

· 制剂与质量 ·

冠心苏合丸中土木香替代青木香的比较药动力学研究

张金艳, 李贻奎*, 李连达

(中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

摘要:目的 比较冠心苏合丸系列组方(含青木香的冠心苏合丸、含土木香的冠心苏合丸及不含木香的冠心苏合丸)灌胃比格犬后,其有效成分肉桂酸药动力学过程的差异。方法 建立高效液相色谱法测定健康比格犬血浆中肉桂酸的方法;采集比格犬灌服冠心苏合丸系列组方后0~8 h的血浆,测定血药浓度;用DAS2.1软件模拟房室模型并计算药动力学参数。结果 含肉桂酸的血浆样品在0.031 25~32 mg/L与峰面积的线性关系良好($r=0.999\ 96$);最低检测限为31.25 $\mu\text{g/L}$;提取回收率在90%以上;日内精密性与日间精密性均小于5%。含青木香、含土木香以及不含木香的3种冠心苏合丸中有效成分肉桂酸在犬体内均符合一级吸收双室模型;含土木香冠心苏合丸以及不含木香冠心苏合丸组的肉桂酸峰浓度和药时曲线下面积有大于含青木香冠心苏合丸组的趋势,但三者之间无显著性差异。结论 比格犬灌服冠心苏合丸系列组方后,血浆中有效成分肉桂酸的药动力学过程大体一致,原方中的青木香被土木香替换或者去掉青木香,对该药主要有效成分肉桂酸的药动力学过程无明显影响。

关键词:冠心苏合丸;青木香;土木香;药理学;肉桂酸

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2008)12-1796-04

Comparative pharmacokinetics of active component in Guanxin Suhe Pills containing *Radix Inulae* in place of *Radix Aristolochiae*

ZHANG Jin-yan, LI Yi-kui, LI Lian-da

(Xiyuan Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

Abstract: Objective To study the pharmacokinetics of the active component in series of Guanxin Suhe Pills including the prescription containing *Radix Aristolochiae* (QG), the prescription containing *Radix Inulae* (TG), and the prescription without any of them (BG) in Beagle dogs and to compare the pharmacokinetics among the series of prescription. **Methods** HPLC Method was developed to determine acid in plasma of Beagle dogs. Blood plasma was collected after series of Guanxin Suhe Pills were administered to Beagle dogs 0—8 h later. The concentration of cinnamic acid in the plasma was determined and DAS 2.1 software was used in calculation of compartment model and pharmacokinetic parameters. **Results** The standard curve was linear from 0.031 25 to 32 mg/L in plasma of Beagle dogs, the lowest detectable limit was 31.25 $\mu\text{g/L}$, the recovery rate of the method was over 90% with satisfactory relative standard deviations (RSDs) of intra-day and inter-day both lower than 5%. The metabolism of cinnamic acid in plasma of Beagle dogs after medication of series in QG, TG, and BG all fitted in a first order absorption of two-compartment model. The peak concentration and the area under curve in TG and BG groups had the higher tendency than those in the QG group, but there was no significant difference among the three groups. **Conclusion** The series of Guanxin Suhe Pills all have a similar pharmacokinetic process. Taking away the *Radix Aristolochiae* from the previous prescription that including the *Radix Aristolochiae* or taking the place of the *Radix Aristolochiae* with *Radix Inulae* does not influence the pharmacokinetic process of the main active component.

