



水飞蓟素磷脂复合物微孔渗透泵控释片比格犬体内药动学及体内外相关性研究

曾棋平, 杨丽娜, 刘建清, 宋洪涛

In vivo pharmacokinetics and *in vitro-in vivo* correlation of silymarin phospholipid complex microporous osmotic pump controlled-release tablets in beagle dogs

ZENG Qiping, YANG Lina, LIU Jianqing, SONG Hongtao

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202206052>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于体外溶出度与体内生物利用度的西罗莫司增溶技术研究

Study on sirolimus solubilization technology based on in vitro dissolution and in vivo bioavailability

药学实践与服务. 2020, 38(5): 441-446, 457 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.201910022

尼莫地平微粉化物双层渗透泵控释片的制备

Preparation of micronized nimodipine push-pull osmotic pump tablets

药学实践与服务. 2017, 35(1): 31-35 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.01.008

梗阻性黄疸对患者体内右美托咪定药动学的影响

Effect of obstructive jaundice on pharmacokinetics of dexmedetomidine in vivo

药学实践与服务. 2021, 39(1): 73-76 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202003085

红景天苷在比格犬体内绝对生物利用度研究

Absolute bioavailability of salidroside in Beagle dog

药学实践与服务. 2021, 39(1): 62-67, 96 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202012001

疏水改性白及多糖自组装紫杉醇纳米粒子在大鼠体内药动学研究

Pharmacokinetics of paclitaxel loaded nanoparticles made with hydrophobically modified *Rhizoma Bletillae* polysaccharide in rats

药学实践与服务. 2017, 35(6): 504-507 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.006

帕唑帕尼在大鼠体内药动学研究

Study on pharmacokinetics of pazopanib in rats

药学实践与服务. 2017, 35(4): 346-349 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.014



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

水飞蓟素磷脂复合物微孔渗透泵控释片比格犬体内药动学及体内外相关性研究

曾棋平¹, 杨丽娜², 刘建清³, 宋洪涛⁴ (1. 福建医科大学附属漳州市医院药学部, 福建 漳州 363000; 2. 联勤保障部队第九〇九医院药剂科, 福建 漳州 363000; 3. 泉州医学高等专科学校, 福建 泉州 362000; 4. 联勤保障部队第九〇〇医院药剂科, 福建 福州 350025)

[摘要] 目的 评价水飞蓟素磷脂复合物微孔渗透泵(SM-PC MPOP)控释片的体外释药特性、比格犬体内药动学及其体内外相关性。方法 释放介质为 pH7.5 的磷酸盐缓冲液(添加 0.5% 十二烷基硫酸钠), 以高效液相色谱法(HPLC)检测 SM-PC MPOP 的体外释放特征。用 6 只比格犬进行双周期交叉对照实验, 按照 30 mg/kg 的剂量给药。HPLC 法测定比格犬血浆内水飞蓟素的主要成分水飞蓟宾的质量浓度, 应用药动学软件进行数据分析。结果 SM-PC MPOP 在 12 h 累积释放度超过 85%。药动学研究情况表明, 受试制剂(SM-PC MPOP)和参比制剂(市售水飞蓟素胶囊)在比格犬体内的主要药动学参数: T_{max} 分别为(3.2±0.4)、(0.9±0.1)h, C_{max} 分别为(0.298 6±0.068 9)、(0.629 9±0.076 5) μg/ml, AUC_{0-24} 分别为(2.996 8±0.583 3)、(2.268 9±0.432 8) h·μg/ml, SM-PC-MPOP 对市售水飞蓟素胶囊的相对生物利用度为(162.21±30.82)%。结论 自制的 SM-PC MPOP 实现了缓慢释药且增加生物利用度的目标, 其体内吸收与体外释药具备相对较好的关联性($r=0.839 0$)。

[关键词] 水飞蓟素; 磷脂复合物; 微孔渗透泵控释片; 药动学; 体内外相关性; 高效液相色谱法; 生物利用度

[文章编号] 2097-2024(2023)12-0741-06

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202206052

In vivo pharmacokinetics and *in vitro-in vivo* correlation of silymarin phospholipid complex microporous osmotic pump controlled-release tablets in beagle dogs

