

丁苯酞对大鼠体内多索茶碱药动学的影响

郭利*, 杨秀岭#, 王淑梅, 殷立新, 陈玮 (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(2013)25-2337-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.13

摘要 目的: 研究丁苯酞对大鼠体内多索茶碱药动学的影响。方法: 取大鼠随机分为对照组(多索茶碱80 mg/kg)和实验组(多索茶碱80 mg/kg+丁苯酞80 mg/kg), 每组6只, 先分别连续灌胃橄榄油和丁苯酞6 d, 末次给药后灌胃多索茶碱。采用高效液相色谱法测定各组大鼠多索茶碱给药前和给药后0.083、0.25、0.5、1、2、2.5、3、5、7、9 h的血药浓度。色谱柱为Diamonsil C₁₈; 流动相为甲醇-水(30:70, V/V), 流速为1.0 ml/min; 检测波长为272 nm; 进样量为20 μl。以DAS 2.1.1药动学软件计算药动学参数。结果: 多索茶碱检测质量浓度线性范围为0.476~76.200 mg/L($r=0.9998$), 相对回收率为(88.74±7.05)%~(94.38±7.19)%, 日内RSD≤7.96%, 日间RSD≤6.48%。对照组和实验组大鼠体内多索茶碱的药动学参数分别为 c_{max} : (49.92±8.56)、(42.10±17.46) mg/L, t_{max} : (0.83±0.26)、(0.50±0.00) h, $t_{1/2z}$: (1.77±0.48)、(1.24±0.24) h, AUC_{0-9h} : (165.90±23.96)、(73.45±4.76) mg·h/L, CL_z : (0.12±0.02)、(0.27±0.02) L/(h·kg), V_z : (0.29±0.05)、(0.49±0.09) L/kg, 其中 AUC_{0-9h} 、 CL_z 、 V_z 比较具有显著性差异($P<0.05$)。结论: 丁苯酞对大鼠体内多索茶碱的吸收未见明显影响, 但可影响其体内分布过程, 加快其代谢和清除。
关键词 丁苯酞; 多索茶碱; 药动学; 高效液相色谱法; 大鼠

Influence of Butylphthalide on Pharmacokinetics of Doxophylline in Rats *in vivo*

GUO Li, YANG Xiu-ling, WANG Shu-mei, YIN Li-xin, CHEN Wei (Dept. of Pharmacy, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effect of butylphthalide (BP) on pharmacokinetics of doxophylline in rats *in vivo*. METHODS: SD rats were randomly divided into control group (doxophylline 80 mg/kg) and trial group (doxophylline 80 mg/kg+butylphthalide 80 mg/kg) with 6 rats in each group. The rats received florence oil and butylphthalide intragastrically for 6 days, and were given doxophylline intragastrically after last administration. HPLC method was adopted to determine the plasma concentration of doxophylline in rats before medication and 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 2.5, 3, 5, 7, 9 h after medication. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (30:70, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 272 nm, and injection volume was 20 μl. Pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.1.1 pharmacokinetics software. RESULTS: The linear range of doxophylline was 0.476-76.200 mg/L ($r=0.9998$) with relative recoveries of (88.74±7.05)%-(94.38±7.19)%. The RSD of intra-day and inter-day were no more than 7.96% and 6.48%, respectively. The pharmacokinetic parameters of doxophylline in control group vs. trial group were as follows: c_{max} : (49.92±8.56) mg/L vs. (42.10±17.46) mg/L; t_{max} : (0.83±0.26) h vs. (0.50±0.00) h; $t_{1/2z}$: (1.77±0.48) h vs. (1.24±0.24) h; AUC_{0-9h} : (165.90±23.96) mg·h/L vs. (73.45±4.76) mg·h/L; CL_z : (0.12±0.02) L/(h·kg) vs. (0.27±0.02) L/(h·kg); V_z : (0.29±0.05) L/kg vs. (0.49±0.09) L/kg. There were significant difference in AUC_{0-9h} , CL_z and V_z ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Butylphthalide has no effect on the absorption of doxophylline in rats *in vivo*, but can influence the distribution process of it and strengthen its metabolism and elimination.

