

• 药剂与工艺 •

蛇床子素 3 种制剂的制备、表征及药动学比较研究

王震芳¹, 张智强², 葛振华^{2,3}

1. 郑州大学附属肿瘤医院 药学部, 河南 郑州 450000

2. 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300301

3. 天津中医药研究院, 天津 300020

摘要: 目的 制备蛇床子素 (Ost) 固体分散体 (Ost-SD)、磷脂复合物 (Ost-PC) 和纳米混悬剂 (Ost-NS), 并分别比较 3 种制剂在 SD 大鼠体内的药动学。方法 溶剂挥发法制备 Ost-SD 和 Ost-PC, 采用 XRPD 技术分析 Ost 的存在状态。高压均质法制备 Ost-NS, 并测定 Ost-NS 粒径分布及 Zeta 电位。以 Ost 原料药为参考, 分别比较 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 的体外溶出情况。SD 大鼠分别 ig 给予 Ost、Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 混悬液, HPLC 法测定 Ost 血药浓度, 计算主要药动学参数, 并比较药动学行为及相对生物利用度。结果 Ost 在 Ost-SD 和 Ost-PC 中以无定型状态存在。Ost-NS 平均粒径为 (161.37 ± 3.77) nm, Zeta 电位为 (-29.16 ± 1.83) mV。体外溶出研究结果显示, Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 均可提高 Ost 的体外溶出速率及溶出度。体内药动学结果显示, Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 均显著提高, 且相对生物利用度分别提高至 165.92%、138.46% 和 259.35%。结论 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 均可提高 Ost 口服吸收生物利用度, 但 Ost-NS 效果更为明显。

关键词: 蛇床子素; 磷脂复合物; 固体分散体; 纳米混悬剂; 生物利用度

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)15-3615-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.015

Comparative study of preparation, characterization and pharmacokinetics of three preparations of osthole

WANG Zhen-fang¹, ZHANG Zhi-qiang², GE Zhen-hua^{2,3}

1. Department of Pharmacology of Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300301, China

3. Tianjin Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300020, China

Abstract: Objective To prepare osthole solid dispersions (Ost-SD), osthole phospholipids complex (Ost-PC), and osthole nanosuspensions (Ost-NS), and compare their effects on the pharmacokinetics in SD rats *in vivo*. **Methods** Solvent evaporation method was used to prepare Ost-SD and Ost-PC. Their existential state of Ost in Ost-SD and Ost-PC were analyzed by X-ray power diffraction (XRPD). High pressure homogenization method was employed to prepare Ost-NS, its particle size and Zeta potential were studied. The dissolution *in vitro* of Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS were also studied compared to Ost suspension. SD rats in each group were ig administered with Ost, Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS, respectively. The concentration of Ost in blood was analyzed by HPLC, and the main pharmacokinetic parameters were obtained. The pharmacokinetic behavior and bioavailability were also been compared. **Results** The results of XRPD indicated that Ost showed an amorphous state in Ost-SD and Ost-PC. The average particle size and Zeta potential of Ost-NS were (161.37 ± 3.77) nm and (-29.16 ± 1.83) mV, respectively. The results of dissolution *in vitro* indicated that the dissolution of Ost was improved greatly by Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS. The results of pharmacokinetics *in vivo* showed that $C_{\max}$, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ of Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS were enhanced greatly compared to Ost. The bioavailability of Ost-SD, Ost-PC,

收稿日期: 2019-04-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31860542); 河南省科技攻关计划项目 (201702131)

作者简介: 王震芳 (1988—), 硕士研究生, 药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0371)65587016 E-mail: wzf55208@126.com

and Ost-NS were enhanced to 165.92%, 138.46%, and 259.35%, respectively. **Conclusion** Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS can enhance the bioavailability of Ost in SD rats notably. In addition, Ost-NS can give a better effect.

