

盐酸青藤碱控释微丸在 Beagle 犬体内药物动力学研究

张丽锋, 张淑秋, 王锐利, 白克华(山西医科大学药学院临床药学教研室, 太原 030001)

摘要:目的 测定盐酸青藤碱控释微丸在 Beagle 犬体内药物动力学参数, 计算相对生物利用度。方法 采用反相高效液相色谱法, 流动相为甲醇-乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢铵溶液(50:12:190), 柱温为 30 ℃, 流速为 0.7 mL·min⁻¹; 检测波长为 264 nm; 结果 盐酸青藤碱在 50~4 000 ng·mL⁻¹ 内, 主药与内标峰面积比(*R*)与浓度(*C*)间线性关系良好, 线性方程为 $R = 3.6 \times 10^{-4}C + 0.02$, $r = 0.9964$, 方法的精密度和回收率均符合中国药典 2005 版二部的规定。受试制剂和参比制剂的主要药物动力学参数分别为: $t_{1/2}$: (19.9 ± 4.3)h, (17.8 ± 2.1)h; $C_{\max}$: (638 ± 128)ng·mL⁻¹, (1 738 ± 396)ng·mL⁻¹; $T_{\max}$: (6.2 ± 1.1)h, (7.0 ± 1.0)h; AUC_{0-1} : (20.2 ± 3.3)h·μg·mL⁻¹, (22.8 ± 5.0)h·μg·mL⁻¹, 相对生物利用度为 (90.1 ± 10.4)%。结论 盐酸青藤碱控释微丸在 Beagle 犬体内血药浓度曲线平稳, 维持时间长, 控释效果较好, 达到了预期的目标。

关键词: 盐酸青藤碱; 微丸; 高效液相色谱法; 药物动力学

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2009)02-0109-03

Pharmacokinetics of Sinomenine Hydrochloride Controlled-release Pellets in Beagle Dogs

ZHANG Lifeng, ZHANG Shuqiu, WANG Ruili, BAI Kehua (Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine pharmacokinetic parameters of sinomenine hydrochloride controlled-release pellets in Beagle dogs and calculate the relative bioavailability. **METHODS** To use a high performance liquid chromatography (HPLC) method with the mobile phase consisted of methanol-acetonitrile - 0.05 mol·L⁻¹ ammonium dihydrogen phosphate solution (50:12:190), column temperature was 30 ℃, flow rate of mobile phase was 0.7 mL·min⁻¹ and wavelength of detector was set at 264 nm. **RESULTS** In the range of 50-4 000 ng·mL⁻¹, the linear between peak-area ratios of sinomenine hydrochloride to IS and drug concentration was good, $R = 3.6 \times 10^{-4}C + 0.02$, $r = 0.9964$. The precision and recovery were fit for Ch. P (2005) Vol II. The pharmacokinetic parameters were $t_{1/2}$ (19.9 ± 4.3) and (17.8 ± 2.1)h, $C_{\max}$ (638 ± 128) and (1 738 ± 396) ng·mL⁻¹, $T_{\max}$ (6.2 ± 1.1) and (7.0 ± 1.0)h, AUC_{0-1} (20.2 ± 3.3) and (22.8 ± 5.0) h·μg·mL⁻¹ for test and reference preparations, respectively. The relative bioavailability was (90.1 ± 10.4)%. **CONCLUSION** The concentration-time curve of sinomenine hydrochloride controlled-release pellets in Beagle dogs was flatter and the duration was longer. The present studies achieved our prospective aims.

KEY WORDS: sinomenine hydrochloride; pellets; HPLC; pharmacokinetics

青藤碱^[1] (sinomenine, Sin) 是从具有抗风湿作用防己科植物青风藤 (*Sinomenium scutum* Reht. et Wils) 及毛青藤 (*S. acutum* Reht. et Wils. var. *cinereum* Reht. et Wils) 的根茎中提取并经科学精制得到的一种生物碱, 药用多为其盐酸盐 ($C_{19}H_{23}NO_4 \cdot HCl \cdot 2H_2O$), 具有抗炎、免疫抑制与调节、镇痛、抗心律失常及降压等药理作用。临床主要用于治疗风湿性及类风湿性关节炎, 疗效显著, 目前国内市场上已有正清风痛宁片、盐酸青藤碱注射液、风痛宁贴剂等。