KEY WORDS Butylphthalide; Doxophylline; Pharmacokinetics; HPLC; Rats

多索茶碱(Doxophylline, Dox)是一种黄嘌呤类抗支气管痉挛药, 比传统的药物茶碱和氨茶碱疗效高、毒性低, 治疗气喘和慢性阻塞性肺炎效果是氨茶碱的10~15倍, 且对中枢神经系统和胃肠道无影响, 也不会影响心脏功能^[1], 在治疗支气管痉挛方面将可能成为茶碱的替代品。丁苯酞(Butylphthalide, BP)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^[2], 对缺血性神经功能损伤有显著保护作用, 可促进患者功能恢复^[3]。这两种药物在老年患者中有同时应用的情况, 但其相互作用未见报道。本研究主要观察丁苯酞对大鼠体内多索茶碱药动学的

影响, 为研究丁苯酞在人体对多索茶碱的影响提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱系统, 包括515泵、486紫外检测器、7725i进样阀、Empower Pro 工作站(美国Waters公司); GL-20G-II离心机(上海安亭科学仪器厂); GL-88B漩涡混合器(江苏海门麒麟医用仪器厂); 低温冰箱(日本三洋公司)。

1.2 药品与试剂

多索茶碱对照品(批号: 100625-200301, 纯度: 100.0%)、咖啡因对照品(批号: 171215-200608, 纯度: 100.0%)均由中国食品药品检定研究院提供; 丁苯酞胶囊(石药集团恩必普药业有限公司, 批号: 158912002, 规格: 每粒0.1 g); 多索茶碱片(黑龙江福合华星制药集团, 批号: 101129, 规格: 每片0.2 g); 甲醇为色谱纯, 异丙醇等其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

* 药师。研究方向: 药动学。电话: 0311-66002882。E-mail: 735135874@qq.com

通信作者: 副主任药师, 博士。研究方向: 药动学与临床药学。电话: 0311-66002771。E-mail: yxl20031109@sina.com

1.3 动物

健康SD大鼠12只,清洁级,♂,体质量(290±20)g,由河北医科大学实验动物中心提供,合格证编号:1004094。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(30:70, V/V),流速:1.0 ml/min;检测波长:272 nm;进样量:20 μl;柱温:30 ℃。

2.2 血浆样品预处理

取血浆样品0.2 ml,加内标溶液(30.72 μg/ml的咖啡因甲醇溶液)10 μl,混匀,再加入异丙醇-三氯甲烷(1:4)5 ml,涡旋混合10 min,4 000 r/min离心10 min,取下层液4 ml,置于离心管中,50 ℃恒温水浴中氮气吹干,残渣加100 μl流动相复溶,10 000 r/min离心5 min,取上清液20 μl进样分析。

2.3 多索茶碱对照品溶液的制备

精密称取多索茶碱对照品38.10 mg,置于25 ml棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,即得1 524 mg/L的多索茶碱对照品贮备液。精密吸取上述对照品贮备液适量,分别逐级稀释,制成762、381、152.4、76.2、38.1、19.05、4.76 mg/L的系列溶液,4 ℃贮藏,备用。

2.4 专属性考察

将空白血浆、空白血浆+多索茶碱对照品溶液、给药后1 h的血浆样品,按“2.2”项下方法处理(其中空白血浆不加内标),进样分析,记录色谱。结果表明,血浆中内源性物质不干扰多索茶碱的测定;多索茶碱和内标物的峰形良好、分离完全,保留时间分别为9.7、6.6 min,详见图1。

