

· 药代动力学 ·

妇炎康灌肠剂中芍药苷在家兔体内药代动力学

陈小新^{1,2}, 原素², 龙超峰^{2*}, 赖小平¹

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东华南药业集团有限公司, 广东 东莞 523325)

[摘要] 目的:测定妇炎康灌肠剂有效成分芍药苷的药动学参数,为临床合理用药提供科学依据。方法:分别单剂量 ig 与灌肠给予家兔妇炎康灌肠剂,用 HPLC 测定血浆中芍药苷的浓度,用 3p97 程序拟合药物浓度-时间曲线,计算药动学参数。结果:ig 给药后,血浆中未能检出芍药苷;直肠给药后,芍药苷在家兔体内过程符合一室开放模型,药动学参数为: k_a 为 3.1909 h^{-1} , k_e 为 0.9438 h^{-1} , $t_{1/2(k_a)}$ 为 0.2172 h , $t_{1/2(k_e)}$ 为 0.7344 h , T_{\max} 为 0.5421 h , C_{\max} 为 $0.5421\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-4\text{h}}$ 为 $9.2602\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{h}^{-1}$ 。结论:与 ig 给药比较,妇炎康灌肠剂经直肠给药后其主要有效成分在家兔体内吸收更加迅速、完全。

[关键词] 妇炎康灌肠剂;芍药苷;药代动力学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0106-04

Pharmacokinetics of Fuyankang Enema in Rabbits

CHEN Xiao-xin^{1,2}, YUAN Su², LONG Chao-feng^{2*}, LAI Xiao-ping¹

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
2. Guangdong Huanan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Dongguan 523325, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate pharmacokinetics for paeoniflorin of Fuyankang enema in rabbits and provide scientific basis for clinical application. **Method:** The pharmacokinetic study of paeoniflorin after rectal administration and administration by gavage with single dose was investigated by using above HPLC method respectively, the pharmacokinetics parameters was calculated with 3p97 programs. **Result:** Administration by gavage, the paeoniflorin wasn't detected in the rabbit plasma by HPLC method established and the pharmacokinetic parameter of wasn't obtained. After rectal administration, the curve of paeoniflorin plasma concentration-time could be described by a one-compartment model, correlation pharmacokinetic parameter described as follows: k_a was 3.1909 h^{-1} , k_e was 0.9438 h^{-1} , $t_{1/2(k_a)}$ was 0.2172 h , $t_{1/2(k_e)}$ was 0.7344 h , T_{\max} was 0.5421 h , C_{\max} was $5.2397\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-4\text{h}}$ was $9.2602(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})\cdot\text{h}$. **Conclusion:** The result indicated the absorption of paeoniflorin after rectal administration Fuyankang enema is much more superiority to administration by gavage.

[Key words] Fuyankang enema; paeoniflorin; pharmacokinetics

妇炎康灌肠剂是根据传统中医理论和临床经

验,由赤芍、丹参、黄柏、芡实、当归、土茯苓、山药等 13 味中药精制而成的纯中药制剂,具有活血化瘀,软坚散结,清热解毒,消炎止痛等功效,临床常用于慢性盆腔炎等疾病的治疗。其主要有效成分为芍药苷、小檗碱和丹酚酸 B。为了科学地评价其内在质量,本实验以芍药苷为考察指标,采用反相高效液相色谱法测定其血药浓度,考察了妇炎康灌肠剂灌肠和 ig 给药 2 种不同给药途径用药时芍药苷在家兔体内动力学过程,为其临床合理用药提供依据。

[收稿日期] 20110218(004)