Key words: osthole; phospholipids complex; solid dispersions; nanosuspensions; bioavailability

蛇床子素 (osthole, Ost) 是伞形科植物蛇床子 *Cnidium monnieri* (L.) Cusson 的主要活性成分之一, 具有降血压、抗心律失常、抗骨质疏松、抗肿瘤、治疗脂肪肝及阴道炎等多种药理作用^[1-5]。但由于 Ost 较差的溶解度, 限制了口服吸收程度, 因而也限制了其药效充分发挥。因此促进 Ost 体内吸收, 提高生物利用度是制剂学需要解决的问题。近年来, 难溶性药物往往采用增溶技术或纳米技术等提高其口服吸收生物利用度^[6-16], 但增溶技术和纳米技术提高生物利用度程度的比较未见相关报道。目前国内外关于 Ost 制剂学研究的有脂质体、壳聚糖纳米粒等^[7-8], 但制备过程较为复杂。磷脂复合物 (phospholipids complex, PC)^[6-11]可同时改善药物脂溶性及水溶性, 解决吸收瓶颈, 促进药物吸收。固体分散体 (solid dispersion, SD)^[12-14]是通过将药物以无定型、微晶状态高度分散于亲水性高分子材料中, 增加药物溶解度及溶出速率, 最终提高药物吸收程度。纳米混悬剂 (nanosuspensions, NS) 是通过一定的制剂技术将难溶性药物制备成亚微米胶体分散体系^[15-16], 极大增加药物的比表面积及与胃肠道的接触面积, 改变药物吸收途径, 进而促进药物体内口服吸收。由于 PC、SD 和 NS 制备工艺相对简单, 过程可控性较强, 因此本研究将 Ost 分别制备成 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS, 并对 3 种制剂技术的体外和体内展开研究, 并比较增溶技术 (Ost-SD 及 Ost-PC) 和纳米技术 (Ost-NS) 提高生物利用度情况, 为 Ost 制剂或其他难溶性中药活性成分的制剂开发提供实验参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MSE125P-CE 型电子天平, Sartorius Group 公司; 1200 型高效液相色谱仪, DAD 检测器, 美国安捷伦公司; R200 型旋转蒸发仪, BUCHI 公司; CJ-78-1A 型磁力搅拌器、DZF-6050 型真空干燥箱, 上海跃进医疗器械厂; ZRS-8 型智能溶出试验仪, 天津大学无线电厂; D8 Advance 型 X 粉末射线衍射仪, 德国 Bruker 公司; 110-L2 型高压均质机, Mficc 公司; Nano ZS90 型纳米粒度仪, 英国 Malvern 公司; XW-80A 型漩涡混合器, 上海医科大学仪器厂; NAI-DCY-12YD 型氮气吹扫仪, 上海那艾精密仪器

有限公司。

1.2 材料及动物

Ost 原料药, 批号 PH20160514, 质量分数 99.1%, 森郎生物化工公司; Ost 对照品, 批号 S-008-170426, 质量分数 >98.8%, 成都瑞芬思生物科技有限公司; 丹皮酚对照品, 批号 110708-201407, 质量分数为 99.2%, 中国食品药品检定研究院; 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP K30), 批号 25000240379, 美国 Ashland 公司; 大豆磷脂, 批号 PC-98T, 辅必成上海医药科技有限公司; 清洁级 SD 大鼠, 雌雄兼用, 河南省实验动物中心, 生产许可证号 SCXK(豫) 2016-0002, 体质量为 (300±20) g。

2 方法与结果

2.1 Ost 含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Hypersil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长 322 nm; 流动相为甲醇-水 (60:40); 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL。理论塔板数以 Ost 计算不低于 8 500。

2.1.2 标准曲线 精密称取 Ost 对照品 10 mg, 转移至 50 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度即得质量浓度为 0.20 mg/mL 的 Ost 对照品储备液。采用甲醇-水 (60:40) 逐步稀释得质量浓度为 50.00、25.00、10.00、1.00、0.20、0.05 μg/mL 的系列 Ost 对照品溶液。HPLC 法依次测定各个质量浓度 (C) 对照品溶液的峰面积 (A), 得标准曲线为 $A=1.816\ 5\ C+3.154\ 7$, $r=0.999\ 9$, 线性范围为 0.05~50.00 μg/mL。

2.1.3 精密度考察 取质量浓度为 50.00、10.00、0.05 μg/mL 的 Ost 对照品溶液, 分别连续进样测定 6 次, 计算各个质量浓度的精密度。结果显示, 高、中、低质量浓度的 Ost 对照品溶液 RSD 值分别为 0.22%、0.19%和 0.93%。

2.1.4 稳定性考察 精密称取 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 适量, 甲醇超声并定容至 25 mL。分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样测定 Ost 的峰面积, 并计算 RSD 值。结果显示, Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 峰面积变化的 RSD 值分别为 0.62%、0.79%和 0.48%。

