

# 基于溶解性与渗透性评价盐酸小檗碱的生物药剂学分类研究

罗文慧<sup>1a</sup>, 温艳艳<sup>1a</sup>, 崩淑娟<sup>1a</sup>, 韩海伦<sup>1a,1e</sup>, 阚家义<sup>2\*</sup>, 彭灿<sup>1a,1b,1c,1d,1e\*</sup> (1. 安徽中医药大学 a. 药学院; b. 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心; c. 安徽省乡村振兴协同技术服务中心; d. 安徽省现代中药产业共性技术研究中心; e. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 合肥 230012; 2. 安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051)

**摘要:**目的 对盐酸小檗碱在生物药剂学分类系统中的归属进行研究, 并确定其分类属性。方法 考察盐酸小檗碱在 pH 1.0~8.0 介质中的溶解度; 通过在体原位肠灌注模型得出其在大鼠十二指肠、空肠、回肠和结肠中的相关吸收参数, 确定其渗透性。结果 通过在不同 pH 值溶解介质中的药物剂量数  $D_0$  值和药典规定发现盐酸小檗碱属于低溶解度药物; 从渗透性实验结果发现盐酸小檗碱在大鼠各肠段的渗透系数  $P_{\text{eff}(\text{rat})}$  均超过  $5.0 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ , 转化成人体吸收百分率  $F_{\text{a}(\text{human})}$  均超过 85%, 故判定其属于高渗透性药物。结论 结合溶解性与渗透性实验结果证明盐酸小檗碱属于低溶解性、高渗透性药物, 即属于 BCS II 类药物。

**关键词:** 盐酸小檗碱; 溶解度; 渗透性; 生物药剂学分类系统; 在体单向原位肠灌注

doi:10.11669/cpj.2024.13.007 中图分类号:R945 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)13-1226-07

## Biopharmaceutics Classification of Berberine Hydrochloride Based on Solubility and Permeability Evaluation

LUO Wenhui<sup>1a</sup>, WEN Yanyan<sup>1a</sup>, BENG Shujuan<sup>1a</sup>, HAN Hailun<sup>1a,1e</sup>, KAN Jiayi<sup>2\*</sup>, PENG Can<sup>1a,1b,1c,1d,1e\*</sup> (1a. School of Pharmacy; 1b. MOE-Anhui Joint Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials; 1c. Rural Revitalization Collaborative Technical Service Center of Anhui Province; 1d. Generic Technology Research center for Anhui TCM Industry; 1e. Anhui Province Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. Anhui Institutes for Food and Drug Control, Hefei 230051, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the attribution of berberine hydrochloride in the biological pharmaceutics classification system (BCS) and to determine its taxonomic properties. **METHODS** The solubility of berberine hydrochloride was investigated in pH 1.0–8.0 medium; its absorption parameters related to the rat duodenum, jejunum, ileum and colon were derived from *in-situ* intestinal perfusion model *in vivo* to determine its permeability. **RESULTS** The solubility in different pH dissolution media with the value of drug metering number ( $D_0$ ) and combined with the pharmacopoeia regulations found that berberine hydrochloride belonged to the low solubility drugs. From the results of permeability experiments, it was found that the permeability coefficient  $P_{\text{eff}(\text{rat})}$  of berberine hydrochloride in each intestinal segments was exceeded than  $5.0 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$  in rats, and the conversion into human absorption  $F_{\text{a}(\text{human})}$  was exceeded than 85%, therefore, it was determined to be the high permeability drug. **CONCLUSION** The combination of solubility and permeability test results proves that berberine hydrochloride is a low solubility and high permeability drug, which belongs to BCS class II.

**KEY WORDS:** berberine hydrochloride; solubility; permeability; BCS classification; *in-situ* single pass intestinal perfusion

盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride), 又称黄连素, 是从黄连中提取的一种季铵生物碱, 化学结构为苕基四异喹啉生物碱盐酸盐<sup>[1]</sup>。研究表明盐酸小檗碱具有抗炎、抗肿瘤和免疫调节等临床功能<sup>[2-3]</sup>。盐酸小檗碱作为一种广谱抗菌药, 对于多种致病菌都具有较好的抑制作用<sup>[4-7]</sup>; 此外盐酸小檗碱

在关节疾病, 心脑血管疾病, 神经系统疾病以及流感等<sup>[8-12]</sup>方面也有一定的治疗效果。

生物药剂学分类系统 (BCS) 是以药物的溶解度和肠渗透度为基础来进行分类的, 因此确保科学分类的第一个先决条件就是要对药物的溶解度和肠渗透度进行准确测定<sup>[13]</sup>。由于目前的 BCS 分类系统

