

· 药物动力学研究 ·

高良姜素自微乳大鼠在体肠吸收和体内药动学研究

张欣, 陈曦文, 卢昊, 许汉林 (湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065)

摘要: **目的** 制备高良姜素自微乳, 考察其在大鼠在体肠吸收特征及体内药动学行为。**方法** 建立大鼠在体单向肠灌注实验模型, 采用高效液相色谱(HPLC)法测定灌流液中高良姜素浓度, 考察高良姜素自微乳在各肠段中的吸收情况, 计算相关吸收参数; 以高良姜素混悬液为参比制剂, 利用 DAS2.1 软件对大鼠血浆药物浓度-时间曲线进行拟合, 计算相关药代动力学参数。**结果** 高良姜素自微乳在大鼠整个肠段都有吸收, 在十二指肠、空肠、回肠和结肠中的吸收速率常数(K_a)分别为高良姜素混悬液的 2.37、1.70、2.29、3.98 倍, 表观吸收系数(P_{app})分别为高良姜素混悬液的 3.58、2.56、3.57、5.16 倍。高良姜素混悬液和自微乳的 C_{max} 分别为 0.245、0.427 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, t_{max} 分别为 1.789、1.411 h, $\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ 分别为 1.207、2.059 $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, 高良姜素自微乳相对于混悬液的生物利用度为 220%。**结论** 相对于高良姜素混悬液, 高良姜素自微乳在各肠段均有良好的吸收, 且显著提高了高良姜素在大鼠体内的口服生物利用度。

关键词: 高良姜素; 自微乳; 在体肠吸收; 药物动力学; 口服生物利用度; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)11-1699-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.014

In Situ Intestinal Absorption and Pharmacokinetics of Galangin Self-emulsion in Rats

ZHANG Xin, CHEN Xiwen, LU Hao, XU Hanlin (College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065 Hubei, China).

Abstract: **Objective** The galangin self-microemulsion was prepared, and the intestinal absorption characteristics and pharmacokinetics of galangin self-microemulsion in rats were investigated. **Methods** The model of single-pass intestinal perfusion in rats was established. The concentration of galangin in intestinal perfusion was determined by HPLC to investigate the absorption of galangin self-microemulsion in each intestinal segment, and the relevant absorption parameters were calculated. Using galangin suspensions as a reference, the plasma drug concentration-time curve was fitted by DAS2.1 software, and the related pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** The galangin self-microemulsion was absorbed throughout the intestinal segments. The absorption rate constants K_a in duodenum, jejunum, ileum and colon were 2.37, 1.70, 2.29 and 3.98 times of that in galangin suspensions, and the apparent absorption coefficients P_{app} were 3.58, 2.56, 3.57 and 5.16 times of that in galangin suspensions, respectively. The pharmacokinetic parameters C_{max} of galangin suspensions and galangin self-microemulsion were 0.245, 0.427 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, t_{max} were 1.789, 1.411 h, and $\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ were 1.207, 2.059 $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$. The bioavailability of galangin self-microemulsion compared with galangin suspensions was 220%. **Conclusion** Compared with galangin suspensions, galangin self-microemulsion had good absorption in each intestinal segment, which significantly improved the oral bioavailability of galangin in rats.

Keywords: Galangin; self-microemulsion; *in situ* intestinal absorption; pharmacokinetics; oral bioavailability; rats

收稿日期: 2021-05-04

作者简介: 张欣, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药新制剂、新剂型的研究。Email: 2430961569@qq.com。通信作者: 许汉林, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药新制剂、新剂型的研究。Email: xhl@hbtcm.edu.cn。