[第一作者] 陈小新,博士,从事药物新剂型与新技术研究,
Tel: 0769-81388217, E-mail: chenzy2000@yahoo.com.cn

[通讯作者] *龙超峰,硕士,高级工程师,主要从事药品研发与生产, Tel: 0769-86100111, E-mail: longcf88@sina.com

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元梯度泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 型 DAD 检测器, G1322A 在线脱气机, Agilen ChemStations 数据处理软件(安捷伦科技有限公司)。超声波清洗机(SB-5200, 宁波新芝科器研究所), 实验室专用超纯水机(重庆利迪现代水技术设备有限公司)。电子天平(CP225D, 德国赛多利斯), 漩涡混合器(QL-901, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司), 80-2 台式低速离心机(上海医疗器械有限公司), 氮吹仪(HGC-12, 上海楚定分析仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂 芍药苷对照品(批号 0721-200010), 由中国药品生物制品检定所提供。妇炎康灌肠剂(批号 20070812), 由广州中医药大学新药开发研究中心提供, 处方组成为赤芍、土茯苓、三棱、川楝子、莪术、延胡索、芡实、当归、苦参、香附、黄柏、丹参、山药, 各味药在处方中的比例为: 0.6:1:0.6:0.6:0.6:1:1:0.6:0.4:0.6:1:1.2。莪术、当归、香附采用超临界二氧化碳萃取, 黄柏、苦参、延胡索和当归、香附、莪术超临界药渣采用 70% 乙醇超声提取, 赤芍、土茯苓、川楝子、芡实、山药、三棱 80 °C 热水温浸提取, 芍药苷含量为 8.69 mg·g⁻¹。肝素钠(上海伯奥生物科技有限公司)、色谱甲醇、乙腈(德国 Merck 公司)、高氯酸(天津市富宇精细化工有限公司)。

1.3 动物 新西兰大白兔[购自广州中医药大学实验动物中心, 许可证号 SCXK(粤)2003-0001, 粤监证字 2007A016]8 只, 均为雌性, 体重 2.5 kg 左右。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制 精密称取芍药苷对照品 6.24 mg, 用甲醇溶解、定容于 25 mL 量瓶中, 摇匀, 得到 0.249 6 g·L⁻¹ 芍药苷对照品溶液, 置 4 °C 冰箱保存, 备用。

2.2 血浆样品的制备 精密移取待测血浆 1 mL 于 10 mL 具塞离心管中, 加入 8 mL 乙酸乙酯萃取 2 次, 第 1 次 5 mL, 第 2 次 3 mL, 漩涡振荡 3 min, 超声 2 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液于干净离心管中, 40 °C 水浴氮气挥干, 再加入 0.1 mL 甲醇, 漩涡 5 min 充分溶解残渣, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取出上清液, 用 0.45 μm 针头式滤膜过滤, 备用。

2.3 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm,

5 μm), 流动相: 乙腈-水(16:84), 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 检测波长 230 nm。

