

液适量,按 2.3.2 项下处理,进行色谱分析,测定透析袋内外液的浓度,以当日标准曲线计算透析袋内外 Evo、Rut 的质量浓度,以二者质量浓度比值确定药物从袋内外自由扩散达到平衡的时间。结果 24 h 时袋内外溶液中 Evo、Rut 的质量浓度相等,表明扩散 24 h 已达到平衡,因此设定平衡透析时间为 24 h。

2.5.4 透析袋对药物的吸附作用 按 2.5.2 项下方法,透析袋内精密加入 200 μ L 空白透析液代替血浆,放入盛有 3 mL 含药透析液的离心管内,平行 5 份;另取 5 支离心管,分别加入 3 mL 含药透析液,无透析袋。将上述离心管置 37 $^{\circ}$ C 水中水浴 24 h 至平衡,按 2.3.2 项下处理样品,进行色谱分析,测定透析外液药物浓度 ($n=5$),根据文献^[5]计算方法计算透析袋对药物的吸附率,Evo、Rut 的吸附率分别为 0.62 % 和 1.21 %,表明透析袋对两种成分几乎无吸附作用,可忽略不计。

3 讨论

平衡透析法基于药物结合的平衡原理,是测定药物游离浓度最常用的方法。该方法具有简单、经济、受实验因素干扰小等优点,是研究药物血浆蛋白结合率的经典方法。所以,本实验采用此法进行 Evo、Rut 的血浆蛋白结合率研究。

预试验及前期研究^[2]表明,Evo 和 Rut 不溶于水溶液,低浓度含药透析液明显可见药物沉淀析出。为增大药物在透析液中的溶解度,本研究中参考文献^[6-7]方法,加入了体积分数 0.5 % 的吐温 80,有效地

提高了 Evo 和 Rut 在透析液中的溶解度。

本研究建立了兔血浆中 Evo 和 Rut 浓度的测定方法,采用平衡透析法测定 Evo 和 Rut 血浆蛋白结合率,经方法学验证,该方法可行。在本研究浓度范围内,Evo、Rut 与兔血浆的蛋白结合率分别约为 38 % 和 40 %,属于低血浆蛋白结合,且随药物浓度的增加无明显的变化趋势,用 SPSS 16.0 进行方差分析显示,结果无统计学意义,表明在该浓度范围内其血浆蛋白结合率无浓度依赖性。至于 Evo 和 Rut 在不同种属间的血浆蛋白结合率是否存在差异,如兔与人血浆,有待进一步深入研究,从而更好地指导吴茱萸及其制剂的合理用药和临床用药安全。

参考文献:

- [1] 严春临,张季,薛贵平. 中药吴茱萸药理作用研究概况[J]. 河北北方学院学报, 2009, 26 (1): 77-79.
- [2] 栾连军,裴国丽,程翼宇. 吴茱萸碱和吴茱萸次碱在家兔体内的药动学研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(1): 48-50.
- [3] 杜英峰,靳怡然,许慧君,等. 冬凌草甲素在不同种属血浆中蛋白结合率的 HPLC 法测定[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 383-387.
- [4] 杨晓宁,禹玉洪,李阳,等. HPLC 法测定丁香酚与大鼠血浆蛋白的结合率[J]. 中草药, 2010, 41(3): 391-393.
- [5] 高秀荣,蒋学华,王婷. HPLC 法测定蝙蝠葛碱与大鼠和人血浆蛋白的结合率[J]. 中国药房, 2011, 22(31): 2894-2897.
- [6] Lee KJ, Mower R, Hollenbeck T. Modulation of nonspecific binding in ultrafiltration protein binding studies[J]. Pharmaceutical Research, 2003, 20(7): 1015-1021.
- [7] 吴海. 吴茱萸次碱吸收机理研究[D]. 成都: 四川大学, 2007.

