank plasma (A), plasma sample solution (including internal standard, B) and plasma reference solution (including internal standard, C)

**2.13.6 稳定性考察** 取 Ts-Aca-NPs ig 3 h 血浆样品溶液 (含淫羊藿苷),分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 测定 Aca 及淫羊藿苷峰面积,计算得 Aca 质量浓度 RSD 值为 6.76%,表明血浆样品稳定性良好。

**2.13.7 精密度考察** 取 Aca 质量浓度为 5、200、800 ng·mL<sup>-1</sup> 血浆对照品溶液 (含淫羊藿苷),同天内连续测试 6 次,根据 Aca 及淫羊藿苷峰面积,计算得 Aca 质量浓度 RSD 值分别为 7.11%、5.60%和 5.28%。连续测试 6 d,每天测试 1 次,根据 Aca 及淫羊藿苷峰面积,计算得 Aca 质量浓度 RSD 值分别为 4.16%、3.80%和 6.13%,表明日内、日间精密度良好。

**2.13.8 重复性考察** 取 Aca 质量浓度为 400 ng·mL<sup>-1</sup> 质控样品,分别按“2.13.3”步骤处理样品,进样测试,根据 Aca 及淫羊藿苷峰面积,计算得 Aca 质量浓度 RSD 值为 9.44% ( $n=3$ ),表明重复性良好。

**2.13.9 提取回收率和基质效应考察** 取 Aca 质量浓度为 5 (低)、200 (中)、800 ng·mL<sup>-1</sup> (高) 质控样品溶液 (均含淫羊藿苷), 按“2.13.3”处理后测定 Aca 和淫羊藿苷峰面积 ( $A_1$ ); 取空白血浆 50  $\mu$ L, 除不加淫羊藿苷内标外按“2.13.3”处理得残渣, 加入 Aca 对照品适量, 使其质量浓度为 5、200、800 ng·mL<sup>-1</sup> (均含淫羊藿苷), 测定峰面积 ( $A_2$ ), 采用  $A_1/A_2$  计算提取回收率, 结果显示低、中、高质量浓度质控样品中 Aca 提取回收率分别为 103.15%、98.66% 和 101.47%, 淫羊藿苷提取回收率为 98.23%。取 Aca 质量浓度为 5 (低)、200 (中)、800 ng·mL<sup>-1</sup> (高) 对照品溶液 (含淫羊藿苷), 直接进样测定峰面积 ( $A_3$ ), 采用公式  $A_2/A_3$  计算基质效应。结果显示, 低、中、高质量浓度 Aca 的基质效应分别为 97.01%、95.84% 和 96.13%, 淫羊藿苷基质效应为 96.11%。因此该方法 Aca 和淫羊藿苷的提取回收率高, 且基质效应较小。

**2.13.10 药动学结果** Aca、物理混合物和 Ts-Aca-NPs 的药-时曲线见图 10, 采用 DAS 2.0 软件非房室模型分别对 3 组实验的药动学参数进行分析, 结果见表 10。与 Aca 相比, 物理混合物的  $t_{max}$  显著性

延后 ( $P < 0.05$ ),  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  和  $AUC_{0-\infty}$  得到显著提高 ( $P < 0.05$ )。与 Aca 相比, 物理混合物的相对生物利用度增加 1.42 倍, 证明 Ts 可影响 Aca 药动学行为, 在一定程度上增加了 Aca 体内吸收; Ts-Aca-NPs 的  $t_{1/2}$ 、 $t_{max}$ 、 $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  均得到显著提高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 同时 Ts-Aca-NPs 相对生物利用度增至 6.03 倍。与物理混合物相比, Ts-Aca-NPs 的  $t_{1/2}$  具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 而  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-t}$  和  $AUC_{0-\infty}$  有极显著性增加 ( $P < 0.01$ ), 说明 Ts-Aca-NPs 进一步增加 Aca 体内吸收。

