

• 药理与临床 •

银杏内酯滴丸在健康受试者体内的药动学研究

周莹^{1,2}, 谷元², 张如月¹, 尚海花², 武丽南², 司端运^{2*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300462

摘要: 目的 研究银杏内酯滴丸中的主要成分银杏内酯 A、B 在健康受试者体内的药动学特征, 为制定合理的临床给药方案提供依据。方法 采用随机、开放的试验设计, 10 例健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后, 按预定时间点采集血样, 肝素锂抗凝, 离心分离血浆。采用 LC-MS/MS 法测定血浆样品中银杏内酯 A、B 的开闭环总质量浓度, 以及银杏内酯 A、B 闭环质量浓度, 并应用 WinNonlin 6.3 软件非房室模型计算药动学参数。结果 健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后, 银杏内酯 A 闭环及开闭环总量的 $t_{\max}$ 分别为 (3.05 ± 1.40) 、 (3.40 ± 1.22) h, $C_{\max}$ 分别为 (84.3 ± 32.8) 、 (92.2 ± 35.0) ng/mL, $C_{\max}$ 比值为 91.4%, AUC_{0-t} 分别为 (636 ± 183) 、 (753 ± 205) ng·h/mL, AUC_{0-t} 比值为 84.5%, $t_{1/2}$ 分别为 (13.00 ± 10.30) 、 (12.90 ± 8.49) h; 银杏内酯 B 闭环及开闭环总量的 $t_{\max}$ 分别为 (3.15 ± 1.42) 、 (3.35 ± 1.25) h, $C_{\max}$ 分别为 (74.10 ± 31.50) 、 (148.00 ± 60.10) ng/mL, $C_{\max}$ 比值为 50.1%, AUC_{0-t} 分别为 (627 ± 202) 、 (1410 ± 431) ng·h/mL, AUC_{0-t} 比值为 44.5%, $t_{1/2}$ 分别为 (13.20 ± 5.83) 、 (13.7 ± 5.83) h。结论 健康受试者口服银杏内酯滴丸后, 银杏内酯 A、B 吸收速率适中, 消除速率适中, 在入血浆中银杏内酯 A 主要以闭环形式存在, 而银杏内酯 B 以开、闭环 2 种形式存在、暴露量相当。

关键词: 银杏内酯滴丸; 健康受试者; 银杏内酯 A; 银杏内酯 B; 药动学

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2472-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.023

Clinical pharmacokinetics of Ginkgolides Dropping Pills in healthy subjects

ZHOU Ying^{1,2}, GU Yuan², ZHANG Ru-yue¹, SHANG Hai-hua², WU Li-nan², SI Duan-yun²

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China

Abstract: Objective In order to describe the pharmacokinetic profiles of two effective constituents ginkgolide A and ginkgolide B in healthy subjects, and to provide supports for setting out the clinical application of Ginkgolides Dropping Pills. **Methods** Ten healthy subjects were enrolled in a randomized and open experimental design. Following a single oral administration of Ginkgolides Dropping Pills, blood samples which were anticoagulated by heparin sodium were collected at predetermined time, and then centrifuged to separate plasma samples. The total concentration of ginkgolide A and ginkgolide B in plasma samples and the lactone concentration of ginkgolide A and ginkgolide B were determined by a verified LC-MS/MS method, the pharmacokinetic parameters were calculated by WinNonlin 6.3 with non-compartment model. **Results** After a single oral administration of Ginkgolides Dropping Pills, the $t_{\max}$ of lactone, total concentration of ginkgolide A respectively were (3.05 ± 1.40) , (3.40 ± 1.22) h, the $C_{\max}$ were (84.3 ± 32.8) , (92.2 ± 35.0) ng/mL, respectively, and its $C_{\max}$ ratio was 91.4%. The AUC_{0-t} were (636 ± 183) , (753 ± 205) ng·h/mL, respectively, and its AUC_{0-t} ratio was 84.5%, half-life time ($t_{1/2}$) were (13.0 ± 10.3) , (12.9 ± 8.49) h, respectively. The $T_{\max}$ of lactone, total concentration of ginkgolide B were (3.15 ± 1.42) , (3.35 ± 1.25) h, The $C_{\max}$ were (74.1 ± 31.5) , (148 ± 60.1) ng/mL, respectively, and its $C_{\max}$ ratio was 50.1%. The AUC_{0-t} were (627 ± 202) , (1410 ± 431) ng·h/mL, respectively, and its AUC_{0-t} ratio was 44.5%, $t_{1/2}$

收稿日期: 2020-01-19

基金项目: 中国医学科学院药物代谢新技术创新单元 (2019RU009)

作者简介: 周莹, 女, 研究方向为药动学。E-mail: 895480520@qq.com

*通信作者 司端运, 男, 研究方向为药动学。E-mail: sidy@tjipr.com

were (13.2 ± 5.83) , (13.7 ± 5.83) h, respectively. **Conclusion** The results demonstrated that ginkgolide A and ginkgolide B were both at a moderate absorption and elimination rate, ginkgolide A mainly existed in human plasma upon lactone, while ginkgolide B presented as hydrolyzed forms with one or two lactone groups hydrolyzed and lactone, and the two forms of ginkgolide B were at equal exposure level after single oral administration of Ginkgolides Dropping Pills.

