两种方法制备的水飞蓟宾纳米晶的在体肠吸收及组织分布研究Δ

王梦颜*,孙　莹,黄思睿,任娅博,常金花,刘喜纲#(承德医学院中药研究所/河北省中药研究与开发重点实验室,河北 承德　067000)

中图分类号　R917;R944　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408(2025)11-1335-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.11.08

摘　要　目的　研究两种方法制备的水飞蓟宾(Sy)纳米晶在大鼠各肠段的吸收特征和组织分布差异。**方法**　采用高压均质法和反溶剂沉淀法制备粒径相当的Sy纳米晶(即Sy-NS-G、Sy-NS-F)。将大鼠随机分为Sy原料药组、Sy-NS-G组和Sy-NS-F组,每组均设置低、中、高(60、120、180 μg/mL)3个质量浓度(以Sy计),每组3只;根据在体单向肠灌流实验,考察Sy原料药、Sy-NS-G和Sy-NS-F在大鼠不同肠段(十二指肠、空肠、回肠)的吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})。另将大鼠分为Sy原料药组、Sy-NS-G组和Sy-NS-F组,每组20只;各组大鼠单次灌胃剂量均为50 mg/kg(以Sy计),分别于给药后0.3、1、4、10、24 h处死,考察Sy原料药、Sy-NS-G和Sy-NS-F在心、肝、脾、肺、肾、脑和小肠的组织分布情况。**结果**　Sy-NS-G、Sy-NS-F、Sy原料药在十二指肠、空肠中的K_a、P_{app}随着Sy质量浓度的增加无明显变化($P>0.05$),Sy-NS-F在十二指肠的吸收高于Sy-NS-G,Sy-NS-G和Sy原料药的吸收部位主要在回肠,Sy-NS-F的吸收部位主要在十二指肠和回肠。Sy-NS-G和Sy-NS-F在大鼠不同组织中的分布不同,Sy-NS-G在大部分组织中1 h内达峰,分布浓度由高到低依次为小肠>脾>心>肺>肝≈脑>肾;Sy-NS-F在大部分组织中也是1 h内达峰,分布浓度由高到低依次为小肠>脾>肾>肺>心≈肝>脑。**结论**　Sy纳米晶在十二指肠、空肠中的吸收方式为被动扩散,且在十二指肠中,Sy-NS-F的吸收大于Sy-NS-G;Sy-NS-G和Sy-NS-F在大鼠体内的组织分布有明显区别。

关键词　水飞蓟宾;纳米晶;在体单向肠灌流;组织分布;高压均质法;反溶剂沉淀法

Study on the *in vivo* intestinal absorption and tissue distribution of silybin nanocrystals prepared by two methods

WANG Mengyan, SUN Ying, HUANG Sirui, REN Yabo, CHANG Jinhua, LIU Xigang (Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical University/Hebei Key Laboratory for Research and Development of Chinese Medicine, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the absorption characteristics and tissue distribution of silybin (Sy) nanocrystals prepared by two methods in different intestinal segments of rats. **METHODS** Sy nanocrystals (i.e. Sy-NS-G and Sy-NS-F) with comparable particle sizes were prepared using high-pressure homogenization and anti-solvent precipitation methods, respectively. Rats were randomly divided into three groups: Sy raw drug group, Sy-NS-G group, and Sy-NS-F group. Each group was further divided into three subgroups with low, medium, and high (60, 120, 180 μg/mL) mass concentrations (calculated based on Sy), with 3 rats in each subgroup. The absorption rate constant (K_a) and apparent absorption coefficient (P_{app}) of Sy raw drug, Sy-NS-G and Sy-NS-F in different intestinal segments were investigated by using the *in vivo* one-way intestinal perfusion experiment. Additionally, the rats were divided into three groups: Sy raw drug group, Sy-NS-G group, and Sy-NS-F group, with 20 rats in each group. Rats in each group were administered a single intragastric dose of 50 mg/kg (calculated based on Sy). They were sacrificed at 0.3, 1, 4, 10, and 24 hours post-administration respectively, to investigate the tissue distribution of Sy raw drug, Sy-NS-G, and Sy-NS-F in the heart, liver, spleen, lungs, kidneys, brain and intestines. **RESULTS** In duodenum and jejunum, the K_a and P_{app} of the nanocrystals prepared by the two methods remained unchanged with the increase of Sy concentration, and there was no significant difference ($P>0.05$); the absorption of Sy-NS-F in the duodenum was greater than that of Sy-NS-G; the absorption sites of Sy-NS-G and Sy raw drug were mainly in the ileum, while those of Sy-NS-F were mainly in the duodenum and ileum. The concentrations of Sy-NS-G and Sy-NS-F in different tissues of rats were different; Sy-NS-G peaked in most tissues at 1 h, and the distribution concentration was as follows: intestine>spleen>heart>lungs>liver≈brain>kidneys. Sy-NS-F reached its peak at 1 h, and the distribution concentration was in the order of intestine>spleen>kidney>lung>heart≈liver>brain. **CONCLUSIONS** The absorption mode of Sy nanocrystals in the duodenum and ileum is mainly passive diffusion. In the duodenum, the absorption of Sy-NS-F is greater than that of Sy-NS-G; there are significant differences in the tissue distribution of Sy-NS-G and Sy-NS-F in rats.