(编辑: 梁进权)

川芎嗪自乳化缓释固体分散体在兔体内的药动学研究

陈晓丹, 王利胜, 陈 豆, 吕耿彬, 涂 星, 吴俊洪(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 研究川芎嗪自乳化缓释固体分散体(TMP-SESD)及普通缓释固体分散体(TMP-SD)在兔体内的药动学特征。**方法** 6 只新西兰兔随机分为 2 组,采用自身交叉对照实验,单剂量口服 TMP-SESD 和 TMP-SD 后,采用高效液相色谱法测定血浆中 TMP 的浓度,DAS2.1 数据处理软件计算药动学参数。**结果** TMP-SESD 和 TMP-SD 给药后,药动学参数如下: $t_{\max}$ 分别为 4 h 和 6 h; $C_{\max}$ 分别为 $(3.217 \pm 0.4581) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $(6.105 \pm 0.298) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 $(63.877 \pm 3.786) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ 和 $(39.067 \pm 2.971) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$;与 TMP-SD 比较,TMP-SESD 的相对生物利用度为 $(163.5 \pm 9.58) \%$ 。**结论** 家兔体内川芎嗪的药动学规律均符合一级吸收二室模型,与普通缓释固体分散体相比,自乳化缓释固体分散体 $C_{\max}$ 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 均较高,说明自乳化缓释固体分散体能显著提高药物

收稿日期: 2012-07-16

作者简介: 陈晓丹,女,硕士研究生,研究方向:药物新剂型与新技术研究。Email: 512492324@qq.com。通讯作者: 王利胜,博士,教授,硕士生导师,研究方向:药物新剂型与新技术研究。Email: wlis68@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873443);广东省科技计划项目(2010B030700039)。

的生物利用度。

关键词：川芎嗪；自微乳化；缓释固体分散体；药物动力学；相对生物利用度

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1003-9783(2013)03-0274-04

doi：10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.018

Pharmacokinetics Study of Tetramethylpyrazine Self-emulsifying Sustained-release Solid Dispersion in Rabbits

CHEN Xiaodan, WANG Lisheng, CHEN Dou, LV Gengbin, TU Xing, WU Junhong(College of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To compare pharmacokinetics and relative bioavailability of Tetramethylpyrazine self-emulsifying sustained-release solid dispersion (TMP-SESD) and Tetramethylpyrazine sustained-release solid dispersion (TMP-SD) in rabbits. **Methods** Single dose of TMP-SESD or TMP-SD was orally given to 6 rabbits in a randomized crossover control study. The TMP concentration in plasma was determined by high performance liquid chromatography, and pharmacokinetic parameters and relative bioavailability were calculated by DAS 2.1 software. **Results** The main pharmacokinetic parameters for TMP-SESD and TMP-SD were as follows: $t_{\max}$ was 4 h and 6 h, $C_{\max}$ was $3.217 \pm 0.4581 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $6.105 \pm 0.298 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ was $63.877 \pm 3.786 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ and $39.067 \pm 2.971 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$, respectively. The relative bioavailability of TMP-SESD was $(163.5 \pm 9.58) \%$ as compared with TMP-SD. **Conclusion** The pharmacokinetic parameters of TMP in rabbits accord with the two-compartment model, and $C_{\max}$ and $\text{AUC}_{0-\infty}$ of TMP-SESD are all higher than those of TMP-SD, and TMP-SESD has a higher bioavailability during the first absorption after TMP-SESD or TMP-SD administration.

Keywords: Tetramethylpyrazine; Self-emulsifying; Sustained-release solid dispersion; Pharmacokinetics; Relative bioavailability

川芎嗪(Tetramethylpyrazine, TMP)是中药川芖的主要有效成分,具有扩张血管、抑制血小板聚集、防止血栓形成、改善脑缺血等多种作用^[1],临床上广泛应用于心脑血管疾病的治疗。但它水溶性差,口服生物利用度低,半衰期短,代谢快^[2]。近年来,有文献^[3]报道将自乳化技术和缓控释技术联合应用,不仅能充分发挥自微乳给药后药物能迅速到达吸收部位、生物利用度高的特点;而且将自乳化给药系统制成缓释制剂,可达到延长药物作用时间的目的。本实验室制备了川芎嗪自乳化缓释固体分散体(Tetramethylpyrazine self-emulsifying solid dispersion, TMP-SESD),文中以川芎嗪普通缓释固体分散体(Tetramethylpyrazine solid dispersion, TMP-SD)为参比制剂,考察二者在兔体内的药动学特征,并计算相对生物利用度,为 TMP-SESD 的进一步研究提供依据。

