

蛇床子素不同环糊精包合物的制备及其生物利用度比较研究

恽菲^{1,2,3}, 徐晓琰^{1,2,3}, 狄留庆^{1,2,3*}, 康安¹, 单进军¹, 赵晓莉^{1,2,3}, 李俊松^{1,2,3}, 毕肖林^{1,2,3}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210046

3. 南京市中药微丸产业化工程技术研究中心, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 采用3种不同的环糊精[β -环糊精(β -CD)、羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)、甲基- β -环糊精(M- β -CD)]对蛇床子素进行包合, 比较不同环糊精的包合物对蛇床子素生物利用度的影响。方法 采用红外光谱(IR)、扫描电镜(SEM)、差示量热分析(DSC)法来表征不同环糊精包合物的形成; HPLC法测定包合物中蛇床子素的量及其溶解度; HPLC-MS/MS法测定不同环糊精包合前后, 蛇床子素在大鼠体内的血药浓度。结果 经IR、SEM、DSC法表明3种环糊精包合物的形成, 经包合后蛇床子素溶解度显著提高, 大鼠体内生物利用度得到显著改善。结论 β -CD、M- β -CD、HP- β -CD制备的蛇床子素包合物均能显著提高蛇床子素体外溶解度, 并能提高其在大鼠体内生物利用度。

关键词: 蛇床子素; 环糊精; 包合物; 生物利用度; HPLC-MS/MS

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)03-0341-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.03.009

Preparation of different osthole cyclodextrin inclusion complex and comparison on their bioavailability

YUN Fei^{1,2,3}, XU Xiao-yan^{1,2,3}, DI Liu-qing^{1,2,3}, KANG An¹, SHAN Jing-jun¹, ZHAO Xiao-li^{1,2,3}, LI Jun-song^{1,2,3}, BI Xiao-lin^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Provincial TCM Efficient Drug Delivery System Engineering Technology Research Center, Nanjing 210046, China

3. Nanjing Engineering Research Center for Industrialization of Chinese Medicine Pellets, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To prepare three kinds of inclusion complex of osthole (Ost) using β -cyclodextrin (CD), hydroxypropyl- β -CD, and methyl- β -CD, and to investigate their corresponding bioavailability in rats. **Methods** The formation of inclusion complex of Ost was confirmed by scanning electron microscope (SEM), infrared spectroscopy (IR), and differential scanning calorimetry (DSC), and the content and solubility were determined by HPLC. The blood concentration of Ost in rats was assayed by HPLC-MS/MS. **Results** SEM, IR, and DSC study characterized the formation of inclusion complex of Ost. Determination of the solubility proved that the three kinds of CD could significantly increase the solubility of Ost *in vitro*. And bioavailability study in rats exhibited remarkably improved bioavailability by three kinds of CD inclusion complex compared to the pure drug. **Conclusion** The three kinds of CD inclusion complex could increase the solubility and enhance the bioavailability of Ost in rats.

Key words: osthole; cyclodextrin; inclusion complex; bioavailability; HPLC-MS/MS

蛇床子素又名甲氧基欧芹酚或欧芹酚甲醚(osthole, Ost), 其化学名称为 7-甲氧基-8-异戊烯基香豆素 [7-methoxy-8-(3-methyl-2-butenyl)-2H-1-benzopyran-2-one], 因在伞形科植物蛇床子 *Cnidium*

monnieri (L.) Cusson 中的量较高而得名^[1]。现代研究发现蛇床子素具有明显的抗心律失常、扩张血管、促进学习记忆、补肾壮阳、抗骨质疏松、抗癌、治疗酒精性脂肪肝等药理作用^[2-6]。但蛇床子素难溶

收稿日期: 2013-09-09

基金项目: 江苏省科技创新团队支持计划 [苏教师(2008)30号]; 江苏省优势学科建设项目 (YSXK-2010)

作者简介: 恽菲 (1987—), 女, 南京中医药大学 2011 级博士研究生。Tel: (025)85811230 13852295802 E-mail: yunfeilyx@163.com

*通信作者 狄留庆 (1964—), 男, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为中药新型给药系统应用与评价。

Tel: (025)85811230 E-mail: diliuqing@hotmail.com

于水^[7-8],口服生物利用度较低^[9],极大地限制了其临床应用。 β -环糊精(β -CD)、羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)、甲基- β -环糊精(M- β -CD)是常用于增加疏水性药物溶解度的包合材料^[10-15]。本实验研究制备蛇床子素3种环糊精包合物,采用红外光谱(IR)、扫描电镜(SEM)、差示量热分析(DSC)法表征其形成,同时比较其增溶作用及在大鼠体内生物利用度的差异。

1 仪器和材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);85—2 恒温加热磁力搅拌器(江苏金华仪器有限公司);Nexus—870 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司);同步 TG—DSC 热分析仪(STA 409 PC/PG, NETZSCH Gertebau GmbH);S—4800 扫描电镜(日本日立公司);BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);微型涡旋混合器(上海青浦沪西仪器厂);DCY—24G 可调式氮吹仪(青岛海科仪器有限公司);AnkeTGL—16G 高速离心机(上海安亭科学仪器厂)。

