

羟丙基-β-环糊精包合对细辛脑脑靶向生物利用度的影响

王光明<sup>1\*</sup>, 潘艳<sup>2</sup>, 孔秋玲<sup>2</sup>, 田军<sup>2</sup>

(1. 广东食品药品职业学院, 广州 510520; 2. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:考察羟丙基-β-环糊精包合对细辛脑脑靶向生物利用度的影响。方法:以家兔鼻腔分别灌流细辛脑羟丙基-β-环糊精溶液剂与细辛脑水饱和溶液剂进行比较,考察羟丙基-β-环糊精包合细辛脑后药物的生物利用度。结果:羟丙基-β-环糊精溶液家兔鼻腔灌流后,家兔血液、嗅脑、大脑、筛鼻甲部位的吸收量均高于水饱和溶液,具有统计学意义。结论:细辛脑与羟丙基-β-环糊精形成包合物,经兔鼻腔灌流后,家兔血液、嗅脑、筛鼻甲、大脑吸收量均高于水饱和溶液,细辛脑的生物利用度得到提高。

[关键词] 细辛脑;生物利用度;环糊精

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)15-0021-03

Observation on Bioavailability of α-Asarone by Its Inclusion Complex of Hydroxypropylcyclodextrins

WANG Guang-ming<sup>1\*</sup>, PAN Yan<sup>2</sup>, KONG Qiu-ling<sup>2</sup>, TIAN Jun<sup>2</sup>

(1. Guangdong Food and Drug Vocational College Guangzhou 510520, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Objective: To observe the bioavailability of α-asarone by its inclusion complex of hydroxypropylcyclodextrins. Method: Rabbits were divided into two groups according to different solvents. The bioavailability of α-asarone was compared between the inclusion complex of hydroxypropylcyclodextrins group and water solution group in blood drug concentration, the content of ethmoidal concha, cerebral and olfactory brain. Result: The content of α-asarone in blood, olfactory brain, ethmoidal concha and cerebral has higher solubility in the inclusion complex of hydroxypropylcyclodextrins group than that in the water solution group. Conclusion: α-asarone has higher solubility in the inclusion complex of hydroxypropylcyclodextrins group than that in the water solution group.

[Key words] α-asarone; bioavailability; hydroxypropylcyclodextrins

细辛脑为天南星科多年生草本植物石菖蒲 *Acorus tatarincuii* Schott 的提取物,又名 α-细辛醚、细辛醚和细辛脑 (asarone),化学名称为 2,4,5-三甲氧基-1-丙烯基苯,溶于乙醇、醋酸乙酯、乙醚及三氯甲烷中,不溶于水<sup>[1]</sup>。研究发现 α-细辛脑临床应用于肺炎、哮喘和癫痫发作方面,有比较理想的效果<sup>[2]</sup>。

为便于制剂研究,作者以羟丙基-β-环糊精包合细辛脑作为剂型改革方向,前期研究显示<sup>[3]</sup>,用羟丙基环糊精包合能提高细辛脑在水中溶解的量。本研究进一步对家兔鼻腔分别灌流细辛脑羟丙基-β-环糊精溶液剂与细辛脑水饱和溶液剂进行比较,考察羟丙基-β-环糊精包合细辛脑后,药物的生物利用度是否有所提高。

1 材料

1.1 仪器 Dionex HPLC (P680 HPLC UVD170U 检测器),Agilent HC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),BP110S 型分析天平 (Sartorius),KQ5200DE 型

[收稿日期] 20110316(011)

[基金项目] 广东省中医药管理局课题(2008198)

[通讯作者] \*王光明,硕士,副教授,从事基础医学的教学与中药新剂及质量标准研究, Tel: 020-28854936, E-mail: wanggm@gdyzy.edu.cn

