

# 基于 I 相代谢调控的葛根素微乳的制备及其药动学研究<sup>△</sup>

代丽萍<sup>1,2\*</sup>, 李 维<sup>2</sup>, 卓虹伊<sup>3</sup>, 刘贵容<sup>4</sup>, 贺 艳<sup>4</sup>, 胡一晨<sup>4</sup>, 宋 雨<sup>4#</sup>, 邹 亮<sup>2,4</sup>(1.成都大学四川抗菌素工业研究所, 成都 610052; 2.成都大学医学院, 成都 610106; 3.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 4.成都大学药学与生物工程学院农业部杂粮加工重点实验室, 成都 610106)

中图分类号 R943;R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1459-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.05

**摘要** 目的:制备具有 I 相代谢调控作用的葛根素微乳(R-PR-ME),并研究其在大鼠体内的药动学特征。方法:采用 Shah 法制备 R-PR-ME 和无代谢调控作用的葛根素微乳(NR-PR-ME),采用伪三元相图及以载药量为指标优化微乳处方,并用激光粒度仪对其粒径和分散系数(PDI)进行表征。以大鼠为动物模型,采用高效液相色谱法,分别测定以葛根素计 120 mg/kg 的剂量灌胃 R-PR-ME、NR-PR-ME 和葛根素混悬液(PR-SP)前和灌胃后 5、10、15、20、30、45、60、90、120、180、240、360、480、600 min 葛根素的血药浓度,使用 DAS 2.0 软件计算药动学参数,SPSS 19.0 软件进行统计分析,以 NR-PR-ME 为参比制剂计算 R-PR-ME 的相对生物利用度。结果:R-PR-ME 处方为油酸聚乙二醇甘油酯(油相)-聚山梨酯 20(乳化剂)-辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(助乳化剂)的质量比为 2:4:4,载药量为 67.50 mg/g,粒径为  $(22.59 \pm 0.53)$  nm ( $n=3$ ),PDI 为  $0.182 \pm 0.017$  ( $n=3$ );NR-PR-ME 处方为大豆油(油相)-聚山梨酯 80(乳化剂)-甘油(助乳化剂)的质量比 1:4.5:4.5,载药量为 61.32 mg/g,粒径为  $(15.45 \pm 1.06)$  nm ( $n=3$ ),PDI 为  $0.156 \pm 0.012$  ( $n=3$ )。R-PR-ME、NR-PR-ME 和 PR-SP 在大鼠体内的  $AUC_{0-600 \text{ min}}$  分别为  $(134.187 \pm 37.152)$ 、 $(65.145 \pm 18.762)$ 、 $(49.623 \pm 12.143)$   $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ ;  $c_{\text{max}}$  分别为  $(1.316 \pm 0.306)$ 、 $(1.082 \pm 0.294)$ 、 $(0.425 \pm 0.106)$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; MRT 分别为  $(155.068 \pm 33.204)$ 、 $(100.264 \pm 27.683)$ 、 $(60.524 \pm 14.086)$  min,  $t_{1/2\beta}$  分别为  $(365.880 \pm 101.250)$ 、 $(283.280 \pm 80.940)$ 、 $(80.063 \pm 21.189)$  min ( $n=6$ );与 PR-SP 比较, R-PR-ME 和 NR-PR-ME 的  $AUC_{0-600 \text{ min}}$ 、 $c_{\text{max}}$ 、MRT、 $t_{1/2\beta}$  均明显增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );与 NR-PR-ME 比较, R-PR-ME 的  $AUC_{0-600 \text{ min}}$ 、MRT、 $t_{1/2\beta}$  均更高 ( $P < 0.05$ ), R-PR-ME 的相对生物利用度为 205.98%。结论:成功制得 R-PR-ME,且其载药量高,与 PR-SP 和 NR-PR-ME 比较, R-PR-ME 可显著增加葛根素在大鼠体内的生物利用度。

**关键词** I 相代谢调控;葛根素微乳;药动学;生物利用度;大鼠

## Study on Preparation and Pharmacokinetics of Puerarin Microemulsion Based on Phase I Metabolic Regulation

DAI Liping<sup>1,2</sup>, LI Wei<sup>2</sup>, ZHUO Hongyi<sup>3</sup>, LIU Guirong<sup>4</sup>, HE Yan<sup>4</sup>, HU Yichen<sup>4</sup>, SONG Yu<sup>4</sup>, ZOU Liang<sup>2,4</sup>(1.Sichuan Institute of Antibiotics, Chengdu University, Chengdu 610052, China; 2.School of Medicine, Chengdu University, Chengdu 610106, China; 3.School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 4.Key Lab of Grain Processing, Ministry of Agriculture, School of Pharmacy and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To prepare puerarin microemulsion with phase I metabolic regulation (R-PR-ME) and to study pharmacokinetic characteristics of rats *in vivo*. METHODS: R-PR-ME and Puerarin microemulsion without metabolic regulation (NR-PR-ME) were prepared by Shah method. Pseudo-ternary phase diagram was used to optimize microemulsion formula using drug loading amount as index. The particle size and PDI of microemulsion were characterized by using a laser particle size analyzer. Rats were used as animal models, and HPLC method was used to determine the blood concentration of puerarin before and 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600 min after intragastric administration of R-PR-ME, NR-PR-ME and puerarin suspension (PR-SP) at puerarin dosage of 120 mg/kg. The pharmacokinetic parameters were calculated by using DAS 2.0 software. SPSS 19.0 software was used for statistical analysis. The relative bioavailability of R-PR-ME was calculated with

