

青连宁心胶囊在缺血性心律失常模型大鼠体内的药效学与药动学研究[△]

李彦^{1*}, 孙洪胜^{2#}, 李玥², 史宝燕¹, 张学顺²(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250300; 2. 山东中医药大学附属医院药学部, 济南 250011)

中图分类号 R541.7; R972²; R969.1

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2022)06-0699-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.06.09



摘要 目的 研究青连宁心胶囊在缺血性心律失常大鼠体内的药效学与药动学。方法 将30只雄性SD大鼠随机分为空白对照组、模型对照组、青连宁心胶囊组(4.00 g/kg)、青蒿组(1.43 g/kg)和黄连组(0.42 g/kg),每组6只。各药物组大鼠分别连续灌胃相应药液,模型对照组和空白对照组大鼠灌胃生理盐水,每天1次,连续7 d。末次给药后,除空白对照组外的其余各组大鼠均尾静脉注射垂体后叶注射液(1单位/kg)制备缺血性心律失常模型,记录各组大鼠的心电图变化情况。另取36只大鼠随机分为青连宁心胶囊模型组和青连宁心胶囊对照组(4.00 g/kg)、青蒿模型组和青蒿对照组(1.43 g/kg)、黄连模型组和黄连对照组(0.42 g/kg),各模型组大鼠尾静脉注射垂体后叶注射液(1单位/kg)造模后,各药物组大鼠再单次灌胃相应药液,各对照组大鼠灌胃等体积生理盐水。在不同时间点(0、0.25、0.75、1、2、4、6、8、12、24 h)于眼眶取血,利用高效液相色谱法测定血浆中盐酸小檗碱与青蒿素的浓度,通过WinNonlin 7.0软件计算药动学参数。结果 与模型对照组比较,青连宁心胶囊可显著改善模型大鼠的心率减慢,并显著减少其PR间期、QT间期延长,且效果普遍优于青蒿组和黄连组($P < 0.05$)。与青蒿对照组和黄连对照组比较,青连宁心胶囊对照组大鼠体内盐酸小檗碱和青蒿素的 c_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 均显著升高,CL均显著降低,青蒿素的 $t_{1/2}$ 显著延长($P < 0.05$);与青连宁心胶囊对照组比较,青连宁心胶囊模型组大鼠体内盐酸小檗碱和青蒿素的 c_{max} (青蒿素除外)、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 MRT_{0-t} 、 $MRT_{0-\infty}$ (青蒿素除外)均显著升高,CL均显著降低($P < 0.05$)。结论 青连宁心胶囊对大鼠缺血性心律失常的改善作用优于青蒿、黄连单药,且能提高模型大鼠体内盐酸小檗碱和青蒿素的吸收,减慢二者的消除。

关键词 青连宁心胶囊; 青蒿; 黄连; 缺血性心律失常; 药效学; 药动学

Study on pharmacodynamics and pharmacokinetics of Qinglian ningxin capsule in ischemic arrhythmia model rats

LI Yan¹, SUN Hongsheng², LI Yue², SHI Baoyan¹, ZHANG Xueshun² (1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250300, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the pharmacodynamics and pharmacokinetics of Qinglian ningxin capsule in rats with ischemic arrhythmia. **METHODS** Totally 30 male SD rats were randomly divided into blank control group, model control group, Qinglian ningxin capsule group (4.00 g/kg), *Artemisia annua* group (1.43 g/kg), *Coptis chinensis* group (0.42 g/kg), with 6 rats in each group. Administration groups were given relevant medicine intragastrically; model control group and blank control group were given normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 7 days. After last medication, except for blank control group, other groups were given Posterior pituitary injection via tail vein (1 u/kg) to induce ischemic arrhythmia model. electrocardiogram changes of rats in each group were recorded. Another 36 rats were randomly divided into Qinglian ningxin capsule model group and Qinglian ningxin capsule control group (4.00 g/kg), *A. annua* model group and *A. annua* control group (1.43 g/kg), *C. chinensis* model group and *C. chinensis* control group (0.42 g/kg). After the rats in each model group were injected with Posterior pituitary injection (1 u/kg) via tail vein, administration groups were given relevant drugs intragastrically, and control groups were given constant volume of normal saline intragastrically. Blood was taken from the orbit at different time points (0, 0.25, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 h). The concentrations of berberine hydrochloride and artemisinin in plasma were determined by HPLC, and the pharmacokinetic parameters were calculated by WinNonlin 7.0 software. **RESULTS** Compared with the model control groups, Qinglian ningxin capsule could significantly improve the heart rate slowing of rats and reduced the

[△] 基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(No.ZR2020MH378); 山东省中医药科技发展计划项目(No.2019-0077)

* 硕士研究生。研究方向: 中药新剂型、实验方剂学。E-mail: 820687781@qq.com

通信作者: 主任药师, 硕士生导师, 硕士。研究方向: 中药新剂型、中药临床药理学。电话: 0531-6866616。E-mail: shs7777@163.com

prolongation of PR interval and QT interval significantly, and the effects were generally better than those of *A. annua* group and *C. chinensis* group ($P < 0.05$). Compared with *A. annua* control group and *C. chinensis* control group, c_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ of berberine hydrochloride and artemisinin were increased significantly in Qinglian ningxin capsule control

group, while CL was decreased significantly; $t_{1/2\alpha}$ of artemisinin was prolonged significantly ($P<0.05$). Compared with Qinglian ningxin capsule control group, c_{\max} (except artemisinin), AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, MRT_{0-t} and $MRT_{0-\infty}$ (except artemisinin) of berberine hydrochloride and artemisinin were increased significantly in Qinglian ningxin capsule model group, while CL was decreased significantly ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Qinglian ningxin capsule could significantly improve ischemic arrhythmia better than *A. annua* and *C. chinensis*, and can improve the absorption of berberine hydrochloride and artemisinin in model rats and slow down their elimination.