**基金项目:** 安徽省科技重大专项资助 (202103a07020001); 安徽省高校协同创新项目资助 (GXXT-2022-084, GXXT-2022-075, GXXT-2020-025)

**作者简介:** 罗文慧, 女, 硕士研究生 研究方向: 药物作用有效性与活性成分相关性研究 \* **通讯作者:** 阚家义, 男, 硕士, 主任药师 研究方向: 药物分析学 Tel: (0551)63358095; 彭灿, 男, 博士, 教授 研究方向: 中药物质基础与作用机制研究 Tel: (0551)68129155

主要基于化药进行分类,中药活性成分涉及较少,盐酸小檗碱不在BCS分类系统中,因此本研究对盐酸小檗碱的溶解度和渗透性进行测定,确定其在BCS分类系统中的归属。

## 1 实验材料

### 1.1 实验仪器

依利特高效液相色谱仪(UV230 II紫外-可见检测器);万分之一分析天平(上海浦春计量仪器有限公司);智城恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司);涡旋多功能混匀仪(IKAR® VORTEX4 digital);TG16-WS离心机(常州市万丰仪器制造有限公司);YL-060S数控超声波清洗器(济南巴克超声波科技有限公司);SHZ-D III循环水式真空泵(河南省予华仪器有限公司);Milli-Q Synthesis超纯水机(美国Millipore公司)。

### 1.2 实验试剂

盐酸小檗碱原料药(纯度 $\geq 97\%$ ,武汉远成有限公司);盐酸小檗碱对照品(含量86.8%,批号:160901,中国食品药品检定研究院);磷酸(E2009049)、磷酸二氢钾(L1918056);乙腈、甲醇(色谱纯);乙酸钠(20190312)、氢氧化钠(20200401)、盐酸(20180223)、冰乙酸(20190529)、氯化钙(20180126,国药集团化学试剂有限公司);超纯水。

## 2 实验方法

### 2.1 盐酸小檗碱含量测定分析方法的建立

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱:Caprisil C<sub>18</sub> AQ 100A(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m),1%冰乙酸-甲醇(38:62)为流动相;检测波长:310 nm;流速:1.0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>;温度:30  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ L。

**2.1.2 对照品溶液的制备** ①溶解性实验:精密称取盐酸小檗碱对照品2.00 mg,加甲醇溶解并定容到10 mL,得盐酸小檗碱标准品储备液,取适量标准品储备液,加甲醇稀释得40  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,即得;②渗透性实验:精密量取适量盐酸小檗碱标准品储备液,将其添加到空白Krebs-Ringer(K-R试液)小肠营养液中,得到40  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** ①溶解性实验:精密称取盐酸小檗碱原料药2.00 mg,加甲醇溶解并定容至10 mL,取适量加甲醇稀释至40  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,即得;②渗透性实验:精密称

取适量盐酸小檗碱原料药,加甲醇溶解至一定浓度,加空白K-R液稀释至质量浓度为40  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的供试品溶液。

### 2.2 方法学考察

**2.2.1 专属性** ①溶解性实验:取盐酸小檗碱对照品溶液、盐酸小檗碱供试品溶液,甲醇适量进样检测,研究空白溶剂甲醇是否会影响盐酸小檗碱的含量测定;②渗透性实验:取适量的盐酸小檗碱对照品溶液、盐酸小檗碱供试品溶液、空白K-R液进样检测,研究空白K-R液是否会影响盐酸小檗碱的含量测定。

**2.2.2 线性关系考察** ①溶解性实验:取盐酸小檗碱标准品储备液适量,加入甲醇依次稀释成质量浓度为100、50、40、20、10、5、2.5  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的对照品溶液,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,按“2.1.1”项下色谱条件进样检测,以测得的结果为依据绘制峰面积( $y$ )-质量浓度( $\rho$ )曲线;②渗透性实验:精密量取盐酸小檗碱标准品储备液适量,加入空白K-R液依次稀释成质量浓度为100、50、40、25、20、10  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的对照品溶液,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜按“2.1.1”项下色谱条件进样检测,根据测得的结果绘制峰面积( $y$ )-质量浓度( $\rho$ )曲线。

**2.2.3 精密度考察** ①溶解度实验:取盐酸小檗碱对照品溶液适量,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,按“2.1.1”项下色谱条件进样检测,连续进样6次,计算得峰面积相对标准偏差(RSD)值;②渗透性实验:同上。

**2.2.4 重复性考察** ①溶解度实验:按“2.1.3”项下供试品溶液配制方法,分别平行配制6盐酸小檗碱供试品溶液,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,按“2.1.1”项下色谱条件进行检测,根据“2.2.2”中所得线性方程计算6份供试品溶液中盐酸小檗碱药物含量,并计算药物含量相对标准偏差(RSD)值;②渗透性实验:同上。

**2.2.5 稳定性考察** ①溶解性实验:按“2.1.3”项下供试品溶液配制方法,配制盐酸小檗碱供试品溶液,过0.22  $\mu$ m的微孔滤膜,按“2.1.1”项下色谱条件分别于0、2、4、6、8、12、24 h进样检测,计算盐酸小檗碱供试品溶液在24 h内的峰面积RSD值;②渗透性实验:同上。