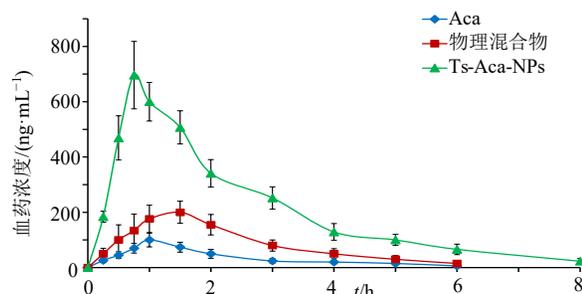


图 10 血药浓度-时间曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )  
Fig. 10 Profiles of plasma concentration-time ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

表 10 主要药动学参数 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 10 Main pharmacokinetic parameters ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	Aca	物理混合物	Ts-Aca-NPs
$t_{max}/h$	1.04 ± 0.21	1.57 ± 0.32*	0.77 ± 0.17*##
$C_{max}/(ng \cdot mL^{-1})$	106.94 ± 21.14	212.88 ± 59.13*	569.40 ± 135.64**##
$t_{1/2}/h$	1.86 ± 0.40	2.58 ± 0.43*	3.09 ± 0.42*#
$AUC_{0-t}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$	214.57 ± 45.76	304.89 ± 65.47*	1294.81 ± 243.06**##
$AUC_{0-\infty}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$	229.03 ± 49.04	321.88 ± 69.85*	1347.52 ± 261.98**##

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

**2.14 Ts-Aca-NPs 体内调血脂作用评价**

**2.14.1 研究方案** 取 56 只 SD 大鼠, 随机分为对照 (基础饲料正常饲养) 组、模型 (高脂饲料饲养) 组<sup>[18]</sup>、阿托伐他汀 (阳性药, 高脂饲料饲养 + 阿托伐他汀 10 mg·kg<sup>-1</sup>) 组、Aca (高脂饲料饲养 + Aca 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组、Ts [高脂饲料饲养 + Ts 110 mg·kg<sup>-1</sup> (Ts 给药剂量参考 Ts-Aca-NPs 高剂量组中 Ts 用量, Aca 与 Ts 用量比为 6 : 13)] 组、Ts-Aca-NPs 低剂量 (高脂饲料饲养 + Aca 25 mg·kg<sup>-1</sup>) 组和 Ts-Aca-NPs 高剂量 (高脂饲料饲养 + Aca 50 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 共 7 组, 每组 8 只。固定时间 ig 给药, 保证实验动物自由饮水, 连续 6 周, 最后一次给药 12 h 后禁食 (自由饮

水), 记录各只小鼠体质量。采用异氟烷对各组小鼠进行麻醉, 摘眼球取血, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 2 min, 取上层血清, 按照试剂盒说明书用全自动生化分析仪进行测定血清生化指标。脱颈处死小鼠后迅速取出肝脏, 滤纸吸干表面水分后称质量。部分肝组织浸泡于 4% 多聚甲醛, 石蜡包埋, 切片, 脱水后二甲苯透明处理, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 观察肝脏病理情况。

**2.14.2 大鼠体质量变化及肝系数考察** 记录实验开始前和结束时各组大鼠的体质量, 计算平均体质量、平均增重及肝系数。结果见表 11, 与对照组相比, 模型组实验结束时平均体质量、平均增重和肝

表 11 大鼠体质量和肝系数变化情况 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )Table 11 Changes in body weight and liver coefficient in rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	实验开始前平均体质量/g	实验结束时平均体质量/g	平均增重/g	平均肝系数/%
对照	—	182.64±6.14	362.52±10.42	179.88±9.92	3.49±0.65
模型	—	176.98±5.28	443.70±11.98**	266.72±13.52**	4.43±0.48**
阿托伐他汀	10	184.16±6.08	384.06±13.25###	199.90±10.74###	3.70±0.31###
Aca	50	180.43±5.44	391.17±9.98#	210.74±9.88#	4.12±0.39#
Ts	110	183.33±5.10	413.68±12.61	230.35±10.61	4.21±0.32
Ts-Aca-NPs	25	177.69±4.98	388.83±12.19#	211.14±13.10#	3.92±0.26#
	50	181.08±5.87	373.68±13.03###	192.60±10.19###	3.72±0.28### <sup>Δ</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Aca 组比较: <sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group; <sup>Δ</sup> $P < 0.05$  vs Aca group.

