

# 依鲁替尼及其磷脂复合物在比格犬体内的药动学比较研究<sup>△</sup>

林琳\*, 鲁梅, 邓意辉<sup>#</sup>(沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R945 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)14-1894-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.14.05

**摘要** 目的:建立测定比格犬血浆中依鲁替尼浓度的方法,并比较依鲁替尼及其磷脂复合物在比格犬体内的药动学差异。结果:将雄性比格犬随机分为依鲁替尼混悬液组和依鲁替尼磷脂复合物组(分别以0.5%交联羧甲基纤维素钠溶液和水为溶剂,质量浓度均为5 mg/mL),每组3只。所有比格犬均单次灌胃相应药物混悬液15 mg/kg,分别于给药前及给药后0.017、0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12 h于左前肢静脉取血2 mL,采用高效液相色谱法(HPLC)测定其血浆中依鲁替尼的质量浓度。以甲苯磺丁脲为内标,色谱柱为Betasil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(含0.5%三乙胺,用冰醋酸调节pH至3.2)(45:55, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为256 nm,柱温为25 ℃,进样量为20 μL。采用DAS 2.1.1软件计算两组比格犬的药动学参数,采用*t*检验考察两者的差异。结果:依鲁替尼检测血药浓度的线性范围5~5 000 ng/mL( $r=0.999\ 8$ ),定量下限为5 ng/mL,最低检测限为1.3 ng/mL;批间、批内RSD均小于10%,准确度为98.81%~106.20%,提取方法不影响待测物的测定。单次灌胃依鲁替尼混悬液和依鲁替尼磷脂复合物的 $t_{\max}$ 分别为(2.00±0.09)、(0.25±0.03)h, $c_{\max}$ 分别为(610.67±21.36)、(2 308.72±100.41)ng/mL,AUC<sub>0-12 h</sub>分别为(4 516.67±383.43)、(9 394.16±874.21)ng·h/mL,AUC<sub>0-∞</sub>分别为(6 174.32±525.27)、(10 717.33±897.62)ng·h/mL,组间比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );依鲁替尼磷脂复合物的相对生物利用度为207.99%。结论:本研究建立的HPLC法操作简便、专属性强、灵敏度高,可用于依鲁替尼血药浓度的测定及药动学的研究。将依鲁替尼制成磷脂复合物后,其药动学参数变化明显,药物吸收明显加快,生物利用度明显提高。

**关键词** 依鲁替尼;磷脂复合物;药动学;生物利用度;比格犬;比较研究

## Comparative Study on the Pharmacokinetics of Ibrutinib and Its Phospholipid Complex in Beagle Dogs

LIN Lin, LU Mei, DENG Yihui (College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of ibrutinib concentration in Beagle dogs, and to compare the pharmacokinetic difference of ibrutinib and its phospholipid complex in Beagle dogs. METHODS: The male Beagle dogs were randomly divided into Ibrutinib suspension group and Ibrutinib phospholipid complex group (using 0.5% Carboxymethylcellulose sodium solution and water as solvent, mass concentration of 5 mg/mL), with 3 dogs in each group. All Beagle dogs were given relevant medicine suspension (15 mg/kg) intragastrically, and 2 mL of blood were collected from the forelimb vein before administration and 0.017, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 and 12 h after administration. Plasma concentration of ibrutinib was determined by HPLC. Using tolbutamide as internal standard, the determination was performed on Betasil C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (contained 0.5% triethylamine, pH value adjusted to 3.2 with glacial acetic acid)(45:55, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 256 nm, and the column temperature was 25 ℃. The sample size was 20 μL. The pharmacokinetic parameters of Beagle dogs in 2 groups were calculated by using DAS 2.1.1 software. The difference of ibrutinib and its phospholipid complex were investigated by *t*-test. RESULTS: The linear range of ibrutinib was 5-5 000 ng/mL ( $r=0.999\ 8$ ); lower limit of quantitation was 5 ng/mL; minimum detection limit was 1.3 ng/mL. RSDs of intra-batch and inter-batch were lower than 10%; the accuracy was 98.81%-106.20%; the extraction method did not influence the determination of the substance to be measured. Pharmacokinetic parameters of Ibrutinib suspension and Ibrutinib phospholipid complex with signal intragastric administration were as follows:  $t_{\max}$  were (2.00±0.09) and (0.25±0.03)h;  $c_{\max}$  were (610.67±21.36) and (2 308.72±100.41)ng/mL; AUC<sub>0-12 h</sub> were (4 516.67±383.43) and (9 394.16±874.21)ng·h/mL; AUC<sub>0-∞</sub> were (6 174.32±525.27) and (10 717.33±897.62)ng·h/mL, with statistical significance ( $P<0.05$ ). The relative bioavailability of Ibrutinib phospholipid complex was 207.99%. CONCLUSIONS: Established HPLC method is simple, specific and sensitive, and can be used for plasma concentration determination and pharmacokinetic study of ibrutinib. The pharmacokinetic parameters of