**2.2.6 加样回收率实验** ①溶解性实验:在已知药物含量的盐酸小檗碱供试品溶液中,分别按照1:0.8、1:1.0、1:1.2的比例分别加入适量盐酸小檗碱标准品储备液,混匀,用将不同比例的试样溶液用

甲醇稀释定容,并将其按一定比例平行配置成3份,过0.22 μm的微孔滤膜,按“2.1.1”中色谱条件进样检测;②渗透性实验:精密量取适量不同体积的盐酸小檗碱标准品储备液,加入空白K-R液进行稀释,将对照品分别以低、中、高3个质量浓度分别配制3份,过0.22 μm的微孔滤膜按“2.1.1”项下色谱条件进样检测。

### 2.3 溶解度实验

**2.3.1 溶解介质的制备** 按照《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》附录的溶出度实验条件,以盐酸、氯化钠、乙酸钠、冰乙酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠等为适宜的试剂配制成pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8、pH 7.4的溶液。

**2.3.2 样品溶液的制备** 称取过量的盐酸小檗碱原料药,将其添加到5 mL的离心管内,再添加2 mL pH 1.2、4.0、6.8、7.4和水等溶解介质,涡旋30 s,混匀后,将其放在37 ℃,100 r·min<sup>-1</sup>的恒温摇床上24 h后,然后将其取出,用4 000 r·min<sup>-1</sup>离心25 min,将其上清液进行适当的稀释,然后通过0.22 μm的微孔过滤,得到相应的溶液。

**2.3.3 药物剂量数( $D_0$ )的计算**  $D_0$ 是反映药物溶解性与口服吸收之间关系的参数,是药物溶解性能的函数,计算公式见公式1。

$$D_0 = (M_0/V_0)/C_s \quad \text{公式(1)}$$

其中 $M_0$ 是人体最高单次给药剂量, $V_0$ 为250 mL, $C_s$ 为溶解度(mg·mL<sup>-1</sup>)。

### 2.4 渗透性实验

基于文献[14]已有经验进行K-R液、含药K-R液的制备。在体单向原位肠灌注模型与肠灌流液的收集:SPF雄性大鼠适应性喂养1周,禁食不禁水18 h,按0.008 mL·g<sup>-1</sup>注射体积分数20%乌拉坦麻醉,腹部沿腹中线剪开3~4 cm,分别取8~10 cm的十二指肠、空肠、回肠、结肠4个不同肠段,将其分别与注射泵连接,以5 mL·min<sup>-1</sup>的流速将加热至37 ℃的生理盐水对肠道内容物进行冲洗,冲洗干净后排空生理盐水。将注射泵流量调节到0.2~0.3 mL·min<sup>-1</sup>灌流药液,开始计数,在每个肠段溶液出口用已知重量的瓶子以15 min为一个采样点,并用另一个已知质量的瓶子代替,计算采集前和采集后的重量之差,8次采集后即完成实验。

实验结束后处死大鼠并剪下被灌流的肠段,测量其长度和内径。将盐酸小檗碱的灌流液用甲醇对半稀释后,通过0.22 μm的微孔过滤,按照“2.1.1”

项下的色谱条件,进行样品分析,在不同的时间点对流出的药液进行药物含量测量,代入Wen等<sup>[14]</sup>所列公式,得到有效渗透系数 $P_{\text{eff}}$ 、肠吸收速率常数 $K_a$ 和肠吸收分数 $F_a$ 。

## 3 结果与讨论

### 3.1 溶解度实验方法验证

**3.1.1 专属性** 专属性结果见图1,从图1中可以看出,空白对照溶液和供试品溶液对盐酸小檗碱的测定不会产生干扰。

**3.1.2 线性关系考察** 以“2.2.2”项下测得的结果为基础,以峰面积( $y$ )-质量浓度( $\rho$ )作线性回归,得到线性回归方程为 $y = 3.773\rho - 25.996$ , $r^2 = 0.9992$ ,表明盐酸小檗碱在2.5~100 μg·mL<sup>-1</sup>内具有良好的线性关系。