KEYWORDS　silybin; nanocrystals; unidirectional intestinal perfusion *in vivo*; tissue distribution; high-pressure homogenization; anti-solvent precipitation method

Δ **基金项目**　河北省自然科学基金项目(No.H2022406073);河北省中央引导地方科技发展资金项目(No.246Z2504G);河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2022121)

* **第一作者**　硕士研究生。研究方向:中药制剂。E-mail: 1751731904@qq.com

\# **通信作者**　教授,硕士生导师。研究方向:中药制剂。E-mail: liuxgmail@sina.com

水飞蓟宾（silybin，Sy）是从菊科植物水飞蓟中提取的黄酮木质素类化合物[1]，具有保肝、抗癌、抗氧化、抗炎、提高免疫力等生物活性，在临床上常用来治疗急慢性肝炎、肝癌等[2-3]，但其溶解性较低[4]，口服生物利用度不高[5]，因此其在临床上的应用受限。

纳米混悬技术（如纳米混悬液、纳米晶）是一种常用于提高生物利用度的技术，粒径是影响样品溶解度和生物利用度的主要因素[6]。纳米晶的制备方法主要分为“自上而下”和“自下而上”两种方法：“自上而下”法是利用物理破碎的方式将大颗粒粉碎成小粒径的样品，如高压均质法、研磨法等；“自下而上”法则是利用化学析出的方法将大颗粒的药物溶解在有机溶剂中，然后通过受控沉淀或结晶，生产所需尺寸的纳米晶，如反溶剂沉淀法。本课题组前期分别采用高压均质法和反溶剂沉淀法制备得到粒径相同的Sy纳米晶，结果发现高压均质法制备的Sy纳米晶（即Sy-NS-G）的溶出度和口服生物利用度均低于反溶剂沉淀法制备的Sy纳米晶（即Sy-NS-F）[7]。药物口服后吸收部位主要在小肠，且药物的吸收除了与本身性质有关外，还与肠道环境等有关，同时药物的药效还与其体内分布有关[8]。本研究在前期研究的基础上，拟进一步采用单向肠灌流模型和组织分布实验探讨上述两种纳米晶的在体肠吸收及组织分布差异，以期为Sy的制剂优化及临床应用提供选择依据。

1 材料

1.1 主要仪器

ABSCIEX型质谱仪购自美国AB Sciex公司；Acquity型超高效液相色谱仪购自美国Waters公司；1260型液相色谱仪购自美国Agilent公司；ZEN3690型激光粒度仪购自英国Malvern公司；AG-254型电子分析天平购自瑞士Mettler Toledo公司；AH-2010型高压均质机购自加拿大ATS工业系统有限公司；VELOCITY14型高速冷冻离心机购自英国Dynamica公司。

1.2 主要药品和试剂

Sy对照品、大豆苷元（内标）对照品、Sy原料药（批号分别为23091802、22120202、23091802，纯度分别为99.15%、98.23%、98.68%）均购自成都普菲德生物技术有限公司；聚乙烯已内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物（Soluplus）购自德国BASF公司；十二烷基硫酸钠（SDS）购自天津市光复精细化工研究所；羧甲基纤维素钠购自湖州展望药业股份有限公司；甲醇、乙酸为液质联用级，其他试剂为分析纯，水为超纯水。

1.3 动物

本研究所用动物为清洁级SD大鼠，雄性，体重（240±20）g，购自北京华阜康有限责任公司，动物生产许可证编号为SCXK（京）2019-0008。大鼠饲养于温度（22±2）℃、湿度（55±5）%的环境中，自由饮食、饮水。本研究符合科学技术部颁发的《关于善待试验动物的指导性意见》，并经承德医学院伦理委员会批准（批准号为CDMUAC-20240321-010）。