ZENG Qiping¹, YANG Lina², LIU Jianqing³, SONG Hongtao⁴ (1. Department of Pharmacy, Zhangzhou Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Zhangzhou 363000, China; 2. Department of Pharmacy, No.909 Hospital of Joint Logistic Support Force, Zhangzhou 363000, China; 3. School of pharmacy, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362000, China; 4. Department of Pharmacy, No.900 Hospital of Joint Logistic Support Force, Fuzhou 350025, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the release characteristics *in vitro*, pharmacokinetics in rabbits and *in vivo-in vitro* correlation of silymarin phospholipid complex microporous osmotic pump controlled release tablets(SM-PC MPOP). **Methods** The release characteristics of SM-PC MPOP *in vitro* were detected by HPLC in the artificial gastric fluid. Six beagle dogs were subjected to double cycle cross control, which were given SM-PC MPOP and Legalon(30 mg/kg). The concentration of silybin in plasma was determined by HPLC and the data were processed by software. **Results** The cumulative release rate of SM-PC MPOP *in vitro* was over 85% in 12 h. The pharmacokinetics in beagle dogs showed that SM-PC MPOP and legalon conformed to double compartment first-order absorption model and the pharmacokinetic parameters were obtained: t_{max} : (3.2±0.4) and (0.9±0.1) h, C_{max} : (0.298 6±0.068 9) and (0.629 9±0.076 5) μg/ml, AUC_{0-24} : (2.996 8±0.583 3) and (2.268 9±0.432 8) h·μg/ml. The relative bioavailability of SM-PC MPOP was (162.21 ± 30.82)%. **Conclusion** SM-PC MPOP could release slowly, which could increase the relative bioavailability significantly. The correlation between the absorption *in vivo* and release *in vitro* was fine ($r = 0.839 0$).

[Key words] silymarin; phospholipid complex; microporous osmotic pump controlled release tablets; pharmacokinetics; *in vivo-in vitro* correlation; HPLC; bioavailability

水飞蓟素(SM)是从菊科植物水飞蓟 *Silybum*

marianum (L.) Gaertn. 的果实中提取得到的一类天然的黄酮木脂素类成分, 主要包含水溶性成分和脂溶性成分两大部分。其中, 水溶性成分为二氢槲皮素, 也称花旗松素(TF); 脂溶性成分有水飞蓟宁(SD)、水飞蓟亭(SC)、水飞蓟宾(SB)和异水飞蓟宾(ISB)四种, 水飞蓟宾和异水飞蓟宾为同分异构体且水飞蓟宾的含量较高, 通常以水飞蓟宾对水飞

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073064); 福建省自然科学基金(2015J01491)

[作者简介] 曾棋平, 药师, 研究方向: 医院药学, Email: 850705020@qq.com

[通信作者] 宋洪涛, 主任药师, 研究方向: 医院药学, Email: sohoto@vip.163.com

蓟素进行质量控制^[1-3]。现代药理学研究表明,水飞蓟素具有多种药理活性,除保护肝脏的功能之外^[4],其对肿瘤、糖尿病、阿尔茨海默病等也有较好的疗效^[5-7],是一种至关重要的药用原料。然而,水飞蓟素水溶性差导致其口服生物利用度很低,很大程度影响了其临床应用价值^[8]。

微孔渗透泵(MPOP)近年来受到越来越多学者的关注。与传统渗透泵片相比,其省去了激光(或者机械)打孔的步骤,通过添加水溶性致孔辅料使得药物可以通过膜上的若干微孔释放出来,从而有效弥补了传统渗透泵工艺复杂的缺陷^[9-10]。本研究前期以难溶性药物水飞蓟素为模型药物,通过磷脂复合物(PC)技术提高了水飞蓟素的溶出度,并进一步制备成水飞蓟素微孔渗透泵片(SM-PC MPOP),最终达到缓慢释药且提高生物利用度的目的。同时,以市售水飞蓟素胶囊为参比,对自制 SM-PC MPOP 体内的过程进行初步的探索,进而评价该制剂体外释放与体内吸收的相关性,为利用体外释放试验控制 SM-PC MPOP 的质量提供依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥机(上海一恒科技有限公司);Agilent 1200 型高效液相色谱仪(配备二极管阵列检测器,美国 Agilent 公司);RCZ-6BZ 型药物溶出仪(上海黄海药检仪器有限公司);AL204 型分析天平(Mettler Toledo 仪器有限公司);Vortex-5 型涡旋混合机(海门市 Kylin-Bell 有限公司);QB-212 型摇摆式混匀器(海门市 Kylin-Bell 有限公司);LD5-2A 型离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 试剂