β -CD(批号 F20100419,国药集团化学试剂有限公司);HP- β -CD(批号 201208)、M- β -CD(批号 201208)山东滨州智源生物科技有限公司;对照品蛇床子素(批号 110822-200305)、欧前胡素(批号 110826-200410),中国食品药品检定研究院;蛇床子素原料药(西安天本生物工程有限公司,批号 100429,质量分数 $\geq 98.0\%$)。甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯;水为重蒸馏水;其他试剂均为分析纯。

SD 大鼠,体质量 200~250 g,雄性,由南京医科大学动物中心提供,实验动物合格证号 SCK

(苏)2008-0004。

2 方法和结果

2.1 蛇床子素不同环糊精包合物的制备及其包合工艺优化

2.1.1 蛇床子素不同环糊精包合物的制备 分别取一定量环糊精衍生物,加蒸馏水并加热溶解。另取一定量的蛇床子素,搅拌溶解于无水乙醇。将环糊精水溶液缓缓加入蛇床子素乙醇溶液中,搅拌,挥去乙醇,冷冻干燥,石油醚洗涤,挥去石油醚,即得相应环糊精衍生物的蛇床子素包合物^[16]。

2.1.2 蛇床子素不同环糊精包合物制备工艺参数的正交试验 根据文献方法^[16]与预试验结果选择对包合率影响较大的3个因素,即搅拌时间(A)、包合温度(B)和蛇床子素与环糊精物质的量之比(C),每个因素取3个水平,以包合率(Y_1)、包合物得率(Y_2)的综合评分(Y , $Y=Y_1 \times 0.7 + Y_2 \times 0.3$,权重选择依据包合物制备过程评价指标的重要性差异经验确定)为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行试验,筛选最佳包合条件。3种环糊精包合工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果见表1。

2.1.3 包合物包合率及得率的测定

(1) 色谱条件^[16]: 色谱柱为 Heder C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相为甲醇-水(80:20);体积流量为 1 mL/min;检测波长为 322 nm;柱温为 30 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ L。

(2) 标准曲线的制备:精密称取蛇床子素对照品 1.08 mg 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,超声、定容至刻度线,摇匀得 108 μ g/mL 对照品溶液。精密吸取适量对照品溶液,用甲醇稀释至质量浓度分别为 54.0、21.6、13.5、10.8、5.4 μ g/mL,分别进样

表1 环糊精包合工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test of CD inclusion technology

试验号	A/h	B/ $^{\circ}$ C	C	D(空白)	β -CD 包合物			HP- β -CD 包合物			M- β -CD 包合物		
					$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	Y
1	4(1)	40(1)	1(1)	(1)	82.42	97.23	86.87	76.60	87.44	79.85	54.56	95.58	66.87
2	4(1)	50(2)	2(2)	(2)	79.27	94.53	83.85	83.61	92.12	86.16	79.51	85.89	81.42
3	4(1)	60(3)	3(3)	(3)	76.27	93.74	81.51	90.07	94.96	91.53	87.81	91.88	89.03
4	3(2)	40(1)	2(2)	(3)	66.03	86.32	72.12	79.34	96.63	84.53	98.03	86.18	94.47
5	3(2)	50(2)	3(3)	(1)	71.35	92.64	77.74	91.53	96.56	93.04	97.18	94.08	96.26
6	3(2)	60(3)	1(1)	(2)	65.11	93.24	73.55	75.70	90.34	80.09	66.35	96.22	73.92
7	2(3)	40(1)	3(3)	(2)	74.46	90.24	79.19	86.33	91.52	87.89	90.86	94.75	92.02
8	2(3)	50(2)	1(1)	(3)	65.16	91.34	73.02	69.89	91.95	76.51	76.80	95.94	82.56
9	2(3)	60(3)	2(2)	(1)	74.36	96.34	80.96	67.35	90.88	74.41	84.60	85.91	85.00

10 μL , HPLC 测定, 记录色谱图及峰面积, 以蛇床子素峰面积为纵坐标 (Y), 蛇床子素质量浓度为横坐标 (X), 得标准曲线方程 $Y=24.878X+5.2066$, 相关系数 $r=0.9999$, 表明蛇床子素质量浓度在 5.4~108.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

(3) 包合率和得率的测定: 精密称取 β -CD、HP- β -CD、M- β -CD 的蛇床子素包合物 0.01 g 于 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声 30 min, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 取滤液进行 HPLC 分析, 得出样品峰面积, 计算包合物中蛇床子素的量及其包合率 (包合

率=包合物中实际含蛇床子素量/包合前加入的蛇床子素量)。

将冻干样品用石油醚洗涤 3 次, 挥去石油醚后的包合物, 精密称定质量, 计算包合物得率 [包合物得率=包合物质量 / (环糊精质量+蛇床子素质量)]。

(4) 3 种环糊精包合蛇床子素正交试验结果: 3 种不同环糊精包合蛇床子素正交试验结果见表 1, 设定包合率与得率的权重比为 7:3, 直观分析和数据处理结果见表 2、3。