2.1.5 重复性考察 按照“2.1.4”项下分别制备 6 份 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 供试品溶液, 进样测定峰面积, 并计算 RSD 值。结果显示, Ost-SD、

Ost-PC 和 Ost-NS 峰面积的 RSD 值分别为 1.14%、0.69% 和 0.93%。

2.1.6 加样回收率试验 精密称取已知 Ost 含量的 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 适量, 分别加入 Ost 对照品, 加入 25 mL 甲醇超声溶液并定容, 进行 HPLC 测定, 并计算回收率, 结果显示 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 中 Ost 回收率为 98.72%、97.89% 和 100.11%, RSD 值均小于 1.41%。

2.2 Ost-SD 的制备及存在状态分析

分别称取 Ost 原料药 0.2 g 和 PVP K30 1.0 g 置于三角烧瓶中, 加入 100 mL 无水乙醇。设置磁力搅拌器温度为 45 °C, 转速为 1 000 r/min, 持续恒温搅拌 5.0 h 至溶液体系澄清。转移至圆底烧瓶中, 减压旋蒸除去有机溶剂 (45 °C), 收集残留物, 即得 Ost-SD, 保存于干燥器中。

XRPD 扫描条件: Cu-K α 靶, 电压为 40 kV, 扫描速度 8°/min, 2 θ 为 3°~45°。分别对 Ost、PVP K30、物理混合物 (Ost-PVP 30 1:5) 和 Ost-SD 进行扫描, 图谱见图 1。高分子材料 PVP K30 是一种典型的无定型状态物质, Ost 是一种典型的结晶型物质。Ost 与 PVP K30 制备成 Ost-SD 后, 其存在状态由晶型态转变为无定型态。Ost 与 PVP K30 的物理混合物的 XRPD 图谱仍可观察到大量的 Ost 特征晶型峰, 说明 Ost 在物理混合物中存在状态未变。因此, Ost-SD 是不同于物理混合物的一种物质。

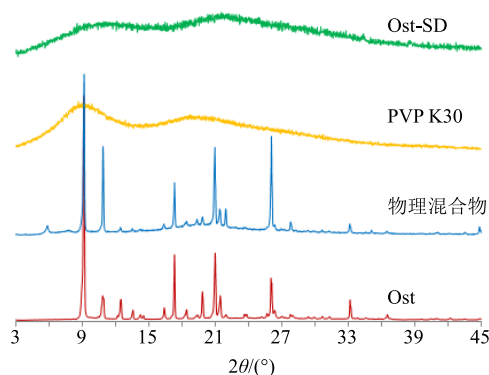


图 1 Ost、物理混合物及 Ost-SD 的 XRPD 图谱

Fig. 1 XRPD results of Ost, physical mixture, and Ost-SD

2.3 Ost-PC 的制备、复合率测定及存在状态分析

分别称取 Ost 原料药 0.2 g 和大豆磷脂 0.65 g 置于三角烧瓶中, 加入 60 mL 的四氢呋喃, 立即密封。设置磁力搅拌器温度为 45 °C, 转速为 1 000 r/min, 持续搅拌 4.0 h 至溶液体系澄清。转移至圆底烧瓶中, 减压旋蒸除去有机溶剂 (45 °C), 收集残留物, 即得 Ost-PC, 保存于干燥器中。由于 Ost

难溶于石油醚, 而 Ost-PC 在石油醚中易溶。将 Ost-PC 加入到石油醚中震荡溶解、滤过后收集滤液。减压旋蒸除去有机溶剂, 收集固体, HPLC 测定 Ost 含量 (X_1)。计算 Ost-PC 复合率 = X_1/X_0 , 其中 X_1 代表 Ost-PC 中 Ost 质量, X_0 是 Ost 总质量。连续测定 3 批 Ost-PC 的复合率, 结果显示复合率均在 99% 以上。

XRPD 扫描条件同“2.2”项。分别对 Ost、大豆磷脂、物理混合物和 Ost-PC 进行扫描, XRPD 图谱见图 2。Ost 与大豆磷脂制备成 Ost-PC 后, 其存在状态由晶型态转变为无定型态。而 Ost 与大豆磷脂的物理混合物的 XRPD 图谱仍可观察到大量的 Ost 特征晶型峰, 说明简单的物理混合不能改变 Ost 的存在状态。因此, Ost-PC 是不同于物理混合物的一种物质。

