

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00320

丹参对瑞舒伐他汀在大鼠体内药代动力学的影响

温金华, 胡锦涛, 蔡军, 赖永全, 郑雪莲, 邹德琴, 魏筱华*

南昌大学第一附属医院药剂科, 南昌 330006

[摘要] **目的** 研究丹参对瑞舒伐他汀在大鼠体内药代动力学影响。**方法** 12只雄性大鼠, 体质量(230±15)g, 随机分为2组: 单用瑞舒伐他汀组(80 mg/kg)与瑞舒伐他汀合用丹参(400 mg/kg)组, 每组6只, 分别于给药前及给药后0.5、1、1.5、3、5、8、10、12、24 h时从眼眶静脉采血约0.3 ml, 采用LC-MS测定血药浓度, 比较两组间药代参数, 利用SPSS12.0软件进行统计学处理。**结果** 合用丹参后瑞舒伐他汀药代动力学参数 C_{max} 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 分别增加60.81%、88.00%和82.92%, 而 $T_{1/2}$ 与 CL_z/F 值分别降低了33.21%和21.51%。**结论** 大鼠体内丹参可影响瑞舒伐他汀的药代动力学特性。

[关键词] 丹参; 瑞舒伐他汀; 药代动力学**[中图分类号]** R 969.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)03-0320-04

Effect of *Danshen* on pharmacokinetics of Rosuvastatin in rats

WEN Jin-hua, HU Jin-fang, CAI Jun, LAI Yong-quan, ZHENG Xue-lian, ZOU De-qin, WEI Xiao-hua*

Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330066, Jiangxi, China

[Abstract] **Objective** To study the effect of *Danshen* on the pharmacokinetics of Rosuvastatin in rats. **Methods** Parallel control method was applied in this study. Twelve male rats weighing (230±15) g were evenly randomized into two groups: rosuvastatin (80 mg/kg) group and Rosuvastatin plus *Danshen* (400 mg/kg) group. Blood samples (0.3 ml each) were collected from the orbital vein at 0.5, 1, 1.5, 3, 5, 8, 10, 12 and 24 h after drug administration. LC-MS was used to determine the plasma concentrations of Rosuvastatin. The pharmacokinetic parameters of the two groups were compared and statistical analysis was performed using SPSS12.0 software. **Results** When combined with *Danshen*, the C_{max} , AUC_{0-1} , and $AUC_{0-\infty}$ of Rosuvastatin were increased by 60.81%, 88.00% and 82.92%, and $T_{1/2}$ and CL_z/F were reduced by 33.21% and 21.51%, respectively. **Conclusion** *Danshen* can affect the pharmacokinetic properties of Rosuvastatin in rats.

[Key words] *danshen*; rosuvastatin; pharmacokinetics

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(3): 320-323]

随着社会的发展, 人们的饮食呈富余化趋势, 因血脂升高导致的动脉粥样硬化、冠心病等心血管疾病发病率逐年升高, 并有年轻化趋势。降血脂药物已成为药物研究的重点之一^[1]。目前临床应用的降血脂药主要有他汀类、贝特类、烟酸类、胆酸螯合剂等^[2]。他汀类药物能降低患者的血脂水平, 从而降低高脂血症人群心、脑血管疾病的发生率及病死率^[3], 在临床上应用非常广泛。在我国多采用具有调血脂、治疗心血管疾病作用的中草药如丹参、山楂、栀子、女贞子等联合他汀类药物, 以期达到更好的降脂作用以及治疗心脑血管疾病的作用^[4]。丹参为中国的传统中药, 对冠心病及缺血性脑血管病疗效颇佳, 但有出血倾向者应慎用, 已被现代临床实验和药理实验研究证实具有活血化瘀等多方面的药理

活性^[5]。丹参是否影响他汀药物的药代动力学过程值得我们去探索。本研究采用LC-MS测定大鼠血浆中瑞舒伐他汀药物浓度, 考察丹参对瑞舒伐他汀药代动力学的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 健康SD雄性大鼠, 体质量200~235(230±15)g, 购自南昌大学医学院实验动物中心, 合格证号: SCXK-2008-0004。

1.2 主要试剂 甲醇(色谱纯)、无水乙酸乙酯(分析纯): Merck公司生产; 瑞舒伐他汀: 瑞舒伐他汀标准品: 含量99.5%, 批号为20051101RS, 浙江新东港药业有限公司; 匹伐他汀(内标): 含量95.6%, 批号为0703001, 广东东阳光药业有限公司; 瑞舒伐他汀分散

