

响应面法优化芦丁纳米混悬剂及其肠吸收行为研究

马亚中, 薛凯琳, 邓翔, 王旖旎, 薛玉叶, 杨志晖

Optimization of rutin nanosuspension by response surface methodology and its intestinal absorption behavior

MA Yazhong, XUE Kailin, DENG Xiang, WANG Yini, XUE Yuye, YANG Zhihui

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202602009>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

HPLC-MS/MS同时测定感冒安颗粒中5种黄酮成分的含量

Simultaneous determination of five flavonoids in Ganmao' an granules by HPLC-MS/MS

药学实践与服务. 2024, 42(9): 402-406 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202403030](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202403030)

星点设计-效应面法优化仑伐替尼混合胶束的制备工艺

Optimization of the preparation process for lenvatinib mixed micelles by central composite design-response surface methodology

药学实践与服务. 2024, 42(11): 495-502 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202403019](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202403019)

西罗莫司自微乳-介孔硅缓释片的质量及体外释药行为考察

Study on the quality and *in vitro* drug release behavior of sirolimus self-microemulsion-mesoporous silicon sustained release tablets

药学实践与服务. 2025, 43(11): 560-563 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202402031](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202402031)

耐碳青霉烯类肠杆菌耐药机制的研究进展

Research progress on resistance mechanisms of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae

药学实践与服务. 2024, 42(10): 419-425 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202405005](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202405005)

1例炎症性肠病合并心房颤动患者的用药分析与监护

Pharmaceutical care of a patient with inflammatory bowel disease and atrial fibrillation

药学实践与服务. 2025, 43(10): 525-528 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202403004](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202403004)

基于网络药理学及分子对接研究愈肠颗粒治疗溃疡性结肠炎的分子机制

Exploring the mechanism of Yuchang granule on ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2026, 44(4): 209-215 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202407027](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202407027)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

响应面法优化芦丁纳米混悬剂及其肠吸收行为研究

马亚中, 薛凯琳, 邓翔, 王旖旎, 薛玉叶, 杨志晖 (空军军医大学空军特色医学中心药剂科, 北京 100142)

[摘要] **目的** 通过制备芦丁纳米混悬剂(Ru-NS), 以提高芦丁的溶解度并改善其肠吸收行为。**方法** 采用湿法介质研磨法制备 Ru-NS, 在单因素试验基础上, 以粒径、多分散指数(polydispersity index, PDI)为考察指标, 采用 Box-Behnken 设计-响应面法考察研磨时间、氧化锆用量及研磨速度的影响。通过扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱、X 射线衍射对 Ru-NS 进行表征并考察其饱和溶解度, 再采用透析袋法考察 Ru-NS 的体外溶出度。借助大鼠在体单向肠灌注模型, 测定药物在十二指肠、空肠、回肠及结肠各肠段的吸收特征。**结果** 所制得的 Ru-NS 平均粒径为 $(138.47 \pm 6.33) \text{ nm}$, PDI 为 0.1401 ± 0.0704 、Zeta 电位 $(-43.72 \pm 1.86) \text{ mV}$ 。Ru-NS 呈棒状结构, 其结晶度较原料药下降。Ru-NS 的饱和溶解度提升了 52.45%, 在 48 h 内累积释放度达 81.17%。在体单向肠灌注结果表明, 芦丁和 Ru-NS 在不同肠段中的 K_a 和 P_{app} 为十二指肠>回肠>空肠>结肠, 并且 Ru-NS 在十二指肠、回肠、空肠中的吸收显著提高($P < 0.05$)。**结论** 芦丁在形成 Ru-NS 后, 对其在大鼠小肠的吸收具有明显的促进作用, 证明了 Ru-NS 能有效改善芦丁的口服生物利用度。

[关键词] 芦丁; 肠吸收; 纳米混悬剂; 体外溶出; 单向肠灌注

[文章编号] 2097-2024(2026)00-0001-08 **[DOI]** [10.12206/j.issn.2097-2024.202602009](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202602009)

Optimization of rutin nanosuspension by response surface methodology and its intestinal absorption behavior

MA Yazhong, XUE Kailin, DENG Xiang, WANG Yini, XUE Yuye, YANG Zhihui (Department of Pharmacy, Air Force Medical Center of PLA, Air Force Medical University, Beijing 100142, China)

[Abstract] **Objective** Rutin nanosuspension (Ru-NS) was prepared in order to increase the solubility and improve its intestinal absorption behavior. **Methods** Ru-NS was prepared by wet media milling, and the effects of milling time, zirconia dosage and milling speed were investigated on the basis of a one-way test using particle size, polydispersity index (PDI) as the indexes, and Box-Behnken design-response surface method. Ru-NS was characterized and investigated by scanning electron microscope (SEM), X-ray diffraction (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and its saturation solubility was investigated, and then the in vitro dissolution of Ru-NS was investigated by the dialysis bag method. The absorption of the drug from different parts of the intestinal segments of the duodenum, jejunum, ileum and colon was investigated by in vivo unidirectional intestinal perfusion experiments in rats. **Results** The average particle size of the prepared Ru-NS was $(138.47 \pm 6.33) \text{ nm}$, with a PDI of 0.1401 ± 0.0704 and a zeta potential of $(-43.72 \pm 1.86) \text{ mV}$. Ru-NS showed a rod-like structure with a decreased degree of crystallinity as compared to that of the raw material. The saturated solubility of Ru-NS was elevated by 52.45%, and the cumulative release within 48 h was up to 81.17%. In vivo unidirectional intestinal perfusion showed that the K_a and P_{app} of Ru and Ru-NS in different intestinal segments were duodenum > ileum > jejunum > colon, and the absorption of Ru-NS was significantly higher in duodenum, ileum, and jejunum ($P < 0.05$). **Conclusion** The formation of Ru-NS in Ru had a significant promotion effect on its absorption in the small intestine of rats, which proved that Ru-NS could effectively improve the oral bioavailability of Ru.