表 2 不同环糊精包合工艺正交试验直观分析表

Table 2 Direct analysis for orthogonal test of different CD inclusion technology

试验号	β -CD 包合物				HP- β -CD 包合物				M- β -CD 包合物			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
K_1	252.23	238.18	233.44	245.57	257.54	252.27	236.45	247.30	237.32	253.36	223.35	248.13
K_2	223.41	234.61	236.93	236.59	257.66	255.71	245.10	254.14	264.65	260.24	260.89	247.36
K_3	233.17	236.02	238.44	226.65	238.81	246.03	272.46	252.57	259.58	247.95	277.31	266.06
R	28.82	3.57	5.00	18.92	18.85	9.68	36.01	6.84	27.33	12.29	53.96	18.70

表 3 不同环糊精包合正交试验方差分析

Table 3 Variance analyse for orthogonal test of different CD inclusions

因素	β -CD 包合物				HP- β -CD 包合物				M- β -CD 包合物			
	偏差平方和	自由度	F 值	显著性	偏差平方和	自由度	F 值	显著性	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	143.237	2	2.399	无	78.461	2	9.168	无	140.905	2	1.888	无
B	2.155	2	0.036	无	16.053	2	1.876	无	25.294	2	0.339	无
C	4.384	2	0.073	无	235.568	2	27.526	$P<0.05$	510.061	2	6.834	无
D (误差)	59.712	2			8.558	2			74.641	2		

$F_{0.05}(2, 2)=19.00$ $F_{0.01}(2, 2)=99.00$

以蛇床子素包合率及包合物得率的变化为考察指标, 对考察指标进行直观分析及方差分析, 结果表明, β -CD 包合的最佳工艺条件: 包合温度为 40 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间为 4 h, 蛇床子素与环糊精用量物质的量之比为 1:1; HP- β -CD 包合的最佳工艺条件: 包合温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间为 3 h, 蛇床子素与环糊精用量物质的量之比为 1:3; M- β -CD 包合的最佳工艺条件: 包合温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 包合时间为 3 h, 蛇床子素与环糊精用量物质的量之比为 1:3。

2.2 蛇床子素与不同环糊精物理混合物的制备

取蛇床子素与不同环糊精衍生物, 按照相应的物质的量比例进行简单的机械搅拌混匀, 作为物理混合物备用。

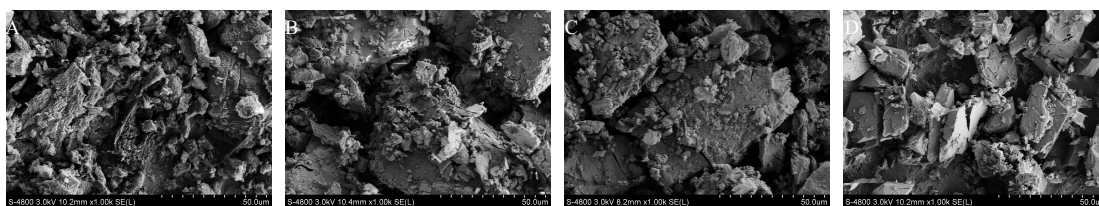
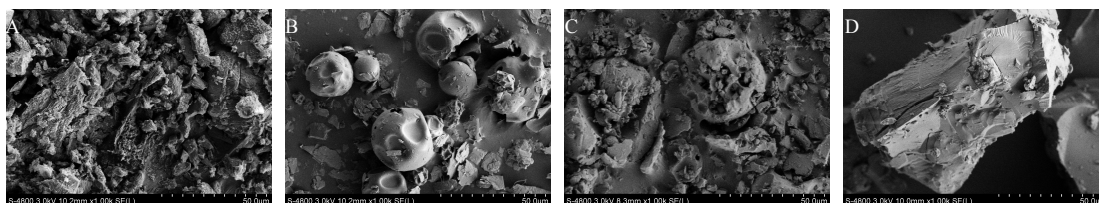
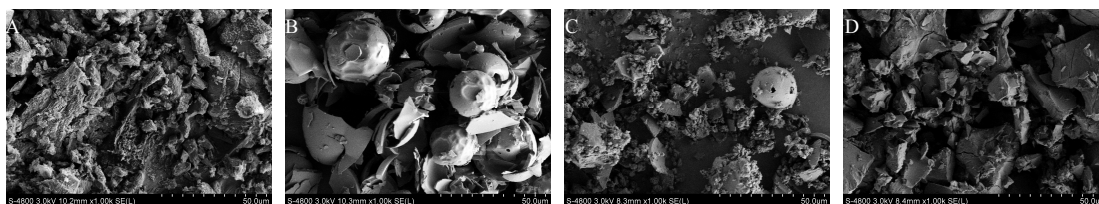
2.3 蛇床子素不同环糊精包合物的表征

2.3.1 SEM 观察 分别称取蛇床子素、3 种环糊精

与蛇床子素的物理混合物、以及蛇床子素- β -CD 包合物、蛇床子素-HP- β -CD 包合物、蛇床子素-M- β -CD 包合物各 10 mg, 分别分散于盖玻片上, 镀金固定于铜版上, 加速电压为 20 kV, 即得扫描电镜图。不同环糊精系统 SEM 图分别见图 1~3。