高良姜素(galangin, Gal)来源于姜科植物高良姜(*Alpinia officinarum* Hance)的根茎,是高良姜的主要成分之一。Gal具有抑制癌症^[1-3]、抗氧化^[4]、抗炎^[5]等多种药理作用,但其难溶于水且生物半衰期较短,口服生物利用度较低^[6]。目前有关Gal的口服剂型多为Gal混悬液^[7]。纳米给药系统可改善药物的溶解度、溶出度,具有提高药物靶向作用、生物利用度,改变药物药动学特性等优点^[8]。其中自微乳给药系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS)是由药物、油相、乳化剂及助乳化剂形成的均一稳定、各向同性的混合体系,口服后可在胃肠道蠕动下,自发形成粒径小于100 nm的O/W型微乳,可显著提高难溶性药物的溶解度与口服生物利用度^[9-10]。本课题组在前期已成功筛选出了高良姜素自微乳(Gal-SMEDDS)处方,并评价了其体外释放情况,发现与游离的Gal相比,Gal-SMEDDS的累积释放度显著提高^[11]。Gal-SMEDDS可明显提高Gal的溶解度,具有增加Gal胃肠道吸收速率及程度,提高生物利用度的潜力。本实验在此基础上,建立大鼠在体单向肠灌流模型,研究Gal-SMEDDS大鼠在体肠吸收特征,并通过药代动力学实验进一步考察Gal-SMEDDS体内生物利用度,以期Gal-SMEDDS制剂的产品开发提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器 METTLER TOLEDO 型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);ZEN3690 型激光粒度测定仪(英国 Malvern 公司);KQ-400 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司);85-2 型恒温磁力加热搅拌器(常州华奥仪器制造有限公司);XH-C 型涡旋混匀器(常州市金坛区白塔新宝仪器厂);ZGDCY-12S 水浴氮吹仪(上海梓桂仪器有限公司);GENESPEED 1730R 离心机(基因有限公司);LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);HL-2B 数显恒流泵(上海驰唐电子有限公司);PHS-3C pH 酸度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 材料 Gal 原料药(上海同田生物技术股份有限公司,质量分数 $\geq 98\%$,批号:18071122);Gal 对照品[阿拉丁试剂(上海)有限公司,质量分数 $\geq 99\%$,批号:1706037];吐温 80(国药集团化学试剂有限公司,批号:20150608);油酸乙酯(山东瑞生药用辅料有限公司,批号:20190303);聚乙二醇 400(PEG-400,批号:20180228)、氢化蓖麻油 CO-40(Cremophor CO 40,批号:20190105),山东优索化

工科技有限公司;Krebs-Ringer 溶液(K-R 液, pH 为 7.4,实验室自制,批号:20191010);氯化钠注射液(武汉滨湖双鹤药业有限责任公司,批号:1808290802);甲醇和乙腈均为色谱纯。

1.3 动物 SPF 级 SD 大鼠 24 只,雄性,体质量为 (240 ± 20) g,辽宁长生生物技术股份有限公司,许可证号:SCXK(辽)2015-0001。饲养环境:光照周期为 12 h,湿度 65%,温度 (25 ± 2) °C,适应性饲养 1 周后开始正式实验。

2 方法与结果

2.1 Gal-SMEDDS 的制备 Gal-SMEDDS 最优处方^[11]:油酸乙酯:Cremophor CO 40:PEG-400(质量比)=10:60:30。精密称量处方量油酸乙酯、Cremophor CO 40、PEG-400,依次加至具塞西林瓶中,超声 40 min 后以 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 磁力搅拌 15 min,加入精密称量的 Gal,超声 40 min 助溶;37 °C 恒温静置 24 h 得 Gal-SMEDDS,室温下避光保存。高效液相色谱(HPLC)法测得 Gal-SMEDDS 载药量为 $20.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,马尔文粒径仪测得粒径为 21.29 nm,多分散指数(PDI)为 0.095。

2.2 大鼠在体肠灌流实验

2.2.1 肠灌流溶液的配制 空白肠灌流液(K-R 溶液)^[7]制备:分别称取氯化钙 0.74 g,氯化钠 15.6 g,氯化钾 0.70 g,氯化镁 0.04 g,磷酸二氢钠 0.64 g,碳酸氢钠 2.74 g,葡萄糖 2.80 g,加适量蒸馏水超声 30 min 溶解后,以蒸馏水定容至 2 000 mL,摇匀后加入适量 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调节 pH 为 7.4,备用。