SM-PC MPOP 片(自制,含 SM 30mg,批号:131205);聚氧乙烯(阿拉丁试剂有限公司);氯化钠、醋酸纤维素、十二烷基硫酸钠(国药集团化学试剂有限公司);水飞蓟素胶囊(Legalon[®], Madaus AG,规格:以 SB 计相当于 SM140 mg);水飞蓟宾对照品(纯度:98.0%,上海同田生物技术股份有限公司,批号:120115);甲萘酚(国药集团化学试剂有限公司); β -葡萄糖醛酸酶(美国 sigma 公司);甲基叔丁基醚(色谱纯,上海阿拉丁试剂公司);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

健康成年比格犬,体质量(12 \pm 3) kg,购于四川省简阳市简城比尔动物养殖场,合格证号:

SCXK(川)2009-15。

2 方法和结果

2.1 SM-PC MPOP 的制备

称取处方量的 SM-PC(其制备工艺另文发表)、氯化钠、聚氧乙烯,等量递加法混合均匀,采用 12 mm 冲模直接压片(每片含 SM 30 mg,硬度为 40 N),即得微孔渗透泵的片芯。将醋酸纤维素、聚氧乙烯溶于丙酮-异丙醇(90:10)中,即得包衣溶液。将片芯置于包衣锅内,温度为 45 $^{\circ}$ C,恒流泵流速 3.0 r/min,压力 0.5 MPa 条件下进行包衣操作,直至衣膜达到预定要求为止。所得制剂在 40 $^{\circ}$ C 条件下干燥 12 h,即得 SM-PC MPOP 片。

2.2 体外释放度测定

采用《中华人民共和国药典》溶出度测定法规定的浆法进行测定^[11],以 pH7.5 的磷酸盐缓冲液 900 ml 为释放介质(添加 0.5% 十二烷基硫酸钠),温度(37 \pm 0.5) $^{\circ}$ C,转速为 100 r/min。于 1、2、4、6、8、10 和 12 h 各取出样品 10 ml,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,及时补充等温度等体积的溶出介质 10 ml。取续滤液进 HPLC 分析。另取 SB 对照品适量,精密称定,置于量瓶中,适量甲醇溶解并稀释至刻度,同法测定,计算不同时间内 SM 的主要成分 SB 的累积释放度,绘制释放曲线。

2.3 比格犬血浆中 SB 浓度分析方法的建立

2.3.1 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),检测波长为 288 nm,流速为 1 ml/min,柱温 40 $^{\circ}$ C,进样量为 20 μ l,流动相为甲醇-0.05% 磷酸的梯度洗脱(0~4 min, 35% A; 4~16 min, 35% A \rightarrow 40% A; 16~23 min, 40% A \rightarrow 45% A; 23~40 min, 45% A \rightarrow 50% A)。

2.3.2 溶液的配制

SB 系列对照品溶液的制备:取 SB 对照品约 10 mg,精密称定,置于 25 ml 量瓶中,加入适量的甲醇溶剂,轻微振摇使溶解,再添加一定量的甲醇稀释至刻度,配制得到浓度为 464.0 μ g/ml 的 SB 对照品母液。用移液管精密移取该对照品母液 0.25、0.5 ml 于 100 ml 量瓶中;0.25、0.5、1、2 和 5 ml 分别置于 10 ml 量瓶中,加 65% 甲醇溶液稀释至刻度,配成浓度依次为 1.160、2.320、11.60、23.20、46.40、92.80 和 232.0 μ g/ml 的系列标准液,贮存备用。