phospholipid complex prepared from ibrutinib changed significantly, drug absorption is accelerated and bioavailability is improved significantly.

**KEYWORDS** Ibrutinib; Phospholipid complex; Pharmacokinetics; Bioavailability; Beagle dog; Comparative study

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81373334)

\* 硕士研究生。研究方向:肿瘤靶向制剂。E-mail:1350194271@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:肿瘤靶向制剂。电话:024-23986316。E-mail:dengyihui@syphu.edu.cn

依鲁替尼是一种新型的 Bruton 酪氨酸激酶(BTK)抑制剂,能够通过与 BTK 酶激活区域内的 Cys481 位点结合进而发挥抑制该酶活性、阻止肿瘤细胞转移的作用<sup>[1-2]</sup>。目前,依鲁替尼主要用于治疗包括慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤和 Waldenstrom 巨球蛋白血症在内的多种淋巴瘤<sup>[3]</sup>。但依鲁替尼的水溶性极差,口服制剂的生物利用度极低,导致临床用药剂量偏大,患者在治疗过程中易出现出血、高血压等毒副作用,导致该药的临床应用受到了极大限制<sup>[4]</sup>。磷脂复合物给药系统能极大地提高难溶性药物的水溶性,增加其血药浓度并延长药物在体内的滞留时间,并显著改善其生物利用度<sup>[5-7]</sup>。故本课题组前期制备了依鲁替尼磷脂复合物。本研究在此基础上,建立了测定比格犬血浆中依鲁替尼浓度的高效液相色谱法(HPLC);并以依鲁替尼原料药为对照,比较了两者在比格犬体内的药动学差异,以期为其新剂型的研发提供实验基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

P230 型高压恒流泵、UV200 II 型紫外可变波长检测器、HW-2000 色谱数据处理工作站(大连依利特分析仪器有限公司);AT-130 型柱温箱(天津市金洲科学仪器有限公司);S3100 型自动进样器、SVC-II 型高精度全自动交流稳压器(中川电气科技有限公司);XS105 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);DF-101S 型磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器有限责任公司);Anke TDL80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器厂);XH-D 型涡旋仪(上海启前电子科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

依鲁替尼原料药(南京熙泽生物科技有限公司,批号:20161213,纯度:≥99%);甲苯磺丁脲对照品(内标,大连美仑生物技术有限公司,批号:J1010AS,纯度:≥99%);蛋黄磷脂酰甘油(上海艾韦特医药科技有限公司,批号:B40643,纯度:≥97%);乙腈、冰醋酸均为色谱纯,乙醇、三乙胺等试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 动物

清洁级健康比格犬 6 只,雄性,8 月龄,体质量 10~15 kg,由沈阳药科大学实验动物中心提供,动物使用许可证号:SYXK(辽)2014-0004。

## 2 方法与结果

### 2.1 依鲁替尼磷脂复合物的制备

参照本课题组前期研究方法制备依鲁替尼磷脂复合物:称取依鲁替尼原料药 10.0 mg 和蛋黄磷脂酰甘油 18.0 mg,以乙醇为反应溶剂,于 40 °C 反应 0.5 h 后,减压蒸发除去乙醇,加入适量二氯甲烷洗涤以除去游离药物,抽滤,收集沉淀,常温减压干燥 24 h,即得依鲁替尼磷脂复合物(每克磷脂复合物约含依鲁替尼 0.35 g)。