由图可知, 3 种不同类型环糊精、环糊精与蛇床子素的物理混合物及包合物的形态存在明显差异, 在包合物中环糊精的形状发生明显变化, 3 种环糊精 SEM 分析呈圆球状或孔状, 而环糊精包合物中的蛇床子素进入到环糊精分子腔内, 与环糊精分子相互作用, 使环糊精的形态转呈分枝状的晶体。物理混合物中的蛇床子素呈小颗粒状, 分布在环糊精表面及四周, 与包合物的形态不同, 说明物理混合物仅是 2 种物质的混合, 并没有发生形态学变化。

2.3.2 IR 扫描 采用溴化钾压片法测定蛇床子素、

A-蛇床子素 B- β -CD C-蛇床子素+ β -CD 物理混合物 D-蛇床子素- β -CD 包合物A-Ost B- β -CD C-Ost+ β -CD physical mixture D-Ost- β -CD inclusion complex图 1 β -CD 包合物系统 SEM 图Fig. 1 SEM micrographs of β -CD inclusion complex systemA-蛇床子素 B-HP- β -CD C-蛇床子素+HP- β -CD 物理混合物 D-蛇床子素-HP- β -CD-包合物A-Ost B-HP- β -CD C-Ost+HP- β -CD physical mixture D-Ost- β -CD inclusion complex图 2 HP- β -CD 包合物系统 SEM 图Fig. 2 SEM micrographs of HP- β -CD inclusion complex systemA-蛇床子素 B-M- β -CD C-蛇床子素+M- β -CD 物理混合物 D-蛇床子素-M- β -CD 包合物A-Ost B-M- β -CD C-Ost+M- β -CD physical mixture D-Ost-M- β -CD inclusion complex图 3 M- β -CD 包合物系统 SEM 图Fig. 3 SEM micrographs of M- β -CD inclusion complex system

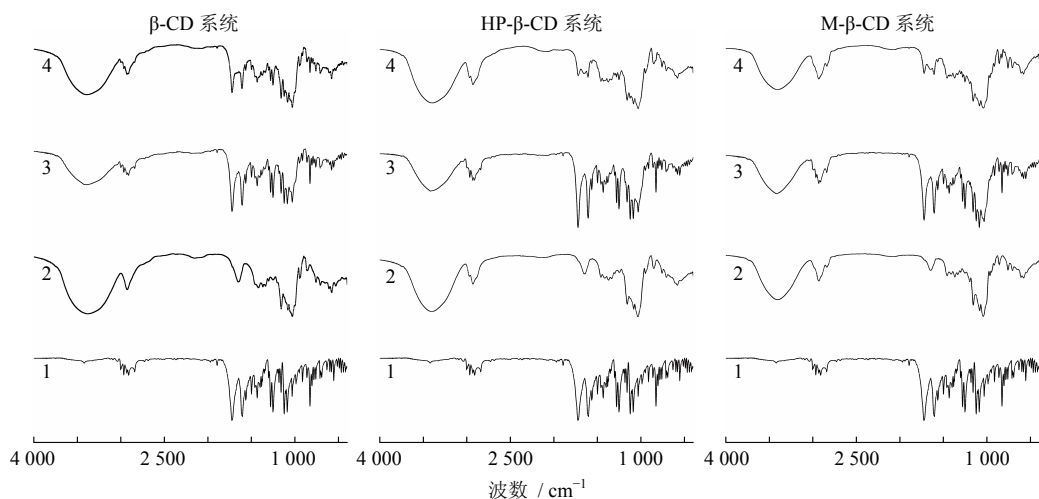
β -CD、HP- β -CD、M- β -CD、3 种环糊精与蛇床子素的物理混合物及蛇床子素- β -CD 包合物、蛇床子素-HP- β -CD 包合物、蛇床子素-M- β -CD 包合物的 IR。由于环糊精在 $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰很强,容易掩盖客体分子的吸收峰,故通过主体、客体、主客体混合物、包合物吸收峰的变化以确认包合物的形成。3 种环糊精包合蛇床子素前后的 IR 图见图 4。

蛇床子素分子中的羰基特征基团,在 $1\,700\text{ cm}^{-1}$ 附近伸缩振动峰的峰型及波数变化可以提供客体分子是否进入空腔以及相互作用的证据。IR 图显示,蛇床子素有 C=O 和 C-O 的伸缩振动峰, β -CD、HP- β -CD、M- β -CD 有归属于 O-H 的伸缩振动峰,物理混合物的 IR 图类似于两个单体图谱的叠加,而 3 种包合物中蛇床子素在 $1\,721\text{ cm}^{-1}$ 的羰基特征性的振动峰峰型发生明显变化,单体中峰强度很高,包合物中羰基峰强度大幅降低;包合物中环