key words: Ginkgolides Dropping Pills; healthy subjects; ginkgolide A; ginkgolide B; pharmacokinetics

银杏内酯是从银杏叶及根中分离提取的萜内酯类化合物^[1], 自 20 世纪 60 年代以来, 许多研究者先后对银杏叶提取物的药理作用进行深入研究^[2], 发现银杏内酯具有拮抗血小板活化因子 (PAF) 的作用, 进一步的研究发现银杏内酯中的银杏内酯 A、B、C、K 等是主要发挥拮抗 PAF 受体作用的活性成分, 其中银杏内酯 B 的拮抗作用最强。PAF 是由内毒素和细胞因子诱导产生的具有多种功能的内源性磷脂质, 具有活化血小板的作用, 对心功能、心电生理、动脉粥样硬化、心脏缺血及缺血再灌注损伤等多种生理病理过程产生影响^[3-5]。银杏内酯通过特异性抑制 PAF 引起的多种病理过程从而保护脑缺血组织^[6]。同时银杏内酯也是非特异性甘氨酸受体和 γ -氨基丁酸受体拮抗剂^[7-9], 银杏内酯通过拮抗以上 2 种受体从而加强对脑卒中后中枢神经的保护作用。此外, 银杏内酯具有抗炎、抗氧化、抗抑郁、提高记忆力等作用。

银杏内酯 (银杏内酯 A、B 闭环结构见图 1) 是由 6 个五元环形成的刚性笼状骨架结构^[10], 其中

包括 1 个螺 [4,4] 壬烷、1 个四氢呋喃环和 3 个五元内酯环。内酯环结构的稳定性与溶剂的 pH 值密切相关, 当在碱性介质中, 内酯环易水解开环^[11]。通过滴定法对介质中的 pH 值测定发现^[12], 当 pH 值为 7 时内酯环开始开环; 当 pH 值为 8 时, 50% 的 F 环开环, 20% 的 E 环开环; 当 pH 值为 10 时, 90% 的 E、F 环开环, 当 pH 值增至 13 时, 40% 的 C 环开环, E、F 环全部开环, 而开环后加入酸, 可以使开环后的化合物转化成闭环的原化合物。天然产物化学研究表明无 C 环结构会使银杏内酯类似物活性大大降低, F 环对活性没有影响。银杏内酯 A、B 吸收进入体内后, 其内酯环结构在体内会发生闭环与开环的转化, 处于动态变化状态。为了准确反映银杏内酯 A、B 药动学特性, 有必要对主要发挥药效作用的闭环形式和部分发挥药效的开环形式进行药动学特征考察。由于只能获得闭环形式的对照品, 本研究在开、闭环总浓度测定时通过酸化的方式使开环状态转化为闭环状态进行检测^[13]。

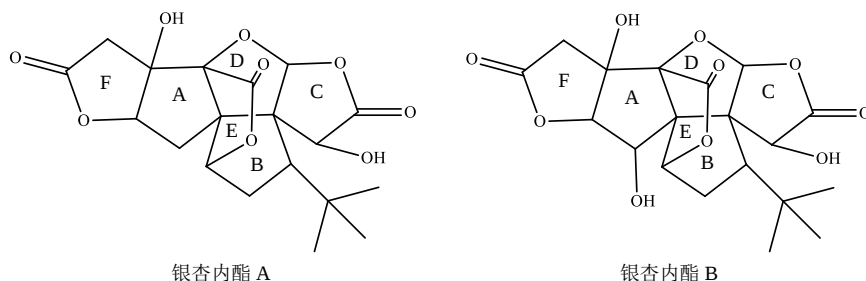


图 1 银杏内酯 A、B 的结构

Fig. 1 Chemical structure of ginkgolide A and ginkgolide B

20 世纪 70 年代起, 以银杏叶提取物为原料制成的制剂以及银杏内酯类制剂治疗心脑血管系统疾病具有疗效好、副作用小等特点^[14]。国内外关于银杏内酯 A、B 的药动学研究大都局限于动物体内^[15-17], 而人体药动学研究较少^[13,18], Li 等^[13]曾研究静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液后银杏内酯 A、B 的内酯环在人血浆中水解后的暴露量。本研究建立了 LC-MS/MS 分析方法对银杏内酯 A、B 的开闭环总浓度和闭环浓度进行测定, 并应用于 10 例健康受试者口服银杏内酯滴丸后银杏内酯 A、B

闭环及开闭环的血浆药物浓度测定和药动学研究, 为该滴丸制剂的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

银杏内酯滴丸 (规格为 35 mg/丸, 含银杏内酯 A、B 分别为 2.9、5.6 mg/丸, 批号为 170901), 江苏康缘药业股份有限公司; 银杏内酯 A 对照品 (质量分数 97.4%, 批号 110862-201612)、银杏内酯 B 对照品 (质量分数 95.6%, 批号 110863-201611)、内标 (IS) 白果内酯对照品 (质量分数 99.8%, 批

号 110865-201507) 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇、乙腈为色谱纯 (美国 Fisher 公司); 醋酸乙酯为色谱纯 (天津市康科德科技有限公司); 甲酸铵为分析纯、甲酸为色谱纯 (天津市光复科技发展有限公司); 浓盐酸为分析纯 (天津市凯信化学工业有限公司), 超纯水为实验室自制。

