

· 药物代谢 ·

## 辣椒碱亚微乳注射剂在家兔体内的药动学评价

卢秀霞, 滕希峰, 卢玉梅, 林良敏, 龙晓英\*  
(广东药学院中山校区, 广东 中山 528458)

**[摘要]** **目的:** 考察并评价辣椒碱亚微乳注射剂在家兔体内的药动学行为。**方法:** 采用 HPLC 测定家兔血浆中辣椒碱血药浓度, 流动相甲醇-水-磷酸(68:32:0.1), 检测波长 281 nm。通过 DAS<sup>TM</sup> ver1.0 药动学智能软件分析家兔耳缘静脉注射辣椒碱亚微乳及其水溶液的房室模型, 计算药动学参数。**结果:** 辣椒碱血药浓度在 0.500 ~ 100 mg·L<sup>-1</sup> 呈良好线性关系( $r = 0.9997$ ), 萃取回收率 96.10% ~ 105.48%。家兔耳缘静脉注射辣椒碱亚微乳及其水溶液的药动学曲线均符合二室模型, 消除半衰期分别为(48.5013 ± 4.0119), (15.2625 ± 1.8882) min, 药时曲线下面积分别为(924.09 ± 149.80), (555.36 ± 57.46) mg·min·L<sup>-1</sup>。**结论:** 建立的 HPLC 准确、灵敏, 适用于辣椒碱血药浓度的测定。与辣椒碱水溶液相比, 辣椒碱亚微乳能延长药物的体内半衰期, 提高生物利用度。

**[关键词]** 辣椒碱; 亚微乳; 高效液相色谱; 半衰期; 药动学评价

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)06-0114-04

**[doi]** 10.11653/syjf2014060114

## Pharmacokinetics Evaluation of Capsaicin Submicron Emulsion Injection in Rabbits

LU Xiu-xia, TENG Xi-feng, LU Yu-mei, LIN Liang-min, LONG Xiao-ying\*  
(Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate pharmacokinetic characteristic of capsaicin submicron emulsion in rabbits. **Method:** HPLC was established to determine the concentration of capsaicin in rabbit plasma with mobile phase of methanol-water-phosphoric acid (68:32:0.1) and detection wavelength at 281 nm. compartment models were analyzed by DAS<sup>TM</sup> ver1.0 software after rabbit ear vein administration of capsaicin submicron emulsion and its aqueous, then calculated pharmacokinetic parameters. **Result:** Linear correlation was satisfactory when the concentration of capsaicin in rabbit plasma was 0.500-100 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.9997$ ), extraction recovery was 96.10%-105.48%. Pharmacokinetics curve was both corresponded to two-compartment model after intravenous injection of capsaicin submicron emulsion and its aqueous, elimination half-life were (48.5013 ± 4.0119) and (15.2625 ± 1.8882) min, area under curve were (924.09 ± 149.80) and (555.36 ± 57.46) mg·min·L<sup>-1</sup>. **Conclusion:** Established HPLC was accurate, sensitive and satisfied with concentration determination of capsaicin in rabbit plasma. Compared with capsaicin solution, prolongation of elimination half-life and elevation of biological availability were all obtained after capsaicin was emulsified with submicron emulsion.

