· 药物代谢 ·

水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布

陈永顺, 吴珍*
(湖北医药学院附属太和医院, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的**:研究水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布。**方法**:以水飞蓟宾注射液为参比,用 3P 97 软件计算药动学模型及药动学参数,用靶向效率来评价其在大鼠体内的组织分布及靶向性。**结果**:水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学模型符合二室模型,主要药动学参数为:$t_{1/2\alpha}$ = (0.572 8 ± 0.108 6) h, $t_{1/2\beta}$ = (20.686 6 ± 1.058 8) h, CL = (0.003 8 ± 0.001 4) mL·h·Kg^{-1}, $AUC_{0\to\infty}$ = (211.095 0 ± 10.272 8) mg·h·L^{-1},其在肝脏、脾脏、心脏及肾脏的靶向效率分别为 2.093, 1.986, 0.634, 0.259。**结论**:与水飞蓟宾注射液相比,水飞蓟宾明胶微球能提高对肝脏,脾脏的趋向性,有利于提高其治疗作用。

[关键词] 水飞蓟宾; 明胶微球; 药动学; 组织分布
[中图分类号] R283.6; R945 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)02-0128-04

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Silybin Gelatin Microspheres *In vivo* in Rats

CHEN Yong-shun, *WU Zhen**
(*Taihe Hospital*, *Hubei University of Medicine*, *Shiyan* 442000, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate *in vivo* pharmacokinetics and tissue distribution of silybin gelatin microspheres in rats. **Method**: With silybin injection as reference, pharmacokinetic model and parameters were calculated by 3P97. *In vivo* tissue distribution and targeting of silybin gelatin microspheres in rats were evaluated by targeting efficiency. **Result**: Pharmacokinetic data fitted a two-compartment model, main pharmacokinetic parameters of silybin gelatin microspheres were as follows: $t_{1/2\alpha}$ = (0.572 8 ± 0.108 6) h, $t_{1/2\beta}$ = (20.686 6 ± 1.058 8) h, CL = (0.003 8 ± 0.001 4) mL·h·kg^{-1}, $AUC_{0\to\infty}$ = (211.095 0 ± 10.272 8) mg·h·L^{-1}. Targeting efficiency of it in liver, spleen, heart and kidney were 2.093, 1.986, 0.634, 0.259. **Conclusion**: Compared to silybin injection, silybin gelatin microspheres could improve tendency for liver and spleen, and help improving its therapeutic effect.

[**Key words**] silybin; gelatin microsphere; pharmacokinetics; tissue distribution

水飞蓟宾(silybin, SIL)是从菊科植物水飞蓟果实中提取的一种二氢黄酮类成分,具有改善肝功能和稳定肝细胞膜的作用,对肝硬化、急慢性肝炎和代谢中毒性肝损伤疗效确切,是目前公认的疗效确切的肝损伤修复药物[1]。但其水溶性较差,口服给药生物利用度低[2]。

微球是将药物与适宜的载体通过微球化技术成球,以提高药物的选择性和生物利用度,维持较高血药浓度或靶器官浓度[3]。为此特制备了 SIL 明胶微球,通过尾静脉注射 SIL 明胶微球,测定不同时间大鼠血浆及各组织中 SIL 浓度,考察 SIL 宾明胶微球在大鼠体内药动学过程及组织分布情况。

1 材料

Agilent1100 型高效液相色谱仪(安捷能科技有

[收稿日期] 20110803(011)
[第一作者] 陈永顺,硕士,主管药师,从事药物新制剂与新剂型研究, Tel: 0719-8801107, E-mail: cys1222cys@sina.com
[通讯作者] *吴珍,硕士,主治医师,从事消化道肿瘤研究, Tel: 0719-8801503, E-mail: wz330@sina.com

限公司)，依利特 ODS-C_{18} 色谱柱(4.5 mm × 250 mm，5 μm)(大连依利特公司)，TG16A-WS 型台式高速离心机(湖南塞特湘仪器有限公司)，AUW220D 型电子天平(日本岛津公司)，SK-1 型快速混匀器(江苏省金坛市宏华仪器厂)，恒温加热磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司)，SIL 原料药(盘锦格林恩生物资源开发有限公司，纯度 98.2%，批号 20100928)，SIL 对照品(中国药品生物制品检定所，批号 110203-100426)，SIL 明胶微球[自制，平均粒径(1.45 ± 0.27) μm，平均载药量(56.24 ± 3.17)%，平均包封率(79.54 ± 5.07)%]，A 型明胶(淮南药用明胶厂)，液体石蜡(北京丽康伟业科技有限公司)，山梨糖醇酐油酸酯(Span 80，上海德颖生物科技有限公司)，异丙醇、戊二醛、乙醚等均为分析纯。