分别取家兔空白血浆、家兔空白血浆加芍药苷对照品溶液、家兔灌肠给药后血浆样品, 处理后的溶液 20 μL 进样分析, 色谱图见图 1。

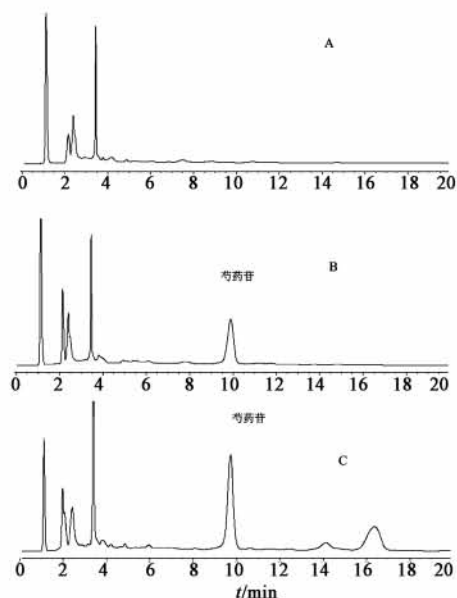


图1 A 空白血浆、B 空白血浆加芍药苷对照品、C 给药后血浆样品的 HPLC

结果表明, 家兔血浆中的内源性杂质不干扰血浆中芍药苷测定, 芍药苷的保留时间约为 9.8 min。

2.4 标准曲线的绘制 精密移取 2.1 项下芍药苷对照品溶液, 通过倍量稀释法, 分别得到质量浓度为 24.960, 12.480, 6.240, 3.120, 1.560, 0.780, 0.390, 0.195 mg·L⁻¹ 的芍药苷对照品溶液。分别精密吸取上述系列芍药苷对照品溶液 1 mL 于 8 支 10 mL 具塞玻璃离心管中, 40 °C 氮气吹干甲醇, 精密加入 1 mL 空白血浆, 漩涡 1 min, 混匀, 即得系列芍药苷对照品标准血浆。以后处理同 2.2 项下, 从“加入 8 mL 乙酸乙酯”起依法操作, 精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 按 2.3 项下测定峰面积。以芍药苷的峰面积(Y)对进样浓度(X)进行回归, 得回归方程 $Y = 110.22 X + 4.6058$ ($R = 0.9999$), 结果表明芍药苷血药浓度在 0.195 ~ 24.960 mg·L⁻¹ 线性关系良好。

2.5 回收率试验 精密移取不同浓度的芍药苷对照品溶液, 氮气吹干甲醇, 精密加入 1.0 mL 空白血浆, 配制含芍药苷为 0.195, 3.120, 24.960 mg·L⁻¹ 的血浆样品各 5 份, 按 2.2 项下方法处理后, 精密吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 按 2.3 项下色谱条件测定峰

面积,计算回收率。结果表明,高、中、低浓度的平均回收率分别为 $(86.88 \pm 1.71)\%$, $(99.37 \pm 1.18)\%$, $(99.83 \pm 2.20)\%$,符合生物样品分析要求。

2.6 精密度实验 精密移取不同浓度的芍药苷对照品溶液,氮气吹干甲醇,精密加入 1.0 mL 空白血浆,配制成含芍药苷为 0.195, 3.120, 24.960 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样品各 5 份,按 2.2 项下方法处理后,精密吸取 20 μL ,注入液相色谱仪,按 2.3 项下色谱条件测定峰面积,于一日内和不同日连续测定 5 次,计算日内精密度和日间精密度,结果见表 1。结果表明,3 个不同浓度的芍药苷含药血浆日内、日间精密度 RSD 均小于 5%,提示本方法精密度良好。

表 1 芍药苷精密度实验

加入质量浓度 $/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	日间精密度 RSD/%	日内精密度 RSD/%
0.195	4.87	1.76
3.120	1.82	1.06
24.960	2.21	1.96

2.7 试验方案与血样采集 取家兔 8 只,随机分为 2 组,每组 4 只,给药前禁食 12 h,不禁水。给药剂量按芍药苷计算为 $5.91 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,一组 ig 给药妇科炎症灌肠剂混悬液,一组灌肠给药。给药后 0.17, 0.33, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 h,耳中央动脉取血,每次 2 mL,3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离血浆 1.0 mL,置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,备用。

直肠给药方法:取灌肠用的导尿管,管头涂凡士林,使兔固定于兔盒内,拉住兔尾,露出肛门,将导尿管缓慢插入家兔肛门内,深度 7~9 cm。导尿管内腔与注射器套紧:灌注计算量的药液,再吸取一定量生理盐水冲洗导尿管。灌药后,用夹子夹闭兔子肛门,以防药液漏出。

2.8 统计学处理 通过 HPLC 测定分析得到的血药浓度数据,然后将各时间点的血药浓度数据分别算出均值,将血药浓度均值与时间采用 3p97 版程序计算药动学参数。

2.9 结果

2.9.1 平均血药浓度-时间曲线 将 HPLC 测得各血样中芍药苷峰面积代入回归方程,得出每只家兔 ig、灌肠给药的血药浓度,然后算出其均值。ig 给予妇科炎症灌肠剂后,家兔血浆中未能检出芍药苷,甚至当剂量增至 $17.73 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,ig 给药后只有少数取血点的血浆能检出芍药苷,但含量很小,大多不能

