

犬一次口服芍药胶囊后芍药甙的药代动力学*

张 壮¹, 秦腊梅², 陈可冀¹

(1. 中国中医研究院西苑医院, 北京 100091; 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

摘要: 目的: 测定中药复方制剂芍药胶囊中芍药甙的药动力学参数, 为临床合理用药提供实验依据。方法: 采用反相高效液相色谱法, 紫外检测。3P87 药代动力学软件拟合药动力学模型。结果: 犬灌胃芍药胶囊后芍药甙的体内过程符合开放性一室模型, 药代参数为 $ka = 0.0082 \pm 0.0010 (\text{min}^{-1})$, $ke = 0.0060 \pm 0.0015 (\text{min}^{-1})$, $t_{1/2ka} = 86.10 \pm 12.38 (\text{min})$, $t_{1/2ke} = 119.95 \pm 27.23 (\text{min})$, $t_{peak} = 169.16 \pm 21.81 (\text{min})$, $C_{max} = 3845.89 \pm 716.70 (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ 。

关键词: 芍药甙; 药代动力学; 芍药胶囊; 反相高效液相色谱

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)06-0021-04

Study on the Pharmacokinetics of Paeoniflorin Contained in Xiongshao Capsule in Canine

ZHANG Zhuang, QIN La-mei, CHEN Ke-ji

(1. Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091; 2. The Affiliated Dongzhimen Hospital of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700)

Abstract: OBJECTIVE: To determine pharmacokinetic parameters of paeoniflorin (PF) contained in chinese recipe Xiongshao capsule in canine for proper clinic application. **METHODS:** PF in serum was determined by RP-HPLC with UV-detector. The concentration-time data were fitted using 3p87 Pharmacokinetics Program. **RESULTS:** The concentration-time curves of PF in Xiongshao capsule administrated intragastically fitted open one compartment model. Pharmacokinetic parameters were $ka = 0.0082 \pm 0.0010 (\text{min}^{-1})$, $ke = 0.0060 \pm 0.0015 (\text{min}^{-1})$, $t_{1/2ka} = 86.10 \pm 12.38 (\text{min})$, $t_{1/2ke} = 119.95 \pm 27.23 (\text{min})$, $t_{peak} = 169.16 \pm 21.81$, $t_{max} = 3845.89 \pm 716.70 (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$.

Key words: Paeoniflorin; Pharmacokinetics; Xiongshao Capsule; RP-HPLC

芍药甙 Paeoniflorin (PF) 为活血化瘀复方制剂芍药胶囊的主要成分, 本研究应用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定芍药甙的血清药物浓度, 对犬一次灌胃芍药胶囊中芍药甙的药代动力学进行研究, 为芍药胶囊的临床合理用药提供实验依据, 为芍药胶囊

进一步的临床药理研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪, C-R3A 数据处理机, 岛津 SPD-6AV 紫外可见可变波长检测器。

1.2 药品与试剂 芍药胶囊, 中国中医研究院西苑医院制剂室提供, 批号: 970411。芍药甙标准品, 芍药甙标准品购自中国药品生物制品检定所(批号: 0736-9608), 经 HPLC 检测为单一色谱峰(归一化法测定纯度为

99.1%)。高效液相色谱流动相所用甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯等试剂均为国产分析纯,水为三蒸水。

1.3 实验动物 杂种犬 6 只,均为雄性,体重 17.57 ± 2.06 (Kg),第四军医大学西京医院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 色谱条件 固定相: Hypersil ODS₂C18 柱(150mm×4.6mm, 5 μ m),流动相: 甲醇-水(72: 28, v/v),抽滤后超声波脱气 10min 使用。流速: $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 22 $^{\circ}\text{C}$,检测波长: 230nm,灵敏度: 0.01AUFS。在此条件下,PF 保留时间 $t_r = 10.00 \pm 0.08$ (min)。采用外标法定量测定血清芍药甙浓度。

2.2 标准液配制 精密称取芍药甙标准品 7.80mg,以甲醇溶解于 50ml 容量瓶中,成为 $156.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准母液,分装于玻璃试管中, - 20 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存待用。

2.3 血清样品的预处理方法 微量加样器精取待测犬血清 200 μ l 加入尖底玻璃离心试管,移液管精取乙酸乙酯 1.4ml 加入试管旋混 120sec, 3000r \cdot min $^{-1}$ 离心 15 分钟,精取乙酸乙酯层 1.0ml,置于玻璃试管中,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴,氮气吹干,密封待测。150 μ l 流动相溶解定容,进样 100 μ l。