Key words: Guanxin Suhe Pills; *Radix Aristolochiae*; *Radix Inulae*; pharmacokinetics; cinnamic acid

冠心苏合丸由苏合香油、冰片、乳香、檀香、青木香5味中药组成,源于宋代《太平惠民和剂局方》,主要用于治疗心绞痛、胸闷憋气、心肌梗死等证,特别是对心绞痛的发作有较好的疗效,服用后无硝酸甘油

收稿日期:2008-04-31

基金项目:国家“十五”科技攻关重点项目(2004BA721A10)

作者简介:张金艳(1978—),女,博士研究生,从事心血管药理研究。Tel:(010)62875599-6173 E-mail:jinyanz@163.com

*通讯作者 李贻奎 Tel:(010)62875599-6549 E-mail:liyikui2002@sina.com

等化学药的头痛、头胀、头晕等不良反应。方中因青木香含有肾毒性成分马兜铃酸,国家食品药品监督管理局于2004年8月取消了青木香的药用标准,将其用《中国药典》2000年版一部收载的土木香替换。以往的比较药效学以及细胞水平和蛋白质水平的比较研究显示,冠心苏合丸原方中的青木香用土木香代替,对其改善心肌缺血、对抗体外培养的心肌细胞缺氧再灌注损伤、抑制心梗模型动物的心肌细胞凋亡以及下调心梗模型动物心肌细胞促凋亡基因表达等作用及作用强度均无显著影响,该方中去掉青木香及土木香,对其药效以及作用机制亦无显著影响^[1,2]。但是土木香替换青木香后是否会导致冠心苏合丸药效的下降,替换方与原方在治疗冠心病作用机制及药动学过程中有无差异,尚无研究报道。为了进一步探索冠心苏合丸两个改进方与原方在药动学过程中的异同,阐明原方中的青木香被土木香替代或者去掉原方中青木香的合理性,本实验对相关问题进行了探讨。

1 材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国),LABWAY SC I 低温高速离心机(日本),MSI 微型旋涡混合仪。

冠心苏合丸3种组方均由北京同仁堂股份有限公司科学研究所提供,制备方法 & 质控标准均以《中国药典》2005年版一部为依据,批号20050623;肉桂酸对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号110786-200503;超纯水,甲醇、乙腈及冰醋酸均为HPLC级。

健康比格犬,雄性,(12±0.5)kg,由军事医学

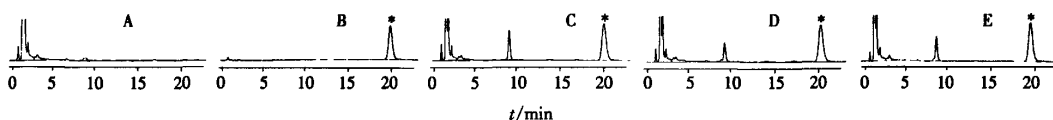
科学院实验动物中心提供,合格证号SCXK-(军)2002-001。

2 方法与结果

2.1 给药方案和采血时间:选取健康的比格犬9只,随机分为3组,每组3只。采用交叉给药法,分别给予含青木香的冠心苏合丸(QG)1.2 g/kg、含土木香的冠心苏合丸(TG)1.2 g/kg及不含木香的冠心苏合丸(BG)0.83 g/kg,给药间隔为2周。其中QG和TG 1.2 g/kg相当于临床人用剂量的12.8倍;BG 0.83 g/kg是由QG 1.2 g/kg和TG 1.2 g/kg中所含苏合香油的剂量折算而来。动物于给药前16 h禁食,试验当日清晨灌胃给药。给药前及给药后10、30、60、90、120、150、180、240、300、390、480 min分别由前肢静脉采血2 mL,肝素抗凝,3 000 r/min离心10 min,分离血浆,置-20℃冰箱中保存备用。

2.2 血样处理:参照文献报道方法^[3~6],并适当改进。取抗凝血浆500 μL,置尖底离心管中,加入丙酮500 μL,1 600 r/min涡旋混合1 min后,于4℃、15 000 r/min离心10 min,吸取上清液,置另一尖底离心管中,于50℃砂浴中氮气吹干,残渣用100 μL流动相溶解,再次1 600 r/min涡旋混合1 min,并4℃、15 000 r/min离心10 min,取上清液,即得。