定量,因此未能得到口服给药的相关药动学参数。灌肠给药后血浆中芍药苷浓度均值的药-时曲线见图 2。

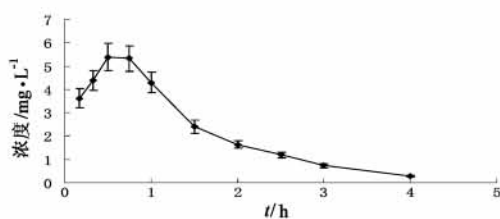


图 2 灌肠给药后家兔血浆中芍药苷的药-时曲线图 ($n=4$)

2.9.2 药代动力学参数 利用 3p97 药代动力学软件,对家兔灌肠给药妇科炎症灌肠剂后一系列不同时间点的血药浓度进行数据处理,并根据 AIC(赤池信息判据最小规则)结合 Re 值等判定家兔灌肠给药妇科炎症灌肠剂后芍药苷体内过程为一室开放模型。其主要药动学参数见表 2。

表 2 灌肠给药妇科炎症灌肠剂芍药苷兔体内药动学参数 ($n=4$)

参数	数值	单位
k_e	0.943 8	h
k_a	3.190 9	h
$t_{1/2}(k_a)$	0.217 2	h
$t_{1/2}(k_e)$	0.734 4	h
T_{max}	0.542 1	h
C_{max}	5.239 7	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
AUC	9.260 2	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$

结果表明,家兔灌肠给药妇科炎症灌肠剂芍药苷的 C_{max} 为 $5.239 7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, T_{max} 为 0.542 1 h, AUC 为 $9.260 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

3 讨论

本实验曾考察相关文献^[14]的血浆样品处理方法,但结果均不理想:乙腈沉淀蛋白,血浆内源性物质干扰大,线性关系差,并且费用高;乙腈沉淀蛋白后,用乙醚萃取掉样品中非极性物质过程中乙醚与乙腈经常出现不分层的现象。

本实验通过灌肠给药与 ig 给药的药动学比较,发现灌肠给药时,芍药苷很容易被吸收,在 10 min 时即有较大浓度,达峰时间较早,为 0.542 1 h,达峰浓度也很大,为 $5.239 7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而相同的剂量口服给药时,兔血浆中几乎检测不到芍药苷,当给药剂量增加至 $17.73 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,只有少数时间能够检测到芍药苷,但大多在定量限之下,无法定量分析。灌肠给药时,兔血浆中芍药苷的浓度很高,甚至可以维

持到 12 h 以后。结果表明,灌肠给药芍药苷的吸收效果要远远好于 ig 给药。芍药苷是双环单萜类化合物,水溶性稍好而脂溶性较差,同时可能存在肝脏的首过效应,而导致口服生物利用度较低,丁光超等^[5]报道大鼠口服芍药苷绝对生物利用度为为(21.11±7.92)%,蒋学华等^[6]报道了芍药苷家兔 ig 给药生物利用度极低,该研究发现 ig 给药芍药苷剂量为 4.14,8.28 mg·kg⁻¹时。随着给药剂量的增加和服药后采血时间的延长,均未能检测出芍药苷特征峰。刘中秋等^[7-9]亦报道了芍药苷生物利用度低并研究了芍药苷口服给药吸收差的机制,提出了芍药苷口服吸收差是由于小肠上皮细胞中的 p-糖蛋白的外排作用,芍药苷脂溶性差而导致低渗透能力,小肠刷状缘上一些酶的水解、降解芍药苷的作用。直肠给药后,药物混合于直肠分泌液中,透过黏膜被吸收,其传输途径有三:其一,由直肠中静脉、下静脉和肛门静脉直接吸收入循环,占吸收药物的 50%~70%。因不经过肝脏从而避免了肝脏的首过效应,提高血药浓度;其二,由直肠上静脉进入肝脏,代谢后再参与大循环;其三,直肠淋巴系统吸收部分药物。三条途径均不经过胃和小肠,避免了酸、碱、消化酶对药物的影响和破坏作用,减轻药物对胃肠的刺激,因而大大提高药物的生物利用度。

