

• 药剂与工艺 •

甘草多糖稳定的黄芩苷纳米晶的制备及体内外评价

陈芳雯^{1,2}, 张双辰^{1,2}, 张年战^{1,2}, 沈成英³, 岳鹏飞^{1,2*}, 申宝德^{1,2*}

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

2. 经典名方现代中药创制全国重点实验室, 江西 南昌 330004

3. 江西省人民医院(南昌医学院第一附属医院)药学部, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 制备甘草多糖稳定的黄芩苷纳米晶(*Glycyrrhiza* polysaccharide-stabilized baicalin nanocrystals, Bai-NCs/GP), 并考察其理化性质及体内药动学。**方法** 采用介质研磨法制备 Bai-NCs/GP, 以平均粒径和多分散性指数(polydispersity index, PDI)为考察指标, 单因素实验优化处方和工艺; 对优化所得的 Bai-NCs/GP 进行形态、晶型、溶解度与溶出度表征, LC-MS/MS 法测定大鼠分别 ig 给予 Bai-NCs/GP 与黄芩苷后的血药浓度, 对比其生物利用度差异。**结果** Bai-NCs/GP 的最佳处方和工艺参数为黄芩苷与甘草多糖质量比为 10:5, 黄芩苷的用量为 1.00%, 研磨转速为 1400 r/min, 研磨时间为 24 h。Bai-NCs/GP 呈不规则纳米颗粒, 平均粒径为(146.29±8.07) nm, 多分散指数(polydispersity index, PDI)为 0.22±0.01, ζ 电位为(-21.60±0.58) mV。与黄芩苷原料药相比, Bai-NCs/GP 的结晶度降低, 溶解度增加了 43 倍, 溶出度显著改善; Bai-NCs/GP 的达峰浓度(maximum plasma concentration, C_{max})和药-时曲线下面积(area under the plasma concentration-time curve, AUC_{0-t})分别为(2318.65±341.60) ng/mL 和(34439.68±5548.79) ng·h/mL, 是黄芩苷的 2.31 倍和 2.77 倍, 口服生物利用度显著提高。**结论** 甘草多糖可以作为稳定剂用于制备黄芩苷纳米晶, 所制备的 Bai-NCs/GP 能够提高黄芩苷的溶解度和体外溶出度, 改善黄芩苷的口服生物利用度。

关键词: 黄芩苷; 甘草多糖; 纳米晶; 介质研磨法; 溶解度; 药动学; 溶出度; 晶型; 生物利用度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)14-5491-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.14.012

Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of *Glycyrrhiza* polysaccharide-stabilized baicalin nanocrystals

CHEN Fangwen^{1,2}, ZHANG Shuangchen^{1,2}, ZHANG Nianzhan^{1,2}, SHEN Chengying³, YUE Pengfei^{1,2}, SHEN Baode^{1,2}

1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. State Key Laboratory for the Modernization of Classical and Famous Prescriptions of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

3. Department of Pharmacy, Jiangxi Provincial People's Hospital, the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To prepare *Glycyrrhiza* polysaccharide-stabilized baicalin nanocrystals (Bai-NCs/GP) and investigate their physicochemical properties and *in vivo* pharmacokinetics. **Methods** Bai-NCs/GP were prepared using a media milling method. The formulation and process were optimized through single-factor experiments based on average particle size and polydispersity index

收稿日期: 2026-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(82460852); 国家自然科学基金项目(82260848); 江西省自然科学基金项目(20232BAB216139); 国家青年岐黄学者培养项目(2022256); 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划项目(CXTD22006)

作者简介: 陈芳雯, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术。E-mail: 2973170947@qq.com

***通信作者:** 岳鹏飞, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: ypfpharm@126.com

申宝德, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: shenbaode@163.com

(PDI). The optimized Bai-NCs/GP formulation was characterized for morphology, crystal form, solubility, and dissolution rate. LC-MS/MS was used to measure blood concentrations of Bai-NCs/GP and baicalin after oral administration in rats, comparing their bioavailability differences. **Results** The optimal formulation and processing parameters for Bai-NCs/GP were determined as follows: a baicalin to *Glycyrrhiza* polysaccharide ratio of 10:5, a baicalin content of 1.00%, a grinding speed of 1 400 r/min, and a grinding time of 24 h. Bai-NCs/GP exhibited irregular nanoparticles with an average particle size of (146.29 ± 8.07) nm, polydispersity index (PDI) of 0.22 ± 0.01 , and ζ potential of (-21.60 ± 0.58) mV. Compared to baicalin, Bai-NCs/GP showed reduced crystallinity, 43-fold increased solubility, and significantly improved dissolution rate. The peak concentration ($C_{\max}$) and AUC_{0-t} of Bai-NCs/GP were $(2\ 318.65 \pm 341.60)$ ng/mL and $(34\ 439.68 \pm 5\ 548.79)$ ng·h/mL, respectively, representing 2.31-fold and 2.77-fold increases over baicalin, with markedly enhanced oral bioavailability. **Conclusion** *Glycyrrhiza* polysaccharide can serve as a stabilizer in the preparation of baicalin nanocrystals. The resulting Bai-NCs/GP nanocrystals enhance the solubility and *in vitro* dissolution rate of baicalin, thereby improving its oral bioavailability.

