

不同厚朴酚制剂的制备、表征及其在 SD 大鼠体内药动学行为比较

刘会珍¹, 董丹丹³, 范明松^{2*}

1. 郑州大学附属郑州中心医院, 河南 郑州 450007

2. 上海雷允上有限公司技术中心, 上海 201401

3. 郑州大学第二附属医院, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 制备厚朴酚固体分散体、磷脂复合物和固体脂质纳米粒, 并分别比较其在 SD 大鼠体内的药动学行为。**方法** 溶剂挥发法制备厚朴酚固体分散体和磷脂复合物, 采用 X 射线粉末衍射 (X-Ray Powder Diffraction, XRPD) 技术分析厚朴酚的存在状态。高压均质法制备厚朴酚固体脂质纳米粒, 并测定其粒径分布及 Zeta 电位。以厚朴酚原料药为参考, 分别比较固体分散体、磷脂复合物和固体脂质纳米粒的体外溶出情况。SD 大鼠分别 ig 给予厚朴酚、固体分散体、磷脂复合物和固体脂质纳米粒混悬液, HPLC 法测定厚朴酚血药浓度, 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** 厚朴酚在固体分散体和磷脂复合物中均以无定型状态存在。厚朴酚固体脂质纳米粒 Zeta 电位为 (-29.16 ± 1.83) mV, 平均粒径为 (161.37 ± 3.77) nm。厚朴酚原料药在 12 h 内的累积溶出度为 30.6%, 而厚朴酚固体分散体、固体脂质纳米粒和磷脂复合物将其 12 h 内累积溶出度分别提高至 96.3%、76.4%、45.9%。ig 给药后 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0 \sim t}$ 和 $AUC_{0 \sim \infty}$ 等药动学参数与原料药相比均具有显著提高。其中, 磷脂复合物、固体分散体和固体脂质纳米粒将其 $C_{\max}$ 由 (429.67 ± 53.12) ng/mL 分别提高至 (533.62 ± 59.01) 、 (721.73 ± 103.44) 、 $(1\,063.21 \pm 108.22)$ ng/mL。相对生物利用度分别提高至 1.38、2.12、3.45 倍。**结论** 3 种制剂均可提高厚朴酚口服吸收生物利用度, 但厚朴酚固体脂质纳米粒效果更为明显。

关键词: 厚朴酚; 磷脂复合物; 固体分散体; 固体脂质纳米粒; 生物利用度; 药动学; 溶剂挥发法; 高压均质法; 溶出度
中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)17-4442-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.17.011

Different preparations of magnolol: Preparation, characterization and pharmacokinetics comparative study in SD rats

LIU Hui-zhen¹, DONG Dan-dan³, FAN Ming-song²

1. Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450007, China

2. Technical Center, Shanghai Leiyunshang Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China

3. The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Abstract: **Objective** To prepare magnolol solid dispersions (Mag-SD), magnolol phospholipids complex (Mag-PC) and magnolol solid lipid nanoparticles (Mag-SLN), and compare their effects on the pharmacokinetics *in vivo*. **Methods** Solvent evaporation method was used to prepare Mag-SD and Mag-PC. Their existential state of Mag in Mag-SD and Mag-PC were analyzed by X-ray power diffraction (XRPD). High pressure homogenization method was employed to prepare Mag-SLN, its particle size and Zeta potential were also studied. The dissolution *in vitro* of Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN were also studied compared to magnolol suspension. SD rats in each group were administered intragastrically with magnolol, Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN, respectively. The concentration of magnolol in blood was analyzed by HPLC, and the main pharmacokinetic parameters were obtained. The pharmacokinetic behavior and bioavailability of magnolol, Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN were also compared. **Results** The results of XRPD indicated that magnolol showed an amorphous state in Mag-SD and Mag-PC. The average particle size and Zeta potential of Mag-SLN was (161.37 ± 3.77) nm and (-29.16 ± 1.83) mV, respectively. The results of dissolution *in vitro* indicated that the cumulative dissolution of magnolol was 30.6% within 12 h. Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN enhanced its cumulative dissolution to 96.3%, 76.4%

收稿日期: 2020-03-31

基金项目: 国家重大新药创制 (2018ZX09210090-002-009)

作者简介: 刘会珍 (1988—), 女, 硕士, 从事医院药学研究。Tel: (0371)63921700 E-mail: liuhuizhen13@126.com

*通信作者 范明松 (1973—), 男, 博士, 从事药物研发工作。Tel: (021)51583466 E-mail: msfan007@163.com

and 45.9%, respectively. The results of pharmacokinetics *in vivo* showed that $C_{\max}$, AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ of Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN were enhanced greatly compared to magnolol suspension. Mag-PC, Mag-SD and Mag-SLN increased its $C_{\max}$ from (429.67 ± 53.12) ng/mL to (533.62 ± 59.01) , (721.73 ± 103.44) and $(1\ 063.21 \pm 108.22)$ ng/mL, respectively. The bioavailability of Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN were enhanced to 1.38, 2.12 and 3.45 times, respectively. **Conclusion** Mag-SD, Mag-PC and Mag-SLN could promote the absorption of magnolol in SD rats notably. In addition, Mag-SLN could give a better effect on the bioavailability.

