

斑蝥黄微胶囊在家兔体内的药代动力学

张莉华, 许新德*, 邵斌, 洪毅敏, 于建

(浙江医药股份有限公司新昌制药厂, 浙江 新昌 312500)

[摘要] 目的:研究斑蝥黄微胶囊在家兔体内的药代动力学。方法:家兔单剂量灌胃给予斑蝥黄微胶囊后,在不同时间点经后肢静脉采血,用LC-MS法测定血浆中斑蝥黄质量浓度。药代动力学参数运用DAS2.1软件处理。结果:家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后斑蝥黄浓度-时间曲线符合二室模型,主要药代动力学参数 $T_{max} = 300 \text{ min}$, $C_{max} = (75.761 \pm 0.739) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $t_{1/2z} = (527.408 \pm 208.401) \text{ min}$, $\text{AUC}_{(0-t)} = (23\,057.221 \pm 1\,582.299) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $V_{z/F} = (1\,569.453 \pm 258.575) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结论:家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后,斑蝥黄在体内消化吸收缓慢、体内分布广泛,说明斑蝥黄微胶囊具有稳定和缓释的特点。

[关键词] 斑蝥黄; 微胶囊; 药代动力学; 家兔

[中图分类号] R945; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)04-0098-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015040098

Pharmacokinetic of Microencapsulated Canthaxanthin in Rabbit ZHANG Li-hua, XU Xin-de*, SHAO Bin, HONG Yi-min, YU Jian (Zhejiang Medicine Co. Ltd., Xinchang Pharmaceutical Factory, Xinchang 312500, China)

[Abstract] **Objective:** To study the pharmacokinetic features of microencapsulated canthaxanthin in healthy rabbit. **Method:** Blood samples were collected from the hind limb vein at different time point after administration of a single dose of microencapsulated canthaxanthin. Plasma canthaxanthin concentration was determined by LC-MS. The main pharmacokinetic parameters were calculated by DAS2.1 program. **Result:** The concentration-time data of canthaxanthin fitted to a two-compartment model. The main pharmacokinetic parameters were as follows: $T_{max} = 300 \text{ min}$, $C_{max} = (75.761 \pm 0.739) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $t_{1/2z} = (527.408 \pm 208.401) \text{ min}$, $\text{AUC}_{(0-t)} = (23\,057.221 \pm 1\,582.299) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $V_{z/F} = (1\,569.453 \pm 258.575) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** The microencapsulated canthaxanthin is slowly absorbed, possesses large volume of distribution, and shows stable and sustained-release characteristics in body.

[Key words] canthaxanthin; microcapsule; pharmacokinetics; rabbit

斑蝥黄,又称角黄素,是一种含氧类胡萝卜素^[1],最初主要作为色素添加剂应用于水产和畜禽养殖动物饲料中^[2-7]。近年来,随着斑蝥黄生理功能和药理效能的不断研究,斑蝥黄在人类营养保健领域的应用潜力也初见端倪^[8]。斑蝥黄分子是由中央多聚烯链和位于两侧的芳香环组成,并且每个芳香环上各有1个酮基。由于含有长的共轭不饱和双键系统,斑蝥黄的性质不稳定,很容易受到光、热、氧化物的破坏,而且斑蝥黄不溶于水,生物利用度低,其应用一定程度上受到了限制。将斑蝥黄通过先进的微胶囊包埋技术制备成稳定性好、水分散型

微粒,不仅克服了其自身缺陷,还扩大了其应用范围。在国内仅有赵婷等^[9]论述了斑蝥黄质在雄性大鼠血清中的积累,但关于斑蝥黄微胶囊在体内随时间的变化尚未见报道。本研究以自制的斑蝥黄微胶囊为研究对象,建立了LC-MS分析方法,测定家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后斑蝥黄的血药浓度,并研究其在家兔体内的药代动力学参数,以期揭示斑蝥黄在家兔体内的变化规律,为其应用剂量起到参考作用,为新产品开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 10%斑蝥黄微胶囊(浙江医药