2 方法与结果

2.1 Sy纳米晶的制备

2.1.1 Sy-NS-G的制备

采用高压均质法制备。称取5 mg Soluplus和25 mg SDS加入烧杯中，以60 mL去离子水搅拌至溶解作为稳定剂，加入300 mg Sy原料药，继续搅拌混匀，在高速分散均质机上以6 000 r/min预分散20 min得初混悬液；将初混悬液置于高压均质机110 MPa下均质12 min，加入5%甘露醇后，冻干，即得Sy-NS-G[7]。本研究所制Sy-NS-G的理化性质良好，平均粒径为（421.0±10.64）nm，Zeta电位为－（29.70±0.60）mV，多分散系数为0.284±0.059。

2.1.2 Sy-NS-F的制备

采用反溶剂沉淀法制备。称取Sy原料药10 mg于2 mL EP管中，加入1 mL无水乙醇，超声（功率300 W，频率40 kHz，下同）溶解，作为有机相；称取0.83 mg Soluplus和0.16 mg SDS溶于纯水中作为水相，在细胞超声粉碎机作用下将有机相滴入水相，继续超声30 min，减压至无醇味，加入5%甘露醇后，冻干，即得Sy-NS-F[7]。本研究所制Sy-NS-F的理化性质良好，平均粒径为（423.80±10.82）nm，Zeta电位为－（30.40±0.265）mV，多分散系数为0.209±0.027。

2.2 单向肠灌流实验测定Sy的肠吸收

2.2.1 色谱条件

以Athena C_{18}-WP（150 mm×4.6 mm，5 μm）为色谱柱，以甲醇-0.3%冰醋酸溶液（45∶55，*V*/*V*）为流动相进行等度洗脱，检测波长为287 nm，流速为1.0 mL/min，进样量为10 μL，柱温为30 ℃。

2.2.2 溶液的制备

（1）对照品溶液：精密称取Sy对照品3.00 mg，置于10 mL容量瓶中，加适量甲醇超声溶解，放冷后定容，摇匀即得。（2）阴性溶液：称取处方量的Soluplus和SDS及冻干保护剂（5%甘露醇）于容量瓶中，加Krebs-Ringer试液（即K-R液）超声溶解，即得。（3）空白肠灌流液：取K-R液适量，按下文“2.2.5”项下方法灌流，收集得空白肠灌流液。（4）含药肠灌流液：分别称取适量Sy-NS-F和Sy-NS-G，分别用含有0.1%羧甲基纤维素钠的K-R液分散得到质量浓度均分别为60、120、180 μg/mL（以Sy计）的纳米晶肠灌流液；精密称取适量Sy原料药，加入适量乙醇溶解后，用K-R液稀释成质量浓度分别为60、120、180 μg/mL的Sy原料药肠灌流液。

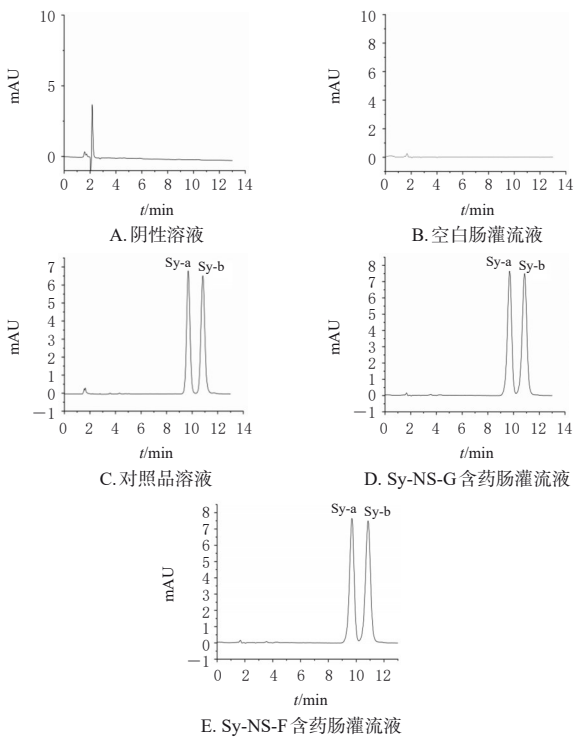
2.2.3 样品预处理方法

吸取1 mL肠灌流液样品于EP管中，加入3 mL甲醇超声3 min溶解，经0.45 μm滤膜过滤后，待进样测定。

2.2.4 方法学考察

参考2020年版《中国药典》分析方法验证指导原则进行方法学考察[9]。取对照品溶液、阴性溶液、空白肠灌流液、2种含药肠灌流液[以质量浓度均为21.30 μg/mL（以Sy计）的Sy-NS-F和Sy-NS-G按“2.2.3”项下方法制

