

# 丁苯酞对阿司匹林在大鼠体内药动学的影响

施兵奇<sup>1\*</sup>, 刘增娟<sup>1</sup>, 杨秀岭<sup>2#</sup>, 陈丽霞<sup>2</sup>, 梁振江<sup>2</sup>(1. 石家庄市第三医院药剂科, 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第二医院药学部, 石家庄 050000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)28-3944-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.28.19

**摘要** 目的: 研究丁苯酞对阿司匹林在大鼠体内药动学的影响。方法: 取大鼠20只, 随机均分为对照组(植物油0.4 ml/只+阿司匹林10 mg/kg)与实验组(丁苯酞80 mg/kg+阿司匹林10 mg/kg), 每日ig药物1次, 连续给药10 d。末次给药前及给药后10、20、40、60、120、240、360、480、600、720 min取血0.2 ml, 采用高效液相色谱法测定血药浓度, 以DAS 2.0软件拟合药动学参数。结果: 对照组与实验组大鼠体内阿司匹林的主要药动学参数为 $c_{max}$ ( $28.68 \pm 6.08$ )、( $29.33 \pm 4.25$ )  $\mu\text{g/ml}$ ,  $t_{1/2}$ ( $2.48 \pm 0.67$ )、( $1.60 \pm 0.36$ ) h,  $AUC_{0-720\text{ min}}$ ( $188.71 \pm 24.29$ )、( $140.31 \pm 15.08$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ ,  $CL/F$ ( $0.05 \pm 0.01$ )、( $0.07 \pm 0.01$ )  $\text{L}/(\text{h}\cdot\text{kg})$ ; 其中 $t_{1/2}$ 、 $AUC_{0-720\text{ min}}$ 、 $CL/F$ 比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: 丁苯酞对阿司匹林在大鼠体内的吸收与分布无显著影响, 但可加快其代谢和清除。

**关键词** 丁苯酞; 阿司匹林; 药动学; 高效液相色谱法; 大鼠

## Influence of Butylphthalide on Pharmacokinetics of Aspirin in Rats

SHI Bing-qi<sup>1</sup>, LIU Zeng-juan<sup>1</sup>, YANG Xiu-ling<sup>2</sup>, CHEN Li-xia<sup>2</sup>, LIANG Zhen-jiang<sup>2</sup>(1. Dept. of Pharmacy, Shijiazhuang Third Hospital, Shijiazhuang 050011, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the influence of butylphthalide on the pharmacokinetics of aspirin in rats. METHODS: 20 rats were randomly divided into control group (vegetable oil 0.4 ml/rat+aspirin 10 mg/kg) and trial group (butylphthalide 80 mg/kg+aspirin 10 mg/kg) intragastrically, once a day, for consecutive 10 days. Blood samples were collected before the last medication and 10, 20, 40, 60, 120, 240, 360, 480, 600 and 720 min after medication, 0.2 ml each time. The blood concentration of drugs was determined by HPLC, and pharmacokinetics parameters were calculated by DAS 2.0 software. RESULTS: Main pharmacokinetic parameters of aspirin in control group vs. trial group were as follows as  $c_{max}$  of ( $28.68 \pm 6.08$ ) vs. ( $29.33 \pm 4.25$ )  $\mu\text{g/ml}$ ;  $t_{1/2}$  of ( $2.48 \pm 0.67$ ) vs. ( $1.60 \pm 0.36$ ) h;  $AUC_{0-720\text{ min}}$  of ( $188.71 \pm 24.29$ ) vs. ( $140.31 \pm 15.08$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ ;  $CL/F$  of ( $0.05 \pm 0.01$ ) vs. ( $0.07 \pm 0.01$ )  $\text{L}/(\text{h}\cdot\text{kg})$ ; there were significant differences in  $t_{1/2}$ ,  $AUC_{0-720\text{ min}}$  and  $CL/F$  ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Butylphthalide has no significant effect on the absorption and distribution of aspirin in rats, but can strengthen its metabolism and elimination.