均肝系数均有显著性增大 ( $P < 0.01$ ), 表明高脂饲料能够增加大鼠体质量, 诱发病理性肥胖, 并致肝脏肿大及损伤。与模型组相比, Aca 组及 Ts-Aca-NPs 低、高剂量组实验结束时平均体质量、平均增重和平均肝系数均显著性降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); Ts 组实验结束时平均体质量、平均增重和平均肝系数均有下降, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明 Ts 可辅助降低体质量、缓解高脂血症所致肝肿大。与 Aca 组相比, Ts-Aca-NPs 高剂量组肝系数有显著下降 ( $P < 0.05$ ), 表明 Ts-Aca-NPs 可进一步缓解肝肿大。与阿托伐他汀组相比, Ts-Aca-NPs 高剂量组平均增重和肝系数无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明 Ts-Aca-NPs 高剂量组与阿托伐他汀治疗效果相似。

平均体质量 = 该组大鼠总体质量/数量

平均增重 = 实验结束时平均体质量 - 实验开始前平均体质量

肝系数 = 肝脏质量/体质量

**2.14.3 大鼠血脂指标及相关酶检测** TC、TG、LDL-C、HDL-C 是体内血脂情况的重要指标, AST 和 ALT

是肝损伤的重要指标。结果见表 12, 与对照组相比, 模型组 TC、TG、LDL-C、ALT、AST 均极显著性升高 ( $P < 0.01$ ), HDL-C 显著性下降 ( $P < 0.05$ ), 表明模型组大鼠血脂异常, 肝脏受损<sup>[9]</sup>。与模型组相比, Ts 组 TC、TG、LDL-C、ALT 和 AST 均一定程度下降, HDL-C 有一定程度提高, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 说明 Ts 具有一定的调血脂、护肝作用。与 Aca 组相比, Ts-Aca-NPs 高剂量组的 TC、TG、LDL-C、HDL-C、ALT 和 AST 均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 表明在给药剂量相同的条件下 Ts-Aca-NPs 可增强 Aca 调血脂、护肝作用, 可能与 Ts-Aca-NPs 具有更高生物利用度及 Ts 辅助治疗作用有关。与阿托伐他汀组相比, Ts-Aca-NPs 高剂量组的 TC、TG、LDL-C、HDL-C、ALT 和 AST 均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明 Ts-Aca-NPs 高剂量组与阿托伐他汀治疗效果相似, 具有较高的推广价值。

**2.14.4 各组小鼠肝脏病理切片** 对照组 (图 11-A) 小鼠肝脏细胞排列紧密、边界清晰、细胞胞质未见溶解和空泡; 模型组 (图 11-B) 细胞核大小不一,

表 12 大鼠血脂及相关酶活性 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )Table 12 Serum lipid levels and related enzyme activities of rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	TC/(mmol·L <sup>-1</sup> )	TG/(mmol·L <sup>-1</sup> )	LDL-C/(mmol·L <sup>-1</sup> )	HDL-C/(mmol·L <sup>-1</sup> )	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )
对照	—	1.92±0.33	0.98±0.17	0.59±0.14	1.65±0.19	53.66±6.15	82.16±13.15
模型	—	3.10±0.40**	2.57±0.20**	1.26±0.21**	1.30±0.11*	80.49±4.28**	126.87±20.63**
阿托伐他汀	10	2.29±0.21###	1.83±0.11###	0.68±0.13###	1.53±0.14#	57.10±7.76###	95.14±18.14###
Aca	50	2.71±0.29#	2.20±0.15#	0.90±0.14#	1.40±0.12	65.25±5.92#	103.28±16.28#
Ts	110	2.92±0.32	2.34±0.22	1.04±0.10	1.36±0.16	70.94±6.25	109.85±22.77
Ts-Aca-NPs	25	2.59±0.27#	2.09±0.16#	0.88±0.17#	1.44±0.15	60.99±4.89###	98.54±14.25#
	50	2.36±0.33### <sup>Δ</sup>	1.85±0.19### <sup>Δ</sup>	0.72±0.15### <sup>Δ</sup>	1.51±0.10# <sup>Δ</sup>	54.37±6.87### <sup>Δ</sup>	89.60±13.94### <sup>Δ</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与 Aca 组比较: <sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group; <sup>Δ</sup> $P < 0.05$  vs Aca group.