数控超声波清洗器(昆明市超声仪器有限公司), SHZ-88 型台式水浴恒温振荡器(使用前以水银温度计校正读数)。

**1.2 试药**  $\alpha$ -细辛脑对照品(批号 10298-0001, 中国药品生物制品检定所提供),  $\alpha$ -细辛脑原料(湖北荷普药业有限公司),  $\beta$ -环糊精(国药集团化学试剂有限公司), 羟丙基环糊精(7WACKER)。流动相中的甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。新西兰兔,  $3\text{ kg} \pm 0.1\text{ kg}$ , SPF 级, 来源于广州中医药大学动物实验中心, 许可证号 SCXK(粤)2009-0032。

## 2 方法与结果

### 2.1 细辛脑在血液中方法学的考察

**2.1.1 色谱条件、贮备液的配制、专属性考察、线性考察、精密度考察** 见相关研究<sup>[3]</sup>。

**2.1.2 稳定性试验** 取同一细辛脑的供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 12, 24 h 进样测定, 细辛脑峰面积的 RSD 0.33%, 结果表明成分 24 h 内稳定。

**2.1.2 加样回收试验** 取已知浓度的细辛脑对照品溶液, 按照高、中、低 3 个浓度加入家兔空白血清中, 按照 2.1 项下色谱条件测定, 计算回收率。结果加样回收率均值 96.99%, RSD 2.04%。

### 2.2 细辛脑在脑中方法学的考察

**2.2.1 色谱条件、贮备液的配制、专属性考察、线性考察、精密度考察** 见相关研究<sup>[3]</sup>。

**2.2.2 稳定性试验** 取同一细辛脑供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 12, 24 h 进样测定, 细辛脑峰面积的 RSD 0.87%, 结果表明成分 24 h 内稳定。

**2.2.3 加样回收试验** 加样回收率均值 98.40%, RSD 1.74%。

### 2.3 细辛脑在筛鼻甲中方法学的考察

**2.3.1 色谱条件、贮备液的配制、专属性考察、线性考察、精密度考察** 见相关研究<sup>[3]</sup>。

**2.3.2 稳定性试验** 取同一细辛脑供试品溶液, 分别于 0, 3, 6, 12, 24 h 进样测定, 细辛脑峰面积的 RSD 0.41%, 结果表明成分 24 h 内稳定。

**2.3.3 加样回收试验** 加样回收率均值 97.62%, RSD 1.38%。

**2.4 家兔鼻腔灌流试验** 细辛脑饱和生理盐水溶液的配制: 在生理盐水中加入过量的细辛脑, 振摇后, 室温放置 48 h, 滤除没有溶解的细辛脑, 即得。循环液的配制: 取高浓度酚红生理盐水液 5 mL, 加入细辛脑生理盐水的饱和溶液 95 mL, 混匀即得。

细辛脑环糊精溶液的配制: 以优选的最佳工艺进行制备, 备用<sup>[3]</sup>。

**2.4.1 实验动物模型与实验装置** 取 3 kg 左右的家兔, 耳缘静脉注射 40% 乌拉糖麻醉, 待家兔麻醉后, 将家兔头部垂向地面(即与手术台呈垂直状态)固定于手术台上, 将硅胶管顺着鼻腔轻轻往里插(通过解剖发现从家兔的鼻孔处往里插 8.5 ~ 9 cm 时, 正好插到没有鼻中隔阻碍的部分, 使药液从另一鼻孔流出, 在鼻黏膜得到充分的吸收), 再将盛有药液的容器置于 37 °C 超级恒温水浴器中, 用蠕动泵将药液以一个恒定的速度泵入鼻腔, 并从两侧的鼻孔流出, 定时取样测定灌流液中药物浓度, 以确定药物吸收量。

