

• 药理与临床 •

水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统在大鼠体内的药动学研究

姚金娜, 陈苹苹, 尚小广, 李范珠*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: 目的 研究水飞蓟宾过饱和自微乳给药系统(S-SMEDDS)在大鼠体内的药动学特征。方法 12只雄性SD大鼠随机分为对照组和实验组, 每组6只, 对照组大鼠ig给予水飞蓟宾自微乳(SMEDDS)533 mg/kg, 实验组大鼠ig给予水飞蓟宾-S-SMEDDS 533 mg/kg。采用 Accusampler 清醒动物自动采血装置于不同时间点采血, HPLC法测定大鼠ig水飞蓟宾-S-SMEDDS后水飞蓟宾的血药浓度, 非房室模型的统计矩分析方法计算药动学参数。结果 对照组和实验组的 $t_{\max}$ 分别为 (1.00 ± 0.40) 、 (1.50 ± 0.84) h, $C_{\max}$ 分别为 (5.68 ± 0.52) 、 (16.10 ± 4.06) $\mu\text{g/mL}$, $\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ 分别为 (27.30 ± 3.29) 、 (82.64 ± 12.36) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结论 将水飞蓟宾制成S-SMEDDS可进一步提高其口服生物利用度。

关键词: 水飞蓟宾; 过饱和自微乳给药系统; 自微乳给药系统; 生物利用度; 药动学

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)11-2261-04

Pharmacokinetics of supersaturable self microemulsion drug delivery system of silybin in rats

YAO Jin-na, CHEN Ping-ping, SHANG Xiao-guang, LI Fan-zhu

College of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To study *in vivo* pharmacokinetic characteristic of supersaturable self microemulsion drug delivery system (S-SMEDDS) of silybin in rats. **Methods** According to the random design, 12 male rats were divided into one control group and one experimental group by six each. SMEDDS of silybin was given to the control group and S-SMEDDS of silybin to the experimental group by both ig administration at dosage of 533 mg/kg, respectively. Blood sampling was conducted by means of an automated blood sampling device (Accusampler) at different time points. After ig administration of S-SMEDDS of silybin to rats, the silybin concentrations in plasma were determined by HPLC and the pharmacokinetic parameters were calculated by non-compartment model of statistical moment analysis. **Results** The main pharmacokinetic parameters of the control and experimental groups were as follows: $t_{\max}$ is (1.00 ± 0.40) and (1.50 ± 0.84) h, $C_{\max}$ is (5.68 ± 0.52) and (16.10 ± 4.06) $\mu\text{g/mL}$, $\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ is (27.30 ± 3.29) and (82.64 ± 12.36) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. **Conclusion** This assessment demonstrates that the oral absorption bioavailability could be substantially improved via the approach by S-SMEDDS of silybin

Key words: silybin; supersaturable self microemulsion drug delivery system (S-SMEDDS); self microemulsion drug delivery system (SMEDDS); bioavailability; pharmacokinetics

水飞蓟宾(silybin)是从菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* Gaertn.果实中提取、精制的一种黄酮类化合物, 具有稳定肝细胞膜和改善肝功能的作用, 对急慢性肝炎、肝硬化和代谢中毒性肝损伤等均具有较好疗效, 临床应用广泛^[1]。但水飞蓟宾难溶于水, 口服生物利用度很低, 药动学研究表明, 其口服给

药后只有23%~47%被胃肠道吸收, 严重影响其临床疗效^[2]。因此, 近年来有关提高水飞蓟宾口服生物利用度的报道较多, 有水飞蓟宾的磷脂复合物^[3]、纳米胶束^[4-5]、自微乳^[6-7]等在大鼠体内的药动学特征研究, 但有关水飞蓟宾过饱和自微乳(S-SMEDDS)的体内药动学研究尚未见实验报道。

收稿日期: 2011-03-31

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(R207722)

作者简介: 姚金娜(1983—), 女, 河南三门峡人, 硕士在读, 主要从事药物新剂型与新技术研究。E-mail: yaojinna@126.com

*通讯作者 李范珠 Tel: (0571)86633030 E-mail: lifanzhu@zjtcu.net

水飞蓟宾 S-SMEDDS 是含油相、乳化剂、助乳化剂和沉淀抑制剂(羟丙基甲基纤维素, HPMC)的棕红色液体,该溶液一旦与水相混合,在环境温度(通常指体温 37 ℃)下只需温和搅拌就能自发形成透明或半透明的微乳,其中的 HPMC 可抑制药物结晶析出,降低乳化剂的用量,增加游离药物的浓度,提高药物的口服生物利用度^[8]。本课题组前期已成功制备了水飞蓟宾-S-SMEDDS^[9]。在本实验中,采用 Accusampler 清醒动物自动采血装置,于不同时间点采血,用已建立的 HPLC 法测定大鼠血浆药物浓度,考察水飞蓟宾-S-SMEDDS 在大鼠体内的药动学特征,并与水飞蓟宾自微乳(SMEDDS)进行了比较,探讨过饱和自微乳提高水飞蓟宾口服生物利用度的可行性。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