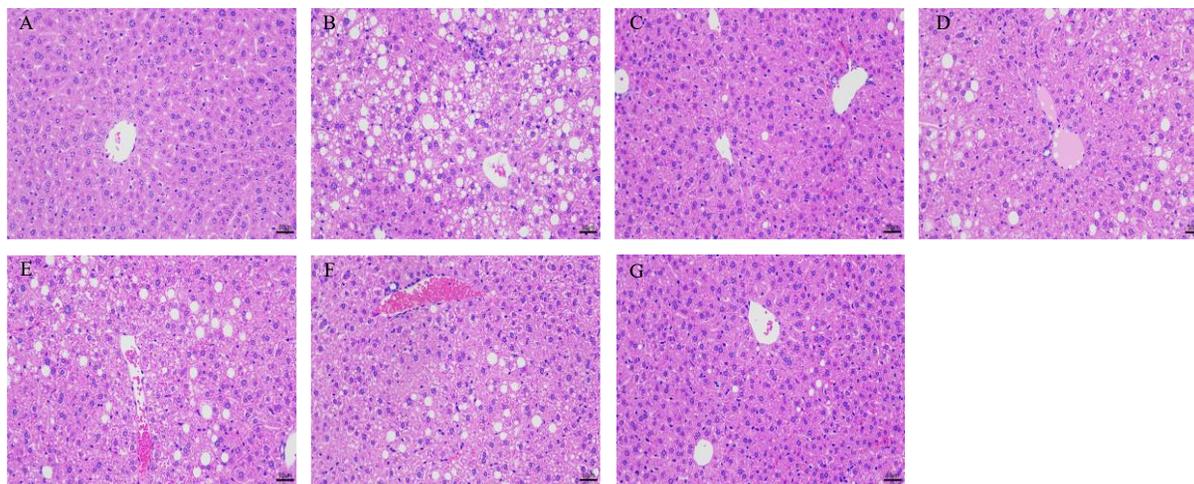


图 11 对照组 (A)、模型组 (B)、阿托伐他汀组 (C)、金合欢素组 (D)、Ts 组 (E)、Ts-Aca-NPs 低剂量组 (F) 和 Ts-Aca-NPs 高剂量组 (G) 小鼠肝脏病理学观察 (×200)

Fig. 11 Hepatic pathologic observation of control group (A), model group (B), atorvastatin group (C), quercetin group (D), tea saponin group (E), low-dose Ts-Aca-NPs group (F) and high-dose Ts-Aca-NPs group (G) groups of rats (×200)

细胞胞质溶解及空泡现象明显,表明肝组织受到严重损伤;阿托伐他汀组(图 11-C)肝细胞排列较规则,未见胞质溶解及空泡现象,病理情况趋向于对照组小鼠;Aca 组(图 11-D)和 Ts 组(图 11-E)均可改善肝组织病变,仍见胞质溶解及空泡现象,表明 Aca 和 Ts 均可改善肝损伤,但效果需提高。Ts-Aca-NPs 低剂量组(图 11-F)和 Ts-Aca-NPs 高剂量组(图 11-G)均有效改善了肝组织病变,随着 Ts-Aca-NPs 剂量的增加肝损伤改善效果愈佳,修复程度呈剂量相关性,说明 Ts-Aca-NPs 可有效改善高脂血症小鼠的肝脏损伤。