[收稿日期] 2011-08-01 [接受日期] 2012-01-17

[作者简介] 温金华, 药师. E-mail: hlm1886@yahoo.com.cn

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0791-8692180, E-mail: weixiaohua@yahoo.cn

片;规格:20 mg/片,批号:081108,鲁南贝特制药有限公司;丹参粉由江西汇仁药业有限公司提供。

1.3 主要仪器 高效液相质谱联用仪:岛津 LC-MS-2010/EV 系列(包括 LC-AB 二联泵, SIL-20A 自动进样器, CTO-20A 恒温箱, CBM-20A 控制器, SPD-M20A 检测器, MS 质谱检测器, LC-MSsolution 工作站),日本岛津公司生产;Milli-Q Gradient A10 超纯水器,美国 Millipore 公司生产;Shim-pack ODS 色谱柱,日本岛津公司(5 μm , 2.0 mm \times 150 mm);Sigma 3K30 超高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司生产;BP61S 型电子天平,德国 Sartorius。

1.4 主要溶液的配制 标准品储备液的配制:称取瑞舒伐他汀标准品 46.50 mg,用 50 ml 甲醇配制成相当于 0.930 mg/ml 瑞舒伐他汀贮备液,临用时稀释至相应的浓度;称取 41.65 mg 匹伐他汀(内标),用 50 ml 甲醇配制成相当于 0.883 mg/ml 匹伐他汀贮备液,临用时稀释至 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

1.5 LC-MS 联用技术测定瑞舒伐他汀血浆药物浓度

1.5.1 色谱条件 色谱柱:Shimadzu Pack VP-ODS C_{18} (5 μm , 150 mm \times 2.0 mm);流动相:甲醇:水(含 0.4% 氨水, 0.2 mol/L 乙酸胺) = 70 : 30(V/V);流速:0.2 ml \cdot min⁻¹。

1.5.2 质谱条件 离子化方式:电喷雾离子化(ESI);采集方式:选择性离子监测(selected-ion monitoring, SIM);曲型脱溶剂装置(CDL)温度:250 $^{\circ}\text{C}$;加热块(block)温度:200 $^{\circ}\text{C}$;CDL 电压:25 V;检测电压:-1.65 kV;检测离子[M-H]⁻:瑞舒伐他汀 m/z 480.0,内标(匹伐他汀)m/z 420.00;雾化气流速:1.5 L/min;干燥气流速:2.0 L/min。

1.5.3 血浆样品的处理过程 100 μl 大鼠血浆样品加入 20 μl 对应内标匹伐他汀(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$),加入 30 μl 冰醋酸,振荡 30 s,加入 1 ml 乙酸乙酯,涡旋振荡 4 min,2 500 $\times g$ 离心 10 min,取 0.8 ml 上清液于 80 $^{\circ}\text{C}$ 干浴锅中 N_2 挥干,150 μl 80% 甲醇溶解,取 10 μl 进样分析。

1.5.4 LC-MS 测定大鼠血浆中瑞舒伐他汀的方法学考察 方法学专属性:考察样品出峰处是否有杂质干扰,样品峰与内源性杂质是否完全分离。

介质效应与提取回收率:配制含瑞舒伐他汀浓度为 0.04、0.4、8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列血样,按“血浆样品预处理”方法处理后进样分析,记录瑞舒伐他汀及内标峰面积(S1);用流动相配制含瑞舒伐他汀 0.04、0.4、8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (含内标)的系列样品,不经处理直接进样分析,记录瑞舒伐他汀与内标峰面积(S2);取空白大鼠血浆,按“血浆样品的处理”方法处理后加入

相应浓度的瑞舒伐他汀与内标,进样后记录瑞舒伐他汀与内标峰面积(S3)。

介质效应(ME) = $S_3/S_2(\text{均值}) \times 100\%$,提取回收率(REC) = $[S_1/S_3(\text{均值})] \times 11/8 \times 100\%$ 。

方法学精密度与准确度:配制含瑞舒伐他汀浓度为 0.04、0.4、8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血样,各浓度分别配制 5 份样品,每天配制并测定一批,连续 3 d。按“血浆样品的处理”项下操作,记录样品与内标峰面积比值,代入随行工作曲线,算得浓度,以此作为精密度指标。测得批内变异和连续 3 d 内的批间变异。

稳定性考察:配制含瑞舒伐他汀浓度为 0.04、0.4、8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血样,各浓度分别配制 20 份样品,考察血浆样本室温放置 6 h 后的稳定性;考察血浆样本处理后样本放置在自动进样器中的稳定性;考察配置的血浆样本反复冻融 3 次后的稳定性;考察血浆样本 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 10 d 后的稳定性。