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(No.81603288);四川省教育厅高校科研创新团队项目(No.17TD0010);四川省高校重点实验室开放基金立项项目(No.10Y201703)

\* 硕士研究生。研究方向:中药新剂型及其药动学。E-mail: 1519296103@qq.com

# 通信作者:助教,硕士。研究方向:中药药剂学。E-mail: songyu@cdu.edu.cn

NR-PR-ME as reference preparation. RESULTS: The formula of R-PR-ME included that oleoyl polyoxyl-6 glycerides (oil phase)-polysorbate 20 (emulsifier)-glycerides (co-emulsifier) mass ratio of 2:4:4; drug-loading amount of 67.50 mg/g, particle size was  $(22.59 \pm 0.53)$  nm ( $n=3$ ) and PDI was  $0.182 \pm 0.017$  ( $n=3$ ). The formula of NR-PR-ME included that soybean oil (oil phase)-polysorbate 80 (emulsifier) -

glycerol (co-emulsifier) mass ratio of 1:4.5:4.5, drug-loading amount of 61.32 mg/g, particle size of  $(15.45 \pm 1.06)$  nm ( $n=3$ ) and PDI of  $0.156 \pm 0.012$  ( $n=3$ ). Pharmacokinetic parameters of R-PR-ME, NR-PR-ME and PR-SP included that  $AUC_{0-600 \text{ min}}$  were  $(134.187 \pm 37.152)$ ,  $(65.145 \pm 18.762)$  and  $(49.623 \pm 12.143)$   $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ ;  $c_{\text{max}}$  were  $(1.316 \pm 0.306)$ ,  $(1.082 \pm 0.294)$  and  $(0.425 \pm 0.106)$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; MRT were  $(155.068 \pm 33.204)$ ,  $(100.264 \pm 27.683)$ ,  $(60.524 \pm 14.086)$  min;  $t_{1/2\beta}$  were  $(365.880 \pm 101.250)$ ,  $(283.280 \pm 80.940)$ ,  $(80.063 \pm 21.189)$  min ( $n=6$ ), respectively. Compared with PR-SP,  $AUC_{0-600 \text{ min}}$ ,  $c_{\text{max}}$ , MRT and  $t_{1/2\beta}$  of R-PR-ME and NR-PR-ME were increased significantly ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Compared with NR-PR-ME,  $AUC_{0-600 \text{ min}}$ , MRT and  $t_{1/2\beta}$  of R-PR-ME were more higher ( $P<0.05$ ). The relative bioavailability of R-PR-ME was 205.98%. CONCLUSIONS: R-PR-ME is prepared successfully with high drug-loading amount, and can significantly increase the bioavailability of puerarin in rats, compared with PR-SP and NR-PR-ME.

**KEYWORDS** Phase I metabolism regulation; Puerarin microemulsion; Pharmacokinetics; Bioavailability; Rat

葛根素(Puerarin)系从豆科植物野葛或甘葛干燥根中提取出的有效成分,其主要药理作用为扩张冠状动脉和脑血管、降低心肌耗氧量、改善微循环等,临床广泛应用于心脑血管疾病的治疗<sup>[1-2]</sup>。葛根素水溶性差,口服后由于首关效应迅速被 I 相代谢酶细胞色素 P<sub>450</sub>(CYP)代谢<sup>[3-4]</sup>,导致葛根素以原型药物入血的浓度较低,口服生物利用度降低,限制了其临床应用。许多专家学者对提高葛根素的溶解度和口服生物利用度的方法进行了研究和探索,如进行结构修饰<sup>[5]</sup>、与其他药物配伍合用<sup>[6]</sup>、制成磷脂复合物<sup>[7-8]</sup>、制成纳米制剂<sup>[9]</sup>等。近年来的研究发现,自微乳释药系统(Self-emulsifying drug delivery system, SMEDDS)能够提高药物的溶解度并增加药物溶出,提高药物的生物利用度<sup>[10-11]</sup>。SMEDDS是由药物、油相、乳化剂和助乳化剂组成的口服固体或液体制剂,其中部分辅料对 CYP 酶系具有一定的抑制作用,可提高原型药物的入血浓度,从而提高药物的生物利用度<sup>[12-13]</sup>。本研究结合前期预试验以及参考相关研究<sup>[14]</sup>,选取具有抑制代谢酶活性的辅料,制备了具有 I 相代谢调控作用(抑制 CYP 酶活性)的葛根素微乳(R-PR-ME),另外采用对 I 相代谢无调控作用的辅料制备无 I 相代谢调控作用的葛根素微乳(NR-PR-ME);将 R-PR-ME、NR-PR-ME 和葛根素混悬液(PR-SP)分别灌胃大鼠,尾静脉取血,采用高效液相色谱法(HPLC)测定血药浓度,计算药动学参数,比较生物利用度,为提高葛根素生物利用度的口服制剂的开发提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1260 HPLC 仪(美国安捷伦公司);Zetasizer Nano ZSP 纳米粒度仪(英国马尔文仪器有限公司);ESJ120-4B 电子天平(德国赛多利斯公司);JN300-1 氮吹仪(苏州吉米诺仪器有限公司);HC-2517 高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州汇成科工贸有限公司);Vortex Genius3 漩涡混匀器(德国 IKA 公司)。