[Key words] rutin; intestinal absorption; nanosuspension; in vitro dissolution; unidirectional intestinal perfusion

芦丁(rutin, Ru)是一种广泛存在于豆科植物槐(*Sophora japonica* L.)干燥花蕾及果实中的天然黄酮类化合物, 其药理活性颇为广泛, 包括抗炎、抗氧化、舒张血管等多个方面, 可通过调节 PI3K/Akt/

mTOR 信号通路抑制炎症因子释放^[1-5]。然而, 芦丁水溶解度低, 口服吸收差, 导致其生物利用度极低, 限制其临床推广应用。近年来, 随着新型药物递送系统的发展, 芦丁相关剂型不断丰富, 其生物利用度在一定程度上得到改善, 但仍存在若干问题。例如, 部分基于新型材料构建的纳米粒载药量偏低, 某些纳米乳制剂给药后可能出现突释现象, 脂质体则因物理稳定性不足而存在药物泄漏风

[基金项目] 领航行动新飞计划(LH202416)

[作者简介] 马亚中, 主管药师, Email: 13601220118@139.com

[通信作者] 杨志晖, 博士, 主管药师, 研究方向: 临床药理、合理用药, Email: yangzhihui084045@126.com

险。因此,如何在提高纳米制剂载药能力的同时增强其自身稳定性,仍是芦丁递药系统研究中亟待解决的重要问题^[6-7]。

近年来,纳米药物递送系统作为提升难溶性药物溶解度和改善其吸收性的有效方法,已引起广泛关注^[8-9]。纳米混悬剂(nanosuspension, NS)作为由药物微粒与少量稳定剂组成的亚微胶体体系,具备较高的载药量、简便的制备工艺以及不依赖于有毒赋形剂的优势,特别适合用于中药成分的递送^[10-12]。本实验通过湿法介质研磨^[13-14]制备芦丁纳米混悬剂(Ru-NS),并通过 Box-Behnken 设计-响应面法(Box-Behnken design response surface method, BBD-RSM)优化其制备工艺。对 Ru-NS 的理化性质进行了表征,并进行了体外溶解度测试。进一步通过大鼠在体单向肠灌注模型^[15],定量分析了 Ru-NS 在不同肠段(包括十二指肠、空肠、回肠及结肠)的吸收速率常数(K_a)与渗透系数(P_{app}),为开发具有高生物利用度的口服制剂提供理论支持。

1 材料与仪器

1.1 试剂

芦丁(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 HR1345W4,纯度 98%);泊洛沙姆 188(瑞泰生物科技有限公司,纯度 99%);十二烷基硫酸钠(北京偶合科技有限公司,批号: 20231213,纯度 99%);羟丙甲纤维素-E5(安徽山河药用辅料有限公司,批号: 170709,纯度 99%);乙腈和甲醇均为色谱纯,购自美国 Fisher 公司;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器

Nanotrac Wave 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(美国麦奇克仪器有限公司);Tecnai G2 F30 场发射扫描电镜(美国 FEI 公司);Nicolet™ iS50D8 傅里叶变换红外光谱仪(赛默飞世尔科技公司);ADVANCEJS94 X-射线衍射仪(德国 Bruker 公司);JS94 微电泳仪(上海中晨数字技术设备有限公司);LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);OLB-200B 恒温摇床(山东博科科学仪器有限公司);ZRS-8G 溶出度测定仪(天津市天大天发科技有限公司);LSP01-1A 蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司)。

1.3 动物

SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠,体重 190 ~ 210 g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供(动物合格证编号: SCXK(京)2024-0001)。本研究方案已通过空军特色医学中心伦理审查委员会批准

(伦理批件号:空特(科研)第 2023-57-PJ01)。

2 方法与结果

2.1 Ru-NS 的制备

采用湿法介质研磨法制备 Ru-NS。首先,精确称取一定量的芦丁和羟丙甲纤维素-E5(HPMC-E5),放入 10 ml 西林瓶中,加入 4 ml 超纯水,接着加入磁力搅拌子和 4 ml 直径为 0.4 至 0.6 mm 的氧化锆珠。将西林瓶放置在磁力搅拌器上搅拌一定时间,最后滤去氧化锆珠,即可得到 Ru-NS。

2.2 粒径测定

取 Ru-NS 溶液适量,用超纯水稀释至合适浓度,采用 Nanotrac Wave 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪在 25℃ 条件下测定其平均粒径和多分散性指数(polydispersity index, PDI)。每个样品平行测定 3 次,并计算平均值^[16]。

2.3 工艺优化

2.3.1 单因素试验考察

以 Ru-NS 的平均粒径和 PDI 作为评价指标,分别考察芦丁原料药用量、稳定剂种类以及稳定剂加入量对制备工艺的影响^[16]。

2.3.1.1 芦丁原料药用量的筛选

在固定其他条件下,分别使用 10、20、40 mg 的芦丁用量,结果如表 1 所示。随着芦丁用量增加,Ru-NS 粒径呈现先减小后增大的趋势,在添加 20 mg 芦丁时,粒径最小。因此,选择 20 mg 为最佳药用量。

表 1 芦丁添加量对 Ru-NS 平均粒径及 PDI 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

芦丁添加量/mg	平均粒径/nm	PDI
10	206.75±26.99	0.203 8±0.084 1
20	162.40±17.77	0.193 7±0.079 7
40	213.13±13.07	0.215 3±0.088 1

2.3.1.2 稳定剂类型的筛选

固定其他制备条件不变,选择不同稳定剂(P188、SDS 及 HPMC-E5)进行考察,结果见表 2。结果表明以 HPMC-E5 作为稳定剂制备得到的 Ru-NS 粒径较小,且 PDI 小于 0.2,具有良好的均一性,故选择 HPMC-E5 为稳定剂制备 Ru-NS。

表 2 不同稳定剂对 Ru-NS 平均粒径及 PDI 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

稳定剂类型	平均粒径/nm	PDI
P188	157.76±34.10	0.247 3±0.049 5
SDS	148.83±30.02	0.151 9±0.087 9
HPMC-E5	140.63±19.53	0.159 2±0.059 7