**KEYWORDS** Butylphthalide; Aspirin; Pharmacokinetics; HPLC; Rat

阿司匹林(乙酰水杨酸)是一种抗血小板药物, 其通过抑制血小板环氧化酶1, 减少血栓烷 $A_2$ 合成, 抑制血小板聚集, 发挥抗血栓的作用<sup>[1-2]</sup>。目前阿司匹林已广泛用于预防和治疗血栓性疾病。丁苯酞是一种新型抗脑缺血药物, 可以通过抑制血小板聚集、保护线粒体功能等多个环节提供脑保护作用<sup>[3]</sup>。阿司匹林和丁苯酞在脑缺血患者中经常联合使用, 但联合使用是否存在相互作用尚未见报道。由于阿司匹林口服吸收后在血浆中易被酯酶水解为水杨酸, 因此, 常采用测定血中水杨酸浓度的方法研究阿司匹林的药动学<sup>[4]</sup>。本试验通过采用高效液相色谱(HPLC)法测定血浆中水杨酸的浓度, 探讨丁苯酞对阿司匹林药动学的影响, 为临床合理联合用药提供一定的理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HPLC系统, 包括515泵、486紫外检测器、Empower Appli-

\* 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0311-85990531。E-mail: ssysbq@126.com

cation工作站(美国Waters公司); CPA225D型电子分析天平(德国Sartorius公司); GL-20G-II型冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); XW-80A型涡漩混合器(上海医科大学仪器厂); 低温冷藏箱(日本Sanyo公司)。

### 1.2 药品与试剂

水杨酸对照品(批号: 100419-200301, 纯度: 99.9%)、苯甲酸对照品(批号: 100106-201104, 纯度: 99.9%)均购自中国食品药品检定研究院; 丁苯酞胶囊(石药集团恩必普药业有限公司, 批号: 11110611, 规格: 每粒0.1 g); 阿司匹林肠溶片(拜耳有限公司, 批号: BJ09814, 规格: 每片100 mg); 甲醇为色谱纯, 磷酸和高氯酸等均为分析纯, 水为超纯水。

### 1.3 动物

健康Wistar大鼠, 清洁级,  $\delta$ , 体质量( $190 \pm 10$ ) g, 由河北省动物实验中心提供, 合格证号为SCXK(冀)2008-1-003。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil  $C_{18}$  (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相:

甲醇-0.072%磷酸水溶液(55:45, V/V), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 235 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 20 µl; 内标: 苯甲酸。

## 2.2 标准溶液的制备

2.2.1 水杨酸溶液 精密称取水杨酸对照品 50 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制备成质量浓度为 1 mg/ml 的水杨酸溶液, 5 °C 下保存, 备用。

2.2.2 苯甲酸溶液 精密称取苯甲酸对照品 10 mg, 置于 50 ml 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制备成质量浓度为 200 µg/ml 的苯甲酸贮备液。取贮备液 5 ml 于 25 ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制备成质量浓度为 40 µg/ml 的苯甲酸溶液, 5 °C 避光保存, 备用。

## 2.3 血浆样品预处理

取血浆样品 200 µl 于离心管中, 加内标(40 µg/ml 苯甲酸溶液) 20 µl, 混匀, 加沉淀剂(6%高氯酸水溶液) 160 µl, 涡旋混合 1 min, 6 500×g 离心 5 min, 取上清液进样测定。

## 2.4 专属性考察

将水杨酸溶液和苯甲酸溶液直接进样; 将空白血浆、空白血浆+水杨酸和给药后 20 min 的血浆样品, 按“2.3”项下方法处理后进样测定, 记录色谱。结果显示, 血浆中内源性物质并不干扰水杨酸的测定; 水杨酸和内标苯甲酸分离完全、峰形良好, 保留时间分别为 10.2、8.3 min。色谱图见图 1。