2.4 线性范围 芍药甙标准溶液用混合空白犬血清配制血清芍药甙浓度分别为 $93.60 \sim 4680.00 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 7 个含药血清标准管。按血清样品进行预处理进行 HPLC 测定峰面积(A_{PF}),共测定 5 组含药血清标准管,经 Q 检验,各浓度点 A_{PF} 无逸出值。计算 5 组各浓度点平均值,以 A_{PF} 做为纵坐标,以血清芍药甙浓度 C_{PF} 为横坐标,进行线性回归,得标准曲线方程。

2.5 检测限 制备 PF 浓度为 1、2、4、5、8、10、15、20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含药犬血清,预处理后进样,以信噪比(S/N)为 3 时的 PF 血清浓度判为本分析方法的检测限。

2.6 回收率测定法 制备血清 PF 浓度

(C_{PF}) 为 124.80、936.00、3900.00 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个 1 组高中低浓度系列含药血清,在 10 天内分别做 5 组,按血清预处理方法处理,HPLC 测定 A_{PF} 代入标准曲线计算 C'_{PF} (实测值),回收率 $RC = C'_{PF} / C_{PF}$ 。

2.7 日内、内间精密度测定法 制备血清 PF 浓度(C_{PF}) 为 124.80、936.00、3900.00 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个 1 组高中低浓度系列含药血清,在 1 日内测定 6 组,按血清预处理方法处理,HPLC 测定,计算相对标准偏差 RSD ,结果为日内精密度。在 10 日内不同天内测定 5 次,计算 RSD ,结果为日间精密度。

2.8 给药与取血 芍药胶溶解于生理盐水,配成相当于生药 1g/ml 溶液,经 HPLC 测定其芍药甙含量为 16.13mg/ml。实验前犬禁食 12 小时,在麻醉条件下插胃管,犬插管灌胃给药 5ml/kg,给药前取空白血清,在灌胃后 5、10、20、30、45、60、120、180、240、300、360、480、720min 不同时点从左侧股动脉插管取血 2ml,分离血清, - 20 $^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

2.10 药动学房室模型拟合与选择 采用中国药学会数学药理委员会编制的 3P87 实用药代动力学软件,微机处理 PF 经时血清浓度,自动拟合药动学房室模型,计算药代动力学参数。以 F 检验对一次权重的三种房室模型进行方差分析,根据赤池氏信息判据 (Aikake's Information Criterion, AIC)、相关指数 R^2 、相关系数 R 、血药浓度最大相对误差 ME 、实测浓度在理论曲线上变化次数 (Run) 等指标和方差分析结果来判定药动学房室模型。

3 实验结果

3.1 色谱图 见图 1

3.2 专一性 芍药甙峰与犬血清内源性物质、芍药制剂吸收入血的其他成分峰均实现基线分离。犬灌胃芍药制剂后的含芍药甙血清经预处理定容液中加入芍药甙标准液,只有芍药甙保留时间 10.00 ± 0.08 min 处的色谱峰特异性增高,峰面积增加量与所加芍药

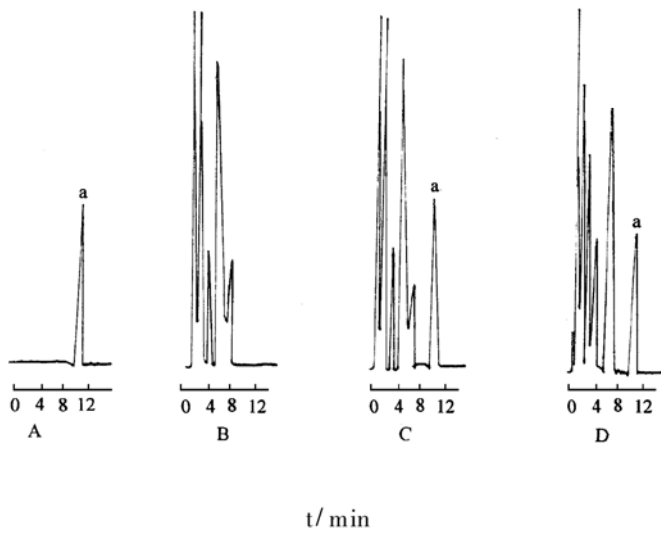


图1 HPLC 色谱图

A 芍药甙标准品 B 混合空白犬血清 C 混合空白犬血清加入芍药甙标准品 D 犬灌胃芍药胶囊 240min 时点血清 a 为 PF 的色谱峰

甙量成正比,表明本法专一性良好。

3.3 线性范围与标准曲线 血清芍药甙浓度在 $93.60 \sim 4680.00 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内, PF

峰面积与血清 PF 浓度间线性关系良好, 标准曲线方程 $A_{PF} = 41.4250C_{PF} + 1575.1988$ ($r = 0.9984$)。结果表明, 可满足动物实验定量分析的要求。

