

芎冰微乳在新西兰兔体内的药动学研究

夏祖猛, 王利胜*, 赖宝林, 吴阳, 陈晓丹, 陈豆, 吕耿彬
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 研究芎冰微乳制剂在兔体内的药动学特征。方法: 芎冰微乳质量静脉注射给药后, 采用高效液相测定不同时间点 TMP 的血药浓度, 用 DAS2.1 数据处理软件计算药动学参数。结果: TMP 体内质量浓度在 $0.062 \sim 12.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$) 呈良好的线性关系, 其血药浓度曲线符合二室模型, 其主要药动学参数 $t_{1/2\alpha} = 15.617 \text{ min}$, $t_{1/2\beta} = 49.171 \text{ min}$, $V = 0.509 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, $CL = 0.014 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, $AUC_{(0-\infty)} = 222\,063.235 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$, $MRT_{(0-\infty)} = 30.841 \text{ min}$ 。结论: 本实验建立的方法简单, 线性、精密度、回收率良好, 专属性强, 可用于川芎嗪体内药动学研究, 并明确了芎冰微乳注射给药在新西兰兔体内的药动学特征。

[关键词] 芎冰微乳 川芎嗪 药动学 高效液相法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0119-03

Pharmacokinetics Investigation of Xiongbing Microemulsion in Rabbit

XIA Zu-meng, WANG Li-sheng*, LAI Bao-lin, WU Yang, CHEN Xiao-dan, CHEN Dou, LV Geng-bin
(School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate pharmacokinetics of Xiongbing Microemulsion in rabbit blood. **Method:** The plasma concentration of tetramethylpyrazine (TMP) was determined by HPLC after i. v. The data were processed by DAS 2.1 software to calculate the pharmacokinetic parameters. **Result:** The calibration curve was linear in the range of $0.062\text{--}12.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$). The measured pharmacokinetics of free TMP concentration fitted open two compartment model after i. v. The main pharmacokinetic parameters for TMP were as follows: $t_{1/2\alpha}$ was 15.617 min ; $t_{1/2\beta}$ was 49.171 min ; and V was $0.509 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$; CL was $0.014 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$; $AUC_{(0-\infty)}$ was $222\,063.235 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$; $MRT_{(0-\infty)}$ was 30.841 min . **Conclusion:** With good linearity, precision and recovery, the method is sensitive and simple, and suitable for pharmacokinetic study and the research of TMP. The pharmacokinetic characteristics of TMP in rabbits were understood.

[Key words] Xiongbing microemulsion; tetramethylpyrazine; pharmacokinetic; HPLC

[收稿日期] 20110113(005)

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30873443)

[第一作者] 夏祖猛, 硕士研究生, 专业: 药物制剂, E-mail: 389300896@qq.com

[通讯作者] * 王利胜, Tel: 020-39358043, E-mail: wli68@126.com

肠吸收较好; 固定吴茱萸用量条件下 4 个药物配比均在回肠内吸收较好, 其中以黄连吴茱萸 2:1 吸收最好。得出无论固定黄连或固定吴茱萸用量来制备供试药液, 黄连: 吴茱萸为 1:1 和 6:1 时, 于空肠和回肠较易吸收, 吸收常数较大; 黄连: 吴茱萸为 2:1 时, 较易于回肠吸收, 吸收常数最大。

[参考文献]

[1] Suttoncs, Rinaldits, Vukovinskyke, et al. Comparison of the

gravimetric, phenol-red, and 14C-PEG-3350 methods to determine water absorption in the rat single-passintestinal perfusion model[J]. Aaps Pharm Sci, 2001, 3(1): 25.

[2] 聂淑芳, 潘卫三, 杨星钢, 等. 对大鼠在体肠单向灌注技术中质量法的评价[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(10): 1176.

[3] Fagerholm U, Johansson M, Lennernas H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum[J]. Pharm Res, 1996, 13(9): 336.

[责任编辑 何伟]

川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP), 是中药川芎中的主要活性生物碱, 它可从植物川芎的根茎提取分离, 也可人工合成。现代研究表明^[1]川芎嗪具有扩张血管、抑制血小板聚集、防止血栓形成、改善脑缺血等多种作用。临床运用表明, TMP 对缺血性脑血管疾病的急性期, 恢复期及其后遗症, 如脑供血不足, 脑血栓形成, 脑栓塞, 动脉硬化等均有较好疗效; 能改善这些疾病引起的偏瘫, 失语, 吞咽困难, 走路不稳, 记忆力减退等症状^[2-3]。芎冰微乳主治急性缺血性中风, 药理研究也证实其具有良好的改善大鼠脑缺血方面的作用^[4]。本实验采用 HPLC 测定芎冰微乳兔耳缘静脉注射给药后 TMP 在血液中的浓度, 考察 TMP 在兔体内的药动学特征, 为指导芎冰微乳的临床前研究提供药动学实验依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪(515 泵, 2487 紫外检测器, 浙江大学 N3000 色谱工作站), AUW120D 1/10 万分析天平(日本岛津), XW-80A 微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 芎冰微乳(实验室自制, TMP 含量 $2.57 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 川芎嗪对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110817-200305), TMP(泽朗植提, 含量 $\geq 98.5\%$), 1% 的肝素钠(0.9% NaCl 溶液介质), 3% 戊巴比妥钠溶液, 乙腈(色谱纯, 迪马公司), 其他试剂为分析纯。