备肠灌流液]适量，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，结果（图1）显示，阴性溶液和空白肠灌流液对测定无干扰，表明该方法专属性良好。Sy的回归方程为$y=545.43x-463.39$（$R^2=0.999\ 4$），线性范围为1.10～224.00 μg/mL。精密度试验、重复性试验、稳定性试验（12 h）的RSD均小于2.00%（$n=6$）；低、中、高浓度（6.47、12.22、76.34 μg/mL，以Sy计）下，Sy原料药的平均回收率分别为96.88%、98.32%、102.94%（RSD分别为0.27%、0.03%、0.50%，$n=6$），Sy-NS-G的平均回收率分别为99.67%、104.40%、103.88%（RSD分别为0.25%、0.41%、0.40%，$n=6$），Sy-NS-F的平均回收率分别为98.56%、98.42%、95.02%（RSD分别为0.49%、0.56%、0.37%，$n=6$）。以上均符合指导原则相关要求。



A. 阴性溶液　B. 空白肠灌流液　C. 对照品溶液　D. Sy-NS-G含药肠灌流液　E. Sy-NS-F含药肠灌流液

注：由于Sy为同分异构体药物，故有2个色谱峰，分别为Sy-a和Sy-b。

图1　各样品的HPLC色谱图

2.2.5　在体单向肠灌流实验

将27只大鼠随机分为Sy原料药组、Sy-NS-G组和Sy-NS-F组，每组均设置低、中、高（60、120、180 μg/mL）3个质量浓度（以Sy计），每组3只。实验前禁食不禁水12 h，麻醉后，将大鼠四肢固定在手术板上并维持体温；剪开腹部，分离出小肠，根据实验需要对十二指肠/空肠/回肠的两端进行切口插管，并结扎；排空肠腔内容物，以1 mL/min的速度通入37 ℃的K-R液，平衡15 min；再将37 ℃的含药肠灌流液（按“2.2.2”项下方法配制的低、中、高浓度的Sy原料药、Sy-NS-G、Sy-NS-F含药肠灌流液）以0.2 mL/min的速度灌流平衡30～40 min（从低浓度到高浓度依次灌注）；将灌流液进口处和出口处均换上已知质量的小瓶，每隔15 min收集流出液，收集至75 min结束。处死大鼠，量取每只大鼠所用肠段的长度和半径，计算灌流肠段表面积，并采用重量法校正流出液的体积[10]，然后按公式计算药物吸收速率常数（K_a）和表观吸收系数（P_{app}）：

$$K_a=(1-C_{out}V_{out}/C_{in}V_{in})Q/\pi r^2L \quad (1)$$

$$P_{app}=-Q\ln(C_{out}V_{out}/C_{in}V_{in})2\pi rL \quad (2)$$

式中，C_{in}、C_{out}分别为进口处和出口处灌流液的质量浓度，V_{in}、V_{out}为进口处和出口处灌流液的体积，Q为灌流体积流量，r和L分别为肠段的半径和长度。

采用SPSS 20.0软件对数据进行正态检验，符合正态分布的数据以$\bar{x}\pm s$表示。若方差齐，采用单因素方差分析，进一步组间两两比较采用LSD-t法；若方差不齐，则采用Tamhane’$T2$法比较。检验水准$\alpha=0.05$。

由表1可知，Sy-NS-G在各肠段中的K_a、P_{app}随着Sy质量浓度的增加无明显变化（$P>0.05$），提示Sy-NS-G在各肠段的吸收无浓度依赖性，吸收方式为被动扩散。Sy-NS-F、Sy原料药在十二指肠、空肠中的K_a、P_{app}随着Sy质量浓度的增加也无明显变化（$P>0.05$），提示Sy-NS-F、Sy原料药在十二指肠、空肠中的吸收方式为被动扩散。进一步分析发现，不同质量浓度的Sy-NS-F在十二指肠中的K_a均显著高于Sy原料药和Sy-NS-G（$P<0.05$），高浓度的Sy-NS-G在回肠中的K_a、P_{app}均低于Sy-NS-F和Sy原料药，由此可知，Sy-NS-F在十二指肠的吸收高于Sy-NS-G。在不同肠段中发现，Sy-NS-G和Sy原料药的吸收部位主要在回肠，Sy-NS-F的吸收部位主要在十二指肠和回肠。

