

α 细辛脑巴布剂的家兔相对生物利用度研究

周晖¹, 王东凯² (1. 中国医科大学附属一院药剂科, 沈阳 110001; 2. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要:目的 测定 α 细辛脑巴布剂在家兔体内的相对生物利用度。方法 家兔口服 α 细辛脑胶囊和外用巴布剂交叉实验, HPLC 分别测定血药浓度, 采用 3P97 软件中的统计程序计算生物利用度。结果 家兔体内生物利用度表明, α 细辛脑巴布剂的生物利用度明显高于胶囊剂, 两者相对生物利用度为 1180.6%。结论 α 细辛脑巴布剂是一种安全、有效的局部给药制剂。

关键词: α 细辛脑; 巴布剂; 相对生物利用度; 药动学参数

中图分类号: R945.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)04-0273-03

Study on the Relative Bioavailability of α -asarone Catapasm on Rabbit

ZHOU Hui¹, WANG Dong-kai² (1. Department of Pharmacy, The first Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the relative bioavailability of α -asarone catapasm *in vivo* on rabbit to prove the feasibility of α -asarone catapasm. **METHODS** A crossover test was used on rabbit with oral administration and demal catapasm. Drug concentration in blood was determined by HPLC, then the relative bioavailability of α -asarone catapasm was figured out with 3p97 program on computer. **RESULTS** The relative bioavailability of α -asarone catapasm test proved that the bioavailability of α -asarone catapasm was obviously superior to capsule. The relative bioavailability of α -asarone catapasm and capsule was 1180.6%. **CONCLUSION** The test results proved that the demal catapasma could enhance the bioavailability of α -asarone. It's a safe and effective pharmaceutical form.

KEY WORDS: α -asarone; catapasm; the relative bioavailability; pharmacokinetic parameters

α 细辛脑(又名 α 细辛醚, α -asarone)是中药石菖蒲的有效成分之一, 具有显著镇静、平喘、祛痰、抗癫痫等作用。目前 α 细辛脑的胶囊、片剂和注射液被广泛应用于临床, 但是, 无论胶囊还是片剂, α 细辛脑的生物利用度都是很低的^[1], 其绝对生物利用度均低于 5, 同时对 α 细辛脑毒理学研究表明, α 细辛脑的不良不良反应不容忽视, 当 α 细辛脑大于 182.5 mg·kg⁻¹ 时有致畸作用^[2]。根据 α 细辛脑的性质及透皮给药的优点, 笔者研制了 α 细辛脑巴布剂, 与普通贴剂相比, 巴布剂有其独到之处: 首先它的容量高, 载药量大, 通常厚度为 1 mm, 贴膏面积为 6 cm×10 cm, 含膏量不少于 11 g; 其次它的水溶性基质具有良好的保湿性, 易使角质层软化, 有利于药物透皮吸收, 且不易引起过敏反应。实验以 α 细辛脑胶囊为参比制剂考察了 α 细辛脑巴布剂家兔相对生物利用度。

1 实验材料

1.1 仪器与试剂

LC10AT 高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD-10A 检测器 (日本岛津); TGL16G 台式高速离心机 (上海医用分析仪器厂); YKH-II 型液体快速混合器 (江西医疗器械厂); α 细辛脑纯品 (纯度 99%, 批号 020824, 广西柳州制药厂); 受试制剂: α 细辛脑巴布剂 (自制); 参比制剂: α 细辛脑胶囊 (自制); 吲哚美辛 (消炎痛, 内标, 纯度 99.2%, 自制); 乙腈 (色谱纯, 天津康科德科技有限公司, 批号 040205); 乙醚 (色谱

纯, 天津康科德科技有限公司, 批号 030820); 四氢呋喃 (色谱纯, 天津康科德科技有限公司, 批号 040203); 乙酸钠 (分析纯, 天津博迪化工有限公司, 批号 020308)。对照品溶液 (以乙腈为溶媒配制 4 μ g·mL⁻¹ 的 α 细辛脑标准液, 4℃冷藏备用); 内标溶液 (以乙腈为溶媒配制 2 μ g·mL⁻¹ 的消炎痛内标液, 4℃冷藏备用)。

1.2 实验动物

家兔, 体重 (2 000~2 500 g), 由沈阳药科大学动物室提供。

2 方法

2.1 血浆样品预处理

取全血置涂有肝素的离心管中, 离心 10 min (3 000~5 000 r·min⁻¹), 取上清液即得血浆, 精密吸取血浆 0.2 mL 置带塞试管中, 加入标准内标液 0.1 mL, 加乙醚 2 mL 提取 2 次, 旋涡振荡 5 min, 离心 10 min (3 000~5 000 r·min⁻¹), 合并两次上清液移至另一尖底试管, 置 35℃水浴锅, N₂ 气吹干。残渣用 100 μ L 甲醇溶解, 取 20 μ L 进样, 测得主药与内标峰面积之比。