[收稿日期] 20140528(003)

[第一作者] 张莉华,硕士,工程师,从事健康食品配料研发与生产, Tel:0575-86015301, E-mail:zhlihua111@126.com

[通讯作者] *许新德,博士,高级工程师,从事健康食品配料研发与生产, Tel:0575-86045032, E-mail:xuxinde@xcpharma.com

股份有限公司新昌制药厂保健品实验中心,批号110405),角黄素对照品(浙江医药股份有限公司新昌制药厂保健品实验中心,批号110108),肝素钠(上海惠兴生化试剂有限公司,批号110120),乙腈、甲醇、丙酮均为色谱纯(英国Sigma公司)。

1.2 仪器 高效液相色谱-串联质谱(LC-MS)仪(e2695 高效液相色谱仪、Micromass-Quattro UltimaPt 质谱检测器,美国Waters),Mettler Toledo AX205型电子分析天平(梅特勒仪器有限公司),TGL-16G-A型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),XK 95-B型漩涡混合器(江苏省姜堰市康泰医疗器材厂),HSC-24A型氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司)。

1.3 动物 健康雄性新西兰家兔12只,体重(2.0 ± 0.1) kg,浙江省医学科学院实验动物中心提供。合格证号SCXK(浙)2008-0034。

1.4 色谱条件 Zorbax SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-甲醇(95:5),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温20℃,检测波长470 nm,进样量50 μL。

1.5 质谱条件 电离方式APCI+,质谱全扫描范围m/z 100~1 100,毛细管电压3.2 kV,锥孔电压20 V,萃取电压4.0 V,聚焦电压0.5 V,源温度110℃,脱溶剂温度250℃,脱溶剂气流速300 L·h⁻¹,锥孔反吹气流速50 L·h⁻¹。

1.6 给药方法和血样采集 家兔试验前禁食12 h,不限制饮水,灌胃前在后肢静脉插一次性静脉留置针以方便取血。按照30 mg·kg⁻¹(以斑蝥黄计)的剂量灌胃给予斑蝥黄微胶囊,分别于给予受试物前和给予受试物后0.5,1,1.5,2,2.5,4,5,6,8,12,24 h经后肢静脉取血1 mL,立即注入肝素化试管中,11 000 r·min⁻¹离心5 min后分离血浆,于-20℃保存待测。

1.7 血浆样品处理 血浆样品处理在暗室内进行。取血浆样品50 μL,加入100 μL丙酮,涡旋混合1 min,静止5 min,5 000 r·min⁻¹离心5 min,全取上清于40℃氮气吹干,残渣溶于100 μL流动相,过一次滤膜,进样50 μL进行LC-MS分析。

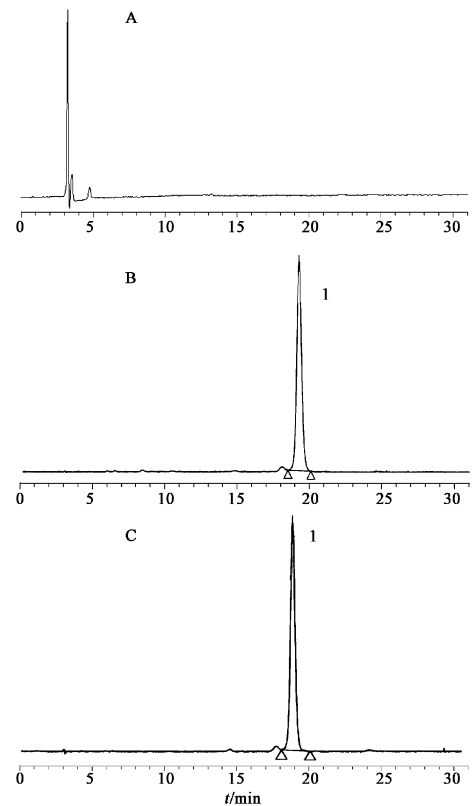
1.8 数据处理 所得的药时数据以DAS 2.1药代动力学软件处理,计算药代动力学参数。