2.3.1.3 稳定剂用量的筛选

固定其他制备条件不变,HPMC-E5 的用量分

别为 2、4、8 mg, 结果见表 3。结果表明, 随着 HPMC-E5 添加量的增加, Ru-NS 的粒径逐渐增大, 故最终选择 HPMC-E5 添加量为 2 mg。

表 3 HPMC-E5 添加量对 Ru-NS 平均粒径及 PDI 的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

HPMC-E5/mg	平均粒径/nm	PDI
2	133.86 $\pm$ 2.74	0.1872 $\pm$ 0.048 7
4	180.13 $\pm$ 13.74	0.2206 $\pm$ 0.101 7
8	198.27 $\pm$ 19.36	0.2175 $\pm$ 0.063 4

2.3.2 响应面试验优化 Ru-NS 的制备工艺

2.3.2.1 响应面试验设计

在 Ru-NS 制备中, 其制备工艺参数之间具有交互影响, 故在单因素优化处方的基础上, 设计响应面优化试验^[17-18]。选择制备工艺中对 Ru-NS 粒径及 PDI 影响较大的 3 个因素包括研磨时间(A)、氧化锆用量(B)及研磨速度(C)进行优化, 以粒径(Y_1)及 PDI(Y_2)为响应值来考察三者之间的交互效应, 试验设计及结果见表 4。

表 4 响应面试验设计及结果

序号	A/h	B/ml	C/(r/min)	粒径/nm	PDI
1	0.5	5	900	216.40	0.249 7
2	1	4	900	166.30	0.255 9
3	1	4	900	149.30	0.247 8
4	2	3	900	174.00	0.229 6
5	0.5	4	600	205.70	0.285 7
6	1	5	1200	187.10	0.193 5
7	1	4	900	136.40	0.244 3
8	1	4	900	115.20	0.189 3
9	2	4	600	178.00	0.205 4
10	1	3	1200	186.60	0.276 6
11	0.5	3	900	187.70	0.200 8
12	2	5	900	130.70	0.089 2
13	0.5	4	1200	191.40	0.254 3
14	1	3	600	171.50	0.202 9
15	2	4	1200	128.10	0.102 2
16	1	5	600	184.70	0.281 1
17	1	4	900	133.30	0.223 2

2.3.2.2 二次多元回归模型的建立及显著性分析

使用 Design-Expert 13 软件处理数据, 拟合二次多项式方程, 研磨时间(A)、氧化锆用量(B)和研磨速度(C)为自变量, 粒径(Y_1)和 PDI(Y_2)为因变量。最终得到方程: $Y_1=129.27-23.8A-3.14B-7.78C-18.17AB-11.66AC-3.17BC+26.04A^2+21.89B^2+20.49C^2$, $R^2=0.8559$; $Y_2=0.2193-0.0455A-0.0201B-0.0222C-0.0483AB-0.0218AC-0.0403BC-0.0203A^2-0.0066B^2+0.013C^2$, $R^2=0.8928$ 。经方差分析, 对于 Y_1 模型方程, $P=0.028<0.05$, 显著, 而失拟项 $P=0.6796>0.05$, 失拟不显著; 对于 Y_2 模型方程, $P=0.0111<0.05$, 显著, 失拟项 $P=0.4361>0.05$,

失拟不显著。表明该模型的拟合度良好, 适合用于 Ru-NS 制备工艺的优化。

2.3.2.3 响应面分析与优化结果

通过使用 Design-Expert 13 软件, 在固定某一因素的情况下, 绘制了研磨时间、氧化锆用量和研磨速度的响应面图, 结果如图 1 所示。根据优化结果, Ru-NS 的最佳制备工艺为: 研磨时间 0.842 h, 氧化锆珠子用量 3.044 ml, 研磨速率 810.102 r/min。最终确定实际工艺为: 研磨时间 0.8 h, 氧化锆珠子用量 3 ml, 研磨速度 810 r/min。

2.3.3 最优工艺验证

根据单因素实验确定的最佳配方及响应面优化结果, 制备了 3 批 Ru-NS, 芦丁用量为 20 mg, HPMC-E5 用量为 2 mg, 研磨时间为 0.8 h, 氧化锆珠用量为 3 ml, 研磨速度为 810 r/min, 且粒径预测值为 138.27 nm, PDI 为 0.2240。工艺验证结果显示, 平均粒径为 (138.47 $\pm$ 6.33)nm, PDI 为 0.1401 $\pm$ 0.0704, 表明该工艺具有较好的重复性。

2.4 Zeta 电位测定

取 Ru-NS 溶液适量, 用超纯水稀释至合适浓度, 用 JS94 微电泳仪测定 Zeta 电位。Ru-NS 的 Zeta 电位 (-43.72 $\pm$ 1.86)mV, 其绝对值大于 30 mV, 表明 Ru-NS 的稳定性良好^[19]。

2.5 Ru-NS 的表征

2.5.1 扫描电子显微镜

取适量的 Ru-NS 溶液, 用超纯水稀释至合适浓度, 然后均匀滴落在锡箔纸上自然干燥。对样品实施真空喷金处理, 随后采用扫描电子显微镜 (SEM) 采集其形貌图像, 结果如图 2 所示。Ru-NS 呈现不规则的棒状结构, 粒径主要集中在 100 至 300 nm 的范围内。

2.5.2 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)

分别取适量芦丁、HPMC-E5、芦丁与 HPMC-E5 物理混合物以及 Ru-NS 冻干粉, 与光谱级溴化钾按一定质量比例混合, 充分研磨后压片。采用傅里叶变换红外光谱仪进行测定, 扫描范围设定为 4000 ~ 400 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} , 以空气为背景^[20]。红外光谱数据采用 OMNIC 8.2 软件采集和保存, 结果见图 3。芦丁的特征峰为 3426 cm^{-1} (O-H 拉伸振动峰)、1658 cm^{-1} (C=O 拉伸振动)、1599 cm^{-1} 、1555 cm^{-1} 及 1505 cm^{-1} (苯环 C=C 骨架振动)。对于 HPMC-E5, 特征峰为 3484 cm^{-1} (O-H 拉伸振动峰)、2838 cm^{-1} (甲氧基的 C-H 弯曲振动峰)。在 Ru-NS 的 FTIR 谱图中, O-H 振动拉伸峰峰移动至 3422 cm^{-1} 处, 表明芦丁与 HPMC-E5 之间发生了