甲萘酚内标溶液的制备:取甲萘酚约 100 mg,精密称定,置于 100 ml 量瓶中,加一定量甲醇溶

液,轻微振摇使溶解,再加适量的甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取摇匀后的溶液 5 ml 于 100 ml 量瓶中,加 65% 甲醇稀释至刻度,制备得到浓度为 54.80 $\mu\text{g/ml}$ 的内标液,贮存备用。

2.3.3 血浆样品的处理方法

使用一次性采血针采集比格犬前肢的血液 3.0 ml,置于真空采血管(添加肝素钠)中,用离心机在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min,取上层淡黄色液体,得到血浆样品。用移液枪精密吸取血浆(空白血浆或含药血浆)1.0 ml 于 10 ml 具塞塑料离心管中,加入 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 5.0)0.5 ml,用涡旋混合机混合均匀,再添加 β -葡萄糖醛酸酶(酶活性相当于 50 U)50 μl ,涡旋混合 30 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育约 16 h,孵育结束后,添加内标液 50 μl ,

混匀后加入 pH 8.5 的硼酸盐缓冲液 2.0 ml,继续涡旋混合 30 s,再添加甲基叔丁基醚 4.0 ml,涡旋混合 2 min 使溶液均匀,最后置于 3 000 r/min 的离心机中离心 10 min,分离得到上清液。将上清液置于 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴下用氮气挥干,残渣用 65% 甲醇溶液 100 μl 复溶,涡旋混合 1 min,精密吸取上清液 20 μl 进样。

2.3.4 专属性考察

按照“2.3.1”项下色谱条件和“2.3.3”项下血浆样品处理方法处理和检测空白血浆、加药血浆和服药后血浆样品,记录色谱图,考察血浆内源性物质对内标、SB 及其异构体的检测是否有干扰,结果见图 1。

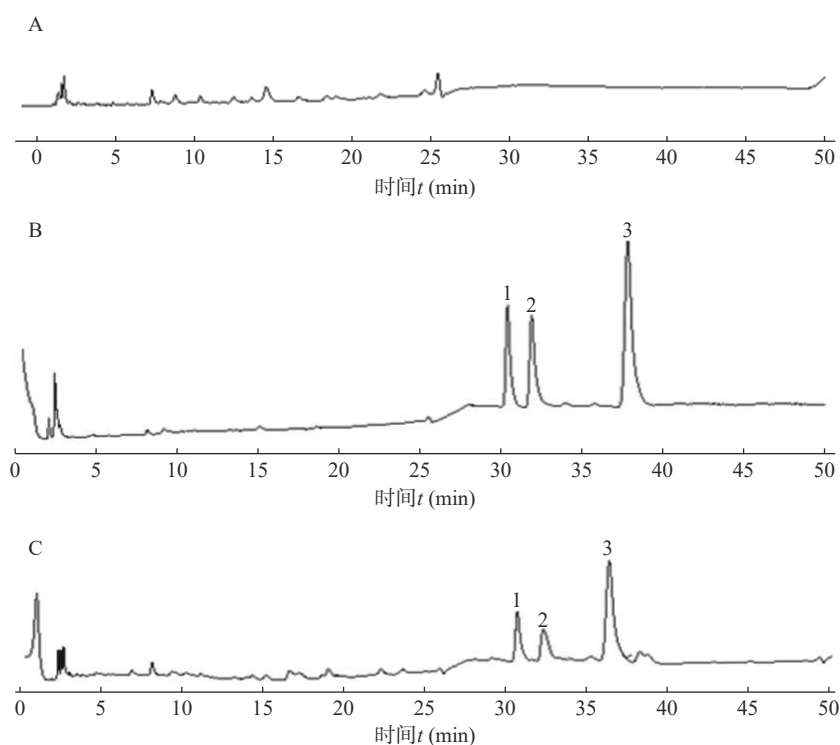


图 1 水飞蓟素血浆高效液相色谱图

A.空白血浆; B.空白血浆+SB+内标; C.血浆样品; 1,2. SB; 3.内标(甲萘酚)