1.2 仪器

高效液相色谱系统 (含 LC-20AD 二元梯度泵、SIL-20AC 自动进样器、CTO-20A 柱温箱、DGU-20A3 脱气机, 日本岛津公司); 4000 QTRAP 型四级杆-线性离子阱串联质谱 (含 Turbo ESI 源、Analyst 1.5.2 工作站, 美国 AB Sciex 公司); 17R 台式高速冷冻离心机, 美国 Thermo Scientific 公司; Turbo Vap LV 型样品浓缩仪, 美国 Caliper 公司。

2 方法

2.1 临床试验方案

临床试验在天津中医药大学第一附属医院开展, 临床试验方案的制定、伦理委员会审核及临床研究的实施均在该医院进行。10 名 18~45 岁健康受试者, 男女各半, 禁食 10 h 以上, 受试者口服 5 丸银杏内酯滴丸, 240 mL 水送服, 整丸吞服。口服给药前 (0 h) 和给药后 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、8、12、16、24、36、48 h, 共 17 个采血点, 每次采集 4 mL 全血, 肝素锂抗凝, 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min, 分离血浆。血浆由专业冷链物流公司冷链运输至本实验室, 全程实时温度记录, 保存于-70 ℃冰箱至检测分析。

2.2 生物样品定量分析

2.2.1 待测物确定 银杏内酯滴丸制剂的含量标准为银杏内酯 A、B, 而且银杏内酯 A、B 为主要的药理活性成分, 因此, 选择对银杏内酯 A、B 进行定量检测分析。银杏内酯 A、B 的对照品为闭环形式, 但给药后银杏内酯 A、B 的内酯环在体内会发生闭环与开环的转化, 处于动态变化状态。为了准确反映银杏内酯主要成分药动学特征, 分别建立了 LC-MS/MS 方法同时测定人血浆样品中银杏内酯 A、B 的开闭环总量 (人血浆样品进行酸化后使开环物全部转化为闭环物), 和 LC-MS/MS 方法同时测定人血浆样品中银杏内酯 A、B 闭环质量浓度的分析方法, 并计算相应的药动学参数。

2.2.2 LC-MS/MS 分析条件

(1) 液相条件: 色谱柱 Waters Atlantis T3 (100 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 40 ℃; 流动相 A 为乙

腈-甲醇 (75:25), B 为 0.5 mmol/L 甲酸铵-5%乙腈水溶液; 体积流量 0.5 mL/min; 梯度洗脱: 0~3.5 min, 50% A; 3.5~5.5 min, 50%~80% A; 5.5~6.0 min, 80% A; 6.1~8.0 min, 80%~50% A; 自动进样器温度 4 ℃; 进样体积 10 μL。

(2) 质谱条件: ESI 离子源, 负离子模式; 喷雾电压为-3 500 V; 源温度 450 ℃; GS1、GS2 均为 344.750 kPa (50 psi); 卷帘气为 103.425 kPa (15 psi); 出口及入口电压均为-10 V; 碰撞气为 55.160 kPa (8 psi); 扫描模式为多反应监测 (MRM); 银杏内酯 A、B 及白果内酯用于定量的离子对分别为 m/z 453.1→351.1、423.2→367.2、325.1→163.1, 碰撞能均为-24 V; 去簇电压分别为-30、-40、-40 V。

2.2.3 血浆样品处理方法

(1) 银杏内酯 A、B 的开闭环总量测定: 200 μL 人血浆样品 (std-0、Blank 为 200 μL 空白人血浆, 随行曲线质控为含药血浆、未知人血浆样品) 中加入 50 μL 内标白果内酯甲醇溶液 (Blank 加入 50 μL 甲醇), 50 μL 2 mol/L HCl, 涡旋 5 min, 室温放置 40 min, 加入 1 mL 醋酸乙酯, 向玻璃试管中加入 100 μL 复溶液 (甲醇-水-甲酸 50:50:0.1), 涡旋 1 min 复溶, 取复溶液于内插管中, 4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min, 进样 10 μL, 进行 LC-MS/MS 定量分析。

(2) 银杏内酯 A、B 闭环质量浓度测定: 200 μL 人血浆样品 (std-0、Blank、随行曲线质控为空白人血浆、未知人血浆样品) 中加入 50 μL 内标白果内酯甲醇溶液 (Blank 加入 50 μL 甲醇), 50 μL 甲醇溶液 (随行曲线质控加入 50 μL 系列标准或质控工作液), 以及 1 mL 醋酸乙酯, 涡旋 2 min, 4 ℃、12 000 r/min 离心 5 min, 取上层有机相 800 μL 至玻璃试管中, 40 ℃氮气吹干。向玻璃试管中加入 100 μL 复溶液 (甲醇-水-甲酸 50:50:0.1), 涡旋 1 min 复溶, 取复溶液于内插管中, 4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min, 进样 10 μL, 进行 LC-MS/MS 定量分析。

2.2.4 LC-MS/MS 分析方法验证 2 项 LC-MS/MS 定量分析方法均经过完整的方法学验证, 考察内容包括系统适应性、特异性、残留、内标与待测物之间相互干扰、线性、灵敏度、日内与日间准确度、日内与日间精密度、基质效应、回收率、稳定性、稀释效应等。将银杏内酯 A、B 的闭环质量浓度及开闭环总量测定的方法学验证一并描述。