KEYWORDS Qinglian ningxin capsule; *Artemisia annua*; *Coptis chinensis*; ischemic arrhythmia; pharmacodynamics; pharmacokinetics

心律失常是一种常见的心血管疾病。近年来,我国心血管病患病率与病死率均呈上升趋势^[1]。心血管病是我国城市与农村人群死亡的主要原因之一,占比分别高达43.81%和46.66%^[2]。心肌缺血是一种发病率高且难以治疗的非传染性心血管疾病,多由血液供应不足所致,严重时易引发缺血性心律失常,导致患者心源性猝死,临床多用活血化瘀、清火散热类中药治疗^[3-4]。黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *C. teeta* Wall. 的干燥根茎,具有清热燥湿、泻火解毒的功效^[5]。小檗碱是黄连主要活性成分之一,具有较强的抗心肌缺血功效,可有效改善由多种病因引起的心律失常^[6-9]。青蒿是菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L. 的干燥地上部分,具有清虚热、除骨蒸等功效^[10],其主要活性成分青蒿素是公认的抗疟疾药。近年研究发现,青蒿素除了抗疟疾外,还具备调节心律失常的功效^[11-12]。

国内知名中医心血管专家丁书文教授根据多年临床经验,以“清热解毒、活血化痰”为原则治疗心系疾病^[13]。痰火扰心以致心神不宁是心系疾病的重要病机,黄连善于清心火以止烦,青蒿善于清湿消痰,黄连与青蒿配伍具有显著的清热化痰之功^[14]。在此基础上,丁书文教授研制出复方青山健心片,方中君药为青蒿、黄连。临床实践表明,该药在治疗早搏、房颤方面具有良好的疗效^[15-17]。青连宁心胶囊是在复方青山健心片的基础上,通过处方优化与剂量筛选,将核心药物青蒿与黄连以质量比10:3配伍而成的院内制剂,前期已完成提取工艺与质量标准研究^[18-19]。本研究拟对青连宁心胶囊的药效学及其主要活性成分的药动学进行分析,旨在初步揭示该胶囊的药理活性及方中主要活性成分的体内过程,为指导新药设计、提高药物疗效与安全性提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括ECGenie型清醒动物无创心电图分析系统(美国Mouse Specifics公司)、1260型高效液相色谱仪及配备的二极管阵列检测器(美国Agilent公司)、5424R型台式冷冻离心机(德国Eppendorf公司)、EX225ZH/AD型十万分之一电子天平[奥豪斯仪器

(上海)有限公司]、LWB-24型电热恒温水浴锅(上海龙跃仪器设备有限公司)、Vortex-Genie2型涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司)等。

1.2 主要药品与试剂

青连宁心胶囊[批号20200723,规格0.3 g/粒(每0.40 g青连宁心胶囊中含有142.60 mg青蒿生药、42.40 mg黄连生药)]由山东中医药大学附属医院药剂实验室提供;黄连饮片(批号20210421)和青蒿饮片(批号210701)均由山东中医药大学附属医院提供,经该院孙洪胜教授鉴定,分别为毛茛科植物黄连 *C. chinensis* Franch. 的干燥根茎和菊科植物黄花蒿 *A. annua* L. 的干燥地上部分;青蒿素对照品、盐酸小檗碱对照品(批号分别为 MUST-20092118、MUST-21073007,纯度分别为96.02%、98.96%)均购自成都曼斯特生物科技有限公司;肝素钠(批号125P028)购自北京索莱宝科技有限公司;垂体后叶注射液(批号201012,规格1 mL:6单位)购自安徽宏业药业有限公司;水合氯醛(批号20210117)购自西安天茂化工有限公司;乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)均购自美国Sigma公司;磷酸二氢钾(分析纯)、磷酸(分析纯)均购自国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为分析纯或者实验室常用规格,水为纯净水。

1.3 实验动物

SPF级SD大鼠66只,雄性,6~7周龄,体质量(200±10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号为SCXK(京)2016-0011。所有大鼠均饲养于山东中医药大学动物实验中心。

2 方法与结果

2.1 灌胃药液的制备

取青连宁心胶囊,称取内容物4.00 g,研磨至粉末状,分次加水溶解完全,配制成质量浓度为0.40 g/mL的青连宁心胶囊溶液。

按青连宁心胶囊中青蒿-黄连质量比10:3分别称取青蒿饮片37.00 g、黄连饮片11.00 g,分别加入11.5倍量60%乙醇、10.5倍量的70%乙醇,煮沸30 min,过滤,再加入原药材3倍量水,煮沸30 min,过滤;合并滤液,取上清液,加生理盐水定容至25 mL,摇匀后用0.22 μm微孔滤膜滤过,滤液于60℃下真空干燥,得干浸膏,加生理

盐水复溶得质量浓度为142.60 mg/mL(以生药量计)的青蒿提取液和质量浓度为42.40 mg/mL(以生药量计)的黄连提取液。

2.2 缺血性心律失常模型的建立

大鼠尾静脉注射垂体后叶注射液1单位/kg(以生理盐水为溶剂),使用清醒动物无创心电图分析系统和LabChart 6软件检测其心电图,若大鼠出现心率减慢,S-T段水平升高0.1 mV或下降0.5 mV,T波双向、倒置以及心律不齐,PR间期与QT间期延长等以上情况之一,提示缺血性心律失常模型复制成功^[20]。