Key words: magnolol; phospholipids complex; solid dispersions; solid lipid nanoparticles; bioavailability; pharmacokinetics; solvent evaporation method; high pressure homogenization method; dissolution rate

厚朴是传统中医药广泛使用的一味中药^[1], 研究结果显示^[2-3], 其主要活性成分之一厚朴酚 (magnolol, Mag) 具有中枢神经抑制、中枢性肌肉松弛、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、治疗心肌损伤等多种药理活性。但由于溶解度和脂溶性均较差, 其生物利用度很低^[4]。因此, 改善厚朴酚溶解度, 促进其体内吸收, 是扩大其临床应用首选需要解决的问题。目前已有厚朴酚脂质体、胶束等制剂新技术的研究报道^[4-5]。

磷脂复合物 (phospholipids complex, PC) 技术^[6]是将难溶性药物与磷脂或磷脂酰胆碱形成一种复合物后, 药物的水溶性及脂溶性可同时得以提高, 可促进药物吸收, 提高生物利用度。固体分散体 (solid dispersion, SD)^[7]是将药物分散于亲水性高分子材料 (PVK K30、泊洛沙姆 188 等) 中, 可增加药物溶解度, 促进药物快速溶出进入血液循环, 进而提高生物利用度。固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticles, SLN)^[8]通过一定的制剂技术, 将生理相容性较高的脂质材料与药物制备成粒径在 1~1 000 nm 的胶粒给药系统, 增加药物的溶解度及稳定性, 改变吸收途径, 提高生物利用度。虽然厚朴酚磷脂复合物和固体分散体已有研究报道^[7], 但并未在同一条件下比较二者体内药动学及口服吸收生物利用度提高等情况。本研究首次成功制备了厚朴酚固体脂质纳米粒 (Mag-SLN), 并比较了 Mag-SLN、厚朴酚磷脂复合物 (Mag-PC) 和厚朴酚固体分散体 (Mag-SD) 3 种制剂在 SD 大鼠体内的药动学情况, 为厚朴酚制剂学研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FA2204T 型电子天平, 配备防风罩, Dor Yang 公司; 1200 型 HPLC 色谱仪, 安捷伦公司; 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; D8 Advance 型 X 粉末射线衍射仪, 德国 Bruker 公司; 110-L2 型高压均质机, Mfic 公司; DW-86L28 型超低温冰箱, 捷胜公司; Nano ZS90

型纳米粒度仪, 英国 Malvern 公司; R200 型旋转蒸发仪, BUCHI 公司; HF5000 型透射电子显微镜 (TEMS), 200 V, 日立高新技术公司; LGJ18-D 型冷冻干燥机、HP-15 型氮气流扫仪, 舜制仪器公司。

1.2 材料及动物

厚朴酚, 批号 M160515, 质量分数 98.0%, 旭煌生物科技有限公司; 厚朴酚对照品, 批号 110729-201508, 质量分数 98.8%, 中国食品药品检定研究院; 大豆卵磷脂, 批号 190511, 上海太伟药业有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 K30 (PVP K30), 批号 25000240379, Ashland 公司; 硬脂酸甘油酯, 批号 20150915, 郑州宇控生物科技有限公司; 泊洛沙姆 188, 批号 P21489, 巴斯夫公司; 聚山梨酯 80 (Tween-80), 批号 201806-4, 上海博湖生物科技有限公司。SD 大鼠, 体质量 (300 ± 20) g, 购自河南省实验动物中心, 饲养环境: 温度为 20 °C, 湿度为 45%, 动物许可证号 SCXK (豫) 2016-0002。

2 方法与结果

2.1 厚朴酚含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil-C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 35 °C; 检测波长 293 nm; 流动相为甲醇-水 (66:34); 体积流量 1.0 mL/min; 进样体积 20 μL。在该色谱条件下, 辅料不干扰样品测定, 厚朴酚的保留时间为 7.50 min, 色谱图见图 1。

2.1.2 线性关系考察 精密称取厚朴酚 12.20 mg, 溶解于 10 mL 量瓶中。采用甲醇-水 (76:34) 混合溶液逐步稀释成 0.122、0.560、1.220、3.050、6.100、12.200 μg/mL。分别进 HPLC 色谱仪, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归后得回归方程 $Y=17.128\ 3\ X-2.881\ 4$, $r=0.999\ 9$, 结果表明厚朴酚在 0.122~12.200 μg/mL 线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液的制备 取 Mag-PC (约 10 mg)、Mag-SD (约 10 mg) 和 Mag-SLN (1.0 mL), 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至 20 mL 后超声 5 min, 采

