

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.05.013

· 论 著 ·

水飞蓟宾脂肪乳在大鼠体内的药物代谢动力学及组织分布

张蓬华, 梁俊, 张静, 董永成 (湖北医药学院附属太和医院, 湖北十堰 442000)

[摘要] 目的: 研究水飞蓟宾脂肪乳在大鼠体内的药物代谢动力学及组织分布。方法: 采用水飞蓟宾注射液为对照, 3P97 药物代谢动力学软件拟合药物代谢动力学模型并计算药物代谢动力学参数, 采用相对摄取率(*Re*)、总靶向系数(*Te*)、药物分布效率(*Rte*)评价水飞蓟宾脂肪乳在大鼠体内的组织分布及靶向性。结果: 水飞蓟宾脂肪乳在大鼠体内分布符合二室模型, 其主要药动学参数为: $t_{1/2\alpha} = (0.6237 \pm 0.0978) \text{ h}$, $t_{1/2\beta} = (19.7513 \pm 2.1372) \text{ h}$, $CL = (0.0024 \pm 0.0009) \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (239.0117 \pm 15.2613) \text{ mg}/(\text{h} \cdot \text{L})$ 。肝脏和脾脏中的 *Re* 分别为 2.417 和 2.042, *Rte* 分别为 2.241 和 1.890。结论: 与水飞蓟宾注射液相比, 水飞蓟宾脂肪乳能提高对肝脏、脾脏的趋向性, 有利于提高其疗效。

[关键词] 水飞蓟宾; 脂肪乳; 药物代谢动力学; 组织分布

[中图分类号] R969.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)05-0034-04

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Silybin Lipid Emulsion in Rats

Zhang Penghua, Liang Jun, Zhang Jing, Dong Yongcheng (Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical College, Hubei Shiyan 442000, China)

[Abstract] Objective: To study the pharmacokinetics and tissue distribution of silybin lipid emulsion in rats. **Methods:** With silybin injection as reference, pharmacokinetic model and parameters were calculated by 3P97. In vivo tissue distribution and targeting of silybin lipid emulsion in rats were evaluated by *Te*, *Re*, *Rte*. **Results:** Pharmacokinetic data fitted a two-compartment model, main pharmacokinetic parameters of silybin lipid emulsion were as follows: $t_{1/2\alpha} = (0.6237 \pm 0.0978) \text{ h}$, $t_{1/2\beta} = (19.7513 \pm 2.1372) \text{ h}$, $CL = (0.0024 \pm 0.0009) \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, $AUC_{0 \rightarrow \infty} = (239.0117 \pm 15.2613) \text{ mg}/(\text{h} \cdot \text{L})$. *Re* in liver, spleen were 2.417, 2.042, *Rte* in liver, spleen were 2.241, 1.890. **Conclusion:** Compared to silybin injection, silybin lipid emulsion could improve tendency for liver and spleen, and help improving its therapeutic effect.

[Keywords] silybin; lipid emulsion; pharmacokinetics; tissue distribution

水飞蓟是菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn 的干燥成熟果实^[1]。水飞蓟素是从水飞蓟中提取而得的黄酮木脂素类化合物, 其中水飞蓟宾 (silybin, SLB) 含量为 50% ~ 70%, 活性最高, 药理活性也最强^[2], 具有显著的抗肝纤维化、保护肝细胞酶系统的作用, 能清除肝细胞内的活性氧自由基, 提高肝脏的解毒能力^[2-3]。同时, SLB 还具有良好的调血脂、抗肝脂质过氧化、抗缺血再灌注损伤作用, 是目前公认的疗效确切的肝损伤修复药物。但 SLB 难溶于水及脂类, 口服生物利用度低, 肝靶向性差, 限制了其临床应用。静脉注射乳剂作为给药载体, 能增大药物的溶解度, 减少药物的不良反应, 增强药物的靶向性及缓释效应, 提高临床疗效。本试验在采用高压均质法制备了 SLB 含药脂肪乳基础上, 进一步研究水飞蓟宾脂肪乳在大鼠体内的药物代谢动力学过程, 通过尾静脉注射给予 SLB 脂肪乳, 给药后测定不同时间点大鼠血浆及各组织中 SLB 浓度, 考察 SLB 脂肪乳在大鼠体内药动学过程及组织分布情况, 为其临床应用奠定基础。