糊精 O-H 伸缩振动峰基本上都由 $3\,390\text{ cm}^{-1}$ 位移至 $3\,400\text{ cm}^{-1}$ 左右,且包合物中这些峰型也发生变化,说明蛇床子素与环糊精形成包合物;羟基氢键伸缩振动峰峰型发生变化是因包合物形成后, β -CD、HP- β -CD、M- β -CD 筒状结构窄边羟基的氢键受到了破坏,提示蛇床子素嵌入环糊精分子腔中,而不是简单的物理吸附。

2.3.3 DSC 分析 取蛇床子素、蛇床子素- β -CD 系统包合物、蛇床子素-HP- β -CD 包合物、蛇床子素-M- β -CD 包合物及各种环糊精与蛇床子素的物理混合物各 2~4 mg,在同步 TG-DSC 热分析仪上进行测试, N_2 为保护气,升温速率为 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$,氧化铝坩埚,测量范围为 $38\sim 425\text{ }^\circ\text{C}$,记录 DSC 图谱和 TG 图谱。3 种环糊精包合蛇床子素前后的 DSC 图谱见图 5, TG 图谱见图 6。

由图 5 可知,蛇床子素在 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $287\text{ }^\circ\text{C}$ 各有



1-蛇床子素 2-不同环糊精单体 3-不同环糊精与蛇床子素的物理混合物 4-不同环糊精蛇床子素包合物, 图 5、6 同
1-Ost 2-different CDs 3-different CD physical mixture 4-different CD inclusion complex, same as Fig. 5 and 6

