

· 论著 ·

新型基质复方丹参滴丸的药物动力学研究

王 巍^{1,2}, 王晓华³, 张晓洁⁴, 陈建明² (1. 解放军第 455 医院, 上海 200052 2 解放军第二军医大学药剂学教研室, 上海 200433 3 解放军第 202 医院, 辽宁 沈阳, 110003 4 总后药材供应站, 北京 100071)

[摘要] 目的 研究新型基质复方丹参滴丸的药物动力学。方法 以新西兰兔为实验动物, 以市售复方丹参滴丸作为对照, 采用高效液相色谱法进行分析。结果 两种基质滴丸的 C_{max} 及 K_a 存在显著性差异 ($P < 0.05$), t_{peak} 、AUC、 $t_{1/2\beta}$ 、MRT 和 VRT 无显著性差异, 新型基质滴丸剂的相对生物利用度为 114.5%。结论 新基质滴丸的吸收速率常数和达峰浓度明显高于原滴丸, 说明新型基质滴丸不仅保持并提高了原滴丸速效、高效的性能, 且在达峰时间、在体内维持治疗浓度的时间及药物的消除情况与原滴丸基本相同。

[关键词] 新型基质; 复方丹参滴丸; 药物动力学

[中图分类号] R945 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)05-0331-03

Study on pharmacokinetics of compound Danshen dropping pills of new matrix

Wang Wei^{1,2}, Wang Xiaohua³, Zhang Xiaojie⁴, Chen Jianming² (1. 455th Hospital of PLA, Shanghai 200052, China 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China 3. 202th Hospital of PLA, Shenyang 110003, China 4. Drug Supply Station of General Logistics of PLA, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective** To study the pharmacokinetics of compound Danshen dropping pills of new matrix. **Methods** HPLC was used as a detection method. New Zealand rabbits were taken as experimental animals. The compound Danshen dropping pills sold in market were taken as comparison products. **Results** There was a significant difference of C_{max} and K_a between two kinds of pills ($P < 0.05$). There was no significant different of t_{peak} , AUC, $t_{1/2\beta}$, MRT and VRT. The relative bioavailability of compound Danshen dropping pills of new matrix was 114.5%. **Conclusion** The absorption rate constant and C_{peak} of compound Danshen dropping pills of new matrix were much higher than the pills sold on the market. New matrix could improve the performance of quick results and high efficiency of the dropping pills. The peak time, the time of maintaining effective concentration and the elimination of drugs were same as old ones on the whole.

[Key words] new matrix; compound Danshen dropping pill; pharmacokinetics

复方丹参滴丸主要成分为丹参、三七、冰片, 其中丹参中主要水溶性有效成分丹参素具有抗心肌缺血和增加冠状动脉流量等药理作用。国内已有复方丹参滴丸有效成分丹参素药物动力学的研究报告^[1-5], 针对新型基质复方丹参滴丸, 本研究建立了高效液相色谱法测定血清中丹参素的浓度, 并测定了家兔喂服新型基质复方丹参滴丸后体内药动学参数, 方法专一, 灵敏快速。

1 仪器、试药与动物

1.1 仪器与试药 Waters HPLC 色谱系统 (515 泵, 916 二极管阵列检测器, Millennium 工作站, 美国 Waters 公司); XW-80 型漩涡混合器 (上海第一医学

院仪器厂); TGL-16B 台式高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); 800 型离心机 (上海手术器械厂); SK1200H 型超声仪 (上海科导超声仪器有限公司); DK-S22 型电热恒温水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司)。丹参素钠对照品 (中国药品生物制品检定所, 纯度 99.3%); 复方丹参滴丸对照品 (天津天士力制药股份有限公司); 新基质复方丹参滴丸 (自制)。

1.2 动物 新西兰兔, 雄性, 体重 (2.5 ± 0.2) kg (第二军医大学动物实验中心)。

2 方法与结果

2.1 新基质复方丹参滴丸制备 将药物以喷雾干燥粉末形式与基质 (木糖醇与淀粉按 1:0.21 比例混合) 以 1:5.5 的比例混合, 适时搅拌, 置化料罐中恒温水浴加热使其熔融, 当料液温度为 85~95℃ 时将其转入带水浴循环的滴剂装置中, 滴

[作者简介] 王 巍 (1975-), 女, 硕士研究生, 主管药师. Tel: (021) 51741091, E-mail: krick1998@yahoo.com.cn

[通讯作者] 陈建明. E-mail: ycjn@163.com.

