

黄杨宁缓释胶囊在犬体内的药动学研究

王如伟¹, 姚丹丹², 张小平², 叶剑锋¹ (1. 浙江中药与天然药物研究院, 杭州 310052; 2. 杭州爱的发-康恩贝中药研发中心有限公司, 杭州 310052)

摘要: 目的 评价自制黄杨宁缓释胶囊在犬体内的药动学。方法 Beagle 犬分别单剂量口服给药 6 mg 自制黄杨宁缓释胶囊和市售黄杨宁普通片, 两次交叉试验间隔两周。采用反相高效液相色谱法, 测定犬给药后不同时间的血药浓度, 用以估算药动学参数和相对生物利用度。结果 黄杨宁缓释胶囊和黄杨宁普通片的 $C_{\max}$ 分别为 $(5.28 \pm 0.81) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(11.70 \pm 2.01) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t_{\max}$ 分别为 $(4.3 \pm 0.5) \text{ h}$ 和 $(1.0 \pm 0.1) \text{ h}$ 。缓释胶囊相对于普通片的生物利用度为 96.23%。结论 黄杨宁缓释胶囊具有显著的缓释效果。

关键词: 黄杨宁; 缓释胶囊; 药动学; 相对生物利用度

中图分类号: R945.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)10-0785-04

Pharmacokinetic Study of Huangyangning Sustained-Release Capsules in Dogs

WANG Ruwei¹, YAO Dandan², ZHANG Xiaoping², YE Jianfeng¹ (1. Zhejiang Institute of TCM & Natural Drug, Hangzhou 310052, China; 2. Hangzhou Ethypharm-Conba Traditional Chinese Medicine R&D Center Co., Ltd, Hangzhou 310052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the pharmacokinetic of Huangyangning sustained-release capsules in dogs.

基金项目: 浙江省重大科技攻关项目(005C13018)

作者简介: 王如伟, 男, 硕士, 教授级高级工程师

Tel: (0571)87774766

E-mail: wangrw@conbagroup.com

METHODS Two groups of Beagle dogs were dosed with 6 mg Huangyangning sustained-release capsules or Huangyangning tablets via orally administration, and two groups were treated alternatively after two weeks. The blood drug concentrations were determined by HPLC to estimate the pharmacokinetic parameters and the relative bioavailability. **RESULTS** The $C_{\max}$ values of Huangyangning sustained-release capsules and Huangyangning tablets were $(5.28 \pm 0.81) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $(11.70 \pm 2.01) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, the $t_{\max}$ values were $(4.3 \pm 0.5) \text{ h}$ and $(1.0 \pm 0.1) \text{ h}$, respectively. The relative bioavailability of sustained-release capsules was 96.23%. **CONCLUSION** Huangyangning sustained-release capsules have significantly characteristic of sustained-release.

KEY WORDS: Huangyangning; sustained-release capsules; pharmacokinetics; relative bioavailability

黄杨宁系从黄杨科植物小叶黄杨及其同属植物中提取的一种生物碱, 又称为环维黄杨星 D, 是黄杨宁片制剂的原料, 化学结构上属孕甾烷的衍生物。黄杨宁是我国成功研制的一种治疗心血管疾病的药物, 具有行气活血和通络止痛功能。临床用其片剂治疗冠心病、心绞痛、心功能不全等病症, 有较好疗效, 尤其是作为一种非苷类强心药受到普遍关注^[1-4]。目前国内关于黄杨宁缓释胶囊的研究还少见报道。释药系统能否达到缓控释效果, 取决于该释药系统的体内释药特征和行为, 评价缓释制剂优劣的重要标志一是生物利用度, 二是稳态时的 $C_{\max}/C_{\min}$ 值, 并认为其生物利用度至少为常释制剂的 80%, 应用药物动力学理论与方法评价释药系统体内过程的规律是检验制剂安全有效的手段之一。因此本实验对黄杨宁缓释胶囊在家犬体内进行药动学的考察, 并以市售普通片剂为对照, 计算自制缓释胶囊的相对生物利用度。

1 材料

SHIMADZU-10A 高效液相色谱仪, XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂), 80-2B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂), 环维黄杨星 D 对照品(中国药品生物制品检定所, 纯度: 99.30%, 批号: 021108), 黄杨宁缓释胶囊(受试制剂, 自制, 规格: $3 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$, 批号: 031230), 黄杨宁片(参比制剂, 南京小营制药厂, 规格: $1 \text{ mg} \cdot \text{片}^{-1}$), 甲醇、乙腈、甲基叔丁基醚为色谱级, 其他试剂均为分析纯, 荧光衍生化试剂异氰酸萘酯为 Acros Organics

Belgium 产品, 水为二次蒸馏水。

实验动物: 成年健康 Beagle 犬 6 条, 体重 9.0~11.0 kg, ♀ ♂ 兼用(中国人民解放军第二军医大学实验动物中心提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[5]