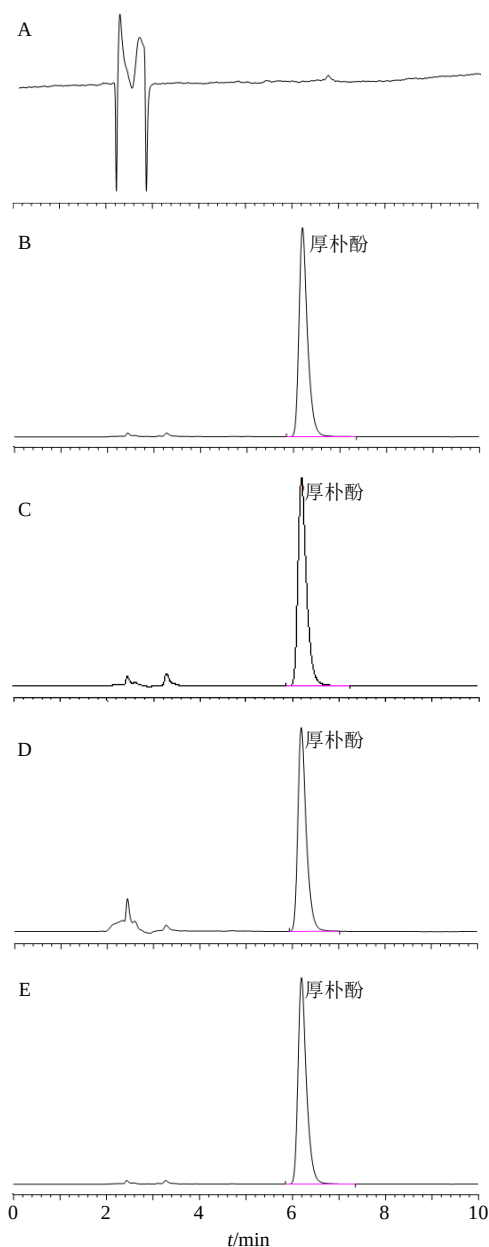


图 1 空白 (A)、厚朴酚对照品 (B)、固体分散体 (C)、固体脂质纳米粒 (D) 和磷脂复合物 (E) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of blank (A), Mag reference substance (B), Mag-SD (C), Mag-SLN (D) and Mag-PC sample solution (E)

用甲醇定容至刻度线, 混匀后 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL 置于 25 mL 量瓶中, 流动相定容, 即得供试品溶液。

2.1.4 精密度试验 选择质量浓度为 0.122、6.100、12.200 $\mu\text{g/mL}$ 的厚朴酚对照品溶液作为低、中、高质量浓度, 分别进 HPLC 色谱仪测定厚朴酚色谱峰面积。计算结果显示, 3 种质量浓度分别连续进样 6 次, 结果显示日内精密度 RSD 值分别为 0.20%、

0.16%、0.32%。3 种质量浓度分别每天进样 1 次, 连续 6 d, 结果显示日间精密度 RSD 值分别为 0.55%、0.78%、0.61%, 精密度较高。

2.1.5 稳定性试验 取“2.1.3”项下的 Mag-PC、Mag-SD 和 Mag-SLN 的供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、6、12、24、48 h 进 HPLC 色谱仪测定峰面积, 计算得 3 个样品溶液在 7 个时间点峰面积 RSD 值分别为 0.59%、0.66%、0.81%, 样品稳定性较好。

2.1.6 重复性试验 分别平行配制 Mag-PC、Mag-SD 和 Mag-SLN 3 个样品供试品溶液, 各 6 份, 分别进 HPLC 色谱仪测定厚朴酚含量。结果显示 3 个样品中厚朴酚质量分数的 RSD 值分别为 1.14%、1.74%、1.33%, 说明重复性良好。

2.1.7 加样回收率试验 分别取 Mag-PC 11.26 mg、Mag-SD 10.84 mg 和 Mag-SLN 1.0 mL 置于 25 mL 量瓶中, 分别按照制剂中厚朴酚含有量的 50%、100%、150%, 加入厚朴酚对照品, 加甲醇至 20 mL 后超声 5 min, 采用甲醇定容至刻度线, 混匀后 5 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 1 mL 置于 25 mL 量瓶中, 流动相定容, 测定厚朴酚总含量, 计算回收率。结果显示 3 个样品平均加样回收率分别为 99.11%、98.54%、99.74%, RSD 分别为 1.49%、1.73%、1.64%。该色谱条件可以用于厚朴酚含量测定。