图 4 3 种环糊精包合系统的 IR 图

Fig. 4 IR spectra of and three kinds of Ost CD inclusion complex systems

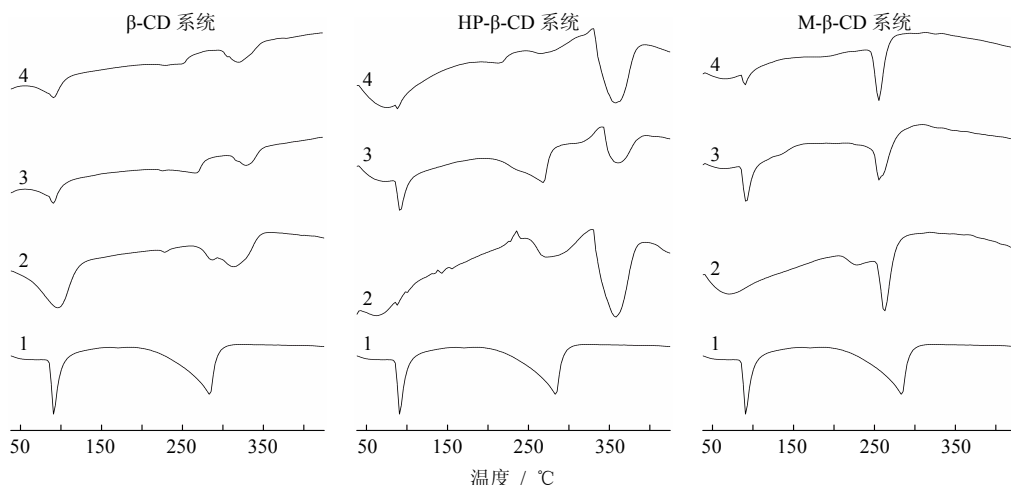


图 5 3 种环糊精包合系统的 DSC 图

Fig. 5 DSC curves of three kinds of Ost CDs inclusion complex systems

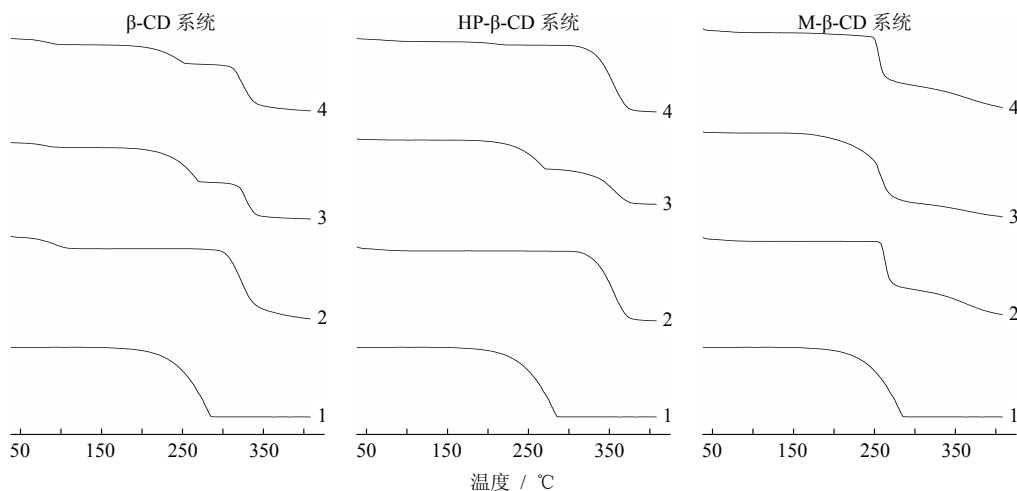


图 6 3 种环糊精包合系统的 TG 图

Fig. 6 TG curves of three kinds of Ost CDs inclusion complex systems

1个吸热峰, β -CD在95℃和312℃各有1个吸热峰, HP- β -CD在357℃有1个尖锐的吸热峰, M- β -CD在263℃有1个大的吸热峰; 3种环糊精和蛇床子素的物理混合物的DSC曲线就是简单的环糊精和蛇床子素的DSC曲线叠加; 蛇床子素经3种环糊精包合后其吸热峰的峰型和位置发生了明显的变化, 蛇床子素经 β -CD包合后蛇床子素在280℃左右的吸热峰消失, 而在240℃左右出现1个宽的吸热峰, 这是包合物特有的吸热峰; 蛇床子素经HP- β -CD包合后其在248℃出现1个宽的吸收峰; 蛇床子素经M- β -CD包合后234℃出现1个宽的吸热峰; 3种环糊精包合蛇床子素后其峰型和峰位均发生变化。

由图6可知, 3种不同环糊精包合蛇床子素后其失重温度较蛇床子素单体和物理混合物均有所升高, 说明环糊精包合后所得包合物的稳定性高于单体药物和物理混合物, 间接说明包合物的形成。

2.4 蛇床子素及包合物的溶解度测定

分别称取过量的蛇床子素、蛇床子素- β -CD包合物、蛇床子素-HP- β -CD包合物、蛇床子素-M- β -CD包合物于50 mL三角瓶中, 加入25 mL纯化水, 37℃恒温振荡器以100 r/min振摇72 h, 样品经0.45 μ m滤膜后, 按上述“2.2.1”项液相色谱条件进行测量, 根据标准曲线计算出蛇床子素及各包合物中的溶解度。

结果表明, 蛇床子素的溶解度为 (2.13 ± 0.21) μ g/mL, β -CD包合蛇床子素溶解度为 (69.84 ± 0.35) μ g/mL, 比蛇床子素提高了约32倍; HP- β -CD包合蛇床子素溶解度为 (111.06 ± 1.07) μ g/mL, 比蛇床子素提高了约51倍; M- β -CD包合蛇床子素的溶解度为 (160.50 ± 0.97) μ g/mL, 比蛇床子素提高了约74倍。

2.5 大鼠体内血药浓度的测定

2.5.1 给药样品的制备 精密称取蛇床子素, 按照大鼠给药剂量60 mg/kg配制; 各环糊精包合物给药剂量按照包合率折算成相应蛇床子素包合物的量进行配制。

2.5.2 给药方案及血浆样品的制备 选取SD雄性大鼠, 200~250 g, 给药前禁食12 h, 随机分为5组, 分别为空白对照组、蛇床子素组、 β -CD包合物组、HP- β -CD包合物组、M- β -CD包合物组。ig给药后0、5、10、20、30、40、50、60、90、120、180、360、600、1440 min大鼠眼眶取血约0.25 mL,

置于肝素化试管中, 立即以3500 r/min离心10 min, 于-20℃保存待测。

2.5.3 分析样品的制备

(1) 对照品溶液的制备: 精密称取蛇床子素对照品适量, 加甲醇溶解制成0.100 mg/mL的储备液, 于0~2℃保存。临用前, 取对照品储备液适量, 先用甲醇稀释成1.00 μ g/mL, 再按倍数稀释法稀释至所需浓度, 即得。

(2) 内标溶液的制备: 精密称取欧前胡素对照品适量, 加甲醇溶解制成0.100 mg/mL的储备液, 于0~2℃保存。临用前, 加甲醇稀释成1.00 μ g/mL, 即得内标溶液。

2.5.4 血浆样品预处理 精密移取血浆100 μ L, 置于1.5 mL离心管中, 精密加入内标10 μ L, 涡旋2 min, 精密加入1000 μ L醋酸乙酯, 涡旋3 min至萃取完全, 12000 r/min离心5 min, 取上清于空白离心管中, 置于37℃水浴氮气流吹干, 用流动相复溶后涡旋3 min, 12000 r/min离心5 min, 取上清注入HPLC-MS/MS进行分析检测(分析条件见“2.5.5”项)。

2.5.5 含药血浆中蛇床子素血药浓度的HPLC-MS/MS分析 利用本实验室已建立的大鼠血浆中蛇床子素浓度方法进行样品测定^[9]。

(1) 色谱条件: 色谱柱为Sepax GP-C₁₈柱(150 mm×2.1 mm, 3.0 μ m); 流动相为甲醇-0.1%甲酸(80:20); 体积流量0.4 mL/min, 柱温30℃; 进样量5 μ L。

(2) 质谱条件: 离子源: ESI; 离子化模式: 正离子; 毛细管电压: 3.5 kV; 毛细管出口电压: -130 V; 干燥温度: 350℃; 干燥气体流量: 8 L/min; 雾化温度: 425℃; 喷雾器压力: 35 psi(1 psi=6.895 kPa); 定量模式: 多反应监测模式(MRM); 蛇床子素 m/z $[M+H]^+$ 245.00, 定量离子 m/z 189.00; 内标物欧前胡素 m/z $[M+H]^+$ 271.00, 定量离子 m/z 202.90。碰撞能量分别为135 eV(蛇床子素)和65 eV(欧前胡素)。