**2.4.2 取样及测定** 取灌流液 1.5 mL, 记为原始样液, 先用生理盐水冲洗家兔的鼻腔, 等到家兔适应之后, 通入灌流液, 每 10 min 收集 1 次, 共收集 6 次的样品, 各时间段的样品取 0.2 mL 加入 3.8 mL 0.2 mol · L<sup>-1</sup> 的 NaOH 溶液显色, 在 555 nm 处测定酚红的吸光度, 从而推知鼻腔给药的真实体积, 其余的水饱和溶液的样品用移液枪移取 0.3 mL, 加入 0.9 mL 甲醇, 涡旋振荡均匀后, 8 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 精密量取上清液 1 mL, 用甲醇定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 倒入移液管中密封后, 置于 -20 °C 的冰箱中待测, 测定前迅速用 0.22 μm 的滤膜过滤, 即得。羟丙基-β-环糊精包合的样品用移液枪移取 0.3 mL, 加入 0.9 mL 甲醇, 涡旋振荡均匀后, 8 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 精密量取上清液 0.25 mL, 用甲醇定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 倒入移液管中密封后, 置于 -20 °C 的冰箱中待测, 测定前立即用 0.22 μm 的滤膜过滤, 即得。将鼻腔灌流后的家兔心脏取血, 血液先静置 30 min, 8 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液 0.3 mL, 加入 0.9 mL 甲醇, 涡旋振荡均匀后, 离心 10 min, 取上清液密封, 置于 -20 °C 的冰箱中待测, 测定前立即用 0.22 μm 的滤膜过滤, 即得; 将家兔大脑、嗅脑、筛鼻甲取出, 大脑和嗅脑按照 3 mL · g<sup>-1</sup> 加入甲醇用匀浆器匀浆, 筛鼻甲按照 3 mL · g<sup>-1</sup> 加入甲醇于研钵中研匀, 各个样品 8 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min 取上清液密封后置于 -20 °C 的冰箱中待测, 测定前立即用 0.22 μm 的滤膜过滤, 即得。

**2.4.3 统计学方法** 应用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析。两组计量资料比较采用 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析, 方差不齐时采用 *q*

检验。结果见表 2~4。

表 2 灌流液中细辛脑的吸收率( $\bar{x} \pm s$ ) %

| $t$<br>/min | 细辛脑饱和水溶液<br>吸收率( $n=10$ ) | 羟丙基环糊精包合细辛脑<br>溶液吸收率( $n=12$ ) |
|-------------|---------------------------|--------------------------------|
| 10          | 72.57 ± 13.01             | 32.99 ± 7.31                   |
| 20          | 73.34 ± 12.59             | 32.68 ± 7.46                   |
| 30          | 73.06 ± 12.64             | 32.81 ± 7.26                   |
| 40          | 71.98 ± 13.21             | 32.89 ± 7.24                   |
| 50          | 72.23 ± 12.74             | 32.91 ± 7.37                   |
| 60          | 72.09 ± 12.73             | 32.97 ± 7.40                   |

注:两组各时间点吸收率比较, $P>0.05$ ,表 3 同。

表 3 灌流液中细辛脑的吸收绝对量( $\bar{x} \pm s$ )  $\mu\text{g}$

| $t$ /min | 细辛脑饱和水溶液<br>样品吸收绝对量<br>( $n=10$ ) | 羟丙基环糊精包<br>合细辛脑溶液样品<br>吸收绝对量( $n=12$ ) |
|----------|-----------------------------------|----------------------------------------|
|          | 原液含量 499.09                       | 原液含量 25 871.14                         |
| 10       | 362.19 ± 64.93                    | 8 533.90 ± 1 892.48                    |
| 20       | 366.03 ± 62.83                    | 8 402.89 ± 1 964.57                    |
| 30       | 364.66 ± 63.07                    | 8 450.88 ± 1 900.65                    |
| 40       | 359.12 ± 65.9                     | 8 492.46 ± 1 885.17                    |
| 50       | 360.48 ± 63.56                    | 8 466.73 ± 1 940.97                    |
| 60       | 359.803 ± 63.55                   | 8 490.036 ± 1 939.55                   |

表 4 给家兔不同制剂细辛脑在血液、嗅脑、  
大脑、筛鼻甲内的分布( $\bar{x} \pm s$ )

| 部位                                   | 细辛脑饱和水溶液<br>( $n=10$ ) | 羟丙基环糊精包合<br>细辛脑溶液( $n=12$ )      |
|--------------------------------------|------------------------|----------------------------------|
| 血( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 0.008 4 ± 0.006 2      | 0.603 9 ± 0.367 9 <sup>1)</sup>  |
| 嗅脑( $\mu\text{g}$ )                  | 0.003 1 ± 0.001 8      | 0.293 4 ± 0.130 4 <sup>1)</sup>  |
| 大脑( $\mu\text{g}$ )                  | 0.061 9 ± 0.055 7      | 7.069 1 ± 3.182 6 <sup>1)</sup>  |
| 筛鼻甲( $\mu\text{g}$ )                 | 0.087 7 ± 0.079 5      | 10.486 1 ± 3.880 7 <sup>1)</sup> |