2.3 色谱条件:Symmetry C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-水-冰醋酸(10:18:72:1);检测波长:266 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温;进样量:20 μL。在上述色谱条件下,肉桂酸与血浆内源峰以及冠心苏合丸系列组方中的其他成分均得到了良好的分离,其中肉桂酸的保留时间为20 min,见图1。



A-空白血浆 B-肉桂酸对照品 C-QG (1.2 g/kg)给药后30 min的血浆样品 D-TG (1.2 g/kg)给药后30 min的血浆样品 E-BG (0.83 g/kg)给药后30 min的血浆样品 * -肉桂酸

A-blank plasma B-plasma spiked with cinnamic acid reference substance C-plasma at 30 min after ig administration of QG 1.2 g/kg D-plasma at 30 min after ig administration of TG 1.2 g/kg E-plasma at 30 min after ig administration of BG 0.83 g/kg *-cinnamic acid

图1 含肉桂酸血浆样品的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of plasma samples containing cinnamic acid

2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线的制备:向装有比格犬空白血浆的10个小塑料离心管中分别加入肉桂酸对照品储备液,使肉桂酸的质量浓度分别为0.031 25、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1、2、4、8、32 mg/L,血样处理后,进样,测定各血浆样品的桂皮酸峰面积。以肉桂酸峰

面积(Y)为纵坐标,质量浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=507.73 X+1.598 3$, $r=0.999 96$ 。说明血浆样品中肉桂酸在0.031 25~32 mg/L与峰面积线性关系良好。

2.4.2 灵敏度试验:用最低检测限和最低检出量衡量。最低检测限以标准曲线中肉桂酸的最低质量浓

度计算,为 31.25 μg/L;最低检测限与一次进样量 (20 μL)的乘积即为最低检出量,为 0.625 ng。

2.4.3 提取回收率试验:将肉桂酸对照品储备液加入空白血浆,得到质量浓度为 0.062 5、1、16 mg/L 的血浆样品各 3 份,按照血样处理项下方法操作,外标法定量峰面积,所得峰面积与流动相配制的对照品直接进样得到的峰面积之比求算回收率,每一个质量浓度均做 3 次重复试验。结果显示,高、中、低 3 个质量浓度血浆样品中的肉桂酸提取回收率分别为 (97.41 ± 4.22)%、(96.54 ± 1.35)%、(92.60 ± 1.60%),结果表明回收率均在 90% 以上。

2.4.4 精密度试验:将肉桂酸对照品储备液加入空白血浆中,得到肉桂酸质量浓度为 0.062 5、1、16 mg/L 的血浆样品各 3 份,按照血样处理项下方法操作,上样测定。每个质量浓度日内做 3 个样本分析,计算得日内 RSD 分别为 1.23%、1.84%、1.33%;每个质量浓度血样均连续处理并分析 3 d,计算日间 RSD 分别为 3.57%、2.04%、2.63%。结果显示,高、中、低 3 个质量浓度的血浆样品经日内多次重复以及日间多次重复测定,RSD 值均小于 5%。

2.5 血浆浓度测定和数据处理:按血样处理项下方法处理血样,HPLC 法测定桂皮酸在犬体内的血药浓度,绘制 3 种复方的平均血药浓度-时间曲线,见图 2。采用孙瑞元主编的 DAS2.1.1 药代软件,对药时曲线进行药动力学模型拟合,3 种复方中的肉桂酸在比格犬体内均符合一级吸收双室模型,计算 3 种复方的主要药动力学参数:达峰时间(t_{max})、达峰浓度(C_{max})、消除半衰期($t_{1/2}$)和药时曲线下面积(AUC),结果见表 1。比格犬灌胃冠心苏合丸 3 种复方后,含土木香冠心苏合丸以及不含木香冠心苏合丸组的肉桂酸峰浓度和药时曲线下面积有大于含青木香冠心苏合丸原方组的趋势,但三者之间无显著性差异。