(1) 系统适应性: 吸取双样本系统适应性溶液样品, 每份溶液连续进样3针, 计算6个待测物与内标峰面积比值, 并计算RSD值。6针系统适应性样品中待测物保留时间的RSD在0~0.187%, 内标保留时间的RSD在0~0.137%, 待测物与内标进样峰面积比的RSD在1.11%~2.37%, 说明本方法的系统适应性良好。

(2) 特异性: 6个不同个体的人空白血浆200 μL , 按“血浆样品处理方法”项下Blank处理方式处理。结果表明待测物银杏内酯A、B及内标白果内酯的保留时间分别为4.36、4.39、3.78 min, 代表性色谱图见图2。人空白血浆银杏内酯A、B的干扰在0.16%~2.68%, 白果内酯的干扰在0.01%~0.28%, 表明人血浆中的内源性物质不干扰待测物及内标的定量分析。

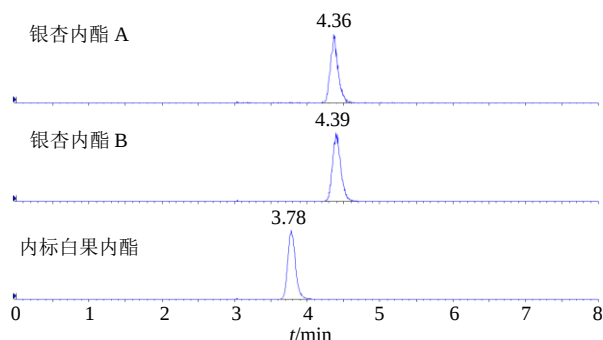


图2 人血浆中银杏内酯A、B以及内标白果内酯的MRM色谱图

Fig. 2 Chromatograms of ginkgolide A, B and IS in human plasma

(3) 残留: 为考察进样残留情况, 曲线最高质量浓度进样之后, 分析空白人血浆样品。结果校正曲线最高质量浓度进样之后, 人空白血浆样品中银杏内酯A、B的残留为0.24%~3.11%, 内标白果内酯残留为0.005%~0.076%, 表明待测物及内标的检测无残留影响。

(4) 内标与待测物之间相互干扰: 为考察内标与待测物相互干扰情况, 制备只含有内标、不含有待测物的样品control-0样品, 以及只含有待测物(校正曲线最高质量浓度)、不含有内标的ULOQ-no IS样品, 进行LC-MS/MS分析。control-0样品中待测物的峰面积干扰为0.0875%~2.340%, ULOQ-no IS样品中内标的峰面积干扰为0.00843%~0.0173%, 表明内标与待测物之间不存在交叉影响。

(5) 线性关系考察: 配制并处理7个质量浓度水平的校正对照品样品, 按“血浆样品处理方法”项下随行曲线处理方式处理, 考察3个分析批次, 每批每个质量浓度校正对照品样品双样本。人血浆中银杏内酯A、B的开闭环总量和闭环质量浓度线性范围均为0.5~100 ng/mL。银杏内酯A总量测定校正曲线: $Y=0.0236X+0.000716$ ($r=0.9996$), 银杏内酯B总质量浓度测定校正曲线: $Y=0.0507X+0.0015$ ($r=0.9994$)。

(6) 灵敏度: 配制并处理定量下限(LLOQ)水平的质控样品, 按“血浆样品处理方法”项下质控样品处理方式处理, 考察3个分析批次, 每批6个样本。LLOQ: 在0.5 ng/mL质量浓度下, 银杏内酯A、B的批内、批间准确度在88.3%~98.5%, 批内、批间精密度在2.06%~10.50%, 表明本方法测定人血浆中的银杏内酯A、B的LLOQ可以达到0.5 ng/mL。

(7) 准确度与精密度: 配制并处理低、中、高质量浓度水平的质控样品, 按“血浆样品处理方法”项下质控样品处理方式处理, 考察3个分析批次, 每批每个质量浓度6个样本。银杏内酯A、B在1.25、12.5、75 ng/mL水平的批内、批间准确度在93.8%~107%, 批内、批间精密度在0.68%~12.10%, 均符合测定要求。

(8) 基质效应与回收率: 分别取180 μL 银杏内酯A/B质量浓度为25/25、250/250、1500/1500 ng/mL甲醇溶液, 加入900 μL 内标工作液及1170 μL 0.2%的甲酸水溶液混匀制备总量方法学验证溶液; 分别取900 μL 银杏内酯A/B质量浓度为5/5、50/50、300/300 ng/mL甲醇溶液, 加入900 μL 内标工作液及450 μL 0.2%的甲酸水溶液混匀制备闭环质量浓度方法学验证溶液。基质效应样品按各自空白样品处理方式吹干, 再使用各自的验证溶液复溶。基质效应样品测得的峰面积与相应质量浓度的验证样品测得的峰面积比值, 即待测物和内标的基质因子; 进一步通过计算待测物的基质因子与内标的基质因子之比, 获得内标归一化的基质效应因子。配制并处理低、中、高质量浓度水平的质控样品, 质控样品测得的峰面积与相应质量浓度的基质效应样品测得的峰面积比值为回收率。结果银杏内酯A内标归一化基质因子为0.92~1.08, RSD在0.88%~8.08%; 银杏内酯B内标归一化基质因子在0.93~1.26, RSD在1.15%~14.90%。银杏内酯A的回收