**[Key words]** capsaicin; submicron emulsion; HPLC; half-life; pharmacokinetic evaluation

**[收稿日期]** 20130816(004)

**[基金项目]** 广东药学院人才引进科研启动基金项目(2009ZYX01)

**[第一作者]** 卢秀霞, 硕士, 实验师, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel:15913364323, E-mail:632213414@qq.com

**[通讯作者]** \* 龙晓英, 博士, 教授, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel:13798171092, E-mail:longxy3156@163.com

辣椒碱是辣椒具有辛辣味和药物活性的主要成分<sup>[1-2]</sup>,纯品为白色针状晶体,熔点 65 ~ 66 °C,易溶于甲醇、乙醇、三氯甲烷、乙酸乙酯等有机溶剂及碱性水溶液,但难溶于水<sup>[3]</sup>。辣椒碱的镇痛效果与吗啡等同,但作用时间更持久。辣椒碱是通过选择性拮抗神经肽 P 物质,减少炎性介质如组胺、缓释肽和前列腺素的释放而发挥抗炎镇痛效果,临床主要用于治疗带状疱疹后遗症神经痛、糖尿病神经痛、风湿性关节炎和骨关节炎等疼痛,是新型非成瘾性镇痛药<sup>[4-6]</sup>。目前,辣椒碱制剂主要以皮肤局部外用为主,存在起效慢、药物吸收不完全、皮肤刺激性大、病人顺应性较差等问题<sup>[7]</sup>。

亚微乳是将药物包裹于内相或油水界面层中,由水相、油相、表面活性剂和助表面活性剂按适当比例混合,制成粒径 0.1 ~ 1 μm 的油水混合体系。该剂型具备增强药物溶解度、降低药物刺激性和毒性、提高药物生物利用度等优点,还可通过减少亚微乳粒径大小或增加其表面亲水性以延长药物在体内的循环时间,增强药物疗效,是脂溶性药物理想的注射用载体<sup>[8]</sup>。本实验选择豆磷脂、泊洛沙姆 F68 为复合乳化剂,油酸钠为稳定剂,拟将辣椒碱制成亚微乳注射剂<sup>[9-11]</sup>,并考察该制剂在家兔体内的药动学行为,为辣椒碱的临床应用推广提供实验依据。

## 1 材料

HH-601 型超级恒温水浴(金坛市岸头国瑞实验仪器厂),FA25 型高剪切分散乳化机(上海弗鲁克机电设备有限公司),JB-2 型恒温磁力搅拌器(上海智光仪器仪表有限公司),BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国赛多利斯),ZH-2 型自动漩涡混合器(天津药典标准仪器厂),800 型电动离心机(广州富城仪器厂),600 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),MODEL5000 型微量移液器(日本 Nichiryo 公司)。

辣椒碱原料药(贵州安顺生达生物科技开发公司,纯度 97%),辣椒碱对照品(美国 Sigma 公司,纯度 98%,批号 2069698),中链脂肪酸三甘油酯(广州汉方现代中药研究有限公司),豆磷脂(德国 Lipoid GmbH 公司),泊洛沙姆 F68(德国巴斯夫公司),油酸钠(广州汉方现代中药研究有限公司),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

健康新西兰家兔 6 只,体重 2.0 ~ 2.5 kg,普通级,雌雄各半,购自南方医科大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(粤)2011-0015。

## 2 方法与结果

**2.1 辣椒碱亚微乳注射液的制备** 依次称取辣椒碱、中链脂肪酸三甘油酯、豆磷脂 0.02,0.5,1.5 g,加入无水乙醇中,60 °C 水浴加热溶解得均匀透明油相;称取泊洛沙姆 F68 0.2 g 和油酸钠 0.1 g,置于 100 mL 注射用水中,60 °C 水浴加热溶解得澄清透明水相;于 60 °C 将油相逐滴滴入水相中,12 000 r·min<sup>-1</sup> 高剪切分散乳化,1.50 × 10<sup>8</sup> Pa 高压均质 3 次,形成淡黄色半透明辣椒碱亚微乳,于洁净环境下用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,将续滤液灌封于已灭菌的 2 mL 安瓿中,在 121 °C,0.1 MPa 热压灭菌 15 min,即得。