## 2.2 溶液的制备

2.2.1 依鲁替尼系列标准溶液 精密称取依鲁替尼原料药 5.00 mg,用甲醇稀释,制得质量浓度为 10 μg/mL 的贮备液。精密量取上述贮备液适量,用甲醇稀释至相应质量浓度,制得依鲁替尼系列标准溶液,密封,于 4 °C 保存,备用。

2.2.2 内标溶液 精密称取内标对照品 10.00 mg,用甲醇稀释,制得质量浓度为 1.0 mg/mL 的内标贮备液。精密量取上述内标贮备液适量,用甲醇稀释,制得质量浓度为 50 ng/mL 的内标溶液,密封,于 4 °C 保存,备用。

2.2.3 依鲁替尼混悬液 精密称取依鲁替尼原料药适量,用 0.5% 交联羧甲基纤维素钠溶液稀释,充分搅拌,制得质量浓度为 5 mg/mL 的依鲁替尼混悬液,备用。

2.2.4 依鲁替尼磷脂复合物混悬液 精密称取“2.1”项下依鲁替尼磷脂复合物适量,加入预热至 40 °C 的水中,充分搅拌,制得质量浓度为 5 mg/mL 的依鲁替尼磷脂复合物混悬液,备用。

## 2.3 分组与给药

将比格犬随机分为两组,即依鲁替尼混悬液组和依鲁替尼磷脂复合物组,每组 3 只。所有比格犬均禁食、不禁水 12 h 后,分别单次灌胃“2.2.3”“2.2.4”项下相应药物混悬液,给药剂量均为 15 mg/kg(根据临床使用剂量按等效剂量系数折算法<sup>[8]</sup>换算而得)。

## 2.4 血浆样品处理

精密量取血浆样品 300 μL,置于 1.5 mL 离心管中,加入 50 ng/mL 内标溶液 100 μL,加入甲醇 600 μL,涡旋混匀 10 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液于室温下以氮气流挥干,残渣用流动相 100 μL 复溶,涡旋混匀 5 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液适量,进样分析。

## 2.5 色谱条件

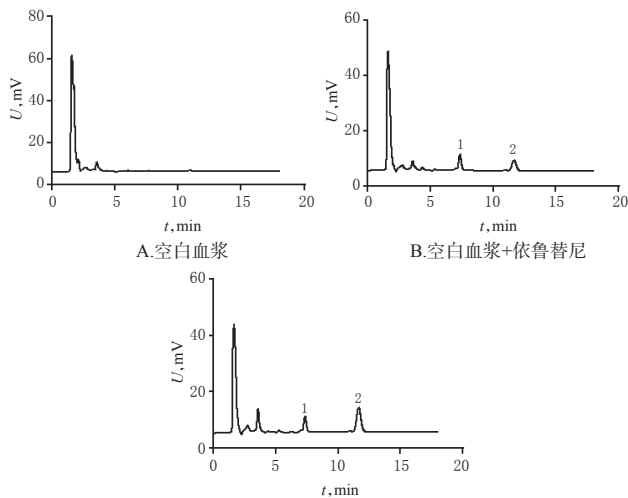
色谱柱:Betasil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(含 0.5% 三乙胺,用冰醋酸调节 pH 至 3.2)(45:55, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:256 nm;柱温:25 °C;进样量:20 μL。

## 2.6 方法学考察

2.6.1 专属性 分别取空白血浆、空白血浆+依鲁替尼(250 ng/mL)、依鲁替尼磷脂复合物组比格犬给药后 12 h 时的血浆样品各适量,按“2.4”项下方法处理后(空白血浆不加内标),再按“2.5”项下色谱条件进样分析,记录色谱图,结果见图 1。由图 1 可见,内标和依鲁替尼的保留时间分别为 7.37、11.66 min,且血浆中的内源性物质对待测物的定量分析无明显干扰,表明本法的专属性良好。

### 2.6.2 标准曲线的绘制与定量下限、最低检测限的考察

精密量取空白血浆 270 μL,置于 1.5 mL 离心管中,分别加入“2.2.1”项下不同质量浓度的依鲁替尼系列标准溶液各 30 μL,制得质量浓度分别为 5、10、50、100、500、