入与之不相混溶的冷凝液中,滴速为每分钟 35~45滴,滴头与冷凝液的距离为 5~10 cm,选用重质液体石蜡为冷凝液,冷凝温度控制在 -2~4 ℃。冷凝后取出滴丸,吸除滴丸表面的冷却剂,低温干燥即得。

2.2 血清中丹参素的测定

2.2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);水-甲醇-二甲基甲酰胺-冰醋酸(82:12:4:2);流速 1.0 ml/min;检测波长 281 nm;柱温 25 ℃。

2.2.2 标准品溶液的配制 精密称取丹参素钠适量(1 mg丹参素钠相当于 0.900 mg丹参素),用 1%醋酸配成丹参素浓度为 0.5 mg/ml的储备液,精密量取丹参素储备液适量,用 1%醋酸稀释成浓度为 1.25、2.5、5、10、20、40、80、160 μg/ml的标准系列溶液。

2.2.3 血清样品的处理与测定 精密量取血清样品 0.25 ml置于 5 ml具塞离心试管中,精密加入标准品溶液 50 μl加入 2 mol/L的盐酸 100 μl混匀。加入乙酸乙酯提取 2次,每次 3.0 ml漩涡混合 3 min,3 000 r/min离心 10 min,分取有机层,合并提取液,37 ℃水浴通 N₂气流挥干^[6]。残渣用 200 μl流动相溶解后,进样 20 μl。在上述色谱条件下分离测定。丹参素在本色谱条件下的保留时间为 7.844 min, HPLC图见图 1。

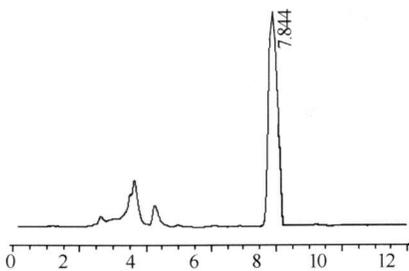


图 1 血清中丹参素对照品的 HPLC图谱

2.2.4 标准曲线的制备方法 按 2.2.3项下处理血清样品后进样 20 μl以丹参素浓度为横坐标(X, μg/ml),以丹参素的峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得标准曲线方程为: $Y = -278.7343 + 9276.5078X$ ($r = 0.9999$)。表明在血清提取物中,丹参素浓度在 1.25~160 μg/ml范围内线性关系良好。

2.2.5 回收率

2.2.5.1 方法回收率 分别于 0.25 ml空白血清中加入高、中、低浓度的丹参素标准溶液 50 μl混匀,得到 3种不同的丹参素浓度的血清样品(1.25

12.5、125 μg/ml),按与血清样品处理相同的方法处理和测定,代入标准曲线方程计算,与实际浓度比较,计算方法回收率。丹参素血清样品低、中、高 3个浓度的平均方法回收率为 $(99.38 \pm 1.86)\%$ 。结果见表 1。

表 1 家兔血清中丹参素高效液相法回收率测定结果 ($n = 5$)

加入量 (μg/ml)	实际测得量 (μg/ml)	回收率 (%)
1.25	1.236 ± 0.054	98.90 ± 4.37
12.5	12.226 ± 0.455	97.81 ± 3.72
125	126.769 ± 5.856	101.42 ± 4.62

2.2.5.2 萃取回收率 3个浓度血清样品按 2.2.5.1项下处理;同时配制 1.25、12.5、125 μg/ml的丹参素标准溶液,共同进样 20 μl。通过比较处理过的样品峰面积与直接进样丹参素标准液的峰面积的比值,求出萃取回收率。低、中、高 3个浓度的平均萃取回收率为 $(83.58 \pm 1.80)\%$,满足方法要求。结果见表 2。