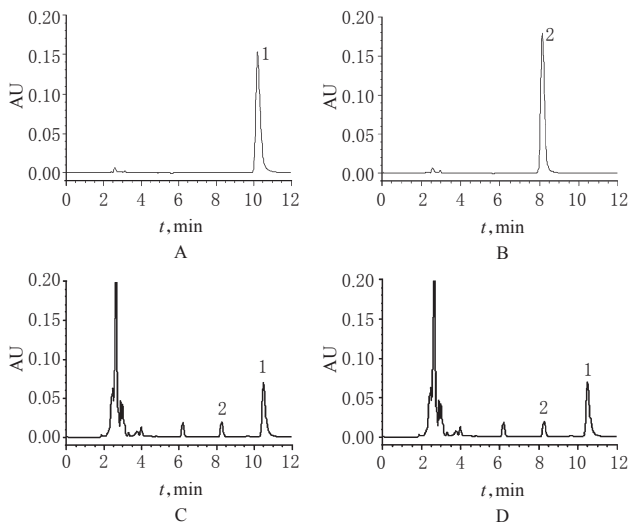


图1 高效液相色谱图

A. 水杨酸溶液; B. 苯甲酸溶液; C. 空白血浆+水杨酸+苯甲酸; D. 血浆样品; 1. 水杨酸; 2. 苯甲酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A. salicylic acid solution; B. benzoic acid solution; C. blank plasma+salicylic acid+benzoic acid; D. plasma samples; 1. salicylic acid; 2. benzoic acid

## 2.5 标准曲线的制备

精密量取水杨酸溶液适量于量瓶中, 加甲醇定量稀释制成 5、10、20、40、100、200、400、600 µg/ml 的水杨酸标准系列溶液。取大鼠空白血浆 180 µl, 加水杨酸标准系列溶液各 20 µl, 制备成水杨酸质量浓度分别为 0.5、1、2、4、10、20、40、60 µg/ml 的模拟血浆样品, 按照“2.3”项下方法处理后, 进样测定。以水杨酸与内标峰面积比值(y)为纵坐标、水杨酸质量浓度(x)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为  $y=0.113x+0.0156$  ( $r=$

0.9994,  $n=8$ )。结果, 水杨酸检测质量浓度线性范围为 0.5~60 µg/ml, 定量限为 0.25 µg/ml (信噪比为 10), 检测限为 0.08 µg/ml (信噪比为 3)。

## 2.6 精密度试验

取空白血浆按“2.5”项下方法制备成水杨酸质量浓度分别为 1、10、40 µg/ml 的模拟血浆样品, 照“2.3”项下方法处理后, 进样测定。于同日内处理并测定 5 次, 考察日内精密度; 同法每日测定 1 次, 连续测定 5 d, 考察日间精密度, 结果见表 1。

表1 精密度和回收率试验结果( $n=5$ )

加入量, µg/ml	日内		提取回收率, %		方法回收率, %	
	RSD, %	RSD, %	$\bar{x} \pm s$	RSD	$\bar{x} \pm s$	RSD
1	8.00	6.56	94.6 ± 4.2	4.44	96.89 ± 2.34	2.42
10	4.73	7.54	95.3 ± 5.7	5.98	105.83 ± 8.09	7.64
40	3.56	4.82	93.6 ± 4.0	4.27	98.65 ± 3.49	3.54

## 2.7 回收率试验

取空白血浆按“2.5”项下方法制备成水杨酸质量浓度分别为 1、10、40 µg/ml 的模拟血浆样品, 每一浓度 5 份, 照“2.3”项下方法处理后, 进样测定, 记录峰面积, 以与标准溶液直接进样测定的峰面积的比值计算提取回收率; 根据标准曲线计算样品质量浓度与理论浓度的比值, 计算方法回收率, 结果见表 1。

## 2.8 稳定性试验

取空白血浆按“2.5”项下方法制备成水杨酸质量浓度为 10 µg/ml 的模拟血浆样品, 根据实际工作需要, 分别在室温(放置 4 h)、冷冻(-40 °C 保存 5 d)、反复冻融(冷冻-融化循环 3 次)条件下保存后, 照“2.3”项下方法处理后, 进样测定, 考察水杨酸血浆样品稳定性。结果, 室温放置条件下 RSD 为 0.75%、-40 °C 低温保存条件下 RSD 为 6.91%、反复冻融条件下 RSD 为 1.18% ( $n=5$ ), 表明血浆样品稳定性良好。