1 仪器与材料

Ultimate3000 高效液相色谱仪 (DIONEX, 德国); 依利特 ODS-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.5 mm, 5 μm, 大连依利特); TG16A-WS 型台式高速离心机 (湖南塞特湘仪器有限公司); SK-1 型快速混匀器 (江苏省金坛市宏华仪器厂); DF-101S 集热式加热磁力搅拌器 (江苏省金坛市宏华仪器厂); AUWD12D 电子天平 (SHIMADZU, 日本); SLB 原料药 (国药准字 H20040336, 江苏天士力帝益药业有限公司, 批号 20100509); SLB 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110856-200604); 水飞蓟宾脂肪乳 (自制), 平均粒径为 (74.42±14.00) nm, 粒径分布系数 (PDI) 为 0.106, Zeta 电位为 (-30.20±2.13) mV, pH 为 6.48±0.04, 包封率 (91.45±0.01)%, 体外 12 h 内累积释放原药的 90% 左右; LIPOIDE 80 精制蛋黄卵磷脂 (Lipoid GmbH, 德国); 色谱甲醇 (TEDIA, 美国); Pluronic F-68 (BASF SE, 德国); 水为蒸馏水, 其他试剂为分析纯。Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体质量 (200±20) g, 由湖北

作者简介: 张蓬华 (1980.06 ~), 男, 硕士, 主管药师, 主要从事临床药学工作, E-mail: zph0507@163.com。

通讯作者: 董永成 (1970.01 ~), 男, 大学本科, 副主任药师, 主要从事医院药学工作, E-mail: murphy0715@sina.com。

医药学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCYY(鄂)2004-0016。

2 方法和结果

2.1 水飞蓟宾脂肪乳的制备

取 SLB 0.5g,卵磷脂 0.8 g 置于圆底烧瓶中,加入 50 mL 丙酮,加热搅拌溶解,60 °C 油浴条件下反应 2 h。反应完毕,减压旋干溶剂并置于真空干燥箱中干燥过夜,即得水飞蓟宾磷脂复合物(SLBPC)。将适量 Pluornic F-68、甘油加入纯化水中,60 °C 水浴加热溶解,作为水相,水飞蓟宾磷脂复合物,与适量卵磷脂、大豆油、油酸在一定温度下加热搅拌溶解,作为油相,将油相缓慢注入水相,在转速为 12 000 r/min 切割 35 min 制成初乳,再用高压均质机(均质压力固定在 800 bar)均质 4 次,即得水飞蓟宾脂肪乳^[4]。

2.2 SLB 脂肪乳在大鼠体内的药物代谢动力学及组织分布

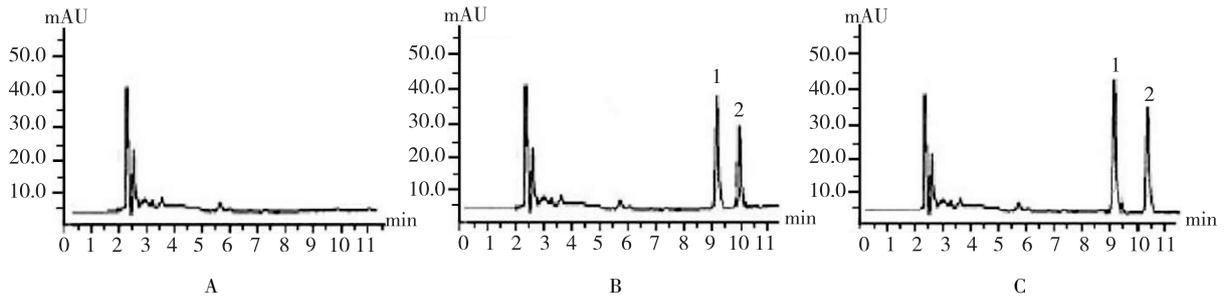
2.2.1 色谱条件 流动相:甲醇-1%冰醋酸(52 : 48);