2.3 药效学研究

大鼠适应性喂养7 d后,随机分为青连宁心胶囊组(4.00 g/kg)、青蒿组(1.43 g/kg)、黄连组(0.42 g/kg)、模型对照组与空白对照组,每组6只。各药物组剂量按照临床常用剂量换算^[21]。模型对照组和空白对照组灌胃生理盐水,其余各组灌胃相应药液,每天给药1次,连续7 d,给药体积均为10 mL/kg。末次灌胃1 h后,检测大鼠心电图,空白对照组尾静脉注射生理盐水,其余各组大鼠按“2.2”项下方法复制缺血性心律失常模型后,同法检测其心电图,并使用e-MOUSE ECG Analysis软件分析大鼠造模后0.5、1、5、10、15、20、30 min的心率减慢值(心率减慢值=正常心率-尾静脉注射后心率)、PR间期延长值(PR间期延长值=尾静脉注射后PR间期-正常PR间期)与QT间期延长值(QT间期延长值=尾静脉注射后QT间期-正常QT间期)。实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表

示,利用SPSS 26.0软件对数据进行单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果显示,与空白对照组比较,模型对照组大鼠造模后出现了明显的心率减慢、PR间期和QT间期延长;给予青连宁心胶囊后,各药物组大鼠的上述异常均显著改善($P<0.05$)。在缓解心率减慢方面,青连宁心胶囊在造模后0.5、1、10、15 min的效果均显著优于黄连组和青蒿组,在造模后5、20、30 min的效果均显著优于黄连组($P<0.05$);在减少PR间期延长方面,青连宁心胶囊在造模后5、10、15、30 min的效果均显著优于黄连组和青蒿组,在造模后0.5、20 min的效果均显著优于黄连组,在造模后1 min的效果显著优于青蒿组($P<0.05$);在减少QT间期延长方面,青连宁心胶囊在各时间点的效果均显著优于青蒿组和黄连组($P<0.05$)。结果见表1~表3。

2.4 药动学研究

2.4.1 色谱条件 以YMC-Triart C₁₈(150 mm×2.1 mm, 3 μm)为色谱柱,以乙腈(A)-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节pH为3.4,B)为流动相进行梯度洗脱(0~5.0 min,65% B→55% B;5.0~12.5 min,55% B→40% B;12.5~15.0 min,40% B→30% B;15.0~20.0 min,30% B);流速为0.4 mL/min;检测波长为201 nm(青蒿素)、345 nm(盐酸小檗碱);柱温为30 ℃;进样量为10 μL。

2.4.2 对照品溶液的配制 精密称取盐酸小檗碱对照品8.08 mg、青蒿素对照品3.20 mg,用甲醇稀释并定容至25 mL,得含盐酸小檗碱323.20 μg/mL、青蒿素128.00

表1 青连宁心胶囊及其单味药对缺血性心律失常模型大鼠心率减慢值的影响($\bar{x} \pm s, n=6$,次/min)

组别	0.5 min	1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
空白对照组	17.6±6.84	34.5±12.23	41.5±11.93	51.5±14.06	33.80±13.92	23.60±13.535	44.20±11.56
模型对照组	301.50±90.22 ^a	259.86±24.46 ^a	281.17±77.62 ^a	262.67±28.65 ^a	190.17±31.16 ^a	77.33±15.46 ^a	169.87±46.23 ^a
青连宁心胶囊组	69.40±2.41 ^{bcd}	74.20±22.02 ^{bcd}	155.50±24.22 ^{bcd}	43.67±27.36 ^{bcd}	35.50±17.65 ^{bcd}	46.17±15.85 ^{bcd}	61.60±33.84 ^{bcd}
青蒿组	159.80±27.70	201.80±58.28	216.50±39.64	149.00±36.06	149.25±39.91	61.20±29.75	62.67±23.65
黄连组	83.20±2.86	332.50±72.86	312.00±71.63	192.00±18.65	130.20±56.90	130.33±27.13	121.40±10.99

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型对照组比较, $P<0.05$;c:与青蒿组比较, $P<0.05$;d:与黄连组比较, $P<0.05$

表2 青连宁心胶囊及其单味药对缺血性心律失常模型大鼠PR间期延长值的影响($\bar{x} \pm s, n=6$,ms)

组别	0.5 min	1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
空白对照组	2.18±0.51	6.23±1.11	1.08±0.72	0.76±0.34	-1.54±0.10	4.14±1.09	1.54±0.41
模型对照组	29.36±7.17 ^a	30.27±5.99 ^a	24.79±4.49 ^a	21.93±3.39 ^a	12.53±2.79 ^a	9.10±0.93 ^a	2.95±0.36 ^a
青连宁心胶囊组	7.25±1.13 ^{bcd}	16.58±6.13 ^{bc}	9.68±1.85 ^{bcd}	3.70±1.06 ^{bcd}	-1.65±0.62 ^{bcd}	3.37±0.74 ^{bcd}	1.33±0.27 ^{bcd}
青蒿组	5.80±1.39	28.00±6.93	16.24±4.16	7.65±3.04	13.30±3.10	4.56±1.12	3.32±0.59
黄连组	20.49±3.86	23.20±6.98	18.98±3.54	9.57±4.20	12.50±4.91	5.30±2.43	2.98±0.34

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型对照组比较, $P<0.05$;c:与青蒿组比较, $P<0.05$;d:与黄连组比较, $P<0.05$

表3 青连宁心胶囊及其单味药对缺血性心律失常模型大鼠QT间期延长值的影响($\bar{x} \pm s, n=6$,ms)

