

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.02.0249

• 短篇论著 •

吴茱萸碱油包水型复合纳米乳的药代动力学和在体肠吸收

晏声蕾¹, 胡江波², 王 薛¹, 石明芯¹, 张景勍^{1*}

1. 重庆医科大学药学院重庆高校药物工程研究中心, 重庆 400016

2. 重庆市南岸区妇幼保健院药剂科, 重庆 400060

[摘要] **目的** 考察吴茱萸碱油包水型复合纳米乳在雄性 SD 大鼠体内的药代动力学、在体肠吸收情况。**方法** 12只雄性 SD 大鼠灌胃给予吴茱萸碱油包水型复合纳米乳和吴茱萸碱(吴茱萸碱质量浓度为 100 mg/kg)后, 分别于 0.083、0.25、0.5、0.75、1、2、5、8、12、24、48 和 72 h 时眼底采血, 用 HPLC 法检测血药浓度, 用 DAS 2.1.1 软件对数据进行拟合, 分析其药动学行为; 建立在体单向肠灌流模型, 研究药物在大鼠体内的吸收情况。**结果** 吴茱萸碱油包水型复合纳米乳的药时曲线下面积(AUC)为(4 924.59±1 105.28) $\mu\text{g} \cdot \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, 峰浓度(C_{max})为(305.47±51.23) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和达峰时间(T_{max})为(0.83±0.29) h; 其在胃中的吸收速率常数(K_a)为(1.05±0.82) $\times 10^{-5} \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$; 在十二指肠、空肠、回肠和结肠中的 K_a 分别为(12.19±1.57) $\times 10^{-5}$ 、(12.66±1.35) $\times 10^{-5}$ 、(11.94±4.17) $\times 10^{-5}$ 和(11.21±1.25) $\times 10^{-5} \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$, 有效渗透系数(P_{eff})分别为(26.03±3.84) $\times 10^{-5}$ 、(18.48±5.99) $\times 10^{-5}$ 、(19.77±2.59) $\times 10^{-5}$ 和(36.02±1.48) $\times 10^{-5} \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。**结论** 吴茱萸碱油包水型复合纳米乳增强了吴茱萸碱在胃和各个肠段中的吸收, 提高了吴茱萸碱在大鼠体内的生物利用度。

[关键词] 吴茱萸碱; 纳米乳; 药代动力学; 肠吸收; 单向肠灌流

[中图分类号] R 965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)02-0249-04

Pharmacokinetics and *in situ* intestinal absorption of evodiamine complex water-in-oil nanoemulsion

YAN Sheng-lei¹, HU Jiang-bo², WANG Xue¹, SHI Ming-xin¹, ZHANG Jing-qing^{1*}

1. Chongqing Research Center for Pharmaceutical Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

2. Department of Pharmacy, Chongqing Nan'an Maternal and Child Health Care Hospital, Chongqing 400060, China

[Abstract] **Objective** To investigate the pharmacokinetic behavior and *in situ* intestinal absorption of evodiamine complex water-in-oil nanoemulsion (WECNE). **Methods** WECNE was formulated with the titration stirring methods. Twelve male SD rats were intragastrically administered with evodiamine (EDA) and WECNE at the same EDA dose of 100 mg \cdot kg⁻¹. Blood samples were collected from eye socket at 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 5, 8, 12, 24, 48 and 72 h after intragastrical administration, and the plasma concentrations of EDA were determined by RP-HPLC. DAS 2.1.1 software was applied to evaluate the pharmacokinetic behavior. Single-pass intestinal perfusion was carried out to test the intestinal absorption *in situ*. **Results** The area under the curve (AUC_{0-72 h}), peak concentration (C_{max}) and time to peak (T_{max}) of WECNE were (4 924.59±1 105.28) $\mu\text{g} \cdot \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, (305.47±51.23) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and (0.83±0.29) h, respectively. The absorption rate constant (K_a) of WECNE in the stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon were (1.05±0.82) $\times 10^{-5}$, (12.19±1.57) $\times 10^{-5}$, (12.66±1.35) $\times 10^{-5}$, (11.94±4.17) $\times 10^{-5}$ and (11.21±1.25) $\times 10^{-5} \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively. In addition, the effective permeability (P_{eff}) of WECNE in the duodenum, jejunum, ileum and colon were (26.03±3.84) $\times 10^{-5}$, (18.48±5.99) $\times 10^{-5}$, (19.77±2.59) $\times 10^{-5}$ and (36.02±1.48) $\times 10^{-5} \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively. **Conclusion** WECNE can improve the bioavailability and the absorption *in situ* of EDA in different parts of the gastrointestinal tract.