**3.1.3 精密度考察** 以“2.2.3”项下所得到的峰面积结果为基础,计算得出峰面积RSD值为0.69%,表明该仪器具有良好的精密度。

**3.1.4 重复性考察** 将“2.2.4”项下所得6个样品的峰面积代入“3.1.2”项下回归曲线,计算得出6份样品中药物含量RSD值为0.34%,表明其方法具有较好的重现性。

**3.1.5 稳定性考察** 从“2.2.5”项下所得24 h内的峰面积,算出其RSD值为0.69%,表明样品24 h稳定。

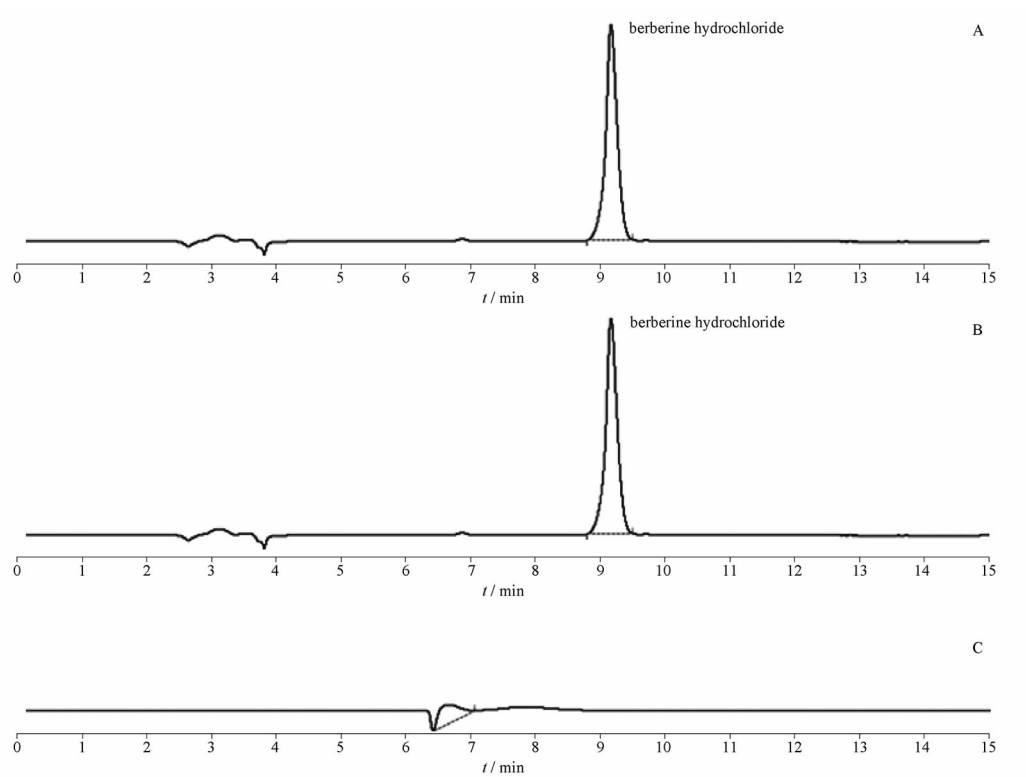
**3.1.6 回收率实验** 根据“2.2.6”项下方法对9份盐酸小檗碱样品进行测定,根据“3.1.2”中获得的曲线计算其回收率与RSD值,结果见表1。

根据上表结果发现回收率均在95%~105%,RSD均小于0.95%,符合规定。

### 3.2 溶解度结果

越来越多的监管机构在药品研究和申报过程中都接受了BCS的概念,其中美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)、世界卫生组织(World Health Organization, WHO)和欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)的指导原则最具权威性<sup>[15-16]</sup>。BCS对高溶解度的界定是:在(37±1) ℃的情况下,单次最大使用剂量的药物可以在不超过250 mL的规定pH值范围内的水溶性介质中完全溶解。以最大用量与溶解度之比为标准,对溶解度进行测定,当数值小于250 mL时,即 $D_0$ 值小于1,为高溶解度;如果不是,那就是低溶解度药物。

参考2020年版《中国药典》<sup>[17]</sup>及药智网数据



A - 盐酸小檗碱对照品; B - 盐酸小檗碱供试品; C - 甲醇。

A - berberine hydrochloride reference substance; B - berberine hydrochloride sample substance; C - methanol.

图1 盐酸小檗碱溶解性实验专属性色谱图

Fig. 1 Specificity chromatogram of the solubility experiment of berberine hydrochloride

表1 盐酸小檗碱溶解性实验中回收率实验结果。n = 3

Tab. 1 Results of recovery experiments in solubility assay of berberine hydrochloride. n = 3

$\rho(\text{Sample})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Added})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Measured})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Recovery /%	Average recovery $(\bar{x} \pm s)$ /%	RSD /%
40	32	72.38	101.19	100.11 ± 0.76	0.93
40	32	71.85	99.53		
40	32	71.87	99.61	100.27 ± 0.43	0.52
40	40	80.24	101.19		
40	40	79.87	99.53	102.30 ± 0.21	0.24
40	40	80.22	100.55		
40	48	89.22	102.55	102.30 ± 0.21	0.24
40	48	89.10	102.29		
40	48	88.98	102.05		

查询,盐酸小檗碱片剂人体单次最高给药剂量为900 mg,按照“2.3.2”项操作,将样品溶液添加到不同的介质中分别制备3份,进样检测,根据峰面积值计算样品最大溶解浓度 $C_s$ ,取浓度平均值,代入“2.3.3”项下公式计算 $D_0$ 值,其结果见表2。