### 1.2 药品与试剂

葛根素对照品(中国科学院成都生物研究所,批号: MUST-1611007,纯度:99.71%);葛根素原料药(长沙中仁生物科技有限公司,批号:171101,纯度:98%);聚山

梨酯 20(西陇化工股份有限公司);丙三醇、聚乙二醇 400(PEG400)、聚山梨酯 80、对羟基苯甲酸(批号:201409-1601,纯度:>99.0%)均购自成都市科隆化学品有限公司;油酸聚乙二醇甘油酯、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯均购自上海源叶生物技术有限公司;大豆油、聚氧乙烯化蓖麻油(Cremphor EL)均购自上海克拉玛尔试剂公司;甲醇、乙腈(美国 Sigma 公司,色谱纯)。

### 1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠,♂,体质量为  $(200 \pm 20)$  g,购自四川成都达硕实验动物有限公司,实验动物生产许可证号为 SCXK(川)2015-030。

## 2 方法与结果

### 2.1 油相、乳化剂和助乳化剂的选择

根据文献[14]及前期预试验结果发现,油酸聚乙二醇甘油酯、聚山梨酯 20、Cremphor EL、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯、PEG400 对 I 相代谢酶有抑制作用,于是选择油酸聚乙二醇甘油酯作为油相,聚山梨酯 20、Cremphor EL 作为乳化剂,辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯、PEG400 作为助乳化剂进行具有 I 相代谢调控作用空白微乳处方的筛选和优化,共设计了 4 种处方,分别是(1)油相:油酸聚乙二醇甘油酯,乳化剂:聚山梨酯 20,助乳化剂:辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯,记为处方 1;(2)油相:油酸聚乙二醇甘油酯,乳化剂:Cremphor EL,助乳化剂:辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯,记为处方 2;(3)油相:油酸聚乙二醇甘油酯,乳化剂:聚山梨酯 20,助乳化剂:PEG400,记为处方 3;(4)油相:油酸聚乙二醇甘油酯,乳化剂:Cremphor EL,助乳化剂:PEG400,记为处方 4。同时选择理化性质相似且无 I 相代谢调控作用的辅料大豆油作为油相,聚山梨酯 80 作为乳化剂,甘油作为助乳化剂进行无 I 相代谢调控作用的空白微乳处方的优化。

### 2.2 R-PR-ME 处方的确定

2.2.1 油相、乳化剂和助乳化剂的确定 采用 Shah 法制备空白微乳<sup>[15-16]</sup>。按“2.1”项下处方 1、2、3、4 的处方组成,照乳化剂和助乳化剂的质量比( $K_m$ )为 1:1、2:1、3:1 的比例称取相应质量的乳化剂和助乳化剂,置于 10 mL 离心管中涡旋混匀。按质量比 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 精密称取 1 g 混合乳化剂和油相,磁力搅拌混合均匀,缓慢滴加去离子水,记录使混合相刚刚

澄清时水的质量以及形成微乳时各个组分的量。分别绘制 $K_m$ 为1:1、2:1、3:1的伪三元相图,筛选相图中形成微乳面积最大的处方为最佳空白微乳处方,确定 $K_m$ 值,结果显示,处方4不能形成澄清透明的制剂;处方1、2、3不同 $K_m$ 值的伪三元相图分别见图1、图2、图3。