[Key words] evodiamine; nanoemulation; pharmacokinetics; intestinal absorption; single-pass intestinal perfusion

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(2): 249-252]

[收稿日期] 2016-06-22 **[接受日期]** 2016-09-02

[基金项目] 重庆市科委项目(cste2015jcyjBX0027). Supported by Project of Chongqing Science and Technology Commission (cste2015jcyjBX0027).

[作者简介] 晏声蕾, 硕士生. E-mail: 1347298118@qq.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 023-68485161, E-mail: zjqrae01@163.com

吴茱萸碱(evodiamine, EDA)是中药吴茱萸中的一种生物碱,对阿尔茨海默病、疼痛、肥胖、月经不调以及产后出血等症状有一定作用^[1]。研究表明 EDA 具有广泛的抗癌活性,对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、宫颈癌和肺癌等都具有一定的疗效^[2]。但 EDA 存在水溶性差、生物利用度低、代谢过快等缺点,使其临床应用受到限制^[3]。磷脂复合物常作为中药活性成分的载体,可改善药物的溶解性、渗透性,提高药物的吸收、口服生物利用度,磷脂是组成生物膜的成分,在携带药物进入组织细胞时对细胞无毒性^[4-5]。但磷脂复合物提高药物生物利用度的能力有限^[6]。新型药物载体纳米乳具有较好的溶解性、缓释性、靶向性以及较高的生物利用度^[7]。所以本实验将 EDA 和磷脂形成复合物后,进一步制成吴茱萸碱油包水型复合纳米乳(evodiamine complex water-in-oil nanoemulsion, WECNE),希望结合两种药物载体的优势,进一步提高 EDA 的生物利用度。本文考察了 WECNE 在大鼠中的药代动力学行为和体肠吸收特征,为 EDA 在临床上的应用提供基础。

1 材料和仪器

1.1 主要仪器 Agilent 1100 液相色谱仪,美国 Agilent 公司;AB 204 S 电子分析天平,瑞士 Mettler Toledo 仪器公司;HHS-4S 电子恒温不锈钢水浴锅,上海康路仪器设备有限公司;QL-901 型旋涡混合器,其林贝尔仪器制造有限公司;TGL-16B 台式高速离心机,上海安亭科学仪器厂;DF-101S 集热式磁力搅拌器,予华仪器有限责任公司;HL-1 恒流泵,上海青浦沪西仪器厂。

1.2 主要试剂 EDA(纯度>99%),武汉远城科技发展有限公司;甲醇(色谱纯),美国新天地科技有限公司;Krebs-Ringer 循环液,实验室自制(批号为 20151102);实验用水,超纯水。

1.3 实验动物 健康雄性 SD 大鼠,体质量 210~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(渝)2011-0001。

2 方法和结果

2.1 WECNE 的制备 称取磷脂和 EDA(质量比 25:1)溶于乙醇中,搅拌 3 h,挥干得复合物。取乙酸乙酯、聚氧乙萘蓖麻油和聚乙二醇,加入复合物,搅拌 6 h,冷却后滴加纯化水,溶液澄清,即得到

WECNE。取适量 WECNE,用水稀释 10 倍,涡旋后测得其平均 zeta 电位为-8.16 mV。

2.2 药代动力学实验

2.2.1 色谱条件^[8] 色谱柱为大连伊利特 Lichrospher C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(体积比 70:30);检测波长为 225 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 35℃;以厚朴酚为内标,进样量为 40 μL。