表1　不同质量浓度下Sy纳米晶与原料药在不同肠段的K_a、P_{app}（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

肠段	质量浓度/(μg/mL)	Sy原料药(×10⁻²)		Sy-NS-G(×10⁻²)		Sy-NS-F(×10⁻²)	
		K_a	P_{app}	K_a	P_{app}	K_a	P_{app}
十二指肠	60	2.82±0.62	0.51±0.08	2.82±0.59	0.37±0.11	4.84±0.57[ab]	0.52±0.08
	120	3.14±0.61	0.55±0.08	2.65±0.33	0.36±0.04	5.17±0.80[ab]	0.60±0.22
	180	3.30±0.17	0.56±0.03	2.76±0.32[a]	0.38±0.32	5.35±1.21[ab]	0.69±0.17
空肠	60	2.88±0.64	0.53±0.12	3.50±0.29[c]	0.49±0.04	3.29±0.66[c]	0.40±0.13
	120	3.18±0.94	0.57±0.17	4.32±0.58[c]	0.61±0.19	2.91±0.85[c]	0.30±0.09
	180	3.49±0.91	0.58±0.15	3.60±0.32[c]	0.40±0.09	4.19±1.30	0.45±0.15
回肠	60	3.97±0.81[c]	0.79±0.13	5.29±1.61[c]	0.54±0.24	4.97±0.77	0.58±0.15
	120	3.83±0.70	0.70±0.10	6.17±1.2[ac]	0.78±0.21	5.30±1.07[a]	0.56±0.11
	180	6.92±0.28[cd]	1.20±0.10	4.82±0.5[ac]	0.56±0.08	7.11±1.53[abcd]	0.83±0.21

a：与Sy原料药组相应指标相比，$P<0.05$；b：与Sy-NS-G组相应指标相比，$P<0.05$；c：与各样品十二指肠肠段相比，$P<0.05$；d：与各样品低浓度组相比，$P<0.05$。

2.3　两种纳米晶中Sy的组织分布考察

2.3.1　UPLC-MS条件及定量离子对相关参数

采用超高效液相色谱串联质谱（UPLC-MS）法进行检测。（1）色谱条件：以ACQUITY UPLC BEH C_{18}柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）为色谱柱，以乙酸-甲醇-水（0.1∶70∶30，$V/V/V$）为流动相进行等度洗脱，流速为0.2 mL/min，柱温为35 ℃，进样量为1 μL。（2）质谱条件：采用电喷雾离子化源，扫描方式为负离子模式，喷雾电压为−4 500 V，离子源温度为500 ℃，气帘气为40 psi，雾化气1（G1）为50 psi，离子源气体2（G2）为50 psi；采用多反应监测

模式（MRM）测定药物浓度，各样品定量离子对及相关参数见表2。

表2　样品的MRM参数

样品	定量离子对（*m/z*）	碰撞电压/V	去簇电压/V	保留时间/min
Sy	481.1→124.9	−31.720	−133.450	0.84
大豆苷元	253.2→208.1	−42.610	−95.090	0.90

2.3.2　Sy对照品溶液和内标溶液的准备

精密称取Sy对照品2.71 mg于50 mL容量瓶中，加甲醇超声溶解后定容，即得质量浓度为0.054 2 mg/mL的Sy对照品溶液。精密称取大豆苷元对照品2.16 mg于50 mL容量瓶中，加甲醇超声溶解后定容，临用前稀释400倍即得内标溶液。

