

纳米级白藜芦醇和白藜芦醇 β -环糊精包合物生物利用度的比较研究

高欣¹, 谢文利¹, 朱江¹, 万宗明¹, 赵艳威¹, 刘岱琳^{2*}

1. 武警医学院 药理教研室, 天津 300162

2. 武警医学院 生药教研室, 天津 300162

摘要: 目的 通过检测给药后血浆中白藜芦醇的量, 比较纳米级白藜芦醇和白藜芦醇 β -环糊精包合物生物利用度的差异。方法 采用高效液相色谱法, 测定给药后不同时间段大鼠血浆中白藜芦醇的质量浓度, 使用 3p97 软件进行药动学参数模拟。结果 纳米级白藜芦醇药动学参数: $AUC=315.89 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$, $t_{\text{max}}=40.44 \text{ min}$, $C_{\text{max}}=3.23 \mu\text{g}/\text{mL}$; 白藜芦醇 β -环糊精包合物药动学参数: $AUC=185.83 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$, $t_{\text{max}}=79.71 \text{ min}$, $C_{\text{max}}=1.69 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。结论 纳米级白藜芦醇达峰时间短, 且生物利用度明显高于白藜芦醇 β -环糊精包合物。

关键词: 白藜芦醇; 纳米技术; β -环糊精; 高效液相色谱; 生物利用度

中图分类号: R285.51 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0966-03

Bioavailability comparison between nanometer resveratrol and resveratrol β -cyclodextrin inclusion complex

GAO Xin¹, XIE Wen-li¹, ZHU Jiang¹, WAN Zong-ming¹, ZHAO Yan-wei¹, LIU Dai-lin²

1. Department of Pharmacology, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China

2. Department of Pharmacognosy, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China

Key words: resveratrol; nanotechnology; β -cyclodextrin (β -CD); HPLC; bioavailability

白藜芦醇(resveratrol), 即 3,4',5-三羟基二苯乙烯, 是一类存在于葡萄、虎杖、藜芦等植物中的多酚类化合物。研究表明, 白藜芦醇具有抗肿瘤、抗衰老、保肝、抗菌等药理作用^[1-4], 在国外作为保健品和食品添加剂被广泛应用^[5]。然而白藜芦醇难溶于水, 大大限制了其广泛应用。如何提高白藜芦醇的溶解性和促进其吸收, 是目前研究的热点之一。为增加白藜芦醇的水溶性, 采用共研磨技术生产的纳米级白藜芦醇水溶性得到很大提高。本实验针对该剂型, 通过检测给药后血浆中白藜芦醇的量, 对其与 β -环糊精包合白藜芦醇的生物利用度进行比较研究。

1 材料

岛津高效液相色谱仪 LC-20AT, SPD-M20A 紫外检测器, CTO-20A 柱温箱, Shimadzu LC-solution 色谱工作站(日本岛津公司); BP-190S 电子分析天平(德国赛多利斯公司); XW-80A 旋涡混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂); TG16-W

微量高速离心机(湖南仪器仪表总厂光华仪器厂)。

白藜芦醇 β -环糊精包合物(武警医学院生药与药剂学教研室制备, 白藜芦醇质量分数 10%); 纳米级白藜芦醇(纳米级的水溶性白藜芦醇制剂, 批号 091102, 天津市尖峰天然产物研究开发有限公司提供, 白藜芦醇质量分数 10%)。纳米级白藜芦醇比普通白藜芦醇颗粒更加致密均匀(图 1)。白藜芦醇对照品由天津市尖峰天然产物研究开发有限公司提供(批号 091021, 质量分数 98%)。其他试剂均为分析纯。

SD 大鼠 120 只, 体质量 180~220 g, 雄性, 由北京维通利华公司提供, 合格证号 SCXK(京)2007-0001。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 C_{18} -MS-II(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(23:77); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 306 nm; 柱温 28 $^{\circ}\text{C}$ 。

收稿日期: 2010-10-15

作者简介: 高欣(1977—), 男, 安徽省滁州市人, 硕士, 武警医学院药理教研室讲师, 主要从事中药药理与药动学的研究。

Tel: (022)60578256 E-mail: gaixinwjyxy@163.com

*通讯作者 刘岱琳 Tel: (022)60578194 E-mail: dailinlch@163.com

2.2 对照品溶液的配制

精密称取白藜芦醇对照品 5 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解并定容至刻度, 配制质量浓度为 50 μg/mL 的贮备液, 依次稀释成 25.0、5.0、