### 2.15 统计学分析

数据结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 24.0 软件单因素方差分析(one-way ANOVA)来进行组间比较,  $P < 0.05$  判定组间存在显著差异。

### 3 讨论

本研究选用 Ts 作为稳定剂制备了 Ts-Aca-NPs,稳定剂 Ts 与 Aca 用量比为 2.07 : 1。张佩琛等<sup>[16]</sup>采用 PVP K30 和 SDS 联合作为稳定剂制备 Ts-Aca-NPs 时,稳定剂的总量与 Aca 用量比达到 4.50 : 1,表明采用 Ts 制备 Ts-Aca-NPs 可降低稳定剂用量,利于提高制剂的载药量。由于 Ts 安全性远高于化学合成类稳定剂,因而更具有研究、推广价值。Ts-Aca-NPs 有效提高了 Aca 在不同 pH 介质中的溶解度、溶出速率及溶出度,为增加胃肠道吸收、提高生物利用度奠定基础。

前期分别考察了 Ts-Aca-NPs 在高温 (35 °C)、

室温 (25 °C) 和低温 (10 °C) 条件下的稳定性,发现在低温 (10 °C) 条件下稳定性最高。可能是低温条件可使 Ts-Aca-NPs 过饱和度及成核速率下降,有效抑制了晶体生长速度<sup>[20]</sup>,因此选择低温条件储存 Ts-Aca-NPs。Ts 临界胶束分数为 0.5%<sup>[21]</sup>,而 Ts-Aca-NPs 最佳处方中 Ts 质量分数为 0.13%,远小于 Ts 临界胶束浓度,因此 Ts 可稳定吸附在 Ts-Aca-NPs 表面,进而通过物理吸附、提供空间位阻及静电排斥力等多效应稳定机制来维持纳米混悬剂的稳定性,且 Ts 本身具有较强的抑菌作用<sup>[21]</sup>,也利于提高 Ts-Aca-NPs 的储存稳定性。

Ts-Aca-NPs 的  $t_{max}$  均得到显著性提前,主要是由于 Ts-Aca-NPs 极大缩短了 Aca 溶出时间,提高了药物溶出速率所致<sup>[22]</sup>。Ts-Aca-NPs 的  $t_{1/2}$  具有显著性延长,可能是由于较小粒径的 Ts-Aca-NPs 易暂时藏匿于胃肠道褶皱中,影响了吸收速度;Ts 作为稳定剂通过氢键等作用力覆盖在 Ts-Aca-NPs 表面,可发挥保护作用<sup>[13,23-24]</sup>,利于降低胃肠中消化酶对 Aca 稳定性的影响,从而提高了后期血药浓度水平,导致  $t_{1/2}$  显著性延长。Ts-Aca-NPs 的  $C_{max}$  和相对生物利用度均得到明显提高,可能是 Ts-Aca-NPs 极大增加了 Aca 溶解度和溶出度,解决了吸收瓶颈;Ts-Aca-NPs 比表面积大,可与胃肠道吸收部位充分接触,利于药物吸收<sup>[25-26]</sup>;Ts 等稳定剂本身也具有促吸收作用,因而极大增加了 Aca 进入血液循环的量。Ts-Aca-NPs 可增强 Aca 调血脂及护肝作用,一方面由于 Ts 本身具有调血脂、护肝的作用,发挥“药辅