组别	0.5 min	1 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
空白对照组	2.42±0.27	7.02±0.81	6.22±1.38	9.80±3.13	13.24±1.78	14.40±1.80	2.48±0.13
模型对照组	80.77±5.23 ^a	54.57±6.23 ^a	51.86±4.11 ^a	42.78±4.96 ^a	33.88±4.51 ^a	35.37±4.50 ^a	20.61±1.65 ^a
青连宁心胶囊组	10.46±0.63 ^{bcd}	34.93±2.77 ^{bcd}	37.38±5.80 ^{bcd}	22.50±1.60 ^{bcd}	9.10±1.60 ^{bcd}	8.08±1.37 ^{bcd}	6.34±0.30 ^{bcd}
青蒿组	20.85±3.02	53.02±7.52	48.98±6.00	35.98±4.23	25.42±1.54	20.30±3.00	24.96±3.71
黄连组	26.80±3.16	51.57±6.42	47.32±4.78	39.10±4.72	23.95±3.00	27.22±4.76	17.63±2.03

a:与空白对照组比较, $P<0.05$;b:与模型对照组比较, $P<0.05$;c:与青蒿组比较, $P<0.05$;d:与黄连组比较, $P<0.05$

μg/mL的混合母液。取上述混合母液适量,用甲醇稀释,得盐酸小檗碱质量浓度分别为3 232、1 616、1 010、606、202、101、50.50、25.25 ng/mL,青蒿素质量浓度分别为1 280、640、400、240、80、40、20、10 ng/mL的系列混合对照品溶液。

2.4.3 血浆样品预处理 取血浆样品100 μL,置于2 mL的EP管中,加入乙腈400 μL,涡旋1 min并静置15 min后,于4 ℃下以12 000 r/min离心15 min,取上清液,空气吹干,残渣用甲醇200 μL复溶,于4 ℃下以10 000 r/min离心10 min,取上清液10 μL进样。

2.4.4 专属性考察 分别取大鼠空白血浆、空白血浆+混合对照品溶液(盐酸小檗碱606 ng/mL、青蒿素80 ng/mL)、灌胃青连宁心胶囊后0.75 h的血浆样品,按照“2.4.3”项下方法进行预处理,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图1)。结果显示,盐酸小檗碱的出峰时间约为6.8 min,青蒿素的出峰时间约为17.8 min,二者峰形对称,与相邻峰的分度度分别为28.96、4.46,内源性物质对其测定无干扰。

2.4.5 线性关系与定量下限考察 取“2.4.2”项下不同质量浓度的系列混合对照品溶液各100 μL,分别加入空白血浆100 μL,配制成盐酸小檗碱质量浓度分别为12.63、25.25、50.50、101、303、505、808、1 616 ng/mL,青蒿素质量浓度分别为5、10、20、40、120、200、320、640 ng/mL

的血浆样品,按照“2.4.3”项下方法进行预处理,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分的质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得盐酸小檗碱的回归方程为 $y=0.977 3x+1.289 3$ ($r=0.999 3$)、青蒿素的回归方程为 $y=0.707 0x+0.366 7$ ($r=0.999 6$),二者检测质量浓度的线性范围分别为12.63~1 616、5~640 ng/mL,定量下限分别为12.63、5 ng/mL。

2.4.6 精密性与准确度考察 按“2.4.5”项下方法配制盐酸小檗碱、青蒿素定量下限和低、中、高质量浓度(盐酸小檗碱12.63、25.25、303、1 212 ng/mL,青蒿素5、10、120、480 ng/mL)的质控样品,每个质量浓度平行6份,按照“2.4.3”项下方法进行预处理,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,计算批内精密度和批内准确度(分别以RSD、RE表示,下同);连续测定3 d,计算批间精密度和批间准确度(表4)。结果显示,盐酸小檗碱的批内、批间RSD均不超过6.50%,RE均在±10.00%内;青蒿素的批内、批间RSD均不超过8.00%,RE均在±8.00%内,符合2020年版《中国药典》(四部)的要求^[22]。

2.4.7 提取回收率试验 按照“2.4.5”项下方法配制盐酸小檗碱质量浓度分别为25.25、303、1 212 ng/mL,青蒿素质量浓度分别为10、120、480 ng/mL的血浆样品,每个质量浓度平行6份,按照“2.4.3”项下方法进行预处理,按