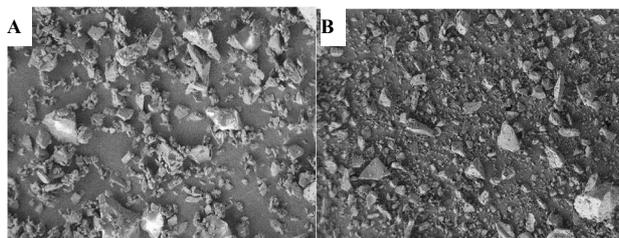


图1 普通白藜芦醇(A)和纳米级白藜芦醇(B)电镜图
Fig. 1 Electron micrograph of common (A) and nanometer (B) preparation of resveratrol

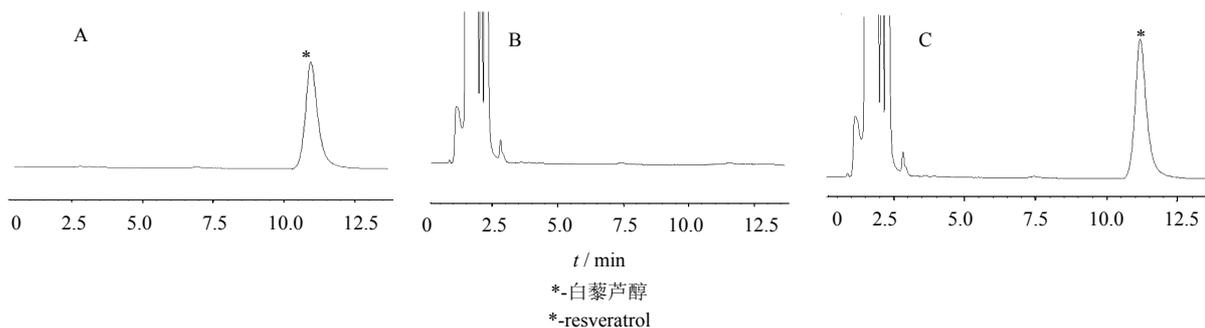


图2 白藜芦醇对照品(A)、空白血浆(B)及血浆样品(C)高效液相色谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of resveratrol reference substance (A), blank plasma (B), and sample plasma (C)

浓度的白藜芦醇对照品溶液, 再加入 300 μL 甲醇, 涡旋振荡混匀 3 min, 10 000×g 离心 10 min, 取有机层在 40 °C 水浴中氮气吹干, 残渣再用 100 μL 甲醇溶解, 取上清 20 μL 进样。以白藜芦醇峰面积(A)对质量浓度进行线性回归, 得回归方程: $Y = 8\,031\,127.61 X - 462.39$, $R^2 = 0.999\,9$, 线性范围 0.25~25 μg/mL。

2.5 提取回收率、方法回收率及精密度试验

以 100 μL 水代替血浆, 按“2.4”项下方法测定白藜芦醇峰面积(A_s), 根据公式 A/A_s 计算提取回收率, 根据标准曲线测得的白藜芦醇质量浓度与实际质量浓度之比计算方法回收率。取空白血浆 50

2.5、0.5、0.25 μg/mL 系列浓度溶液, 置于 4 °C 冰箱中贮存, 备用。

2.3 生物样品的处理

取大鼠血样 1 mL, 放入肝素包被的离心管中, 3 500 r/min 离心 5 min。取上清 100 μL 于 1.5 mL Eppendorf 管中, 加甲醇 300 μL, 涡旋振荡混匀 3 min, 10 000×g 离心 10 min, 取有机层在 40 °C 水浴中氮气吹干, 残渣再用 100 μL 甲醇溶解, 取上清 20 μL 进样。对照品溶液、空白血浆及血浆样品的高效液相色谱见图 2。由图可见, 血浆成分对样品的测定无干扰。

2.4 标准曲线的绘制

取空白血浆 50 μL, 分别加入 50 μL 不同质量

μL 各 5 份, 分别加入 0.5、5.0、25 μg/mL 的白藜芦醇对照品溶液 50 μL, 按“2.4”项下方法处理和测定。1 d 内测定 5 次, 计算日内 RSD; 每天测定 1 次, 连续 3 d, 计算日间 RSD。回收率及精密度试验结果见表 1。

2.6 大鼠体内白藜芦醇浓度测定

SD 大鼠随机分为纳米级白藜芦醇组和白藜芦醇 β-环糊精包合物组, 每组各 60 只, 分别 ig 给药 2 g/kg。纳米级白藜芦醇和白藜芦醇 β-环糊精包合物组于给药后 15、30、45、60、90、120、150、180、210、240 min 从大鼠心脏抽血。每个时间点各取 6 只, 按“2.3”项下方法处理生物样品, 高效液相色谱

表1 回收率及精密度试验结果 (n=5)

Table 1 Results of recovery rate and precision test (n=5)