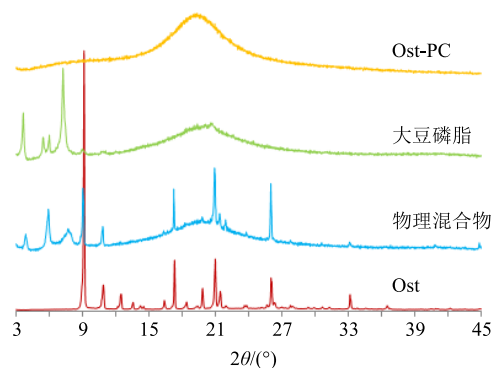


图 2 Ost、物理混合物及 Ost-PC 的 XRPD 图谱

Fig. 2 XRPD results of Ost, physical mixture, and Ost-PC

2.4 Ost-NS 的制备、粒径分布及 Zeta 电位测定

称取 Ost 原料药 0.2 g, 溶解于 20 mL 无水乙醇中, 作为有机相。称取 PVP K30 0.2 g 和大豆磷脂 0.1 g 溶解于 50 mL 蒸馏水中, 作为水相。设置磁力搅拌器温度为 70 °C, 转速为 1 000 r/min, 将 Ost 的有机相缓慢滴加进入水相中。转移至圆底烧瓶中, 减压旋蒸浓缩 (70 °C), 得 Ost 混悬液。将 Ost 混悬液在 60 MPa 压力下均质 4 次, 在 120 MPa 压力下均质 6 次即得 Ost-NS。

取 Ost-NS 采用蒸馏水稀释 8 倍后转移至比色皿中, 分别测定 Ost-NS 的粒径分布及 Zeta 电位。Ost-NS 平均粒径为 (161.37 ± 3.77) nm, 聚合物分散性指数 (polymer dispersity index, PDI) 为 0.108 ± 0.022, 典型图谱见图 3; Ost-NS 的 Zeta 电位为 (-29.16 ± 1.83) mV, 典型图谱见图 4。

2.5 体外溶出研究

取 Ost、Ost-SD 和 Ost-PC 适量 (以 Ost 计, 含

量为 15.0 mg), 分别加入 3 mL 溶出介质制备混悬液。将 Ost、Ost-SD、Ost-PC 混悬液和 Ost-NS 分别转移至透析袋中, 两端扎紧。设置溶出仪转速为 100 r/min, 温度为 37 °C, 采用 0.5% 的聚山梨酯 80 的 pH 磷酸盐缓冲液作为溶出介质^[17], 体积为 900 mL。于取样时间点取样 3 mL, 同时补加 3 mL 溶出介质。以 HPLC 法测定 Ost 含量, 计算各个取样时间点的累积溶出率, 绘制 Ost、Ost-SD、Ost-PC 混悬液和 Ost-NS 混悬液的体外溶出率曲线, 结果见图 5。Ost-SD 和 Ost-NS 混悬液分别在 60 min 和 45 min 内基本全部溶出, 而 Ost-PC 累积溶出率随着时间的增加而增加, 在 240 min 内累积溶出率为 41.67%, Ost 在 240 min 内累积溶出率仅为 19.53%。因此 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 均可提高溶出速率及累积溶出率, 而 Ost-SD 和 Ost-NS 促进药物溶出效果更为明显。