1.3 实验动物 新西兰兔 6 只, 体重 $2 \sim 2.5 \text{ kg}$, 雌雄各半, 由广州中医药大学实验动物中心提供(动物许可证号 SCXK(粤)2008-020, 合格证号 0077570)。

2 方法与结果

2.1 方法专属性试验 色谱条件: 迪马 platisil ODS 柱($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), Phenomenex 保护柱。流动相 乙腈-0.5% 冰乙酸 ($36:64$), 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 295 nm , 进样量 $10 \mu\text{L}$, 柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, 理论塔板数不低于 15 000。在该色谱条件下, 分别将空白血浆、空白血浆加 TMP 和样品血浆, 按照血浆处理方法操作后进样分析, 色谱图见图 1, TMP 峰形良好, 无杂峰干扰, 表明本方法具有良好的专属性。

2.2 对照品溶液的配制 精密称取 3.10 mg TMP 对照品, 加甲醇配成 $62.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 作为对照品储备液, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 备用。

2.3 血浆样品的预处理 取血浆 $200 \mu\text{L}$, 加入

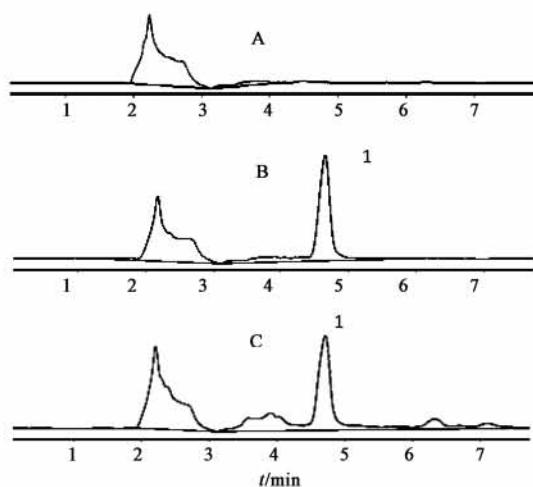


图 1 TMP 对照品、血浆样品等的 HPLC

A. 空白血浆; B. 空白血浆加对照品; C. 血浆样品; 1. HTMP

$600 \mu\text{L}$ 的甲醇, 涡旋 1 min , $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 取 $10 \mu\text{L}$ 上清液进样分析。

2.4 标准曲线的绘制 取空白血浆, 加入对照品溶液适量, 配制成 TMP 质量浓度为 $0.062, 0.124, 0.248, 0.62, 1.55, 3.10, 4.13, 12.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列血样。分别按 2.3 项下方法处理后进样 $10 \mu\text{L}$ 测定。均进样 $10 \mu\text{L}$, 记录峰面积, 以峰面积积分为纵坐标 Y, 以进样质量浓度为横坐标 X, 绘制标准曲线, 求得回归方程, $Y = 6\,579.17X + 484.08$ ($R^2 = 0.998$), 表明 TMP 在 $0.062 \sim 12.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与其峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度和回收率实验 按 2.4 项下方法配制高、中、低 3 种含药 ($0.124, 1.55, 4.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 血浆样品, 各 5 份, 按 2.3 项下操作, 进样测定。于 1 d 内测定 5 次, 连续测定 3 d, 日间与日内 RSD(% , $n = 5$), 结果见表 1。

同上配制高、中、低 3 种含药血浆样品, 各 5 份, 按 2.3 项下操作, 进样测定, 每个浓度测 5 次, 以未经处理的对照品溶液为标准计算提取回收率^[5], 结果见表 1。

表 1 TMP 在血浆中的回收率与精密度 ($n = 5$)

TMP/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率/%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
0.124	75.92 ± 4.35	4.96	3.25
1.55	77.29 ± 3.53	2.83	2.86
4.13	78.30 ± 3.22	2.44	1.94

2.6 药动学研究 健康新西兰兔 6 只(试验前 24 h 禁食不禁水), 称重, 沿耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥

麻醉,分离颈总动脉,插入肝素管;给药剂量按 $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 芎冰微乳(以 TMP 计 $2.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 耳缘静脉注射给予芎冰微乳。取血时间分别为药后 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 80, 100, 120 min, 颈总动脉取血约 1 mL 置于肝素化离心管中。 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离

心 10 min, 分离血浆, 置 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。

上述样品均按 2.3 项下操作后进样测定, 血药浓度-时间数据采用 DAS2.1 药动学软件进行最佳拟合, TMP 在兔体内血液药动学符合二室模型。药-时曲线见图 2, 主要药动学参数见表 2。

表 2 芎冰微乳注射给药 TMP 在血液中的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	数值	参数	数值
$t_{1/2\alpha}/\text{min}$	15.617 ± 2.013	K_{12}/min^{-1}	0.014 ± 0.004
$t_{1/2\beta}/\text{min}$	49.171 ± 6.525	K_{21}/min^{-1}	0.017 ± 0.006
$V/L \cdot \text{kg}^{-1}$	0.509 ± 0.107	$AUC_{(0-\infty)}/\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	$222\ 063.235 \pm 35\ 905.631$
$CL/L \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.014 ± 0.003	$MRT_{(0-\infty)}/\text{min}$	30.841 ± 5.237
K_{10}/min^{-1}	0.028 ± 0.009		

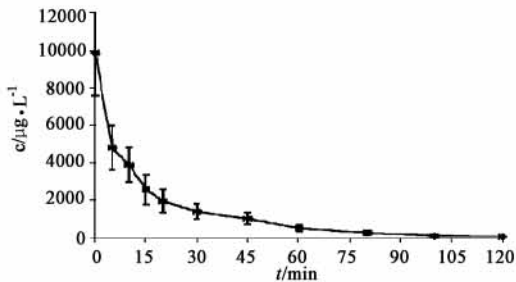


图 2 芎冰微乳注射给药游离 TMP 的药-时曲线 ($n=6$)

3 讨论

预试验中,曾试过甲醇和水、不同比例的冰乙酸等为流动相系统,但存在出峰时间较长、干扰峰多或峰形拖尾等现象。流动相为乙腈:0.5%冰乙酸(36:64)时,血浆中 TMP 峰形良好,约 4.8 min 出峰,阴性样品中无其他内源性物质干扰。由于在血浆样品中可能含有与药物结合的蛋白质、脂类或盐类,这些成分可能影响色谱柱的柱效,因此检测前必须先除去蛋白质。试验过程中采用过乙腈等试剂沉淀蛋白,效果不理想,最终确定用甲醇直接沉淀蛋白,离心后进样,操作简单且费用低,方法较可靠,适于一般实验室条件下测定。

微乳作为纳米微粒载药体系,其对药物的吸收具有很好的促进作用,是口服大分子药物、吸收性差的水溶性药物和难溶性药物的良好载体^[6]。本研究表明微乳与水溶液相比具有明显的脑靶向性,可以显著提高 TMP 的生物利用度^[7]。芎冰微乳注射给药后 TMP 在兔体内的药-时曲线特征符合二室模

型, $t_{1/2\alpha} = 15.617 \text{ min}$, 表明 TMP 在体内药物分布迅速; $t_{1/2\beta} = 49.171 \text{ min}$, $MRT_{(0-\infty)} = 30.841 \text{ min}$, 说明芎冰微乳注射给药 TMP 在体内存在消除半衰期较短,体内平均滞留时间短的问题,这可能与 TMP 药物本身生物半衰期短,以及微乳剂型释药迅速的特点有关,今后可以对芎冰微乳进行不同的给药途径或剂型改进方面的研究,以延长药物在体内的作用时间,提高制剂的临床疗效。

[参考文献]

- [1] 周昌奎,吴晓华.川芎嗪临床应用及研究进展[J].海峡药学,2004,16(6):3.
- [2] 贾金玉.川芎嗪注射液为主治疗脑梗塞 56 例[J].陕西中医,2004,25(2):122.
- [3] 李云田,张同岭,李玉琴.川芎嗪合尿激酶治疗急性缺血性脑梗塞 60 例疗效分析[J].中华现代临床医学杂志,2004,2(5A):627.
- [4] 郭琦,王利胜,石宗丰,等.芎冰微乳抗脑缺血再灌注损伤保护作用研究[J].中药新药与临床药理,2010,21(5):477.
- [5] 崔升森,马龔斌.维拉帕米对葛根素的药动学影响[J].中国中药杂志,2008,33(16):2033.
- [6] 吕娟丽,李彦,沈丹,等.微乳促进药物口服吸收的机理及应用概述[J].中国药师,2008,11(5):575.
- [7] 王利胜,郭琦,韩坚,等.川芎嗪在小鼠血、脑和肝中的药动学研究[J].中草药,2009,40(6):935.

[责任编辑 全燕]