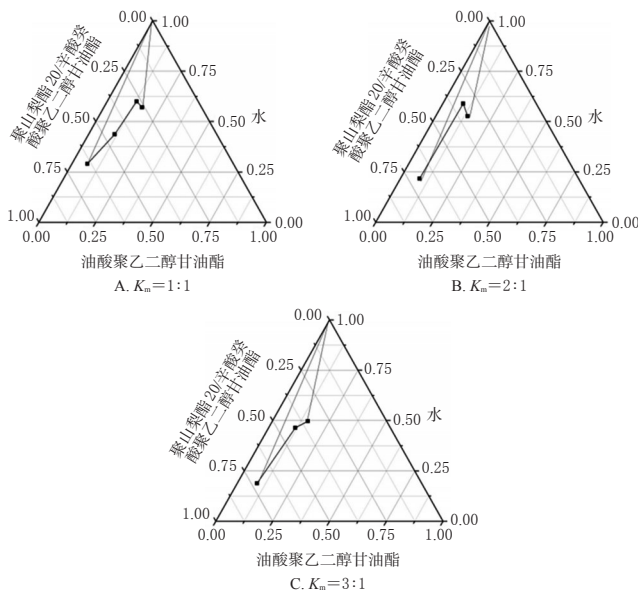


图1 处方1不同 $K_m$ 值的伪三元相图

Fig 1 Pseudo-ternary phase diagram of different  $K_m$  values for formula 1

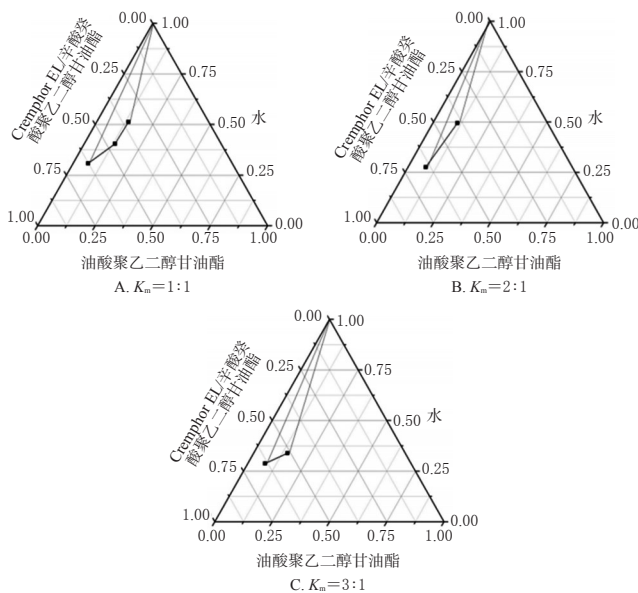


图2 处方2不同 $K_m$ 值的伪三元相图

Fig 2 Pseudo-ternary phase diagram of different  $K_m$  values for formula 2

比较图1、2、3中微乳面积发现,图1A中微乳面积最大,即最佳空白微乳处方为油相:油酸聚乙二醇甘油酯,乳化剂:聚山梨酯20,助乳化剂:辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯, $K_m$ :1:1。且试验发现,混合乳化剂-油相的质量比为5:5、4:6、3:7、2:8、1:9时不能形成澄清透明的制剂。

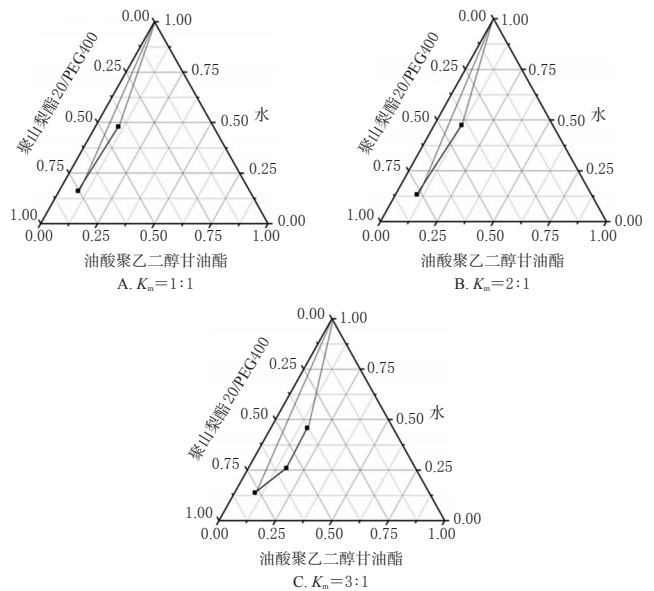


图3 处方3不同 $K_m$ 值的伪三元相图

Fig 3 Pseudo-ternary phase diagram of different  $K_m$  values for formula 3

2.2.2 混合乳化剂-油相质量比的确定 在空白微乳处方里加入过饱和的葛根素制成R-PR-ME, 3 000 r/min离心10 min,取上清液用甲醇稀释后于液相检测,测得葛根素的量<sup>[16]</sup>,计算所制R-PR-ME的最大载药量( $DL = M_1/M_2$ ,其中 $M_1$ 为葛根素质量, $M_2$ 为R-PR-ME质量)。结果显示,当混合乳化剂-油相质量比为9:1、8:2、7:3、6:4时所制R-PR-ME的最大载药量分别为50.57、67.50、40.45、43.11 mg/g,确定混合乳化剂-油相的最佳质量比为8:2。

综上,确定R-PR-ME的处方为油酸聚乙二醇甘油酯(油相)-聚山梨酯20(乳化剂)-辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯(助乳化剂)的质量比:2:4:4,载药量为67.50 mg/g。