2.2 Mag-PC 的制备及晶型分析

称取 0.27 g 厚朴酚和 0.8 g 大豆卵磷脂置 100 mL 四氢呋喃溶剂中, 立即封口。于温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 转速为 800 r/min, 搅拌反应 3.0 h 后得澄清溶液。同温度条件下, 将澄清溶液采用减压旋蒸除去四氢呋喃, 收集残留物, 即得 Mag-PC。厚朴酚与大豆卵磷脂的物理混合物按同比例混合, 即得。

晶型分析条件: Cu-K α 靶, 扫描速度 8 $^{\circ}$ /min, 电压为 40 kV, 2θ 为 3 $^{\circ}$ ~45 $^{\circ}$ 。分别取适量的厚朴酚、大豆卵磷脂、物理混合物和 Mag-PC 置于玻璃板凹槽内, 进行扫描, 图谱见图 2。厚朴酚原料药和物理混合物中出现大量晶型峰, 大豆卵磷脂仅在 3 $^{\circ}$ ~9 $^{\circ}$ 出现少量晶型峰。但将厚朴酚与大豆卵磷脂制备成 Mag-PC 后, 厚朴酚和大豆卵磷脂的晶型峰均消失, 说明厚朴酚的存在状态发生了改变。

2.3 Mag-SD 的制备及晶型分析

分别称取 0.27 g 厚朴酚和 1.35 g 的 PVP K30 置于 80 mL 无水乙醇中。于温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 转速为 800 r/min, 搅拌反应 5.0 h 后得澄清溶液。同温度条件

下,将澄清溶液采用减压旋蒸除去无水乙醇,收集残留物,即得 Mag-SD。厚朴酚与 PVP K30 的物理混合物按同比例简单混合,即得。

晶型分析的扫描条件同“2.2”项下。分别取适量的厚朴酚、PVP K30、物理混合物和 Mag-SD 置于玻璃板凹槽内,用载玻片将样品平面与玻璃面刮齐平后进行扫描,图谱见图 3。厚朴酚原料药和物理混合物中同样出现大量晶型峰,但将厚朴酚与 PVP K30 制备成 Mag-SD 后,厚朴酚的晶型峰全部消失,说明厚朴酚在 Mag-SD 中的存在状态发生了改变。

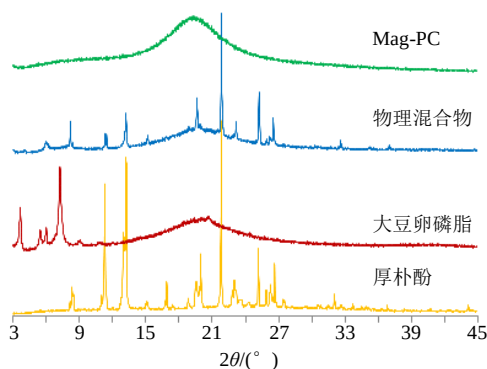


图 2 Mag-PC 的 XRPD 图谱
Fig. 2 XRPD results of Mag-PC

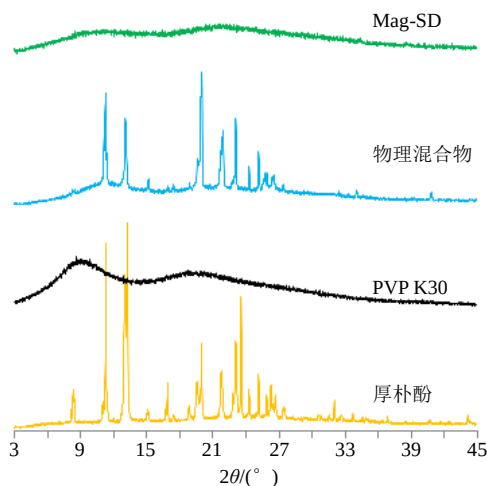


图 3 Mag-SD 的 XRPD 图谱
Fig. 3 XRPD results of Mag-SD

2.4 Mag-SLN 的制备

取单硬脂酸甘油酯 240 mg,大豆卵磷脂 60 mg 和厚朴酚 30 mg 置于 15 mL 乙醇,加热至 $(75 \pm 2)^\circ\text{C}$ 溶解后即得有机相。取 200 mg 泊洛沙姆 188 置于温度为 $(75 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、体积为 20 mL 的蒸馏水中即得水相。搅速为 1 000 r/min,将有机相缓慢滴入水相中,继续搅拌 4 h,并浓缩至 10 mL 后即得初乳。

将初乳进行超声 15 min (800 W,工作 3 s 间隔 1 s),迅速置于冰箱进行固化 20 min (温度为 4°C),即得 Mag-SLN。参考文献方法^[8]测定其包封率为 78.34%,载药量为 6.16%。

