

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01384

复方丹参滴丸对阿司匹林大鼠体内药动学的影响

Effect of compound *Danshen* dropping pills on pharmacokinetics of aspirin in rats

段好刚, 张国荣, 魏玉辉, 张建强, 李波霞, 武新安*

兰州大学第一医院药剂科, 兰州 730000

[关键词] 复方丹参滴丸; 阿司匹林; 水杨酸; 药代动力学

[中图分类号] R 969.2 [文献标志码] B [文章编号] 0258-879X(2011)12-1384-03

阿司匹林(aspirin, ASP)具有明确的抗血小板聚集作用, 广泛用于预防心脑血管的发病和短暂性缺血发作, 如脑血栓、冠心病、心肌梗死、人工心脏瓣膜或其他手术后的血栓形成及血栓闭塞性脉管炎等^[1-2]。复方丹参滴丸(compound danshen dripping pills, CDDP)是以传统中医理论与现代医药技术相结合研制的新型纯中药复方制剂, 具有扩张冠脉血管、增加冠脉血流量、防治心肌缺血和抗血小板等作用^[3-4], 临床上常用于冠心病和心绞痛等心血管疾病的治疗^[5-6]。阿司匹林与复方丹参滴丸合用用于预防、治疗冠心病、心绞痛已成为临床上常用的治疗方案。研究表明, 复方丹参滴丸与阿司匹林合用后, 还可以干预阿司匹林抵抗, 改善患者的临床预后^[7-9]。两者联合使用可能会对阿司匹林体内过程产生影响, 进而影响阿司匹林药效的发挥及不良反应的发生。由于阿司匹林在胃及小肠上部吸收, 在血浆中易被酯酶水解成水杨酸, 常采用测定血中水杨酸浓度的方法来研究阿司匹林的药动学^[10-11]。本文测定合用复方丹参滴丸后水杨酸的血液浓度, 通过水杨酸药动学参数的变化, 探讨联合用药对阿司匹林药动学的影响, 为临床用药提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 药品和试剂 水杨酸对照品(中国药品生物制品检验所, 100106-200303), 阿司匹林原料药(山东新华制药股份有限公司, 含量为99.5%, 批号: 100507), 苯甲酸对照品(中国生物制品药品检验所, 100419-200301), 复方丹参滴丸(27 mg/丸, 天津天士力制药股份有限公司, 批号: 110108), 甲醇为色谱纯(迪马公司), 乙腈为色谱纯(山东禹王), 其他试剂均为国产分析纯; 去离子水为兰州大学第一医院自制。

1.2 实验动物 Wistar 大鼠, 体质量(200±20) g, 购于兰州大学实验动物中心, 合格证号: 兰医动字第 14-006。

1.3 仪器 岛津 LC-20AT 二元梯度泵, SPD-M20A 二极管

阵列检测器, DGU-20A 在线脱气系统, SIL-20A 自动进样系统, CTO-20A 柱温箱, LC solution 色谱工作站(Shimadzu, Kyoto, Japan)。

1.4 色谱条件 色谱柱: Cosmosil C₁₈ 柱(5 μm, 4.6 mm×150 mm, 岛津, 日本); 流动相: 甲醇: 0.05 mol/L 醋酸铵(含1.5%醋酸)=28:72; 流速 1 ml/min; 检测波长: 235 nm; 柱温: 40℃; 进样量: 20 μl; 内标: 苯甲酸。

1.5 对照品溶液的制备 精密称取苯甲酸对照品 4.1 mg, 置于 5 ml 容量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 得浓度为 820 μg/ml 的内标储备液。精密量取内标储备液 3 ml, 置于 100 ml 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度得到浓度为 24.6 μg/ml 的内标溶液。精密称取水杨酸对照品 12.8 mg, 置 10 ml 容量瓶中, 用含内标的乙腈溶解并稀释至刻度得水杨酸对照品储备液, 4℃贮存备用。