由图 1 可见,SB、甲萘酚与血浆中的内源性物质分离良好,SB 两个峰的保留时间分别为 30.8 min 和 32.3 min,内标的保留时间为 37.1 min。

2.3.5 线性关系考察

精密吸取空白血浆 1.0 ml,置于 10 ml 带塞圆底离心管,按“2.3.2”项下加入 SB 系列标准液 50 μl ,配制成浓度为 0.060、0.120、0.580、1.160、2.320、4.640 和 11.60 $\mu\text{g/ml}$ 的血浆样品,按“2.3.3”项下方法处理,以 SB 的峰面积与内标甲萘酚峰面积的比值 A_s/A_{is} 对 SB 的浓度 $C(\mu\text{g/ml})$ 进行线性回归,用

加权最小二乘法(权重为 $1/C$)进行计算,得标准曲线方程: $Y=0.680\ 7X+0.093\ 9(r=0.998\ 0)$,可见,在 0.06 ~ 11.6 $\mu\text{g/ml}$ 的浓度范围内呈现良好的线性关系。

2.3.6 定量限

取空白血浆加入逐级稀释的 SB 标准溶液,按照信噪比为 10 的标准确定血浆样品中 SB 的最低定量限为 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.3.7 精密度和准确度试验

取低、中、高 3 个浓度(0.060、1.160、4.640 $\mu\text{g/ml}$)

的血浆样品,按“2.3.3”项下方法处理,根据线性方程计算样品的浓度。于1天内连续测定5次,连续5天重复测定,计算日内、日间精密度和准确度,结果见表1。结果日内、日间精密度以及准确度均符合相关规定。

表1 血浆样品中SB的精密度和准确度试验结果 (n=5)

ρ_B ($\mu\text{g/ml}$)	日内试验			日间试验		
	$\bar{x}\pm s$ ($\mu\text{g/ml}$)	RSD (%)	准确度 (%)	$\bar{x}\pm s$ ($\mu\text{g/ml}$)	RSD (%)	准确度 (%)
0.060	0.060 \pm 0.006	12.56	88.3	0.051 8 \pm 0.004	8.12	86.3
1.160	1.072 \pm 0.084	7.84	92.4	1.084 \pm 0.077	7.07	93.4
4.640	4.240 \pm 0.252	5.95	91.4	4.368 \pm 0.028 8	6.60	94.1

2.3.8 稳定性考察

取SB血浆样品(浓度为1.16 $\mu\text{g/ml}$),分别进行以下研究:(1)冻融考察:样品放置在冰箱中,冰冻温度为 $-80\text{ }^\circ\text{C}$,解冻温度为 $25\text{ }^\circ\text{C}$,反复冻融3次,进行稳定性考察。(2)长期冷冻考察:将SB血浆样品于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中放置1个月后进行稳定性考察。(3)血浆样品处理后24h的稳定性考察:将血浆样品按“2.3.3”项下方法进行前处理,室温下保存24h,按“2.3.1”项下条件进行测定,把测定的峰面积代入当天的标准曲线,计算回收率。结果表明,在3种稳定性考察中,SB的回收率 $>90.8\%$, $\text{RSD}<9.5\%$ ($n=3$),表明血浆样品反复3次冻融后稳定性良好;血浆样品在 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中至少可以保存1个月;血浆样品处理后可在室温下保存24h。因此,SB在比格犬血浆中的稳定性符合生物样品的检测要求。

2.3.9 提取回收率

取SB低、中、高3个浓度(0.06、1.16、4.64 $\mu\text{g/ml}$)的血浆样品,按“2.3.3”项下方法处理,进样测定SB与内标峰面积的比值 A_1 ,另取配制好的相应浓度的SB和内标溶液,取20 μl 进样,得SB与内标峰面积比值 A_2 ,按照公式:提取回收率(%)=(A_1/A_2) \times 100%计算SB在低、中、高三个浓度的提取回收率为(68.59 \pm 8.37)%、(73.58 \pm 5.62)%、(70.26 \pm 4.15)%,同法测得内标甲萘酚的提取回收率为(81.8 \pm 3.51)%。