3 讨论

青木香为马兜铃科植物马兜铃 *Aristolochia debilis* Sieb. et Zucc. 的干燥根,辛、苦,寒,归肺、胃经;平肝止痛,解毒消肿,主治眩晕头痛、胸腹胀痛、痈肿疔疮和蛇虫咬伤等^[7]。土木香为菊科植物土木香 *Lnula helenium* L. 的干燥根,辛、苦,温,归肝、脾经;健脾和胃,调气解郁,止痛安胎,主治胸肋、脘腹胀痛,呕吐泻痢,胸肋挫伤、岔气作痛和胎动不安等^[7]。青木香与土木香二者的药用植物来源、亲缘关系、功效主治、药理作用和临床应用等均存在很大的差异。因此,土木香代替青木香的合理性和可行性尚

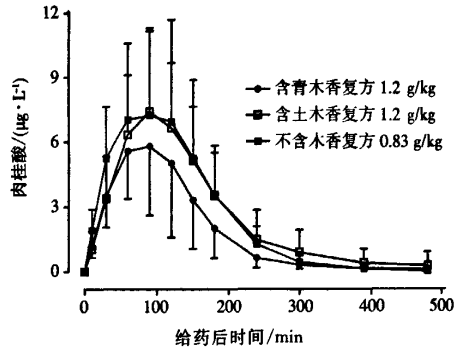


图 2 比格犬灌服冠心苏合丸 3 种组方后血浆中肉桂酸的药时曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time curves of cinnamic acid after ig administration of series of Guanxin Suhe Pills in Beagle dogs

表 1 灌服冠心苏合丸 3 种组方后肉桂酸在比格犬血浆中的药动力学参数($\bar{x} \pm s, n=9$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of cinnamic acid in Beagle dogs after ig administration of series of Guanxin Suhe Pills ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	C _{max} / (mg·L ⁻¹)	t _{max} /min	AUC (min·mg·L ⁻¹)	t _{1/2} /min
QG	1.2	6.45 ± 3.04	82.5 ± 26.6	865.7 ± 472.9	52.4 ± 19.1
TG	1.2	7.65 ± 3.48	93.8 ± 19.2	1 226.0 ± 612.6	44.0 ± 19.2
BG	0.83	8.44 ± 3.83	86.3 ± 46.6	1 232.6 ± 613.5	42.6 ± 15.6

需大量的药效学、毒理学以及临床研究来进行证实。

以往的比较药效学以及细胞水平和蛋白质水平的比较研究显示,冠心苏合丸原方中的青木香被土木香替换或者去掉青木香,对其药效以及作用机制均无显著影响^[1,2]。本研究进一步探索冠心苏合丸两个改进方与原方在药动力学过程中的差异,为改进方的临床合理用药提供根据。研究结果显示,冠心苏合丸 3 个复方中的肉桂酸在比格犬体内均符合一级吸收双室模型,含土木香冠心苏合丸以及不含木香冠心苏合丸组的肉桂酸峰浓度和药时曲线下面积有大于含青木香冠心苏合丸原方组的趋势,但三者之间无显著性差异。综合以前的研究结果,认为冠心苏合丸原方中的青木香被土木香替换是合理的;去掉原方中的青木香也是一种合理的选择;两种改进方对冠心苏合丸主要有效成分肉桂酸的药动力学参数没有显著性影响。

参考文献:

- [1] 张金艳,马 堃,李贻奎,等.冠心苏合丸系列组方对犬心肌梗死影响的比较药理学研究[J].中国中药杂志,2006,31(20): 1702-1705.
- [2] 马 堃,张金艳,李贻奎,等.冠心苏合丸系列组方的比较药理学研究[J].中国中药杂志,2006,31(16): 1353-1357.