该药对镇痛作用有耐受性, 无致突变作用, 有胃肠道刺激及释放组胺致皮疹等不良反应, 对光、热不稳定, 易分解^[2]。为提高临床疗效, 降低不良反应,

延长作用时间, 本实验室研制成功了盐酸青藤碱控释微丸制剂, 并采用反相高效液相色谱法^[3-6], 以盐酸普鲁卡因为内标, 建立了简便、灵敏、准确的盐酸青藤碱血药浓度测定方法, 同时考察了盐酸青藤碱控释微丸制剂在 Beagle 犬体内的药物动力学特征。

1 材料与仪器

1.1 材料

盐酸青藤碱控释微丸 (自制, 60 mg·粒⁻¹, 20051001), 正清风痛宁片 (20 mg·片⁻¹, 0609111, 湖南正清制药集团), 盐酸普鲁卡因 (procaine, Pro), 乙腈、甲醇均为色谱纯。

1.2 仪器

高效液相色谱仪 (日本岛津), LC-10AT 泵、

作者简介: 张丽锋, 男, 硕士, 讲师 Tel: (0351) 4690955 E-mail: zhl7@hotmail.com

SPD-10A 紫外检测器(日本岛津),N-2000 色谱数据工作站(浙江大学智能信息工程有限公司),HY-2 调速多用振荡器(江苏中大仪器厂),WYK-16B 空气压缩机(天津达因仪器厂)。

1.3 实验动物

Beagle 犬 6 只,♂(军科院犬 SCXK-[军]2002-001),体重 10~12 kg,山西医科大学实验动物中心提供。

2 实验与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamondsil C₁₈液相色谱柱(150 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢铵溶液(50:12:190);柱温:30℃;检测波长:264 nm;流速:0.7 mL·min⁻¹,进样量:50 μL,在此色谱条件下,盐酸青藤碱与内标盐酸普鲁卡因的保留时间分别为 7.1 min 和 9.2 min,见图 1。

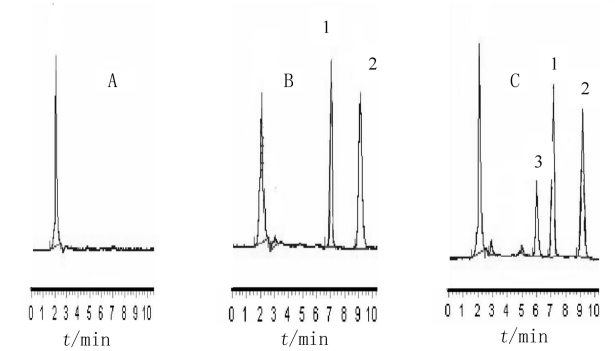


图 1 盐酸青藤碱色谱图
A-空白血浆;B-空白血浆外加药物和内标;C-血浆样品;1-青藤碱;2-普鲁卡因;3-未知物质

Fig 1 Chromatogram of sinomenine hydrochloride
A-blank plasma;B-blank plasma + Sin + Pro;C-plasma sample of dog;
1-Sin,2-Pro,3-unknown substance

2.2 标准溶液的配制

精密称取 P₂O₅干燥至恒重的盐酸青藤碱适量,用水配制成 50 μg·mL⁻¹的溶液,分别移取该溶液 0.5,1.0,5.0,10.0,20.0,40.0 mL 置于 100 mL 的量瓶内,加水至刻度,配制成 0.25,0.5,2.5,5.0,10.0,20.0 μg·mL⁻¹的盐酸青藤碱系列标准溶液。另精密称取 P₂O₅干燥至恒重的盐酸普鲁卡因适量,用水稀释成 700 ng·mL⁻¹的标准溶液备用。