1.6 给药与血样采集 实验采用平行对照方法:将 12 只雄性大鼠随机分为 2 组,每组 6 只,分别为单用瑞舒伐他汀组与瑞舒伐他汀合用丹参组,给药前大鼠禁食 12 h,自由饮水。以瑞舒伐他汀 80 mg/kg、丹参 400 mg/kg 的剂量灌胃给药,两药合用时先丹参后瑞舒伐他汀相继灌胃,间隔 15 min,分别在灌胃给药前及给药后 0.5、1、1.5、3、5、8、10、12、24 h 时从眼眶静脉采血约 0.3 ml,血样置于事先加入肝素钠的试管中离心处理后,血浆样品冻存与 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待测。

1.7 统计学处理 实验数据采用 DAS 2.1 药动学软件的非房室模型法分析(统计矩法)进行药代动力学参数计算。药代动力学参数间的比较运用 SPSS 12.0 软件采用配对 t 检验。

2 结果

2.1 LC-MS 测定瑞舒伐他汀 本法专属性较好,样品中杂质不干扰样品峰的测定(图 1A、1B);无明显介质效应存在,绝对回收率大于 85%;瑞舒伐他汀在 0.02~12.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内线性关系良好,得回归方程 $y = 3.42x - 0.09$, $R^2 = 0.998$,定量下限为 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$,定量限的准确性和精密度(relative standard deviation, RSD)分别为 105% 与 13.12%;低、中、高 3 种浓度的样本日内、日间精密度均小于 15%,准确度均在 98%~108% 范围内(表 1);样品室温放置 6 h、反复冻融 3 次、-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 10 d 与处理后在自动进样器中放置 24 h 的稳定性均较好,RSD 均小于 15%,准确度均在 85%~115% 范围内。上述方法学评价结果表明,该方法符合生物样品分析的有关要求。

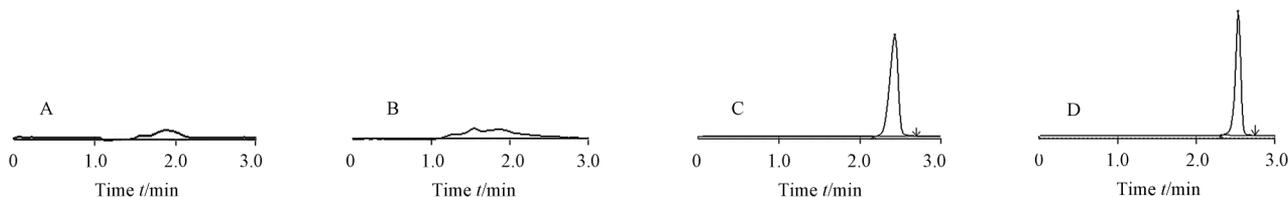


图 1 瑞舒伐他汀和内标 LC-MS 色谱图

Fig 1 SIM chromatograms obtained from a blank plasma(A,B) and plasma from a rat 1.5 h after an oral dose of 80 mg/kg rosuvastatin(C,D)
 A,C: Rosuvastatin (480.00 m/z); B,D: Pitavastatin (420.00 m/z)

表 1 瑞舒伐他汀的精密度与准确度

Tab 1 Precision and accuracy of the assay of rosuvastatin

n=5, $\bar{x} \pm s$

Rosuvastatin concentration $\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$	Inter-day			Intra-day		
	Measured $\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$	Precision (%)	RSD (%)	Measured $\rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$	Precision (%)	RSD (%)
0.04	0.039±0.005	98.50	13.62	0.040±0.005	100.00	12.25
0.4	0.430±0.035	107.50	8.22	0.420±0.039	105.00	9.22
8	8.054±0.791	100.68	9.82	7.854±0.680	98.18	8.66

2.2 丹参对瑞舒伐他汀在大鼠体内药代动力学的影响 根据统计矩方法计算大鼠灌胃后体内瑞舒伐他汀的药代动力学参数,结果见表 2。平均血药浓度-时间曲线见图 2。大鼠体内丹参影响瑞舒伐他汀的药代动力学特征,峰浓度值(peak concentration, C_{max})增大但差异无统计学意义,药时曲线下面积(area under concentration, AUC)则增大 ($P <$