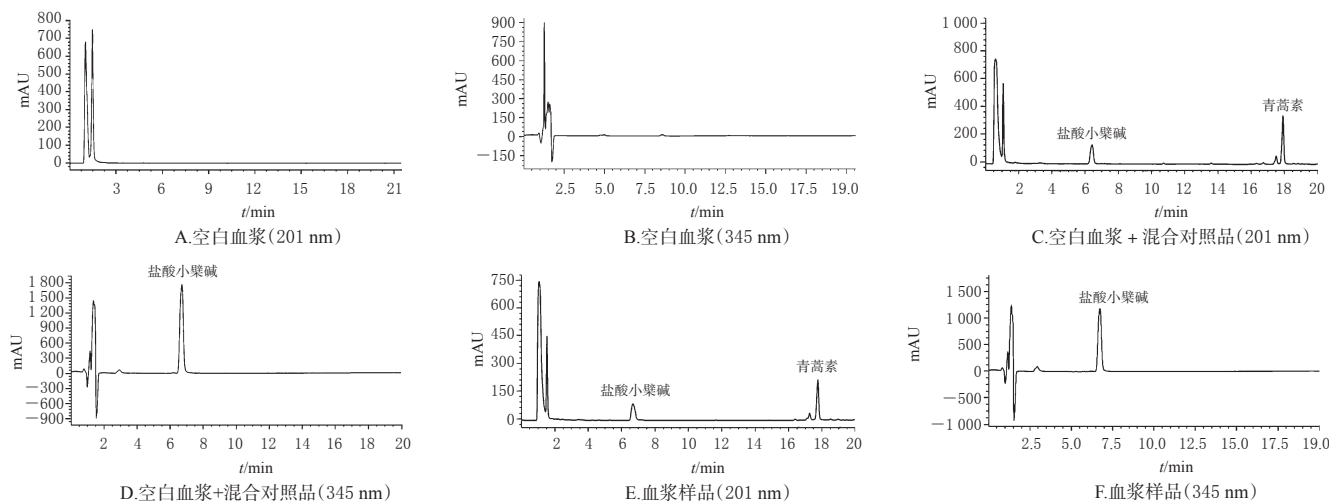


图1 青蒿素和盐酸小檗碱定量分析的高效液相色谱图

表4 盐酸小檗碱和青蒿素的精密性与准确度试验结果

待测成分	理论质量浓度/(ng/mL)	批内试验(n=6)			批间试验(n=3)			提取回收率	
		实测质量浓度($\bar{x} \pm s$)/(ng/mL)	RSD/%	RE/%	实测质量浓度($\bar{x} \pm s$)/(ng/mL)	RSD/%	RE/%	回收率($\bar{x} \pm s$)/%	RSD/%
盐酸小檗碱	12.63	13.79 ± 0.89	6.45	9.18	13.55 ± 0.84	6.20	7.28		
	25.25	26.00 ± 1.02	3.92	2.97	25.69 ± 1.58	6.15	1.74	93.58 ± 2.95	3.15
	303	295.33 ± 6.20	2.10	-2.53	292.46 ± 8.21	2.81	-3.48	88.56 ± 5.76	6.50
	1 212	1 243.54 ± 28.10	2.26	2.60	1 233.86 ± 22.87	1.85	1.80	94.38 ± 5.46	5.79
青蒿素	5	4.68 ± 0.29	6.20	-6.40	4.89 ± 0.38	7.77	-2.20		
	10	10.52 ± 0.79	7.51	5.20	10.71 ± 0.75	7.00	7.10	87.74 ± 3.12	3.56
	120	115.86 ± 3.94	3.40	-3.45	117.58 ± 5.71	4.86	-2.02	91.92 ± 3.66	3.98
	480	470.49 ± 17.08	3.63	-1.98	473.09 ± 23.89	5.05	-1.44	88.31 ± 2.62	2.97

照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积(A_1)。另取空白血浆,按照“2.4.3”项下“取血浆样品 100 μL ……空气吹干”方法处理,加入混合对照品溶液(盐酸小檗碱 12.63、151.10、606 ng/mL ,青蒿素 5、60、240 ng/mL),配制成与前者最终质量浓度对应的血浆样品,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积(A_2)。计算提取回收率:提取回收率($\%$)= $A_1/A_2 \times 100\%$,结果见表4。

2.4.8 稳定性试验 按照“2.4.5”项下方法配制盐酸小檗碱质量浓度分别为 25.25、303、1 212 ng/mL ,青蒿素质量浓度分别为 10、120、480 ng/mL 的血浆样品,每个质量浓度平行 6 份,按照“2.4.3”项下方法进行预处理,在室温下放置 24 h、反复冻融($-20\text{ }^\circ\text{C}$ ~室温)3 次后,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,在上述条件下,各血浆样品中盐酸小檗碱峰面积的 RSD 均小于 4.00% ($n=6$),青蒿素峰面积的 RSD 均小于 6.00% ($n=6$)。

2.4.9 药动学实验 取 36 只大鼠随机分为青连宁心胶囊模型组、青连宁心胶囊对照组(均给予青连宁心胶囊, 4.00 g/kg),青蒿模型组、青蒿对照组(均给予青蒿提取液, 1.43 g/kg),黄连模型组、黄连对照组(均给予黄连提取液, 0.42 g/kg),每组 6 只。实验前,所有大鼠均禁食不禁水 12 h,各模型组与对照组大鼠分别尾静脉注射垂体后叶注射液(1 单位/ kg)与生理盐水;造模成功后,各药物组大鼠单次灌胃相应药液(10 mL/kg),各对照组大鼠单次灌胃等体积生理盐水。腹腔注射 10% 水合氯醛(3 mL/kg)麻醉,在不同时间点(0、0.25、0.75、1、2、4、6、8、12、24 h)于眼眶取血 400 μL ,放置于含有肝素钠的 EP 管中,以 4 000 r/min 离心 8 min ,分离血浆,于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存。按照“2.4.3”项下方法对血浆样品进行预处理,按照“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并代入回归方程计算盐酸小檗碱、青蒿素的血药浓度,运用 Excel 软件绘制药-时曲线(图 2)。运用 WinNonlin 7.0 软件,采用非房室模型计算药动学参数(表 5、表 6),数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用 SPSS 26.0 软件对各参数进行分析,除 t_{max} 采用两独立样本秩和检验进行组间比较外,其余参数均采用单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

表 5 结果显示,与黄连对照组比较,青连宁心胶囊对照组大鼠体内盐酸小檗碱的 c_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 均显著升高,CL 显著降低($P<0.05$);与黄连模型组和青连宁心胶囊对照组比较,青连宁心胶囊模型组大鼠体内盐酸小檗碱的 c_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 、 MRT_{0-t} 、 $\text{MRT}_{0-\infty}$ 均显著升高,CL 显著降低($P<0.05$)。表 6 结果显示,与青蒿对照组比较,青连宁心胶囊对照组大鼠体内青蒿素的 $t_{1/2}$ 显著延长, c_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 均显著升高,CL 显著降低($P<0.05$);与青蒿模型组和青连宁心胶囊对照组比较,