1 材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Waters 515 泵, 2487 紫外检测器),美国 Waters 公司; N3000 色谱工作站,浙江大学; AUW120D 1/10 万分析天平,日本岛津公司; TGL-16B 型台式离心机,上海安亭仪器厂;

XW-80A 微型涡旋混合仪,上海沪西分析仪器厂。

1.2 试剂及药物 TMP-SESD、TMP-SD,自制;TMP 对照品,中国药品生物制品检定所,批号 110817-200305;TMP 原料药,含量 $\geq 98.5 \%$,南京泽朗医药公司;甲醇、乙腈,色谱纯,迪马公司;其他试剂为分析纯。

1.3 动物 新西兰兔 6 只,雄性,体质量 $(2.5 \pm 0.3) \text{ kg}$,广州中医药大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2008-0020。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:迪马 platisil ODS 柱 $(4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m})$,Phenomenex 保护柱;流动相:乙腈-0.5%冰乙酸(20:80);流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长:295 nm;柱温: $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$;进样量: $10 \mu\text{L}$ 。

2.2 血浆样品处理方法^[4] 精密量取血浆 $200 \mu\text{L}$ 置于 1.5 mL 离心管中,加入 $600 \mu\text{L}$ 的甲醇,涡旋振荡 2 min , $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min ,取上清液进样分析。

2.3 方法专属性考察 在上述色谱条件下,分别将空白血浆、空白血浆加 TMP 和样品血浆,按照“血浆样品处理方法”操作后进样分析,色谱图见图 1,

在 TMP 保留时间内没有血浆内源性物质峰, 表明属性良好。血浆中的内源性物质不干扰 TMP 的测定, 方法专

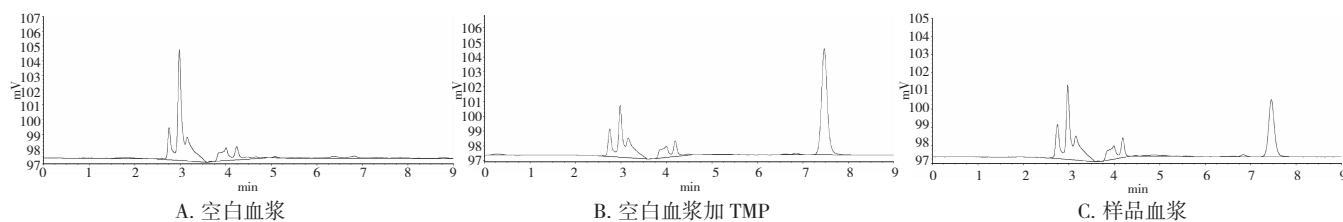


图 1 川芎嗪的 HPLC 色谱图

Figure 1 The HPLC result of TMP

2.4 对照品溶液配制 精密称取 TMP 对照品 10 mg, 加甲醇配成 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液, 精密量取一定量的储备液, 用甲醇稀释成浓度为 2, 4, 10, 20, 40, $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的一系列对照品溶液, 备用。

2.5 标准曲线的绘制 取空白血浆 $200 \mu\text{L}$, 加入不同浓度的 TMP 对照品溶液 $20 \mu\text{L}$, 使血浆样品质量浓度分别为 0.2, 0.4, 1, 2, 4, $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 按照“血浆样品处理方法”操作后进样分析, 记录峰面积。以峰面积 Y 为纵坐标, 进样质量浓度 $X(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ 为横坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程为: $Y = 7826.4X + 767.62$ ($r = 0.9993$), 表明 TMP 在 $0.2 \sim 8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 按 2.5 项下方法配制高、中、低 (4, 1, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 个质量浓度的血浆样品, 按“血浆样品处理方法”操作后进样测定。各浓度于 1 d 内测定 5 次, 计算日内精密度, RSD 分别为 1.33 %、1.59 %、1.06 %; 连续测定 5 d, 计算日间精密度, RSD 分别为 1.85 %、1.74 %、0.98 %。结果表明, 日内、日间精密度均符合要求。