2.6 SD 大鼠体内药动学研究

2.6.1 分组及血样采集 取 SD 大鼠 24 只, 并随机分成 4 组, 每组 6 只, 禁食 1 d, 自由饮水。按 Ost

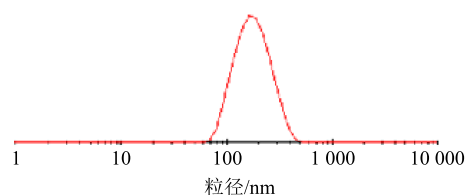


图3 Ost-NS 粒径分布

Fig. 3 Particle distribution of Ost-NS

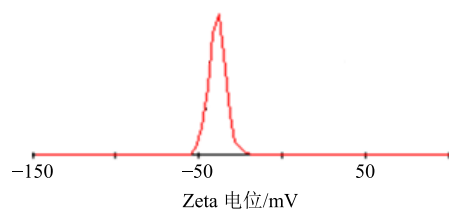


图4 Ost-NS 的 Zeta 电位

Fig. 4 Zeta potential of Ost-NS

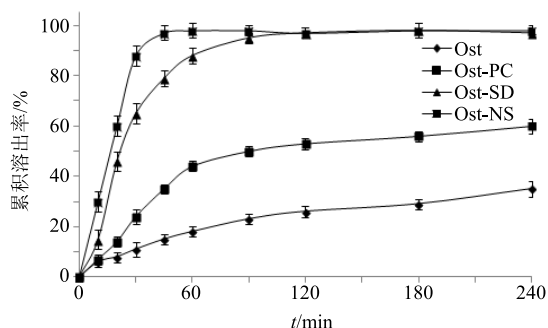


图5 Ost、Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 的体外溶出率曲线
Fig. 5 In vitro dissolution curves of Ost, Ost-SD, Ost-PC, and Ost-NS

计 20 mg/kg 剂量分别给予 Ost、Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 混悬液, 分别于给药后 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2、3、4、6、8、10、12 h 采用眼眶取血 0.3 mL, 毛细玻璃管引流至肝素浸润的离心管中。震荡后 2 500 r/min 离心 3 min, 分取上层血浆, 保存于 -20 °C 冰箱。

2.6.2 内标溶液和对照品的配制 精密称取丹皮酚(内标)对照品 10.20 mg, 加入甲醇定容至 10 mL, 进一步采用甲醇稀释至 1.02 μg/mL。取 Ost 对照品储备液进一步配制质量浓度为 20.0、50.0、100.0、125.0、250.0、500.0 ng/mL 的系列 Ost 对照品溶液。

2.6.3 血浆样品的处理过程^[8] 取出血浆样品于室温中解冻。精密吸取 200 μL 及 50 μL 的内标溶液置于离心管中, 加入乙腈 3.5 mL, 涡旋 2 min。高速离心 10 min (8 000 r/min) 后分离上层有机相至另一空白离心管中, 于温度为 45 °C 条件下氮气缓慢吹干。于残留物中加入 200 μL 流动相进行复溶, 高速离心 4 min (8 000 r/min) 后进行 HPLC 测定。

2.6.4 标准曲线绘制 取“2.6.2”项下 Ost 各质量浓度的对照品溶液 200 μL 和内标溶液 50 μL, 于温度为 45 °C 条件下氮气缓慢吹干后加入 200 μL 空白大鼠血浆。按照“2.6.3”方法处理, 以 HPLC 法测定 Ost 各质量浓度 (C) 的峰面积 (A_s) 及内标峰面积 (A_i)。以两者比值 (A_s/A_i) 与 Ost 质量浓度 (C) 进行线性回归, 得回归方程 $C=183.58 A_s/A_i+4.11$, $r^2=0.9894$, 因此 Ost 在 20.0~500.0 ng/mL 与峰面积线性关系良好, 色谱图见图 6。

2.6.5 方法学验证 分别取低、中、高 (20.0、250.0、500.0 ng/mL) 3 个质量浓度的 Ost 血浆对照品溶液, 按“2.6.3”项下方法处理, 进行 HPLC 测定, 并计算得日间精密度的 RSD 值分别为 10.64%、8.12% 及 5.38% ($n=6$); 日内精密度 RSD 值分别为 9.57%、7.22% 及 6.45% ($n=6$)。空白血浆配制质量浓度为 20.0、250.0、500.0 ng/mL 的 Ost 血浆样品, 进行 HPLC 测定得出各个质量浓度的峰面积, 并带入线性回归方程计算测定值, 与实际配制质量浓度相比较得出回收率。计算结果显示, 3 种质量浓度的回收率在 87.05%~94.18%, 且 RSD 值均小于 8.62%。取血浆样品分别于 0、12、24、48、60、72 h 进行 HPLC 测定, 观察峰面积比值变化情况, 计算 RSD 值。结果显示血浆样品 RSD 为 8.43% ($n=6$), 说明血浆样品至少在 72 h 内基本稳定。