水飞蓟宾(质量分数>97%),盘锦市华成制药有限公司,批号 20070615;水飞蓟宾对照品,中国药品生物制品检定所,质量分数为 99.8%,批号 110856-200604。中链甘油三酯(MCT)、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(Labrasol),法国 Gattefosse 公司;聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH40),德国 BASF 公司;羟丙基甲基纤维素(HPMC),日本信越化学工业株式会社;甲醇为色谱醇,美国霍尼韦尔公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器

Agilent—1200 型高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;CP225D 电子天平,德国 Sartorius 公司;氮气吹扫仪,杭州奥盛仪器有限公司;Accusampler 清醒动物自动采血系统,北京嘉德利达科技有限公司。

1.3 动物

SD 雄性大鼠,体质量(300±30)g,由浙江中医药大学动物实验中心提供,合格证号 SCXK 沪 2009-0008。

2 方法

2.1 供试品溶液的配制^[7]

2.1.1 水飞蓟宾-S-SMEDDS 供试品溶液的制备 将 MCT 1.60 g、Cremophor RH40 1.44 g、Labrasol 0.96 g 装入具塞锥形瓶中,混合均匀后加入 160 mg 水飞蓟宾,于 60 ℃恒温水浴震荡 48 h,冷却至室温,加入 200 mg HPMC,混合均匀,得到澄明的棕红色 S-SMEDDS 溶液,水飞蓟宾的量为 0.04 g/g。

2.1.2 水飞蓟宾-SMEDDS 供试品溶液的制备 将

MCT 1.20 g、Cremophor RH40 1.68 g、Labrasol 1.12 g 装入具塞锥形瓶中,混合均匀后加入 160 mg 水飞蓟宾,于 60 ℃恒温水浴震荡 48 h,冷却至室温,得澄明棕红色 SMEDDS 溶液,水飞蓟宾的量为 0.04 g/g。

2.2 水飞蓟宾的 HPLC 测定

2.2.1 色谱条件 依利特 Hypersil BDS C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相 甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钾(53:47),用磷酸调节 pH 至 4.0;检测波长 287 nm;体积流量 1 mL/min;柱温 30 ℃;进样量 20 μL。

2.2.2 对照品贮备液制备 精密称取水飞蓟宾对照品 10.47 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,得质量浓度为 0.209 4 mg/mL 的对照品溶液,精密移取 0.5 mL 对照品溶液,加入 25 mL 量瓶中,加甲醇定容,得质量浓度为 4.188 μg/mL 的对照品贮备液,备用。

2.2.3 血浆样品预处理 吸取 200 μL 血浆样品,加入 2 倍量体积的乙腈,涡旋振荡 2 min,于 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液,30 ℃氮气流吹干,剩余物加入 100 μL 流动相,涡旋 3 min 溶解,待测。

2.2.4 专属性考察 取空白大鼠血浆 200 μL,按“2.2.3”项下方法处理后进样测定,考察空白血浆对药物测定有无干扰。

2.2.5 线性关系考察 精密量取水飞蓟宾对照品贮备液 25、50、100、150、200、300、400 μL,分别加入 200 μL 空白血浆中,再分别加入适量甲醇,使系列溶液的体积为 600 μL,按“2.2.3”项下方法处理后进样测定,记录峰面积,以峰面积(*A*)对水飞蓟宾质量浓度(*C*)进行线性回归,得标准曲线回归方程。

2.2.6 精密度试验 取空白血浆 200 μL,精密加入一定量的水飞蓟宾对照品溶液,配制低、中、高 3 个质量浓度(2.094、8.376、16.752 μg/mL)的血浆样品各 5 份。按“2.2.3”项下的方法处理,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,各质量浓度样品于 1 d 内连续测定 5 次,记录峰面积,根据标准曲线方程计算水飞蓟宾的量,并计算日内精密度。连续测定 5 d,计算日间精密度。

2.2.7 回收率试验 取空白血浆 200 μL,精密加入一定量的水飞蓟宾对照品溶液,配制低、中、高 3 个质量浓度(2.094、8.376、16.752 μg/mL)的血浆样品各 3 份。按“2.2.3”项下的方法处理,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,记录峰面积,用水飞蓟宾