1.6 动物分组及给药方法 雄性 Wistar 大鼠 32 只, 体质量(200±20) g, 随机分为 4 组, 每组 8 只, 即单次阿司匹林组、单次联合用药组, 多次阿司匹林组、多次联合用药组。大鼠给药剂量根据人的用量进行换算。单给阿司匹林组单次灌胃给予阿司匹林 10 mg/kg; 单次联合用药组灌胃给予复方丹参滴丸 81 mg/kg, 1 h 后再给予阿司匹林 10 mg/kg; 多次阿司匹林组灌胃给予阿司匹林 10 mg/kg, 每天 1 次, 连续给药 7 d, 第 7 天晚禁食, 于第 8 天早晨再灌胃给予阿司匹林 10 mg/kg; 多次联合用药组灌胃给予复方丹参滴丸 81 mg/kg, 1 h 后给予阿司匹林 10 mg/kg, 每天 1 次, 连续给药 7 d, 第 7 天晚禁食, 于第 8 天早晨灌胃给予复方丹参滴丸 81 mg/kg, 1 h 后再给予阿司匹林 10 mg/kg。

1.7 血样采集及预处理 于给药前及给药后 5、10、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480、600、720 min, 通过动脉插管抽取 0.25 ml 血样。每次取样后为了补充减少的血量, 通过插管注入同体积的肝素钠(100 IU/ml)生理盐水。在给药后 1 h 给大鼠饮水。采集的血样立刻转入涂过肝素的 1.5

[收稿日期] 2011-08-17 [接受日期] 2011-10-12

[基金项目] 兰州市城关区科技计划(2010-6-9), 兰州大学第一医院院内基金(ldyyynqn201009). Supported by Science and Technology Project of Chengguan District of Lanzhou(2010-6-9), and Fund of the First Hospital of Lanzhou University(ldyyynqn201009).

[作者简介] 段好刚, 硕士, 药师. E-mail: duanhg06@163.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0931-8616392, E-mail: xinanwu6511@163.com

ml 离心管中, $7\ 170\times g$ 离心 5 min, 取上层血浆 $100\ \mu\text{l}$, 加入 $200\ \mu\text{l}$ 的内标溶液, 旋涡振荡 40 s, $7\ 170\times g$ 离心 5 min 除去蛋白, 上清液过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜后, $20\ \mu\text{l}$ 直接进样分析。

1.8 统计学处理 药-时曲线数据用 Drug And Statistics of Windows 2.0 (DAS 2.0) 统计软件处理。采用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学分析, 检验水平 (α) 为 0.05。

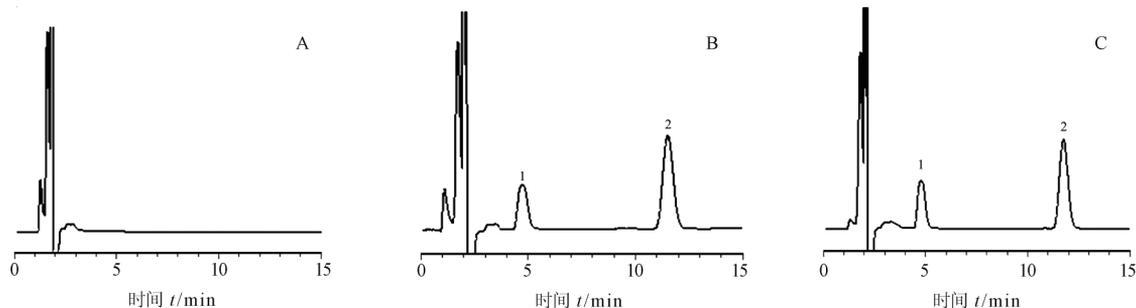


图 1 水杨酸的 HPLC 图

A: 空白血浆; B: 空白血浆+水杨酸+内标; C: 大鼠灌胃给药后 1 h 的血浆样品. 1: 水杨酸; 2: 苯甲酸(内标)

2.2 标准曲线 取上述对照品贮备液, 用乙腈溶液(含苯甲酸 $24.6\ \mu\text{g/ml}$) 稀释成系列浓度的水杨酸对照品溶液。取上述不同浓度的对照品溶液, 按血浆样品处理方法操作, 配制水杨酸浓度为 $64, 32, 16, 8.0, 4.0, 2.0, 1.0, 0.50, 0.25\ \mu\text{g/ml}$ 的标准血浆样品, $20\ \mu\text{l}$ 直接进样分析。记录水杨酸及内标的峰面积。以样品峰面积和内标的峰面积比为纵坐标 (Y)、样品的浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得水杨酸的标准曲线方程为: $Y=0.027\ 3X-0.006\ 2, r=0.999\ 9$ 。可见水杨酸在 $0.25\sim 64\ \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内线性关系良好, 水杨酸在血浆中的最低检测浓度为 $0.062\ 2\ \mu\text{g/ml}$ 。