2.3.3　样品的前处理

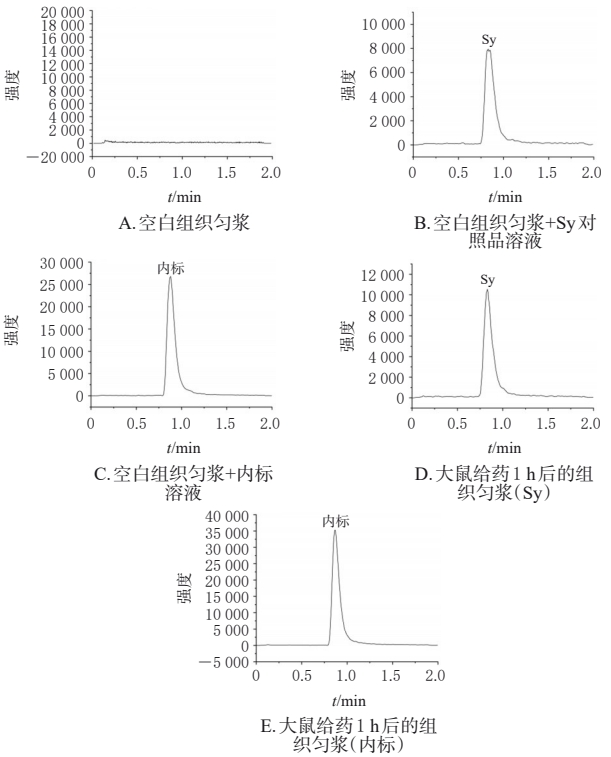
精密称取各组样品0.5 g，剪碎后加入生理盐水，在冰浴条件下制备组织匀浆。（1）空白组织匀浆的处理：精密吸取空白组织匀浆样品50 μL于2 mL离心管中，加10 μL甲醇、100 μL流动相、100 μL乙腈，涡旋混匀4 min，以12 000 r/min离心20 min，取上清液进样分析。（2）含药组织匀浆的处理：精密吸取含药组织匀浆样品50 μL于2 mL离心管中，加100 μL内标溶液、100 μL乙腈，涡旋混匀4 min，以12 000 r/min离心20 min，取上清液进样分析。（3）质控（QC）样品处理：精密吸取空白组织匀浆50 μL于2 mL离心管中，加10 μL Sy对照品溶液（或100 μL内标溶液）、100 μL乙腈，涡旋混匀4 min，以12 000 r/min离心20 min，取上清液进样分析。

2.3.4　方法学考察

参考2020年版《中国药典》生物样品定量分析方法验证指导原则进行方法学考察[11]。取大鼠空白组织匀浆、QC样品和大鼠给药1 h后的组织匀浆，按“2.3.3”项下方法处理，然后按“2.3.1”项下方法进样分析，结果（图2，因版面有限，此处仅展示肝组织的结果）显示，空白组织匀浆中的内源性物质不干扰Sy或内标的测定，表明该方法具有良好的专属性。Sy在心、肝、脾、肺、肾、脑、小肠组织中回归方程分别为$y=0.009\ 3x+0.015\ 9$（$R^2=0.999\ 0$）、$y=0.017\ 7x+0.023\ 8$（$R^2=0.999\ 1$）、$y=0.008\ 1x+0.025\ 0$（$R^2=0.997\ 2$）、$y=0.008\ 9x+0.011\ 6$（$R^2=0.999\ 7$）、$y=0.017\ 5x+0.022\ 7$（$R^2=0.999\ 9$）、$y=0.020\ 1x+0.010\ 7$（$R^2=0.998\ 4$）、$y=9.492\ 4\times10^{-4}x+0.002\ 2$（$R^2=0.999\ 7$），Sy在肝、脑、肾组织的线性范围均为1～100 ng/mL，在肺、心、脾组织的线性范围为1～250 ng/mL，在小肠组织的线性范围为1～2 500 ng/mL；精密度试验、准确度、基质因子及稳定性试验的RSD均小于15%（$n=6$），以上均符合指导原则相关要求。

2.3.5　组织分布实验

将60只SD大鼠随机分为Sy原料药组、Sy-NS-G组和Sy-NS-F组，每组20只。各组大鼠实验前禁食12 h不禁水，单次灌胃剂量均为50 mg/kg（以Sy计），分别于给药后0.3、1、4、10、24 h处死（每个时间点各组分别处死4只大鼠），迅速取出心、肝、脾、肺、肾、脑、小肠等组织，用



A. 空白组织匀浆
B. 空白组织匀浆+Sy对照品溶液
C. 空白组织匀浆+内标溶液
D. 大鼠给药1 h后的组织匀浆（Sy）
E. 大鼠给药1 h后的组织匀浆（内标）

注：在本研究UPLC-MS条件下，Sy-a和Sy-b重合，故此处只有1个色谱峰。

图2　大鼠肝组织中Sy和内标的MRM色谱图

生理盐水将组织表面血迹和内容物洗净，并用滤纸吸去水分，然后按“2.3.3”项下方法处理各样品后，按“2.3.1”项下条件进样测定。各组大鼠组织样品中Sy的含量测定结果见表3～表5。