### 2.2 家兔体内药动学评价

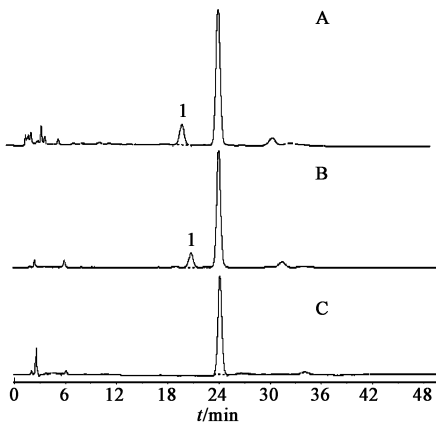
**2.2.1 给药与血样采集** 取家兔 6 只,随机分成 2 组,每组 3 只,试验前禁食过夜,分别于家兔耳缘静脉注射辣椒碱亚微乳及其水溶液,给药剂量均为 4 mg·kg<sup>-1</sup>,分别于 0,1,3,8,15,20,25,30,45,60,90,120,150 min 从耳缘静脉取血约 2.5 mL,置预先肝素化的 5 mL 离心管中,离心(3 000 r·min<sup>-1</sup>,10 min,下同),吸取上层血浆(约 1.0 mL)。

**2.2.2 血浆样品处理** 精密吸取上层血浆 1.0 mL 置于 10 mL 离心管,加无水乙醚 3.0 mL,涡旋震荡 5 min 萃取血浆中辣椒碱,离心,吸取上清液至另一离心管中;下层血浆加无水乙醚 3.0 mL 重复萃取 2 次,离心,合并上清液,40 °C 水浴挥干,加入流动相 0.2 mL 淋洗管壁,离心,吸取上清液进行 HPLC 测定。

**2.2.3 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(68:32:0.1),检测波长 281 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,进样量 20 μL。空白血浆中外加辣椒碱对照品溶液的保留时间 21.05 min,理论塔板数 23 154.5,拖尾因子 0.82。

**2.2.4 方法专属性考察** 分别取空白血浆、空白血浆外加辣椒碱对照品溶液、给药 5 min 后血浆样品,按 2.2.2 项下方法处理,按 2.2.3 项下色谱条件检测,结果见图 1,表明在该色谱条件下,空白血浆对辣椒碱的测定无干扰,且含药血浆中辣椒碱与空白血浆中外加辣椒碱对照品溶液的保留时间基本一致。

**2.2.5 标准曲线绘制** 精密称取辣椒碱对照品 2.00 mg 于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并定容至刻度,得对照品储备液。精密吸取该储备液 1.0 mL,用无水乙醇溶解并稀释至 10 mL,得辣椒碱对照



A. 供试品; B. 空白血浆 + 辣椒碱对照品; C. 空白血浆; 1. 辣椒碱  
图1 辣椒碱给药5 min 后家兔血浆样品 HPLC

品溶液。精密吸取家兔空白血浆 1.0 mL, 共 7 份, 分别精密加入辣椒碱对照品溶液 0.005, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 mL, 按 2.2.2 项下方法处理, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程  $Y = 6551.2X - 540.94 (r = 0.9997)$ , 线性范围 0.50 ~ 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.2.6 精密度试验** 精密量取家兔空白血浆 3 份, 每份 1.0 mL, 分别精密加入 20  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  辣椒碱对照品溶液 0.02, 0.10, 0.50 mL, 按 2.2.2 项下方法处理, 使萃取后辣椒碱质量浓度分别为 2.00, 10.0, 50.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的血浆样品, 于同 1 d 内每个质量浓度测定 5 次, 计算日内精密度 RSD 依次为 3.53%, 2.63%, 2.19%; 每天测定 1 次, 连续测定 5 d, 计算日间精密度 RSD 分别为 4.54%, 2.85%, 2.43%。

**2.2.7 回收率试验** 精密量取家兔空白血浆 1.0 mL, 共 15 份, 等分为 3 组, 分别精密加入 20.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  辣椒碱对照品溶液 0.02, 0.10, 0.50 mL, 按 2.2.2 项下方法配制辣椒碱质量浓度分别为 2.00, 10.0, 50.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的血浆样品 ( $n = 5$ ), 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 计算高、中、低质量浓度的回收率分别为  $(99.67 \pm 3.59)\%$ ,  $(96.10 \pm 6.17)\%$ ,  $(105.48 \pm 8.78)\%$ , RSD 依次为 3.60%, 6.42%, 8.33% ( $n = 5$ ), 空白血浆中辣椒碱萃取回收率在 96.10% ~ 105.48%, 符合生物样品的测定要求。