Gal-SMEDDS 灌流液制备:精密称取制备好的 Gal-SMEDDS 适量,以 K-R 液稀释至 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (按处方中 Gal 质量计算),备用。

Gal 灌流液制备:精密称取 Gal 适量,以 K-R 液稀释至 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,备用。

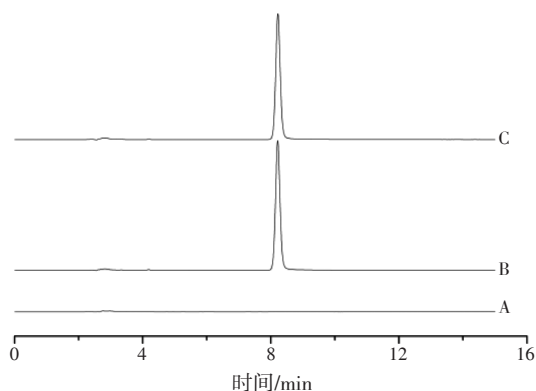
2.2.2 大鼠小肠生物样品中 Gal 含量测定方法的建立

2.2.2.1 色谱条件 色谱柱:Baseline C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.2%磷酸(77:23);流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长:266 nm;进样体积:20 μL 。

2.2.2.2 大鼠小肠生物样品处理 收集各肠段接收液,以 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min(离心半径为 8.4 cm),取上清液进行 HPLC 分析。

2.2.2.3 专属性 精密称定 Gal 对照品 2.50 mg,用 K-R 液溶解并稀释成 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。分别取空白灌流液、Gal 对照品溶液、灌流接收液进行测

定, 结果见图 1。结果表明灌流接收液中内源性物质对 Gal 测定无干扰, 其色谱图与 Gal 对照溶液色谱图在相同位置出现色谱峰, 方法专属性良好。



注: A. 空白灌流液; B. 高良姜素对照品溶液; C. 肠灌流收集液

图 1 高良姜素肠灌流收集液的高效液相色谱图

Figure 1 HPLC of galangin intestinal perfusate

2.2.2.4 标准曲线的建立 精密称定 Gal 对照品 2.78 mg, 甲醇溶解并定容至 50 mL, 涡旋混匀后作为储备液 ($55.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。精密量取储备液 0.10、0.25、0.50、1.25、2.50、5.00、10.00 mL, 分别移至 10 mL 容量瓶中, 甲醇定容摇匀, 即得浓度为 0.556、1.39、2.78、6.95、13.9、27.8、55.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Gal 对照品溶液, 过滤后进样检测。以峰面积(A)对浓度(C)作线性回归, 得标准曲线方程: $A = 101\ 360C - 4\ 618.5$, $r = 0.999\ 9$, 表明 Gal 在 0.556 ~ 55.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.2.2.5 方法学考察 (1)取浓度为 0.556、27.8、55.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Gal 对照品溶液进样测定, 计算日内精密度(RSD), 结果 RSD 分别为 1.51%、1.38%、0.97%($n=5$)。同时测定各浓度供试品溶液在 3 d 内的含量变化, 计算日间精密度(RSD), 结果 RSD 分别为 1.83%、1.54%、1.12%($n=5$), 说明本方法精密度良好。(2)精密量取 Gal-SMEDDS 适量, K-R 溶液稀释成浓度为 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液, 分别在 0、6、12、24、48 h 取样测定, 结果显示峰面积 RSD 为 2.91%, 表明 Gal 在 48 h 内稳定性良好。(3)分别精密称取 Gal 对照品, 加入已知含量的十二指肠段供试品溶液中, 按上述处理方法及色谱条件进行测定, 将测得的样品峰面积, 按标准曲线计算出相应浓度, 得 Gal 低、中、高各浓度的加样回收率分别为 97.57%、98.45%、102.19%; RSD 为 2.75%, 说明方法的准确度良好。