Key words: baicalin; *Glycyrrhiza* polysaccharide; nanocrystals; media grinding; solubility; pharmacokinetics; dissolution; crystal form; bioavailability

黄芩苷是黄芩的主要活性成分,是由黄芩素与葡萄糖醛酸,通过糖苷键连接而成的黄酮类化合物,具有抗炎、抗菌、抗病毒、调血脂、神经保护、抗肿瘤等多种药理作用^[1-4]。然而,黄芩苷在水中溶解度低(<0.1 mg/mL),脂溶性也较差,严重限制了其口服吸收,导致口服生物利用度偏低,影响了药理作用的发挥。目前,已有许多制剂如固体分散体、脂质体、纳米乳和纳米晶等用于改善黄芩苷的生物利用度^[5],其中,纳米晶因其处方组成简单、载药量高、制备过程简便等优点受到广泛关注^[6]。药物纳米晶是由药物活性成分直接构成的纳米颗粒($10\sim 1\ 000$ nm)分散体系,仅有少量稳定剂(表面活性剂或聚合物)维持纳米分散状态及稳定性,能显著改善难溶性药物的溶出和生物利用度。

近年来,由于化学稳定剂潜在的安全性问题,部分学者探索开发新型天然稳定剂用于纳米晶的制备,如食物蛋白^[7]、血清蛋白^[8]和天然皂苷^[9-10]等。中药成分复杂多样,其大分子成分(如多糖、蛋白)及小分子皂苷等,不仅具备作为纳米晶稳定剂的结构基础,多数还兼具生物活性,契合“药辅合一”的思想,为药物纳米晶稳定剂的开发提供了独特的来源。

甘草与黄芩是中医临床上常用的经典药物配伍。课题组前期研究发现,甘草活性成分甘草酸可以作为稳定剂,用于难溶性药物纳米晶的制备^[11],不仅可以发挥协同增效作用^[12],还可以用于药物肝靶向递送^[13]。另有研究表明,甘草多糖可以用于甘草查耳酮A纳米粒的构建^[14]。

基于此,本研究拟探索甘草多糖作为稳定剂制备黄芩苷纳米晶的可行性,以提高黄芩苷的生物利用度。采用介质研磨法制备甘草多糖稳定的黄芩苷

纳米晶(*Glycyrrhiza* polysaccharide-stabilized baicalin nanocrystals, Bai-NCs/GP),单因素实验优化其处方和工艺,并进行粒径、形态、晶型、溶解度和溶出度等理化性质评价以及大鼠体内药动学研究,以期为黄芩苷新制剂的研究与开发提供借鉴和参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

B11-3 型即热式恒温加热磁力搅拌器,上海司乐仪器有限公司;SCIENTZ-10N 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;Agilent 1260 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;SW-80A 型涡旋混合仪器,上海青浦沪西仪器厂;EL104/XS3DU 型分析天平,梅特勒-托利多国际股份有限公司;TGL-20MC 型高速离心机,湖南湘鑫仪器仪表有限公司;Zetasizer Pro 型纳米粒度仪,英国 Malvern 公司;S-4800 型扫描电子显微镜,日本 HITACHI 公司;D8 Advance X 型射线衍射仪,德国布鲁克公司;TA DSC250 型差示扫描量热仪,美国 TA 公司;THZ-300C 型恒温培养摇床,上海一恒科学仪器有限公司;ZRS-8G 型智能溶出仪,天大天发科技有限公司;TRIPLE QUDA 5500 型液质联用仪,美国 AB Sciex 公司。

1.2 材料

黄芩苷原料药,批号 HR2141W1,质量分数 $\geq 98.0\%$,宝鸡辰光生物科技有限公司;对照品黄芩苷(批号 2550427002,质量分数 $\geq 98.0\%$)、染料木素(批号 M22GB142479,质量分数 $\geq 98.0\%$),均购自上海源叶生物有限公司;甘草多糖,批号 240408,质量分数 $\geq 98.0\%$,陕西慈缘生物技术有限公司;甲醇,分析纯,西陇科学股份有限公司;甲醇、乙腈、

磷酸, 色谱级, 均购自湖北弗顿科学技术有限公司; 甲酸, 质谱级, 上海麦克林生化科技股份有限公司。

1.3 动物

健康雄性 SPF 级 SD 雄性大鼠, 购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司, 许可证号为 SCXK(豫)2020-0005, 动物实验经南昌医学院实验动物伦理委员会批准, 批准号为 NYLLSC2025090301。

2 方法与结果

2.1 Bai-NCs/GP 的制备

称取适量甘草多糖于 10 mL 西林瓶中, 加入 4 mL 水, 待甘草多糖完全溶解后加入适量的黄芩苷原料药, 随后加入 0.5 mm 氧化锆研磨珠 15 g, 西林瓶置于磁力搅拌器上, 在一定转速下研磨数小时, 滤过, 去除氧化锆研磨珠, 即得 Bai-NCs/GP 混悬液。

2.2 Bai-NCs/GP 粒径分析与 ζ 电位测定

取适量 Bai-NCs/GP, 加水稀释 50 倍后, 用 Zetasizer Nano-S 型纳米粒度仪测定粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 和 ζ 电位, 设定介质系数为 1.333, 测定温度为 25 °C, 平行测定 3 次, 取其平均值。

2.3 Bai-NCs/GP 处方和工艺筛选

以粒径和 PDI 为评价指标, 固定黄芩苷与甘草多糖的质量比为 10 : 5, 考察黄芩苷用量 (0.50%、0.75%、1.00%、1.25%、1.50%)、研磨转速 (600、800、1 000、1 200、1 400 r/min) 和研磨时间 (2、4、8、12、24 h) 对 Bai-NCs/GP 制备的影响, 结果见表 1~3。随着黄芩苷用量的增加, Bai-NCs/GP 的粒径先减小后增加, PDI 呈无规律变化, 黄芩苷用量为 1.00% 时, Bai-NCs/GP 的粒径及 PDI 最小 (表 1)。由表 2 显示, 随着研磨转速的增加, Bai-NCs/GP 的粒径和 PDI 变化不显著, 在 1 400 r/min 时, 粒径

表 1 黄芩苷用量对 Bai-NCs/GP 粒径和 PDI 的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of baicalin content on particle size and PDI of Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

黄芩苷/%	平均粒径/nm	PDI
0.50	822.00 $\pm$ 134.13*	0.73 $\pm$ 0.05*
0.75	709.63 $\pm$ 55.09*	0.75 $\pm$ 0.04*
1.00	418.67 $\pm$ 16.26	0.52 $\pm$ 0.02
1.25	587.57 $\pm$ 7.80	0.79 $\pm$ 0.06*
1.50	627.27 $\pm$ 5.72	0.66 $\pm$ 0.03*

与黄芩苷用量 1.00% 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs baicalin dosage 1.00% group.