2.6 不同环糊精包合后蛇床子素在大鼠体内药动学参数比较

经口服给药, 蛇床子素单体药物及不同环糊精包合后蛇床子素在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线见图7。将测得的血药浓度-时间数据以DAS 2.1.1程序经计算机拟合, 采用非房室模型计算蛇床子素在大鼠体内的各项药动学参数, 其主要药动学

参数见表 4。

结果表明, 3 种不同环糊精包合后蛇床子素大鼠体内药动学参数有显著变化, β -CD 包合能够显著

减慢蛇床子素体内消除相(即 CL), 增加 MRT, 提高 AUC, 即蛇床子素经环糊精包合后可显著提高其口服生物利用度; 蛇床子素经 HP- β -CD 包合后能减

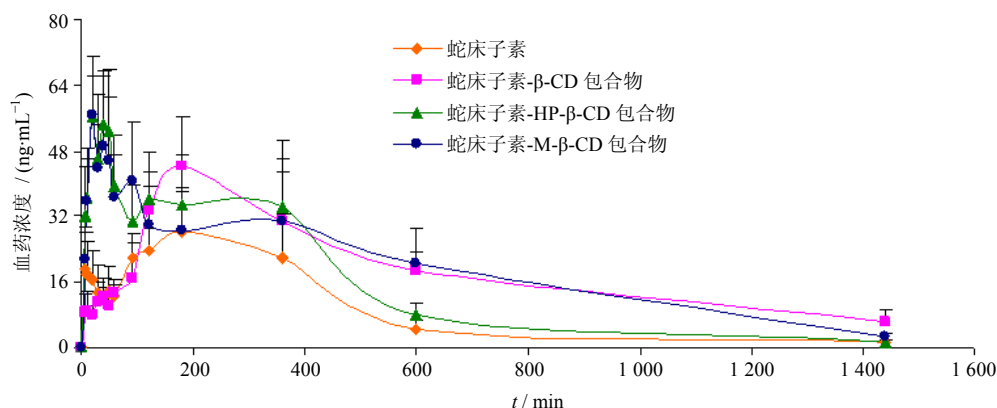


图 7 口服蛇床子素单体及 3 种环糊精蛇床子素包合物在大鼠血浆中血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 7 Concentration-time curves of Ost and three kinds of Ost CDs inclusion complex in rat plasma after ig administration ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 4 蛇床子素 3 种不同环糊精包合前后体内药动学参数比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Pharmacokinetic parameters of three kinds of Ost CD inclusion complex in rat plasma after ig administration ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	蛇床子素	β -CD 包合物	HP- β -CD 包合物	M- β -CD 包合物
AUC ₀₋₁₄₄₀	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}$	13 753.787 $\pm$ 3 462.301	27 422.246 $\pm$ 4 592.193**	22 093.188 $\pm$ 5 923.038*	27 844.831 $\pm$ 7 460.421**
AUC _{0-∞}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}$	14 357.425 $\pm$ 3 511.639	37 231.438 $\pm$ 11 348.334**	22 385.514 $\pm$ 6 165.527*	29 274.404 $\pm$ 8 281.330**
MRT ₀₋₁₄₄₀	min	344.748 $\pm$ 69.593	500.208 $\pm$ 72.875**	313.618 $\pm$ 38.882	409.306 $\pm$ 72.422
MRT _{0-∞}	min	409.445 $\pm$ 127.956	1 188.824 $\pm$ 1 178.629	330.604 $\pm$ 53.082	481.635 $\pm$ 86.351
CL	$\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	4.365 $\pm$ 0.974	1.708 $\pm$ 0.402**	2.881 $\pm$ 0.947*	2.184 $\pm$ 0.621*
$t_{1/2}$	min	283.913 $\pm$ 86.181	832.123 $\pm$ 917.376	217.562 $\pm$ 79.670	356.153 $\pm$ 62.233
t_{max}	min	152.000 $\pm$ 131.415	168.000 $\pm$ 26.833	33.000 $\pm$ 19.875*	26.000 $\pm$ 13.416*
C_{max}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	34.178 $\pm$ 10.290	44.452 $\pm$ 11.756	67.488 $\pm$ 8.263**	66.678 $\pm$ 19.760*

与蛇床子素组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs Ost group

小 t_{max} 和 CL, 显著增加 C_{max} , 从而增加 AUC, 即包合后可增加蛇床子素的最大血药浓度, 减慢蛇床子素的体内消除, 从而增加其生物利用度; M- β -CD 包合蛇床子素后能减小蛇床子素的 t_{max} 和 CL, 显著增加 C_{max} , 从而增加 AUC, 即包合后可增加蛇床子素的血药浓度, 减慢蛇床子素的体内消除, 从而增加其生物利用度。3 种不同环糊精包合蛇床子素后, AUC_{0-∞} 排序为蛇床子素- β -CD 包合物>蛇床子素-M- β -CD 包合物>蛇床子素-HP- β -CD 包合物>蛇床子素。由该结果表明, 3 种不同环糊精均可提高蛇床子素体内的生物利用度。