2.2.2 药代动力学实验步骤 12 只 SD 大鼠给药前禁食 12 h,可饮水,分别单剂量灌 EDA 混悬液和 WECNE(EDA 质量浓度 100 mg·kg⁻¹)。给药后在预设的时间点(0.083、0.25、0.5、0.75、1、2、5、8、12、24、48、72 h)眼底取血,将血样品置于预先肝素化的离心管中,离心 10 min。吸取血浆、和厚朴酚内标工作液(体积比 15:1)适量,涡旋后加入氨水,再次涡旋后加入乙醚,涡旋后静置,再涡旋,反复 3 次。再次涡旋后,吸取上清液于离心管中,挥干乙醚,加入甲醇,涡旋,离心,吸取上清液,在 2.2.1 项色谱条件下检测药物含量。

2.2.3 血药浓度-时间曲线的绘制 以 EDA 的血药浓度作为纵坐标,取样时间点作为横坐标作图,得图 1。WECNE 的曲线和 EDA 曲线相似,但其相同时间点对应的血药浓度大于 EDA,且其最高血药浓度(C_{max})和药时曲线下面积(AUC)大于 EDA,表明 WECNE 在体内的吸收比 EDA 好;WECNE 的完全消除时间(72 h)是 EDA(24 h)的 3 倍,说明 WECNE 比 EDA 消除慢,药物可长时间维持在较高血药浓度。

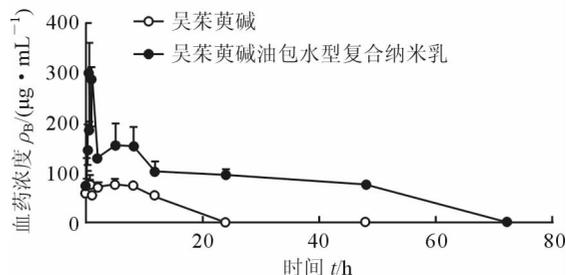


图 1 吴茱萸碱油包水型复合纳米乳和吴茱萸碱的血药浓度-时间曲线

$n=6, \bar{x} \pm s$

药动学数据用 DAS 2.1.1 软件进行拟合, WECNE 和 EDA 非房室模型主要药动学参数见表 1。用拟合度、加权残差平方和赤池信息量准则判断两者的隔室模型, WECNE 表现为二室模型,而

EDA 动力学行为符合单室模型,两者房室模型主要药动学参数见表1。

由非房室模型参数可知, WECNE 和 EDA 的 $AUC_{0-72\text{h}}$ 比值约为 6.30, 说明将 EDA 制成 WECNE 后, 生物利用度明显提高; WECNE 与 EDA 的 C_{max} 比值为 3.71, 表明 WECNE 能增加 EDA 的吸收, 有利于 EDA 发挥药效; WECNE 的平均滞留时间 ($MRT_{0-\infty}$) 为 EDA 的 2.32 倍, 表明 WECNE 能延

长 EDA 在体内的停留时间; WECNE 的 T_{max} 小于 EDA, 说明 WECNE 能加快 EDA 进入血液循环的速率。

由房室模型参数可知, WECNE 和 EDA 的 $AUC_{0-72\text{h}}$ 、 $t_{1/2}$ 比值分别约为 6.30、2.32, 说明 EDA 在体内的吸收增加, 消除减慢。所以, 无论是根据房室模型还是非房室模型分析, 结果都表明 WECNE 可以增加 EDA 的生物利用度, 延缓 EDA 的释放。

表1 吴茱萸碱油包水型复合纳米乳和吴茱萸碱药动学参数

$n=6, \bar{x} \pm s$

药动学参数	非房室模型		房室模型	
	吴茱萸碱	吴茱萸碱油包水型复合纳米乳	吴茱萸碱	吴茱萸碱油包水型复合纳米乳
达峰时间 t/h	2.17±2.45	0.83±0.29*	2.17±2.45	0.83±0.29*
达峰浓度 $\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	82.22±19.07	305.47±51.23*	82.22±19.07	305.47±51.23*
药时曲线下面积 $(\mu\text{g} \cdot \text{L} \cdot \text{h}^{-1})$	781.20±139.38	4 924.59±1 105.28*	755.95±146.75	4 762.54±1 154.38*
平均保留时间 t/h	5.84±0.31	20.11±0.54		
半衰期 t/h			14.51±6.60	34.76±14.24
清除率 $(\text{L} \cdot \text{h} \cdot \text{kg}^{-1})$	55.26±9.18	13.81±6.51*	55.05±9.43	12.77±4.77*