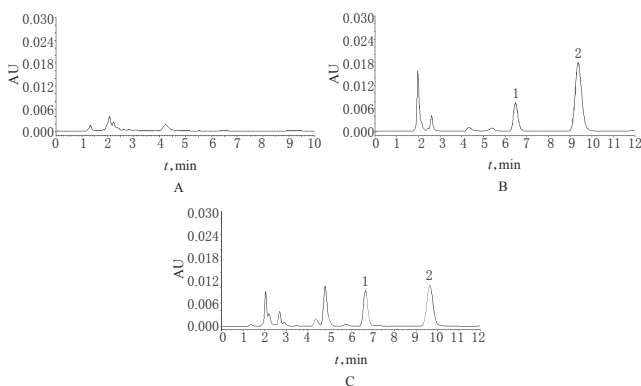


图1 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+多索茶碱+内标;C.血浆样品+内标;1.内标;2.多索茶碱

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+doxophylline+internal standard; C. plasma sample+internal standard; 1. caffeine; 2. doxophylline

2.5 标准曲线的制备

取空白血浆0.18 ml,分别加入多索茶碱对照品溶液0.02 ml,制成76.200、38.100、15.240、7.620、3.810、1.905、0.476 mg/L的系列血浆样品,按“2.2”项下方法处理,进样测定,记录色谱。以多索茶碱与内标的峰面积比(y)为纵坐标、多索茶碱质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=0.302c+0.182(r=0.9998)$ 。表明多索茶碱检测质量浓度的线性范围为0.476~76.200 mg/L。

2.6 回收率试验

取空白血浆,按“2.5”项下方法配制低、中、高质量浓度(0.95、7.62、50.8 mg/L)的质控样品,各5个样品同法测定,随行标准曲线。每个样品测定1次,用标准曲线计算样品质量浓度,并以加入量与测得量之比计算相对回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

加入量,mg/L	测得量,mg/L	相对回收率,%	RSD,%
0.95	0.843±0.097	88.74±7.05	7.93
7.62	7.032±0.441	92.28±5.79	5.98
50.80	47.940±3.650	94.38±7.19	6.77

2.7 精密度试验

取空白血浆,按“2.5”项下方法配制低、中、高质量浓度(0.95、7.62、50.8 mg/L)的血浆样品,于同日内不同时间进样分析5次;另同法每日测定1次,连续测定5 d。计算日内、日间RSD,结果见表2。

表2 精密度试验结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

理论值,mg/L	日内		日间	
	测得值,mg/L	RSD,%	测得值,mg/L	RSD,%
0.95	0.822±0.098	7.96	0.837±0.071	6.48
7.62	6.909±0.432	5.73	7.145±0.164	4.44
50.80	48.061±5.063	6.69	46.860±2.780	5.30

2.8 稳定性试验

配制低、中、高质量浓度(0.95、7.62、50.8 mg/L)的血浆样品,根据实际工作需要,分别在室温(放置8 h)、冰冻(-20 ℃保存7 d)、反复冻融(冷冻-融解循环3次)条件下保存后,按“2.2”项下方法处理,考察多索茶碱血浆样品的稳定性。结果表明,低、中、高质量浓度的血浆样品在室温放置8 h(RSD为3.85%、1.60%、1.23%),-20 ℃保存7 d(RSD为2.74%、2.28%、1.36%),及经3个冷冻-融解循环(RSD为3.69%、1.01%、2.72%)处理后稳定性良好。