C. 依鲁替尼磷脂复合物组比格犬给药后 12 h 时的血浆样品  
注: 1. 内标; 2. 依鲁替尼  
Note: 1. internal standard; 2. ibrutinib

图 1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

1 000、5 000 ng/mL 的系列含药血浆样品,按“2.4”项下方法处理后,再按“2.5”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以待测物质量浓度( $x$ , ng/mL)为横坐标、待测物与内标的峰面积比值( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=0.007\ 86x-0.003\ 91$ ( $r=0.999\ 8$ )。结果,依鲁替尼检测血药浓度的线性范围为5~5 000 ng/mL,定量下限为5 ng/mL(信噪比为10);以信噪比为3测得最低检测限为1.3 ng/mL。

2.6.3 精密度和准确度试验 按“2.6.2”项下方法配制同一分析批的依鲁替尼定量下限以及低、中、高质量浓度(10、100、4 000 ng/mL,下同)血浆样品各5份,按“2.4”项下方法处理后,进样分析,考察批内精密度和准确度;同法配制3个分析批的定量下限以及低、中、高质量浓度

血浆样品,连续测定3 d,每质量浓度平行测定5次,考察批间精密度和准确度。结果,批内、批间RSD均小于10%,准确度(检测值,下同)为98.81%~106.20%,详见表1。

表 1 精密度和准确度试验结果

Tab 1 Results of precision and accuracy tests

理论值, ng/mL	批内试验( $n=5$ )			批间试验( $n=15$ )		
	实测值( $\bar{x}\pm s$ ), ng/mL	批内RSD, %	准确度( $\bar{x}\pm s$ ), %	实测值( $\bar{x}\pm s$ ), ng/mL	批间RSD, %	准确度( $\bar{x}\pm s$ ), %
5	5.07±0.24	4.73	101.40±4.80	5.11±0.29	5.68	102.20±5.80
10	10.62±1.03	9.70	106.20±10.30	10.36±0.69	6.66	103.60±6.90
100	101.44±5.78	5.70	101.44±5.78	102.16±3.52	3.45	102.16±3.52
4 000	4 012.06±98.27	2.45	100.30±2.46	3 952.46±59.17	1.50	98.81±1.48

2.6.4 提取回收率试验 按“2.6.2”项下方法配制依鲁替尼低、中、高质量浓度血浆样品,按“2.4”项下方法处理后,再按“2.5”项下色谱条件进样分析,得依鲁替尼峰面积( $A_{\text{提取}}$ );另取空白血浆适量,按“2.4”项下方法处理至“挥干”,残渣加入相应质量浓度的依鲁替尼标准溶液,混匀,使最终质量浓度与前者对应,再按“2.5”项下色谱条件进样分析,得依鲁替尼峰面积( $A_{\text{未提取}}$ ),提取回收率= $(A_{\text{提取}}/A_{\text{未提取}})\times 100\%$ 。每质量浓度平行5样本分析。结果,低、中、高质量浓度血浆样品的提取回收率分别为(84.36±2.43)%、(79.17±2.39)%、(87.50±2.33)%、RSD分别为2.89%、3.02%、2.67%( $n=5$ );内标的提取回收率为(86.17±1.36)%、RSD为1.82%( $n=5$ )。

2.6.5 稳定性试验 按“2.6.2”项下方法配制依鲁替尼低、中、高质量浓度血浆样品,考察室温放置3 h、反复冻融(-20℃至室温)3次、-20℃冷冻放置3周后再处理以及处理后室温放置24 h的稳定性。每质量浓度平行3样本分析。结果,在上述条件下,各样品实测血药浓度的RSD均小于10%( $n=3$ ),表明其稳定性良好,详见表2。

表 2 稳定性试验结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of stability tests( $n=3$ )

理论值,ng/mL	室温放置3 h后再处理		反复冻融3次后再处理		-20℃冷冻放置3周后再处理		预处理后室温放置24 h	
	实测值( $\bar{x}\pm s$ ),ng/mL	RSD, %	实测值( $\bar{x}\pm s$ ),ng/mL	RSD, %	实测值( $\bar{x}\pm s$ ),ng/mL	RSD, %	实测值( $\bar{x}\pm s$ ),ng/mL	RSD, %
10	10.27±0.85	8.28	10.57±0.76	7.19	9.97±0.86	8.63	10.32±0.43	4.17
100	102.06±8.41	8.24	101.83±6.82	6.70	102.43±7.45	7.27	100.76±7.31	7.25
4 000	3 764.23±218.43	5.80	3 927.45±156.37	3.98	3 636.73±172.66	4.75	3 881.07±259.11	6.68