注:不同部位细辛脑浓度或含量两组比较<sup>1)</sup> $P<0.01$ 。

3 讨论

前期研究结果显示<sup>[3]</sup>,用羟丙基环糊精包合能提高细辛脑在水中溶解的量,本研究旨在对其生物利用度的影响进一步研究。从表 2,3 可以看出,家兔鼻腔灌流细辛脑饱和水溶液后的吸收率要大于灌流细辛脑羟丙基环糊精溶液后的吸收率,而吸收的绝对量则是刚好相反,即灌流细辛脑羟丙基环糊精溶液后的吸收绝对量大于灌流细辛脑饱和溶液后的吸收绝对量。表 4 可见灌流细辛脑羟丙基环糊精溶液,家兔大脑、嗅脑、筛鼻甲中的吸收量及血液中细

辛脑的浓度都要高于灌流细辛脑饱和溶液后相对应部分的浓度。可见细辛脑的生物利用度得到提高。自 60 年代起,国内外对  $\alpha$ -细辛脑进行了广泛的研究,已证实其有很强的药理活性,主要的功效包括止咳、祛痰、平喘、镇静、解痉以及抗惊厥。对肺炎双球菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长也有不同程度抑制作用。提取的单体临床应用于肺炎、哮喘、癫痫大发作等收到良好疗效。进入 80 年代后,我国成功地人工合成了  $\alpha$ -细辛脑,制成片剂、针剂和胶囊剂投放市场。但是细辛脑口服生物利用度低<sup>[4]</sup>,注射剂本身具有安全性及机体适用性差,有可能给患者带来危害。环糊精包合是难溶性药物与 CD 形成包合物后,药物分子被包含于  $\beta$ -CD 分子空腔中,具有很高的分散度,同时由于  $\beta$ -CD 的亲水性,使包合物具有良好的可润湿性,药物得到了增溶,从而能够改善药物的体外溶出特性和人体生物利用度。环糊精的种类比较多,常用的环糊精有  $\beta$ -环糊精、羟丙基- $\beta$ -环糊精等,但是由于  $\beta$ -环糊精自身的溶解性能差,限制了它的应用,与  $\beta$ -环糊精相比较羟丙基- $\beta$ -环糊精的水溶性好,且羟丙基- $\beta$ -环糊精水溶液可耐受热压灭菌或过滤除菌,高压灭菌一般不会对羟丙基- $\beta$ -环糊精水溶液造成明显的影响,这一点对非胃肠道给药十分重要;如果药物具有热敏性,也可采用低温过滤除菌方法,如用 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤。鉴于以上羟丙基- $\beta$ -环糊精具有的优点,本实验以羟丙基- $\beta$ -环糊精包合细辛脑作为剂型改革的方向,考察羟丙基- $\beta$ -环糊精包合细辛脑后,药物的生物利用度是否有所提高,探讨细辛脑鼻腔给药后,药物在脑内释放的可行性,以期能为细辛脑鼻腔给药脑内释放研究提供新的思路。

[参考文献]

[1] 杨云,冯卫生. 中药化学成分提取分离手册 [M]. 北京:中国中医药出版社,2001:119.  
[2] 吴闯.  $\alpha$ -细辛脑的研究进展[J]. 中国药学杂志, 1997, 32(3): 129.  
[3] 王光明,王振化,潘艳,等. 细辛脑溶解度及羟丙基环糊精包合作用的考察[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(1):171.  
[4] 吴闯. 细辛脑片剂的生物利用度[J]. 中国医院药学杂志, 2003,23(10): 597.

[责任编辑 全燕]