

元胡止痛分散片的家犬体内药动学研究

黄欣¹, 苏乐群¹, 孙付军², 李莉³, 牟燕¹, 李贵海² (1. 山东省千佛山医院, 济南 250014; 2. 山东中医药研究所, 济南 250014; 3. 山东省医药工业研究所, 济南 250100)

摘要:目的 考察元胡止痛分散片的犬体内药动学, 为临床用药提供实验依据。方法 以普通片为对照, 采用单剂量双周期交叉给药方案, 以 HPLC 测定犬体内延胡索乙素的血浆浓度, 并采用 DAS ver1.0 软件计算药动学参数。结果 建立的 HPLC 可用于延胡索乙素的体内浓度分析; 分散片的体内过程符合一室模型, $t_{\max}$ 为 0.75 h, $c_{\max}$ 为 $269.80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, K_e 为 0.564 h^{-1} , $t_{1/2}$ 为 1.773 h, K_a 为 4.294 h^{-1} , $AUC_{0-8 \text{ h}}$ 为 $514.53 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。结论 元胡止痛分散片较普通片吸收快, 体现了分散片的剂型优势, 也符合该制剂功能主治所需的快速起效。

关键词: 元胡止痛分散片; 延胡索乙素; 药物动力学; 高效液相色谱法

中图分类号: R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)01-0045-03

Pharmacokinetic Study of Yuanhu Zhitong Dispersible Tablets in Dogs

HUANG Xin¹, SU Le-qun¹, SUN Fu-jun², LI Li³, MU Yan¹, LI Gui-hai² (1. Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Jinan 250014, China; 2. Traditional Chinese Medicine Institute of Shandong Province, Jinan 250014, China; 3. Medical and Industry Institute of Shandong Province, Jinan 250100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the pharmacokinetics of Yuanhu Zhitong dispersible tablets in dogs. **METHODS** The tetrahydropalmatine concentration in plasma was determined by HPLC, pharmacokinetics parameters were calculated by DAS ver1.0 software after dispersible and conventional tablets were given to dogs through single-dose, double-cycle crossing administration program. **RESULTS** The established HPLC method can be used for the determination of tetrahydropalmatine in plasma. The physiological disposition of Tetrahydropalmatine dispersible tablets fitted one-component model in vivo. The pharmacokinetics parameters of dispersible tablets, such as $t_{\max}$, $c_{\max}$, K_e , $t_{1/2}$, K_a and $AUC_{0-8 \text{ h}}$ was 0.75 h, $269.80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 0.564 h^{-1} , 1.773 h, 4.294 h^{-1} , $514.53 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. **CONCLUSION** The in vivo absorption of dispersible tablets is faster than that of conventional tablets. The result reflects the advantage of dispersible table form, and consistent with the requirement of quick action for therapy.

KEY WORDS: Yuanhu Zhitong dispersible tablets; tetrahydropalmatine; pharmacokinetics; HPLC

元胡止痛片由延胡索、白芷两味药组成, 具有理气、活血、止痛之功效, 用于气滞血瘀的胃痛、胁痛、头痛及痛经等^[1]。因普通片崩解时间长、溶出速度慢从而起效慢, 与其功能主治所需的快速起效不相符, 遂将原处方中两味药材经 CO_2 超临界流体萃取技术提取有效成分后加入适宜辅料制成了元胡止痛分散片。

处方中延胡索为君药, 其主要成分为异喹啉类生物碱, 其中延胡索乙素的止痛、镇静、抗惊作用最强^[2-3]。本实验以元胡止痛普通片为对照, 通过测定延胡索乙素的血药浓度来

研究家犬单剂量口服元胡止痛分散片的药物动力学, 为下一步的临床合理用药提供实验依据。

1 仪器和材料

1.1 仪器

515 型 HPLC 泵 (美国 Waters 公司), MODEL 500 型 LabAlliance 检测器 (美国 SSI 公司), ANASTAR 数据处理系统 (美国 SUNTEK 公司), H-89 微型混合器 (江苏省昆山金城科教仪器厂), 80-2 型离心沉淀器 (上海手术器械厂)。

1.2 材料

作者简介: 黄欣, 女, 主管药师 E-mail: xinhuang2000@yahoo.com.cn

元胡止痛分散片(自制,批号:20041108,每片相当于原药材 0.668 g×5);元胡止痛普通片(自制,批号:20041110,每片相当于原药材 0.668 g);延胡索乙素(THP,中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号:200320);正己烷、正丁醇、苯、二氯甲烷、三氯甲烷、氨水均为国产分析纯试剂。