Wistar 种大鼠，雌雄各半，体重(200 ± 20) g，由湖北医药学院实验动物中心提供，动物合格证号为 SCYY(鄂)2004-0016。

2 方法与结果

2.1 SIL 明胶微球的制备[4] 将 Span 80 液体石蜡温度控制在 55 ℃左右，把含有 SIL 的明胶溶液，缓慢加入其中，电磁搅拌，形成 W/O 乳剂，降温到 25 ℃，加入适量戊二醛溶液，并置于加有冰块的水浴中，温度控制在(5 ~ 8) ℃，搅拌固化 30 min，置入 4 ℃冰箱中继续固化 24 h，倾倒上层油相，并用适量异丙醇脱水，抽滤，用适量异丙醇和乙醚交换冲洗数次，即得干燥粉末状 SIL 明胶微球。

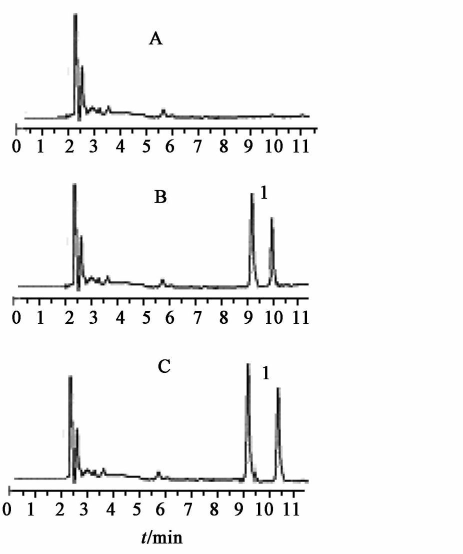
2.2 SIL 明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布

2.2.1 色谱条件[5] 流动相甲醇 − 0.35 mol·L^{-1} 乙酸(48∶52)，流速 1 mL·min^{-1}，检测波长 288 nm，进样量 20 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 SIL 对照品适量，加流动相制成含 SIL 100 mg·L^{-1} 的溶液，作为对照品溶液。

2.2.3 样品处理 取大鼠血浆和心、肝、肾、肺、脾样品，精密称重，然后加入 2 倍量生理盐水，使用组织匀浆器把上述样品制成匀浆。精密吸取血浆或组织匀浆液 200 μL 于 1.5 mL 离心管中，加入 600 μL 甲醇，涡旋震荡 2 min，于 10 000 r·min^{-1} 离心 5 min，精密吸取上清液 500 μL，氮气吹干，200 μL 甲醇复溶，涡旋混合 1 min，取 20 μL 进样，HPLC 测定。

2.2.4 专属性试验 按 **2.2.1** 项下色谱条件，对血浆中内源性物质不干扰待测物进行测定，可见 SIL 的峰形对称，分离度很好。色谱图见图 1。



A. 空白血浆；B. 空白血浆 + SIL；
C. 用药后 2 h 血浆；1. SIL

图 1 血浆 SILHPLC

2.2.5 线性关系考察 取大鼠空白血浆和各组织匀浆 200 μL，精密加入 SIL 对照品适量，同 **2.2.3** 项下操作，按峰面积计算得标准曲线方程。按照精密度及回收率配制高、中、低 3 种质量浓度(40，5，0.1 mg·L^{-1})血浆和各组织样品液，各样品平行操作 6 份，按样品处理与测定方法进行操作。最低检测质量浓度为 0.05 mg·L^{-1}。SIL 在血浆及不同组织的回归方程、样品回收率、线性范围及日内、日间精密度见表 1。

2.2.6 稳定性试验 用空白血浆及和各组织匀浆液制备高、中低 3 种不同质量浓度(40，5，0.1 mg·L^{-1})的 SIL 加样溶液，分别按 **2.2.3** 项下方法处理。

2.2.6.1 室温稳定性 室温放置 24 h 后，测定其质量浓度。结果血浆及各组织样品 RSD 均小于 4.5%($n = 5$)，说明在室温下血浆及组织样品稳定性良好。

2.2.6.2 冻融稳定性 放入 −20 ℃冰箱保存 24 h，反复冻融 3 次后，测定其质量浓度。结果血浆及各组织样品的 RSD 均小于 5.2%($n = 5$)，说明在 −20 ℃冻融条件下血浆及组织样品稳定性良好。

2.2.6.3 长期稳定性 放入 −20 ℃冰箱保存，放置 30 d 后，测定其质量浓度。结果血浆及各组织样品的 RSD 均 <5.6%($n = 5$)，说明在 −20 ℃条件下可稳定保存 30 d。

2.2.7 给药方案与血样采集 将 12 只大鼠随机分成 2 组，每组 6 只，其中 1 组为 SIL 注射液组，另外 1

表 1　SIL 在不同组织中的标准曲线、线性范围、回收率、日内及日间精密度($\bar{x}\pm s, n=6$)