不同机构对高溶解性的界定对规定介质的pH范围略有不同。相较于FDA中pH值规定为

表2 盐酸小檗碱在不同pH值介质中的溶解度

Tab. 2 Solubility of berberine hydrochloride in different pH media

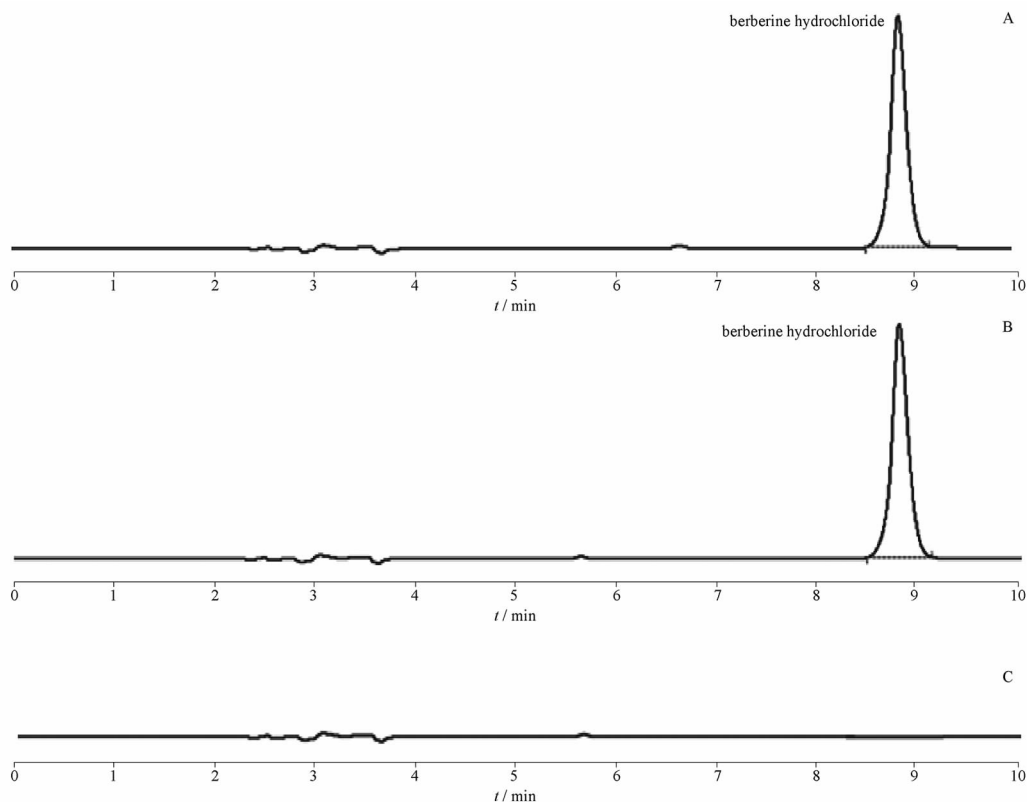
Media	$\rho_s / \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$D_0 / \text{FDA}$	Ch. P
pH 1.2	1.55	2.33	Slightly soluble
pH 4.0	0.21	17.87	Slightly soluble
water	1.56	2.31	Slightly soluble
pH 6.8	1.56	2.31	Slightly soluble
pH 7.4	1.78	2.06	Slightly soluble

1.0 ~ 7.5 而言,WHO 和 EMA 都放宽了对于高溶解性的定义,分别为 pH 1.2 ~ 6.8 和 pH 1.0 ~ 6.8,这可能会造成一些按FDA规定不在BCS I类的药物,被WHO划入BCS I类,如阿米替林<sup>[16]</sup>。因此FDA 2015版工业指导原则中采用 $D_0$ 值判断药物的溶解度是有缺陷的,本实验选择pH值1.2、4.0、6.8、7.4和水进行溶解度考察同时借助2020年版《中国药典》中对于溶解度的规定辅助证明药物的溶解性。根据上表中溶解度结果可知盐酸小檗碱的 $D_0$ 值大于1,且在2020年版《中国药典》规定中是微溶的,因此盐酸小檗碱属于低溶解度的药物。

### 3.3 渗透性实验方法验证

#### 3.3.1 专属性 专属性结果见图2,从图2中可以

看出空白对照溶液与供试品溶液不会对盐酸小檗碱的检测产生干扰。



A - 盐酸小檗碱对照品; B - 盐酸小檗碱供试品; C - 空白 K-R 液。

A - berberine hydrochloride reference substance; B - berberine hydrochloride test substance; C - blank K-R solution.