## 2.7 药动学研究

6只比格犬按“2.3”项下方法分组并给药,分别于给药前及给药后0.017、0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、12 h于左前肢静脉取血2 mL,置于肝素化管中,4 500 r/min离心10 min,分离血浆,并置于-20℃保存,待检。取上述血浆样品适量,按“2.4”项下方法处理后,再按“2.5”项下色谱条件进样分析,代入随行标准曲线计算依鲁替尼的血药浓度,并使用DAS 2.1.1软件绘制平均药-时曲线,结果见图2。

采用DAS 2.1.1软件处理上述平均药-时曲线数据,

计算主要药动学参数和相对生物利用度 $\{F, F=[(AUC_{0-12\text{h}})_{\text{依鲁替尼磷脂复合物组}}/(AUC_{0-12\text{h}})_{\text{依鲁替尼混悬液组}}]\times 100\%$ ,结果见表3。采用SPSS 20.0软件对两组比格犬的药动学参数进行统计分析。数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

由图2可见,比格犬灌胃依鲁替尼磷脂复合物混悬液后,药物在体内吸收迅速,给药后约0.25 h即可达最高血药浓度,且1 h内均维持在较高水平;而灌胃依鲁替尼混悬液后,药物在体内吸收较缓慢,给药后约2 h才达到峰值。由表3可见,依鲁替尼磷脂复合物组比格犬的

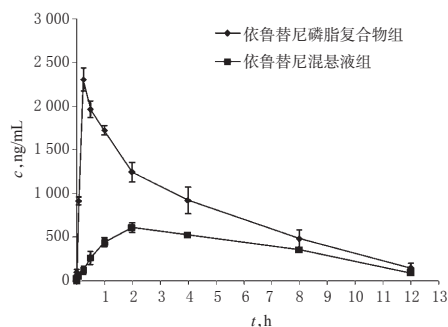


图2 比格犬单次灌胃依鲁替尼混悬液和依鲁替尼磷脂复合物混悬液的平均药-时曲线( $n=3$ )

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of ibrutinib in Beagle dogs after single intragastric administration of Ibrutinib suspension and Ibrutinib phospholipid complex( $n=3$ )

表3 比格犬单次灌胃依鲁替尼混悬液和依鲁替尼磷脂复合物混悬液的主要药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 3 Main pharmacokinetic parameters of ibrutinib in Beagle dogs after single intragastric administration of Ibrutinib suspension and Ibrutinib phospholipid complex( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	$t_{max}, h$	$c_{max}, ng/mL$	$AUC_{0-12h}, ng \cdot h/mL$	$AUC_{0-\infty}, ng \cdot h/mL$
依鲁替尼混悬液组	$2.00 \pm 0.09$	$610.67 \pm 21.36$	$4516.67 \pm 383.43$	$6174.32 \pm 525.27$
依鲁替尼磷脂复合物组	$0.25 \pm 0.03^*$	$2308.72 \pm 100.41^*$	$9394.16 \pm 874.21^*$	$10717.33 \pm 897.62^*$

注:与依鲁替尼混悬液组比较, \* $P<0.05$

Note; vs. Ibrutinib suspension group, \* $P<0.05$

$c_{max}$ 、 $AUC_{0-12h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 分别为依鲁替尼混悬液组的3.78、2.08、1.74倍,其 $F$ 为207.99%。与依鲁替尼混悬液组比较,依鲁替尼磷脂复合物组比格犬体内药物的 $c_{max}$ 、 $AUC_{0-12h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 均显著增加, $t_{max}$ 显著缩短,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