峰面积计算样品浓度,以实测浓度和理论浓度计算方法回收率。

2.3 药动学实验

2.3.1 给药与采血 雄性 SD 大鼠 12 只,随机分成对照组和实验组,每组 6 只,给药前禁食 12 h,自由饮水。3 d 后分别 ig 水飞蓟宾-SMEDDS 供试品溶液和水飞蓟宾-S-SEDDS 供试品溶液,剂量均为 533 mg/kg,于给药后 0.33、0.67、1、2、3、4、5、6、8、10、12 h 股动脉取血 0.5 mL,5 000 r/min 离心

10 min 分离血浆,−20 ℃ 保存,待测。

2.3.2 数据分析 用非房室模型的统计矩法对血药浓度进行数据分析,求得主要药动学参数。

3 结果

3.1 水飞蓟宾 HPLC 测定的方法学考察

3.1.1 专属性考察 水飞蓟宾异构体 A 与水飞蓟宾异构体 B 的分离度较好,峰形良好,内源性物质无干扰,见图 1。表明该方法专属性好。

3.1.2 线性关系考察 以峰面积 (A) 对水飞蓟宾

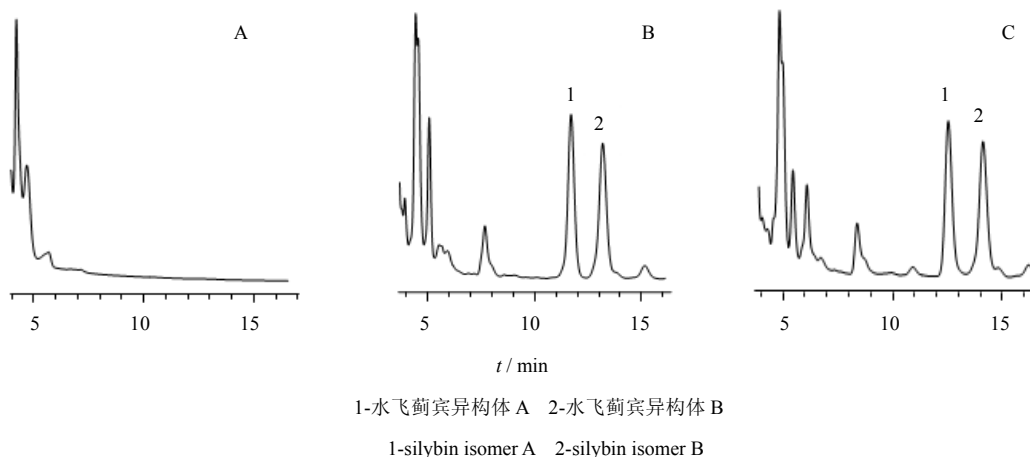


图 1 空白血浆 (A)、水飞蓟宾对照品 (B) 和血浆样品 (C) HPLC 图

Fig. 1 Chromatograms of blank plasma (A), silybin reference substance (B), and plasma sample (C)

质量浓度 (C) 进行线性回归,得回归方程 $A=35.724C-15.403$ ($r=0.9922$, $n=5$)。水飞蓟宾在 1.047~16.752 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

3.1.3 精密度试验 2.094、8.376、16.752 $\mu\text{g/mL}$ 水飞蓟宾的大鼠血浆样品的日内精密度分别为 4.0%、4.7%、3.5%,日间精密度分别为 11.4%、8.90%、10.8%。

3.1.4 回收率试验 2.094、8.376、16.752 $\mu\text{g/mL}$ 水飞蓟宾的大鼠血浆样品的回收率分别为 $(120.0 \pm 2.5)\%$ 、 $(91.0 \pm 2.8)\%$ 、 $(91.9 \pm 3.0)\%$,RSD 分别为 2.5%、2.8%、3.0%。符合生物样品定量测定方法学要求。

3.2 药动学结果

结果显示,水飞蓟宾-S-SMEDDS 组的 $C_{\max}$ 是水飞蓟宾-SMEDDS 组的 1.69 倍, $AUC_{0 \rightarrow t}$ 是水飞蓟宾-SMEDDS 的 3.03 倍,具有显著差异 ($P < 0.05$),表明将水飞蓟宾制成 S-SMEDDS 能显著提高其吸收速度和吸收量。结果见图 2 和表 1。