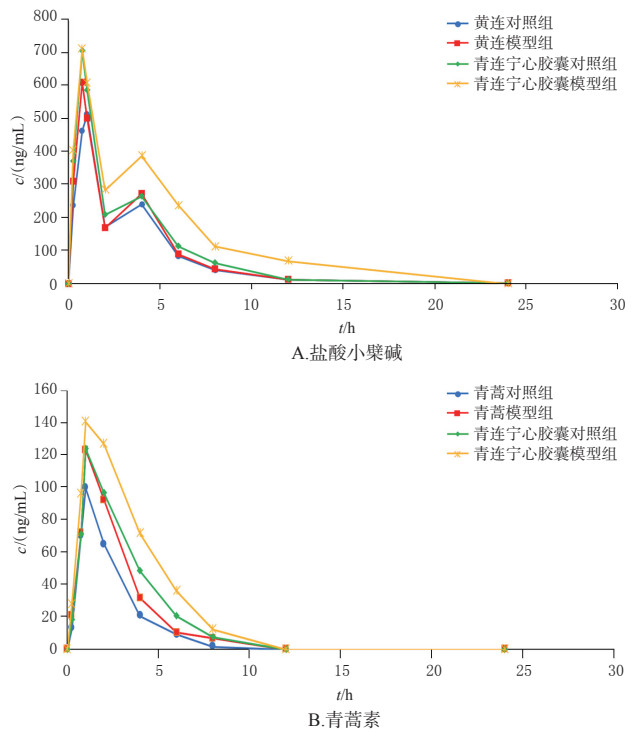


图 2 青连宁心胶囊及其单味药在缺血性心律失常模型大鼠和正常大鼠体内的药-时曲线

表 5 青连宁心胶囊及黄连中盐酸小檗碱在缺血性心律失常模型大鼠和正常大鼠体内的药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	黄连对照组	黄连模型组	青连宁心胶囊对照组	青连宁心胶囊模型组
$t_{1/2}/\text{h}$	4.00 \pm 0.64	3.96 \pm 0.67	4.44 \pm 1.16	4.71 \pm 0.40
t_{max}/h	0.93 \pm 0.12	0.81 \pm 0.12	0.81 \pm 0.12	0.80 \pm 0.11
$c_{\text{max}}/(\mu\text{g/L})$	530.25 \pm 41.01	611.00 \pm 36.62	729.25 \pm 28.43 ^a	792.60 \pm 22.22 ^{bc}
$\text{AUC}_{0-t}/(\text{h} \cdot \mu\text{g/L})$	1 785.37 \pm 151.49	1 905.09 \pm 64.89	2 166.90 \pm 186.23 ^a	3 941.92 \pm 301.69 ^{bc}
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{h} \cdot \mu\text{g/L})$	1 802.73 \pm 144.88	1 923.43 \pm 67.90	2 185.88 \pm 185.50 ^a	4 199.25 \pm 84.13 ^{bc}
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	3.79 \pm 0.25	3.74 \pm 0.11	3.68 \pm 0.31	5.41 \pm 0.28 ^{bc}
$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{h}$	4.06 \pm 0.31	3.98 \pm 0.12	3.90 \pm 0.31	6.16 \pm 0.51 ^{bc}
$\text{CL}/[\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$	17.28 \pm 1.35	16.13 \pm 0.56	14.27 \pm 1.21 ^a	7.38 \pm 0.15 ^{bc}

a: 与黄连对照组比较, $P<0.05$; b: 与黄连模型组比较, $P<0.05$; c: 与青连宁心胶囊对照组比较, $P<0.05$

表 6 青连宁心胶囊及青蒿中青蒿素在缺血性心律失常模型大鼠和正常大鼠体内的药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	青蒿对照组	青蒿模型组	青连宁心胶囊对照组	青连宁心胶囊模型组
$t_{1/2}/\text{h}$	1.16 \pm 0.31	1.57 \pm 0.10	1.50 \pm 0.12 ^a	1.68 \pm 0.22
t_{max}/h	1.33 \pm 0.58	1.25 \pm 0.50	1.25 \pm 0.50	1.50 \pm 0.55
$c_{\text{max}}/(\mu\text{g/L})$	104.45 \pm 596	126.63 \pm 21.27	132.84 \pm 8.87 ^a	137.30 \pm 18.18
$\text{AUC}_{0-t}/(\text{h} \cdot \mu\text{g/L})$	254.95 \pm 57.04	342.87 \pm 46.33	404.50 \pm 87.13 ^a	556.58 \pm 108.86 ^{bc}
$\text{AUC}_{0-\infty}/(\text{h} \cdot \mu\text{g/L})$	258.27 \pm 62.08	355.57 \pm 47.13	420.40 \pm 91.41 ^a	599.23 \pm 147.72 ^{bc}
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	2.22 \pm 0.25	2.37 \pm 0.16	2.46 \pm 0.03	2.93 \pm 0.31 ^{bc}
$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{h}$	2.33 \pm 0.36	2.65 \pm 0.16	2.75 \pm 0.06	3.32 \pm 0.44
$\text{CL}/[\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$	87.98 \pm 19.73	62.50 \pm 7.71	58.71 \pm 23.32 ^a	38.57 \pm 9.53 ^{bc}

a: 与青蒿对照组比较, $P<0.05$; b: 与青蒿模型组比较, $P<0.05$; c: 与青连宁心胶囊对照组比较, $P<0.05$

青连宁心胶囊模型组大鼠体内青蒿素的 AUC_{0-7} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 MRT_{0-7} 均显著升高,CL显著降低($P<0.05$)。