2.5 Mag-SLN 的表征

2.5.1 粒径分布及 Zeta 电位 取 3 批 Mag-SLN 混悬液,采用蒸馏水按照 1:15 进行稀释,测得平均粒径为 (161.37 ± 3.77) nm, PDI 为 0.108 ± 0.022 (图 4),测得平均 Zeta 电位为 (-29.16 ± 1.83) mV (图 5)。

2.5.2 外貌观察 取 Mag-SLN 混悬液,滴加在附有支持膜的铜网上,用滤纸吸干多余液体。静置晾干后置于透射电镜下并拍照,结果见图 6。制备的 Mag-SLN 为近似球形或椭球形,粒子之间无黏连。

2.6 Mag-SLN 冻干粉的制备

采用乳糖作为冻干保护剂。取 Mag-SLN 混悬液 5 mL 置于西林瓶中,加入 10 mg/mL 的乳糖溶液,

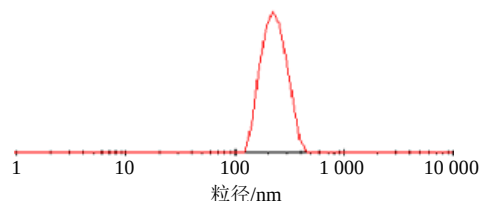


图 4 Mag-SLN 粒径分布
Fig. 4 Particle distribution of Mag-SLN

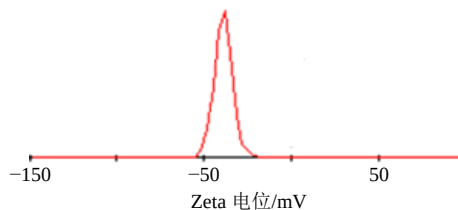


图 5 Mag-SLN 的 Zeta 电位
Fig. 5 Zeta potential of Mag-SLN

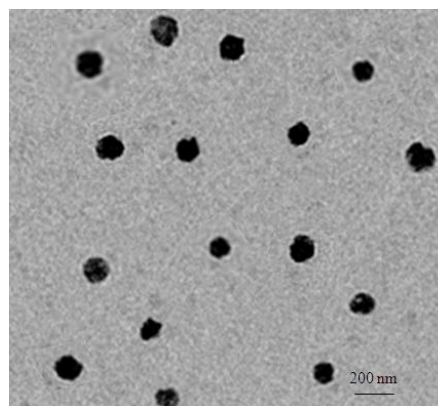


图 6 Mag-SLN 的 TEM 图
Fig. 6 TEM results of Mag-SLN

混匀。于 -55°C 预冻12 h后,放入冻干机中,于温度为 $-45\sim-30^{\circ}\text{C}$ 真空干燥约48 h,缓慢升温至 25°C ,保持6 h即得Mag-SLN冻干粉。

2.7 3种制剂体外溶出情况比较

取Mag-PC、Mag-SD和Mag-SLN冻干粉适量(厚朴酚含量均为10.0 mg),采用溶出介质制备混悬液后,转移至透析袋中(截留相对分子质量为8 000~12 000)。采用含0.1%的聚山梨酯80的pH值为4.5醋酸盐缓冲液作为溶出介质,体积为900 mL,转速为100 r/min,温度为 37°C 。各时间点取样3 mL,及时补加空白介质3 mL。HPLC测定厚朴酚的含量,计算累积溶出度,绘制溶出曲线,结果见图7。厚朴酚原料药在12 h内的累积溶出度为30.6%,而Mag-SD、Mag-SLN和Mag-PC分别将厚朴酚的12 h内累积溶出度提高至96.3%、76.4%、45.9%。在初始阶段,Mag-SD溶出速率最快,而Mag-PC和Mag-SLN具有明显的缓释特征,但Mag-SLN在各个时间点的累积溶出度均高于Mag-PC或厚朴酚原料药。

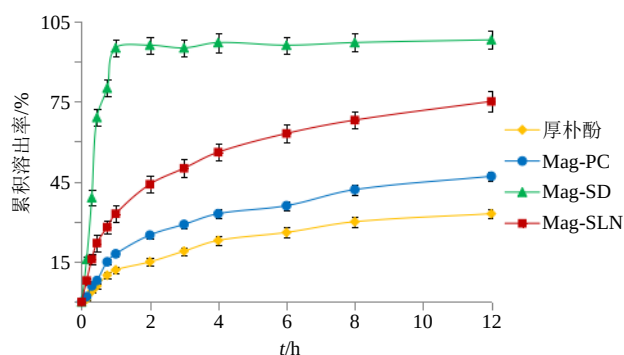


图7 体外释药曲线

Fig. 7 *In vitro* dissolution curves

2.8 SD大鼠体内药动学研究

2.8.1 分组及血样采集 取24只大鼠,雌雄兼用,随机分为4组即厚朴酚组、Mag-PC组、Mag-SD组和Mag-SLN组,给药剂量均为80 mg/kg。实验前全部禁食1 d,不禁水。准备肝素浸润的离心管若干,各组实验大鼠于ig给药后0.17、0.33、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12 h眼眶静脉丛取血约0.2~0.3 mL,置于肝素化离心管,震荡混匀后,立即3 000 r/min离心2 min,于 -20°C 条件下冷冻保存血浆。