2.6.6 体内药动学研究 将 Ost、Ost-SD、Ost-PC

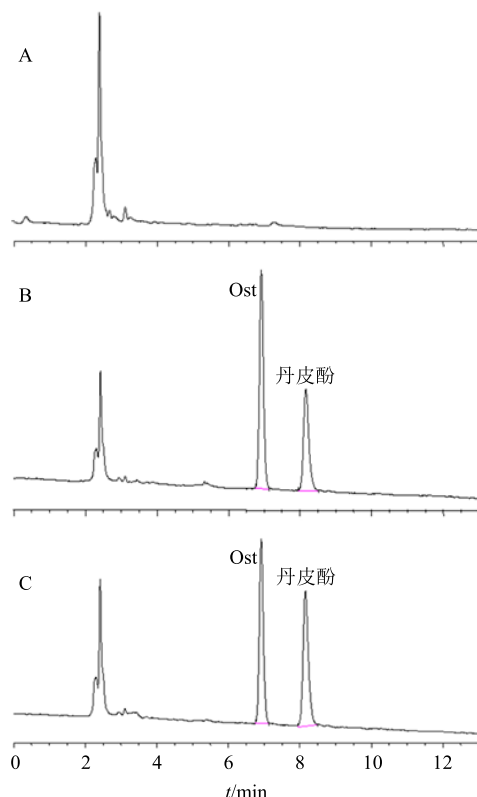


图 6 空白血浆 (A)、血浆样品溶液 (B) 和血浆+对照品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 6 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B), and plasma + reference solution (C)

和 Ost-NS 混悬液组血浆样品进行 Ost 含量测定, 绘制血药浓度-时间曲线 (图 7)。采用 DAS2.0 药动学软件包自动拟合数据, 主要药动学参数见表 1。Ost 混悬液组的 $t_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $C_{\max}$ 和 AUC_{0-t} 分别为 (1.23 ± 0.21) h、 (2.86 ± 0.47) h、 (117.31 ± 20.05) ng/mL 和 (421.15 ± 66.37) ng·h/mL。Ost-SD 组的 $t_{\max}$ 显著性提前 ($P < 0.05$); 而 Ost-NS 混悬液组的 $t_{\max}$ 显著性延后 ($P < 0.05$)。Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 混悬液组的 $C_{\max}$ 均有显著性提高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与 Ost 原料药组相比, Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 组的口服相对生物利用度提高至 165.92%、138.46% 和 259.35%。因此 Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 均可促进 Ost 体内顺利吸收, 提高生物利用度。

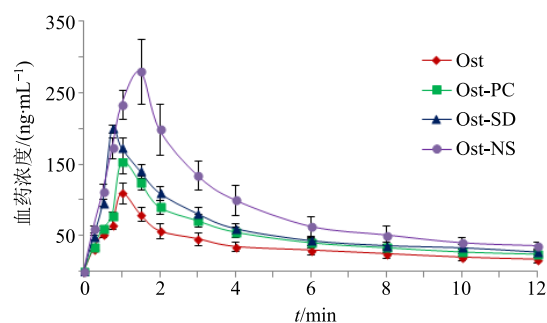


图 7 血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 7 Profiles of plasma concentration-time ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 1 主要药动学参数 ($n = 6$)

Table 1 Main pharmacokinetic parameters ($n = 6$)

参数	单位	Ost	Ost-SD	Ost-PC	Ost-SN
$t_{\max}$	h	1.23 ± 0.21	$0.73 \pm 0.16^*$	1.11 ± 0.18	$1.76 \pm 0.29^*$
$t_{1/2}$	h	2.86 ± 0.47	3.13 ± 0.56	2.93 ± 0.51	$4.21 \pm 0.78^*$
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	117.31 ± 20.05	$203.81 \pm 29.37^*$	$161.01 \pm 26.47^*$	$290.83 \pm 52.08^{**}$
AUC_{0-t}	ng·mL ⁻¹ ·h	421.15 ± 66.37	$698.78 \pm 91.94^{**}$	$583.13 \pm 74.69^*$	$1\ 092.26 \pm 114.27^{**}$
$AUC_{0-\infty}$	ng·mL ⁻¹ ·h	434.21 ± 71.24	$711.53 \pm 98.28^{**}$	$602.17 \pm 79.16^*$	$1\ 117.91 \pm 126.52^{**}$