流速:1.0 mL/min;柱温:35 °C;检测波长:290 nm;进样量:10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 SLB 对照品适量,加流动相制成 1 000 mg/L SLB 作为对照品溶液。

2.2.3 样品处理 取大鼠血浆、心、肝、脾、肺、肾组织样品,精密称重,然后加入 2 倍量生理盐水,用组织匀浆器把上述样品分别匀浆。精密吸取血浆及组织匀浆液 200 μL 于 1.5 mL 离心管中,加入 600 μL 甲醇,涡旋振荡 2 min,10 000 r/min 离心 5 min,精密吸取上清液 500 μL,氮气吹干,用 200 μL 甲醇溶解,旋涡混匀 1 min,取 20 μL 进样。

2.2.4 专属性实验 按“2.2.1”项下色谱条件,对血浆中 SLB 进行测定,可见内源性物质不干扰药物的测定,SLB 的峰形对称,分离度很好。色谱图见图 1。SLB 是由一对对映异构体——水飞蓟宾 A 和水飞蓟宾 B 构成。本文采用高效液相色谱法测定 SLB 含量,由于在该波长处都有吸收,在色谱图中为两个峰,保留时间较短的是水飞蓟宾 A,保留时间较长的是水飞蓟宾 B。



A. 空白血浆;B. 空白血浆+SLB;C. 给药后大鼠血浆;1. 水飞蓟宾 A;2. 水飞蓟宾 B

图 1 血浆 SLB 色谱图

2.2.5 线性关系考察 分别取大鼠空白血浆及各组织匀浆各 0.5 mL,置 10 mL 离心管内,加入“2.2.2”项下对照品溶液适量,配制成 0.1、1.0、10.0、30.0、50.0、70.0、90.0 mg/L 系列溶液,按“2.2.3”项下操作,以浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程(见表 1)。在测定条件下,样品药物浓度在相应范围内峰面积与药物浓度线性关系良好。

表 1 SLB 在不同组织中的标准曲线、线性范围(n=6)

组织	标准曲线	线性范围	相关系数
血浆	Y=11.356 2X-0.984 7	0.1~50.0	0.999 5
心脏	Y=9.713 4X-3.996 1	0.1~50.0	0.996 5
肝脏	Y=10.061 8X-1.052 6	0.1~70.0	0.999 1
脾脏	Y=6.351 8X-4.001 3	0.1~30.0	0.995 8
肾脏	Y=12.915 7X-0.895 4	0.1~70.0	0.999 2
肺	Y=7.971 2X-1.573 4	0.1~50.0	0.998 3

2.2.6 回收率和精密度 分别取大鼠空白血浆及各组织匀浆各 0.5 mL,置于 10 mL 离心管内,加入 100 μL

高、中、低浓度的对照品溶液(50.0 mg/L、10.0 mg/L、0.1 mg/L),按“2.2.3”项下方法制备样品并进行测定,计算回收率及日内、日间精密度。结果见表 2。最低检测浓度为 0.05 mg/L。在测定条件下,血浆及各组织样品中的平均回收率均在 90% 以上,日内精密度及日间精密度均小于 5%,符合生物样品分析的要求。

表 2 SLB 在不同组织中的回收率、日内及日间精密度(n=6)

组织	回收率/%	日内精密度 RSD/%	日间精密度 RSD/%
血浆	93.56±2.31	3.23	3.87
心脏	96.23±1.67	2.74	3.58
肝脏	99.07±2.13	2.56	2.93
脾脏	94.15±3.43	1.86	2.88
肾脏	98.16±1.98	2.77	3.90
肺	95.82±2.56	2.62	3.66