2 结果

2.1 LC-MS方法学评价

2.1.1 方法的专属性 取空白血浆、空白血浆加入斑蝥黄对照品和血浆样品,按照1.7项下的方法处理样品,在上述1.4和1.5项所述的测定条件进样

分析,空白血浆、空白血浆加入斑蝥黄对照品和血浆样品色谱图,见图1。空白血浆加入斑蝥黄对照品和血浆样品质谱图,见图2。结果表明,空白血浆中的内源性物质不干扰斑蝥黄的测定,具有良好的专属性。在APCI+电离方式下,对照血浆样品和血浆样品的m/z都为565.2,说明血浆中提取的为斑蝥黄。

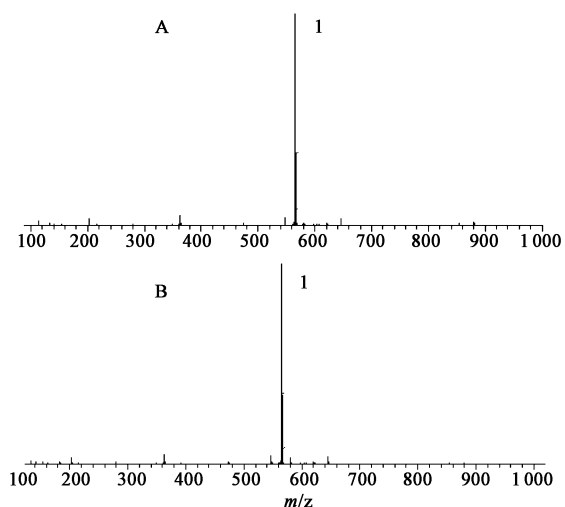


A. 空白血浆; B. 空白血浆加斑蝥黄对照品; C. 家兔血浆样品; 1. 斑蝥黄

图1 灌胃斑蝥黄胶囊大鼠血浆LC-MS

Fig.1 Rabbit plasma sample LC-MS chromatograms

2.1.2 线性范围和定量限 精密称取斑蝥黄对照品适量,用丙酮超声溶解并稀释成100 mg·L⁻¹的对照品储备液。取一定量空白血浆,加入斑蝥黄对照品储备液,依次配制成斑蝥黄质量浓度为8,10,25,75,250,500,1 000 μg·L⁻¹的系列对照品血浆样品,按1.7项下方法操作后进行分析,以待测物浓度为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为Y=99.56X-396.24,r=0.9994。根据标准曲线,斑蝥黄的线性范围为8~1 000 μg·L⁻¹。斑蝥黄血浆质量浓度为8 μg·L⁻¹的对照品血浆进行6样本分析,根据当日标准曲线计算每一样本测定浓度,求得该浓度下斑蝥黄的日内精密密度(RSD)为5.6%,准确度(RE)为4.2%。该结果表明,斑蝥



A. 空白血浆加斑蝥黄对照; B. 家兔血浆样品; 1. 斑蝥黄

图 2 灌胃斑蝥黄胶囊大鼠血浆 LC-MS

Fig. 2 Rabbit plasma sample LC-MS spectrums

黄的定量下限可达 $8 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.3 精密度和方法回收率 用空白血浆, 配制斑蝥黄低、中、高 3 个浓度 (血浆质量浓度分别为 25, 250, 900 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的质量控制 (QC) 样品, 每一浓度平行 5 份。按 1.7 项下方法操作后进样分析, 连续测定 3 d, 以当日的标准曲线计算 QC 样品的测得浓度。计算日内精密度和日间精密度和方法回收率, 试验结果见表 1。在本研究所测定的浓度范围内, 斑蝥黄的相对回收率均在 85% ~ 115%, 日内及日间精密度 (RSD) 均 < 10%, 说明所建立的方法准确、稳定, 可满足生物样品测定的要求。