图2 盐酸小檗碱渗透性实验专属性色谱图

Fig. 2 Specificity chromatogram of the permeability experiment of berberine hydrochloride

**3.3.2 线性关系考察** 根据“2.2.2”项下测得的结果以峰面积( $y$ )-质量浓度( $\rho$ )作线性回归,得出线性回归方程为  $y = 32.907\rho - 202.1$ ,  $r^2 = 0.999\ 23$ ,表明盐酸小檗碱在  $10 \sim 100\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内线性关系良好。

**3.3.3 精密度考察** 根据“2.2.3”项下所得6次盐酸小檗碱对照品溶液峰面积结果,计算得出峰面积 RSD 值为 0.74%,表明仪器精密度良好。

**3.3.4 重复性考察** 根据“2.2.4”项下所得峰面积代入回归方程,计算的6份供试品溶液中盐酸小檗碱含量 RSD 值为 0.35%,表明其检测方法重现性良好。

**3.3.5 稳定性考察** 根据“2.2.5”项下所得24 h 内6份供试品溶液峰面积,计算得到 RSD 值为 1.02%,表明样品可以在24 h 内保持稳定。

**3.3.6 回收率实验** 根据“2.2.6”项下方法对9份盐酸小檗碱对照品溶液进行测定,根据“3.3.2”

项下获得的曲线计算其回收率与 RSD 值,结果见表3。

根据上表结果发现回收率均在 95% ~ 105%, RSD 均小于 0.77%,回收率符合规定。

#### 3.4 渗透性结果

BCS 认为高渗透性分为以下2种:①在没有证据表明药物在胃肠道不稳定的情况下,绝对生物利用度 (absolute bioavailability,  $F_{\text{abs}}$ )  $\geq 85\%$ ; ②给予的剂量在尿中以原形药物,或以原形药物、I 相氧化和 II 相结合代谢产物的总和回收  $\geq 85\%$ 。

对于药物肠道渗透性测定的研究,通过测定人体空肠膜有效渗透性 ( $P_{\text{eff}}$ ) 被认为是最可靠的方法<sup>[18]</sup>,但人体实验实施起来比较困难,因此一些替代方法被不断提出,现研究多采用非人体实验方法,常用指标如脂水分配系数 ( $P$ )、表观渗透系数 ( $P_{\text{app}}$ ) 和有效渗透系数 ( $P_{\text{eff}}$ )。

表3 盐酸小檗碱渗透性实验中回收率实验结果。n=3,  $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Results of recovery experiments in the permeability assay of berberine hydrochloride. n=3,  $\bar{x} \pm s$

$\rho$ (Added) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho$ (Measured) / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Recovery /%	Average recovery ( $\bar{x} \pm s$ )/%	RSD /%
25	25.94	103.77	103.77 $\pm$ 0.00	0.01
25	25.94	103.78		
25	25.94	103.77		
50	48.99	97.97	98.13 $\pm$ 0.15	0.18
50	49.04	98.09		
50	49.16	98.32		
75	75.66	100.88	101.76 $\pm$ 0.64	0.77
75	76.54	102.06		
75	76.77	102.36		

在体单向原位肠灌注模型,被认为是目前最接近人体实验渗透性测定方法,原位肠道灌注因其与体内条件的相似性而被广泛使用,在灌注过程中保持正常血液供应、神经系统支配功能、主动转运蛋白转运功能、代谢酶活性和与复杂溶剂系统的相容性等<sup>[19]</sup>。在体原位肠灌注模型法操作简单、成本低、通量小,测得的结果与人体肠道渗透性具有良好的相关性,特别适合于研究主动转运

表4 盐酸小檗碱在不同肠段的渗透性测试结果。n=3,  $\bar{x} \pm s$

Tab. 4 Results of permeability test of berberine hydrochloride in different intestinal segments. n=3,  $\bar{x} \pm s$

Intestinal segment	$P_{\text{eff}(\text{rat})} \times 10^{-5} / \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$	$K_a \times 10^{-4} / \text{s}^{-1}$	$F_{\text{a}(\text{rat})} / \%$	$P_{\text{eff}(\text{human})} \times 10^{-5} / \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$	$F_{\text{a}(\text{human})} / \%$
Duodenum	8.547 $\pm$ 3.495	7.138 $\pm$ 1.962	16.651 $\pm$ 8.981	31.070 $\pm$ 12.581	93.846 $\pm$ 3.887
Jejunum	2.732 $\pm$ 6.884	2.215 $\pm$ 0.541	7.942 $\pm$ 2.047	10.135 $\pm$ 2.478	63.817 $\pm$ 9.670
Ileum	9.664 $\pm$ 2.662	7.375 $\pm$ 1.532	21.736 $\pm$ 9.491	35.092 $\pm$ 9.584	96.072 $\pm$ 3.880
Colon	17.007 $\pm$ 5.702	9.879 $\pm$ 3.003	22.018 $\pm$ 8.332	61.524 $\pm$ 20.526	98.564 $\pm$ 3.665

#### 4 讨论与总结

在口服制剂中,由于原料药(active pharmaceutical ingredient, API)自身的溶解性与渗透性是制约其体内吸收的重要因素,也是目前口服制剂剂型设计与辅料筛选的重点。BCS是由Amidon等<sup>[21]</sup>于1995年首先提出的一种新概念,根据药物活性成分或API的溶解度和肠道渗透性将药物分为四类。