合一”作用,另一方面 Ts-Aca-NPs 能有效促进 Aca 生物利用度,进而增强药效<sup>[27]</sup>。

本研究采用天然来源的 Ts 为稳定剂成功制备了 Ts-Aca-NPs,储存稳定性高,为纳米混悬剂研究中稳定剂的选择提供新方向。口服后极大提高了 Aca 体内吸收、增强了体内调血脂及护肝药效。本研究也为评价 Ts-Aca-NPs 成药性提供了有价值的参考资料,值得进一步开发研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Chen K H, Gao Z. Acacetin, a natural flavone with potential in improving liver disease based on its anti-inflammation, anti-cancer, anti-infection and other effects [J]. *Molecules*, 2024, 29(20): 4872.
- [2] 洪毅祥. 金合欢素对心肌衰老的保护作用及分子机制研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2020.  
Hong Y X. Protection of acacetin against myocardial senescence and its molecular mechanism [D]. Xiamen: Xiamen University, 2020.
- [3] 张敏敏, 刘冲, 陈文. 金合欢素平衡溶解度、油水分配系数和解离常数的测定 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(5): 1084-1087.  
Zhang M M, Liu C, Chen W. Determination of equilibrium solubility, oil-water partition coefficient and dissociation constant of acacia [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, 31(5): 1084-1087.
- [4] 杨金枝, 崔晓鸽. 金合欢素磷脂复合物介孔二氧化硅纳米粒制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(8): 2464-2471.  
Yang J Z, Cui X G. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of mesoporous silica nanoparticles of acacetin phospholipids complex [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(8): 2464-2471.
- [5] Han D G, Cha E, Joo J, et al. Investigation of the factors responsible for the poor oral bioavailability of acacetin in rats: Physicochemical and biopharmaceutical aspects [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(2): 175.
- [6] 胡瑞瑞, 王利, 张红芹. 金合欢素聚乳酸纳米粒的制备及体内药动学评价 [J]. *中药材*, 2018, 41(5): 1170-1172.  
Hu R R, Wang L, Zhang H Q. Preparation and pharmacokinetics evaluation of acacia polylactic acid nanoparticles [J]. *J Chin Med Mater*, 2018, 41(5): 1170-1172.
- [7] 葛勇琪, 孙晓然, 尚宏周, 等. 中空介孔硅基双重响应型药物缓释载体制备及性能研究 [J]. *化学与生物工程*, 2023, 40(7): 18-22.  
Ge Y Q, Sun X R, Shang H Z, et al. Preparation and properties of hollow mesoporous silica-based drug controlled release carrier with dual response of pH and redox [J]. *Chem Bioeng*, 2023, 40(7): 18-22.
- [8] 孙丽, 李瑞华, 吉媛媛, 等. 高良姜素自胶束化固体分散体的制备、口服药动学和降血糖作用评价 [J]. *药物评价研究*, 2025, 48(1): 143-156.  
Sun L, Li R H, Ji Y Y, et al. Preparation, oral pharmacokinetic and glucose-decreasing effects evaluation of galangin-loaded self-micelle solid dispersion [J]. *Drug Eval Res*, 2025, 48(1): 143-156.
- [9] 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.
- [10] 秦芳芳, 彭有梅, 苏海波, 等. 鞣花酸纳米混悬剂的制备、表征及其体内药动学研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(13): 3980-3990.  
Qin F F, Peng Y M, Su H B, et al. Preparation, characterization and *in vivo* pharmacokinetics of ellagic acid nanosuspensions [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(13): 3980-3990.
- [11] 陈永顺, 李静, 蒋建平, 等. 叶黄素纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(10): 3180-3186.  
Chen Y S, Li J, Jiang J P, et al. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of lutein nanosuspensions [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(10): 3180-3186.
- [12] 罗开沛, 严春梅, 杨露, 等. 以甘草酸为稳定剂的姜黄素-水飞蓟宾共载纳米混悬剂的制备及体外评价 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 4823-4831.  
Luo K P, Yan C M, Yang L, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of curcumin and silibinin co-loaded nanosuspension with glycyrrhizic acid as stabilizer [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(15): 4823-4831.
- [13] 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.
- [14] 林玲, 刘芷君, 曾文治, 等. 茶籽皂昔调节高血脂症大鼠血脂的功效研究 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(7): 278-283.