表 2 研磨转速对 Bai-NCs/GP 粒径和 PDI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of grinding speed on particle size and PDI of Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

研磨转速/(r·min ⁻¹)	平均粒径/nm	PDI
600	580.80 $\pm$ 66.64	0.63 $\pm$ 0.04*
800	588.57 $\pm$ 55.15	0.60 $\pm$ 0.05*
1 000	507.97 $\pm$ 107.39	0.58 $\pm$ 0.02*
1 200	467.43 $\pm$ 108.69	0.58 $\pm$ 0.04*
1 400	414.10 $\pm$ 60.82	0.56 $\pm$ 0.08

与研磨转速 1 400 r·min⁻¹ 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs grinding speed 1 400 r·min⁻¹ group.

表 3 研磨时间对 Bai-NCs/GP 粒径和 PDI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of grinding time on particle size and PDI of Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

研磨时间/h	平均粒径/nm	PDI
2	367.70 $\pm$ 28.23*	0.60 $\pm$ 0.03*
4	285.50 $\pm$ 34.96*	0.47 $\pm$ 0.02*
8	193.97 $\pm$ 0.15	0.43 $\pm$ 0.01*
12	171.57 $\pm$ 3.25	0.34 $\pm$ 0.01*
24	132.97 $\pm$ 7.96	0.20 $\pm$ 0.02

与研磨时间 24 h 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs grinding time 24 h group.

和 PDI 相对较小; 而随着研磨时间的延长, Bai-NCs/GP 的粒径和 PDI 均显著减小 (表 3)。根据优化结果, 结合实际的研究需要, 最终确定 Bai-NCs/GP 处方工艺: 黄芩苷与甘草多糖质量比为 10 : 5, 黄芩苷用量为 1.00%, 研磨转速为 1 400 r/min, 研磨时间为 24 h。

2.4 处方工艺验证

按照上述处方工艺, 平行制备 3 批 Bai-NCs/GP, 进行验证试验, 测定粒径及 ζ 电位, 结果 (表 4) 显示 3 批 Bai-NCs/GP 的粒径分别为 146.63、138.05、154.19 nm, 平均粒径为 (146.29 $\pm$ 8.07) nm; PDI 分别为 0.22、0.21、0.22, 平均 PDI 为 0.22 $\pm$ 0.01; ζ 电位分别为 -21.49、-22.23、-21.09 mV, 平均 ζ 电

表 4 处方工艺验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Verification results of prescription process ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

试验号	平均粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
1	146.63 $\pm$ 1.41	0.22 $\pm$ 0.01	-21.49 $\pm$ 0.51
2	138.05 $\pm$ 0.26	0.21 $\pm$ 0.02	-22.23 $\pm$ 0.67
3	154.19 $\pm$ 2.75	0.22 $\pm$ 0.01	-21.09 $\pm$ 0.25
平均值	146.29 $\pm$ 8.07	0.22 $\pm$ 0.01	-21.60 $\pm$ 0.58

位为 (-21.60 ± 0.58) mV; 结果表明 Bai-NCs/GP 的制备工艺重现性好。

2.5 稳定性考察

将制备好的 Bai-NCs/GP 放置在 4 °C 冰箱中, 连续 7 d 测定其粒径及 ζ 电位, 结果见表 5。Bai-NCs/GP 在 4 °C 放置 7 d 后的粒径、PDI 和 ζ 电位与第 1 天的结果比较, 变化较小。同时 Bai-NCs/GP 在 7 d 内的粒径、PDI 和 ζ 电位整体变化均较小, 各项指标均保持在较稳定的水平。这一结果说明, Bai-NCs/GP 在低温短期放置过程中物理状态稳定, 未出现明显聚集或分散相分离现象, 具有良好的短期物理稳定性。

表 5 Bai-NCs/GP 的 7 d 稳定性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 5 7 d stability of Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n=3$)

t/d	平均粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
1	132.97 $\pm$ 6.50	0.20 $\pm$ 0.02	-24.65 $\pm$ 0.54
2	135.57 $\pm$ 3.04	0.21 $\pm$ 0.02	-23.61 $\pm$ 0.32
3	139.50 $\pm$ 5.30	0.21 $\pm$ 0.01	-22.88 $\pm$ 0.58
4	138.10 $\pm$ 5.72	0.20 $\pm$ 0.01	-22.46 $\pm$ 0.70
5	138.10 $\pm$ 1.45	0.20 $\pm$ 0.01	-23.02 $\pm$ 0.20
6	134.93 $\pm$ 3.15	0.21 $\pm$ 0.01	-24.16 $\pm$ 0.58
7	138.57 $\pm$ 1.04	0.22 $\pm$ 0.02	-22.87 $\pm$ 0.77

2.6 Bai-NCs/GP 的表征

2.6.1 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察 取适量的黄芩苷原料药和 Bai-NCs/GP 冻干粉于导电胶上, 真空喷金处理后用 SEM 观察样品形态, 结果见图 1。可见, 黄芩苷原料药呈不规则状, 而且粒径分布范围较大, 在数微米至数十微米之间; 而 Bai-NCs/GP 呈不规则颗粒, 粒径分布均一, 在 50~200 nm。

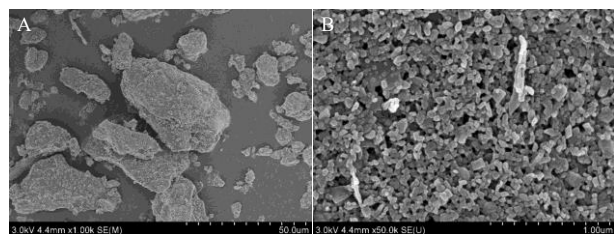


图 1 黄芩苷 (A) 和 Bai-NCs/GP (B) 的 SEM 图

Fig. 1 SEM images of baicalin (A) and Bai-NCs/GP (B)

2.6.2 晶型分析 取适量黄芩苷原料药、甘草多糖、黄芩苷-甘草多糖物理混合物 (baicalin-Glycyrrhiza polysaccharide physical mixture, Bai-GP-PM) 和 Bai-NCs/GP 进行差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 和 X 射线