2.7 稳定性实验 按 2.5 项下方法配制高、中、低 (4, 1, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 个质量浓度的血浆样品, 按“血浆样品处理方法”操作后, 室温放置 24 h, 于不同时间点进样分析, 记录峰面积, 得 RSD 分别为 1.12 %、1.79 %、1.65 %。说明样品在 24 h 内基本稳定。

2.8 回收率试验 按 2.5 项下方法配制高、中、低 (4, 1, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 个质量浓度的血浆样品, 按“血浆样品处理方法”操作后, 各浓度重复测定 3 次, 代入回归方程计算回收率, 分别为 93.14 % (RSD=0.79 %)、95.58 % (RSD=0.93 %)、98.31 % (RSD=1.67 %)。结果表明, 该分析方法的回收率符合要求。

2.9 药动力学实验 采用自身对照交叉试验设计方法进

行实验, 将 6 只健康新西兰兔 (实验前 12 h 禁食不禁水) 随机分为 2 组, 每组 3 只, 分别口服给予受试制剂 TMP-SESD 和参比制剂 TMP-SD, 给药剂量 (按川芎嗪计) 为 20 mg/kg , 1 周后互换做自身交叉对照试验。分别于给药前和给药后 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 h 耳缘静脉取血 1 mL, 置于肝素化离心管中。3000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离血浆, 置 -20°C 冰箱保存。

2.10 药动力学数据处理

2.10.1 血药浓度-时间曲线 将上述所得样品均按“血浆样品处理方法”操作后进样分析, 代入标准曲线方程计算各时间点的血药浓度, 分别绘制受试制剂 TMP-SESD 和 TMP-SD 的药-时曲线, 见图 1。

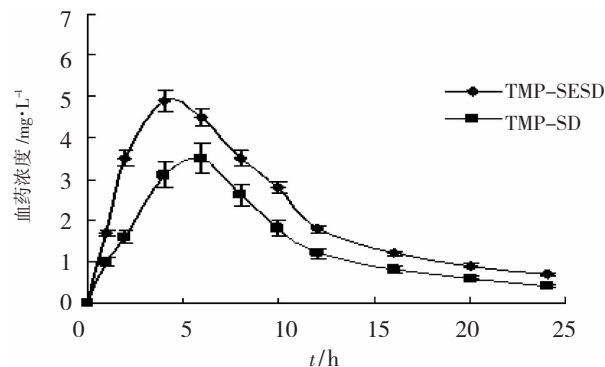


图 2 兔单剂量口服 TMP-SESD 和 TMP-SD 的药-时曲线 ($n=6$)

Figure 2 Concentration-time curves of TMP-SESD and TMP-SD in rabbits

2.10.2 药动力学参数 血药浓度数据用 DAS2.1 软件进行统计学处理, 进行房室模型拟合并计算各项药动力学参数, 结果表明家兔体内血浆中药物浓度随时间的变化符合血管外给药二室模型; 采用梯形法计算 AUC_{0-t} 值, t_{max} 、 C_{max} 均采用实测值, 参数 K_a 、 K_{10} 、 K_{21} 、 K_{12} 使用房室模型计算得到, 其余参数均使用非房室分析法计算得到, 两种制剂的主要药动力学参数

见表 1。

表 1 兔口服 TMP-SESD 和 TMP-SD 的主要药动学参数($n=6$)
Table 1 Main pharmacokinetic parameters of TMP-SESD and TMP-SD in rabbits

参数	TMP-SESD	TMP-SD
t_{max}/h	4	6
$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	4.94 ± 0.50	3.51 ± 0.28
$t_{1/2}/h$	5.19 ± 0.62	4.23 ± 0.71
K_a/h^{-1}	0.33 ± 0.13	0.99 ± 0.17
K_{10}/h^{-1}	0.19 ± 0.03	0.61 ± 0.073
K_{12}/h^{-1}	0.04 ± 0.03	0.10 ± 0.15
K_{21}/h^{-1}	0.01 ± 0.02	0.37 ± 0.02
$CL/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.46 ± 0.11	0.80 ± 0.36
$AUC_{(0-4)}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	53.55 ± 1.96	35.41 ± 2.18
$AUC_{(0-\infty)}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	63.88 ± 3.79	39.06 ± 2.97
MRT/h	13.55 ± 0.83	11.10 ± 1.59