2.2.7 给药方案与血样采集 32 只大鼠随机分成两组,每组 16 只,其中一组为 SLB 注射液组,另一组为 SLB 脂肪乳组。给药前禁食 12 h,按 SLB 4 mg/kg 的剂

量分别尾静脉注射 SLB 注射液及 SLB 脂肪乳(自制), 给药后 5 min、15 min、30 min 和 1 h、2 h、4 h、6 h、8 h(每个点 4 只大鼠, 每组各 2 只)于眼眶处取血 0.5 mL 置肝素化试管中, 离心, 分离血浆, -20 °C 冷冻保存。按“2.2.3”项下方法处理测定血浆中 SLB 浓度。

用 3P97 药物代谢动力学软件分别对两组血药浓度-时间数据进行处理, 采用梯形法计算药-时曲线下面积(AUC), 采用 Akaike's information criterion(AIC 法)值判断 SLB 在大鼠体内过程, 结果 SLB 在大鼠体内分布符合二室模型, 其药物代谢动力学参数见表 3。由表 3 可知, SLB 脂肪乳经尾静脉给药后在大鼠体内, 半衰期延长, 具有一定的缓释作用。

表 3 SLB 脂肪乳与 SLB 注射液在大鼠体内的药物动力学参数 (n=2, $\bar{x} \pm s$)

参数	SLB 脂肪乳	SLB 注射液
A/(mg/L)	74.965 7±4.237 1	67.130 9±3.346 5
A/h	1.018 3±0.184 6	2.358 3±0.152 4
B/(mg/L)	5.672 3±0.462 3	8.029 9±0.982 8
B/h	0.043 7±0.010 4	0.061 4±0.010 4
$t_{1/2\alpha}$ /h	0.623 7±0.097 8	0.392 8±0.104 5
$t_{1/2\beta}$ /h	19.751 3±2.137 2	11.534 1±2.971 6
K_{21} /h	0.106 2±0.036 7	0.261 3±0.093 5
K_{10} /h	0.451 2±0.035 8	0.361 2±0.052 3
K_{12} /h	0.865 4±0.129 6	1.391 6±0.142 5
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ /[mg/(h·L)]	239.011 7±15.261 3	147.883 4±10.531 2
CL/[mL/(h·kg)]	0.002 4±0.000 9	0.005 7±0.002 4
MRT/h	32.754 8±3.739 2	16.561 4±4.109 8

注:二室模型静脉注射给药血药浓度与时间关系为: $C=A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t}$, α 为布速分度常数, β 为消除速度常数, MRT 为平均滞留时间, CL 为清除率, $t_{1/2\alpha}$ 为分布半衰期, $t_{1/2\beta}$ 为消除半衰期, k_{21} 、 k_{10} 、 k_{12} 为模型参数。

2.2.8 SLB 组织分布研究 将 36 只大鼠随机分成两组, 每组 18 只, 其中 1 组为 SLB 注射液组, 1 组为 SLB 脂肪乳组。给药前禁食 12 h, 按 SLB 4 mg/kg 的剂量分别尾静脉注射 SLB 注射液及 SLB 脂肪乳(自制), 于给药后 30 min、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h(每个时间点 6 只大鼠, 每组各 3 只)断头处死, 放尽血液后, 取心、肝、脾、肺、肾组织, 生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干, 剔除结缔组织, 称取 0.5 g, 按 2.2.3 项下方法处理并测定样品中 SLB 含量。大鼠尾静脉注射 SLB 脂肪乳和 SLB 注射液的组织分布见图 2, 图中可见 SLB 脂肪乳能明显改变 SLB 在大鼠体内的组织分布, 药物聚集于肝脏和脾脏。