衍射法 (X-ray diffractometer, XRD) 分析。DSC 测定参数设置: 程序升温范围 25~350 °C, 氧化铝为参比, 气氛为氮气, 升温速率 10 °C/min; XRD 测定参数为 Cu 靶, 管电流 40 mA, 管电压 40 kV, 2 θ 扫描范围 5°~55°, 扫描速度为 5°/min; 结果见图 2。由图 2-A 可知, 黄芩苷原料药在 215.65 °C 存在明显的吸热峰, 而由于甘草多糖的稀释效应, 导 Bai-GP-PM 中黄芩苷原有的熔融峰左移并变弱, 即在 192.46 °C 存在微弱的吸热峰。Bai-NCs/GP 的吸热峰进一步降低并左移, 结果表明, Bai-NCs/GP 的结晶度降低, 趋向于无定型态。

XRD 结果 (图 2-B) 显示, 与黄芩苷原料药和 Bai-GP-PM 相比, Bai-NCs/GP 特征衍射峰峰高及峰强度均明显变弱, 且部分衍射峰消失; 进一步验证了 DSC 的结果。

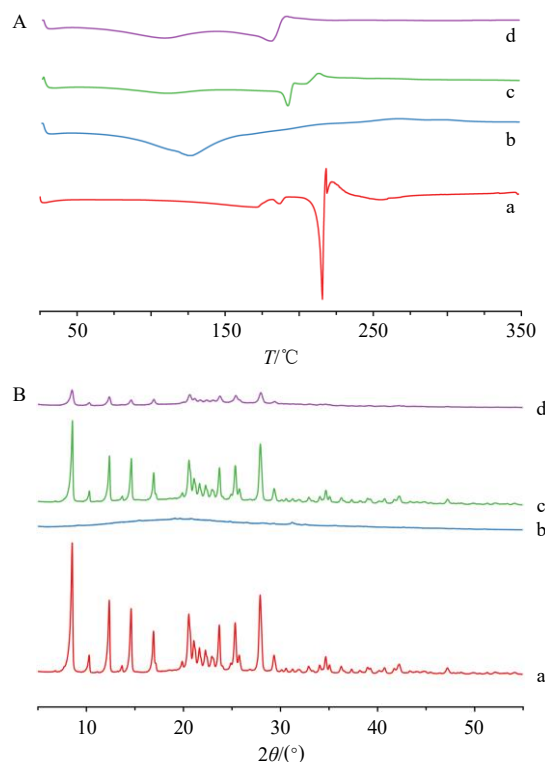


图 2 黄芩苷 (a)、甘草多糖 (b)、Bai-GP-PM (c)、Bai-NCs/GP (d) 的 DSC 图 (A) 和 XRD 图 (B)

Fig. 2 DSC image (A) and XRD image (B) of baicalin (a), Glycyrrhiza polysaccharide (b), Bai-GP-PM (c), and Bai-NCs/GP (d)

2.7 Bai-NCs/GP 中黄芩苷含量测定

2.7.1 对照品溶液的配制 精密称取 1.00 mg 黄芩苷对照品, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解后, 定容即得 100 μ g/mL 的黄芩苷对照品溶液。

2.7.2 供试品溶液的配制 精密称取适量的 Bai-

NCs/GP 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解后, 定容即得供试品溶液。

2.7.3 阴性对照溶液的配制 精密称取适量的甘草多糖置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解后, 定容即得阴性对照品溶液。

2.7.4 色谱条件 使用 SuperLu C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液 (28:72); 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 40 °C; 检测波长为 278 nm; 进样量为 10 μL。

2.7.5 专属性考察 分别吸取“2.7.1”“2.7.2”“2.7.3”项下的黄芩苷对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 1 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 按照“2.7.4”项下色谱条件进样分析, 并记录色谱图, 结果见图 3。可见供试品溶液和黄芩苷对照品溶液的色谱峰峰形对称, 阴性对照溶液对黄芩苷的测定无干扰, 表明该方法专属性良好。

2.7.6 线性关系考察 将黄芩苷对照品溶液加甲醇稀释配制成质量浓度分别为 3、6、12、24、36、60 μg/mL 的系列对照品溶液, 按照“2.7.4”项下色谱

条件进样分析, 记录峰面积。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=30.263X-25.897$, $R^2=0.9994$; 结果表明黄芩苷在 3~60 μg/mL 与峰面积有良好的线性关系。

2.7.7 精密度考察 取“2.7.6”项下配制的质量浓度 24 μg/mL 黄芩苷对照品溶液, 按照“2.7.4”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积, 计算得黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.19%, 结果表明该仪器的精密度良好。

2.7.8 稳定性考察 按照“2.7.2”项下方法制备供试品溶液, 分别在制备后 0、2、4、8、12、18、24 h, 按照“2.7.4”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.41%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7.9 重复性考察 按照“2.7.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.7.4”项下色谱条件依次进样测定, 记录峰面积, 并计算得到黄芩苷质量分数的 RSD 为 0.39%, 结果表明该测定方法的重复性较好。

2.7.10 加样回收率考察 精密称取 6 份已测知黄芩苷含量的 Bai-NCs/GP, 加甲醇配制成供试品溶液, 与同质量浓度的对照品溶液 (12 μg/mL) 混合均匀, 按照“2.7.4”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率, 结果黄芩苷的平均加样回收率为 101.15%, RSD 为 0.58%, 结果表明该方法的准确度好。

2.7.11 含量测定 按照“2.7.2”项下方法平行制备 3 批 Bai-NCs/GP 供试品溶液, 按照“2.7.4”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积, 并计算黄芩苷含量。结果显示, Bai-NCs/GP 中黄芩苷的平均质量分数为 51.15%, RSD 为 1.58%。

2.8 48 h 表观溶解度的测定

称取过量的黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 各 3 份, 加入适量的水和 pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate-buffered saline, PBS), 将样品置于 37 °C 恒温摇床中 100 r/min 振荡 48 h, 13 000 r/min 离心 (本实验所使用离心机的离心半径均为 6.4 cm) 15 min, 取上清至超滤离心管中, 13 000 r/min 离心 15 min, 取滤液适当稀释后, 按照“2.7”项下方法, 测定 Bai-NCs/GP 样品中黄芩苷的质量浓度, 结果见表 6。结果显示, 在水中的表观溶解度顺序为黄芩苷原料药<Bai-GP-PM<Bai-NCs/GP, 具