## 2.9 药动学实验

取大鼠 20 只, 随机均分为对照组(植物油 0.4 ml/只+阿司匹林 10 mg/kg)与实验组(丁苯酞 80 mg/kg+阿司匹林 10 mg/kg), 给药剂量按人常规剂量的 8 倍计算, 每日 ig 药物 1 次, 连续给药 10 d。末次给药前及给药后 10、20、40、60、120、240、360、480、600、720 min 眼眶静脉丛取血 0.2 ml, 置于预先肝素化的离心管中, 混匀, 6 500×g 离心 2 min, 分离血浆, -40 °C 冷冻保存, 照“2.3”项下方法处理后, 进样测定, 计算血药浓度。利用 DAS 2.0 药动学统计软件处理, 采用统计矩法计算药动学参数。采用 SPSS 13.0 统计软件包对药动学参数  $AUC_{0-\infty}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $V$  和  $c_{max}$  进行两个独立样本的  $t$  检验;  $AUC_{0-720 \text{ min}}$ 、 $t_{max}$ 、 $CL/F$  不服从正态分布, 则进行非参数检验。水杨酸在大鼠体内的药-时曲线见图 2, 药动学参数见表 2。

由表 2 可知, 与对照组比较, 实验组大鼠体内水杨酸的  $AUC_{0-720 \text{ min}}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  和  $t_{1/2}$  分别降低了 25.65%、29.46%、35.48% ( $P<0.05$ ),  $CL/F$  增加了 40.00% ( $P<0.05$ ),  $t_{max}$  与  $c_{max}$  未见明显变化。

## 3 讨论

由于水杨酸和苯甲酸均为弱酸, 易发生解离吸附在色谱柱上, 故采用甲醇-0.072%磷酸水溶液(55:45)作为流动相, 防止发生解离。苯甲酸与水杨酸结构性性质相似, 采用 HPLC 法同

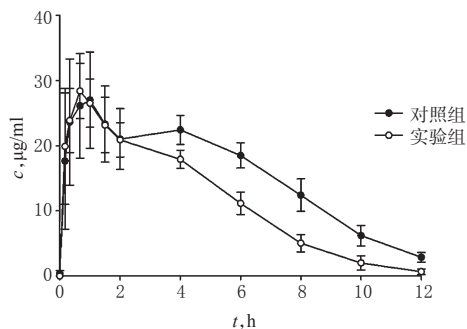


图2 水杨酸在大鼠体内的药-时曲线

Fig 2 Concentration-time curves of salicylic acid in rats *in vivo*

表2 两组大鼠体内阿司匹林的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of aspirin in rats *in vivo* of 2 groups( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

参数	对照组	实验组
AUC <sub>0-720 min</sub> , $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	188.71 ± 24.29	140.31 ± 15.08*
AUC <sub>0-∞</sub> , $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	202.13 ± 27.8	142.59 ± 16.88*
MRT <sub>0-720 min</sub> , h	4.51 ± 0.28	3.52 ± 0.15*
MRT <sub>0-∞</sub> , h	5.25 ± 0.58	3.68 ± 0.26*
$t_{1/2}$ , h	2.48 ± 0.67	1.60 ± 0.36*
$t_{\text{max}}$ , h	0.89 ± 0.24	0.78 ± 0.36
CL/F, L/(h·kg)	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.01*
V, L/kg	0.18 ± 0.04	0.16 ± 0.02
$c_{\text{max}}$ , $\mu\text{g}/\text{ml}$	28.68 ± 6.08	29.33 ± 4.25

注:与对照组比较, \* $P<0.05$

Note: vs. control group, \* $P<0.05$

时测定大鼠血浆中苯甲酸与水杨酸的药浓度,两药出峰时间较近且分离良好,与内源性杂质分离较好,故最终确定苯甲酸作为本实验的内标。

本实验采用沉淀蛋白的方法处理血样,以6%高氯酸作蛋白沉淀剂,除去血浆蛋白经离心后直接进样。与使用甲醇作沉淀剂相比,高氯酸使用量较小,使进样浓度增加,提高了检测的灵敏度,同时避免了吹干浓缩等步骤。