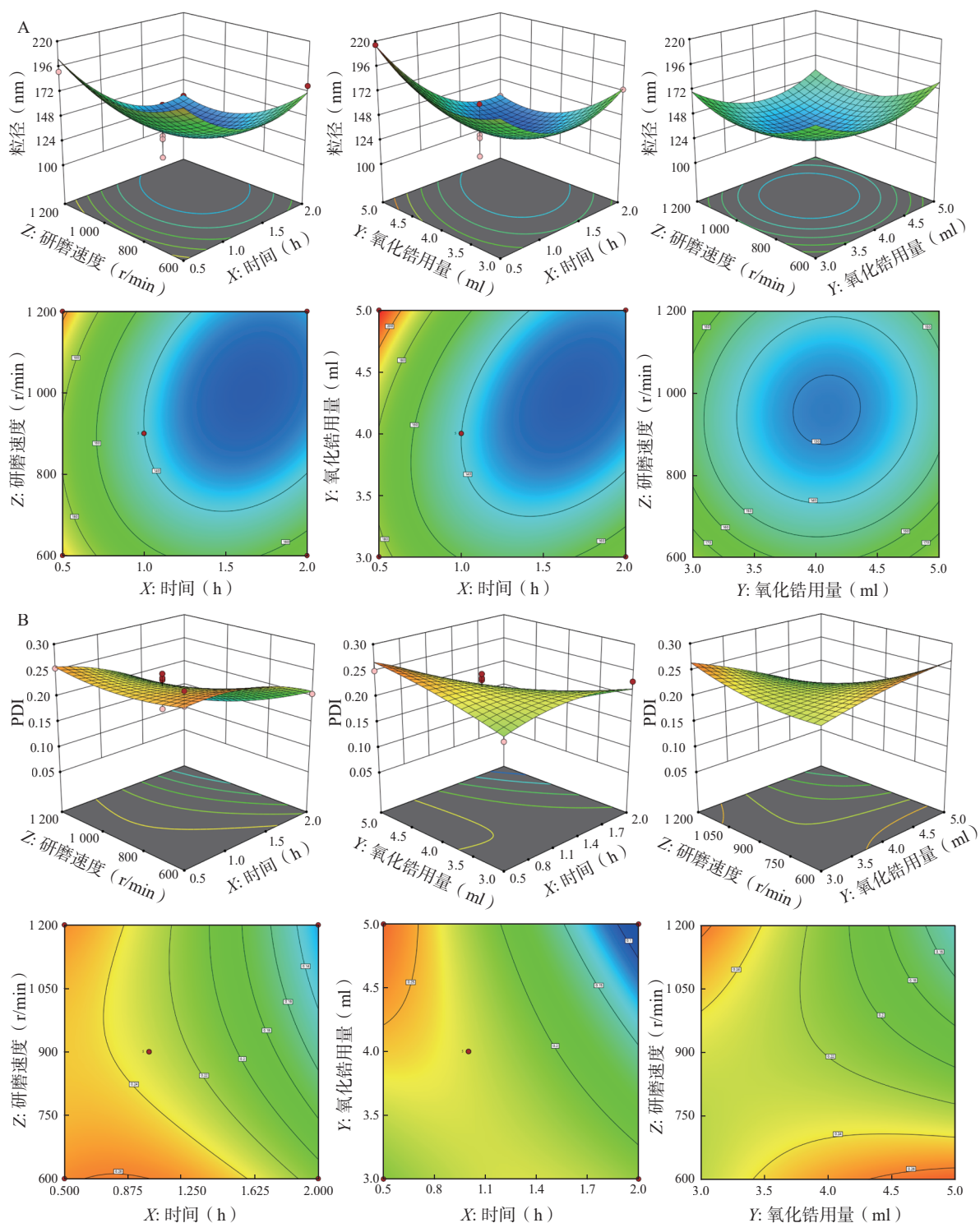


图 1 研磨时间、氧化锆用量及研磨速度间的交互作用对 Ru-NS 影响的响应面图

A.对粒径影响的响应面图;B.对 PDI 影响的响应面图

氢键相互作用^[21-22]。此外, Ru-NS 中芦丁的苯环 C=C 骨架振动峰发生了不同程度的位移, 分别位于 1597 cm^{-1} 、 1557 cm^{-1} 及 1503 cm^{-1} , 表明芦丁与 HPMC-E5 之间可能存在 π - π 堆积作用^[23]。

2.5.3 X 射线衍射(X-ray Diffraction, XRD)

将芦丁、HPMC-E5、芦丁与 HPMC-E5 物理混合物及 Ru-NS 冻干粉分别置于研钵中充分研磨,

使样品形成均匀粉末。取适量粉末装入样品槽, 并用载玻片压平表面, 随后置于 X 射线衍射仪中进行检测^[20]。实验参数设定为: Cu 靶, 管压 40 kV, 管电流 25 mA, 扫描范围(2θ)为 $10^\circ \sim 50^\circ$, 扫描速率为 $2^\circ/\text{min}$, 结果见图 4。芦丁、Ru/HPMC-E5 物理混合物和 Ru-NS 在 $2\theta = 10.4^\circ$ 、 16.7° 、 22.1° 、 26.2° 、 26.8° 附近均可观察到特征衍射峰, 表明芦丁在原料