药物的溶解度是指在正常的生理环境下,药物所能达到的溶解度。在2020年版《中国药典》中,对中药成分的溶解度的测定有了详细的规定,其中要求采用摇瓶法,或者采用酸碱滴定法,但大部分时候还是采用前者,实验时要注意测量温度和测量介质的pH值,在测量溶解度的时候,一般根据美国药典的有关规定,采用标准缓冲剂。

目前渗透性主要研究方法有尤斯灌注室(ussing chamber室)模型、人结肠腺癌细胞(hu-

与小肠代谢。

与FDA对高渗透性规定的制剂口服后吸收程度 $\geq 90\%$ 相比,WHO和EMA对于高渗透性的定义较为宽松,将其放宽为 $\geq 85\%$ ,这使得一些原本按FDA规定被划分为BCS III类的药物如对阿巴卡韦,拉米夫定被WHO归为BCS I类<sup>[16]</sup>。在大鼠的单向肠灌注实验中,利用重量法代替酚红法对灌流液容量进行了测定,减少了实验误差。相对于传统的酚红法,重量法修正灌流液体积更能直观、真实地反应小肠对水的吸收。

由表4可知,盐酸小檗碱在十二指肠,回肠和结肠段都存在着较高的渗透性值,而空肠段渗透性却较差,表明了盐酸小檗碱可以主要通过十二指肠,回肠或结肠段进行吸收,Tang等<sup>[20]</sup>采用从大鼠原位灌注法获得的 $P_{\text{eff}}$ 值小于 $0.03 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 的药物或化学实体被归类为吸收不良药物,而 $P_{\text{eff}}$ 值大于 $0.2 \times 10^{-4} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 则表示药物被完全吸收。本实验其相应的 $P_{\text{eff}(\text{rat})}$ 值都超过了 $5.0 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ , $F_{\text{a}(\text{human})}$ 均超过85%,因此可判定盐酸小檗碱属于高渗透性的药物。

man colon adenocarcinoma cd II line, Caco-2)细胞模型、体外平行人工膜渗透(parallel artificial membrane permeation assay, PAMPA)模型、体外狗肾细胞(madin-darby canine kidney, MDCK)模型以及在体单向原位肠灌注模型。这些方法预测人体渗透性的准确率顺序如下:动物原位肠灌注模型 > 体外Caco-2细胞模型 > Ussing Chamber室中的离体组织模型 > 体外MDCK细胞模型 > 体外PAMPA膜模型<sup>[22]</sup>。因而说明本实验中采用在体原位单向肠灌注模型测定药物渗透性的结果是可靠的,且通过其预测药物在人体的吸收特性是可行的。

本研究根据溶解性及渗透率实验结果,将盐酸小檗碱归为BCS II类,即具有较低溶解性、较高渗透性。最近研究中,将盐酸小檗碱制备成一些新剂型或添加吸收促进剂来改善其药物的溶解性和吸收性,延长作用时间以增加其在体内的吸收。如Xiao

等<sup>[23]</sup>为了解决溶解度和生物利用度低的问题,通过物理吸收法制备了盐酸小檗碱与环糊精的包合物负载细菌纤维素水凝胶,使其成为一种很有前途的胃肠道口服药物。Li 等<sup>[24]</sup>研制了含有吸收促进剂{N-[8-(2-羟基苯甲酰基)氨基]辛酸钠,SNAC}的微球,以提高肠膜通透性差的盐酸小檗碱的口服生物利用度,并通过 Caco-2 细胞单层转运实验证明与单独的盐酸小檗碱相比,盐酸小檗碱与 SNAC 混合的微球渗透性显著提高。也有研究表明盐酸小檗碱与一些药物联用可提高疾病治疗,如 Chen 等<sup>[25]</sup>研究发现在根除幽门螺杆菌的初始治疗中,含有盐酸小檗碱、阿莫西林和雷贝拉唑的三联疗法并不劣于公认一线含有铋的三联疗法。因此,本研究结果可以为其药物制剂和处方设计以及采用体外方法进行生物等效性风险评价等方面的应用提供新的研究方法和思路。