率在 87.70%~93.10%，RSD 在 1.00%~3.86%；银杏内酯 B 的回收率在 78.70%~99.60%，RSD 在 1.00%~3.92%；内标白果内酯的回收率在 85.90%~95.20%，RSD 在 2.39%~4.03%。

(9) 稳定性：含药血浆在不同条件下放置并按照未知样本的血浆样本处理方式处理，考察银杏内酯 A、B（开闭环总质量浓度）血浆样品室温放置 4 h、-70 °C 至室温冻融 3 次、-20 °C 冻存 9 d、-70 °C 冻存 80 d 处理后样品于进样器温度下（4 °C）放置 58 h 后的稳定性。考察银杏内酯 A、B（闭环质量浓度）冰上放置 1 h 后、-70 °C 至冰上冻融 1 次、-20 °C 冻存 9 d；-70 °C 冻存 79 d 处理后样品于进样器温度下（4 °C）放置 27 h 的稳定性。结果银杏内酯 A、B（开闭环总量）血浆样品室温放置 4 h 稳定（准确度在 95.10%~107.00%），-70 °C 至室温冻融 3 次稳定（准确度在 93.50%~97.50%）；-20 °C 冻存 9 d 稳定（准确度在 93.20%~99.20%）；-70 °C 冻存 80 d 稳定（准确度在 92.10%~99.30%）。处理后样品于进样器温度下（4 °C）放置 58 h 后稳定（准确度在 95.30%~105.00%）。银杏内酯 A、B（闭环质量浓度）冰上放置 1 h 后稳定（准确度在 89.80%~97.30%）；-70 °C 至冰上冻融 1 次稳定（准确度在 98.60%~106.00%）；-20 °C 冻存 9 d 稳定（准确度在 91.40%~103.00%）；-70 °C 冻存 79 d 稳定（准确度在 94.70%~102.00%）。处理后样品于进样器温度下（4 °C）放置 27 h 后稳定（准确度在 94.70%~103.00%）。

(10) 稀释效应：取银杏内酯 A/B 质控混合储备液 II（10/10 μg/mL，取质量浓度为 50/50 μg/mL 混合储备液 I 2 mL 于玻璃瓶中，加 8 mL 甲醇稀释混匀）10 μL，加入 190 μL 空白人血浆涡旋混匀，配制成质量浓度为 500/500 ng/mL 的 DQC 样品，取 20 μL 500/500 ng/mL 的 DQC 含药血浆，加入 190 μL 空白人血浆稀释 10 倍，制备稀释 10 倍的稀释质控样品（开闭环总量测定稀释效应）。为避免采用空白人血浆直接稀释含药人血浆样本引起开闭环的转化，采用将血浆样品处理完后用处理后的 std-0 样品进行稀释分析的方式。200 μL 空白人血浆加入 50 μL 600/600 ng/mL 质控工作液，按“血浆样品处理方法”项下质控样品处理方式处理，取 25 μL 处理后的稀释质控上清液，加入 50 μL 处理后的 std-0 上清液，涡旋混合，制备稀释 3 倍的稀释质控样品。开闭环总质量浓度测定时，用空白血浆稀释 4 倍的稀释质控样品，银

杏内酯 A、B 准确度分别为 95.80%、96.30%，RSD 分别为 4.45%、4.72%，表明对人血浆样品进行稀释后分析，结果能够准确反映超出曲线范围的银杏内酯 A、B 的开闭环总质量浓度；闭环质量浓度测定时，稀释质控样品处理完后用处理后的 std-0 样品稀释 3 倍，银杏内酯 A、B 准确度分别为 98.00%、97.30%，RSD 分别为 2.98%、3.21%，表明人血浆样品处理完后用处理后的 std-0 样品进行稀释后分析，结果能够准确反映超出曲线范围的银杏内酯 A、B 闭环质量浓度。

2.3 药动学参数的计算 采用 WinNonlin 6.3 软件非房室模型统计矩法计算各受试者体内银杏内酯 A、B 的开闭环总量的药动学参数，以及银杏内酯 A、B 闭环的药动学参数，包括 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 λ_z 、 V_d/F 、 CL/F 。其中 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 采用梯形法计算， $t_{1/2}$ 采用 Best Fit 法计算， C_{max} 、 t_{max} 采用实测值。