2.2.3 在体肠吸收实验

2.2.3.1 肠壁物理吸附考察 按 0.4 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量腹腔

注射 1%戊巴比妥麻醉大鼠后, 沿其腹中线胸骨下端开口约 3 cm, 依次分离胃和肠, 小心截取十二指肠、空肠、回肠和结肠各段均 10 cm。生理氯化钠溶液清洗各肠段后, 分别置于 Gal 灌流液、Gal-SMEDDS 灌流液中 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 3 h 后取出各肠段, 取适量肠段孵育液以 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min(离心半径为 8.4 cm), 取上清进行 HPLC 检测。结果表明, 十二指肠、空肠、回肠、结肠在 Gal 灌流液中孵育后, 孵育液中 Gal 相对初始供试液的百分比分别为 $(98.57 \pm 0.90)\%$ 、 $(98.32 \pm 0.78)\%$ 、 $(99.86 \pm 1.32)\%$ 、 $(99.04 \pm 1.26)\%$ ($n=3$); 在 Gal-SMEDDS 灌流液中孵育后, 孵育液中 Gal 相对初始供试液百分比为 $(98.23 \pm 2.23)\%$ 、 $(98.03 \pm 1.27)\%$ 、 $(99.52 \pm 1.26)\%$ 、 $(98.68 \pm 0.83)\%$ ($n=3$)。3 h 内 Gal 混悬液、Gal-SMEDDS 中的 Gal 均可在各肠段孵育液中保持稳定, 相对初始供试液的百分比均大于 98%, 表明各肠段对 Gal 混悬液、Gal-SMEDDS 中 Gal 无明显物理吸附。

2.2.3.2 灌流硅胶管物理吸附考察 将 Gal 灌流液、Gal-SMEDDS 灌流液分别置于烧杯中于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴, 将恒流泵进口管接入烧杯液面下, 出口管接入另一空白烧杯, 控制流速为 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 平衡管路 30 min 后, 收集液以 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min(离心半径为 8.4 cm), 取上清 HPLC 检测。结果表明, Gal 灌流液、Gal-SMEDDS 灌流液经恒流泵循环后, 流出液中 Gal 相对初始供试液百分比分别为 $(99.27 \pm 1.50)\%$ 、 $(99.05 \pm 0.97)\%$ ($n=3$), 表明恒流泵中硅胶管对 Gal 无物理吸附。

2.2.3.3 Gal-SMEDDS 在不同肠段的吸收 取禁食 12 h 不禁水大鼠 12 只, 随机分成 2 组。按照 0.4 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量腹腔注射 1%戊巴比妥, 麻醉后依次分离十二指肠、空肠、回肠和结肠, 各个肠段均取 10 cm。沿各肠段两端各切一小口, 用 37 $^{\circ}\text{C}$ 生理氯化钠溶液冲洗肠段, 注入空气排尽残余溶液, 并将灌流硅胶软管沿肠段切口处插管约 1 cm。各肠段进口管插至装有灌流液的西林瓶中(西林瓶已称质量), 出口管末端插至另一西林瓶(西林瓶已称质量), 小心将暴露的肠段放回至大鼠腹腔, 在切口处覆盖浸有生理氯化钠溶液的医用纱布保持生理湿润, 并于红外灯下维持体温。实验前用待测灌流液以 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 灌流速度平衡整个恒流泵管道 30 min。开始灌流时以 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度灌流, 每 15 min 更换灌流液和接收液并精密称其质量。实验 2 h 后脱颈椎处死大鼠, 剪下各肠段以手术线附着法测量其周长及长度, 并计

算出各肠段内径^[12]。

在体肠灌流实验中,小肠吸收药物的同时也会分泌以及吸收一部分水分,导致药物在进出肠道前后浓度发生改变,因此需要对药物浓度进行校正,减少因水分变化导致浓度改变引起的实验误差。本实验采用质量法对灌流液及接收液体积进行校正,计算 Gal 及 Gal-SMEDDS 的吸收速率常数(K_a)及表观吸收系数(P_{app})^[7],计算方法见公式 1~2。数据均以($\bar{x} \pm s$)