* $P < 0.05$ 与吴茱萸碱组比较

2.3 在体肠吸收实验

2.3.1 色谱条件^[9] 色谱柱为大连伊利特 Lichrospher C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(体积比 75:25); 检测波长 225 nm, 流速为 1 mL·min⁻¹, 柱温为 35℃; 进样量 20 μL 。

2.3.2 在体肠吸收实验步骤 SD 大鼠给药前禁食 18 h, 可饮水, 大鼠麻醉后固定。沿大鼠的腹中线打开腹腔, 在胃幽门、贲门两侧各剪开一个小口, 插管, 将两端用线绳结扎。用人工胃液排除胃内容物后, 分别灌入 4 mL EDA 质量浓度为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 EDA 混悬液和 WECNE, 2 h 后取出药液, 冲洗胃内的剩余药液, 用 25 mL 容量瓶定容。然后依次找到所需的各个肠段, 幽门以下 1 cm 处为十二指肠段, 幽门向下 15 cm 处为空肠段, 至盲肠上段 20 cm 处为回肠段, 盲肠后段为结肠段, 各肠段均取 10 cm。在待测肠段的上端和下端插

管结扎, 将肠内容物排净, 将空白 Krebs-Ringer 循环液以 0.5 mL·min⁻¹ 流速循环 10 min 后, 换含药的循环液, 灌流液进入肠段开始计时, 调节流速为 0.21 mL·min⁻¹, 灌流 1 h 后收集灌流液。将实验肠段用空白 Krebs-Ringer 液冲洗后合并灌流液, 定容, -20℃ 条件下保存, 在 2.3.1 项条件下检测 EDA 含量。实验结束后剪下不同的肠段, 测定各个肠段的长度、内径, 计算药物的吸收速率常数 (K_a) 和有效渗透系数 (P_{eff})^[10]。

由表 2 知, WECNE 的 K_a 在胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠中与 EDA 的比值依次为 1.52、2.85、3.79、3.99 和 3.61; 其 P_{eff} 在 4 个肠段中和 EDA 的比值依次为 6.24、4.40、4.92、7.38。WECNE 使 EDA 在胃部和各个肠段的吸收程度均提高, 但在结肠中的 P_{eff} 提高更明显, 提示其对结肠有一定的靶向作用。

表2 吴茱萸碱油包水型复合纳米乳和吴茱萸碱的吸收速率常数和有效渗透系数

$n=3, \bar{x} \pm s$

部位	吸收速率常数 ($\text{L} \cdot \text{s}^{-1}, \times 10^{-5}$)		有效渗透系数 ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}, \times 10^{-5}$)	
	吴茱萸碱	吴茱萸碱油包水型复合纳米乳	吴茱萸碱	吴茱萸碱油包水型复合纳米乳
胃	0.69±0.41	1.05±0.82		
十二指肠	4.27±2.34	12.19±1.57*	4.17±2.31	26.03±3.84*
空肠	3.34±1.71	12.66±1.35*	4.20±2.37	18.48±5.99*
回肠	2.99±1.45	11.94±4.17*	4.01±2.14	19.77±2.59*
结肠	3.10±1.81	11.21±1.25*	4.88±3.12	36.02±1.48*

* $P < 0.05$ 与吴茱萸碱组比较

3 讨论

乳剂因具有靶向性、缓释性等优点而广泛应用于抗癌药物中,如鸦胆子油乳剂和环孢素口服微乳均已在国内上市。WECNE 具有长效、靶向、高效等优点,可以考虑作为抗癌药物。EDA 制备成为磷脂复合物后,生物利用度增加约 2 倍^[4],但制备为 WECNE 后,口服药物的生物利用度提高到 6 倍以上,达到了实验预期的效果。因 WECNE 为油包水型纳米乳,在胃肠道中可能会出现二次乳化,可将 WECNE 以软胶囊形式给药,提高在胃肠道中的稳定性。