笔者查阅相关文献后发现,测定依鲁替尼在大鼠血浆中浓度的方法已有相关报道<sup>[9-10]</sup>,但尚未见其在比格犬体内药动学研究的相关文献。本研究参考上述报道,对血浆处理方法进行了改进,最终选择了操作简便、重复性较好的直接蛋白沉淀法。在沉淀试剂的筛选过程中,笔者发现甲醇的提取回收率最为稳定,且处理后内源性杂质的干扰较小,故最终选择甲醇作为蛋白沉淀试剂。同时,本研究采用乙腈-水(含0.5%三乙胺,用冰醋酸调节pH至3.2)作为流动相,并通过预试验将其等度洗脱的比例确定为45:55(V/V)。方法学考察结果显示,依鲁替尼和内标可基线分离,且两者色谱峰的峰形均较好;依鲁替尼检测血药浓度的线性范围为5~5000 ng/mL,批间、批内RSD均小于10%,稳定性良好,其提取回收率稳定(RSD<5%),表明本研究建立的HPLC法可用于比格犬体内依鲁替尼血药浓度的测定。

磷脂复合物是指在合适溶剂中将药物和磷脂按一定化学计量比混合而成的复合物,可显著提高药物的水

溶性,并改善其稳定性和透膜性,从而提高药物的生物利用度<sup>[11]</sup>。依鲁替尼在pH 4.5~8.0的水中几乎不溶(溶解度仅为3  $\mu g/mL$ ),严重影响其在胃肠道中的吸收,故在临床治疗中必须使用大剂量才能保证药效的充分发挥<sup>[12]</sup>。但大剂量的使用可能会增加患者发生出血、高血压等多种毒副反应的风险<sup>[4]</sup>。将依鲁替尼制成磷脂复合物后,由于磷脂与生物膜的亲和性更高,可“带领”药物顺利穿过胃肠道而被吸收入血,因此显著增加了依鲁替尼的口服吸收程度<sup>[13]</sup>。药动学研究结果显示,在分别灌胃依鲁替尼混悬液和依鲁替尼磷脂复合物后,药物在比格犬体内的药动学行为发生了明显变化。其中,依鲁替尼磷脂复合物的吸收速度更快,体内血药浓度在给药后约0.25 h即达到了峰值,且其 $c_{max}$ 、 $AUC_{0-12h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 均显著高于依鲁替尼混悬液组, $t_{max}$ 显著短于依鲁替尼混悬液组, $F$ 为207.99%。这提示将依鲁替尼制备成磷脂复合物可加快药物在体内的吸收,并提高其生物利用度。但本研究仅选用了6只比格犬,样本量偏小,且药动学指标有限,后续研究将进一步扩大样本量以减小个体差异,并深入研究依鲁替尼磷脂复合物在比格犬体内的代谢过程。

综上所述,本研究建立的HPLC法操作简便、专属性强、灵敏度高,可用于比格犬血浆中依鲁替尼质量浓度的测定和药动学的研究。将依鲁替尼制成磷脂复合物后,其药动学参数变化明显,药物吸收明显加快,生物利用度明显提高。

### 参考文献

- [1] DAVIDS MS, BROWN JR. Ibrutinib: a first in class covalent inhibitor of Bruton's tyrosine kinase[J]. *Future Oncol*, 2014, 10(6):957-967.
- [2] HONIGBERG LA, LEVY R. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(29):13075-13080.
- [3] JERKEMAN M, HALLEK M, DREYLING M, et al. Targeting of B-cell receptor signalling in B-cell malignancies[J]. *J Intern Med*, 2017, 282(5):415-428.
- [4] 郑小娟,王婧斯,龚莉,等.依鲁替尼:一种新型布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂[J]. *药物评价研究*, 2014, 37(4):381-384.
- [5] 孟令玮,王玉丽,高春生,等.基于药物-磷脂复合物的纳米释药系统研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(1):40-46.
- [6] LIU Z, WANG J, GAO W, et al. Formulation and in vitro absorption analysis of *Rhizoma paridis* steroidal saponins[J]. *Int J Pharm*, 2013, 441(1/2):680-686.
- [7] MARYANA W, RACHMAWATI H, MUDHAKIR D. Formation of phytosome containing silymarin using thin layer-hydration technique aimed for oral delivery[J]. *Mater Today*, 2016, 3(3):855-866.