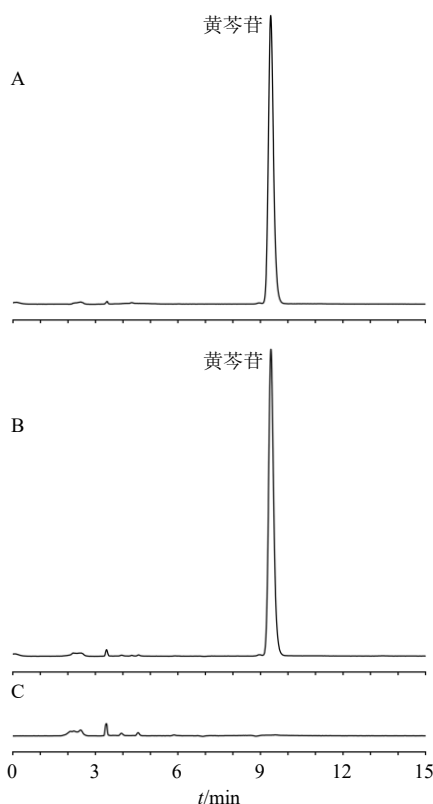


图3 黄芩苷对照品溶液 (A)、Bai-NCs/GP 供试品溶液 (B) 和阴性对照溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of baicalin reference substance solution (A), Bai-NCs/GP test solution (B), and negative control solution (C)

表 6 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 表观溶解度的测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 6 Determination results of apparent solubility of baicalin bulk drug, Bai-GP-PM and Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

样品	表观溶解度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	
	水	pH 6.8 PBS
黄芩苷原料药	$9.07 \pm 0.27^{***}$	$2\ 082.73 \pm 83.22$
Bai-GP-PM	$146.50 \pm 0.79^{***}$	$2\ 257.61 \pm 57.65$
Bai-NCs/GP	392.06 ± 5.84	$2\ 129.09 \pm 56.27$

与 Bai-NCs/GP 组比较: $^{***}P < 0.001$ 。

$^{***}P < 0.001$ vs Bai-NCs/GP group.

有显著性差异 ($P < 0.001$); 在 pH 6.8 PBS 中 3 种样品的表观溶解度无统计学差异。

2.9 Bai-NCs/GP 体外溶出考察

各取 3 份黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 粉末 (均含黄芩苷 15 mg), 溶出介质分别为水和 pH 6.8 PBS, 溶出介质体积为 200 mL, 设定温度为 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 转速为 50 r/min, 于 5、10、15、20、30、45、60、75、90、120 min 取样 1 mL 并补予相同的溶出介质, 0.22 μm 滤膜滤过后, 按照“2.8”项中的方法进行超滤, 取续滤液, 按照“2.7.4”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算累积溶出率, 结果见图 4。

在溶出介质为水的条件下, 5 min 时, 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 的累积溶出率分别为 38.47%、67.21%和 70.91%, Bai-NCs/GP 的溶出稍快于 Bai-GP-PM, 而 Bai-GP-PM 又快于黄芩苷原料药, 在 120 min 时, Bai-GP-PM 的累积溶出率 (73.09%) 大于黄芩苷原料药 (64.45%), Bai-NCs/GP 的累积溶出率高达 90.63%, 这表明 Bai-NCs/GP 能明显改善黄芩苷在水中的溶出速度, 增加其溶出。当溶出介质为 pH 6.8 PBS 时, 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 粉末的溶出无明显差异, 与其在 pH 6.8 PBS 中溶解度考察结果一致。

2.10 药动力学实验

2.10.1 动物分组、给药与样本采集 将 18 只雄性 SD 大鼠适应性喂养 5 d 后, 随机分为黄芩苷原料药组、Bai-GP-PM 组和 Bai-NCs/GP 组。实验前 12 h 禁食, 各组按照 200 mg/kg (以黄芩苷含量计) 的剂量 ig 给药, 分别于给药后 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24 h, 经眼眶后静脉丛穿刺取血 0.5 mL, 置于肝素钠抗凝管中混匀, 4 000 r/min 离心 10 min 后取出血浆, -80°C 冷冻保存备用。空白血浆

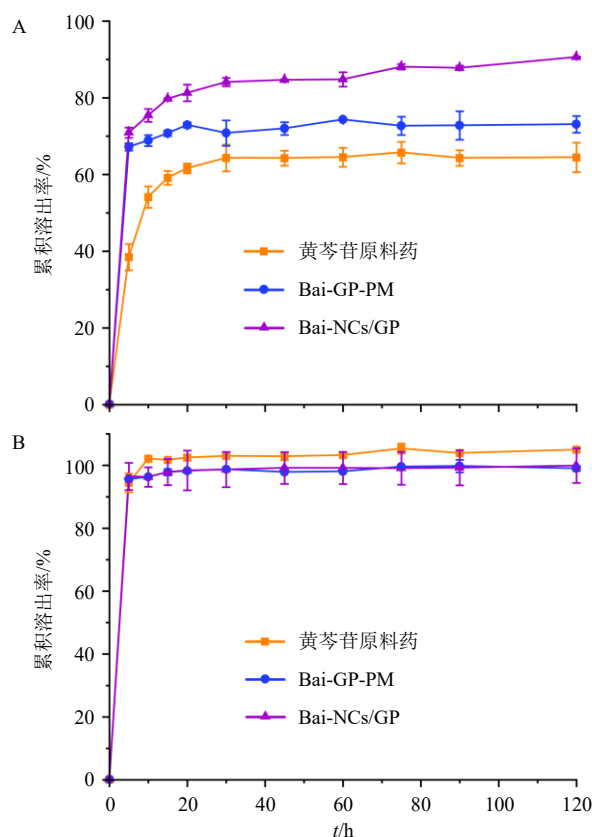


图 4 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 在水 (A) 和 pH 6.8 PBS (B) 中溶出曲线比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Comparison of dissolution profiles of baicalin bulk drug, Bai-GP-PM and Bai-NCs/GP in water (A) and pH 6.8 PBS (B) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