表 1 斑蝥黄的精密度和回收率试验 ($n = 5$)

Table 1 Precision and recovery results for canthaxanthin QC samples ($n = 5$)

质量浓度 $/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	精密度 RSD/%		方法回收率 /%
	日内	日间	
25	3.8	6.9	103.86
250	1.8	4.1	99.63
900	1.1	2.5	101.83

表 3 兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Main pharmacokinetic parameters following rabbit administration of microencapsulated canthaxanthin ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

参数	测得值	参数	测得值
$\text{AUC}_{(0-24)} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$23\ 057.221 \pm 1\ 582.299$	$t_{1/2z} / \text{min}$	527.408 ± 208.401
$\text{AUC}_{(0-\infty)} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$40\ 995.472 \pm 2091.486$	$T_{\text{max}} / \text{min}$	300.000 ± 0.000
$\text{MRT}_{(0-24)} / \text{min}$	540.337 ± 15.326	$V_{z/F} / \text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1\ 569.453 \pm 258.575$
$\text{MRT}_{(0-\infty)} / \text{min}$	$1\ 875.533 \pm 215.974$	$C_{\text{max}} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	75.761 ± 0.739

2.1.4 样品稳定性 用空白血浆, 配制斑蝥黄低、中、高 3 个浓度 (血浆质量浓度分别为 25, 250, 900 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的斑蝥黄血浆质控样品, 每种浓度 3 份, 按 1.7 项下方法进行血样处理, 于日内室温放置 8 h 和日间冷藏存放 48 h 后, 取样测定斑蝥黄浓度, 考察其放置稳定性。如表 2 所示, 低、中、高浓度质控样品在设定的试验条件下, 相对回收率均在 85% ~ 115%, 且 RSD 均 < 10%, 说明斑蝥黄在以上条件下稳定性良好。

表 2 斑蝥黄样品稳定性考察 ($n = 3$)

Table 2 Stability results for canthaxanthin QC samples ($n = 3$)

质量浓度 $/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	室温放置 8 h/%		冰箱冷藏放置 48 h/%	
	准确度	RSD	准确度	RSD
25	92.69	4.2	98.08	3.8
250	95.77	1.2	96.19	1.4
900	97.48	1.1	98.62	0.9

2.2 家兔灌胃给样后的药代动力学 家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊 ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 以斑蝥黄计) 后的斑蝥黄浓度-时间曲线见图 3。将不同时间点的斑蝥黄浓度数据输入 DAS 2.1 药代动力学软件, 进行房室模拟, 并计算药代动力学参数。结果表明, 家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后, 斑蝥黄在体内的血药浓度-时间数据符合二室模型, 主要药动学参数见表 3。

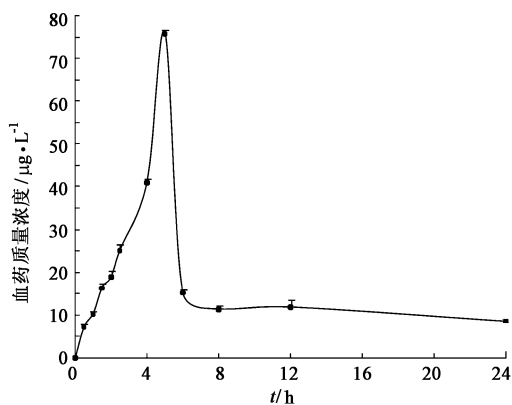


图 3 兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Plasma drug concentration versus time curve following rabbit administration of microencapsulated canthaxanthin ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3 讨论

分析方法有效性的评价结果表明,斑蝥黄质量浓度在 $8 \sim 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好线性关系;方法回收率 $> 95\%$;低、中、高3个质量浓度的日内、日间变异系数均 $< 7\%$,该方法能满足生物样品分析的要求,可以作为本试验血药浓度监测的手段。