### 2.3 NR-PR-ME处方的确定

以大豆油为油相,聚山梨酯80为乳化剂,甘油为助乳化剂,按“2.2.1”项下方法进行伪三元相图考察。结果发现,只有当 $K_m$ 为1:1且混合乳化剂-油相质量比为9:1时才能形成澄清透明的微乳制剂。由此确定,NR-PR-ME处方为大豆油(油相)-聚山梨酯80(乳化剂)-甘油(助乳化剂)的质量比:1:4.5:4.5。在该空白微乳中加入葛根素制成NR-PR-ME,测定其最大载药量为61.32 mg/g。

### 2.4 R-PR-ME和NR-PR-ME的表征

采用纳米粒度仪测定R-PR-ME和NR-PR-ME的粒径和分散系数(PDI)。结果显示,R-PR-ME的平均粒径为 $(22.59 \pm 0.53)$  nm、PDI为 $0.182 \pm 0.017$  ( $n=3$ );NR-PR-ME的平均粒径为 $(15.45 \pm 1.06)$  nm、PDI为 $0.156 \pm 0.012$  ( $n=3$ )。R-PR-ME和NR-PR-ME的粒径分布图见图4。

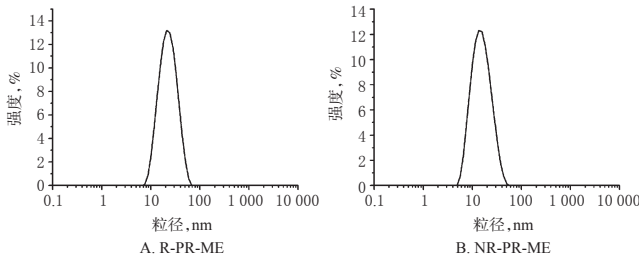


图4 R-PR-ME和NR-PR-ME的粒径分布图

Fig 4 Particle size distribution of R-PR-ME and NR-PR-ME

## 2.5 生物样品中葛根素的含量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱:Global Chromatography C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸水 (15:85, V/V);柱温:30 ℃;流速:0.8 mL/min;检测波长:250 nm;进样量:10 μL。

2.5.2 溶液的制备 ①对照品溶液:精密称取葛根素对照品5.10 mg,置于10 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,得质量浓度为510.00 μg/mL的对照品贮备液,再用甲醇稀释,制成质量浓度分别为0.08、0.16、0.32、0.64、1.28、2.55 μg/mL系列对照品溶液。②内标溶液:精密称取对羟基苯甲酸10.00 mg,置于25 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,得质量浓度为400.00 μg/mL的内标贮备液,临用前用甲醇稀释成20.00 μg/mL的内标溶液。

2.5.3 血浆样品的处理 冷冻血浆在室温下融化,涡旋混匀,取血浆0.1 mL于离心管中,加入10 μL内标溶液,再加入0.4 mL的甲醇用以沉淀蛋白,涡旋振荡2 min,12 000 r/min离心10 min,取上清液,40 ℃氮气吹干,残渣中加入0.1 mL甲醇复溶,涡旋振荡5 min,12 000 r/min离心10 min,取上清液10 μL进样分析。

2.5.4 方法专属性 分别用大鼠空白血浆、大鼠空白血浆+葛根素对照品+内标、灌胃后10 min的大鼠含药血浆,按“2.5.3”项下方法处理后,进样测定。结果显示,葛根素和内标的保留时间分别是8.040 min和10.107 min,峰形对称,内源性杂质不干扰待测物质的分离,理论板数以葛根素峰计不低于5 000,色谱图见图5。

2.5.5 线性关系、检测限与定量下限 取100 μL大鼠空白血浆,置于1.5 mL离心管中,分别加入系列葛根素对照品溶液,使血浆中葛根素的质量浓度分别为0.08、0.16、0.32、0.64、1.28、2.55 μg/mL,再按照“2.5.3”项下方法处理后,进样测定,以葛根素与内标的峰面积比为纵坐标(y),葛根素质量浓度为横坐标(x)进行线性回归分析。另以信噪比为3:1时对应的葛根素质量浓度为检测限,回归方程线性范围最低点为定量下限。结果显示,回归方程为 $y=0.2855x+0.0078$ ( $r=0.998$ ),葛根素检测质量浓度的线性范围为0.08~2.55 μg/mL,检测限为0.02 μg/mL,定量下限为0.08 μg/mL。