相对摄取率 $Re = (AUC_i)_T / (AUC_i)_R$, Re 表示在某一器官内两种不同制剂的药物分布情况。 $Re > 1$ 表示在该器官有靶向性, Re 值越大表示靶向效果越好, $Re < 1$ 表示

在该器官无靶向性; T 和 R 分别表示实验制剂和参比制剂。总靶向系数 $(Te) = (AUC_i)_T / \sum(AUC_i)$, 其中 AUC_i 为由药-时曲线算得的第 i 个器官的药-时曲线下面积; $\sum(AUC_i)$ 是包括靶器官在内的所有器官 AUC 之和; Te 表示该制剂在各个器官中的靶向效率; 两种不同制剂在某器官的药物分布效率可用 $Rte = (Te)_T / (Te)_R$ 进行比较。 $Rte > 1$ 表示与参比制剂相比, 该实验制剂在某器官具有选择性, Rte 越大选择性越强, 即靶向性越强^[5]。根据上述公式, 将各器官的药-时曲线下面积进行计算, 求得总靶向系数(Te)、药物分布效率(Rte)及相对摄取率(Re)。结果见表 4。从表 4 可知, SLB 脂肪乳具有较强的肝脏、脾脏趋向性。

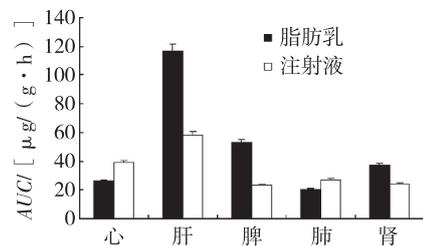


图 2 大鼠尾静脉注射 SLB 脂肪乳和 SLB 注射液的组织分布

表 4 SLB 脂肪乳的靶向参数 Te 、 Rte 、 Re

组织	$AUC_{SLB脂肪乳}$ / [μg/(g·h)]	$AUC_{SLB注射液}$ / [μg/(g·h)]	Te		Rte	Re
			脂肪乳	注射液		
血浆	19.32±1.87	39.14±2.37	0.081	0.177	0.458	0.494
心脏	123.85±5.23	51.25±4.09	0.520	0.232	2.241	2.417
肝脏	53.16±3.65	26.03±2.76	0.223	0.118	1.890	2.042
脾脏	19.97±1.88	28.53±2.31	0.084	0.129	0.651	0.700
肾脏	21.73±1.38	76.34±4.65	0.091	0.345	0.264	0.285

3 讨论

水飞蓟宾(silybin, SLB)水溶性和脂溶性均较差, 口服给药生物利用度低, 影响其临床疗效。根据文献报道, 为提高其生物利用度, 将 SLB 制备成明胶微球, 静脉给药后具有一定的缓释作用和肝脏靶向性^[6]。通过高压均质法制备的 SLB 含药脂肪乳具有粒径小且分布均匀, 物理稳定性好, 能耐受湿热的特点, 并在体外释放具有显著的缓释作用^[4]。本实验将制备的 SLB 脂肪乳按 SLB 4 mg/kg 的剂量自尾静脉注射入大鼠体内, 在不同时间点取大鼠血浆及其他组织样品。建立高效液相色谱法测定大鼠血浆及各组织样品中 SLB 浓度的方法, 并对该方法的线性范围、回收率、精密度进行考察, 结果符合生物样本分析要求。对大鼠血浆及各组织样本中 SLB 浓度-时间数据采用 3P97 药物代谢动力学软件进行分析, 结果显示 SLB 脂肪乳在大鼠体内分布符合二室模型, 与注射液相比, SLB 脂肪乳消除半衰期是注射液的

1.71 倍,表明将 SLB 制备成脂肪乳在大鼠体内具有缓释作用。SLB 脂肪乳在肝脏中的 T_e 为 0.223,比 SLB 注射液高 1.89 倍, R_{te} 为 1.890;脂肪乳在肝脏中的 AUC 是注射液的 2.04 倍。本文结果表明,SLB 脂肪乳有一定的肝脏靶向性,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。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 2010 版 (一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 76.
 [2] BANDOPADHYAY M. Components of silybum marianum [J].