- Lin L, Liu Z J, Zeng W Z, et al. Study on the effect of tea seed saponin on regulating blood lipid in hyperlipidemia rats [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(7): 278-283.
- [15] Long J Y, Song J W, Zhang X M, et al. Tea saponins as natural stabilizers for the production of hesperidin nanosuspensions [J]. *Int J Pharm*, 2020, 583: 119406.
- [16] 张佩琛, 王涛. 金合欢素纳米混悬剂的制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2022, 44(11): 3415-3421.  
Zhang P C, Wang T. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of acacetin nanosuspensions [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2022, 44(11): 3415-3421.
- [17] 李瑞华, 吴书凯, 孙丽, 等. PEG 化壳聚糖葫芦素 B 纳米混悬剂的制备及其冻干粉药动学评价 [J]. *中草药*, 2024, 55(15): 5050-5060.  
Li R H, Wu S K, Sun L, et al. Preparation of cucurbitacin B nanosuspensions with PEGylated chitosan and pharmacokinetics evaluation of its lyophilized powder [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(15): 5050-5060.
- [18] 马莉, 黄妍, 侯衍豹, 等. 千金黄连片对高脂高糖致糖耐量异常模型大鼠的治疗作用 [J]. *药物评价研究*, 2022, 45(5): 878-885.  
Ma L, Huang Y, Hou Y B, et al. Effect of Qianjin Huanglian Pill on rat model of impaired glucose tolerance induced by high fat and high glucose [J]. *Drug Eval Res*, 2022, 45(5): 878-885.
- [19] 张婧, 晏玲, 周祥. 绞股蓝总苷片联合依折麦布治疗高脂血症的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(11): 2751-2755.  
Zhang J, Yan L, Zhou X. Clinical study on Jiaogulan Zonggan Tablets combined with ezheimai in treatment of hyperlipidemia [J]. *Drugs Clin*, 2023, 38(11): 2751-2755.
- [20] 王琢, 马宏伟, 王向涛. 咖啡酸苯乙酯纳米混悬剂的制备及其体外抑制乳腺癌细胞作用研究 [J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(4): 729-736.  
Wang Z, Ma H W, Wang X T. Preparation of caffeic acid phenethyl ester nanosuspension and its inhibitory effect on breast cancer cells *in vitro* [J]. *Drugs Clin*, 2022, 37(4): 729-736.
- [21] 任慧璟. 茶皂素的提取、纯化及在日化产品中的应用 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.  
Ren H J. The extraction and purification of tea saponin and application in daily chemical products. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [22] 杨璞, 李晓, 宋亚琼, 等. 二氢杨梅素混合胶束的制备、表征及药动学研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(10): 2351-2360.  
Yang P, Li X, Song Y Q, et al. Dihydromyricetin mixed micelles: Preparation characterization and pharmacokinetic study [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(10): 2351-2360.
- [23] Navarro del Hierro J, Herrera T, Fornari T, et al. The gastrointestinal behavior of saponins and its significance for their bioavailability and bioactivities [J]. *J Funct Foods*, 2018, 40: 484-497.
- [24] Aldosari B N, Ibrahim M A, Alqahtani Y, et al. Formulation and evaluation of fluconazole nanosuspensions: *In vitro* characterization and transcorneal permeability studies [J]. *Saudi Pharm J*, 2024, 32(7): 102104.
- [25] 王丹, 任宁君, 史步新. 托伐普坦纳米结构脂质载体的制备与药动学研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(4): 765-775.  
Wang D, Ren N J, Shi B X. Preparation and pharmacokinetics of tolvaptan loaded nanostructured lipid carriers [J]. *Drug Eval Res*, 2024, 47(4): 765-775.
- [26] Yan S Z, Xu J W, Liu G N, et al. Emulsions co-stabilized by soy protein nanoparticles and tea saponin: Physical stability, rheological properties, oxidative stability, and lipid digestion [J]. *Food Chem*, 2022, 387: 132891.
- [27] 尚丹, 张广辉, 李晓婷, 等. 基于“药辅合一”的甜菊素-隐丹参酮自胶束化固体分散体制备、表征及体内评价 [J]. *中草药*, 2025, 56(13): 4621-4633.  
Shang D, Zhang G H, Li X T, et al. Preparation, characterization and *in vivo* evaluation of steviosin-cryptotanshinone self-micellizing solid dispersions based on “combined drug-excipient” strategy [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, 56(13): 4621-4633.

[责任编辑 孙英杰]