- [3] Yuan J H, Bucher J R, Goehl T J. Quantitation of cinnamaldehyde and cinnamic acid in blood by HPLC [J]. *J Anal Toxicol*, 1992, 16 (9) : 359-362.
- [4] 阳长明, 侯世祥, 孙毅毅, 等. 保心微丸中肉桂酸大鼠体内的药代动力学研究[J]. *中草药*, 2001, 32 (7): 616-618.
- [5] 王 霄, 孙天慧, 景 丹, 等. 高效液相色谱法测定家兔血浆中桂皮酸浓度及其药代动力学初探[J]. *色谱*, 2005, 23 (3): 273-275.
- [6] Song Z H, Bi K S, Luo X. An HPLC method for the determination and pharmacokinetic study of cinnamic acid in the plasma of rats having taken the traditional Chinese medicinal preparation Ling-Gui-Zhu-Gan decoction [J]. *J Chromatogr Sci*, 2002, 40 (4) : 198-200.
- [7] 中国药典[S]. 一部. 2005.

注射用三七提取物的纯化方法优选

初 阳^{1,2}, 宋洪涛¹, 李 丹³, 郝 璐³, 刘 丹³, 陈大为³

(1. 南京军区福州总医院 药学科, 福建 福州 350025; 2. 中国医科大学附属第一医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110001; 3. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 优选注射用三七提取物的纯化方法。方法 以三七总皂苷的转移率、质量分数、杂质的清除效果和复溶性作为考察指标, 采用明胶沉淀法、澄清剂法、石硫醇法、碱性醇沉法和大孔吸附树脂法对三七进行纯化, 优选纯化条件, 并对纯化结果进行比较。结果 5种纯化方法单独使用均不能达到注射用要求, 将碱性醇沉法和大孔吸附树脂法联用纯化三七药材, 三七总皂苷的转移率和质量分数较高, 杂质清除效果较好, 复溶性较好。结论 通过对不同纯化方法的比较, 碱性醇沉法和大孔吸附树脂法联用可提高三七的纯化效果, 并能达到注射用要求。

关键词:三七; 注射用三七提取物; 纯化; 碱性醇沉法; 大孔吸附树脂法

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)12-1799-05

Optimization of purification of *Panax notoginseng* extract for injection

CHU Yang^{1,2}, SONG Hong-tao¹, LI Dan³, YAN Lu³, LIU Dan³, CHEN Da-wei³

(1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China; 2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China; 3. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To optimize the purification method of *Panax notoginseng* extract for injection.

Methods Taking the transfer rate, quality point of *Panax notoginsenoside* (PNS), scavenging effect of impurities, and redissolubility as the estimated targets, optimizing the effects of glutin precipitation, ZTC1+1 clarifying agent, lime creamsulphuric alcohol, basic alcohol precipitation, and macroporous resin adsorption methods, and then comparing with the effects of purification of *P. notoginseng*. **Results** The five purification methods used alone could not achieve the injection standard. When using basic precipitation and macroporous resin adsorption method to purify *P. notoginseng*, the transfer rate and quality point of PNS were higher. Both the scavenging effect of impurities and redissolubility were better. **Conclusion** By the comparison of different purification methods, it is found that the method using basic precipitation and macroporous resin adsorption could improve the purification, and achieve the standard for injection.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; *Panax notoginseng* extract for injection; purification; basic alcohol precipitation method; macroporous resin adsorption method

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎, 其中三七总皂苷为三七活血化瘀作用的有效部位^[1,2], 并且三七总皂苷注射液可用于治疗血栓性脑梗死、脑栓塞等

疾病。中药注射剂的质量在很大程度上依赖于中药提取物纯化的结果。纯化工艺不完善常可导致不良反应出现, 因此纯化工艺的研究十分重要。目前注射用中药提取物纯化方法常用的有明胶沉淀法、澄清

收稿日期: 2008-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30200363)

作者简介: 初 阳(1980—), 女, 辽宁沈阳人, 药师。Tel: (024)82025903

* 通讯作者 宋洪涛 Tel: (0591)83712298 E-mail: sohoto@vip.sohu.com