3 讨论

心律失常在中医学中属“心悸”“怔忡”范畴,中医辨证认为痰火、扰心为本病主要病因,应以宁心安神、清热化痰治疗为宜^[23-24]。青连宁心胶囊方中黄连可清热泻火,为方中君药;青蒿可清热化痰,为方中佐药;两药制成的青连宁心胶囊集清热、宁心神为一体,可共奏化湿清痰、安定心神之功。垂体后叶注射液中包含有缩宫素和垂体加压素,可强烈收缩平滑肌,引起血液供应不足,从而导致心肌缺血,大鼠尾静脉注射该制剂后,其心电图呈现出PR间期及QT间期延长的特点^[25-26]。为此,本文采用垂体后叶注射液复制大鼠缺血性心律失常模型,并分析青连宁心胶囊及其单味药在正常大鼠和模型大鼠中的药效学差异。

在心电图中,QT间期是心室心肌去极化与复极的总和,QT间期延长表示心室复极延迟,是心肌疾病的主要表现;PR间期是心室复极的重要指标,PR间期延长代表心肌梗死^[27-28]。本文药效学结果显示,正常大鼠尾静脉注射垂体后叶注射液后,出现了心率减慢、PR间期与QT间期延长的特征,表明大鼠出现心动过缓现象,缺血性心律失常模型复制成功。进一步的研究结果显示,青连宁心胶囊在缓解心率减慢、减少PR间期和QT间期延长方面的效果优于黄连、青蒿单独给药,表明青蒿与黄连配伍后增加了单味药的药效,增强了单味药抗缺血性心律失常的能力。

本文建立了同时测定青连宁心胶囊中盐酸小檗碱和青蒿素血药浓度的高效液相色谱法,并考察了青连宁心胶囊及单味药在正常大鼠和缺血性心律失常模型大鼠体内的药动学参数。在建立含量测定方法的预实验中,笔者发现采用内标法测定时,内标物(异补骨脂素)对待测成分有一定干扰,考虑到样品基质与样品前处理并不复杂,本文最终选择外标法进行测定。结果显示,在正常大鼠和缺血性心律失常模型大鼠体内,与青蒿和黄连单药比较,青连宁心胶囊中盐酸小檗碱、青蒿素的体内吸收均显著提高,清除均减慢,其药效增强。此外,本研究结果还显示,盐酸小檗碱的 $t_{1/2}$ 曲线呈现“双峰”,提示该成分在大鼠体内存在二次吸收的情况,这与其他文献结果相同^[29-31]。中药的吸收是一个复杂的过程,非典型药物吸收曲线与许多因素有关,如体内的肝肠循环、多部位吸收或者蛋白竞争均会导致“双峰”现象的产生^[32-33],有待后续研究予以验证。

综上所述,青连宁心胶囊对垂体后叶注射液致大鼠缺血性心律失常的改善作用优于青蒿、黄连单药,且能提高模型大鼠体内青蒿素和盐酸小檗碱的吸收,减慢二

者的消除,为进一步确定青连宁心胶囊中药效物质基础提供了依据。

参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2019概要[J].心脑血管病防治,2020,20(5):437-450.
- [2] 《中国心血管健康与疾病报告》编写组.《中国心血管健康与疾病报告2020》概述[J].中国心血管病研究,2021,19(7):582-590.
- [3] 韩军,宣佳利,胡浩然,等.金丝桃苷预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用与PI3K/Akt信号通路的关系[J].中国中药杂志,2015,40(1):118-123.
- [4] 王奥奥,李磊,李瑛,等.中药来源多肽类活性成分治疗缺血性心脑血管疾病的研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(21):5576-5584.
- [5] 盖晓红,刘素香,任涛,等.黄连的化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2018,49(20):4919-4927.
- [6] 付琳,付强,李冀,等.黄连化学成分及药理作用研究进展[J].中医药学报,2021,49(2):87-92.
- [7] 周瑞,项昌培,张晶晶,等.黄连化学成分及小檗碱药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(19):4561-4573.
- [8] FENG X, SUREDA A, JAFARI S, et al. Berberine in cardiovascular and metabolic diseases: from mechanisms to therapeutics[J]. Theranostics, 2019, 9(7):1923-1951.
- [9] 刘俊彤,赖思含,付东兴,等.抗心肌缺血天然药物研究进展[J].药学学报,2021,56(10):2761-2768.
- [10] 李海波,秦大鹏,葛雯,等.青蒿化学成分及药理作用研究进展[J].中草药,2019,50(14):3461-3470.
- [11] 范铁兵,李运伦,丁书文.丁书文治疗心律失常用药经验[J].山东中医杂志,2020,39(11):1224-1227.
- [12] AI J, GAO H H, HE S Z, et al. Effects of matrine, artemisinin, tetrandrine on cytosolic $[Ca^{2+}]_i$ in guinea pig ventricular myocytes[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(6):512-515.
- [13] 邹家铭,王宁,李运伦,等.全国名中医丁书文益气活血解毒法治疗心房颤动的处方用药规律挖掘[J].世界科学技术:中医药现代化,2020,22(12):4094-4102.
- [14] 焦华琛.丁书文教授应用抗疟中药治疗心律失常的经验[J].中国中医急症,2015,24(8):1395-1397.
- [15] 焦华琛,刘东海,孙婷婷,等.复方青山健心片对阵发性房颤大鼠左心房胆碱能神经密度的干预作用[J].中华中医药杂志,2020,35(2):869-872.
- [16] 焦华琛,刘东海,孙婷婷,等.阵发性房颤大鼠心房肾上腺素能神经密度及青山健心片干预作用[J].中华中医药学刊,2019,37(12):2837-2839,3091.
- [17] 刘春英,焦华琛,彭波.复方青山健心片治疗室性过早搏动痰火扰心证80例[J].河南中医,2018,38(5):706-708.
- [18] 牟大可,马飞,牟冉冉,等.星点设计-效应面法优化青连