色谱柱: Hypersil BDS C_{18} (200 mm × 4.6 mm); 流动相: 甲醇-乙腈-三乙胺-磷酸(30 : 50 : 20 : 0.20 : 0.15), 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 荧光检测激发波长: 305 nm, 发射波长: 385 nm; 柱温: 40 °C。

2.2 血样的处理

静脉血样置于 10 mL 玻璃离心管中(加肝素抗凝), 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 5 min 分离血浆。取血浆 1.5 mL 置于 10 mL 具塞玻璃离心管中, 加 $2.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 200 μL , 涡旋 10 s; 加甲基叔丁基醚-二氯甲烷(4 : 1)混合提取液 5.0 mL, 涡旋振荡 3 min, 于 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 高速离心 10 min, 分取有机层 4.0 mL, 50 °C 水浴通空气挥干^[6]。残留物加异氰酸萘酯试液(取异氰酸萘酯 20 μL 置于 100 mL 量瓶中, 加氯仿至刻度, 摇匀即得。)200 μL , 涡旋 30 s, 室温避光放置 30 min, 室温通空气挥干; 衍生物用流动相 100 μL 溶解, 取 50 μL 进样, 峰面积外标法定量分析^[7]。

2.3 方法专属性

在选定的色谱条件下, 分别取空白血浆、空白血浆加入环维黄杨星 D、血浆样品进样分析, 色谱图见图 1。

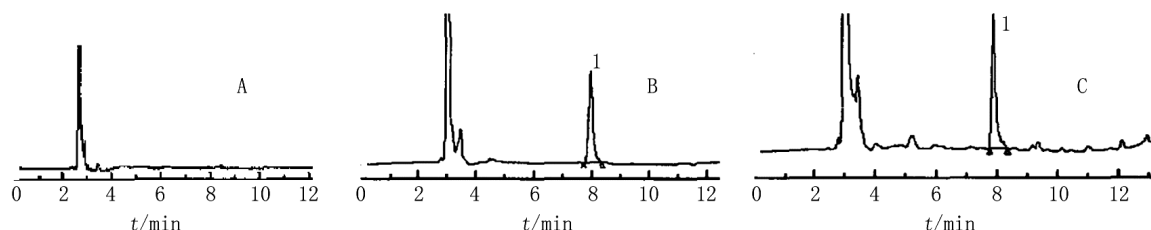


图 1 高效液相色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆加入环维黄杨星 D; C-血浆样品; 1-环维黄杨星 D

Fig 1 HPLC chromatograms

A-blank plasma; B-blank plasma with cyclovirobuxine D; C-plasma sample; 1-cyclovirobuxine D

2.4 标准曲线的绘制

取空白血浆置于 10 mL 量瓶中, 加入环维黄杨星 D 标准液适量, 使血浆中药物浓度分别为 0.516 0, 1.032, 2.064, 5.160, 10.32, 20.64 ng·mL⁻¹。按“2.2”项下方法操作, 并进行色谱分析。以环维黄杨星 D 标准对照品衍生物的峰面积对浓度进行线性回归, 得血浆标准曲线方程为: $Y=4\ 073.18C+1\ 179.54$, $r=0.999\ 9(n=5)$, 线性范围 0.516 0~20.64 ng·mL⁻¹。本法测定血浆中环维黄杨星 D 的最低定量限为 0.516 0 ng·mL⁻¹(S/N > 2)。

2.5 回收率试验

配制 1.032, 5.160, 20.64 ng·mL⁻¹ 低、中、高 3 种不同浓度的环维黄杨星 D 标准血浆样品, 按“2.2”项下方法操作, 血浆样品中环维黄杨星 D 衍生物色谱峰面积代入血浆标准曲线, 通过测得量与加入量的比值求得相对回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery test (n=5)

浓度 /ng·mL ⁻¹	相对回收率 /%	RSD /%	绝对回收率 /%	RSD /%
1.032	89.03±4.69	5.27	81.97±3.64	8.97
5.160	101.32±2.96	2.92	95.99±2.07	4.11
20.64	102.54±4.20	4.10	99.00±2.95	7.42

2.6 精密度试验

按“2.4”项下方法配制 1.032, 5.160, 20.64 ng·mL⁻¹ 低、中、高 3 种不同浓度的环维黄杨星 D 血浆样品, 按“2.2”项下方法操作, 测定日间和日内 RSD, 结果见表 2。

表 2 精密度试验结果(n=5)

Tab 2 Results of precision test (n=5)

	加入量 /ng·mL ⁻¹	测得量 /ng·mL ⁻¹	RSD/%
日内差	1.032	0.918 7±0.048 4	5.27
	5.16	5.228±0.152	2.92
	20.64	21.16±0.867	4.10
日间差	1.032	0.920 4±0.067 5	7.33
	5.16	5.318±0.261	4.92
	20.64	20.63±1.01	4.88