表 1 两种灌流液在不同肠段的吸收参数($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Absorption parameters of two perfusate fluid in different intestinal segments($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	参数	十二指肠	空肠	回肠	结肠
Gal	$K_a/(\times 10^{-2} \text{ min}^{-1})$	5.05 ± 1.12	2.19 ± 0.43	4.57 ± 0.96	2.59 ± 0.53
	$P_{app}/(\times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1})$	5.55 ± 1.05	2.24 ± 0.32	4.74 ± 0.84	3.15 ± 0.50
Gal-SMEDDS	$K_a/(\times 10^{-2} \text{ min}^{-1})$	$11.97 \pm 2.34^*$	3.72 ± 0.68	$10.48 \pm 1.93^*$	$10.32 \pm 1.71^*$
	$P_{app}/(\times 10^{-3} \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1})$	$19.89 \pm 3.66^*$	$5.74 \pm 0.83^*$	$16.93 \pm 3.08^*$	$16.26 \pm 2.54^*$

注:与 Gal 灌流液组比较, * $P < 0.05$

结果显示 Gal 灌流液、Gal-SMEDDS 灌流液中的 Gal 在各肠段均有吸收,但同一灌流液在不同肠段间的吸收以及同一肠段对不同灌流液的吸收均存在差异。Gal 在十二指肠吸收最佳,空肠吸收最差。Gal-SMEDDS 在各肠段的吸收均有较大提高。Gal-SMEDDS 在十二指肠、空肠、回肠、结肠的吸收速率常数 K_a 分别为 Gal 的 2.37、1.70、2.29、3.98 倍,表观吸收系数 P_{app} 分别为 Gal 的 3.58、2.56、3.57、5.16 倍,其中 Gal-SMEDDS 在结肠的吸收提高较为明显,提示其具有一定的结肠靶向作用。两种制剂在十二指肠、回肠、结肠较空肠吸收效果更佳,可能与 Gal 的理化性质及吸收部位肠黏膜有丰富的血管有关。

2.3 药动学研究

2.3.1 大鼠血浆中 Gal 含量检测方法的建立

2.3.1.1 色谱条件 色谱柱: InertSustain C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2%磷酸(68:32); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 266 nm; 进样体积: 20 μL 。

2.3.1.2 大鼠血浆样品处理 向具塞离心管中加入精密移取的血浆样品 0.2 mL,加入乙腈 0.8 mL 去除血浆蛋白,涡旋振荡 3 min 后以 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min(离心半径为 8.4 cm),分离出上清液,室温条件下氮气吹干溶剂。残留物用 100 μL 甲醇溶解,涡旋振荡 3 min,以离心半径为 8.4 cm,5 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液 20 μL 进样。

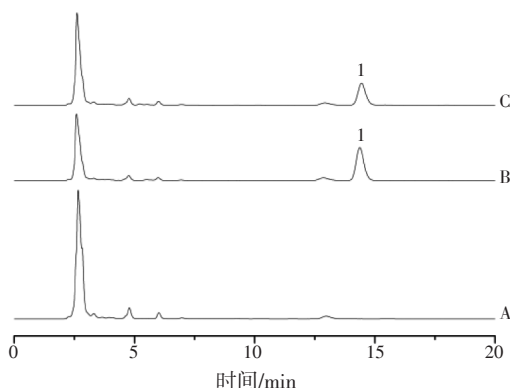
表示,并用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,各组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。Gal、Gal-SMEDDS 在各肠段的主要吸收参数见表 1。

$$K_a = (1 - \frac{C_2 V_2}{C_1 V_1}) \times \frac{V}{\pi r^2 l} \quad (1)$$

$$P_{app} = \frac{-V}{2\pi r l} \times \ln(\frac{C_2 V_2}{C_1 V_1}) \quad (2)$$

其中 V_1 和 V_2 为灌流液、接收液的体积, V 为灌流速度, C_1 , C_2 为灌流液、接收液中 Gal 质量浓度, r 、 l 分别为灌流肠段的半径和长度。

2.3.1.3 专属性 分别取空白大鼠血浆、Gal 对照品血浆、灌胃 Gal-SMEDDS 的大鼠血浆进行测定,见图 2。结果显示血浆中内源性物质对 Gal 的测定无干扰,血浆样品色谱图与 Gal 对照品血浆色谱图在相同位置出现色谱峰,表明该方法专属性良好。