3 讨论

不同环糊精(β -CD、HP- β -CD、M- β -CD)的

包合物经 SEM、DSC、IR 表征, 提示包合物的形成。TG 实验表明, 环糊精包合有利于提高蛇床子素单体药物的稳定性。环糊精分子与蛇床子素分子间形成了紧密的结合, 包合物将蛇床子素分子包裹在内, 而且分子间形成紧密结合。

溶解度实验表明, 3 种不同环糊精包合物中, 蛇床子素的溶解度也存在差异, 溶解度大小排序为 M- β -CD>HP- β -CD> β -CD。HP- β -CD 和 M- β -CD 对蛇床子素的增溶作用大于 β -CD, 这也可能和环糊精本身性质有关, 由于 β -CD 是标准的 7-吡喃葡萄糖形成的稳定的筒状结构, 其分子内氢键作用较强导致 β -CD 在水中的溶解度不大, 而 HP- β -CD 及 M- β -CD 是由 β -CD 分子上载 2-或者 6-导入了羟丙

基或者甲基而形成的,这种基团的导入破坏了 β -CD的分子内稳定氢键作用,所以这2种环糊精在水中的溶解性优于 β -CD,因此M- β -CD和HP- β -CD增溶作用大于 β -CD。该结论与文献报道的相溶解法研究不同环糊精对蛇床子素的增溶作用结果一致^[17]。

大鼠体内药代动力学结果表明,3种环糊精均能显著提高蛇床子素体内的生物利用度。药时曲线和药动学参数表明 β -CD包合能够通过减慢蛇床子素体内消除从而提高其口服生物利用度;HP- β -CD和M- β -CD包合后能显著增加 $C_{\max}$,减小 $t_{\max}$,增加蛇床子素的口服吸收,同时减慢蛇床子素的体内消除,从而增加其生物利用度。HP- β -CD和M- β -CD显著增加 $C_{\max}$,而 β -CD却没有显著增加蛇床子素 $C_{\max}$,推测与3种环糊精体外增溶差异有关,M- β -CD(提高了约74倍)和HP- β -CD(提高了约51倍)增溶作用大于 β -CD(提高了约32倍),溶解度试验表明HP- β -CD和M- β -CD体外增溶能力约为 β -CD的1.5倍左右,而体内HP- β -CD和M- β -CD包合物的 $C_{\max}$ 亦为 β -CD包合物 $C_{\max}$ 的1.5倍左右。

参考文献

- [1] 连其深. 蛇床子的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2003, 26(2): 141-144.
- [2] You L, Feng S, An R, *et al.* Osthole: a promising lead compound for drug discovery from a traditional Chinese medicine (TCM) [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(2): 297-302.
- [3] 恽菲, 狄留庆, 陈乐天, 等. 蛇床子素体内过程及其组分配伍和药剂学技术应用影响研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 347-350.
- [4] 马玉明. 蛇床子素的药理进展及剂型开发 [J]. 中国现代药物应用, 2008, 12(2): 112-114.
- [5] Zhang J, Xue J, Wang H, *et al.* Osthole improves alcohol-induced fatty liver in mice by reduction of hepatic oxidative stress [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(5): 638-643.
- [6] 张晓丹, 余迎梅, 范春兰, 等. 蛇床子素对阿霉素心脏毒性的影响 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(6): 358-360.
- [7] Okamoto T, Kobayashi T, Yoshida S. Chemical aspects of coumarin compounds for the prevention of hepatocellular carcinomas [J]. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2005, 5(1): 47-51.
- [8] 胡小娟, 陈维良, 俞洋, 等. N-脂肪酰-N-三甲基壳聚糖的合成及其对蛇床子素的增溶作用 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 674-680.
- [9] Yun F, Kang A, Shan J, *et al.* A rapid and sensitive LC-MS/MS method for the determination of osthole in rat plasma: application to pharmacokinetic study [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(5): 676-680.
- [10] 熊晓莉, 李 宁, 陈锦锦. 环糊精包合技术研究进展 [J]. 中国药房, 2008, 19(25): 1988-1990.
- [11] 代国飞, 王明伟. 环糊精及其衍生物的药学应用进展 [J]. 中国新药杂志, 2005, 14(11): 1261-1264.
- [12] 张卫敏, 任晓文, 徐为人, 等. 分子模拟技术在释药技术中的应用 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(2): 86-89.
- [13] Stella V J, He Q. Cyclodextrins [J]. *Toxicol Pathol*, 2008, 36(1): 30-42.
- [14] Shulman M, Cohen M, Soto-Gutierrez A, *et al.* Enhancement of naringenin bioavailability by complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18033.
- [15] An L N, Dang Y J, Hu C H, *et al.* Physicochemical properties and gastric mucosa irritation of cantharidin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex [J]. *Chin Herb Med*, 2012, 4(3): 224-229.
- [16] 高永荣, 张 力, 张丹参, 等. 蛇床子素包合物的制备及其兔体内生物利用度测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(12): 1143-1146.
- [17] 宋静亚, 赵会英. 相溶解度法研究不同环糊精对蛇床子素的增溶作用 [J]. 分析科学学报, 2007, 23(5): 595-597.