- 宁心胶囊中黄连和青蒿的提取工艺[J]. 药学研究, 2018, 37(10):583-588.
- [19] 司席席, 孙洪胜, 曹广尚, 等. 青连宁心胶囊的质量标准研究[J]. 中国药房, 2016, 27(33):4707-4709.
- [20] 丁文书, 焦华琛, 尹柱汉. 青蒿、常山对大鼠急性心肌缺血所致心律失常的影响[J]. 山东中医杂志, 2003, 22(12):742-743.
- [21] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9):1069-1072.
- [22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:466-472.
- [23] 王占武, 耿晓娟. 心悸中医证治现代研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(4):539-544.
- [24] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008:204-210.
- [25] 刘剑刚, 熊双, 丰加涛, 等. 冠心 II 号精制/纯化方对垂体后叶素致急性心肌缺血模型大鼠的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(10):1450-1457.
- [26] 柴晶美, 李欣, 杜金, 等. 二参颗粒对垂体后叶素诱导冠心病心肌缺血大鼠血液流变学及血脂的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(6):753-755, 787.
- [27] LADDHA A P, KULKARNI Y A. Daidzein mitigates myocardial injury in streptozotocin-induced diabetes in rats[J]. Life Sci, 2021, 284:119664.
- [28] ROBISON L B, BRADY W J, ROBISON R A, et al. QT interval prolongation and the risk of malignant ventricular dysrhythmia and/or cardiac arrest: systematic search and narrative review of risk related to the magnitude of QT interval length[J]. Am J Emerg Med, 2021, 49:40-47.
- [29] 张优, 戴国梁, 赵权, 等. 黄连、黄连-生地配伍中 5 种生物碱在正常、抑郁大鼠中体内药动学的比较[J]. 中成药, 2021, 43(5):1117-1122.
- [30] 王恩莹, 陈靓, 马恒, 等. 金芪降糖片配伍对小檗碱大鼠体内药动学的影响[J]. 中草药, 2016, 47(23):4231-4234.
- [31] 王京龙, 于定荣, 张超, 等. 3 种提取方法对二黄汤中 5 种成分在大鼠体内药动学的影响[J]. 中成药, 2021, 43(1):1-5.
- [32] 赵宏兴, 王鑫, 刘有平, 等. LC-MS/MS 法研究加味左金丸在大鼠体内的药动学[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(7):668-674.
- [33] HE W, LIU G H, CAI H, et al. Integrated pharmacokinetics of five protoberberine-type alkaloids in normal and insomnic rats after single and multiple oral administration of Jiao-Tai-Wan[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(3):635-644.

(收稿日期:2021-11-10 修回日期:2022-02-08)
(编辑:邹丽娟)

(上接第665页)

- [12] 谭清立, 高江源, 林岱衡. 药品集中带量采购政策与我国医保支付制度的协同作用探讨[J]. 中国药房, 2021, 32(2):146-151.
- [13] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于推动药品集中带量采购工作常态化制度化开展的意见: 国办发〔2021〕2号 [EB/OL]. (2021-01-22) [2021-05-09]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2021-01/28/content_5583305.htm.
- [14] 国家药品监督管理局药品审评中心. 中国上市药品目录集数据库 [EB/OL]. (2017-12-29) [2022-01-06]. <https://www.cde.org.cn/hymj/index>.
- [15] 胡宇, 宗欣, 于淼, 等. 我国仿制药一致性评价政策环境现状分析[J]. 中国药物评价, 2020, 37(5):321-326.
- [16] ITO Y, HARA K, KOBAYASHI Y. The effect of inertia on brand-name versus generic drug choices[J]. J Econ Behav Organ, 2020, 172:364-379.
- [17] TAKAYAMA A, NARUKAWA M. Comparison of new drug accessibility and price between Japan and major European countries[J]. Ther Innov Regul Sci, 2017, 51(5):604-611.
- [18] CHARAN J, SAXENA D, CHAUDHARI M, et al. Opinion of patients seeking primary care regarding prescription of generic drugs: a cross-sectional study[J]. J Family Med Prim Care, 2020, 9(11):5725-5730.
- [19] UEYAMA M, IDEHARA K, ONISHI Y, et al. PNS28 recent Japanese generic drug policy and future directions[J]. Value Heal Reg Issues, 2020, 22:S86.
- [20] MISHUK A U, FASINA I, QIAN J J. Impact of US federal and state generic drug policies on drug use, spending, and patient outcomes: a systematic review[J]. Res Social Adm Pharm, 2020, 16(6):736-745.
- [21] 吴红, 李歆, 陈敬, 等. 带量采购政策对苏北地区 5 家公立医院原研药和仿制药临床使用的影响[J]. 药学与临床研究, 2021, 29(3):237-240.
- [22] 新浪财经. 集采药品首现质量问题被禁售 百济神州遭遇业绩考验 [EB/OL]. (2020-03-27) [2021-11-02]. <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1662273639835339035&wfr=spider&for=pc>.
- [23] 胡鑫宇. 华北制药断供集采, 我们该反思哪些细节? [EB/OL]. (2021-08-24) [2021-11-02]. <https://baijiahao.baidu.com/s?id=1708925014298934579&wfr=spider&for=pc>.
- [24] 李栋, 杜宏金, 周誉, 等. 中国仿制药一致性评价政策与美国、日本相关政策的分析与讨论[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(13):1164-1167.

(收稿日期:2021-09-22 修回日期:2022-01-24)
(编辑:孙冰)