阿司匹林口服吸收后迅速转化为水杨酸盐,水杨酸盐主要通过肝脏代谢消除,代谢产物有水杨尿酸、水杨基葡萄糖苷酸、龙胆酸和龙胆尿酸<sup>[5]</sup>。有些药物可影响水杨酸的药动学,如双嘧达莫、复方丹参滴丸可使血浆水杨酸盐浓度增加,皮质激素可以降低血浆中水杨酸盐的浓度<sup>[4-5]</sup>。丁苯酞可加速硝苯地平及多索茶碱在大鼠体内的代谢消除<sup>[6-7]</sup>,对肝药酶细胞色素P<sub>450</sub>(CYP)3A和CYP2C19没有影响<sup>[8-9]</sup>。本实验结果显示,

丁苯酞和阿司匹林联用,在多剂量给药时, $t_{\text{max}}$ 及 $c_{\text{max}}$ 均未明显变化,说明丁苯酞对阿司匹林吸收无显著影响。水杨酸在血液中可与血清白蛋白可逆性结合,结合率高达80%~90%<sup>[10]</sup>,丁苯酞蛋白结合率为61%~65%,但V没有明显变化( $P>0.05$ ),说明丁苯酞对水杨酸的分布无显著影响。水杨酸在体内主要经CYP2C9和Ⅱ相结合酶(葡萄糖醛酸结合酶和甘氨酸结合酶)进行代谢,生成相应代谢物后从尿液中排出体外。本研究结果表明,AUC<sub>0-720 min</sub>、AUC<sub>0-∞</sub>、 $t_{1/2}$ 明显减小( $P<0.05$ ),CL/F明显增加( $P<0.05$ ),可能是丁苯酞诱导水杨酸的代谢酶,使其活性增加,加快了水杨酸代谢,从而使清除率增加、半衰期减小。其确切作用机制有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 胡恩慈,熊长明.阿司匹林预防静脉血栓形成的研究进展[J].中国循环杂志,2014,29(12):1 057.
- [2] 宗一,蒋建聪.氯吡格雷联合阿司匹林肠溶片治疗不稳定型心绞痛的疗效分析[J].临床合理用药杂志,2014,7(33):29.
- [3] 鄢学芬,詹瑾,黄叶宁,等.丁苯酞的药理作用与临床评价[J].中国医院药学杂志,2008,28(17):1 498.
- [4] 段好刚,张国荣,魏玉辉,等.复方丹参滴丸对阿司匹林大鼠体内药动学的影响[J].第二军医大学学报,2011,32(12):1 384.
- [5] 李大魁,金有豫,汤光,等.马丁代尔药物大典[M].北京:化学工业出版社,2014:23.
- [6] 杨秀岭,郭利,张志清,等.丁苯酞对大鼠体内硝苯地平药动学的影响研究[J].中国药房,2012,23(21):1 954.
- [7] 郭利,杨秀岭,王淑梅,等.丁苯酞对大鼠体内多索茶碱药动学的影响[J].中国药房,2013,24(25):2 337.
- [8] 杨秀岭,王淑梅,赵永红,等.探针药物法评价丁苯酞对大鼠体内CYP3A酶活性的影响[J].中南药学,2014,12(4):330.
- [9] 杨秀岭,张志清,赵永红,等.探针药物法评价丁苯酞对大鼠体内CYP2C19酶活性的影响[J].河北医科大学学报,2013,34(12):1 545.
- [10] 陈为烤,居文政,谈恒山.脉络宁注射液合用阿司匹林对大鼠水杨酸药动学的影响[J].药学与临床研究,2009,17(4):283.

(收稿日期:2015-03-05 修回日期:2015-05-11)

(编辑:邹丽娟)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊,欢迎投稿、订阅