组织	标准曲线	线性范围/mg·L^{-1}	r	回收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
血浆	$A=12.3408C-1.5027$	0.1～60.0	0.996 8	98.40±1.02	2.94	3.65
心	$A=10.6524C-4.4832$	0.1～40.0	0.997 2	98.72±1.58	2.82	3.94
肝	$A=9.2708C-1.6327$	0.1～60.0	0.996 3	98.22±1.64	1.99	2.34
脾	$A=5.4705C-3.1128$	0.1～40.0	0.996 2	97.80±2.03	2.57	2.98
肺	$A=12.8256C-1.2107$	0.1～40.0	0.996 1	101.20±1.50	2.85	2.63
肾	$A=8.4023C-1.6240$	0.1～60.0	0.994 7	98.62±1.68	2.45	3.26

组为 SIL 明胶微球组。给药前 12 h 禁食，按 SIL 4 mg·kg^{-1}的剂量分别尾静脉注射 SIL 注射液(自制)及 SIL 微球，于给药后 5，10，15，30 min 和 1，2，3，4，6，8，12 h 于眼眶处取血 0.5 mL 放入肝素化试管中，离心、分离血浆，－20 ℃冷冻保存。测定前如上述提取分离法处理样品，HPLC 测定 SIL 含量。

用 3P 97 药代动力学软件对各组药物浓度-时间数据进行处理，采作梯形法计算药-时曲线面积(AUC)，对血药质量浓度数据进行曲线拟合，以 AIC 法判断其体内过程符合二室模型，其药代动力学参数见表 2。从图 2 及表 2 可知，SIL 明胶微球在大鼠体内经尾静脉给药后，消除半衰期较长，说明其具有一定的缓释作用，有利于提高其治疗作用。

表 2　SIL 明胶微球与 SIL 注射液在大鼠体内的药动学参数($\bar{x}\pm s, n=6$)

参数	SIL 明胶微球	SIL 注射液
A/mg·L^{-1}	73.628 7±5.304 2	69.802 7±4.352 3
A/h^{-1}	1.209 7±0.302 5	2.103 9±0.282 5
B/mg·L^{-1}	5.032 7±0.510 9	7.621 3±1.022 4
B/h^{-1}	0.033 5±0.011 5	0.056 9±0.010 6
$t_{1/2\alpha}$/h	0.572 8±0.108 6	0.329 4±0.137 8
$t_{1/2\beta}$/h	20.686 6±1.058 8	12.276 5±2.182 8
K_{21}/h^{-1}	0.109 3±0.027 5	0.258 4±0.110 2
K_{10}/h^{-1}	0.372 8±0.021 9	0.463 3±0.065 2
K_{12}/h^{-1}	0.763 1±0.145 6	1.439 1±0.165 2
$AUC_{0\to\infty}$/mg·h·L^{-1}	211.095 0±10.272 8	167.119 7±12.635 7
CL/mL·h·kg^{-1}	0.003 8±0.001 4	0.004 8±0.001 7
MRT/h	29.850 5±4.304 5	17.710 8±3.207 4

2.2.8　组织分布研究　将 36 只大鼠随机分成 2 组，每组 18 只，其中 1 组为 SIL 注射液组，1 组为 SIL 明胶微球组。给药前 12 h 禁食，按 SIL 4 mg·kg^{-1}的剂量分别尾静脉注射 SIL 注射液及 SIL 明胶微球，于给药后 0.5，2，4，8，12，24 h(每个时间点 6 只大鼠，每组各 3 只)断头处死大鼠，放尽血液后，得心、

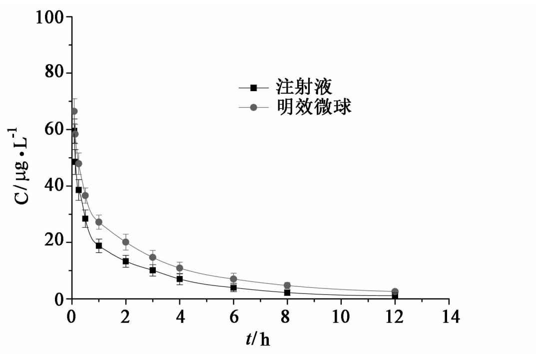


图 2　SIL 大鼠尾静脉给药平均血药浓度-时间曲线($\bar{x}\pm s, n=6$)

肝、脾、肺、肾样品，按 **2.2.3** 分离处理，HPLC 法测定 SIL 含量。大鼠尾静脉注射 SIL 微球和 SIL 注射液的组织分布见图 3，图中可见 SIL 微球能明显改变 SIL 在大鼠体内的分布，使药物浓聚于肝与脾。