2.7 样品的稳定性试验

静脉取血后立即离心分取血浆, 置于-20℃冰箱保存待测。在低温保存实验条件下, 分析样品中的环维黄杨星 D 稳定性良好, 20 d 内含量未见明显下降。

2.8 样品采集与测定

受试犬 6 只, 用药前禁食 14 h, 给药后 3 h 统一进食, 单剂量分别口服给药 6 mg, 于给药前及给

药后 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 h 在前肢静脉取血 4 mL, 置肝素化试管中, 离心, 分取 1.5 mL 血浆。按“2.2”项下方法操作, 测定血浆中环维黄杨星 D 浓度。两次交叉试验间隔 2 周。

2.9 动力学参数考察

6 条成年、健康 Beagle 犬单剂量口服两种制剂后的平均血药浓度-时间曲线图 2。

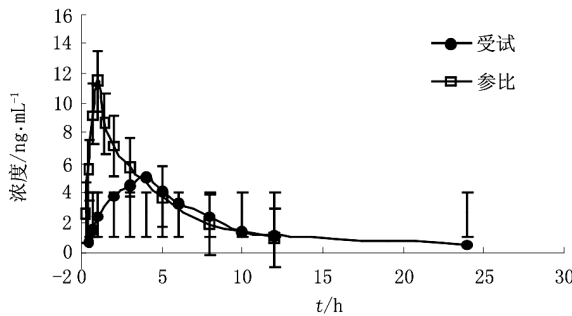


图 2 平均血药浓度-时间曲线(n=6)

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve(n=6)

6 条成年、健康 Beagle 犬口服给药后, 体内的血药浓度个体差异大, 药时曲线变化规律不符合典型的房室模型, 因此只能用非房室模型法计算药代动力学参数。采用非房室模型法估算的 6 条成年、健康 Beagle 犬单剂量口服给药 6 mg 黄杨宁缓释胶囊试验制剂和黄杨宁片对照制剂后的平均药代动力学参数分别列于表 3。用梯形面积法估算研制的黄杨宁缓释胶囊的相对生物利用度为 96.23%±7.53%, 与片剂等效。

表 3 6 只犬单剂量口服给药 6 mg 黄杨宁缓释胶囊试验制剂和黄杨宁片对照制剂后的药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Tab 3 Six dogs administered a single oral dose of sustained-release capsules 6mg Huangyangning test agents and control agents Huangyangning after film pharmacokinetic parameters($\bar{x} \pm s$, n=6)

主要参数	黄杨宁缓释胶囊	黄杨宁片
$t_{1/2}/h$	9.02±1.13	3.61±0.21
MRT/h	12.29±1.19	5.29±0.15
Cl/F/L·h ⁻¹	118.05±9.96	119.3±8.40
$C_{max}/ng·mL^{-1}$	5.28±0.81	11.70±2.01
t_{max}/h	4.30±0.50	1.00±0.10
$AUC_{0-24}/ng·h·mL^{-1}$	43.47±4.89	45.13±2.81
$AUC_{0-\infty}/ng·h·mL^{-1}$	51.15±4.60	50.50±3.43

3 讨论

本试验所建立的血浆样品中环维黄杨星 D 的反相高效液相色谱测定方法, 血浆内源性物质均不干扰样品峰, 相对回收率大于 85%, 日间和日内 RSD 小于 10.0%, 血浆中环维黄杨星 D 的最低定量限为 0.516 ng·mL⁻¹, 线性范围为 0.516~20.64 ng·mL⁻¹。该方法

的准确度、精密度、灵敏度、专属性及定量线性等均符合生物样品的分析要求,可以用于黄杨宁缓释胶囊的临床前药代动力学研究。单剂量试验表明,黄杨宁缓释胶囊与市售黄杨宁相比,血药浓度上升缓慢,浓度变化平稳,释药时间明显延迟,单位剂量峰浓度显著降低,具有所设计的缓释释药特征。

REFERENCES

- [1] ZHANG K S, WU Y Y. Summarization of clinical application of Huangyangning [J]. Primary J Chin Mater Med (基层中药杂志), 2000, 14(4): 52-53.
- [2] WU J, MAO Y, ZONG S, et al. The cardiovascular actions of Huangyangning [J]. Chin Heart J (心脏杂志), 2003, 15(2): 169-171.
- [3] KE Z C, ZHOU Y Q, FANG C. Improve on quality standard of Huangyangning tablets [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2007, 29(5): 3-4.
- [4] FENG F, MA Y J, ZHANG Z X, et al. Improvement on the quality standard of cyclovirobuxine D [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2001, 36(5): 341-342.
- [5] XU X J, ZHANG Z X, SHENG L S, et al. The comparison of determining cyclovirobuxine D related substances by HPLC/MS and precolumn derivatization on RP HPLC using l-phenyl-isocyanate [J]. J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报), 2002, 33(5): 408-411.
- [6] XU X J, ZHANG Z X, SHENG L S, et al. Determination of cyclovirobuxine by RP-HPLC with pre-column fluorescence derivatization [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2002, 37(5): 359-361.
- [7] WEN H M, LI W, CHI Y M, et al. HPLC-MS (ToF) determination of cyclovirobuxine D in rat plasma [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2003, 23(3): 181-183.

收稿日期: 2009-03-17