小肠被认为是口服药物的主要吸收部位^[11],所以要提高 EDA 的生物利用度可通过增加其在小肠中的吸收速度和程度,减少其在体内的代谢和消除。WECNE 使 EDA 生物利用度增加的原因可能为:(1)和 EDA 相比,WECNE 可经多种方式透过生物膜屏障,增强了药物分子的透膜吸收程度,增加了药物的吸收^[12]。(2)WECNE 可增加药物的溶解,提高药物和胃肠道的接触时间和面积^[7],使药物吸收增加。(3)EDA 和磷脂形成复合物后,药物被包埋于磷脂中^[13],提高了 EDA 的水溶性和脂溶性,使其亲水性、亲脂性在适合范围内,增加了药物的溶解和吸收,提高了生物利用度^[4-5]。(4)WECNE 中表面活性成分和磷脂将细胞膜中的脂质成分溶解,改变了细胞膜的渗透性,有利于药物的吸收。(5)药物包裹于磷脂或者纳米乳中,阻碍了酶促反应进行,减少了 EDA 的代谢和消除^[14]。

[参考文献]

[1] 张志仙,蒋美玲,王欣慧,李云展,龚国清. 吴茱萸碱的药剂学研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14: 4189-4195.

[2] JIANG J, HU C. Evodiamine: a novel anti-cancer alkaloid from evodiamine rutaecarpa[J]. *Molecules*, 2009, 14: 1852-1859.

[3] SHYR M H, LIN L C, LIN T Y, TSAI T H. Determination and pharmacokinetics of evodiamine in the plasma and feces of conscious rats[J]. *Anal Chim*

Acta, 2006, 558: 16-21.

- [4] TAN Q, LIU S, CHEN X, WU M, WANG H, YIN H, et al. Design and evaluation of a novel evodiamine-phospholipid complex for improved oral bioavailability[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2012, 13: 534-547.
- [5] KHAN J, ALEXANDER A, AJAZUDDIN, SARAF S, SARAF S. Recent advances and future prospects of phyto-phospholipid complexation technique for improving pharmacokinetic profile of plant actives[J]. *J Control Release*, 2013, 168: 50-60.
- [6] 郝海军,张红芹,贾幼智,韩茹,王航. 采用制剂新技术提高中药磷脂复合物的溶出度和生物利用度研究进展[J]. *中草药*, 2013, 44: 2474-2479.
- [7] 李艳萍,张志荣. 纳米乳的研究进展及其应用[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25: 485-488.
- [8] 柳珊,谭群友,刘雨,王红,张景勍. 液液萃取高效液相色谱法测定纳米乳中吴茱萸碱的血浆浓度[J]. *中成药*, 2012, 34: 472-476.
- [9] 柳珊,谭群友,廖红,王红,张景勍. 高效液相色谱法测定复方吴茱萸碱纳米乳的含量[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32: 244-246.
- [10] 孙全,杨林,陈学梁,赵德璋,张景勍. 溴吡斯的明纳米乳体外释放行为评价[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35: 132-135.
- [11] LUO Z, LIU Y, ZHAO B, TANG M, DONG H, ZHANG L, et al. *Ex vivo* and *in situ* approaches used to study intestinal absorption[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, 68: 208-216.
- [12] 袁媛,孙亚楠,鲁传华. 纳米药物的生物学特点及其机制研究概况[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29: 1180-1184.
- [13] SINDHUMOL P G, THOMAS M, MOHANACHANDRAN P S. Phytosomes: a novel dosage form for enhancement of bioavailability of botanicals and nutraceuticals[J]. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2010, 2: 10-14.
- [14] SUN H Z, FANG Z Z, CAO Y F, SUN X Y, HONG M. Investigation of the *in vitro* metabolism of evodiamine: characterization of metabolites and involved cytochrome p450 isoforms [J]. *Phytother Res*, 2013, 27: 705-712.

[本文编辑] 尹 茶