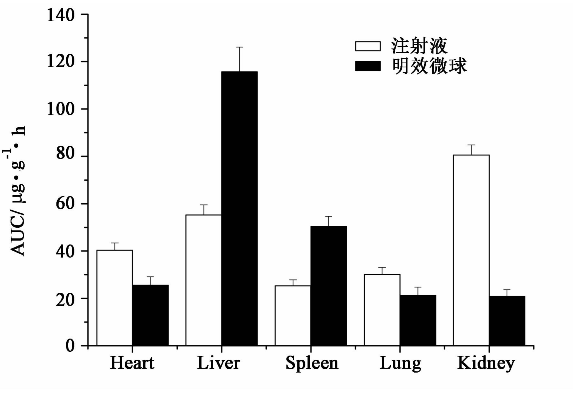


图 3　SIL 明胶微球与 SIL 注射液大鼠尾静脉注射给药 24 h 后各组织 AUC($\bar{x}\pm s, n=3$)

根据 Gupta[6] 的方法用靶向效率(Targeting efficiency，Te)，来评价 SIL 的靶向性。$Te=(AUC)_{靶}/(AUC)_{非靶}$。试验结果见表 3。根据 Te 值大于 1 表示药物制剂对靶器官比非靶器官有选择性，Te 值越大，选择性越强判断，从表 3 可知，SIL 微球具有较强的肝脏趋向性。

表 3　SIL 微球和 SIL 注射液在不同组织的 AUC 和靶向效率($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组织	$AUC_{SIL微球}$/μg·g^{-1}·h	$AUC_{SIL注射液}$/μg·g^{-1}·h	*Te*
心	25.58 ±2.25	40.32 ±2.59	0.634
肝	115.72 ±4.62	55.27 ±3.81	2.093
脾	50.27 ±3.04	25.31 ±2.08	1.986
肺	21.28 ±2.06	30.09 ±2.56	0.707
肾	20.85 ±1.95	80.56 ±4.58	0.259

3　讨论

SIL 因其难溶于水,大大降低了其口服的生物利用度,因此将其制备成微球,通过静脉给药,一方面能解决其吸收问题,同时可利用其缓释作用来增强其疗效。本实验证明了 SIL 明胶微球较其注射液有一定的肝脏靶向性,能更好地发挥其对肝硬化、急慢性肝炎和代谢中毒性肝损伤的治疗作用。

天然或合成的 SIL 并非单一化合物,而是一对非对映异构体的混合物,且它们都具有药理活性,为了便于计算,将 SIL A 和 SILB 2 个峰的峰面积之和作为定量用。

本实验考察了 SIL 明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布,证明了其在大鼠体内的药动学特征符合二室模型,为其进一步的临床研究提供了参考。

[参考文献]

[1]　王忠原,汤佳,陈莉. 水飞蓟宾衍生物的研究进展[J]. 药学进展,2009,33(8):360.

[2]　万华,席宏丽,陶迎红,等. 水飞蓟宾葡甲胺片治疗非酒精性肝炎[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):157.

[3]　倪晨,赖春丽,王倩,等. 氧化苦参碱微球冻干针剂器官靶向性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):203.

[4]　邓树海. 现代药物制剂技术[M]. 北京:化学工业出版社,2007:217.

[5]　段瑞玲,孙逊,刘洁,等. RP-HPLC 测定大鼠血浆中的水飞蓟宾[J]. 华西药学杂志,2010,25(1):52.

[6]　Gupta P K, Hung C T. Quantitative evaluation of targeted drug delivery systems [J]. Int J Pharm, 1989, 56(33):217.

[责任编辑　仝燕]

·书讯·

《中国珍稀濒危药用植物资源调查》问世

由黄璐琦、肖培根、王永炎主编的《中国珍稀濒危药用植物资源调查》近日由上海科学技术出版社出版发行。本书汇集了著者历经多年辛勤调查的第一手珍贵资料。其中总论主要介绍了中国药用植物资源现状及存在的问题,药用植物资源调查的相关内容和方法,药用植物保护现状、方法及存在的问题,受威胁及优先保护评价体系等方面的相关知识。各论根据对濒危药材、与维护生态平衡紧密相关的药材、资源急剧减少的紧缺药材、具有较大开发价值的原料药材等药用资源的调查实践,结合资源调查先进技术和方法,精选了 55 种代表性的珍稀濒危药用植物,对其资源进行翔实且有深度的总结和分析,提供了权威的资源信息、市场供求信息及相关统计数据,同时找出了存在的问题,并提供了相应的对策和建议。

本书原创性强,数据翔实、可靠、珍贵,具有权威性,对从事中药研究的学者和研究人员,从事中药资源保护、可持续性利用的生产实践第一线的技术人员,中药资源管理的政府官员,以及相关中药行业市场人士,可以提供重要信息和学术参考。