2.9 药理学实验

取12只大鼠,随机分为对照组(多索茶碱单用组)和实验组(多索茶碱和丁苯酞联用组)。实验组连续5 d灌胃给予丁苯酞80 mg/(kg·d)(丁苯酞以橄榄油溶解,质量浓度为20 mg/ml,按人常规剂量的8倍计算给药量),对照组连续5 d灌胃给予橄榄油(4 ml/kg)。第5天晚上禁食,第6天各鼠分别给予丁苯酞或橄榄油后,分别于给药前及末次给药后0.083、0.25、0.5、1、2、2.5、3、5、7、9 h由眼底静脉丛取血0.6 ml,置于肝素化的离心管中,混匀,4 800 r/min离心10 min,分离血浆,-20 ℃冷冻保存,处理后进样测定。药-时数据采用DAS2.1.1药理学软件处理,选用统计矩法计算药理学参数, t_{max} 采用配对Wilcoxon法检验,其他药理学参数经对数转换后进行双单侧 t 检验。两组大鼠体内多索茶碱的药-时曲线见图2,药理学参数比较见表3。

由表3结果表明,与对照组比较,实验组大鼠体内多索茶碱的AUC_{0-9 h}和AUC_{0-∞}分别降低了55.76%和57.31%($P<0.05$),CL_r和V_d分别增加了64.96%和126.67%($P<0.05$), t_{max} 与 c_{max} 未见明显变化。

3 讨论

本研究所采用的取血点,是经参考文献^[4-7],并进行预试验而确定的。多索茶碱为甲基黄嘌呤的衍生物,其在肝脏微粒体中转化成茶碱和7-茶碱乙酸2-羟基乙酯两种代谢产物,这两

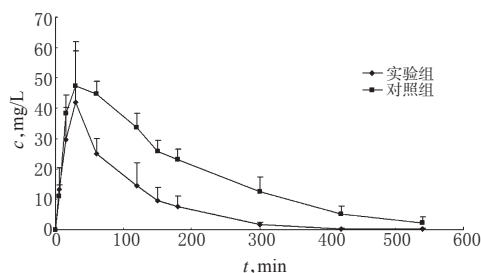


图2 两组大鼠体内多索茶碱的药-时曲线

Fig 2 Plasma concentration-time curves of doxophylline in rats of 2 groups *in vivo*

表3 两组大鼠体内多索茶碱的药动学参数比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Comparison of pharmacokinetic parameters of doxophylline of rats in 2 groups *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=6$)

药动学参数	对照组	实验组
AUC _{0-9h} , mg·h/L	165.90 ± 23.96	73.45 ± 4.76*
AUC _{0-∞} , mg·h/L	173.06 ± 29.82	73.88 ± 4.76*
MRT _{0-9h} , h	2.57 ± 0.29	1.66 ± 0.27*
MRT _{0-∞} , h	2.91 ± 0.51	1.71 ± 0.25*
t _{1/2} , h	1.77 ± 0.48	1.24 ± 0.24
t _{max} , h	0.83 ± 0.26	0.50 ± 0.00
CL _z , L/(h·kg)	0.12 ± 0.02	0.27 ± 0.02*
V _z , L/kg	0.29 ± 0.05	0.49 ± 0.09*
c _{max} , mg/L	49.92 ± 8.56	42.10 ± 17.46

与对照组比较: *P<0.05

vs. control group: *P<0.05

种代谢产物继续代谢成尿酸的衍生物从尿中排泄,这种代谢与肝微粒体中的细胞色素 P₄₅₀ 代谢酶密切相关^[4]。文献报道^[4-6,8], 环丙沙星在大鼠体内抑制多索茶碱的代谢和排泄,左氧氟沙星增大多索茶碱的 t_{1/2} 和 V_d, 甲磺酸帕珠沙星能延缓多索茶碱在兔体内的消除,西尼地平可干扰多索茶碱在小肠部位的吸收,巴比妥类、大环内酯类药物对多索茶碱的代谢影响不明显。