与 Ost 比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs Ost

3 讨论

前期研究结果显示, Ost-PC 的复合率主要受制备溶剂、制备温度、Qst 与 PC 质量比、Qst 质量浓度等因素影响。前期课题组对不同制备溶剂 (无水乙醇、丙酮、无水乙醇、醋酸乙酯、四氢呋喃等) 进行了考察, 结果显示 Ost-PC 在四氢呋喃中复合率最高, 因此选择四氢呋喃作为制备溶剂。虽然随着制备温度的升高, Ost-PC 复合率逐渐升高, 但温度过高时可能会影响磷脂的稳定性, 综合考虑最终确定制备温度为 45 °C。在 Qst 用量一定的条件下,

随着磷脂用量的增加复合率逐渐增加, 但磷脂用量过大时制备的 Qst-PC 黏性过大, 也会造成磷脂材料的浪费, 因此最终选择大豆磷脂用量为 0.65 g (在 Ost 用量为 0.2 g 前提下)。Qst 质量浓度对 Ost-PC 的复合率影响相对较小, 本研究采用的 Qst 质量浓度约为 3.33 mg/mL。经测定, 按照此处方工艺制备的 Ost-PC, 其复合率达到 99% 以上, Ost 几乎全部与磷脂材料形成了 Ost-PC。

本课题前期在药物-固体分散体制剂技术积累了一定的研究经验^[12]。Ost-SD 主要受载体材料种

类、Ost 与载体材料质量比等因素影响。分别考察了 F68、PVP K30 和 PEG 4000 等载体材料对 Ost 溶出速率和累积溶出率的影响,发现 PVP K30 效果最佳。Ost-SD 随着 PVP K30 用量的增加,溶出速率也逐渐增加。PVP K30 用量过大时会造成 Ost-SD 质量分数下降,给进一步的制剂学研究造成不便;也会导致 PVP K30 材料浪费。因此最终选择 Ost 与载体材料质量比为 1:5。

Ost-NS 制备过程主要受表面活性剂、均质压力和均质次数的影响。表面活性剂通过吸附于粒子表面,提供立体位阻、电荷排斥等作用^[18],阻止纳米粒子聚集,提高体系的稳定性。前期对聚乙烯醇、泊洛沙姆 188、PVP K30、磷脂及聚山梨酯 80 等辅料进行了筛选。结果显示采用聚乙烯醇、泊洛沙姆 188 及聚山梨酯 80 得到的纳米粒粒径较大。据报道^[18],表面活性剂的联合应用时有助于获得粒径较小、稳定性较高的 NS,因此最终采用 PVP K30 和卵磷脂(质量比 2:1)作为表面活性剂。测定结果显示,Ost-NS 平均粒径为 (161.37 ± 3.77) nm, Zeta 电位为 (-29.16 ± 1.83) mV。

体外溶出度研究结果显示,Ost-PC 在一定程度上增加了 Ost 的溶出速率及累积溶出率。由于磷脂在常温状态下是一种半固态物质,且具有一定的疏水性,将 Ost 制备成 Ost-PC 后,Ost-PC 更多地保留了磷脂的性质,最终使 Ost-PC 中 Ost 的溶出速率及累积溶出率均受到了一定限制。Ost-SD 和 Ost-NS 体外溶出率研究结果表明均可显著加快 Ost 快速溶出。但两者体内药动学结果显示,Ost-SD 的 $t_{\max}$ 显著性提前至 (0.73 ± 0.16) h;而 Ost-NS 的 $t_{\max}$ 却延后至 (1.76 ± 0.29) h。Ost-SD 使 $t_{\max}$ 显著性提前,说明体外与体内存在一定的相关性,也与类似研究成果(以 PVP K30 为载体)相符^[12]。Ost-NS 的 $t_{\max}$ 显著性延后,这个结果可能是 Ost-NS 粒径较小,口服进入胃肠道后吸附在胃肠道壁上甚至进入绒毛间隙,增加了在胃肠道的滞留时间^[19-22],进而使 $t_{\max}$ 发生显著性延后。Ost-NS 的 $t_{1/2}$ 显著性增加,说明 Ost-NS 增加了 Ost 在体内循环时间,有助于药物的充分吸收,也为增强药效奠定基础。Ost-SD、Ost-PC 和 Ost-NS 的 $C_{\max}$ 均显著性提高 ($P < 0.05$ 、 0.01),与 Ost 相比其相对生物利用度分别提高至 165.92%、138.46% 和 259.35%。说明这 3 种制剂均有促吸收作用,但促吸收作用存在一定的差别,其中 Ost-NS 促吸收作用最为明显。但 Ost-NS 的 $C_{\max}$ 波动幅度