2.4 药动学试验和结果

2.4.1 给药剂量的确定

参考文献[12]并结合预实验,确定试验动物的给药剂量为水飞蓟素30 mg/kg。

2.4.2 给药方案的设计

采用双周期两制剂的双交叉实验设计,即将6只健康比格犬按体质量随机分成两组,交叉给予

受试制剂(SM-PC MPOP)和参比制剂(市售水飞蓟素胶囊),洗脱期为1周。比格犬喂药前应先禁食12h,空腹抽取空白血5ml,按照“2.4.1”项下确定的剂量分别给予比格犬SM-PC MPOP及市售水飞蓟素胶囊,给药4h以后进食低脂肪食物,在比格犬前肢小静脉处安置留置针,受试制剂组分别于0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、24h采血3ml,参比制剂组分别于第0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12h各采血3ml。因受试制剂为缓释制剂,故在前1h内采样点相较参比制剂(普通胶囊)密集。完成采样后间隔1周,1周后交叉给药,同时同点采血。血样置于用肝素抗凝的真空采血管中,立即于3500 r/min的条件下离心取血浆,于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,待测。

2.4.3 血药浓度测定结果

受试制剂和参比制剂的血药浓度-时间曲线见图2。

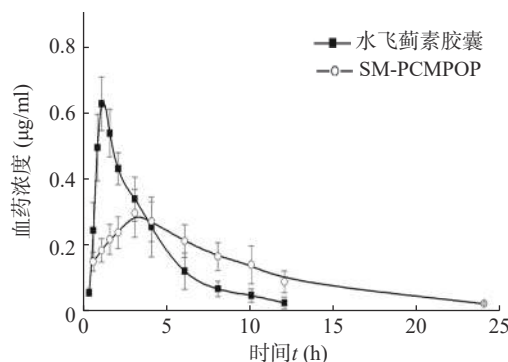


图2 市售水飞蓟素胶囊与SM-PC MPOP的平均血药浓度-时间曲线 (n=6)

2.4.4 非房室模型药动学参数

将受试制剂和参比制剂对应采血时间的血药浓度数据进行处理,计算非房室模型药动学参数,结果见表2。

表2 非房室模型主要药动学参数 (n=6)

药动学参数	单位	受试制剂	参比制剂
T_{max}	h	3.2 \pm 0.4	0.9 \pm 0.1
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	0.298 6 \pm 0.068 9	0.629 9 \pm 0.076 5
k_e	h	0.119 4 \pm 0.017 6	0.274 2 \pm 0.100 5
$t_{1/2}$	h	5.81 \pm 0.96	2.39 \pm 0.64
MRT	h	3.469 4 \pm 0.075 8	7.485 7 \pm 0.082 4
$\text{AUC}_{0\rightarrow 24}$	h $\cdot\mu\text{g/ml}$	2.997 0 \pm 0.583 3	2.269 0 \pm 0.432 8
$\text{AUC}_{0\rightarrow \infty}$	h $\cdot\mu\text{g/ml}$	3.202 0 \pm 0.591 4	2.367 0 \pm 0.548 5

2.4.5 相对生物利用度

以非房室模型的数据计算SM-PC MPOP对市

售水飞蓟素胶囊的相对生物利用度,可用下面的公式来计算:

$$F_r = \frac{(AUC_{0 \rightarrow T})_T}{(AUC_{0 \rightarrow T})_R} \times 100\%$$

虽受试制剂和参比制剂在剂量方面有所不同,但受试制剂具备线性药动学特征,故对计算结果进行剂量校正,计算得到 $F_r = (162.21 \pm 30.82)\%$ 。