3 结果

3.1 健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后银杏内酯 A 的药动学特征

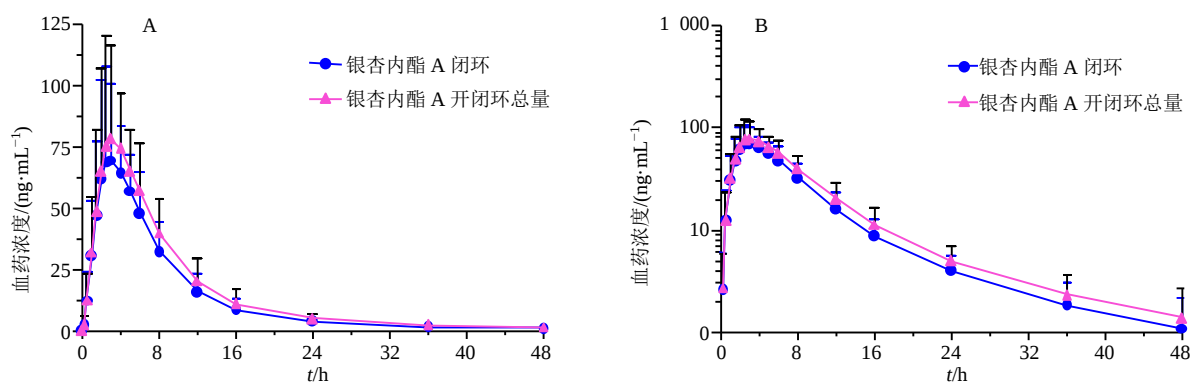
3.1.1 银杏内酯 A 的血药浓度 健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后，平均血浆药物质量浓度数据及药时曲线见表 1 和图 3。结果显示，健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后，银杏内酯 A 在人血浆中主要以闭环形式存在，各时刻闭环质量浓度占开闭环总质量浓度的 80% 以上，开环/闭环比例趋于平稳后，闭环暴露量维持在 80% 左右。银杏内酯 A 闭环与开闭环总质量浓度的变化趋势基本一致，反映吸收、分布、消除的各个曲线段基本平行，于给药后 3 h 左右达峰，随后血药浓度逐渐下降，至服药后 48 h 已下降到 C_{max} 的 1/10 以下。

3.1.2 银杏内酯 A 的药动学参数 单次口服银杏内酯滴丸后，将每位受试者血浆中银杏内酯 A 的开闭环总质量浓度数据以及闭环质量浓度数据分别应用 WinNonlin 6.3 软件，选择非房室模型统计矩法计算药动学参数，结果见表 2。血浆中银杏内酯 A 闭环及开闭环的 C_{max} 分别为（84.30±32.80）、（92.20±35.00）ng/mL，两者比值为 91.40%， AUC_{0-t} 分别为（636.00±183.00）、（753.00±205.00）ng·h/mL，两者比值为 84.50%， $t_{1/2}$ 分别为（13.00±10.30）、（12.90±8.49）h。提示健康人口服银杏内酯滴丸后，银杏内酯 A 可以被吸收，吸收速率适中，且在人血浆中主要以闭环形式存在。

表 1 人血浆中银杏内酯 A 开闭环总质量浓度和闭环质量浓度以及闭环质量浓度/开闭环总质量浓度比值 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Total and lactone concentration of ginkgolide A and lactone/total ratio ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

时间/h	银杏内酯 A		
	开闭环总质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	闭环质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	闭环质量浓度/开闭环总质量浓度比值
0.00	0±0	0±0	—
0.25	2.69± 3.24	2.63± 3.37	96.20± 7.24
0.50	12.30±11.10	12.30±11.80	96.70± 6.56
1.00	31.90±22.70	30.60±22.30	95.30± 4.56
1.50	49.00±32.70	47.00±30.50	95.80± 6.27
2.00	65.20±42.00	62.00±40.40	94.80± 5.27
2.50	75.70±44.30	68.70±39.10	91.70± 5.48
3.00	78.30±38.10	69.50±31.40	90.30± 7.36
4.00	74.40±22.30	64.60±19.00	87.00± 5.06
5.00	65.30±16.50	57.00±14.70	87.30± 4.46
6.00	57.20±19.00	48.30±16.50	84.30± 6.54
8.00	39.70±14.30	32.60±11.70	82.30± 6.99
12.00	20.20± 9.10	16.10± 7.52	79.00± 6.53
16.00	11.20± 5.48	8.66± 4.37	76.60± 6.98
24.00	5.02± 2.06	4.03± 1.66	79.80± 9.21
36.00	2.34± 1.36	1.84± 1.26	79.10±10.50
48.00	1.39± 1.28	1.09± 1.11	83.20±17.60



A-正常坐标 B-半对数坐标

A-normal coordinates B-semi-logarithmic coordinates

图 3 人血浆中银杏内酯 A 总质量浓度与闭环质量浓度-时间曲线比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Total concentration of ginkgolide A, concentration of lactone of concentration-time curve in plasma of healthy human ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表 2 人血浆中银杏内酯 A 开闭环及闭环状态的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Pharmacokinetics of total and lactone concentration of ginkgolide A ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

参数	单位	开闭环	闭环
C_{max}	ng·mL ⁻¹	92.20± 35.00	84.30± 32.80
t_{max}	h	3.40± 1.22	3.05± 1.40
$AUC_{0 \sim t}$	h·ng·mL ⁻¹	753.00±205.00	636.00±183.00
$AUC_{0 \sim \infty}$	h·ng·mL ⁻¹	792.00±213.00	671.00±199.00
V_d/F	L	342.00±213.00	393.00±273.00
CL/F	L·h ⁻¹	19.70± 5.83	23.60± 7.92
$t_{1/2}$	h	12.90± 8.49	13.00± 10.30
λ_z	h ⁻¹	0.07± 0.04	0.08± 0.05