2.3 精密度试验 按样品处理方法操作, 配制水杨酸浓度为 $0.5, 8.0, 51.2\ \mu\text{g/ml}$ 的标准血浆样品。日内精密度 (RSD) 由同一天内不同时间处理并测定 5 次计算得到; 日间精密度由连续 5 d 处理、每天测定 1 次计算得到。水杨酸日内 RSD 分别为 $5.98\%, 4.70\%, 2.61\%$, 日间 RSD 分别为 $8.91\%, 7.42\%, 4.75\%$, 方法精密度良好, 符合生物样品分析的要求。

2.4 回收率试验 按样品处理方法, 配制低、中、高浓度

2 结果

2.1 方法的专属性 在给定色谱条件下, 血浆中水杨酸保留时间约 $4.8\ \text{min}$, 苯甲酸(内标)的保留时间约 $11.6\ \text{min}$, 且血浆内源性物质对其测定无干扰, 空白血浆、标准加样血浆及大鼠给药 1 h 后的血浆样品色谱图见图 1。

($0.5, 8.0, 51.2\ \mu\text{g/ml}$) 的水杨酸标准加样血浆, 进样分析, 计算水杨酸浓度, 将求得的浓度与已知加入浓度相比, 计算相对回收率; 另用乙腈配制的相应系列浓度的水杨酸对照品, 不经沉淀, 直接进样测定, 计算水杨酸与内标峰面积之比, 以此为标准将两组峰面积比值相比, 计算绝对回收率, 结果水杨酸的相对回收率在 $97.3\%\sim 103.8\%$ 之间, 绝对回收率在 $91.7\%\sim 94.1\%$ 之间。

2.5 稳定性试验 按样品处理方法, 分别配制低、中、高浓度的水杨酸标准血浆样品, 分别在室温放置(自动进样器中放置 24 h)、反复冻融(3 次冻融循环处理)、长期冻存 ($-25\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻保存 14 d) 条件下, 进行测定, 结果 RSD 均小于 15% , 表明水杨酸在血浆中稳定, 可以保证样品测定的需要。

2.6 药动学研究 各组大鼠灌胃给予相应药物后, 不同时间采集血样, 测定水杨酸的血液浓度均在线性范围内, 药-时曲线图见图 2。

各组大鼠测得的血药浓度数据用 DAS 2.0 统计软件进行处理, 采用权重为 $1/\text{cc}$ 的一室房室模型, 对数据进行拟合, 主要的药动学参数见表 1。