注: A. 空白血浆; B. 高良姜素对照品血浆; C. 灌胃 Gal-SMEDDS 大鼠血浆。1. Gal 色谱峰

图 2 高良姜素血浆样品的高效液相色谱图

Figure 2 HPLC of galangin in plasma samples

2.3.1.4 标准曲线的建立 精密量取 Gal 对照品溶液适量,加入空白血浆 0.2 mL,分别制备含 Gal 质量浓度为 0.025、0.049、0.098、0.454、0.833、1.666、2.499 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的血浆样品。HPLC 法进样测定,以峰面积(A)对浓度(C)作线性回归,得到回归方程: $A = 106\,519C - 6\,460.4$, $r = 0.998\,6$ 。表明在 0.025 ~ 2.499 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。该色谱条件下, Gal 最低检测限为 0.005 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,最低定量限为

0.020 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.1.5 方法学考察 (1)制备质量浓度为 0.049、0.098、1.666 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Gal 血浆样品, 计算日内精密密度(RSD)。结果 RSD 分别为 4.79%、2.46%、3.17% ($n=5$)。同时测定各浓度供试品溶液在 3 d 内的含量变化, 计算日间精密密度(RSD)。结果 RSD 分别为 6.01%、4.12%、4.58% ($n=5$), 表明本方法精密密度良好。(2)将质量浓度为 0.049、0.098、1.666 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Gal 血浆样品冰冻复融 3 次后, 考察其稳定性, 结果各浓度的 RSD 分别为 6.57%、5.82%、7.81%, 表明反复冻融对血浆样品的含量测定无明显影响。(3)制备质量浓度为 0.049、0.098、1.666 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Gal 血浆样品, 各浓度平行操作 5 次, 将测得的样品峰面积参照标准曲线计算出相应浓度, 计算得相对回收率分别为 89.37%、90.45%、85.19%, RSD 分别为 6.05%、8.01%、2.99%; 同时用甲醇配制相同质量浓度的 Gal 对照品溶液进行 HPLC 测定, 计算得样品绝对回收率分别为 79.56%、84.30%、81.17%, RSD 分别为 4.52%、6.73%、3.58%。结果表明准确度符合药物代谢研究测定要求。

2.3.2 动物分组及血样采集 用随机数字表法将大鼠分成 2 组, 每组 6 只, 试验前 12 h 禁食不禁水。按照 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量, 分别灌胃 Gal-SMEDDS 及 Gal 混悬液。给药后 0.17、0.5、0.75、1、1.25、1.5、2、3、4、6、8、10、12、24 h 于大鼠眼眶静脉丛取血 0.5 mL, 置于肝素钠浸润过的离心管, 即刻以 5 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min (离心半径为 8.4 cm), 分离血浆。HPLC 检测。灌胃 Gal-SMEDDS 及 Gal 混悬液的平均血药浓度-时间曲线结果见图 3。与 Gal

混悬液比较, Gal-SMEDDS 在大鼠体内的吸收程度以及速度均有所提高。

2.3.3 药动学参数的拟合 采用 DAS 2.1 软件处理数据, 主要药动学参数包括峰浓度 (C_{max})、达峰时间 (t_{max})、药时曲线下面积 ($\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ 、 $\text{AUC}_{0-\infty\text{ h}}$)、一阶矩曲线下面积 (AUMC)、平均滞留时间 (MRT)。根据 AIC 值小及拟合度 (R^2) 值最接近 1 为原则, 分别对两组数据进行隔室模型拟合。采用统计矩方法计算两组药动学参数, 且进行独立样本的 t 检验。结果见表 2。

表 2 大鼠灌胃高良姜素 (Gal) 混悬液与 Gal-SMEDDS 后的药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Pharmacokinetic parameters after oral administration of galangin (Gal) suspensions or Gal-SMEDDS in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