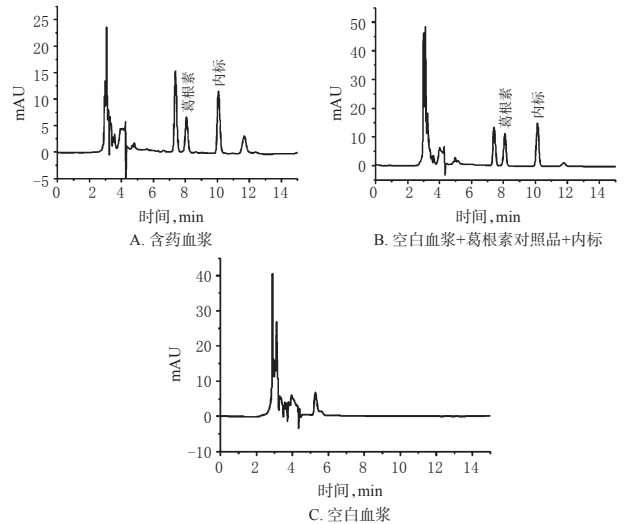


图5 高效液相色谱图

Fig 5 HPLC chromatograms

2.5.6 准确度 按“2.5.5”项下方法制备质量浓度分别为0.16、0.64、1.92 μg/mL的质控样品,各5份,按照“2.5.3”项下方法处理后,进样测定,代入回归方程计算实测浓度,以实测浓度与加入浓度之比计算准确度。结果显示,低、中、高质量浓度质控样品的准确度分别为97.26%、97.13%、99.82%,RSD分别为1.48%、1.32%、1.28%( $n=5$ )。

2.5.7 提取回收率 按“2.5.5”项下方法制备质量浓度分别为0.16、0.64、1.92 μg/mL的质控样品,各5份,按照“2.5.3”项下方法处理后,进样测定,记录峰面积为 $A_1$ ;同时以相应浓度的对照品溶液未经提取直接进样测定,记录峰面积为 $A_2$ ,以 $A_1/A_2$ 计算提取回收率。结果显示,低、中、高质量浓度质控样品的提取回收率分别为72.14%、75.20%、78.63%,RSD分别为2.45%、2.03%、2.16%( $n=5$ ),表明该方法的提取回收率良好。

2.5.8 精密度 按“2.5.5”项下方法制备质量浓度分别为0.16、0.64、1.92 μg/mL的质控样品,各5份,按照“2.5.3”项下方法处理后,每日测定1次和连续测定3 d,考察日内、日间精密度。结果显示,低、中、高质量浓度质控样品的日内RSD分别为3.68%、3.54%、2.09%( $n=5$ ),日间RSD分别为5.17%、4.39%、4.18%( $n=3$ ),均符合生物样本分析方法的要求。

2.5.9 稳定性 按“2.5.5”项下方法制备质量浓度分别为0.16、0.64、1.92 μg/mL的质控样品,各4份,按照“2.5.3”项下方法处理后,分别室温放置6 h、自动进样器内放置24 h、冻融循环3次、-20 ℃冷冻7 d,考察不同存储条件下的稳定性。结果显示,质控样品室温放置6 h葛根素的RSD均 $<10\%$ ( $n=3$ ),自动进样器内放置24 h葛根素的RSD均 $<7.0\%$ ( $n=3$ ),冻融循环3次葛根素的RSD均 $<10\%$ ( $n=3$ ),-20 ℃冷冻7 d葛根素的RSD均 $<15\%$ ( $n=3$ ),表明生物样本稳定性良好。

## 2.6 药动学实验

分别将R-PR-ME、NR-PR-ME、PR-SP制备成含葛根素12 mg/mL的生理盐水溶液。取SD大鼠18只,将大鼠随机分为R-PR-ME组、NR-PR-ME组和PR-SP组,每组6只,禁食不禁水12 h,分别灌胃相应药物,根据制剂的最大溶解度和大鼠的最大给药体积确定给药剂量为120 mg/kg(以葛根素计)。分别在给药前(空白)以及给药后5、10、15、20、30、45、60、90、120、180、240、360、480、600 min尾静脉取血0.3 mL,置于肝素钠抗凝的离心管中,4 000 r/min离心10 min,取上层血浆,−20 ℃保存备用。取血浆样品,按照“2.5.3”项下方法处理后,进样测定,代入回归方程计算葛根素的浓度,绘制药-时曲线;采用DAS 2.0软件进行处理,计算药动学参数;采用SPSS 19.0软件对数据进行*t*检验。大鼠体内葛根素的平均药-时曲线见图6,药动学参数见表1。