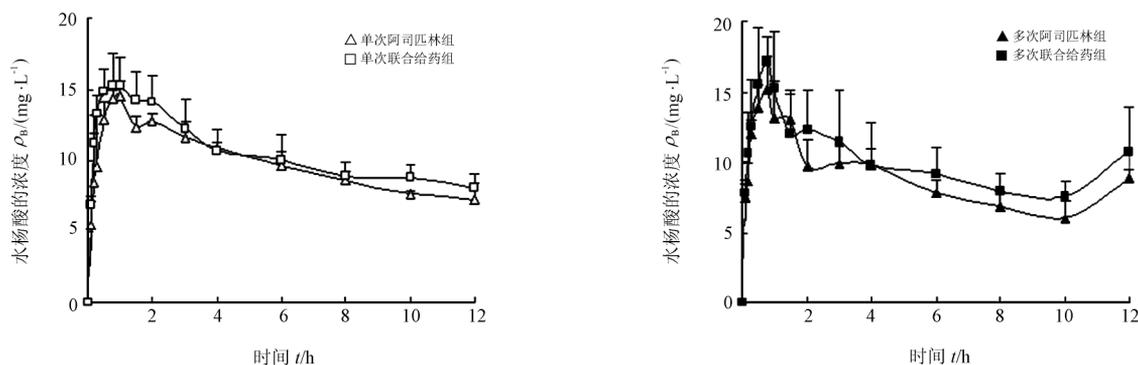


图 2 水杨酸药-时曲线图

$n=8, \bar{x}\pm s$

表 1 水杨酸的药动学参数

$n=8, \bar{x} \pm s$

参 数	单次给药组	单次联合组	多次给药组	多次联合组
$t_{1/2} t/\text{min}$	496.8±30.5	504.5±123.5	505.4±96.3	438.6±105.7
$V1/F (\text{L} \cdot \text{kg}^{-1})$	0.588±0.105	0.617±0.151	0.830±0.123	0.757±0.394
$CL/F (\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	0.001±0	0.001±0	0.001±0	0.0012±0.00044
$T_{1/2K_a} (\text{min}^{-1})$	18.51±3.08	13.32±1.76*	6.45±2.74	2.35±0.79 [△]
$T_{\text{max}} t/\text{min}$	37.5±16.0	45.0±10.6	52.5±25.9	24.0±8.22 [△]
$C_{\text{max}} \rho_B/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	15.23±0.98	14.51±2.52	15.44±2.08	15.94±3.69
$AUC_{0-720} (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	4756.1±805.4	4873.3±1114.5	5062.1±350.1	5547.7±1600.8
$AUC_{0-\infty} (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	12661.5±1827.3	12268.2±3864.6	9446.5±2191.6	12467.9±9013.2

* $P < 0.05$ 与单次给药组比较; [△] $P < 0.05$ 与多次给药组比较

3 讨 论

实验结果表明,单次联合给药组与单次阿司匹林组相比, $t_{1/2}$ 、 CL/F 、 C_{max} 和 AUC 无明显变化, T_{max} 和 $V1/F$ 有所增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。多次联合用药组与多次阿司匹林组相比, T_{max} 从 52.5 min 减小到 24 min,且差异有统计学意义($P < 0.05$), $t_{1/2}$ 从 505.4 min 减小到 438.6 min,曲线下面积 AUC_{0-720} 和 $AUC_{0-\infty}$ 分别增大了约 9.6% 和 32%,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。单次联合给药组与单次阿司匹林组、多次联合给药组与多次阿司匹林组相比,吸收半衰期 $T_{1/2K_a}$ 均减小($P < 0.05$),由此可见,复方丹参滴丸可以加快阿司匹林的吸收,这可能与复方丹参滴丸中含有冰片,能促进药物的吸收有关。多次阿司匹林组,在给药 12 h 时,水杨酸血药浓度较前一采血时间点的血药浓度有所升高,可能是由于多次给药后,水杨酸在尿液中出现了重吸收的现象;多次联合用药组,水杨酸血药浓度升高幅度更大,其原因除了尿液的重吸收外可能还与复方丹参滴丸可减少尿量,减少水杨酸的排泄有关,其具体机制有待于进一步研究。

综上所述,复方丹参滴丸对大鼠体内阿司匹林药动学有一定的影响,人体内复方丹参滴丸对阿司匹林药动学是否有影响,还需进行临床研究进一步确定。

[参 考 文 献]

[1] Weiss H J. Discovery of the antiplatelet effect of aspirin: a personal reminiscence[J]. J Thromb Haemost, 2003, 1: 1869-1875.

[2] Alberts M J, Bergman D L, Molner E, Jovanovic B D, Ushiwata I, Teruya J. Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease [J]. Stroke, 2004, 35: 175-178.

[3] 向 柏, 潘振华, 曹德英. 复方丹参滴丸质量控制和药理学研究进展[J]. 中国药房, 2007, 18: 708-710.

[4] 何兰香. 复方丹参滴丸的作用机制及临床应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19: 1030-1032.

[5] 史宏涛, 韩清华. 复方丹参滴丸对冠心病心绞痛患者心肌总缺血负荷和心率变异的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7: 649-651.

[6] 王建军, 韦 武. 复方丹参滴丸治疗冠心病心绞痛 60 例临床观察[J]. 中国实用医药, 2008, 3: 130-131.

[7] 柴志强, 魏 立, 丁 钰. 复方丹参滴丸干预阿司匹林抵抗的临床试验[J]. 实用医药杂志, 2008, 25: 387-389.

[8] 郭春梅, 吕吉元, 范春雨, 薛 铮, 秦 纲, 梁学明. 复方丹参滴丸协同阿司匹林对冠心病患者血小板聚集功能的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6: 1009-1010.

[9] 李 江, 刘文娟, 马琛明, 陈立颖, 刘俊辉. 复方丹参滴丸在阿司匹林抵抗患者治疗中血小板聚集率的研究[J]. 中国新药杂志, 2009, 18: 1424-1426.

[10] 王艳玲, 王国海, 李学明. 阿司匹林肠溶片在犬体内的药代动力学研究[J]. 西北药学杂志, 2010, 26: 42-44.

[11] 陈卫东, 吕雄文, 李 俊, 金 涌, 高 署, 马传庚. 卡托普利和低剂量阿司匹林在犬体内的药动学相互作用研究[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40: 696-698.

[本文编辑] 尹 茶