白藜芦醇/(μg·mL ⁻¹)		提取回收率		方法回收率		RSD/%	
加入量	测定量	平均值/%	RSD/%	平均值/%	RSD/%	日内	日间
0.5	0.48	96.23±1.46	1.17	96.64±1.52	1.21	4.9	7.2
5.0	4.96	95.73±2.76	2.73	99.13±1.27	1.77	3.6	6.8
25.0	25.01	98.76±1.98	1.89	100.12±2.01	2.02	2.1	8.1

谱法测定白藜芦醇质量浓度。

3 结果

3.1 两种制剂的白藜芦醇血药浓度

采用 3p97 程序, 由计算机根据血药浓度-时间数据拟合血药浓度-时间曲线, 见图 3。

3.2 两种制剂药动学参数

采用 3P97 程序计算药动学参数, 两组数据通过 F 检验, 根据 AIC 值选择房室数。两组数据差异显著 ($P < 0.05$), 所以选择 AIC 值较小的房室数, 均为一级吸收一室模型, 见表 2。

从图 3 和表 2 可以看出, 大鼠 1 次 ig 给予相同剂量纳米级白藜芦醇和白藜芦醇 β -环糊精包合物后, 纳米级白藜芦醇吸收速度快, 给药后 15 min 即可检出, 40 min 左右血药浓度达到峰值; 而白藜芦醇 β -环糊精包合物给药后 30 min 才能有效检出,

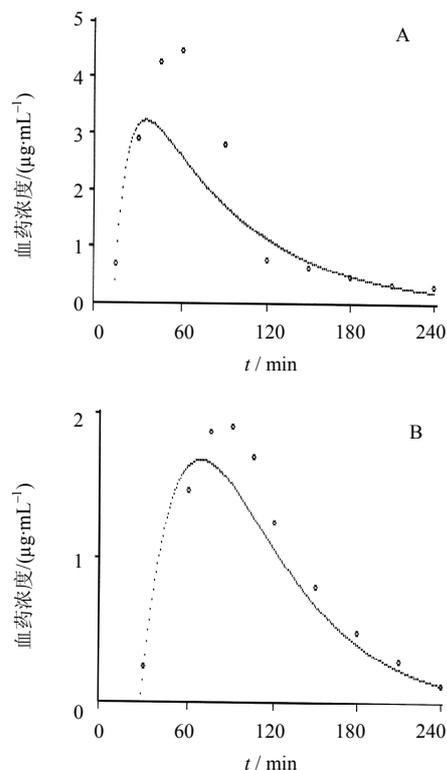


图 3 纳米级白藜芦醇(A)和白藜芦醇 β -环糊精包合物(B)血药浓度-时间曲线

Fig. 3 Pharmacokinetic profiles of nanometer resveratrol (A) and resveratrol β -cyclodextrin inclusion complex (B)

表 2 两种制剂大鼠口服后的药动学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of rats after ig administration

参数	单位	纳米级白藜芦醇	白藜芦醇 β -环糊精包合物
AUC	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}$	315.89	185.83
t_{\max}	min	40.44	79.71
C_{\max}	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	3.23	1.69
$t_{1/2ka}$	min	26.36	46.39
$t_{1/2ke}$	min	90.87	121.58
Ka	min^{-1}	0.014	0.026
Ke	min^{-1}	0.109	0.023

79 min 左右血药浓度才达到峰值; 且纳米级白藜芦醇生物利用度远远高于白藜芦醇 β -环糊精包合物, 前者约为后者的 1.7 倍。

4 讨论

增加药物的溶解性能够促进药物的吸收, 提高药物的生物利用度。白藜芦醇有良好的药理活性, 但由于难溶于水, 限制了其应用。采用共研磨技术生产的纳米级的白藜芦醇水溶性得到很大的提高, 与白藜芦醇 β -环糊精包合物相比, 其吸收速率和生物利用度都有很大的提高, 表明采用新工艺生产的纳米级白藜芦醇不仅仅是水溶性得到很大提高, 而且能很好地促进口服白藜芦醇的吸收和提高白藜芦醇的口服生物利用度。

参考文献

- [1] Fremont L. Minireview: biological effects of resveratrol [J]. *Life Sci*, 2000, 66: 663-673.
- [2] Jang M, Cai L, Udeani G, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. *Science*, 1997, 275: 218-220.
- [3] 刘宏胜. 白藜芦醇抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2007, 38(2): 312-314.
- [4] 刘宏胜, 王金环, 徐新女, 等. 白藜芦醇抑制人脑胶质瘤 U251 细胞增殖及诱导其凋亡的实验研究 [J]. *中草药*, 2006, 37(9): 1375-1377.
- [5] 向敏, 匡晓东, 杨勇. 白藜芦醇及其药理保健功能的研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2004(5): 16-20.