2.3 血浆样品的预处理

取血浆样品 0.5 mL,置于 10 mL 的具塞试管中,加入 700 ng·mL⁻¹的盐酸普鲁卡因内标液 100 μL,混匀,加入 200 μL 氨-氯化铵缓冲液(pH11)碱化,涡旋混匀,用 3 mL 提取溶剂(正己烷-二氯甲烷-异丙醇=100:50:5)提取,涡流 1 min,往复震荡 10

min,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上层有机相 2.5 mL,40℃下净化气流吹干,残留物用 250 μL 流动相溶解,取 50 μL 进样测定。

2.4 线性相关性试验

取空白血浆 0.4 mL,置于 10 mL 具塞试管中,分别加入 100 μL 盐酸青藤碱系列标准溶液,使血浆样品浓度分别为 50,100,500,1 000,2 000,4 000 ng·mL⁻¹,加入盐酸普鲁卡因内标液 100 μL,照“2.3”项下操作,进行测定,记录色谱图,以主药与内标峰面积比(R)为纵坐标,血药浓度(C ng·mL⁻¹)为横坐标,绘制标准曲线,结果:线性方程为 $R = 3.6 \times 10^{-4}C + 0.02$, $r = 0.9964$;定量下限为 30 ng·mL⁻¹。

2.5 精密度与准确度试验

取空白血浆 0.4 mL,分别加入盐酸青藤碱标准溶液,使血浆样品浓度分别为 100,1 000,3 000 ng·mL⁻¹,照“2.3”项下操作,进样分析。每个浓度重复 5 次,计算日内精密度和准确度;每天每种浓度测定 3 次,连续测定 5 d,计算日间精密度;结果:日内、日间精密度均小于 15%,准确度在 95%~105%之间,符合中国药典 2005 版二部的要求。

2.6 提取回收率试验

取空白血浆 0.4 mL,分别加入盐酸青藤碱标准溶液,使血浆样品浓度分别为 100,1 000,3 000 ng·mL⁻¹,除不加内标溶液外,照“2.3”项下操作,残留物加 100 μL 内标溶液和 150 μL 流动相溶解,进样分析,求得待测物与内标物的峰高比值;另取相同浓度的盐酸青藤碱标准溶液 100 μL、内标液 100 μL,加入流动相 50 μL,混匀后进样,求算待测物与内标物的峰高比值;计算提取回收率,结果见表 1。

表 1 精密度和回收率结果

Tab 1 Precision and recovery results

浓度 /ng·mL ⁻¹	日内精密度 /RSD%	日间精密度 /RSD%	准确度 /%	提取回收率 /%
100	8.7	10.6	95.4±6.2	70.6±8.6
1 000	5.6	6.8	98.3±2.8	74.5±5.3
3 000	3.1	5.2	99.1±1.1	76.2±3.1

2.7 血浆样品稳定性试验

在空白血浆中加入盐酸青藤碱标准溶液,使血浆药物浓度分别为 100 ng·mL⁻¹和 3 000 ng·mL⁻¹,分别考察血浆样品室温下放置 10 h、样品置于 -20℃下 30 d 及样品经历 3 个冷冻融化循环后的稳定性,结果:在上述条件下,样品的准确度分

别为 98.7% ~ 104.2%、101.5% ~ 110.2%、97.4% ~ 108.6%，说明血浆样品在上述条件下稳定。

2.8 Beagle 犬体内药物动力学试验

雄性 Beagle 犬 6 只，随机分成两组，禁食 12 h，给药前取空白血，分别给予盐酸青藤碱控释微丸和正清风痛宁片各 60 mg。给药后，试验制剂于 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 h，参比制剂于 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 h 取后肢隐静脉血 3 mL，3 000 r · min⁻¹ 离心 10 min，分离血浆，-20 ℃ 保存。洗净期为 1 周，然后交叉给药。血药浓度数据采用非隔室模型药动学数据处理程序计算，相对生物利用度为 (90.1 ± 10.4)%。药动学参数见表 2，药-时曲线见图 2。

表 2 Beagle 犬口服盐酸青藤碱控释胶囊和正清风痛宁片后的药物动力学参数 (n=6)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of sinomenine after po administration of sinomenine hydrochloride controlled-release pellets and Zhengqing Fengtongning tablets to Beagle dogs (n=6)