**2.2.8 血药浓度的测定** 取 2.2.1 项下各时间点血浆样品, 按 2.2.2 项下方法处理, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 绘制平均辣椒碱血药浓度-时间曲线 ( $n = 3$ ), 结果见图 2。

**2.2.9 药代动力学参数计算** 分别将辣椒碱亚微乳及其水溶液在家兔体内的血药浓度-时间数据采

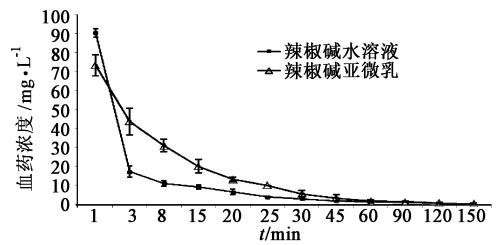


图2 家兔静脉注射辣椒碱亚微乳及其水溶液的血药浓度-时间曲线

用 DAS™ ver1.0 药动学智能分析软件进行模型拟合, 根据 AIC 最小原则, 结合拟合优度、离差平方和及  $F$  值检验判断二者在家兔体内的血药浓度随时间变化过程均符合二室模型。提取隔室模型药动学参数, 运用 SPSS 18.0 统计学软件分析处理, 分别进行两样本均数比较的  $t$  检验, 评价两者药动学参数的差异, 结果见表 1。

表1 家兔静脉注射辣椒碱亚微乳及其水溶液的  
药物动力学参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

参数	单位	辣椒碱亚微乳	辣椒碱水溶液
$K_{10}$	$\text{min}^{-1}$	$0.0707 \pm 0.0068^{2)}$	$0.6555 \pm 0.1326$
$K_{12}$	$\text{min}^{-1}$	$0.0183 \pm 0.0058^{2)}$	$0.7803 \pm 0.2032$
$K_{21}$	$\text{min}^{-1}$	$0.0190 \pm 0.0021^{3)}$	$0.1041 \pm 0.0116$
$t_{1/2(\alpha)}$	min	$7.4317 \pm 1.8717^{3)}$	$0.4815 \pm 0.1192$
$t_{1/2(\beta)}$	min	$48.5013 \pm 4.0119^{3)}$	$15.2625 \pm 1.8882$
$V$	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	$0.0655 \pm 0.0117^{2)}$	$0.0116 \pm 0.0039$
$CL$	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$0.0044 \pm 0.0008^{2)}$	$0.0076 \pm 0.0012$
$AUC_{0-150}$	$\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	$892.06 \pm 135.51^{1)}$	$554.93 \pm 57.19$
$AUC_{0-\infty}$	$\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	$924.09 \pm 149.80^{1)}$	$555.36 \pm 57.46$

注: 与辣椒碱水溶液比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ 。

由表 1 可知, 辣椒碱水溶液的消除速度常数 ( $K_{10}$ ) 和清除率 ( $CL$ ) 分别为分别是亚微乳的 9.27, 1.73 倍, 说明静脉注射水溶液后辣椒碱从中央室消除的速度大于亚微乳, 且药物从家兔体内的清除速度更快; 辣椒碱亚微乳的消除半衰期 [ $t_{1/2(\beta)}$ ] 和曲线下面积 ( $AUC_{0-\infty}$ ) 分别为水溶液的 3.18, 1.66 倍, 表明与水溶液相比, 将辣椒碱制备成亚微乳后延长了药物在家兔体内的  $t_{1/2(\beta)}$ , 生物利用度显著提高。

### 3 讨论

预试验中采用三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮等有机溶剂萃取家兔血浆中辣椒碱, 但存在色谱干扰峰多或血浆萃取率低等问题。而选择无水乙醚作萃取溶剂时, 血浆中辣椒碱的峰形良好, 空白血浆无其他内