Indian J Chem, 1992, 10(2): 10-12.
 [3] 于乐成, 顾长海. 水飞蓟素药理学效应研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(8): 493-494.
 [4] 张蓬华, 梁俊, 张静, 等. 水飞蓟宾脂肪乳的制备、性质及体外释药研究[J]. 中国药师, 2014, 17(4): 568-571.
 [5] 全东琴, 崔光华, 董华进, 等. 醋酸地塞米松静注乳剂的抗炎活性及动物组织分布研究[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(8): 591-594.
 [6] 陈永顺, 吴珍. 水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 128-131.

(编辑:王乐乐)

(收稿日期:2015-06-04 修回日期:2015-09-24)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.05.014

• 论著 •

2014 年我院儿科门诊超说明书用药情况调查

何艳玲, 祁俊华 (广州市妇女儿童医疗中心, 广东广州 510623)

[摘要] 目的: 回顾性分析广州市妇女儿童医疗中心 2014 年儿科门诊超说明书用药情况, 为规范超说明书用药提供参考。方法: 分层随机抽取我院 2014 年 1-12 月儿科专科门诊处方, 根据药品说明书, 分析超说明书用药类型以及超说明书用药与年龄、科室、药品种类的关系。结果: 共抽取 2 366 张处方, 分析用药医嘱 7 060 条。按处方数目、用药医嘱条数、药品种类统计, 超说明书用药统计结果分别为 1 835 张(77.56%)、3 651 条(51.71%)和 338 种(80.48%)。超说明书用药类型主要是未提及儿童用药信息(34.76%)和超适应症(27.57%); 超说明书用药年龄段主要在新生儿期(56.94%)和学龄前期(54.11%); 超说明书用药科室主要在心血管科(68.97%)和肾内科(53.58%); 超说明书用药药品种类主要是泌尿系统和生殖系统用药(97.66%)以及心血管系统用药(93.01%)。结论: 我院儿科专科门诊超说明书用药情况普遍, 需要进一步规范超说明书用药行为, 促进儿童合理用药。

[关键词] 儿科; 门诊; 超说明书用药; 合理用药

[中图分类号] R969.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)05-0037-05

The Survey of Off-Label Drug Use Prescriptions in Pediatric Outpatient Department in 2014

He Yanling, Qi Junhua (Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangdong Guangzhou 510623, China)

[Abstract] **Objective:** Retrospectively investigate the off-label drug use prescriptions in pediatrics outpatient department of Guangzhou Women and Children's Medical Center in 2014, so as to provide reference for standardizing off-label drug use. **Methods:** The prescriptions of pediatrics outpatient department were randomly selected from January to December in 2014. According to the drug instruction, the off-label drug use was analyzed in types of off-label use and its relationships with different age groups, outpatient departments and categories of medicine. **Results:** A total of 2,366 prescriptions were selected, involving 7,060 medical orders. Of all sample prescriptions, the statistical results of off-label drug use were 1,835 prescriptions (77.56%), 3,651 medical orders (51.71%) and 338 kinds of drug categories (80.48%). The main types of off-label drug use were "without child medication information" (34.76%) and "out of indications" (27.57%). The rate in different age groups were mainly infants (56.94%) and preschool (54.11%). The main departments were cardiology (68.97%) and nephrology (53.58%). The main drug categories were urinary and reproductive system drugs (97.66%) and cardiovascular system drugs (93.01%). **Conclusion:** The off-label drug use is widespread in pediatrics outpatient department. It is necessary to standard off-label drug use to improve children rational drug use.

[Keywords] pediatric; outpatient department; off-label drug use; rational drug use

作者简介: 何艳玲(1968.03~), 女, 大学本科, 主任药师, 主要从事儿科临床药学工作, E-mail: gdheyanling@126.com。