3.4 检测限测定 检测限测定结果表明 PF 浓度为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含药犬血清的 HPLC 色谱图符合 $S/N = 3$ 的条件, 故确定本法的检测限为 PF 血清浓度 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.5 回收率与精密度 含 PF 浓度为 $124.80, 936.00, 3900.00 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 犬血清样品预处理后, 测得三种浓度样品的回收率分别为 $(100.86 \pm 2.75)\%$ 、 $(99.62 \pm 2.17)\%$ 、 $(99.96 \pm 1.29)\%$ 。这三种浓度样品的日内 $RSD(\%)$ 分别为 1.84% 、 1.91% 、 1.58% ; 日间 $RSD(\%)$ 分别为 2.59% 、 2.10% 、 1.72% 。

3.6 犬一次灌胃芍药胶囊后芍药甙血清药物经时浓度测定结果 见表 1。

表1 犬一次灌胃芍药胶囊后血清芍药甙药物经时浓度测定结果($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $n = 6$)

时间(min)	30	45	60	120	180	240	300	360	480	720
平均浓度	153.89	329.85	586.30	1534.69	3515.92	3276.65	1704.19	987.30	522.69	138.25
SD	27.02	59.91	89.75	387.78	771.03	1029.96	610.80	210.79	143.60	30.11

3.7 药动学房室模型拟合与药动学参数结果

3.7.1 药动学房室模型拟合与选择 根据 AIC 、相关指数 R^2 、相关系数、 ME 、实测浓度在理论曲线上变化次数(Run)等指标判定犬灌胃芍药胶囊芍药甙的体内过程按开放性一室模型描述较为合理。各指标的统计学结果见表 2。用 F 检验对一次权重的三种房室模型进行方差分析, 结果表明一室与二室、一室与三室、二室与三室间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在房室模型间统计学检验差异不显著的情况下, 原则上应选择参数较少的简单模型, 因此确定犬一次灌胃芍药胶囊后芍药甙的体内过程为开放性一室模型。

表2 拟合优度判定指标的统计学结果($n = 6$)

判定指标	R	R^2	$ME(\%)$	AIC	Run
平均值	0.9991	0.9995	18.0190	-1.8210	7.6
SD	0.00035	0.00021	4.2615	3.5418	1.0

3.7.2 犬一次灌胃芍药胶囊后芍药甙的药动学参数 结果见表 3。

表3 犬灌胃芍药胶囊后芍药甙的药动学参数($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

参数名称	参数值
$ka(\text{min}^{-1})$	0.0082 ± 0.0010
$ka(\text{min}^{-1})$	0.0060 ± 0.0015
$t_{1/2K_a}(\text{min})$	86.10 ± 12.38
$t_{1/2K_e}(\text{min})$	119.95 ± 27.23
$t_{\text{peak}}(\text{min})$	169.16 ± 21.81
$C_{\text{max}}(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	3845.89 ± 716.70
$AUC_{0-\infty}(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min})$	509217.83 ± 160617.22
$C_{\text{max}}/AUC(\text{min}^{-1})$	0.0077 ± 0.0018

4 讨论

流动相曾试用陈崇宏^[2]、蒋学华^[3]二文的流动相, 分离效果不好, 本文选用中性流动相, 经反复摸索甲醇-水的比例, 甲醇-水(25:75)条件下, 芍药甙峰与其它杂峰可实

现基线分离,且保留时间为 10min,比较适中,而若再减低甲醇—水的比例,则峰形不理想,理论塔板数明显下降。

本实验所测犬灌胃芍药胶囊的生物半衰期 $t_{1/2K_e}$ 为 119.95 ± 27.23 (min),与陈崇宏^[2]等所报道的犬静注芍药甙单体的生物半衰期 133.41 ± 84.89 (min) 较接近.表明其具有中等水平的消除速度.其半吸收期 $t_{1/2K_a}$ 为 86.10 ± 12.38 (min),血药浓度达峰时间 t_{peak} 为 169.16 ± 21.81 min,表明复方中芍药甙吸收较慢,达峰较迟.此结果为芍药胶囊的临床合理用药、提高疗效提供了有价值的药动学

数据,对进一步的临床药理研究和药代—药效结合研究具有较大指导意义。

参考文献:

- [1] 梁学谦. 芍药甙的分离提取及其药理作用[J]. 新医药学杂志, 1974, (12): 42~ 44.
- [2] 陈崇宏, 张源, 陈光亮. 芍药甙的药代动力学研究[J]. 中国药理学通报, 1990, 6(5): 299~ 301.
- [3] 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, 15(20): 29~ 30.