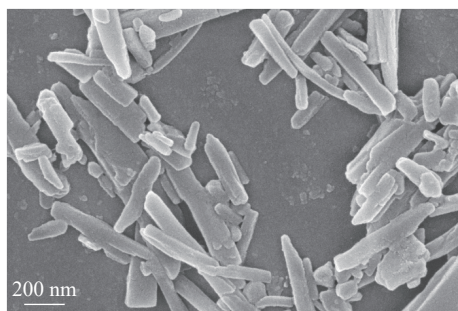


图 2 Ru-NS 的扫描电镜图

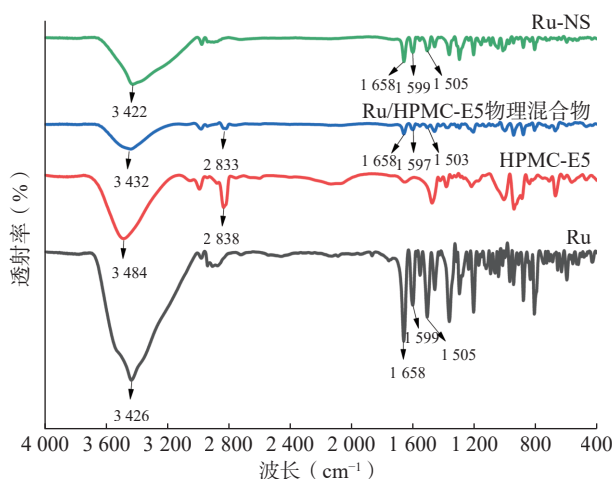


图 3 Ru-NS 的红外光谱图

药及其物理混合物中主要以晶态形式存在。进一步比较发现, HPMC-E5 的加入未明显改变芦丁的晶体结构, 说明芦丁在物理混合物中仍保持较稳定的结晶状态。与之相比, Ru-NS 的衍射峰强度明显降低, 部分弱衍射峰消失, 提示湿法介质研磨过程中产生的机械作用可能导致芦丁晶体粒径减小、晶格缺陷增加, 从而降低其结晶程度^[20,24]。

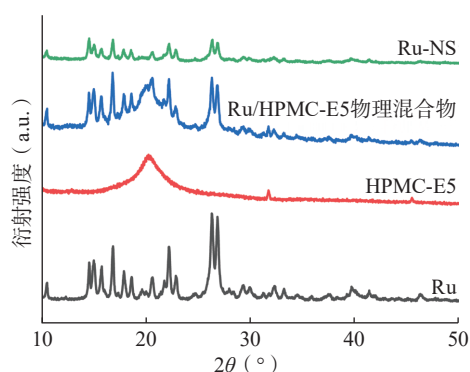


图 4 Ru-NS 的 X 射线衍射谱图

2.6 饱和溶解度

为了测定芦丁的饱和溶解度, 将过量的芦丁、芦丁和 HPMC-E5 的物理混合物及 Ru-NS 分别分散在去离子水中, 置于恒温振荡培养箱($37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 转速 100 r/min)平衡 24 h。结束后, 取悬浊液于室

温下 13 000 r/min, 离心 30 min, 确保相分离完全。精密量取一定体积的上清液, 加 3 倍体积甲醇稀释, 经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 通过 HPLC 检测得芦丁、芦丁/HPMC-E5 物理混合物及 Ru-NS 的饱和溶解度分别为 $(52.24 \pm 3.71) \mu\text{g/ml}$ 、 $(54.97 \pm 0.81) \mu\text{g/ml}$ 、 $(79.64 \pm 0.09) \mu\text{g/ml}$, 其中 Ru-NS 的溶解度较原料药提升了 52.45%, 说明纳米技术能有效提高芦丁的水溶解度。

2.7 体外溶出考察

采用透析袋扩散法(分子截留量 MW: 14000)进行药物释放研究: 分别精密吸取芦丁混悬液、芦丁和 HPMC-E5 的物理混合物溶液及 Ru-NS 溶液各 1 ml, 注入预处理后的透析袋中, 后置于 ZRS-8G 溶出度测定仪中。以 250 ml 含 0.2% 聚山梨酯 80 的 PBS 溶液作为释放介质, 温度控制为 $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 转速设为 100 r/min。分别于释放 0.5、1、2、4、8、12、24、36 和 48 h 时取样 2 ml, 并及时补充等体积、等温的新鲜释放介质。样品经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, 采用 HPLC 测定药物含量, 结果见图 5。结果显示, 在 48 h 内, 芦丁、芦丁/HPMC-E5 物理混合物及 Ru-NS 的累积释放度分别为 42.85%、56.08% 和 81.17%, Ru-NS 相较于原料药提高 1.89 倍, 表明 Ru-NS 能有效提高药物溶出速率和累积释放度, 与饱和溶解度实验结果相印证, 为改善药物肠道吸收提供体外依据。

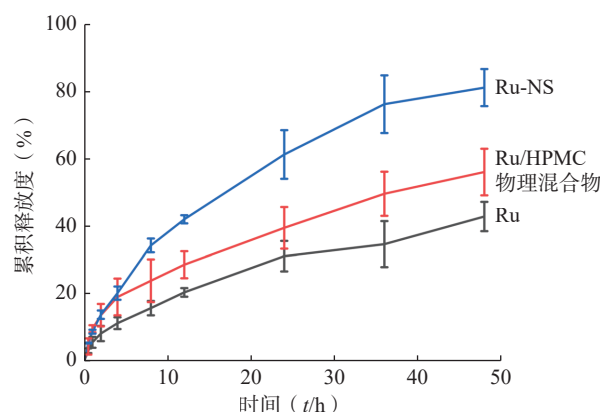


图 5 Ru、Ru/HPMC-E5 的物理混合物及 Ru-NS 的体外释放度 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.8 Ru-NS 的大鼠肠吸收行为研究

2.8.1 溶液的配制

Krebs-Ringer's (K-R) 缓冲液和空白肠灌流液按文献方法^[25]进行配置。芦丁和 Ru-NS 肠灌流液分别用含 0.25% CMC-Na 的 K-R 溶液进行配置, 并将其稀释至 $100 \mu\text{g/ml}$ 。收集大鼠肠灌流流出液, 加 3 倍体积甲醇稀释, 超声 20 min 后, 离心取

上清液经 0.22 μm 滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.8.2 芦丁的含量测定

2.8.2.1 色谱条件

色谱柱 Inertsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为 0.1% 醋酸水-甲醇(50 : 50, V/V), 等度洗脱; 流速 1.0 ml/min; 柱温 30℃; 进样体积 10 μl ; 检测波长 256 nm。