3.2 健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后银杏内酯 B 的药动学特征

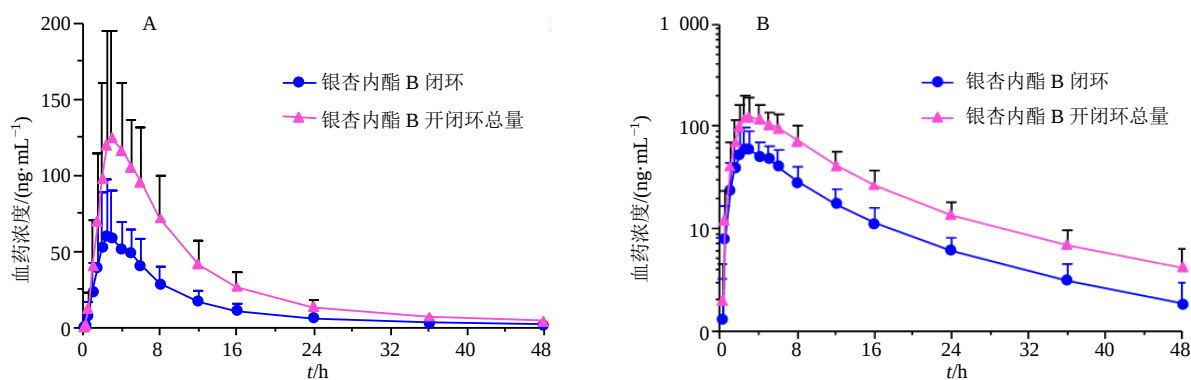
3.2.1 银杏内酯 B 的血药浓度 健康人单次口服银杏内酯滴丸后, 平均血浆药物质量浓度数据及药时曲线见表 3 和图 4, 结果显示口服银杏内酯滴丸后初始阶段, 血浆中银杏内酯 B 主要以闭环形式为主,

占 60% 左右, 随后闭环逐渐向开环转化, 开环/闭环比例趋于平稳后, 闭环形式暴露量维持在 45% 左右。银杏内酯 B 闭环与开闭环总质量浓度的变化趋势基本一致, 反映吸收、分布、消除的各个曲线段基本平行, 于给药后 3 h 左右达峰, 随后血药浓度逐渐下降, 至服药后 48 h 已下降到 $C_{\max}$ 的 1/10 以下。

表 3 人血浆中银杏内酯 B 开闭环总质量浓度和闭环质量浓度以及闭环质量浓度/开闭环总质量浓度比值 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Total and lactone concentration of ginkgolide B and lactone/total ratio ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

时间/h	银杏内酯 B		
	开闭环总质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	闭环质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	闭环质量浓度/开闭环总质量浓度比值
0.00	0±0	0±0	—
0.25	1.97± 2.57	1.32± 1.95	68.20±10.50
0.50	11.90±11.30	7.83± 8.43	62.80±11.00
1.00	40.20±29.80	23.90±18.90	58.70±11.20
1.50	69.30±45.30	39.30±28.50	55.50± 9.41
2.00	97.30±63.20	52.50±36.40	54.10± 7.88
2.50	120.00±75.30	60.20±37.00	50.90± 5.40
3.00	124.00±70.90	59.00±31.30	49.30± 5.87
4.00	116.00±44.60	51.40±17.60	45.30± 5.71
5.00	105.00±31.80	48.80±15.40	46.50± 5.45
6.00	95.50±35.50	40.70±17.60	42.10± 5.81
8.00	71.50±28.10	28.60±11.80	40.00± 4.39
12.00	41.20±16.20	17.30± 7.28	41.80± 5.14
16.00	26.40±10.20	11.10± 4.65	41.80± 4.09
24.00	13.50± 4.27	6.09± 1.96	45.00± 4.25
36.00	6.96± 2.67	3.11± 1.32	44.30± 6.83
48.00	4.16± 2.20	1.83± 1.13	44.90± 4.92



A-正常坐标 B-半对数坐标

A-normal coordinates B-semi-logarithmic coordinates

图 4 血浆中银杏内酯 B 总质量浓度与闭环质量浓度-时间曲线比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Total concentration of ginkgolide B, concentration of lactone of concentration-time curve in plasma of healthy human ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.2 银杏内酯 B 的药动学参数 单次口服银杏内酯滴丸后, 将每位受试者血浆中银杏内酯 B 的开闭环总质量浓度数据以及闭环质量浓度数据分别应用 WinNonlin 6.3 软件, 选择非房室模型统计矩法计算药动学参数, 结果见表 4。血浆中银杏内酯 B 闭环及开闭环的 $C_{\max}$ 分别为 (74.10 ± 31.50) 、 $(148.00 \pm$

$60.10)$ ng/mL, 二者比值为 50.1%, $AUC_{0 \sim t}$ 分别为 (627.00 ± 202.00) 、 $(1\ 410.00 \pm 431.00)$ ng·h/mL, 二者比值为 44.5%, $t_{1/2}$ 分别为 (13.20 ± 5.83) 、 (13.70 ± 5.83) h。提示健康人口服银杏内酯滴丸后, 银杏内酯 B 可以被吸收, 吸收速率适中, 且在血浆中以开、闭环 2 种形式存在, 2 种形式暴露量相当。

表 4 人血浆中银杏内酯 B 的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Pharmacokinetics of total and lactone concentration of ginkgolide B ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

参数	单位	开闭环	闭环
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	148.00 ± 60.10	74.10 ± 31.50
$t_{\max}$	h	3.35 ± 1.25	3.15 ± 1.42
$AUC_{0 \sim t}$	h·ng·mL ⁻¹	1 410.00 ± 431.00	627.00 ± 202.00
$AUC_{0 \sim \infty}$	h·ng·mL ⁻¹	1 500.00 ± 449.00	668.00 ± 207.00
Vd/F	L	398.00 ± 221.00	870.00 ± 463.00
CL/F	L·h ⁻¹	20.50 ± 6.87	46.70 ± 17.60
$t_{1/2}$	h	13.70 ± 5.83	13.20 ± 5.83
λ_z	h ⁻¹	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02