2.8.2 血浆样品的处理^[9] 取SD大鼠,麻醉后心脏取血,离心后取上层血浆,即得空白血浆,备用。精密吸取200 μL 解冻后血浆样品于离心管中,加醋酸乙酯1.0 mL,涡旋震荡3 min,静置1 min后继续

涡旋震荡3 min。8 000 r/min离心2 min后取上层有机相,45 $^{\circ}\text{C}$ 条件下氮气吹干。加入甲醇200 μL ,10 000 r/min离心6 min,即得血浆样品溶液。其中药动学研究HPLC流动相调整为甲醇-水(58:42),其他色谱条件均不变。空白血浆、血浆样品和血浆对照品HPLC色谱图见图8。

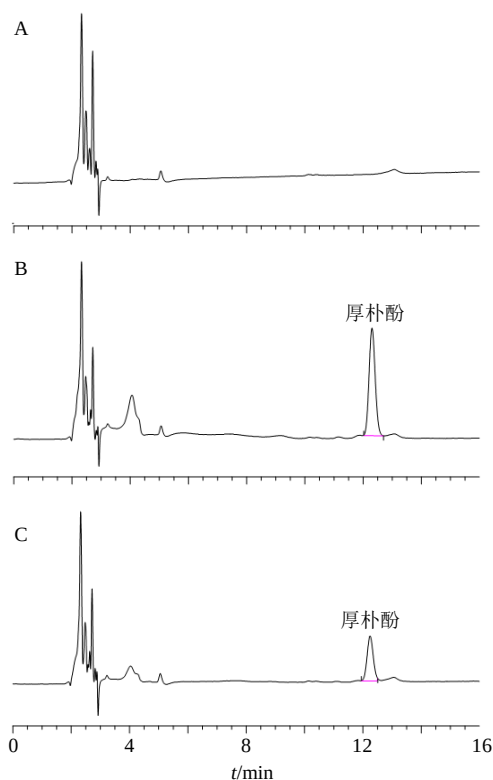


图8 空白血浆(A)、血浆样品(B)和血浆对照品溶液(C)的HPLC图

Fig. 8 HPLC of blank plasma (A), plasma sample (B) and plasma reference solution (C)

2.8.3 血浆对照品的配制及线性关系考察 采用空白血浆配制质量浓度为30.5、61.0、122.0、305.0、610.0、1 220.0 ng/mL的一系列厚朴酚血浆对照品溶液。按照“2.8.2”项方法处理,即得血浆对照品溶液,取20 μL 进HPLC。以质量浓度为横坐标(X),峰面积积分为纵坐标(Y),进行线性回归后得回归方程 $Y=0.0131X-5.3573$, $r=0.9991$ 。结果表明,厚朴酚在30.5~1 220.0 ng/mL线性关系良好。

2.8.4 方法学验证 取血浆样品于0、12、24、48、60、72 h经反复冷冻、溶解后进HPLC色谱仪测定厚朴酚峰面积,计算得RSD值为10.38%,说明血浆样品在72 h内经反复冷冻、溶解后仍基本稳定。

选30.5、610.0、1 220.0 ng/mL 3个质量浓度血浆对照品溶液作为低、中、高质量浓度。分别连续

进样 6 次, 即得日间精密度的 RSD 值依次为 11.36%、9.69%、7.03% ($n=6$); 每天进样 1 次, 连续 6 d, 即得日内精密度 RSD 值依次为 8.11%、6.84%、6.03% ($n=6$)。

采用空白血浆配制 30.5、610.0、1 220.0 ng/mL 3 个质量浓度的血浆样品, 经处理后进 HPLC 色谱仪测定峰面积, 按照回归方程 $Y=0.0131X-5.3573$, 计算测定值, 与实际配制质量浓度相比得出的回收率分别为 90.69%、95.42%、91.97%, 对应的 RSD 分别为 7.66%、8.84%、9.16%。所以建立的血浆处理方法及色谱方法可用于血浆样品中厚朴酚的含量测定。

2.8.5 体内药动学研究 取厚朴酚组、Mag-PC 组、Mag-SD 组和 Mag-SLN 组血浆样品, 按照“2.8.2”