源性杂质干扰,可能是因为无水乙醚脂溶性较强,可使脂溶性药物与水溶性蛋白质较好的分离,减少内源性杂质的干扰;同时,采用无水乙醚萃取血浆2次,可提高血浆中辣椒碱的萃取率。

与文献报道的辣椒碱纳米乳 [ $t_{1/2(\beta)} = 11.77 \text{ min}$ ]相比<sup>[11]</sup>,本文中辣椒碱亚微乳的 $t_{1/2(\beta)}$ 提高了4倍。辣椒碱水溶液静脉注射后药物在体内 $t_{1/2(\beta)}$ 短的原因可能与其本身生物半衰期短有关<sup>[11]</sup>;同时辣椒碱水溶液静脉注射后药物立即释放进入血液中,血浆清除速率快,导致药物体内滞留时间短。将辣椒碱制备成亚微乳,延长了药物半衰期,具有明显长循环效果,这可能是因为辣椒碱通过亚微乳乳化包合后以药物分子形式存在于豆磷脂与泊洛沙姆F68形成的高分子油水界面膜内,静脉注射给药后药物先从油相经过乳化膜再释放到水相,之后缓慢释放进入血液循环中,从而降低药物释放速率,延长药物半衰期及其体内循环时间,故生物利用度随之提高。

辣椒碱难溶于水,将其制备成亚微乳后制剂质量浓度达 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,提高了辣椒碱在水中溶解度;辣椒碱生物半衰期短,而辣椒碱亚微乳能在体内较安全稳定的释放药物,延长药物在体内的半衰期。辣椒碱经过亚微乳包裹后降低了药物刺激性和毒性,尤其是静脉注射时所引起的疼痛。

#### [参考文献]

- [1] Szolcsányi J. Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology [J]. *Neuropeptides*, 2004, 38(6):377.
- [2] Higashiguchi F, Nakamura H, Hayashi H, et al.

Purification and structure determination of glucosides of capsaicin and dihydrocapsaicin from various *Capsicum* fruits[J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(16):5948.

- [3] Fang J, Lian Y H, Xie K J, et al. Pharmacological interventions for phantom limb pain [J]. *Chin Med J*, 2013, 126(3):542.
- [4] Erin N, Zik B, Sarigül M, et al. The effects of chronic low-dose capsaicin treatment on substance P levels [J]. *Regul Pept*, 2009, 153(1/3):83.
- [5] Bode A M, Dong Z. The two faces of capsaicin [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(8):2809.
- [6] Reyes-Escogido M de L, Gonzalez-Mondragon E G, Vazquez-Tzompantzi E. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin [J]. *Molecules*, 2011, 16(2):1253.
- [7] Jones V M, Moore K A, Peterson D M. Capsaicin 8% topical patch (Qutenza)-a review of the evidence [J]. *J Pain Palliat Care Pharmacother*, 2011, 25(1):32.
- [8] 夏祖猛,王利胜,赖宝林,等. 苜冰微乳在新西兰兔体内的药动学研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(11):119.
- [9] 龙晓英,罗佳波,严志红,等. 局部用辣椒碱传递体的制备及体内外评价[J]. *药科学报*, 2006, 41(5):461.
- [10] Magnusson B M, Koskinen L O. Effects of topical application of capsaicin to human skin: a comparison of effects evaluated by visual assessment, sensation registration, skin blood flow and cutaneous impedance measurements [J]. *Acta Derm Venereol*, 1996, 76(2):129.
- [11] 张鹏威,苏文琴,张莉,等. 家兔静脉注射辣椒碱纳米乳及溶液的药动学比较研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(18):106.

[责任编辑 仝燕]

## 天津中医药大学期刊编辑部 2014 年征订启事

《天津中医药》月刊,每期8元,年定价96元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号6-83 电子邮件:zhongyiyao@vip.126.com, xuebaobj@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道312号,邮政编码:300193。

《天津中医药大学学报》双月刊,每期6元,年定价36元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号6-153,电子邮件:xuebaobj@vip.126.com, xuebaotxd@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道312号,邮政编码:300193。