0.05),清除速率(CL_z/F)降低。与单用瑞舒伐他汀相比较[计算方式:(合用瑞舒伐他汀参数均值-单用瑞舒伐他汀参数均值)/单用瑞舒伐他汀参数均值]×100%],合用丹参后瑞舒伐他汀药代动力学参数 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 参数值分别增加 60.81%、88.00%和 82.92%,而 $T_{1/2}$ 与 CL_z/F 值分别降低了 33.21%和 21.51%。 T_{max} 组间变化不明显。

表 2 大鼠单服瑞舒伐他汀与合用丹参(400 mg/kg)后瑞舒伐他汀的药代参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of Rosuvastatin after single administration and co-administration with Danshen (400 mg/kg) to rats

n=6, $\bar{x} \pm s$

Pharmacokinetic parameters	Pretreatment with Danshen (400 mg/kg)	Rosuvastatin (80 mg/kg) alone	P	Add value and Reducing value(%)
$C_{\text{max}} \rho_B/(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$	8.78±4.94	5.46±3.59	0.212	+60.81
$AUC_{0-t}(\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1})$	33.70±14.36	17.92±5.15	0.043	+88.00
$AUC_{0-\infty}(\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1})$	34.20±14.56	18.70±4.86	0.045	+82.92
$T_{\text{max}}t/\text{h}$	2.00±1.70	1.92±1.77	0.94	-4.17
$T_{1/2}t/\text{h}$	4.77±2.45	3.19±2.28	0.27	-33.21
$CL_z/F(\text{L} \cdot \text{h}^{-1})$	5.65±1.39	4.65±3.44	0.53	-21.51

3 讨论

目前国内外已有诸多的人血浆瑞舒伐他汀测定方法的报道^[6-8],在参考这些文献的基础上我们建立了灵敏、精确、可靠、特异性强的测定血浆瑞舒伐他汀药物浓度的 LC-MS 方法,该方法符合生物样品分析的要求,峰形好、出峰时间早,大大缩短分析时间,减少原料的浪费。

丹参的有效成分有两大类,即水溶性和脂溶性成分;水溶性主要有丹参素、原儿茶醛与丹酚酸 B,脂溶性成分主要有丹参酮 II A 和隐丹参酮。我们实验结果显示丹参与瑞舒伐他汀合用后可增加瑞舒伐他汀的血药浓度,参数值 AUC_{0-t} 与 $AUC_{0-\infty}$ 明显增大,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),但是由于丹参成分复杂,尚不明确是何种成分引起瑞舒伐他汀药代动力学的改变。

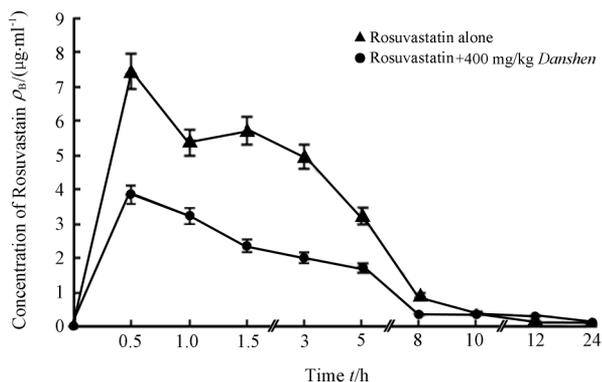


图2 大鼠单服瑞舒伐他汀与合用丹参(400 mg/kg)后瑞舒伐他汀的药-时曲线图

Fig 2 Mean plasma concentration-time profiles of rosuvastatin following an oral administration of rosuvastatin to rats in the presence and the absence of *Danshen* (400 mg/kg)
n=6, $\bar{x} \pm s$