表 2 家兔血清中丹参素萃取回收率测定结果 ($n = 5$)

加入量 (μg/ml)	对照品峰面积 (A ± SD)	样品峰面积 (A ± SD)	回收率 (%)
1.25	13 730 ± 518	11 190 ± 501	81.50 ± 3.72
12.5	133 551 ± 4 573	113 132 ± 4 220	84.71 ± 3.25
125	139 088.0 ± 4 677	1175 694 ± 5 431	84.53 ± 3.78

2.2.6 精密度 按上述方法准确配置高、中、低 3个浓度的血清样品,同日内处理测定 5批;其余血样放入 -20 ℃冰箱内存放,隔日处理测定一批,连续 5批,计算日内和日间相对标准差。结果见表 3。平均日内差和日间差分别为 $(5.16 \pm 0.92)\%$ 和 $(4.35 \pm 1.32)\%$ 。

表 3 家兔血清中丹参素高效液相测定方法的日内及日间精密度 ($n = 5$)

加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	相对误差 (%)	$\bar{x} \pm S$ (%)
日内精密度			
1.25	1.221 ± 0.068	5.54	5.16 ± 0.92
12.5	12.155 ± 0.701	5.84	
125	126.129 ± 5.184	4.11	
日间精密度			
1.25	1.217 ± 0.070	5.73	4.35 ± 1.32
12.5	12.428 ± 0.526	4.23	
125	126.051 ± 3.890	3.09	

2.3 兔体内药动学

2.3.1 血样采集 6只雄性新西兰兔,体重 (2.5 ± 0.2) kg 随机分为两组。一组给予复方丹参滴丸对

照品, 一组给予自制新基质滴丸。实验前 12 h 所有兔子禁食, 不禁水。给药剂量相当于每公斤体重 4 mg 丹参素, 给药方式为温水送服给药。血样采集于 2.5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 240, 360, 480 min, 采集量为 1.5 ml。兔耳缘静脉采血于具塞离心管中, 静置 5 min 后, 15 000 r/min 离心 10 min, 分离血清后, 立即放入 -40 °C 冰箱内存放备用, 2 周后, 2 组交换作自身对照, 操作同前。

2.3.2 血样处理和测定 同 2.2.3 项下操作。

2.3.3 数据处理 血药浓度数据及药动力学参数估计采用 3P87 程序: 以 AIC 值作为指标选择房室模型和权重值, 再计算出药动力学参数和统计矩分析结果。以复方丹参滴丸为对照制剂, 计算新基质滴丸的相对生物利用度, 用配对 t 检验对两组制剂的药动力学参数和统计矩结果进行显著性检验。

2.3.4 结果 图 2 为家兔单剂量口服复方丹参滴丸和新基质滴丸的体内血药浓度数据和药-时曲线图。用 3P87 软件处理, 以 AIC 值为判断标准, 选择一级吸收二室开放模型描述原滴丸和新基质复方丹参滴丸在兔体内的药动学行为, 权重均选择 1/C/C, 采用配对 t 检验对主要参数进行分析, 结果见表 4。

由图及表中可以看出, 新基质复方丹参滴丸的生物利用度为 $(3\ 628\ 699\ 2 \pm 1\ 359\ 761\ 7) \mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{ml}$ 。药物在 15 min 内迅速达到峰浓度, C_{max} 在 $(51\ 670\ 4 \pm 7\ 432\ 5) \mu\text{g} / \text{ml}$ 范围内, $t_{1/2\alpha}$ 约为 5 min, $t_{1/2\alpha}$ 约为 15 min, $t_{1/2\beta}$ 约为 1.58 h。用配对 t 检验对两组滴丸的药物动力学参数和统计矩结果进行显著性检验, 结果表明两组滴丸的 C_{max} 及 K_a 存在着显著性差异 ($P < 0.05$), 新基质滴丸的吸收速率常数和达峰浓度明显高于市售滴丸。两组滴丸的 t_{peak} , AUC, $t_{1/2\beta}$, MRT 和 VRT 均无显著性差异, 说明新基质滴丸的达峰时间、在体内维持治疗浓度的时间及药物的消除情况与原滴丸基本相同。新基质滴丸的相对生物利用度为 114.5%。