2.2 色谱条件及专属性

色谱柱为 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为醋酸缓冲液: 乙腈: 四氢呋喃 = 40: 60: 5, (醋酸缓冲液的 pH 为 4.5)^[3], 流速为 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长为 313 nm,

柱温为室温,进样量为 20 μL 。

依血样处理方法及色谱条件,分别将空白血浆液、标准药品溶液、内标液及两者混合液经处理后进样,得色谱图 1,测得主药与内标峰的保留时间分别为 11.425 min 和 8.355 min,分离度为 1.503 和 5.943。主药的理论塔板数为 8 724,由上可见方法的专属性好,无干扰。

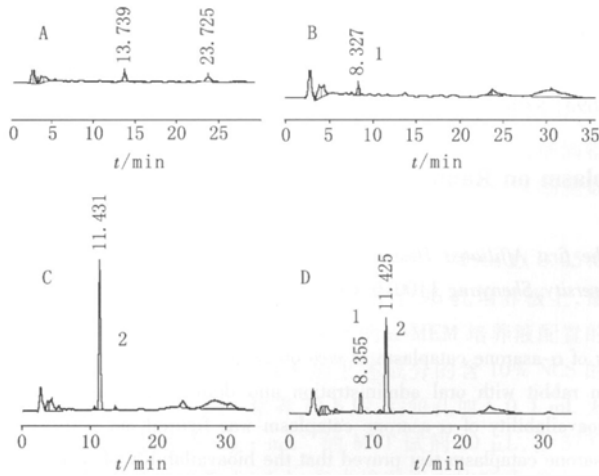


图 1 HPLC 色谱图

A - 空白血浆; B - 空白血浆 + 内标; C - 空白血浆 + α 细辛脑; D - 血浆样品; 1 - 内标; B - α 细辛脑

Fig 1 HPLC Chromatograms

A - blank plasma; B - blank plasma spiked with internal standard; C - blank plasma spiked with asarone; D - plasma sample; 1 - internal standard; 2 - asarone

2.3 标准曲线的绘制

取 5 份 0.2 mL 空白血浆,分别加入 α 细辛脑标准液配制成浓度分别为 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含药血浆,分别加入 0.1 mL 的内标液,然后按上述方法处理后进样,求 α 细辛脑与消炎痛峰面积比。以峰面积比值为纵坐标 Y,以待测物浓度为横坐标 X 做线性回归,得回归方程为 $Y = 4.475 X + 0.3944 (r = 0.9976, n = 6)$,由上可见,血浆中 α 细辛脑浓度在 0.05 ~ 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.4 提取回收率

配制低,中,高三种浓度 (0.05, 0.5, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的含药血浆各三份,按“2.1”方法处理后进样,同时配制同浓度的药液,加等量内标液,不加血浆进样,比较两者的峰面积比值。结果见表 1。

2.5 方法回收率的测定

取 9 份空白血浆 0.2 mL,分别加入一定量的标准液,配成浓度分别为 0.05, 0.5, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的含药血浆各三份,分别加入 0.1 mL 内标液,然后上述方法处理后进样,求峰面积比。代入标准曲线,计算 α 细辛脑的浓度,计算量与加样量的比值为加样回收率,结果见表 1。

2.6 精密密度实验

配制低,中,高三种浓度的含药血浆,处理后进样,批内三份,同一天测定,批间三份,分别在 1, 2, 3 d 测定。结果见表 1。

表 1 α 细辛脑血浆样品的提取回收率、方法回收率和精密度 ($n = 6$)

Tab 1 Extraction recovery, recovery of method and precision of α -asarone in rabbit blood plasma ($n = 6$)

加入量 $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	提取回收率 /%	方法回收率 /%	日内 RSD/%	日间 RSD/%
0.05	90.3 $\pm$ 1.5	93.3 $\pm$ 2.3	0.82	2.12
0.5	91.9 $\pm$ 0.9	94.0 $\pm$ 2.0	0.94	1.37
2	90.6 $\pm$ 0.8	93.3 $\pm$ 2.5	0.34	0.23

由表 1 可以看出,低,中,高三种浓度的含药血浆平均加样回收率和提取回收率均大于 90%,符合方法学要求。精密密度实验结果 RSD 均小于 3%,符合精密密度要求。

2.7 受试对象及血样采集

健康家兔 4 只,体重 (2 000 ~ 2 500 g),用药前禁食 12 h,两次用药间隔 7 d,单剂量自身交叉口服 α 细辛脑胶囊 (含 α 细辛脑 0.4 g) 和外贴 α 细辛脑巴布剂 (含 α 细辛脑 0.4 g,面积为 60 cm^2 ,重量为 11 g),口服给药:将 α 细辛脑 0.4 g 装于胶囊中给药,给药后分别在 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 h 从耳缘静脉取血,离心后取血浆置 - 20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中储存待用。透皮给药:将家兔背部经去毛处理后的皮肤上贴一块面积为 60 cm^2 的 α 细辛脑巴布剂,在给药后 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 48 h 从耳缘静脉取血,离心后取血浆置 - 20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中储存待用。