肝药酶(CYP450)是参与药物代谢的主要酶系,因此,对CYP酶的抑制或诱导作用,可改变他汀类药物的药代动力学特性,增加其血药浓度,导致不良反应的产生。由于他汀类药物与其他药物联合应用而导致其药代动力学的改变,从而诱发肌病和横纹肌溶解症已见文献报道^[9]。CYP3A4酶抑制剂如环孢素、大环内酯类抗生素、咪唑类抗真菌药、HIV蛋白酶抑制剂、钙拮抗剂等药物,都可能影响辛伐他汀、洛伐他汀和阿托伐他汀在体内通过CYP3A4酶的代谢,产生药物相互作用^[9]。然而,瑞舒伐他汀不通过肝脏微粒体酶CYP3A4代谢,而是通过CYP2C9代谢,且代谢微量。Qiu等^[10]研究表明丹参素可能是CYP2C9的竞争性抑制剂,Ki=35 mmol/L,那么丹参素对CYP2C9的抑制作用是否会导致瑞舒伐他汀的药代动力改变?试验证明任何CYP代谢酶的抑制作用都不改变瑞舒伐他汀血浆中的药物浓度,CYP代谢酶的活力的改变对瑞舒伐他汀药代动力学特点无影响^[10]。因此,通过改变肝脏微粒体酶活性的药物并不导致瑞舒伐他汀代谢的改变,但对瑞舒伐他汀而言,需要考虑因药物转运体的抑制作用而产生与瑞舒伐他汀相互作用,导致瑞舒伐他汀药代动力学的改变,甚至引起不良反应。瑞舒伐他汀的生物利用度约为20%,口服吸收程度不高。目前有关瑞舒伐他汀在肠道吸收途径未见报道。P-糖蛋白(p-gp)在诸多药物肠道吸收中扮演了重要的角色,其外排的功能是导致药物吸收减少的重要因素。朱狄峰等^[11]通过丹参素在Caco-2细胞单层模型中的跨膜转运研究发现P-gp转运蛋白抑制剂维拉帕米可增加丹参素在Caco-2细胞中的转

运,因此,丹参素也是P-gp的底物。瑞舒伐他汀是否也是P-gp底物目前尚无报道。

瑞舒伐他汀为OATP1B1底物,口服吸收后瑞舒伐他汀从血液中快速经OATP1B1转运至肝脏靶器官。OATP1B1有遗传多态性,其基因的突变可引起瑞舒伐他汀药动学的个体差异^[12]。国内学者研究发现黄芩苷对瑞舒伐他汀药代动力学的影响与OATP1B1基因型有关系^[13]。由于在大鼠体内OATP1B1有同源性基因Oatp1b2,因此,丹参对瑞舒伐他汀药代动力学改变是否与OATP1B1有关,尚需进一步研究。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 赵士魁,周伟澄. 降血脂药物研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2009,40:536-541.
- [2] De D, Khanna I. Recent trends in HDL modulating therapies [J]. Ann Rep in Med Chem, 2007,42: 177-191
- [3] Han S H, Kang E W, Yoon S J, Yoon H S, Lee H C, Yoo T H, et al. Combined vascular effects of HMG-CoA reductase inhibitor and angiotensin receptor blocker in non-diabetic patients undergoing peritoneal dialysis [J]. Nephrol Dial Transplant, 2011,26: 3722-3728.
- [4] 赵云志. 中草药联合辛伐他汀治疗酒精性脂肪肝120例疗效分析. 实用肝脏病杂志, 2007,10:191-192.
- [5] 柴瑞震. 丹参的药理研究近况[J]. 中国中医药科技, 2003,10: 390-392.
- [6] 张红,熊玉卿. 连续口服多剂量国产瑞舒伐他汀钙片的药理学[J]. 中国药理学杂志, 2007,42:1818-1821.
- [7] 李春盈,张玉英,丁黎. 液相色谱-串联质谱法测定人血浆中瑞舒伐他汀钙浓度及临床药代动力学研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007,12:819-823.
- [8] Zhang D, Zhang J, Liu X, Wei C, Zhang R, Song H, et al. Validated LC-MS/MS method for the determination of rosuvastatin in human plasma: application to a bioequivalence study in chinese volunteers [J]. Pharmacol Pharm, 2011,20:2157-9423.
- [9] 温文冰,成伙清,刘治军. 他汀类药物与其他药物的相互作用[J]. 中国医院药学杂志, 2008,28:298-301.
- [10] Qiu F R, Zhang R, Sun J G, A J Y, Hao H P, Peng Y, et al. Inhibitory effects of seven components of danshen extract on catalytic activity of cytochrome P450 enzyme in human liver microsomes [J]. Drug Metab Disposit, 2008,36:1308-1314.
- [11] 朱狄峰,赵筱萍,程翼宇. 丹参素在Caco-2细胞单层模型中的跨膜转运研究[J]. 中国药理学杂志, 2006,41:108-112.
- [12] Choi J H, Lee M G, Cho J Y, Lee J E, Kim K H, Park K. Influence of OATP1B1 Genotype on the Pharmacokinetics of rosuvastatin in Koreans [J]. Clin Pharmacol Ther, 2008,83:251-257.
- [13] Fan L, Zhang W, Guo D, Tan Z R, Xu P, Li Q, et al. The effect of herbal medicine baicalin on pharmacokinetics of rosuvastatin, substrate of organic anion-transporting polypeptide 1B1 [J]. Clin Pharmacol Ther, 2008,83:471-476.

[本文编辑] 尹茶