参数	Gal 混悬液	Gal-SMEDDS
$t_{1/2\alpha}/\text{h}$	1.547 ± 0.108	$1.813 \pm 0.069^*$
$t_{1/2\beta}/\text{h}$	1.646 ± 0.132	$3.265 \pm 0.300^*$
t_{max}/h	1.789 ± 0.074	$1.411 \pm 0.069^*$
$C_{\text{max}}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	0.245 ± 0.016	$0.427 \pm 0.034^*$
$\text{AUC}_{0-24\text{ h}}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	1.207 ± 0.088	$2.059 \pm 0.176^*$
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	1.224 ± 0.091	$2.202 \pm 0.512^*$
$\text{AUMC}/(\text{mg}\cdot\text{h}^2\cdot\text{L}^{-1})$	4.537 ± 0.252	$10.000 \pm 0.461^*$
MRT/h	3.708 ± 0.146	$4.542 \pm 0.192^*$

注: 与 Gal 混悬液组比较, $*P<0.05$

结果表明 Gal 混悬液和 Gal-SMEDDS 均为二室开放模型, 权重因子分别为 1/C、1。与 Gal 混悬液组比较, Gal-SMEDDS 组的 C_{max} 、 $\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ 、 $\text{AUC}_{0-\infty\text{ h}}$ 、MRT 有明显增加, 分别为前者的 1.74、1.71、1.80、1.22 倍, 相对生物利用度 (F) 为 220%。表明 Gal-SMEDDS 相对 Gal 混悬液, 具有吸收迅速且充分、延缓药物释放的优点, 能明显提高 Gal 的口服生物利用度。

3 讨论

药物通过口服途径给药, 其主要吸收部位在肠道。由于不同制剂中药物存在形式不同以及肠道中不同部位生理状态的差异, 均会影响药物的吸收速率, 导致机体内代谢特征不同。因此探讨不同制剂药物的肠吸收及药动学特征, 将有利于合理选择剂型, 为相应处方、工艺的研究及临床合理用药提供依据。

药物在肠道的吸收研究方法包括体内法、体外法、在体法^[13]。其中在体法中的单向灌流法可保持大鼠肠道神经及内分泌功能, 与正常生理状态的肠道

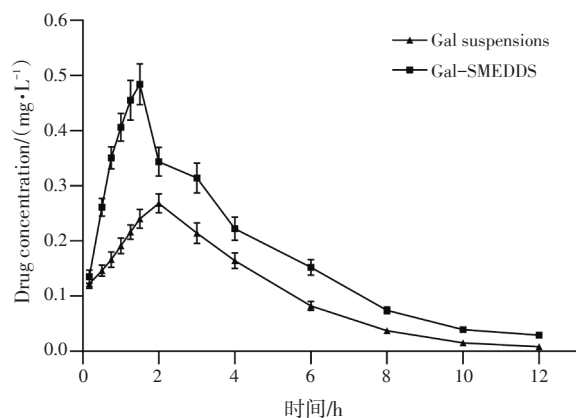


图 3 高良姜素 (Gal) 混悬液和 Gal-SMEDDS 大鼠灌胃给药后 0~24 h 血浆浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 3 Plasma concentration-time curve of galangin (Gal) suspensions and Gal-SMEDDS in rats at 0-24 h after ig administration ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

吸收特征相似,因此被广泛应用。本研究在体肠吸收结果表明,高良姜素(Gal)灌流液、Gal-SMEDDS灌流液中的Gal在各肠段均有吸收,Gal在十二指肠吸收最佳,空肠吸收最差,而Gal-SMEDDS在各肠段的吸收均有较大提高,且在结肠的吸收提高较为明显。同时本研究对肠壁及灌流管进行物理吸附考察,并在正式灌流前用灌流液平衡管道30 min,以减小因物理吸附带来的实验误差。