3 实验结果

在各时间点所取的样品血浆中,经处理后进样,求 α 细辛脑与消炎痛峰面积比。代入标准曲线,计算 α 细辛脑的浓度。平均血药浓度-时间曲线见图 2 ~ 3。

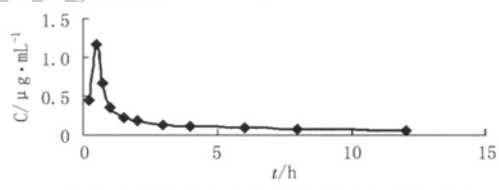


图 2 α 细辛脑胶囊剂在家兔体内血药浓度时间曲线图

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of capsule of asarone after oral administration

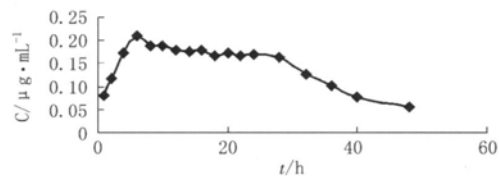


图 3 α 细辛脑巴布剂在家兔体内血药浓度时间曲线图

Fig 3 Mean plasma concentration-time curves of cataplasma of asarone after transdermal administration

四只家兔的血药数据用 3P97 软件处理,利用梯形法计算 $AUC_{0 \sim t}$,并由下式计算 $AUC_{0 \sim \infty}$,公式如下: $AUC_{0 \sim \infty} = C^* / K$ C^* 为实测最后一点血药浓度, K 为消除速度常数,由最后 5 点的血药浓度的对数值与时间作图,根据斜率求出 K 值。由 α 细辛脑巴布剂的药物浓度数据求得最后 5 点血药

浓度的对数值与时间作图,得标准方程为 $\text{Log}C = -0.0231t + 0.0804$ ($r=0.9950$), K 值为 0.0532 , 求得 $AUC_{0-\infty}$ 。同理,求得 α 细辛脑胶囊的标准方程为 $\text{Log}C = -0.0446t - 0.8408$ ($r=0.9987$), K 值为 0.1027 , 求得 $AUC_{0-\infty}$ 。由公式 $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + AUC_{t-\infty}$ 求算 $AUC_{0-\infty}$, 结果见表 2。

表 2 α 细辛脑巴布剂和胶囊剂的药动学参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of asarone capsule and cataplasma

	$AUC_{0-\infty}$	$T_{\max}$	$C_{\max}$	Ka	$T_{1/2}$
	$/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	$/\text{h}$	$/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$/\text{h}^{-1}$	$/\text{h}$
胶囊	2.3000	0.4	1.2987	0.4749	0.0818
巴布剂	27.1538	9.8	0.1926	0.0886	7.8234

然后根据下面公式计算 α 细辛脑胶囊和 α 细辛脑巴布剂的相对生物利用度, $F\% = AUC(\text{巴布剂}) \times \text{dose}(\text{胶囊剂}) / AUC(\text{胶囊剂}) \times \text{dose}(\text{巴布剂})$ 通过计算得到 α 细辛脑巴布剂的相对生物利用度为 1180.6% 。

4 讨论

本实验采用家兔为模型动物,并以 α 细辛脑胶囊为参比制剂,进行了 α 细辛脑巴布剂家兔体内药动学研究,结果表明 α 细辛脑巴布剂的生物利用度明显高于胶囊剂,相对生物利用度为 1180.6% ,可见巴布剂这一剂型对 α 细辛脑的吸收和利用是较为有利的。

α 细辛脑口服生物利用度极低,究其原因可能是 α 细辛

脑是脂溶性很强的药物,水溶性差、吸收不好或为肝的首过效应,而 α 细辛脑巴布剂可以提高 α 细辛脑的生物利用度,还可以避免肝的首过效应,降低药物的不良反应,具有一定的临床意义。

透皮制剂的特点就是使药物在较短的时间内达到有效浓度,并维持恒定释放,本实验结果表明 α 细辛脑巴布剂释药恒定,但如何选择适宜的给药剂量还需进一步考察,以保证其血药浓度尽快保持在有效范围内,更好地发挥疗效,并降低其不良反应。

本实验中方法回收率不高,可能由于家兔血浆中成分复杂,干扰药物的峰面积,虽然用内标作了校正,但其他成分的干扰仍不可忽视,我们会做进一步的研究。

REFERENCES

- [1] YANG Z H, WU C. Pharmacokinetics of synthetic α -asarone in healthy humans[J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 1997, 17(4): 165-167.
- [2] CHAMORRO G, MADRIGAL E, RUIZ L E. Dominant lethal study of α -asarone in male and female after short term treatment[J]. Med Sci Res, 1999, 27(5): 337-339.
- [3] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部) [S]. 2005: Appendix X V D, 157.

收稿日期: 2007-08-21