也较大,可能会造成药效不稳定,也会损害机体器官。鉴于此,可将 Ost-NS 制备成冻干粉末后^[23]联用缓控释技术^[24]以达到增效、减毒目的,这也是接下来研究的工作重点。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 陈炯玉, 张凡, 庄轶轩, 等. 蛇床子素对低分化鼻咽癌 CNE2 干细胞增殖、放疗敏感性的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3854-3860.
- [3] 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.
- [4] 江敏瑜, 闫丹, 陈娇, 等. 蛇床子素发泡乳剂制备研究 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1562-1568.
- [5] 陈炯玉, 张凡, 庄轶轩, 等. 蛇床子素对低分化鼻咽癌 CNE2 干细胞增殖、放疗敏感性的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3854-3860.
- [6] 宋婷, 宋丹, 管海燕, 等. 松萝酸磷脂复合物在大鼠体内的药动学及组织分布研究 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1358-1364.
- [7] 刘建明, 徐子金, 杨宇秀, 等. 灯盏乙素脂质体的制备及其在大鼠体内药动学 [J]. 医药导报, 2018, 37(2): 212-216.
- [8] Zhang C G, Zhu Q L, Zhou Y, *et al.* N-succinyl-chitosan nanoparticles coupled with low-density lipoprotein for targeted osthole-loaded delivery to low-density lipoprotein receptor-rich tumors [J]. *Int J Nanomed*, 2014, 9(6): 2919-2932.
- [9] 王益, 李婉蓉, 杨佳佳, 等. 氧化苦参碱磷脂复合物自乳化释药系统的研制 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4277-4283.
- [10] 魏永鸽, 徐凯. 青藤碱磷脂复合物的制备、表征及体外透皮研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(8): 1449-1453.
- [11] 李艳贞, 阎卉, 刘欢, 等. 长春瑞滨磷脂复合物的制备及其性质研究 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 570-574.
- [12] 邓向涛, 郝海军, 陈晓峰, 等. 木犀草素 2 种固体分散体制备、表征和大鼠体内药动学行为研究 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5787-5793.
- [13] 刘蒸生, 郝海军, 马进安. 高乌甲素磷脂复合物及其固体分散体在大鼠体内的药动学 [J]. 医药导报, 2018, 37(4): 449-452.
- [14] 谭佳威, 孙如煜, 曾滢棱, 等. 固体分散技术在制剂领域的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(8):

- 1182-1188.
- [15] 徐 浩, 高艺璇, 王向涛. 槲皮素纳米混悬剂的制备、表征及抗乳腺癌研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 42-51.
- [16] 盛剑勇, 杨晓宇, 陈佶棠, 等. 胰岛素口服纳米给药系统研究进展 [J]. 医药导报, 2018, 37(6): 703-707.
- [17] 果秋婷, 李 昱, 冯 华, 等. 蛇床子素自乳化释药系统的制备与质量评价 [J]. 中南药学, 2018, 16(7): 958-962.
- [18] 申献玲, 张 洪, 彭 锐. 泊那替尼纳米混悬剂的表面活性剂筛选及其稳定性考察 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(12): 1147-1149.
- [19] 徐 凯, 魏永鸽. 高乌甲素磷脂复合物纳米粒的制备、表征及药动学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(5): 870-874.
- [20] 刘建清, 张 晶, 赵佳丽, 等. 纳米结构脂质载体促进难溶性药物口服吸收机制的研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2014, 32(4): 254-256.
- [21] Zhang J F, Wu F, Han J Y, *et al.* Preparation, characterization and pharmacokinetic studies of total paeony glycoside nanocrystals [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2018, 27(2): 99-108.
- [22] 李月灵, 王丽华, 周 竞. 青藤碱磷脂复合物纳米结构脂质载体的制备、表征及药动学研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(4): 669-674.
- [23] 石 淼, 张 洪, 吕 舰, 等. 氯雷他定纳米混悬剂的制备与稳定性考察 [J]. 医药导报, 2018, 37(11): 1381-1385.
- [24] 邓向涛, 阮晓东, 郝海军. 马钱子碱固体脂质纳米粒凝胶骨架缓释片的研制 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5298-5304.