本药动力学研究表明,Gal混悬液、Gal-SMEDDS的平均血药浓度-时间曲线的动态规律均为二室开放模型,说明二者在大鼠体内消除过程相似,但吸收程度的差异可能与制剂形式相关。二者 C_{max} 、 AUC_{0-24h} 、 $AUC_{0-\infty h}$ 、MRT之间差异具有统计学意义($P < 0.05$),Gal-SMEDDS较Gal混悬液相对生物利用度为220%,表明自微乳给药系统有明显促进Gal吸收的作用。根据相关文献报道^[10,14-15],Gal-SMEDDS在胃肠道蠕动下形成Gal微乳,微乳粒径较小有利于Gal的溶出,SMEDDS还可能促进肠道淋巴转运,且一定程度上可减少Gal在胃肠道中的酶解。同时处方中的油酸乙酯及Cremophor CO 40可通过增加Gal溶解度,改善机体生物膜流动性,提高细胞膜对Gal的通透性,以增加Gal在肠上皮细胞的吸收。

本研究对Gal-SMEDDS进行了大鼠在体肠吸收和药代动力学考察,发现与Gal混悬液相比,Gal-SMEDDS在各肠段均有良好的吸收,且显著提高了Gal大鼠体内口服生物利用度。

参考文献:

- [1] CHEN D, LI D, XU X, et al. Galangin inhibits epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis by downregulating CD44 in glioma[J]. Journal of Cancer, 2019, 10(19): 4499-4508.
- [2] YU S, GONG L, LI N, et al. Galangin(GG) combined with cisplatin (DDP) to suppress human lung cancer by inhibition of STAT3-regulated NF- κ B and Bcl-2/Bax signaling pathways[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 97: 213-224.
- [3] WANG Y, LIN B, LI H, et al. Galangin suppresses hepatocellular carcinoma cell proliferation by reversing the Warburg effect[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 95: 1295-1300.
- [4] KIM M E, PARK P R, NA J Y, et al. Anti-neuroinflammatory effects of galangin in LPS-stimulated BV-2 microglia through regulation of IL-1 β production and the NF- κ B signaling pathways[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2019, 451(1): 145-153.
- [5] WANG H B, HUANG S H, XU M, et al. Galangin ameliorates cardiac remodeling via the MEK1/2-ERK1/2 and PI3K-AKT pathways [J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(9): 15654-15667.
- [6] 李建梅, 霍仕霞, 高莉, 等. 不同纯度高良姜素的药代动力学比较研究[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1307-1310.
- [7] 胡军林, 杨涛, 何开勇. 高良姜素在大鼠肠道的吸收机制[J]. 医药导报, 2015, 34(5): 612-616.
- [8] ZHU Y, WEN L M, LI R, et al. Recent advances of nano-drug delivery system in oral squamous cell carcinoma treatment[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(21): 9445-9453.
- [9] YAN B, MA Y, GUO J, et al. Self-microemulsifying delivery system for improving bioavailability of water insoluble drugs[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2020, 22(1): 1-14.
- [10] MAN N, WANG Q, LI H, et al. Improved oral bioavailability of myricitrin by liquid self-microemulsifying drug delivery systems[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2019, 52: 597-606.
- [11] 陈曦文, 卢昊, 张欣, 等. 单纯形网格法优化设计高良姜素自微乳处方[J]. 中药材, 2020, 43(11): 2753-2758.
- [12] DAHAN A, WEST B T, AMIDON G L. Segmental-dependent membrane permeability along the intestine following oral drug administration: Evaluation of a triple single-pass intestinal perfusion (TSPIP) approach in the rat[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009, 36(2/3): 320-329.
- [13] DEZANI T M, DEZANI A B, DA SILVA JUNIOR J B, et al. Single-pass intestinal perfusion (SPIP) and prediction of fraction absorbed and permeability in humans: A study with antiretroviral drugs[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2016, 104: 131-139.
- [14] GOO Y T, SONG S H, YEOM D W, et al. Enhanced oral bioavailability of valsartan in rats using a supersaturable self-microemulsifying drug delivery system with P-glycoprotein inhibitors [J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2020, 25(2): 178-186.
- [15] WANG L, YAN W, TIAN Y, et al. Self-microemulsifying drug delivery system of phillygenin: formulation development, characterization and pharmacokinetic evaluation[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(2): 1-17.

(编辑: 梁进权)