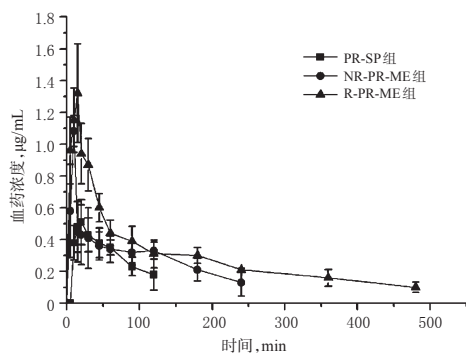


图6 大鼠体内葛根素的平均药-时曲线

Fig 6 Average blood concentration-time curves of puerarin in rats

表1 灌胃给药后葛根素在大鼠血浆中的药动学参数 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of puerarin in rat plasma after intragastric administration ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	PR-SP组	NR-PR-ME组	R-PR-ME组
$c_{max}, \mu\text{g/mL}$	0.425 ± 0.106	1.082 ± 0.294*	1.316 ± 0.306*
$t_{max}, \text{min}$	21.660 ± 4.082	10.833 ± 1.863*	11.667 ± 2.357*
$AUC_{0-600\text{min}}, \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$	49.623 ± 12.143	65.145 ± 18.762	134.187 ± 37.152**
$AUC_{0-\infty}, \mu\text{g} \cdot \text{min/mL}$	75.217 ± 16.565	131.675 ± 32.017*	187.361 ± 43.208**
$CL/F, \text{mL}/(\text{min} \cdot \text{kg})$	2.127 ± 0.248	1.084 ± 0.324*	0.625 ± 0.158*
$t_{1/2\beta}, \text{min}$	80.063 ± 21.189	283.280 ± 80.940*	365.880 ± 101.250***
$MRT, \text{min}$	60.524 ± 14.086	100.264 ± 27.683*	155.068 ± 33.204**

注:与PR-SP组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与NR-PR-ME组比较,\* $P < 0.05$

Note: vs. PR-SP group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; vs. NR-PR-ME group, \* $P < 0.05$

由图6显示,葛根素在大鼠体内的药动学属于二室模型。由表1结果显示,与PR-SP组比较,R-PR-ME组和NR-PR-ME组大鼠体内的葛根素的 $c_{max}$ 、AUC、 $t_{1/2\beta}$ 、平均滞留时间(MRT)明显增加, $t_{max}$ 明显缩短,消除率(CL/F)

明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。以PR-SP为参比制剂,R-PR-ME的相对生物利用度为270.41%,NR-PR-ME的相对生物利用度为131.28%。R-PR-ME组大鼠体内的葛根素的AUC、 $t_{1/2\beta}$ 和MRT均明显高于NR-PR-ME组( $P < 0.05$ ),以NR-PR-ME为参比制剂,R-PR-ME的相对生物利用度为205.98%。

## 3 讨论

CYP酶系在肝脏及肠道含量丰富,参与众多药物的I相代谢,明显降低了CYP底物药物的口服生物利用度。本文从代谢调控着手,以葛根素为研究对象,采用对CYP酶系活性有抑制作用的辅料制备了具有I代谢调控作用的微乳来提高药物的口服生物利用度,并采用伪三元相图和以载药量为指标对方剂进行优化。本研究结果显示,成功制得R-PR-ME,且其载药量高、稳定性好、粒径小且分布均匀,同时本文采用大鼠模型比较了R-PR-ME、NR-PR-ME、PR-SP的药动学特征,由药动学结果可知,与PR-SP比较,R-PR-ME和NR-PR-ME的AUC、 $c_{max}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 和MRT均明显增加,CL/F明显降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。以NR-PR-ME为参比制剂,R-PR-ME相对生物利用度为205.98%,由此说明R-PR-ME中的辅料油酸聚乙二醇甘油酯、聚山梨酯20、辛酸癸酸聚乙二醇甘油酯可能通过抑制肝肠代谢酶CYP的活性,减少了葛根素在体内被CYP酶系的代谢,增加了葛根素的口服生物利用度,表明本文基于代谢调控增加葛根素口服生物利用度的思路可行。另外本文制备的NR-PR-ME相对于PR-SP也提高了葛根素的口服生物利用度,且在体内快速达到峰值,其原因可能是自微乳系统通过增加葛根素的溶解性、稳定性以及淋巴循环,促进了葛根素的胃肠道吸收,从R-PR-ME组、NR-PR-ME组的MRT均延长可以看出自微乳释药系统具有缓释作用,这与前人的研究结果一致<sup>[17]</sup>,也表明了本文制备自微乳释药系统的工艺可靠。至于R-PR-ME对转运蛋白、细胞膜通透性、细胞摄取、细胞毒性等方面的影响有待进一步研究。

综上,本文从代谢调控出发,制备了具有I代谢调控作用的葛根素微乳并研究其大鼠体内药动学,为提高葛根素口服生物利用度和葛根素的剂型开发提供了参考。

## 参考文献

- [1] 李昕,潘俊娴,陈士国,等.葛根化学成分及药理作用研究进展[J].中国食品学报,2017,17(9):189-195.
- [2] 侯筱婷.葛根素对心脑血管疾病影响的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(14):2002-2004.
- [3] GALETIN A. Intestinal and hepatic metabolic activity of five cytochrome P<sub>450</sub> enzymes: impact on prediction of first-pass metabolism[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318(3):1220-1229.
- [4] 崔升森.大鼠肝微粒体中葛根素的液相色谱-质谱测定法