4 讨论

S-SMEDDS 是在 SMEDDS 处方中加入过饱和

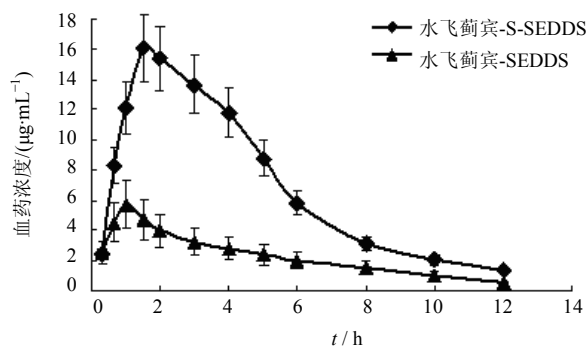


图 2 大鼠 ig 水飞蓟宾-S-SMEDDS 和水飞蓟宾-SMEDDS 后的平均药-时曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Mean plasma silybin concentration-time curves of rats after ig administration of S-SMEDDS of silybin and SMEDDS of silybin ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

促进剂而形成的一种释药系统。处于过饱和状态下的微乳,能明显抑制药物的结晶,延长药物的过饱和状态,从而增加药物的溶解度,降低原有自微乳处方中表面活性剂的用量,减少对胃肠道的刺激^[10]。在本实验中,水飞蓟宾-SMEDDS 处方中表面活性剂与水飞蓟宾的质量比为 17.5:1,而水飞蓟宾-S-

表 1 水飞蓟宾-S-SMEDDS 和水飞蓟宾-SMEDDS 在大鼠体内的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of rats *in vivo* after ig administration of S-SMEDDS of silybin and SMEDDS of silybin ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	水飞蓟宾-S-SMEDDS	水飞蓟宾-SMEDDS
$C_{\max}$	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$16.10 \pm 4.06^*$	5.68 ± 0.52
$t_{\max}$	h	1.50 ± 0.84	1.00 ± 0.40
$\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	$82.64 \pm 12.36^*$	27.30 ± 3.29
MRT	h	4.32 ± 2.15	4.10 ± 1.93

与水飞蓟宾-SMEDDS 组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs silybin-SMEDDS group

SMEDDS 处方中该比例为 15 : 1, 减少了表面活性剂的用量, 降低了制剂的毒性, 提高了用药的安全性。在本实验中使用的 Accusampler 全自动采血系统装置, 与传统的大鼠眼眶取血和尾静脉取血相比, 具有采样精度高、人为因素影响小、样本易保存等优势, 很大程度上提高了实验数据的准确性。因水飞蓟宾由水飞蓟宾 A 和 B 两个异构体构成, 且很难得到单一成分, 故在水飞蓟宾生物样品分析方法中, 采用两个异构体面积之和计算水飞蓟宾的量, 方法学考察结果表明, 该方法具有良好的线性、精密度及回收率, 满足了制剂药动力学研究的方法学要求。大鼠体内药动力学实验结果显示, 水飞蓟宾-S-SMEDDS 组的 $C_{\max}$ 、 $t_{\max}$ 、 $\text{AUC}_{0 \rightarrow t}$ 均明显高于水飞蓟宾-SMEDDS 组, 对这 3 项参数进行方差分析, 两组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 表明将水飞蓟宾制成 S-SMEDDS 后可进一步提高水飞蓟宾的口服

生物利用度, 由此推断, S-SMEDDS 可能是提高难溶性药物口服生物利用度的良好载体。

参考文献

[1] 于乐成, 顾长海. 利加隆及其药理效应研究进展 [J]. 国外医药: 合成药生化药制剂分册, 2000, 21(4): 201-203.

[2] Wellington K, Jarvis B. Silymarin: a review of its clinical properties in the management of hepatic disorders [J]. *Bio Drugs*, 2001, 15(7): 465-489.

[3] 肖衍宇, 宋赞梅, 平其能, 等. 水飞蓟宾磷脂复合物的制备与大鼠生物利用度的研究 [J]. 药学报, 2005, 40(7): 611-617.

[4] 徐希明, 朱 源, 李 强, 等. 水飞蓟宾纳米胶束的制备及其鼠体内药物动力学研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(24): 1874-1876.

[5] 胡霓霓, 谭群友, 魏农农, 等. 水飞蓟宾纳米粒的制备及其理化性质研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1384-1387.

[6] 钦富华, 胡巧红, 梁文权, 等. 水飞蓟素自微乳化胶囊的制备及大鼠体内药动学 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(20): 1551-1555.

[7] 江 来, 刘 欢, 王春龙, 等. 水飞蓟宾口服微乳制备及性质评价研究 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 51-54.

[8] Gao P, Morozowich W. Development of supersaturatable self-emulsifying drug delivery system formulations for improving the oral absorption of poorly soluble drugs [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2006, 3(1): 97-110.

[9] 彭 璇, 陈苹苹, 包 强, 等. 水飞蓟宾过饱和和自乳化给药系统的制备及性质研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 40-42.

[10] 乔 梁, 魏颖慧, 李范珠. 过饱和和自微乳给药系统的研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2008, 25(4): 279-283.