2.5 体内外相关性评价

反卷积法(convolution)是FDA推荐的缓控释制剂评价体内外相关性的经典方法,其不需要进行房室模型拟合,直接用数学方法以真实的实验数据计算体内吸收分数。方程的实用形式如下:

$$C(t_i) = \sum_{k=1}^i R_k \cdot AUC_{t_i - t_k}^{i-k-1}$$

由该方程可以解出:

$$\begin{aligned} R_1 &= C(t_1)/AUC_0^{t_1} \\ R_2 &= [C(t_2) - R_1 AUC_{t_2 - t_1}^{t_2 - t_1}]/AUC_0^{t_2 - t_1} \\ R_3 &= [C(t_3) - R_1 AUC_{t_3 - t_1}^{t_3 - t_1} - R_2 AUC_{t_3 - t_2}^{t_3 - t_2}]/AUC_0^{t_3 - t_2} \\ R_i &= [C(t_i) - R_1 AUC_{t_i - t_1}^{t_i - t_1} - R_2 AUC_{t_i - t_2}^{t_i - t_2} - R_{i-1} \\ &AUC_{t_i - t_{i-1}}^{t_i - t_{i-1}}]/AUC_0^{t_i - t_{i-1}} \end{aligned}$$

以市售水飞蓟素胶囊为参比,根据体内药动学试验结果计算出市售水飞蓟素胶囊的药-时曲线下面积及自制 SM-PC MPOP 各时间点的药物浓度,代入方程求出输入函数 $R(\theta)$ 。以 $R(\theta)$ 对相应时间点的累积释放百分率进行线性回归,直线的相关系数大于临界值表示体外释放与体内吸收相关性良好,结果见表3。

表3 反卷积分参数

参数	时间(t/h)					
	2	4	6	8	10	12
SM-PC MPOP 释放度(%)	15.92	32.43	47.12	60.68	74.62	85.56
水飞蓟素胶囊分段AUC(h·μg/ml)	0.815 8	0.687 2	0.38	0.192	0.118	0.076
输入函数R(θ)	0.294 3	0.087 2	0.051 7	0.051 7	0.043 7	0.002 1

以累积释放百分率 Y 与输入函数 R 建立的回归方程为 $Y = -210.008 3R + 71.301 7 (r = 0.839 0)$, 当自由度 $d_f = n - 2 = 4$ 时, 临界值 $r_{4, 0.05} = 0.811$, 回归方程的相关系数 $r > r_{4, 0.05}$, 表明 SM-PC MPOP 的体外释放与体内吸收具有较好的相关性, 即体外释放介质采用 pH7.5 的磷酸盐缓冲液(含 0.5% 十二烷基硫酸钠)是可行的。

3 讨论

由于 SM 各组分中只有 SB 含量较高, 其余成分含量均较低, 采用 HPLC 法仅能测得主要成分 SB 的血药浓度。液质联用技术在近年来发展迅猛, 不仅分离性能好, 而且灵敏度高^[13]。后续可借助超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用技术(UPLC-MS/MS)同时检测 SM 的 5 种成分在比格犬血浆中的含量, 更能科学地反映 SM-PC MPOP 各成分的体内吸收情况。

难溶性药物在血浆样品中多采用乙醚、甲基叔丁基醚、乙酸乙酯等进行萃取。试验中对这 3 种溶剂进行了考察, 发现采用乙酸乙酯萃取时回收率较低, 乙醚和甲基叔丁基醚无显著差异, 但后者沸点比乙醚高, 且在实际提取操作过程中溶剂挥发较少, 安全性相对较高, 因此选择甲基叔丁基醚作为

萃取溶剂。

SB 口服吸收以后, 大部分在肝微粒体中经葡萄糖醛酸化结合形成苷, 游离型含量较低, 故加入 β -葡萄糖醛酸酶水解苷键后测定血药浓度^[14-15]。孵化前加入 pH5.0 的磷酸缓冲盐溶液调整血浆样品的 pH 以保证 β -葡萄糖醛酸酶的活性, 水解后再加入 pH8.5 硼酸盐缓冲液, 使 SB 更多的以分子的形式存在, 增加其脂溶性, 再使用有机溶剂甲基叔丁基醚提取药物。其中, β -葡萄糖醛酸酶的加入量对测定结果准确性的影响至关重要, 加入过少则难以水解完全, 而加入过多会使具有紫外吸收的内源性物质被提取出来, 增加干扰。