# 辣椒素固体分散体的处方工艺优化及表征<sup>Δ</sup>

游国叶<sup>1\*</sup>, 樊轻亚<sup>1</sup>, 杜晶<sup>1</sup>, 李会娜<sup>2#</sup> (1. 信阳职业技术学院药学院, 河南 信阳 464000; 2. 杭州民生药业有限公司, 杭州 310000)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1464-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.06

**摘要** 目的: 制备辣椒素固体分散体, 优化其处方工艺, 并进行表征。方法: 采用熔融法, 以泊洛沙姆 188(P188)或聚乙二醇 4000(PEG4000)为载体制备辣椒素固体分散体。以 60 min 的累积释放度为指标, 采用正交试验设计优化载体种类、药载比及搅拌时间, 并进行验证; 考察所制辣椒素固体分散体在温度 40 ℃、相对湿度 75% 条件下 0、30、180 d 内的稳定性及 X 射线衍射法(XRD)分析是否有新峰出现; 利用差示扫描量热法(DSC)、XRD 对其进行物相表征。结果: 以 P188-PEG4000 为载体, 辣椒素-P188-PEG4000 的质量比为 1:5:3, 搅拌 20 min, 所制辣椒素固体分散体体外 60 min 的累积释放度为 84.6% ( $n=3$ ), 180 d 内稳定性良好 [含量 RSD 为 3% ( $n=3$ ), XRD 显示未出现新峰]; 物相表征证明, 辣椒素以无定型状态或分子状态高度分散于载体中。结论: 通过此工艺制备了辣椒素固体分散体并且在 60 min 可体外溶出 80% 以上, 稳定性好, 工艺简便可行。

**关键词** 辣椒素; 固体分散体; 处方优化; 释放度; 表征

## Formulation Optimization of Capsaicin Solid Dispersion and Its Characterization

YOU Guoye<sup>1</sup>, FAN Qingya<sup>1</sup>, DU Jing<sup>1</sup>, LI Huina<sup>2</sup> (1. School of Pharmacy, Xinyang Vocational and Technical College, Henan Xinyang 464000, China; 2. Hangzhou Minsheng Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

- 及药物代谢动力学[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(1): 32-36.
- [5] 张彬, 向纪明. 葛根素结构修饰的研究进展[J]. 安康学院学报, 2015, 27(5): 99-103.
- [6] 姜丽, 余兰彬, 徐国良, 等. 天麻素和葛根素在大鼠体内联合应用的药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 1179-1184.
- [7] 吴军勇, 李泳江, 胡雄彬, 等. 葛根素与磷脂复合后对葛根素微乳经淋巴转运的影响[J]. 中草药, 2018, 49(12): 2914-2918.
- [8] 邓向涛, 郝海军, 贾幼智, 等. 葛根素磷脂复合物及其固体分散体的药代动力学及生物利用度研究[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1974-1976.
- [9] YI Y, TU L, HU K, et al. The construction of puerarin nanocrystals and its pharmacokinetic and in vivo-in vitro correlation (IVIVC) studies on Beagle dog[J]. *Colloid Surface B*, 2015, 133(1): 164-170.
- [10] KOHLI K, CHOPRA S, DHAR D, et al. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bio-availability[J]. *Drug Discov Today*, 2010, 15 (21/22): 958-965.
- [11] YIN YM, CUI FD, MU CF, et al. Docetaxel microemulsion for enhanced oral bioavailability: preparation and in vitro and in vivo evaluation[J]. *J Control Release*, 2009, 140(2): 86-94.
- [12] CHRISTIANSEN A, BACKENFELD T, DENNER K, et al. Effects of non-ionic surfactants on cytochrome P<sub>450</sub>-mediated metabolism in vitro[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 78(1): 166-172.
- [13] 饶子超, 斯陆勤, 关延彬, 等. 含 Cremophor RH40 的自微乳化给药系统对大鼠体内 CYP3A 酶的抑制作用[J]. 医药导报, 2010, 29(12): 1535-1539.
- [14] 周晶. 调控肠道代谢提高药物口服生物利用度的制剂技术研究[D]. 北京: 中国医学科学院 & 北京协和医学院, 2015.
- [15] 薛鸿娇, 唐华争, 张琪, 等. 蒿甲醚口服微乳原位凝胶的制备与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 29-36.
- [16] DIXIT AR, RAJPUT SJ, PATEL SG. Preparation and bio-availability assessment of smedds containing valsartan[J]. *Aaps Pharmscitech*, 2010, 11(1): 314-321.
- [17] 张红艳, 孙洪胜, 刘健, 等. 葛根素固体自微乳胶囊在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国药房, 2015, 26(34): 4773-4775.

Δ 基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目 (No. 172102310315)

\* 讲师, 硕士。研究方向: 新剂型与新技术。电话: 0376-6281996。

E-mail: guoyeyou@163.com

# 通信作者: 副教授, 硕士。研究方向: 药物分析。电话: 0376-6281996。E-mail: 414431778@qq.com

(收稿日期: 2019-03-01 修回日期: 2019-04-08)

(编辑: 邹丽娟)