取自适应性喂养后的健康大鼠 (禁食 12 h), 同法经眼眶后静脉丛取血, 离心分离后于 -80°C 保存。

2.10.2 血浆样品的处理 采用甲醇配制 4.48 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的染料木素对照品溶液作为内标溶液。取 100 μL 血浆样品置于 2 mL EP 管中, 加入 10 μL 内标溶液和 290 μL 甲醇, 涡旋 3 min, 13 000 r/min 离心 10 min, 取 200 μL 上清, 注入 LC-MS/MS 系统中进行测定。

2.10.3 色谱、质谱条件 色谱柱为 RRHD Eclipse Plus C_{18} 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~7.0 min, 10%~100% 乙腈; 7.0~8.0 min, 100% 乙腈; 8.0~8.1 min, 100%~10% 乙腈; 8.1~10.0 min, 10% 乙腈; 体积流量为 0.25 mL/min; 进样量为 2 μL ; 柱温为 30°C 。电喷雾离子源, 检测模式为正离子模式, 离子化温度 550°C ; 喷雾电压为 5.5 kV; 采用选择反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 方式测定; 用于定量分析的离子对分别为黄芩苷 m/z 447.3 $\rightarrow$ 271.1 (去簇电压 100 V, 碰撞能量 35.5

eV); 染料木素 m/z 271.1 $\rightarrow$ 153 (去簇电压 110 V, 碰撞能量 37 eV)。

2.10.4 专属性考察 取空白血浆、空白血浆+对照品溶液和给药后血浆样品,按照“2.10.2”项下方法处理血浆样品后,按照“2.10.3”项下色谱、质谱条件进样分析,结果(图 5)表明,该分析方法的专属性良好。

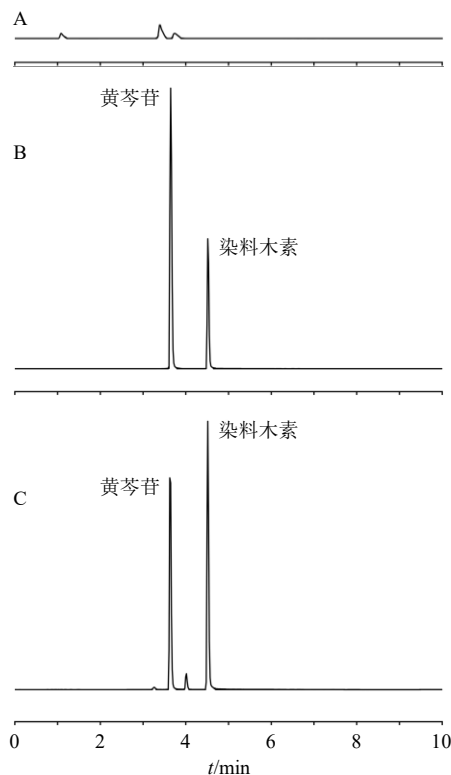


图 5 空白血浆 (A)、空白血浆+黄芩苷+染料木素 (B) 和血浆样品+染料木素 (C) 的 LC-MS/MS 图谱

Fig. 5 LC-MS/MS chromatograms of blank plasma (A), blank plasma spiked with baicalin and genistein (B), and dosed plasma with genistein (C)

2.10.5 线性关系考察 采用空白血浆配制黄芩苷质量浓度分别为 15、30、75、150、300、600、1 200、2 400、3 000 ng/mL 的血浆对照品溶液,按照“2.10.2”项下方法处理血浆样品后,按照“2.10.3”项下色谱、质谱条件进样分析,以黄芩苷的质量浓度为横坐标 (X),黄芩苷与染料木素的峰面积之比为纵坐标 (Y),采用加权法进行线性回归计算,得回归方程为 $Y=0.0081X+0.1424$, $R^2=0.9992$;结果表明黄芩苷在血浆中的质量浓度为 15~3 000 ng/mL 时线性关系良好。

2.10.6 精密度考察 取“2.10.5”项下制备的 30、300、2 400 ng/mL 血浆对照品溶液作为低、中、高

3 个质量浓度的质量控制样品 ($n=5$),连续进样 3 d 并记录黄芩苷与染料木素的峰面积之比,计算日内精密度的 RSD 值分别为 10.80%、9.66%、5.17%,日间精密度的 RSD 值分别为 10.64%、8.65%、5.55%,均小于 15%,满足生物样品精密度的分析要求。

2.10.7 提取回收率考察 取低、中、高 3 个质量浓度的质量控制样品 ($n=5$) 进样,计算黄芩苷与染料木素的峰面积之比 (a);另外配制相同质量浓度的黄芩苷对照品进样,计算黄芩苷与染料木素的峰面积之比 (b),提取回收率按公式 (提取回收率 = a/b) 计算。结果显示,该方法的提取回收率在 $(95.53 \pm 5.20)\% \sim (98.97 \pm 2.57)\%$, $RSD < 15\%$,符合生物样品的测定要求。

2.10.8 稳定性考察 将血浆样品冻融后复融 8 h、 -20°C 反复冻融 3 次、 4°C 放置 12 h、室温下放置 8 h 后,按照“2.10.2”项下的方法分别处理低、中、高 3 个质量浓度的质量控制样品 ($n=5$),进样分析,记录黄芩苷与染料木素的峰面积之比,并计算 RSD 值,结果见表 7。

表 7 血浆样品的稳定性结果

Table 7 Stability results of plasma samples

处理方式	RSD/%		
	低质量浓度	中质量浓度	高质量浓度
冻融后复融 8 h	11.25	3.35	2.33
-20°C 反复冻融 3 次	5.69	7.84	7.77
4°C 放置 12 h	11.75	14.50	3.57
室温放置 8 h	11.58	5.13	3.22

2.10.9 药动力学实验考察结果 按照已建立的血样分析方法测定血药浓度,绘制血药浓度-时间曲线,用 DAS 2.0 软件计算药动力学参数,结果见图 6 和表 8。图 6 结果显示,大鼠口服黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 后,均呈现双峰现象,15 min 左右出现 1 个小峰,8 h 左右达最大峰浓度 ($C_{\max}$),Bai-NCs/GP 的药-时曲线明显高于黄芩苷原料药和 Bai-GP-PM。表 8 结果显示,与黄芩苷原料药和 Bai-GP-PM 相比, Bai-NCs/GP 的 $C_{\max}$ 和 $AUC_{0\sim t}$ 显著增加 ($P < 0.05$)。