项下方法处理后进行含量测定, 并绘制药-时曲线, 结果见图 9。采用 DAS2.0 药动学软件包自动拟合数据, 结果见表 1。厚朴酚组的 $t_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、 $AUC_{0\sim t}$ 分别为 (0.78 ± 0.23) h、 (429.67 ± 53.12) ng/mL、

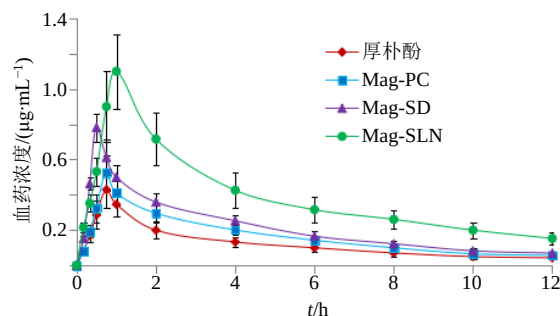


图 9 药-时曲线 ($n=6$)

Fig. 9 Profiles of plasma concentration-time ($n=6$)

表 1 主要药动学参数 ($n=6$)

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

参数	单位	厚朴酚	Mag-PC	Mag-SD	Mag-SLN
$t_{\max}$	h	0.78 ± 0.23	0.86 ± 0.28	$0.49\pm 0.12^*$	$1.26\pm 0.34^*$
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	429.67 ± 53.12	$533.62\pm 59.01^*$	$721.73\pm 103.44^{**}$	$1\ 063.21\pm 108.22^{**}$
$AUC_{0\sim t}$	ng·h·mL ⁻¹	$1\ 217.81\pm 153.29$	$1\ 680.68\pm 169.34^*$	$2\ 580.20\pm 294.18^{**}$	$4\ 196.94\pm 453.08^{**}$
$AUC_{0\sim\infty}$	ng·h·mL ⁻¹	$1\ 293.11\pm 170.35$	$1\ 781.53\pm 193.64^*$	$2\ 692.19\pm 348.63^{**}$	$4\ 417.30\pm 506.81^{**}$

与厚朴酚比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs magnolol

$(1\ 217.81\pm 153.29)$ ng·h/mL。制备成 Mag-SD 后, 其 $t_{\max}$ 显著性提前至 (0.49 ± 0.16) h, 而 Mag-SLN 组的 $t_{\max}$ 显著性延后至 (1.26 ± 0.34) h, Mag-PC 组的 $t_{\max}$ 为 (0.86 ± 0.28) h, 有所延后, 但不具有显著差异 ($P>0.05$)。Mag-PC 组、Mag-SD 组和 Mag-SLN 的 $C_{\max}$ 分别提高至 (533.62 ± 59.01) 、 (721.73 ± 103.44) 、 $(1\ 063.21\pm 108.22)$ ng/mL, 且均有显著性差异 ($P<0.05$ 、 0.01), 说明 3 种制剂均可促进厚朴酚体内吸收。与厚朴酚原料药组相比, Mag-PC 组、Mag-SD 组和 Mag-SLN 组的口服相对生物利用度提高至 1.38、2.12、3.45 倍。

3 讨论

3.1 血浆样品的处理

在药动学研究中, 血浆样品的处理过程对实验结果的准确性有较大影响。课题组曾经考虑采用有机溶剂 (甲醇、乙腈等) 沉淀蛋白, 再用醋酸乙酯萃取, 但回收率仅仅在 54.11%~68.79%。而采用醋酸乙酯直接萃取时, 回收率反而增加至 90.69%~95.42%。研究结果显示^[9], 厚朴酚与血浆蛋白之间可能会产生静电作用力及氢键作用力等, 导致有机

溶剂沉淀蛋白时, 厚朴酚与血浆蛋白结合较为紧密。因此, 最终选择醋酸乙酯直接萃取进行测定, 且操作过程大为简化。

3.2 药物存在状态对溶出及药动学的影响

无定型状态是一种特殊的晶型, 当药物以无定型状态存在时, 其各种理化性质、溶出速率、生物利用度等往往得到较大改变^[10]。由于制备方法或辅料的不同, 可以得到不同的无定型状态物质。同一物质不同无定型状态的溶出速率、生物利用度情况等可能有所不同。本研究分别尝试采用磷脂 (Mag-PC) 和 PVP K30 (Mag-SD) 制备了厚朴酚 2 种无定型状态物质, 但两者在体外溶出和体内吸收表现出较大差别。Mag-PC 在整个体外溶出过程均比较非常缓慢, 而 Mag-SD 仅用 45 min 左右时间实现几乎全部溶出。