2.10.3 相对生物利用度 用药-时曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ 计算相对生物利用度,与 TMP-SD 相比,TMP-SESD 的相对生物利用度为(163.54 ± 9.58)%。

3 讨论

本实验采用高效液相色谱法测定血浆中 TMP 的质量浓度,药物与血浆中内源性物质分离完全,方法专属性强,并且具有精确、灵敏、重复性好等特点,可以满足 TMP 制剂的体内药动学研究需要,简便可行,适于一般实验室条件下测定。

据报道^[5],口服川芎嗪 0.8 h 就达到血药浓度的最高峰,并且迅速代谢,4 h 内几乎代谢完全。由本

实验结果可见,TMP-SESD 和 TMP-SD 在体内的缓释效果良好,达峰时间 t_{max} 延缓(分别为 4 h 和 6 h),半衰期 $t_{1/2}$ (大于 4 h)和体内滞留时间 MRT(大于 11 h)延长。

与 TMP-SD 相比,TMP-SESD 的相对生物利用度为(163.5 ± 9.58)%,而且达峰浓度 C_{max} 是 TMP-SD 的 1.41 倍,说明 TMP-SESD 能提高药物的口服生物利用度,这可能是因为自乳化辅料的存在能够提高川芎嗪的溶解性和溶出度,而且溶出后形成微乳有利于川芎嗪的吸收。TMP-SESD 的 $t_{1/2}$ 与 MRT 分别为 TMP-SD 的 1.23 倍和 1.22 倍,表明 TMP-SESD 的消除速度更慢,这可能是因为 TMP-SESD 释药后形成的微乳载药体系具有良好的组织相容性,能延长 TMP 在体内的滞留时间,有利于药效的充分发挥。

参考文献:

[1] 周昌奎, 吴晓华. 川芎嗪临床应用及研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 16(6): 3-5.
[2] Xiao YY, Ping QN, Chen ZP. The enhancing effect of synthetical borneol on the absorption of tetramethylpyrazinephosphate in mouse[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2007, 337(2): 74-79.
[3] 张瑛, 张钧寿, 陈国广, 等. 盐酸维拉帕米自乳化缓释片的研制及释药行为的探讨[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 208-210.
[4] 夏祖猛, 王利胜, 赖宝林, 等. 芎冰微乳在新西兰兔体内的药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 119-121.
[5] 黄一攀, 陈朝. 两种磷酸川芎嗪制剂的人体药动学与生物等效性比较[J]. 医药导报, 2009, 28(3): 285-288.

(编辑: 梁进权)

2012 年本刊文献评价报告介绍

《中药新药与临床药理》为中药新药研发、中药临床药理学学科重要的学术交流平台,学科影响指标、影响因子以及学科排序在全国同类期刊中位居前列,并全面进入国内重要的核心期刊评价系统,是中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)、RCCSE 中国核心学术期刊,并被 WHO 西太平洋地区医学索引及美国化学文摘收录,成为中医药行业具有较高学术地位和重要影响力的期刊之一。

2012 年度文献评价指标: (1)《中国学术期刊影响因子年报》中复合影响因子 1.271,他引影响因子 1.228,基金论文比 0.81,总被引频次 2852,期刊综合影响因子 0.841,增长幅度为 22.59%,影响因子学科排序 5/19。(2)《中国科技期刊引证报告》核心版(1998 种期刊)中核心影响因子 0.706,核心总被引频次 1140,综合评价总分 54.2,在中医中药学类 69 种期刊中列第 9 位;而在扩刊版(6217 种期刊)中扩展影响因子 1.104,扩展总被引频次 1877,基金论文比 0.81,在药理学类 64 种及中国医药学类 86 种期刊中均列第 4 位。

传播趋势: 本刊机构用户总数逐年增长,据 2012 年中国知网发行与传播统计报告,2011 年度机构用户数总计 3232 个,分布在 26 个国家和地区,下载总量达 8.44 万次,说明本刊网络化出版的传播趋势良好,已经引起了国内外研究者的高度关注,为加快本刊信息走向世界、全球共享提供了更高层次的交流平台。

《中药新药与临床药理》编辑部