表3　Sy原料组大鼠各组织样品中Sy的含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=4$）

组织	0.3 h	1 h	4 h	10 h	24 h
心	14.41±4.24	29.94±3.81	3.04±1.17	2.46±0.92	3.29±1.79
肝	18.66±10.45	35.47±12.40	17.53±8.61	2.94±0.29	7.17±1.91
脾	19.65±6.85	21.06±9.42	12.78±5.99	7.48±1.84	8.00±2.34
肺	56.67±29.89	22.67±6.84	4.92±2.88	9.74±3.31	12.08±3.00
肾	10.43±0.97	35.17±22.13	10.43±3.50	5.23±4.75	5.24±0.75
脑	11.43±4.98	15.77±14.07	3.89±1.18	3.23±2.84	0.95±0.69
小肠	219.15±136.62	1 005.98±428.87	773.12±789.83	114.06±113.32	45.87±59.69

表4　Sy-NS-G组大鼠各组织样品中Sy的含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=4$）

组织	0.3 h	1 h	4 h	10 h	24 h
心	88.42±20.74	84.96±37.74	11.25±8.50	13.56±15.22	3.54±2.19
肝	35.78±10.46	34.59±16.17	22.89±0.54	10.44±2.01	3.78±0.78
脾	56.05±45.23	123.07±44.59	15.36±2.79	6.47±2.59	5.19±1.64
肺	92.84±4.67	51.56±26.03	4.97±3.70	10.46±5.61	6.13±2.23
肾	12.72±5.45	27.15±7.52	11.27±4.36	8.34±0.82	3.69±0.19
脑	5.22±1.71	30.04±18.92	3.02±2.43	1.31±0.14	0.33±0.29
小肠	219.41±55.56	269.22±130.55	204.90±93.71	88.48±63.42	15.07±9.07

由表3～表5可知，Sy原料药、Sy-NS-G和Sy-NS-F在大鼠体内的组织分布浓度不同：在0.3～1 h时段，Sy-NS-G在大鼠心、肺中的分布浓度高于Sy原料药和Sy-NS-F；但在肾中，0.3～24 h时段Sy-NS-F的分布浓度均

表5　Sy-NS-F组大鼠各组织样品中Sy的含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=4$）

组织	0.3 h	1 h	4 h	10 h	24 h
心	13.43±7.84	26.24±27.63	7.76±2.14	5.89±2.76	1.36±0.13
肝	33.31±15.11	29.53±9.12	37.05±2.89	19.33±11.65	19.34±10.82
脾	15.48±6.81	62.95±43.78	22.07±12.35	13.24±4.83	6.25±3.30
肺	28.39±12.89	36.10±27.59	9.76±4.04	24.22±7.50	5.87±2.16
肾	15.60±6.29	48.24±40.71	13.80±3.98	8.82±3.81	14.79±6.90
脑	8.35±6.12	7.18±4.15	4.72±2.70	16.55±3.84	1.75±0.55
小肠	1 836.68±91.57	1 461.67±452.86	316.58±183.35	85.21±23.35	28.26±22.83

高于Sy-NS-G和Sy原料药，Sy-NS-G和原料药差异较小。在脑中，1 h时，Sy-NS-G的浓度大于Sy-NS-F和Sy原料药；10 h时，Sy-NS-F的浓度大于Sy-NS-G和Sy原料药。在脾中，0.3～1 h时段，Sy-NS-G和Sy-NS-F的分布浓度均高于Sy原料药；在1 h时，Sy-NS-G的分布浓度最高。在肝中，4～24 h时段，Sy-NS-F的分布浓度高于Sy-NS-G和Sy原料药。在小肠中，0.3～1 h时段，Sy-NS-F的分布浓度高于Sy原料药和Sy-NS-G。

整体而言，Sy原料药在大部分组织中1 h内达峰，分布浓度由高到低依次为小肠＞肝≈肾＞心＞肺≈脾＞脑；Sy-NS-G在大部分组织中1 h内达峰，分布浓度由高到低依次为小肠＞脾＞心＞肺＞肝≈脑＞肾；Sy-NS-F在大部分组织中1 h内达峰，分布浓度由高到低依次为小肠＞脾＞肾＞肺＞心≈肝＞脑。

3　讨论

本课题组在前期研究中分别采用高压均质法、反溶剂沉淀法制备了粒径相当的Sy-NS-G、Sy-NS-F，其中Sy-NS-F的晶型转变为无定形，Sy-NS-G仍为晶体，且Sy-NS-F较Sy-NS-G和Sy原料药的体内生物利用度更高，而Sy-NS-G的体外溶出虽然较Sy原料药有所增加，但体内生物利用度变化不大[7]。因此，本研究拟在前期研究基础上，进一步采用单向肠灌流模型和组织分布实验探讨上述两种纳米晶的在体肠吸收及组织分布差异。