市售水飞蓟素胶囊(Legalon[®])是一种高品质的水飞蓟素制剂, 其采用特殊的工艺提取后, 水飞蓟素纯度提高, 水溶性增加^[16], 具有高含量、高纯度和高体外溶出度等特点。而自制的 SM-PC MPOP 则是基于卵磷脂复合技术, 使得药物脂溶性增加, 适宜的脂水分配系数使得药物更容易被胃肠道黏膜吸收, 从而提高了生物利用度, 两者在制剂技术方面的区别造成生物利用度有所差异。在本研究中, 药动学研究结果显示自制的 SM-PC MPOP 峰浓度降低, 实现了 SM 的成分缓慢释放的目标, 且生物利用度高于市售水飞蓟素胶囊。

【参考文献】

- [1] THI T H, Nguyen, . Improving silymarin oral bioavailability using silica-installed redox nanoparticle to suppress inflammatory bowel disease[J]. *J Control Release*, 2021, 331: 515-524.
- [2] OMMATI M M, FARSHAD O, AZARPIRA N, et al. Silymarin mitigates bile duct obstruction-induced cholemic nephropathy[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2021, 394(6): 1301-1314.
- [3] ZENG Q P, LIU Z H, HUANG A W, et al. Preparation and characterization of silymarin synchronized-release microporous osmotic pump tablets[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 519-531.
- [4] MASTRON J K, SIVEEN K S, SETHI G, et al. Silymarin and hepatocellular carcinoma: a systematic, comprehensive, and critical review[J]. *Anticancer Drugs*, 2015, 26(5): 475-486.
- [5] KIM S H, CHOO G S, YOO E S, et al. Silymarin induces inhibition of growth and apoptosis through modulation of the MAPK signaling pathway in AGS human gastric cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(5): 1904-1914.
- [6] KUMAR J, PARK K C, AWASTHI A, et al. Silymarin extends lifespan and reduces proteotoxicity in *C. elegans* Alzheimer's model[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2015, 14(2): 295-302.
- [7] ATAIHIRE J U, NWANGWA E K, IGWEH J C. Modulations in anti-oxidant activities of selected gastro-intestinal tissues in alloxan-induced, silymarin treated diabetic wistar rats[J]. *OJ-Gas*, 2019, 9(5): 73-90.
- [8] TVRDÝ V, POUROVÁ J, JIRKOVSKÝ E, et al. Systematic review of pharmacokinetics and potential pharmacokinetic interactions of flavonolignans from silymarin[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(4): 2195-2246.
- [9] 袁晓炫, 要辉, 张欣, 等. 天麻素微孔渗透泵缓释片的制备及其药动学评价 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(17): 1742-1748.
- [10] 王玉华, 杨海燕, 郝海军. 环维黄杨星 D 包合物微孔渗透泵控释片的制备及处方优化 [J]. 中成药, 2020, 42(10): 2555-2560.
- [11] 国家药典委员会. 中国药典 2015 年版四部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 121-124.
- [12] ZHU H J, BRINDA B J, CHAVIN K D, et al. An assessment of pharmacokinetics and antioxidant activity of free silymarin flavonolignans in healthy volunteers: a dose escalation study[J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(9): 1679-1685.
- [13] 王迪, 俞佳, 詹固, 等. 液质联用技术在中药研究中的应用进展 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2): 68-71.
- [14] 李秉新, 王鑫, 刘有平, 等. 水飞蓟素非对映异构体在大鼠肝微粒体中葡萄糖醛酸化代谢的酶动力学比较研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(4): 289-294, 305.
- [15] 肖衍宇, 宋赞梅, 陈志鹏, 等. 水飞蓟素前体脂质体的制备和大鼠药代动力学研究 [J]. 药学学报, 2005, 40(8): 758-763.
- [16] 周旖璇, 张纯刚, 尹丽, 等. 水飞蓟素原料药、利加隆、水林佳大鼠体内药物动力学研究 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17(6): 11-15.

[收稿日期] 2022-06-13 [修回日期] 2022-08-31

[本文编辑] 崔俐俊