1.3 动物

家犬 5只,雌雄不限,体重(12.6±0.5) kg。

2 方法和结果

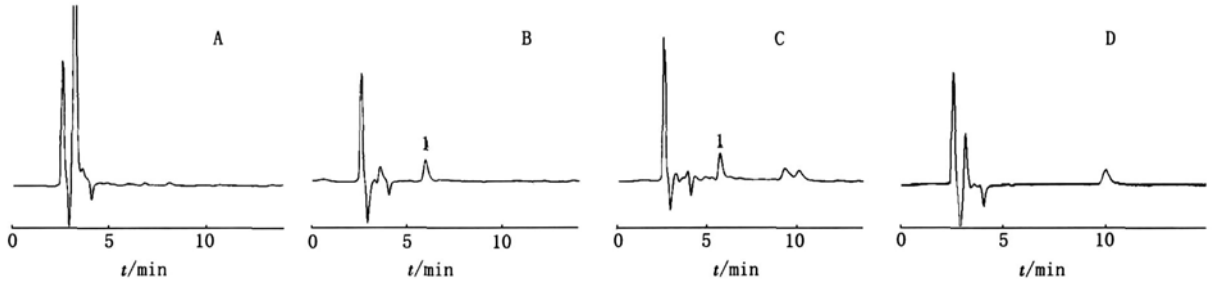


图 1 血浆色谱图

A - 空白血浆; B - 空白血浆 + THP对照品; C - 含药血浆; D - 阴性对照片 + 空白血浆; 1 - 延胡索乙素

Fig 1 HPLC chromatogram of dog plasm

A - blank plasm; B - blank plasm + reference; C - plasm sample; D - negative sample + blank plasm; 1 - tetrahydropalmatine

由色谱图可知血浆成分及阴性对照片中所含成分不干扰 THP的含量测定。

2.2 血浆处理方法

取血浆 1.00 mL置 10 mL刻度离心管中,加入 0.2 mL氨水,振荡混匀,再加入正己烷-正丁醇(12:1) 2 mL,振荡 2 min,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,取出上层有机相,余液再加入正己烷-正丁醇(12:1) 2 mL,同上法萃取 1次,合并两次有机相,置 50℃水浴中挥干有机相,进样前精密加入 0.1 mL甲醇溶解并经 10 000 r·min⁻¹高速离心 5 min,取上清液进样测定。

2.3 血浆标准曲线

取延胡索乙素对照品适量,用甲醇溶解稀释,得到浓度为 10 μg·mL⁻¹延胡索乙素贮备液。于空白犬血浆中精密加入延胡索乙素贮备液适量,配成系列血浆标准溶液,浓度依次为 8, 24, 48, 100, 200, 400 ng·mL⁻¹,照“2.2”项下方法处理,按“2.1”项下方法进行测定。以峰面积对血浆浓度进行回归,得回归方程为 $A = 70.7885C + 641.9157$ ($r = 0.9992$),结果表明延胡索乙素血浆浓度在 8~400 ng·mL⁻¹内线性关系良好。

2.4 精密度试验

取空白犬血浆 1 mL,精密加入延胡索乙素对照溶液使成浓度分别为 24, 100, 400 ng·mL⁻¹标准血浆溶液,按“2.2”项下方法处理,按“2.1”项下方法测定浓度。计算日内、日间精密度。结果表明方法的日内与日间精密度良好,符合要求,结果见表 1。

2.5 回收率试验

取空白犬血浆 1 mL,精密加入延胡索乙素对照溶液使成浓度分别为 24, 100, 400 ng·mL⁻¹标准血浆溶液,按“2.2”项下方法处理,按“2.1”项下方法测定浓度。另精密吸取 24,

2.1 色谱条件^[4]

色谱柱: Phenomenex柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-水-三乙胺(70:30:0.3), 36%乙酸调 pH至 6.3;流速: 1 mL·min⁻¹;检测波长: 280 nm;柱温: 30℃;进样量: 20 μL;灵敏度: 0.01 AUFS。血浆中延胡索乙素的最低检测限为 0.64 ng,最低检测浓度为 3.2 ng·mL⁻¹(S/N=3)。

在上述色谱条件下,注入经处理的空白血浆、含药血浆及阴性片血浆,得到色谱图,结果见图 1。

表 1 方法的日内日间精密度(n=5)

浓度 /ng·mL ⁻¹	日 内		日 间	
	$\bar{x} \pm s$	RSD/%	$\bar{x} \pm s$	RSD/%
24	25.80 ± 1.47	5.69	25.97 ± 1.77	6.82
100	101.80 ± 3.99	3.92	102.46 ± 3.75	3.66
400	421.37 ± 8.47	2.01	419.48 ± 10.11	2.41

100, 400 ng·mL⁻¹的标准溶液 1 mL, 50℃水浴挥干后,用 0.1 mL甲醇溶解后直接进样,按“2.1”项下方法测定。以二者的比值作为提取回收率。结果表明该提取方法回收率高,结果见表 2。

表 2 提取回收率(n=3)

浓度 /ng·mL ⁻¹	回收率/%		RSD/%
	$\bar{x} \pm s$		
24	113.10 ± 9.11		8.05
100	102.79 ± 5.14		5.00
400	109.53 ± 10.70		9.77