3 讨论

本实验采用介质研磨法成功制备了平均粒径在 146 nm 左右、PDI 小于 0.25 的 Bai-NCs/GP,制备工艺简单,重现性好,表明甘草多糖可作为纳米晶的新型替代稳定剂用于 Bai-NCs 的制备。甘草多

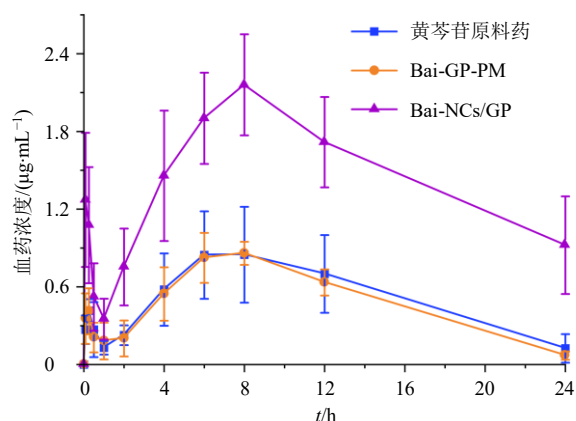


图6 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Drug concentration-time curves of baicalin bulk drug, Bai-GP-PM and Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表8 黄芩苷原料药、Bai-GP-PM 和 Bai-NCs/GP 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 Pharmacokinetic parameters of baicalin bulk drug, Bai-GP-PM, and Bai-NCs/GP ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	黄芩苷	Bai-GP-PM	Bai-NCs/GP
$C_{\max}$	$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	927.80 ± 385.64	913.52 ± 98.62	$2\,318.65 \pm 341.60^{* \#}$
$t_{\max}$	h	7.00 ± 1.10	6.67 ± 1.03	7.33 ± 1.03
AUC_{0-t}	$\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$12\,400.39 \pm 5\,182.07$	$11\,452.66 \pm 1\,665.92$	$34\,439.68 \pm 5\,548.79^{* \#}$
MRT_{0-t}	h	9.56 ± 0.85	9.33 ± 0.35	$11.22 \pm 1.07^{* \#}$

与黄芩苷组比较: $^{*}P < 0.05$; 与 Bai-GP-PM 组比较: $^{\#}P < 0.05$ 。

$^{*}P < 0.05$ vs baicalin group; $^{\#}P < 0.05$ vs Bai-GP-PM group.

格能,使黄芩苷破碎至纳米尺寸;破碎过程甘草多糖快速吸附到纳米粒表面阻止纳米粒聚集,维持体系的相对稳定。此外,研磨过程高强度的机械剪切与冲击,可能破坏黄芩苷晶体分子的有序排列,以及甘草多糖的表面吸附及稀释效应、纳米尺寸效应(部分粒子 $<100\text{ nm}$)共同导致 Bai-NCs/GP 的结晶度降低。

溶解度及溶出度实验结果显示, Bai-NCs/GP 显著提高了黄芩苷在水中的溶解度(前者是后者的43倍),改善了体外溶出,这可能是粒径减小、晶型变化与甘草多糖增溶共同影响的结果。根据 Noyes-Whitney 方程及 Ostwald-Freundlich 方程,纳米晶粒径减小,表面积增大,扩散层厚度减小,从而有利于药物的溶解和溶出^[15-16]。此外,黄芩苷纳米化后,结晶度降低,趋于无定型态,也有利于药物的溶解和溶出^[17];而 Bai-GP-PM 的溶解度和溶出实验结果证实了甘草多糖对黄芩苷的增溶作用,推测可能是甘草多糖自身或与黄芩苷相互作用形成了自组装微粒而产生增溶作用^[18-19]。值得注意的是, Bai-NCs/GP 并不能提高黄芩苷在 pH 6.8 PBS 中的溶解度和

糖与黄芩苷分子中均含有羟基、羧基等极性基团,甘草多糖可能通过分子间氢键、弱静电吸引等吸附于黄芩苷纳米晶表面,维持纳米晶的分散性与物理稳定性。然而,课题组预实验发现, Bai-NCs/GP 的室温稳定性较差,室温存储 24 h 粒径既有较大增长,而在 4 °C 条件下可以维持短期的相对稳定性(7 d),故本研究所有实验样品均是临用前制备或 4 °C 冰箱放置 1 周内使用以保证试验用样品的稳定性,后续研究会考虑采用固体化的方法(喷雾干燥/冷冻干燥)改善 Bai-NCs/GP 的稳定性。

与黄芩苷原料药相比, Bai-NCs/GP 的粒径显著减小,结晶度降低,可能是研磨工艺和甘草多糖双重作用的结果。研磨过程,研磨介质氧化锆珠与黄芩苷颗粒高速碰撞,克服黄芩苷分子间作用力和晶

溶出度,主要原因是黄芩苷为典型的黄酮类弱酸性化合物,其溶解度随着 pH 的增加而升高,在 pH 6.8 PBS 中,黄芩苷已具有较高的溶解度与溶出速率,因此 Bai-NCs/GP 在 pH 6.8 PBS 中的增溶优势未能体现。

药动学结果显示,各给药组黄芩苷药-时曲线均呈现典型的双峰现象,与文献报道结果一致,这与黄芩苷存在肝肠循环有关^[20]。值得注意的是, Bai-GP-PM 虽然改善了黄芩苷的体外溶解和溶出,却没有改善其体内生物利用度;推测原因可能是体内的胃肠道环境,尤其胃中的强酸环境及肠道微生物的代谢可能破坏 Bai-GP-PM 的相互作用,导致失去增溶作用^[21-22]。

与黄芩苷相比, Bai-NCs/GP 的 $C_{\max}$ 和 AUC_{0-t} 均显著提高,生物利用度明显改善,这主要是由于纳米化改善了黄芩苷的溶解度和溶出^[23]。同时,纳米粒的肠道黏附及整体跨膜转运也可能对黄芩苷生物利用度的改善有一定的贡献^[24-25]。此外,在 pH 6.8 PBS 中, Bai-NCs/GP 并不能促进黄芩苷的溶出,但在体内却能够促进黄芩苷的吸收,这主要是因为