2.8.2.2 专属性试验

分别按照“2.8.2.1”项下的色谱条件测定空白肠灌流液、对照品溶液和 Ru-NS 灌流液, 并记录色谱峰, 如图 6 所示。结果表明, 空白肠灌流液对芦丁的测定没有干扰, 说明该方法具有良好的专属性。

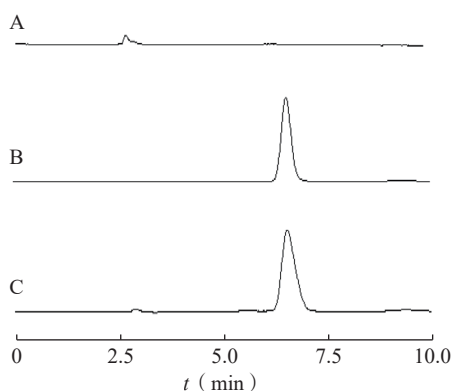


图 6 空白肠灌流液的高效液相色谱图

A. 空白肠灌流液; B. 对照品溶液; C. Ru-NS 灌流液

2.8.2.3 线性关系考察

精确称取适量芦丁对照品, 甲醇定容至 25 ml, 得到浓度为 1 mg/ml 的芦丁对照品储备液。取对照品储备液适量, 用甲醇稀释, 制备系列浓度(0.625、1.25、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{g/ml}$)的对照品溶液。根据色谱条件进行分析, 得到回归方程 $Y = 20706 X - 2091.6 (r=1)$, 表明芦丁在 0.625 ~ 40.00 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性关系良好。

2.8.2.4 精密度试验

分别精密量取对照品母液适量, 置于 10 ml 量瓶中, 用甲醇稀释成高、中、低(30、20、1.25 $\mu\text{g/ml}$) 3 个质量浓度的溶液。按“2.8.2.1”项色谱条件进行测定, 1 d 内平行测定 6 次, 考察其精密度。计算 RSD 分别为 0.22%、0.63%、0.77%, 表明仪器的精密度良好。

2.8.2.5 重复性试验

取 6 份供试品溶液进样, 按“2.8.2.1”项色谱条件进行测定, 考察其重复性。计算 RSD 为 0.93%, 表明 Ru-NS 重复性良好。

2.8.2.6 稳定性试验

取供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 进

样, 按“2.8.2.1”项色谱条件进行测定, 考察其稳定性。计算 RSD 为 0.43%, 表明 Ru-NS 在 24 h 内稳定性良好。

2.8.2.7 加样回收率试验

精确移取 9 份已知质量浓度的 Ru-NS 灌流液, 分别添加样品量的 80%、100% 和 120% 的对照品, 各 3 份。加入适量的甲醇, 超声处理 10 分钟, 定容至 10 ml 并摇匀。按照“2.8.2.1”项下的色谱条件进行测定, 计算得芦丁的加样回收率为 95.61% ~ 98.26%, 符合生物样本准确度分析的要求。

2.8.3 大鼠在体单向肠灌流实验

采用在体单向肠灌流技术, 探讨不同吸收部位对 Ru-NS 肠道吸收的影响。实验中使用健康的 SD 大鼠(雄性, 体重 200±20 g), 禁食 12 小时(自由饮水)。随后, 通过腹腔注射 2.5% 三溴乙醇(10 ml/kg)麻醉大鼠。沿腹白线做 4 cm 切口, 选择待研究的肠段: 十二指肠、空肠、回肠及结肠^[26]。在目标肠段两端插入硅胶管, 并用无菌手术线结扎固定。实验过程中, 以生理盐水浸润纱布覆盖暴露肠组织, 以维持局部湿润, 同时采用红外灯维持动物体温。启动蠕动泵后, 先以 37℃ 生理盐水冲洗肠腔内容物, 再以 0.2 ml/min 流速灌流空白 K-R 溶液 15 min, 使肠段达到平衡状态。随后用 37℃ 供试液以相同流速灌流 30 min 后开始计时, 每隔 15 min 收集一次出口灌流液, 共收集 6 份。实验结束后处死大鼠, 并测量所取肠段的长度和内径^[14,16]。

2.8.4 吸收参数的计算与数据处理

采用重量法校正灌流液进、出口体积, 以消除肠道水分吸收或分泌造成的体积变化对结果的影响。根据以下公式计算药物吸收速率常数(K_a)和有效渗透系数(P_{app}):

$$K_a = \frac{Q \left(1 - \frac{C_{out} V_{out}}{C_{in} V_{in}} \right)}{\pi r^2 l} \quad (1)$$

$$P_{app} = \frac{-Q \ln \left(\frac{C_{out} V_{out}}{C_{in} V_{in}} \right)}{2 \pi r l} \quad (2)$$

其中, V_{in} 和 V_{out} 为肠道进、出口的灌流液体积(ml); r 和 l 分别为待考察肠段的内径半径(cm)和长度(cm); C_{in} 和 C_{out} 为药物浓度($\mu\text{g/ml}$); Q 为灌流液流速(ml/min)^[27]。

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验分析, $P < 0.05$ 时, 说明存在显著性差异^[16]。

2.8.5 大鼠不同肠段对 Ru-NS 吸收的影响

取芦丁和 Ru-NS 肠灌流液, 采用“2.8.3”项下方法, 分别以十二指肠, 空肠、回肠和结肠作为灌流

部位,以 0.2 ml/min 的速度灌流,持续灌流 90 min。采用重量法校正^[20],通过“2.8.4”项下公式(1,2)计算 K_a 和 P_{app} ,比较芦丁和 Ru-NS 肠灌流液在不同肠段吸收的 K_a 和 P_{app} 差异,见表 5。在正常大鼠中,芦丁和 Ru-NS 在不同肠段中的 K_a 和 P_{app} 为十二指肠>回肠>空肠>结肠,其中芦丁和 Ru-NS 在十