本试验所得的血药浓度-时间曲线数据经药代动力学软件 DAS 2.1 分析处理,家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后,斑蝥黄在体内的血药浓度-时间数据符合二室模型。家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后 300 min 兔体内斑蝥黄血药浓度达峰,达峰时间 ($T_{\max} = 300 \text{ min}$) 较长,说明斑蝥黄在体内的消化吸收较缓慢。这可能是固体剂型的吸收包括药物的释放和溶解两个步骤,即斑蝥黄微胶囊在水溶液中先分散进而才能释放出斑蝥黄,斑蝥黄只有溶解于体液后才能被吸收,全部消化吸收后在血液中达到最大浓度。达峰浓度 $C_{\max} = (75.761 \pm 0.739) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 较低,可能是口服给药后胃肠道内的代谢和分解以及肝脏首过效应的影响,导致进入体内血液循环的药量较低。半衰期 $t_{1/2}$ 在 $8 \sim 12 \text{ h}$ 内的药物是属于慢性消除类^[10]。如表3所示,斑蝥黄的消除半衰期 $t_{1/2\alpha}$ 为 $(527.408 \pm 208.401) \text{ min}$,这说明斑蝥黄在兔体内的消除比较缓慢。药时曲线下面积 (AUC) 反映了药物的生物利用度 $\text{AUC}_{(0-24)} = (23\,057.221 \pm 1\,582.299) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。斑蝥黄在兔体内有较大的表观分布容积 $V_{z/F} = (1\,569.453 \pm 258.575) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$,说明斑蝥黄可能在组织体内的分布广泛,也有可能是在某一组织大量储存。

家兔灌胃给予斑蝥黄微胶囊后,斑蝥黄在体内具有消化吸收缓慢、体内分布广泛等特点,这提示斑蝥黄微胶囊有很好的缓释效果和稳定性。目前国内

尚未见斑蝥黄微胶囊在体内的药代动力学报道,该研究结果对于斑蝥黄微胶囊产品的开发和应用具有重要意义。

[参考文献]

- [1] 惠伯棣. 类胡萝卜素化学及生物化学 [M]. 北京:中国轻工出版社, 2005:91.
- [2] 惠伯棣, 李京, 裴凌鹏. 我国食品工业中类胡萝卜素的生产与应用 [J]. 中国食品添加剂, 2006(3):130-135.
- [3] Salvador A M, Alonso-Damian A, Choubert G, et al. Effect of soybean phospholipids on canthaxanthin lipoproteins transport, digestibility, and deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle [J]. J Agr Food Chem, 2007, 55 (22):9202-9207.
- [4] 张欣欣, 宋保强, 吴世林, 等. 斑蝥黄质对蛋黄着色效果研究 [J]. 山东畜牧兽医, 2006(4):4-5.
- [5] 王万祥, 王银东, 吴世林. 脱温鸡的着色效果研究 [J]. 畜禽业, 2007(4):5-6.
- [6] 梁远东, 殷进炎, 黄炳福, 等. 日两种添加角黄素和阿卜酯对母鸡产蛋性能和蛋黄颜色的影响 [J]. 中国家禽学报, 2004, 8 (1):161-163.
- [7] Zhang W, Zhang K Y, Ding X M, et al. Influence of canthaxanthin on broiler breeder reproduction, chick quality, and performance [J]. Poultry Science, 2011, 90 (7):1516-1522.
- [8] 王艳, 杨少丽, 苗凤萍, 等. 角黄素及其在医学中的应用 [J]. 微生物学通报, 2008, 35 (11):1781-1785.
- [9] 赵婷, 惠伯棣, 裴凌鹏. 斑蝥黄质在雄性大鼠血清中的积累研究 [J]. 食品科学, 2012, 33 (5):260-262.
- [10] 蔡明虹, 谈恒山, 李金恒. 药物半衰期与合理用药 [J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(6):365-366.

[责任编辑 邹晓翠]