大鼠的胃肠液体积有限(180 g 大鼠的胃、小肠、结肠中水含量分别只有 5、3、8 mL)^[26], Bai-NCs/GP 在胃肠道中的释放可能会延长,从而更好地发挥纳米粒的增溶及促吸收优势。

综上,甘草多糖能够作为稳定剂用于黄芩苷纳米晶的制备,制备得到的 Bai-NCs/GP 可以提高黄芩苷的溶解度与口服生物利用度。然而,本研究仅初步考察了 Bai-NCs/GP 的体外理化性质与大鼠体内药动学行为,未对其深入考察其在溶出介质及体内环境的稳定性,同时本实验仅设置了水和 pH 6.8 PBS 的溶出介质,未模拟体内消化酶、胃肠道菌群等复杂因素,体外溶出结果与体内实际溶出行为存在一定的偏差。在后续研究中,可考虑针对上述局限性开展相关实验,进一步完善 Bai-NCs/GP 的评价体系。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Song S Y, Ding L, Liu G W, *et al.* The protective effects of baicalin for respiratory diseases: An update and future perspectives [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1129817.
- [2] Wen Y Q, Wang Y Z, Zhao C X, *et al.* The pharmacological efficacy of baicalin in inflammatory diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9317.
- [3] Wen Y Q, Wang Y Z, Zhao C X, *et al.* Baicalin: An active natural product with potential medicinal values [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2025, 27(8): 1087-1111.
- [4] 朱善, 张雷, 梅佳华, 等. 21 世纪国际视域下基于文献计量学的黄芩苷研究趋势及热点可视化分析 [J]. *药物评价研究*, 2026, 49(6): 2177-2199.
- [5] Huang T, Liu Y N, Zhang C L. Pharmacokinetics and bioavailability enhancement of baicalin: A review [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(2): 159-168.
- [6] Dhibar M, Chakraborty S, Kundu A, *et al.* Chemistry characterization and application of nanocrystals-based drug delivery system: present to future perspective [J]. *Pharm Nanotechnol*, 2023, 11(3): 265-275.
- [7] Geng T J, Banerjee P, Lu Z D, *et al.* Comparative study on stabilizing ability of food protein, non-ionic surfactant and anionic surfactant on BCS type II drug carvedilol loaded nanosuspension: Physicochemical and pharmacokinetic investigation [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 109: 200-208.
- [8] Yin T J, Cai H, Liu J Y, *et al.* Biological evaluation of PEG modified nanosuspensions based on human serum [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 83: 79-87.
- [9] Jin X, Luo Y J, Chen Y C, *et al.* Novel breviscapine nanocrystals modified by *Panax notoginseng* saponins for enhancing bioavailability and synergistic anti-platelet aggregation effect [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 175: 333-342.
- [10] 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.
- [11] Chen Y C, Liu Y, Xu J N, *et al.* A natural triterpenoid saponin as multifunctional stabilizer for drug nanosuspension powder [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2017, 18(7): 2744-2753.
- [12] Hang L Y, Hu F, Shen C Y, *et al.* Development of herpetrine nanosuspensions stabilized by glycyrrhizin for enhancing bioavailability and synergistic hepatoprotective effect [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2021, 47(10): 1664-1673.
- [13] 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.
- [14] Chen L, Xue Y Y, Wang F, *et al.* Differences in the permeation of licoricchalcone A-polysaccharide self-assembled nanoparticles on healthy and DNCB-induced atopic dermatitis in Bal b/c mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 282: 136984.
- [15] 王梦琳, 胡宇峰, 马思媛, 等. 微型化介质研磨法制备大黄素纳米混悬剂及其体外评价 [J]. *中草药*, 2024, 55(20): 6918-6928.
- [16] Guo J J, Yue P F, Lv J L, *et al.* Development and *in vivo/in vitro* evaluation of novel herpetrine nanosuspension [J]. *Int J Pharm*, 2013, 441(1): 227-233.
- [17] 高慧冰, 李元春, 李甜甜, 等. 甲氨蝶呤-烟酰胺共无定型物的体内外性质评价及增溶机制研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2025, 60(5): 474-480.
- [18] Yang Y J, Yu M L, Mo Y L, *et al.* Metal-ion-binding properties of *Glycyrrhiza* polysaccharide extracted from licorice: Structural characterization and potential application in drug delivery [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 346: 122658.
- [19] 万鹏, 赵瑞芝, 胡巧红. 中药多糖对黄芩苷的溶解度及其药动学的影响 [J]. *广东药科大学学报*, 2017, 33(4): 439-442.
- [20] 寇应琳, 徐向宇, 孙宁. 染料木素纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2023, 45(4): 1045-1051.
- [21] Song Q Q, Wang Y K, Huang L X, *et al.* Review of the relationships among polysaccharides, gut microbiota, and human health [J]. *Food Res Int*, 2021, 140: 109858.
- [22] Song Q B, Zou J J, Li D, *et al.* Gastrointestinal metabolism of *Astragalus membranaceus* polysaccharides and its related hypoglycemic mechanism based on gut microbial

- transformation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 280: 135847.
- [23] 李晓蒙, 郑妩媚, 张智强. 柚皮素磷脂复合物纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2024, 46(1): 41-48.
- [24] Shen C Y, Yang Y Q, Shen B D, *et al.* Self-discriminating fluorescent hybrid nanocrystals: Efficient and accurate tracking of translocation via oral delivery [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(1): 436-450.
- [25] Shen B D, Shen C Y, Zhu W F, *et al.* The contribution of absorption of integral nanocrystals to enhancement of oral bioavailability of quercetin [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(4): 978-988.
- [26] Gotch F, Nadell J, Edelman I S. Gastrointestinal water and electrolytes. IV. The equilibration of deuterium oxide (D₂O) in gastrointestinal contents and the proportion of total body water (T.B.W.) in the gastrointestinal tract [J]. *J Clin Invest*, 1957, 36(2): 289-296.

[责任编辑 郑礼胜]