二指肠和回肠中的吸收速率均显著高于结肠($P<0.001$),表明芦丁和 Ru-NS 的主要吸收部位在十二指肠和回肠。在芦丁形成纳米粒后,其在十二指肠、回肠和空肠中的吸收速率均显著提高($P<0.05$),在十二指肠和回肠中的渗透能力显著高于芦丁($P<0.01$)。

表 5 芦丁和 Ru-NS 在不同肠段的吸收参数 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

肠段	芦丁		Ru-NS	
	K_a/min^{-1}	$P_{app}/\times 10^{-3} \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$	K_a/min^{-1}	$P_{app}/\times 10^{-3} \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$
十二指肠	0.0373 $\pm$ 0.0091 ³⁾	3.4509 $\pm$ 0.7762 ²⁾	0.0511 $\pm$ 0.0064 ³⁾⁵⁾	4.6866 $\pm$ 0.6471 ³⁾⁵⁾
空肠	0.0201 $\pm$ 0.0028	1.8575 $\pm$ 0.3171	0.0301 $\pm$ 0.0071 ²⁾⁴⁾	2.5695 $\pm$ 0.6527
回肠	0.0289 $\pm$ 0.0059 ²⁾	2.7867 $\pm$ 0.3931 ¹⁾	0.0461 $\pm$ 0.0071 ³⁾⁷⁾	4.1461 $\pm$ 0.6443 ³⁾⁶⁾
结肠	0.0117 $\pm$ 0.0021	1.8853 $\pm$ 0.4799	0.0113 $\pm$ 0.0022	1.7494 $\pm$ 0.3824

注: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.001$, ³⁾ $P<0.0001$, 与结肠组相比; ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$, ⁶⁾ $P<0.001$, ⁷⁾ $P<0.0001$, 与芦丁组相比

3 讨论

芦丁为难溶性天然有效成分,在体内传递过程中存在生物利用度低等问题,本研究通过湿法介质研磨法制备 Ru-NS,通过单因素试验和响应面试验优化制备工艺,成功制备出粒径为(138.47 $\pm$ 6.33)nm, PDI 为 0.1401 $\pm$ 0.0704 的 Ru-NS, Zeta 电位为(-43.72 $\pm$ 1.86)mV。在单因素试验中考察了稳定剂类型、芦丁原料药用量和稳定剂添加量对 Ru-NS 粒径和 PDI 的影响,其中芦丁原料药用量和稳定剂添加量对其影响较为显著。稳定剂的选择对于纳米混悬剂的稳定性至关重要。合适的稳定剂通过提供空间位阻或静电排斥力,防止颗粒聚集。而药物浓度过高会导致稳定剂无法充分覆盖颗粒表面,易导致粒径增大甚至絮凝,因此药物浓度与稳定剂的添加量的平衡是影响纳米混悬剂的关键因素^[28-29]。本研究在确定 HPMC-E5 为稳定剂后,选取 20 mg 芦丁和 2 mg HPMC-E5,为 Ru-NS 提供足够的空间位阻,保证了 Ru-NS 的稳定。在此基础上,响应面试验考察了研磨时间、氧化锆用量及研磨速度三者之间的交互关系,结果显示,最佳研磨时间为 0.8 h,氧化锆珠子用量为 3 ml,研磨速率为 810 r/min,得 Ru-NS 粒径为(138.47 $\pm$ 6.33)nm, PDI 为 0.14 $\pm$ 0.07,与模型预测值接近,说明该回归模型具有良好的可靠性,不仅能较好地拟合实际情况,还具备较强的实用价值。

FT-IR 和 XRD 分析表明,芦丁与 HPMC-E5 之间发生了相互作用。FT-IR 谱图显示, Ru-NS 的特征吸收峰与原料药芦丁和 HPMC-E5 的峰有所变化,表明两者之间存在分子间相互作用^[30]。XRD 分析进一步证实, Ru-NS 的结晶性较原料药芦丁显

著降低,可能是由于纳米化过程导致的晶型转变。Ru-NS 的饱和溶解度相较于芦丁原料药提高至 1.52 倍,表明纳米化处理显著改善了芦丁的溶解性。由于纳米混悬剂具有更大的比表面积, Ru-NS 的累积释放度和溶解速率也得到显著提高,这为提高药物在肠道中的吸收提供了一定的支撑。

大鼠在体单向肠灌流法具有不损伤血管及神经的特点,可避免消化道固有的生理运动产生影响,因此本实验采用该模型进行 Ru-NS 在大鼠不同肠段的吸收行为研究。结果表明,芦丁和 Ru-NS 在不同肠段中的 K_a 和 P_{app} 为十二指肠>回肠>空肠>结肠,并且 Ru-NS 在十二指肠、回肠、空肠中的吸收显著提高($P<0.05$),这可能由于芦丁以纳米混悬状态直接或间接地与小肠上皮细胞接触,同时 Ru-NS 的小粒径,高溶解度和高释放,使其更容易到达小肠上皮细胞,从而促进药物的吸收^[31-32]。综合来看, Ru-NS 在提高芦丁溶解性及肠道吸收方面表现出显著优势,为其在心血管疾病、炎症相关疾病等领域的临床应用提供了新的递药策略。

【参考文献】

- [1] BISWAS S, MONDAL M, PAKHIRA S, et al. Attenuation of paclitaxel-induced toxicities by polyphenolic natural compound rutin through inhibition of apoptosis and activation of NRF2/ARE signaling pathways[J]. *Food Chem Toxicol*, 2025, 200: 115408.
- [2] WANG X N, GONG M Y, ZHU Z E, et al. Rutin protects the pancreas from inflammatory injury and oncogene-driven tumorigenesis by inhibiting acinar to ductal Metaplasia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 998: 177536.
- [3] 杨乐, 刘丽莉, 程伟伟, 等. 芦丁-溶菌酶复合物微胶囊的特性及释放动力学[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(24): 78-87.
- [4] DONG R X, ZHANG X, LIU Y D, et al. Rutin alleviates