## REFERENCES

- [ 1 ] TILLHON M, GUAMAN ORTIZ L M, LOMBARDI P, *et al.* Berberine: new perspectives for old remedies[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(10): 1260-1267.
- [ 2 ] ZHU L, GU P Q, SHEN H. Protective effects of berberine hydrochloride on DSS-induced ulcerative colitis in rats[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 68: 242-251.
- [ 3 ] CHEN J, MA D N, YUAN F, *et al.* Berberine hydrochloride counteracts enhanced IL-8 expression induced by SN 38 in AGS cells[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(8): 781-792.
- [ 4 ] XIA S, MA L Y, XIE M R. Antimicrobial activities of berberine against[J]. *J Clin Exp Med*(临床和实验医学杂志), 2022, 21(7): 673-678.
- [ 5 ] LIU L J, MA L Y, SUN W, *et al.* Effects of berberine hydrochloride on biofilm of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Chin J Clin Lab Sci*(临床检验杂志), 2022, 40(8): 589-594.
- [ 6 ] XIAO C W, LIU Y, WEI Q, *et al.* Inhibitory effects of berberine hydrochloride on trichophyton mentagrophytes and the underlying mechanisms[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2019, 24(4): 742.
- [ 7 ] HUANG X X, ZHENG M Y, YI Y L, *et al.* Inhibition of berberine hydrochloride on *Candida albicans* biofilm formation[J]. *Bio-technol Lett*, 2020, 42(11): 2263-2269.
- [ 8 ] YE F, ZHOU Q Z, TIAN L, *et al.* The protective effect of berberine hydrochloride on LPS-induced osteoclastogenesis through inhibiting TRAF6-Ca<sup>2+</sup>-calcineurin-NFATc1 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 6228-6233.
- [ 9 ] LI X, ZHAO S J, SHI H L, *et al.* Berberine hydrochloride IL-8 dependently inhibits invasion and IL-8-independently promotes cell apoptosis in MDA-MB-231 cells[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(6): 2777-2788.
- [10] CHENG Z, LIU S, WU X, *et al.* Autologous erythrocytes delivery of berberine hydrochloride with long-acting effect for hypolipidemia treatment[J]. *Drug Deliv*, 2020, 27(1): 283-291.
- [11] ALAVIJEH M M, VAEZI G, KHAKSARI M, *et al.* Berberine hydrochloride attenuates voluntary methamphetamine consumption and anxiety-like behaviors via modulation of oxytocin receptors in methamphetamine addicted rats[J]. *Physiol Behav*, 2019, 206: 157-165.
- [12] ZHANG F L, YIN X J, YAN Y L. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of huanglian-houpo decoction based on berberine hydrochloride and magnolol against H1N1 influenza virus[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2022, 47(1): 57-67.
- [13] WANG L P, LIU Y, SONG Y. Application prospect of biopharmaceutical classification system based on drug solubility and permeability determination in veterinary drug development[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), 2018, 41(2): 223-230.
- [14] WEN Y Y, MA Y D, HUANG S, *et al.* BCS classification attributes of palmatine[J]. *Cent South Pharm*(中南药学), 2022, 20(4): 845-849.
- [15] CARDOT J M, ARIETA A G, PAIXAO P, *et al.* Implementing the biopharmaceutics classification system in drug development; reconciling similarities, differences, and shared challenges in the EMA and US-FDA-recommended approaches[J]. *AAPS J*, 2016, 18(4): 1039-1046.
- [16] BERGSTROM C A S, ANDERSSON S B E, FAGERBERG J H, *et al.* Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached? [J]. *Eur J Pharm*, 2014, 57: 224-231.
- [17] *Ch. P*(2020) Vol II(中国药典2020年版. 二部)[S]. 2020: 1054.
- [18] ZHU Y, SHAO Y, QU X, *et al.* Sodium ferulate protects against influenza virus infection by activation of the TLR7/9-MyD88-IRF7 signaling pathway and inhibition of the NF-κB signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(4): 793-798.
- [19] WU Z J, YU J, FANG Q J, *et al.* Sodium ferulate protects against daunorubicin-induced cardiotoxicity by inhibition of mitochondrial apoptosis in juvenile rats[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2014, 63(4): 360-368.
- [20] TANG W W, ZHANG Y J, LI P, *et al.* Evaluation of intestinal drug absorption and interaction using quadruple single-pass intestinal perfusion coupled with mass spectrometry imaging[J]. *Anal Chem*, 2023, 95(6): 3218-3227.
- [21] AMIDON G L, LENNERNAS H, SHAH V, *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability[J]. *Pharm Res*, 1995, 12(3): 413-420.
- [22] CABRERA-PEREZ M Á, PHAM-THE H, CERVERA M F, *et al.* Integrating theoretical and experimental permeability estimations for provisional biopharmaceutical classification: application to the WHO essential medicines[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2018, 39(7): 354-368.
- [23] XIAO L, POUDEL A J, HUANG L X, *et al.* Nanocellulose hyperfine network achieves sustained release of berberine hydrochloride solubilized with β-cyclodextrin for potential anti-infection oral administration[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 633-640.
- [24] LI Y, ZHU C. Development and *in vitro* and *in vivo* evaluation of microspheres containing sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl) amino] caprylate for the oral delivery of berberine hydrochloride[J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 1957.
- [25] CHEN X X, CHEN Y X, BI H X, *et al.* Efficacy and safety of triple therapy containing berberine hydrochloride, amoxicillin, and rabeprazole in the eradication of *helicobacter pylori*[J]. *J Dig Dis*, 2022, 23(10): 568-576.

(收稿日期:2023-07-19)