2.6 试验方案

采用双周期交叉试验。家犬 5只,随机分为两组,分别给予含相同生药量的元胡止痛分散片和普通片,一周后,两组进行交叉试验。两交试验均于服药前及服药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 h从后肢静脉采血 3 mL置肝素抗凝管中, 2 000 r·min⁻¹离心 10 min,取血浆,置 -20℃冰箱冷冻,备用。

2.7 血药浓度测定

精密取含药血浆 1 mL,按“2.2”项下方法进行处理,测定血浆中延胡索乙素的含量。绘制平均血药浓度-时间曲

线,结果见图 2。

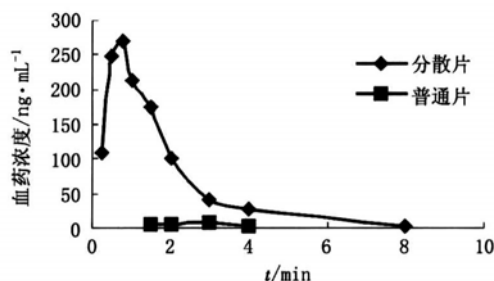


图 2 元胡止痛分散片与普通片犬体内的血药浓度时间曲线

Fig 2 Drug concentration in plasma-time curve of dispersible and conventional tablets in dogs

2.7 药动力学参数

采用 DAS ver1.0 (Drug And Statistics for Windows, 药物代谢动力学智能分析) 软件处理血药浓度数据, 自动拟合药动学房室模型, 计算药动力学参数。根据 AIC 法及拟合度 (r^2), 判定元胡止痛分散片中延胡索乙素的体内过程为一室模型 (权重 $w=1$), 所得药动力学参数如下: t_{max} 为 0.750 h, c_{max} 为 $269.80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, V_d/F 为 $0.036 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, $t_{1/2}$ 为 1.230 h, K_d 为 4.294 h^{-1} , K_e 为 0.564 h^{-1} , AUC_{0-8h} 为 $514.53 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 为 $519.85 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 平均滞留时间 MRT_{0-8} 为 1.737 h, 平均吸收时间 MAT 为 0.522 h, 吸收滞后时间 Lag time 为 0.170 h。

3 讨论

3.1 血浆提取溶剂的选择^[4-7]: 本实验比较了二氯甲烷、三氯甲烷、苯及正己烷-正丁醇 (12:1) 混合溶剂对血浆中 THP 的提取效果, 结果表明二氯甲烷和三氯甲烷易出现乳化现象致提取率偏低, 而且二氯甲烷提取时有干扰峰; 苯因毒性较大, 不取; 正己烷-正丁醇 (12:1) 的提取率高且有机层位于上层, 易吸取, 遂采用此混合溶剂作为血浆样品的提取溶剂。

3.2 元胡止痛分散片中的元胡和白芷药材均采用 CO_2 超临界流体萃取技术提取, 提取物中延胡索乙素的含量远高于醇回流法而固含物量仅为后者的 $1/4$ ^[8], 从两种剂型的血药浓度-时间曲线上可更直观地看出药材提取方法和剂型所呈现的差别: 普通片吸收缓慢, 无明显达峰浓度, 各点浓度均极

低, 而分散片达峰时短, 峰浓度明显, AUC 显著增加, 由此可见分散片的生物利用度明显高于普通片。

3.3 元胡止痛普通片和分散片的血药浓度-时间曲线图充分体现出了分散片的剂型优势, 与该制剂功能主治所要求的快速止痛相一致, 为该制剂的临床应用提供了参考数据。

3.4 采用 HPLC 测定血药浓度时, 普通片有多个点未测出, 致使无法计算药动力学参数。说明该法检测限不能满足需要, 检测方法还需改进。

REFERENCES

- [1] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 362.
- [2] XIAO C H. Chemistry of Traditional Chinese Medicine (中药化学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. 1997, 147-148.
- [3] HSIEH M T, HUNG H J, HIU H Y, *et al.* The effects of the bioactive constituents of *Corydalis tuber* on the central nervous system [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 1989, 14(13): 227.
- [4] ZHANG J F, TAN L, ZHOU J H, *et al.* Determination of Rotundine in Human Plasma by HPLC and Pharmacokinetic Studies [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 1998, 29(1): 67-70.
- [5] MA X Y, LIANG Y B, XING J F, *et al.* RP-HPLC Determination of l-Tetrahydropalmatine in Plasma [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1994, 14(2): 13-15.
- [6] CHEN Y, LIU C, GUO D S, *et al.* Study on Quality Standard for Yuanhuzhitong Oral Liquid [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2002, 8(4): 7-8.
- [7] HU Z F, ZHU W F, GUO H L. Preliminary study on preparation of Yuanhuzhitong HBS Tablet [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2002, 24(8): 573-575.
- [8] SU L Q, HUANG X, ZHANG X S, *et al.* Study on alkaloids from *Corydalis Yuanhusuo* W. T. WANG by CO_2 supercritical fluid extraction [J]. Chin Hosp Pharm J (中国医院药学杂志), 2005, 25(11): 1020-1023.

收稿日期: 2006-08-16