3 讨论

3.1 参照有关文献, 笔者建立了 HPLC 法测定血清中游离丹参素的浓度, 方法线性关系良好, 萃取回收率高, 测定结果准确可靠。血清预处理过程中, 初采用 0.5 mol/L 的盐酸 50 μl 乙酸乙酯提取一次, 提取时间为 5 min, 绝对回收率低, 达不到分析要求。分析认为丹参素的蛋白结合率较高, 药物不易游离。后提高酸浓度为 2 mol/L 的盐酸 100 μl 增加提取次数, 延长提取时间, 使丹参素血清样品的绝对回收率达到 83%, 满足了分析要求。

3.2 对新基质滴丸和原滴丸进行了兔体内药动力学研究, 证明两种基质滴丸的 C_{max} 及 K_a 存在显著性差异 ($P < 0.05$), 说明新型基质滴丸保持并提高了原滴丸速效、高效的性能。分析认为可能是新型基质快速崩解溶出的性能导致药物的吸收加快, 由于有效成分在新型基质中的分散程度更好, 因此其在体内的吸收程度更优。

【参考文献】

- [1] 洪 馨, 宓穗卿. 复方丹参滴丸中丹参素的药动力学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2000, 11(5): 286.
- [2] 祝国光. 复方丹参滴丸百问百答 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 31.
- [3] 曹斌, 刘永辉, 王开友, 等. 植入型丹参缓释剂的研制与药代动力学研究 [J]. 中国骨伤, 2002, 15(7): 411.
- [4] 庞志功, 汪宝琪, 励英倩. 对丹参酮 II A 在方剂中药动学的研究 [J]. 西安医科大学学报, 1999, 20(4): 457.
- [5] 庄燕黎, 晁若冰. 高效液相色谱法测定大鼠血浆中丹参素和原儿茶醛 [J]. 药学学报, 1999, 34(8): 613.
- [6] 孟 李, 王宁生. 含药血清的制备方法研究 [J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(5): 290.

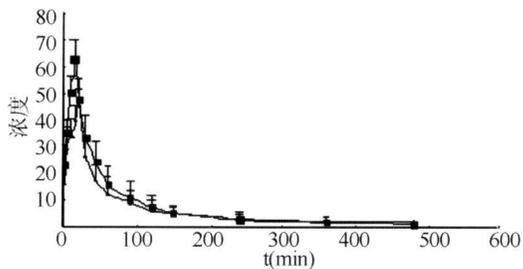


图 2 家兔口服单剂量市售丹参滴丸或新基质复方丹参滴丸后的血浆药时曲线

—▲—市售丹参滴丸; —■—新基质复方丹参滴丸

表 4 新基质复方丹参滴丸与市售丹参滴丸家兔体内药动力学参数比较

	新基质复方丹参滴丸	市售丹参滴丸	t	P
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min} / \text{ml}$)	3 628. 699 2	3 170. 145 8	0. 519 5	> 0. 05
C_{max} ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	51. 6704	39. 3223	5. 1338	< 0. 01
K_a ($1 / \text{min}$)	0. 153 2	0. 129 1	3. 125 3	< 0. 05
t_{peak} (min)	12. 3417	12. 566 6	0. 151 4	> 0. 05
MRT (min)	70. 9832	80. 667 6	0. 496 2	> 0. 05
VRT (min \cdot min)	5 477. 759 8	6 775. 781 2	0. 448 0	> 0. 05
$t_{1/2\beta}$ (min)	94. 958 2	123. 360 2	1. 000 0	> 0. 05

$t_{0.05/2.5} = 2. 570$ $t_{0.01/2.5} = 4. 032$

[收稿日期] 2010-02-01

[修回日期] 2010-06-24