# 款冬花配方颗粒的质量标准研究<sup>Δ</sup>

许洪波<sup>1\*</sup>, 蔡兴航<sup>1#</sup>, 毛晶晶<sup>2</sup>, 杨康<sup>3</sup>, 许怀礼<sup>1</sup>(1. 陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西咸阳 712083; 2. 杨凌科森生物制药有限责任公司, 西安 712100; 3. 西安市中医医院药剂科, 西安 710021)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)14-1898-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.14.06

**摘要** 目的: 为建立款冬花配方颗粒的质量标准提供参考。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对款冬花配方颗粒进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定款冬花配方颗粒中款冬酮的含量, 色谱柱为 Thermo ODS Hypersil C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-水(85:15, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 220 nm, 柱温为 25 °C, 进样量为 20 μL。结果: 款冬酮 TLC 图斑点清晰、分离度良好, 阴性对照对测定无干扰。款冬酮检测质量浓度的线性范围为 1.39~27.75 μg/mL( $r=0.999\ 9$ ); 定量限、检测限分别为 0.153 87、0.051 42 μg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%; 加样回收率为 97.12%~103.96% (RSD=2.60%,  $n=6$ )。结论: 该方法操作简单、准确、重复性好, 可用于款冬花配方颗粒的质量控制。

**关键词** 款冬花配方颗粒; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 款冬酮

## Study on Quality Standard for *Tussilago farfara* Formula Granules

XU Hongbo<sup>1</sup>, CAI Xinghang<sup>1</sup>, MAO Jingjing<sup>2</sup>, YANG Kang<sup>3</sup>, XU Huaili<sup>1</sup> (1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of TCM Resources Industrialization, Shaanxi University of TCM, Shaanxi Xianyang 712083, China; 2. Yangling Charisma Bio-Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 712100; 3. Dept. of Pharmacy, Xi'an Traditional Chinese Medicine Hospital, Xi'an 710021, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To provide reference for the establishment of quality standard of *Tussilago farfara* formula granules. METHODS: TLC method was used for qualitative identification of tussilagone in *T. farfara* formula granules. The content of tussilagone in *T. farfara* formula granule was determined by HPLC. The determination was performed on a Thermo ODS Hypersil C<sub>18</sub> column with the mobile phase consisted of methanol-water (85:15, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 220 nm, the column temperature was 25 °C. Sample size was 20 μL. RESULTS: TLC spots of tussilagone were clear and well-separated, without interference from negative control. The linear range of tussilagone was 1.39-27.75 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ). The limits of quantification and detection were 0.153 87 and 0.051 42 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%. The recoveries were 97.12%-103.96% (RSD=2.60%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and suitable for quality control of *T. farfara* formula granules.

**KEYWORDS** *Tussilago farfara* formula granules; Quality standard; TLC; HPLC; Tussilagone

[8] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1861.

[9] VEERARAGHAVAN S, VISWANADHA S, THAPPALI S, et al. Simultaneous quantification of lenalidomide, ibrutinib and its active metabolite PCI-45227 in rat plasma by LC-MS/MS: application to a pharmacokinetic study[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.11.041.

[10] ROOD JJM, VAN HOPPE S, SCHINKEL AH, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81603284); 陕西省教育厅科学研究计划项目(No.18JK0222)

\* 讲师, 博士。研究方向: 中药药效物质与中药质量控制。电话: 029-38182203。E-mail: xhb2005@sntcm.edu.cn

# 通信作者: 讲师, 硕士。研究方向: 中药制备工艺。电话: 029-38182204。E-mail: cai0101001@126.com

the simultaneous determination of the irreversible BTK inhibitor ibrutinib and its dihydrodiol-metabolite in plasma and its application in mouse pharmacokinetic studies[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016. DOI: 10.1016/j.jpba.2015.10.033.

[11] 林密真, 张美敬, 房盛楠, 等. 磷脂复合物技术与制剂新技术在中药中联合应用的研究进展[J]. *中国药房*, 2016, 27(34): 4864-4867.

[12] 王彦明, 钟武, 周辛波. 口服布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂: 依鲁替尼[J]. *临床药物治疗杂志*, 2015, 13(4): 21-24.

[13] BEG S, RAZA K, KUMAR R, et al. Improved intestinal lymphatic drug targeting via phospholipid complex-loaded nanoliposomes of rosuvastatin calcium[J]. *RSC Adv*, 2016. DOI: 10.1039/C5RA24278A.

(收稿日期: 2018-11-15 修回日期: 2019-05-05)

(编辑: 张元媛)