- EndMT by restoring autophagy through inhibiting HDAC1 via PI3K/AKT/mTOR pathway in diabetic kidney disease[J]. *Phy-tomedicine*, 2023, 112: 154700.
- [5] 陶柏楠, 王咏兰, 江露, 等. 柔肝降酶方含药血清抑制人肝星状细胞的活化及自噬 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(33): 5334-5341.
- [6] 杨诗宇, 宋基正, 杨山景, 等. 芦丁药理作用与新剂型的研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(10): 1360-1370.
- [7] ZHANG S P, JIANG M L, CHEN Y, et al. Water solubility-based Rutin encapsulation by HPCD improves its bioavailability, antioxidant capacity and enzyme inhibitory functions[J]. *Food Biosci*, 2025, 65: 105981.
- [8] PEI Y H, LIU M, HE C, et al. Application of pH and hyaluronidase dual-responsive mesoporous carbon nitride nano-drug delivery system for chemodynamic therapy and chemotherapy combination therapy of non-small cell lung cancer[J]. *Appl Mater Today*, 2024, 41: 102469.
- [9] AI Z H, LIU B Y, CHEN J Y, et al. Advances in nano drug delivery systems for enhanced efficacy of emodin in cancer therapy[J]. *Int J Pharm X*, 2025, 9: 100314.
- [10] YANG C Z, WANG W L, XUE L Y, et al. Current status and prospects of nanosuspension for improved transdermal targeted drug delivery[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2024, 97: 105751.
- [11] PiNAR S G, CANPiNAR H, TAN Ç, et al. A new nanosuspension prepared with wet milling method for oral delivery of highly variable drug Cyclosporine A: development, optimization and in vivo evaluation[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 171: 106123.
- [12] ZHANG M D, QIU H Y, HAN Z Y, et al. Topical transdermal administration of lenalidomide nanosuspensions-based hydrogels against melanoma: in vitro and in vivo studies[J]. *Int J Pharm X*, 2025, 9: 100316.
- [13] 魏其鹏, 吴恒乾, 布汝朋, 等. 湿法研磨技术制备纳米制剂及质量评价研究进展 [J]. *聊城大学学报(自然科学版)*, 2024, 37(6): 78-86.
- [14] GAO X P, DAI Y Y, CAO J, et al. Analysis of the effect mechanism of wet grinding on the film properties of pea protein isolate based on its structure changes[J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2023, 89: 103474.
- [15] 邓翔, 朱煜文, 郑冀邢, 等. 波棱甲素-波棱多糖自组装纳米粒的制备及其肠吸收机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(2): 404-411.
- [16] 朱煜文. 波棱瓜子新型自组装纳米粒的构建及其肠吸收机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2024.
- [17] 陈燕, 张雅雯, 周云琨, 等. 响应面法优化西罗莫司胶束及其促小肠吸收作用 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(8): 939-944.
- [18] 刘茜, 房悦, 陈云艳, 等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化清热润湿方提取工艺与临床药效评价 [J]. *中国医院药学杂志*, 2025, 45(1): 47-54.
- [19] ARSHAD A, ARSHAD S, ALAMGEER, et al. Zeta potential changing self-nanoemulsifying drug delivery systems: a new-fangled approach for enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs[J]. *Int J Pharm*, 2024, 655: 123998.
- [20] 邓翔. 油酸介导的波棱甲素自组装纳米粒稳定性机制及吸收行为研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2025.
- [21] ZHU Y W, DENG X, WU Y, et al. Formation mechanism of herpetrione self-assembled nanoparticles based on pH-driven method[J]. *Chin Chem Lett*, 2025, 36(1): 109733.
- [22] 朱煜文, 邓翔, 陈莉, 等. 波棱瓜子新型自组装纳米粒的构建及评价 [J]. *药科学报*, 2024, 59(2): 448-454.
- [23] YAN T Y, YUAN W, ZHANG L X, et al. Natural flavonoid glycoside-based self-assembled nanoparticles for synergistic antibacterial activity and improved antioxidant properties[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2025, 105: 106583.
- [24] SHEN B D, ZHU Y W, WANG F X, et al. Fabrication and in vitro/vivo evaluation of quercetin nanocrystals stabilized by glycyrrhizic acid for liver targeted drug delivery[J]. *Int J Pharm X*, 2024, 7: 100246.
- [25] 徐鹏飞, 张锐, 关志宇, 等. 三七总皂苷壳聚糖纳米粒的制备与肠吸收特性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 95-102.
- [26] 王曦悦, 李春燕, 董馨, 等. 离体外翻肠囊法研究蒙药塔布森-2 中 8 个苯丙素类成分的肠吸收特性 [J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(22): 2278-2284.
- [27] 朱煜文, 邓翔, 陈莉, 等. 波棱瓜子自组装纳米粒的制备及其肠吸收机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(12): 3212-3219.
- [28] MA L, GAO H X, CHENG C, et al. Fabrication of emulsions using high loaded curcumin nanosuspension stabilizers: Enhancement of antioxidant activity and concentration of curcumin in micelles[J]. *J Funct Foods*, 2023, 110: 105858.
- [29] LEI H L, LIU Y L, FANG S B, et al. In vitro and in vivo evaluation of a novel folate-based amphiphilic multifunctional stabilizer for targeting tumors with paclitaxel nanosuspensions[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2024, 101: 106197.
- [30] TAO W, FERREIRA I M P L V O, HE J R, et al. Tailored zein-polysaccharide nanoparticles for anthocyanin encapsulation: Insights into preparation and characterization[J]. *Food Hydrocoll*, 2025, 166: 111365.
- [31] ZHANG M X, ZHOU N, ZHAO L, et al. Black rice anthocyanins nanoparticles based on bovine serum albumin and hyaluronic acid: Preparation, characterization, absorption and intestinal barrier function protection in Caco-2 monolayers[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 267: 131325.
- [32] HASHEMI N, KRØYER RASMUSSEN M, TSOCHATZIS E D, et al. In vitro digestion and intestinal absorption of curcumin-loaded zein nanoparticles[J]. *J Funct Foods*, 2023, 110: 105818.

[收稿日期] 2026-02-12 [修回日期] 2026-07-08

[本文编辑] 陈盛新