本研究结果发现，在不同肠段中，Sy-NS-G和Sy原料药的吸收主要在回肠，Sy-NS-F的吸收主要在十二指肠和回肠。进一步分析发现，与Sy-NS-G和Sy原料药相比，Sy-NS-F在十二指肠中的吸收显著升高，吸收方式主要为被动扩散。由此推测，十二指肠可能是影响Sy纳米晶体内吸收的主要场所，具体原因可能是由于该肠段的绒毛较多，可将无定形状态的纳米晶截留，延长其滞留时间，增加吸收量[12]。

生物样品中蛋白质等内源性物质会对其定量分析造成一定程度的干扰，需要通过高效、灵敏的检测手段来保证样品检测结果的准确性和可靠性[13]，因此本研究采用UPLC-MS法研究各样品在大鼠体内的组织分布。结果发现，与原料药相比，Sy-NS-F在肝、脑、肠中浓度升高较为明显，推测可能是由于Sy具有激活肠-脑-肝轴通路的作用[14]。整体而言，各样品在小肠中的含量最高，这可能与灌胃给药后，药物经过小肠吸收进入体内有关；与Sy原料药相比，Sy-NS-G和Sy-NS-F在大部分组织中的含量有所提高，但Sy-NS-F的消除速度慢于Sy-NS-G，表明Sy-NS-F提高了Sy在相应组织的相对滞留时间，从而发挥缓释作用[13]。

综上所述，Sy纳米晶在十二指肠、空肠中的吸收方式为被动扩散，且在十二指肠中，Sy-NS-F的吸收大于Sy-NS-G；Sy-NS-G和Sy-NS-F在大鼠体内的组织分布有明显区别。这提示，不同的制备方法对Sy在体内吸收、分布有重要影响，后续本课题组将进一步探究其具体影响机制。

参考文献

[1] 陈江丽，邱智东，金媛媛，等. 水飞蓟素脂质体的制备、质量评价及其对HaCaT细胞增殖和摄取的影响[J]. 中草药，2022，53(12)：3614-3624.

[2] 袁义美，崔宁，张兰. 异甘草酸镁联合水飞蓟宾对酒精性肝硬化患者肝功能及肝纤维化指标的影响[J]. 医学理论与实践，2024，37(1)：57-59.

[3] 郭声，刘长虹，刘颖，等. 水飞蓟宾治疗慢性乙型病毒性肝炎临床研究[J]. 光明中医，2023，38(24)：4736-4739.

[4] DEHGHAN A，GHANBARZADEH S，GHIASS M，et al. Silibinin solubilization：combined effect of co-solvency and inclusion complex formation[J]. Drug Dev Ind Pharm，2024，50(5)：470-480.

[5] 任淑珍. 水飞蓟宾过饱和纳米自微乳研制与评价[D]. 上海：上海中医药大学，2019.

[6] AGHEMO A，ALEKSEEVA O P，ANGELICO F，et al. Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases：a narrative review[J]. Ann Med，2022，54(1)：1548-1560.

[7] 张领. 两种制备方法对水飞蓟宾纳米混悬剂体内外行为的影响[D]. 承德：承德医学院，2022.

[8] 陈龙，王瑞锋，张振凯，等. 基于药动学-药效学的中药引经理论现代研究进展与思考[J]. 中成药，2025，47(1)：133-138.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：三部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：682.

[10] 余文静，黄群，陈丹，等. 三叶青地上部分抗炎提取物固体纳米晶肠吸收动力学研究[J]. 药物分析杂志，2023，43(2)：262-279.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：466.

[12] 王镜. 银杏内酯B纳米混悬液的制备、体内外评价及固化研究[D]. 成都：成都中医药大学，2021.

[13] 孙慧园，陈浩，梅朝叶，等. 白及醇提物中5种主要活性成分的在体肠吸收特征研究[J]. 中国药房，2019，30(6)：757-764.

[14] XU F X，YANG J，NEGISHI H，et al. Silibinin decreases hepatic glucose production through the activation of gut-brain-liver axis in diabetic rats[J]. Food Funct，2018，9(9)：4926-4935.

（收稿日期：2024-12-17　修回日期：2025-04-27）

（编辑：唐晓莲）