目前,中药复方的有效物质基础是一个亟待解决的重大课题,在有效物质不明时,怎样选择指标成分,使之能在相当程度上代表整个复方。毫无疑问,能达到要求的指标是需要认真筛选并经多方认证的,指标成分应该具备以下基本条件:①是药物的质量监控指标。②能体现复方的主要功效。③能被吸收入血。④具有可检测性。在本实验中之所以选芍药苷作为妇炎康灌肠剂的药动学检测指标成分,是因为芍药苷在一定程度上能满足以上要求:①芍药苷是妇炎康灌肠剂中作为质量控制的指标。②妇炎康灌肠剂的主要功效是活血化瘀,软坚散结,清热解毒,消炎止痛,现代药理证明芍药苷具有抗炎抗感染,镇痛解痉,扩张血管等^[10-12]药理作用,体现了妇炎康灌肠剂的主要功效。③芍药苷有着较为成熟的药代动力学研究方法学。从本实验的结果也部分证实了芍药苷作为指标成分的有效性:灌肠给药后芍药苷能被吸收入血,并达到了较高的浓度。从本实验的结果来看,中药复方的药代动力学研究在现阶段有效物质基础不明的情况下是有可能达到

目的的。

[参考文献]

- [1] Yang X G, Peng B, Zhang G H, et al. Studies of the pharmacokinetics of paeoniflorin in two Jing-Zhi-Guan-Xin formulations after oral administration to beagle dogs [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(1):320.
- [2] Lih-Chi Chen, Mei-Hsien Lee, Mei-Huei Chou, et al. Pharmacokinetic study of paeoniflorin in mice after oral administration of Paeoniae Radix extract [J]. *J Chromatogr B*, 1999, 735(1):33.
- [3] 刘东峰,张莉,陈婷. 四逆散有效成分芍药苷药代动力学研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2005, 11(4):36.
- [4] Wang C H, Wang R, Cheng X M, et al. Comparative pharmacokinetic study of paeoniflorin after oral administration of decoction of Paeoniae Radix Rubra and Radix Paeoniae Alba in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(3):467.
- [5] 丁光超,王芳芳,叶肖栗. 芍药苷在大鼠体内的药动学和生物利用度研究[J]. *西北药学杂志*, 2009, 24(2):124.
- [6] 蒋学华,刘世端,徐萍. 反相高效液相色谱法测定血浆中芍药甙的含量[J]. *中成药*, 1993, 16(2):99.
- [7] Liu Z Q, Jiang Z H, Liu L, et al. Mechanism responsible for poor oral bioavailability of paeoniflorin: Role of intestinal disposition and interactions with sinomenine [J]. *Pharm Res*, 2006, 23(12):2768.
- [8] Liu Z Q, Zhou H, Liu L, et al. Influence of co-administrated sinomenine on pharmacokinetic fate of paeoniflorin in unrestrained conscious rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 99(1):61.
- [9] Chan K, Liu Z Q, Jiang Z H, et al. The effects of sinomenine on intestinal absorption of paeoniflorin by the everted rat gut sac model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103(3):425.
- [10] 张玲玲,魏伟,汪庆童,等. 芍药苷对胶原性关节炎大鼠滑膜细胞 G 蛋白偶联信号的调节作用[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(3):330.
- [11] 胡南,许惠玉,陈志伟,等. 芍药苷的药理学研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2007, 28(9):1093.
- [12] 陈华,叶柳贤. 白芍醇提取液的镇痛抗感染作用效果实验研究[J]. *中国当代医药*, 2010, 17(1):18.

[责任编辑 聂淑琴]