体内药动学研究结果显示, Mag-SD 的 $t_{\max}$ 显著性提前, 而 Mag-PC 的 $t_{\max}$ 却无显著性差异。Mag-PC 组的相对生物利用度提高至 1.38 倍, 而 Mag-SD 组提高至 2.12 倍。据报道^[11-12], PC 的制备需要在非质子溶剂中进行, 当 PC 接触水相 (质子

溶剂)后,破坏了药物与磷脂之间的氢键、范德华力等,导致药物与磷脂之间发生解离,促吸收作用受到极大影响。因而在 PC、SD 和 SLN 3 种制剂中,PC 生物利用度提高幅度相对较低。

3.3 纳米技术提高生物利用度机制及优势

纳米技术提高药物生物利用度除了提高药物溶解度及溶出度等有关外,还与 SLN 在体内特殊的吸收机制有很大关系^[13-16]。Mag-SLN 的 $t_{\max}$ 显著性延后,除了与 SLN 本身具有缓释作用外,可能还与 SLN 在胃肠道壁上被暂时吸附或发生滞留有关^[12,16]。与原料药组相比,Mag-SLN 组的口服相对生物利用度提高至 3.45 倍。虽然 Mag-SD 药物溶出速率和溶出度最大,但生物利用度低于 Mag-SLN,可能是胃肠道稳定性、渗透性、pH 值等因素影响了 SD 中药物的顺利吸收^[17-19]。纳米制剂的包裹作用能明显提高药物的稳定性^[20-22],此外纳米制剂通过减小粒径,增加比表面积,增加溶解度及渗透性等改变了药物的组织分布和药动学行为,极大提高了生物利用度,也为药效的提高奠定基础^[23]。虽然 SLN 促吸收效果更为明显,但制备工艺复杂程度、设备条件及制剂技术等要求也相对较高。

参考文献

- [1] 张 权,荆文光,程显隆,等.基于 9 种成分测定的厚朴炮制过程质量传递规律研究 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 647-652.
- [2] 荆文光,邓 哲,孙晓波,等.姜厚朴饮片标准汤剂研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 83-89.
- [3] 黄 戩,吴 桐,刘春明,等.探针药物法评价厚朴酚、和厚朴酚对大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用 [J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(4): 392-396.
- [4] Ding P G, Shen H X, Wang J N, et al. Improved oral bioavailability of magnolol by using a binary mixed micelle system [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(2): 668-674.
- [5] 沈贝莉莎,安莲英,邱 能,等.厚朴酚脂质体的制备与表征 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(7): 1647-1650.
- [6] 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.
- [7] 李 杰,杨军辉,蒋志涛,等.厚朴酚固体分散体的制备及生物利用度研究 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3337-3344.
- [8] 邓向涛,阮晓东,郝海军,等.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.
- [9] 刘家琴,田建襄,谢建平,等.厚朴酚与人血清白蛋白的相互作用研究 [J]. 分析化学, 2006, 34(4): 557-560.
- [10] 宋俊科,邢 逞,龚宁波,等.大鼠灌胃不同晶型来曲唑的药动学 [J]. 医药导报, 2019, 38(2): 183-187.
- [11] 吴先闯,郝海军,张永州,等.姜黄素磷脂复合物不同制剂对 SD 大鼠口服生物利用度的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(10): 2163-2166.
- [12] 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.
- [13] 陈 奋,杨 月,张 玲,等.姜黄素纳米制剂在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(21): 2731-2737.
- [14] 刘 丹,于丽红,李 磊.提高白藜芦醇生物利用度的制剂策略 [J]. 医药导报, 2018, 37(3): 333-337.
- [15] 高 青,马记平.异甘草素聚乳酸纳米粒的制备及在大鼠体内药动学 [J]. 医药导报, 2020, 39(1): 85-89.
- [16] 王震芳,张智强,葛振华.蛇床子素 3 种制剂的制备、表征及药动学比较研究 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3615-3621.
- [17] 胡献跃,胡亚男,黄东纬,等.冷冻干燥法制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体及其大鼠药动学评价 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(3): 299-303.
- [18] 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.
- [19] 付金芳,高 青,胡瑞瑞,等.蒙花苷磷脂复合物的制备及其药动学评价 [J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(16): 2039-2043.
- [20] 高彩芳,夏加璇,朱 颖,等.纳米技术在改善中药有效成分成药性中的应用 [J]. 中草药, 2018, 49(12): 2754-2762.
- [21] 郜 娜,范明松,杨庆宇,等.二氢杨梅素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]. 中草药, 2019, 50(17): 4060-4067.
- [22] 郝海军,屈战果,范明松.隐丹参酮纳米结构脂质载体的制备及药动学研究 [J]. 中成药, 2020, 42(4): 831-835.
- [23] 刘肖莹,杨婷惠,尚广亮,等.姜黄素纳米递药系统的构建及性能表征 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3802-3807.