4 讨论

银杏内酯滴丸中银杏内酯 A、B 的含量分别为 2.9、5.6 mg/丸, 比例为 1:1.93。健康受试者单次口服银杏内酯滴丸后, 血浆中银杏内酯 A、B 开闭环总量的 $AUC_{0 \sim t}$ 分别为 (753 ± 205) 、 $(1\ 410 \pm 431)$ h·ng/mL, 暴露量比值为 1:1.87。银杏内酯 A、B 的暴露量 (1:1.87) 与制剂中成分含量 (1:1.93) 成比例。健康人口服银杏内酯滴丸后, 由于银杏内酯 A、B 的结构及性质相似, 机体对其吸收入血和从体内消除过程基本一致, 因此两者的暴露量与制剂比例相近。文献报道^[13]有关于银杏内酯 A、B 水解开环的相关药动学参数, 3 名健康男性静脉滴注银杏二萜内酯葡胺注射液后银杏内酯 A、B 的半衰期为 9、11 h, 与本研究的银杏内酯 A、B 的总量及闭环的半衰期也基本一致。

滴丸制剂具有吸收迅速、生物利用度高的特点, 药物高度分散到不同载体, 属于多剂量给药形式。滴丸比表面积大, 增大了药物与消化道接触面积, 有利于药物的吸收。再加上口服滴丸给药后的 $C_{\max}$ 低于注射给药的峰值, 从而使滴丸口服给药后安全性在可控范围内, 减少不良反应的发生。

参考文献

[1] 姜晓旭, 孙世晓. 银杏叶提取物与心脑血管疾病关系的研究进展 [J]. 黑龙江中医药, 2016, 45(2): 69-70.

[2] 楼凤昌, 凌 娅, 唐于平, 等. 银杏萜内酯的分离、纯化和结构鉴定 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(1): 12-16.
 [3] 王 旋, 张慧灵, 顾振纶, 等. 银杏内酯药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(11): 1741-1744.
 [4] 黄 平, 周兴卓, 毛坤军, 等. 银杏内酯药代动力学及其剂型的研究进展 [J]. 广州化工, 2017, 45(18): 3-5.
 [5] 张学非, 曹泽戎, 许治良, 等. 银杏内酯治疗脑缺血作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2943-2948.
 [6] 陶永康, 张国强. 血小板活化因子在心血管系统中的作用 [J]. 中国心血管杂志, 2011, 16(5): 396-398.
 [7] 徐 君, 王奎龙, 曹泽戎, 等. 银杏二萜内酯类化合物拮抗 PAF 诱导的血小板聚集及对神经细胞的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(24): 4716-4721.
 [8] Grypioti A D, Kostopanagiotou G, Demopoulos C A, et al. Platelet activating factor (PAF) antagonism with ginkgolide B protects the liver against acute injury. Importance of controlling the receptor of PAF [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(4): 1054-1062.
 [9] Ghani A A, Jantan I, Jalil J, et al. Platelet-activating factor (PAF) antagonistic activity of a new biflavonoid from *Garcinia nervosa* var. *pubescens* King [J]. Molecules, 2012, 17(9): 10893-10901.
 [10] 惠爱玲, 吴泽宇, 袁 媛, 等. 银杏内酯衍生物和类似物的合成及 PAFR 和 GlyR 拮抗活性研究进展 [J]. 有机化学, 2013, 33(6): 1263-1272.
 [11] 常 玉, 丁 克, 蒋建勤. 银杏内酯类化合物的结构修

- 饰与构效关系研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(3): 497-501.
- [12] Zekri O, Boudeville P, Genay P, *et al.* Ionization constants of ginkgolide B in aqueous solution [J]. *Anal Chem*, 1996, 68(15): 2598-2604.
- [13] Li Y J, Zhang C F, Huang W Z, *et al.* Simultaneous determination of ginkgolides A, B and K in human plasma by UPLC-MS/MS and its application to the pharmacokinetic study of Ginkgo Diterpene Lactone Meglumine Injection in humans [J] *Anal Methods*, 2016, 8(11): 2341-2348.
- [14] 陈 称, 陈 莉, 孙建博. 银杏内酯类化合物的来源、结构修饰与新剂型研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(3): 344-350.
- [15] 龚 欢, 丁存刚, 李 周, 等. SD 大鼠体内各组织中银杏内酯 B 的 LC-MS/MS 测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(4): 543-548.
- [16] 张 颖, 林 力, 任常英, 等. 中药复方塞络通中银杏内酯类成分的药代动力学及脑分布研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(7): 1458-1464.
- [17] 吴 华, 乔红群, 蔡 阳, 等. HPLC-MS/MS 法测定比格犬血浆中甲磺酸胺银杏内酯 B 的含量 [J]. 药物生物技术, 2011, 18(4): 348-350.
- [18] 李国信, 夏素霞, 刘胜利, 等. 银杏内酯 B 注射液在健康人体的药代动力学 [J]. 中国临床药理学杂志, 2008, 24(2): 118-121.