药动学参数	试验制剂	参比制剂
$t_{1/2}/h$	19.9 ± 4.3	17.8 ± 2.1
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	638.0 ± 128.0	1 738.0 ± 396.0
T_{max}/h	6.2 ± 1.1	7.0 ± 1.0
$AUC_{0-1}/h \cdot \mu g \cdot mL^{-1}$	20.2 ± 3.3	22.8 ± 5.0
$CL/F/L/h$	3.3 ± 0.4	2.6 ± 0.5
$V/F/L$	73.0 ± 14.0	48.0 ± 8.0

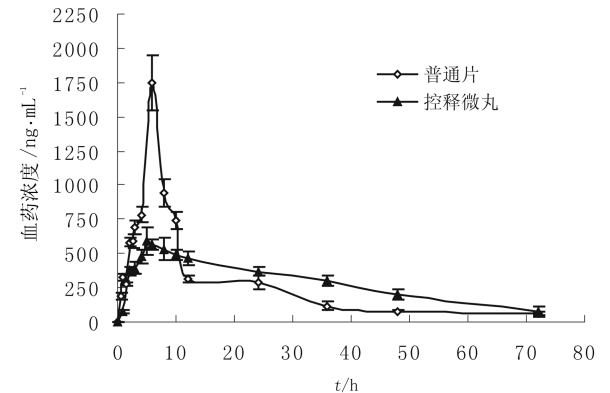


图 2 Beagle 犬口服盐酸青藤碱控释胶囊及正清风痛宁片后的药时曲线 (n=6)

Fig 2 Mean plasma concentration vs time curves of sinomenine after po administration of sinomenine hydrochloride controlled-release pellets and Zhengqing Fengtongning tablets to Beagle dogs (n=6)

3 结论与讨论

3.1 血浆样品的测定

本实验采用 RP-HPLC，以盐酸普鲁卡因为内标物，对血浆样品中青藤碱的浓度进行测定，在血浆样品的色谱图中存在一个色谱峰，保留时间为 6.0 min，推测可能是青藤碱的代谢产物。因检测手段限制，无法对其结构进行确证。血浆中原型药物采用有机溶剂萃取法进行回收。用乙醚为提取溶剂，虽可以降低溶剂挥发时的温度，但青藤碱在乙醚中的溶解度较小，提取回收率较低。因此采用复合有机溶剂即正己烷-二氯甲烷-异丙醇 (100:50:5) 为提取溶剂，提取回收率较高，而且干扰杂质少。

3.2 Beagle 犬体内药动学研究

盐酸青藤碱控释微丸制剂在 Beagle 犬体内血药浓度经时曲线平稳，维持时间长，达到了预期的目标。在实验过程中发现，在服用参比制剂即正清风痛宁片组中，有两只 Beagle 犬出现了过敏反应，一只症状为脸部肿大，另有一只出现了胃肠道反应，表现为呕吐；而试验制剂均未发现此类症状。这充分证明了受试制剂可以减小该药不良反应的发生率。

REFERENCES

[1] LIU Q, ZHOU R L, LI R. The study on sinomenine [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1992, 28(4): 247-249.

[2] Yamasaki H. Pharmacology of sinomenine: an anti-rheumatic alkaloid from sinomenine acutum [J]. Med Okayama, 1976, 30(1): 1-4.

[3] YAN X H, LI H D, PENG W X, et al. Determination of sinomenine hydrochloride in serum and urine by HPLC and its pharmacokinetics in normal volunteers [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1997, 32(8): 620-624.

[4] YANG G D, HU Q, YANG Q Y, et al. Determination of sinomenine in plasma by HPLC [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 1993, 28(3): 152-153.

[5] MA T S, LIU Z H, YANG H J, et al. Study on relative bioavailability of different sinomenine hydrochloride crystal in healthy volunteers [J]. Chin Pharm (中国药业), 2004, 13(3): 41-42.

[6] XIE Y C, ZHU Q F, FAN Z Y, et al. Determination of sinomenine hydrochloride in serum by HPLC and its pharmacokinetics after different administration [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2005, 40(1): 54-55.

收稿日期: 2008-02-13