丁苯酞在体内主要代谢途径为侧链羟基化,该药物对肝药酶的影响未见报道,但其在大鼠体内可使硝苯地平吸收减

少、消除加快^[9]。在本实验中,与多索茶碱单用的对照组比较,实验组联用了丁苯酞后多索茶碱的 t_{max} 及 c_{max} 未见明显变化, AUC_{0-9h} 和 AUC_{0-∞} 显著降低(P<0.05), CL_z 和 V_z 显著增加(P<0.05)。表明丁苯酞对多索茶碱的吸收没有明显影响,但影响了其体内分布过程,使 V_z 增大,加快了多索茶碱的代谢和清除,使 CL_z 增加、MRT 缩短。实验结果证明,丁苯酞在 80 mg/kg 剂量下有可能加快多索茶碱在大鼠体内的转化和清除,这可能是由于丁苯酞对细胞色素 P₄₅₀ 代谢酶有诱导作用,但目前尚未见相关报道。而关于丁苯酞对人体内多索茶碱药动学的影响,还需进一步研究。

参考文献

- [1] 王淑梅,张志清,杨秀岭,等.RP-HPLC法测定人血清中多索茶碱的浓度[J].中国药房,2011,22(34):3209.
- [2] 舒勤奋,刘小利,姜寿峰,等.丁苯酞增强缺血耐受的实验研究[J].中国医院药学杂志,2008,28(15):1274.
- [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):1498.
- [4] 李朵璐,阚全程,刘玲.左氧氟沙星对多索茶碱在健康人体内药动学的影响[J].中国新药与临床杂志,2008,27(9):680.
- [5] 李峰,阚全程,聂会娟.稳态时甲磺酸帕珠沙星对兔体内多索茶碱药动力学的的影响[J].郑州大学学报:医学版,2010,45(2):222.
- [6] 冯瑞华,李志强,苑振亭.西尼地平对多索茶碱在大鼠在体肠吸收的影响[J].中国药师,2007,10(11):1058.
- [7] 李朵璐,阚全程.大鼠体内左氧氟沙星对多索茶碱药代动力学的影响[J].中国药业,2004,13(1):42.
- [8] 张象麟.药物临床信息参考[M].1版.成都:四川科学技术出版社,2007:689.
- [9] 杨秀岭,张志清,郭利,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):1954.

(收稿日期:2012-08-27 修回日期:2013-01-14)

国家卫生和计划生育委员会规范连续肾脏替代治疗技术管理工作

本刊讯 近年来,连续肾脏替代治疗技术(以下简称CRRT技术)在全世界范围内得到快速发展,在治疗急、慢性肾功能衰竭和抢救急危重症患者生命等方面发挥了重要作用。在我国,这项技术在医疗机构内得到广泛应用,尤其是在重症医学科、肾内科等相关专业,应用更为广泛。

鉴于CRRT技术对于设备、设施条件和技术应用能力要求较高,且价格较为昂贵。为进一步规范该技术临床应用行为,保障医疗质量和医疗安全,使之更好地为人民群众健康服务,我委制定下发了《关于加强连续肾脏替代治疗技术临床应用管理工作的通知》(简称《通知》)。

《通知》主要从以下几个方面对行政部门和医疗机构加强CRRT技术临床应用管理提出了要求:一是要求开展CRRT技术的医疗机构应当与其功能、任务相适应,配备相应的医师、

护士和相关卫生专业技术人员,设备、设施等条件符合开展CRRT技术相关要求;二是要求医疗机构严格遵守相关技术规范 and 临床诊疗指南,根据患者病情、可选择的治疗方案、患者经济承受能力等因素综合判断治疗措施,因病施治,合理治疗,严格掌握技术适应证;三是要求医疗机构建立CRRT技术器材药品登记制度,保证器材药品来源可追溯,不得违反《药品管理法》或违规使用与CRRT技术无关的诊疗器材和药品,要求开展CRRT技术使用的设备、耗材及血液滤过置换液,应当有食品药品监督管理部门批准文号;四是要求地方各级卫生(卫生计生)行政部门定期对本辖区开展CRRT技术的医疗机构进行技术临床应用能力评价,包括病例选择、技术生存率、病人生存率及生存质量、相关感染发生率、医疗事故发生情况等,保障医疗质量和医疗安全。