

# 参麦注射液活性成分在正常和心肌缺血 Beagle 犬体内的药动学研究<sup>Δ</sup>

唐 思<sup>1\*</sup>, 杨 瑞<sup>1</sup>, 张世良<sup>1</sup>, 董晓茜<sup>1</sup>, 李国信<sup>1#</sup>, 夏素霞<sup>1</sup>, 朱婉玲<sup>2</sup>(1.辽宁省中医药研究院临床药理实验室, 沈阳 110034; 2.辽宁中医药大学药学院, 沈阳 110032)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3475-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.06

**摘要** 目的: 研究参麦注射液活性成分人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 在正常和心肌缺血 Beagle 犬体内的药动学。方法: 取 6 只 Beagle 犬 sc 盐酸异丙肾上腺素 (1.1 mg/kg) 以复制心肌缺血模型 (模型组), 另取 6 只犬 sc 等体积生理盐水 (2.2 ml/kg) 作为对照组。两组犬分别于第 1 天上午 8:00、下午 13:00 和第 2 天上午 8:00 给药。第 2 天给药后 1 h, 各组犬 iv 参麦注射液 (1.6 ml/kg), 在 1 h 左右滴注完成。各组犬于 iv 开始后 0、0.25、0.5、0.75、1 (iv 结束)、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 取血。采用液相色谱-质谱联用法测定人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 的血药浓度, WinNonlin 6.3 软件计算药动学参数并进行比较。结果: 人参皂苷 Re 在模型组犬体内的  $t_{1/2}$  为 (2.69 ± 1.12) h, AUC<sub>0-24h</sub> 为 (2 060.78 ± 812.18) h·μg/L, V<sub>z</sub> 为 (46.16 ± 20.98) ml, CL 为 (9.02 ± 4.45) ml/h; 与正常组比较, AUC<sub>0-24h</sub> 显著升高, V<sub>z</sub>、CL 显著降低, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。而两组犬人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 的药动学参数无显著性差异 (P > 0.05)。结论: 心肌缺血会影响 Beagle 犬体内人参皂苷 Re 的消除, 对人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 药动学过程无明显影响。

**关键词** 参麦注射液; 心肌缺血模型; 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 人参皂苷 Re; Beagle 犬; 药动学

## Pharmacokinetics Study of the Active Ingredients of Shenmai Injection in Normal Beagle Dogs and Those with Myocardial Ischemia

TANG Si<sup>1</sup>, YANG Rui<sup>1</sup>, ZHANG Shiliang<sup>1</sup>, DONG Xiaoqian<sup>1</sup>, LI Guoxin<sup>1</sup>, XIA Suxia<sup>1</sup>, ZHU Wanling<sup>2</sup>(1. Laboratory of Clinical Pharmacology, Liaoning Academy of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China; 2. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of the active ingredients of Shenmai injection, including ginsenoside Rg<sub>1</sub> and ginsenoside Re, in normal Beagle dogs and those with myocardial ischemia. METHODS: 6 Beagle dogs were given isoproterenol hydrochloride (1.1 mg/kg) sc to establish the model of myocardial ischemia (model group). Another 6 Beagle dogs were given isometric normal saline (2.2 ml/kg) sc as controls group. The two groups of dogs respectively received corresponding drugs sc at 8:00 am and 13:00 pm on day 1 and at 8:00 am on day 2. Each group of dogs were given Shenmai injection (1.6 ml/kg) iv 1 h after administration on day 2, and such intravenous drip lasted for about 1 h. Blood was collected from each group 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1 (the end of iv), 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 and 24 h from the start of iv. Liquid chromatography-mass spectrometry was adopted to determine the concentrations of ginsenoside Rg<sub>1</sub> and ginsenoside Re in blood, and WinNonlin 6.3 was used to calculate pharmacokinetic parameters for comparison. RESULTS: For ginsenoside Re in the dogs of the model group,  $t_{1/2}$  was (2.69 ± 1.12) h, AUC<sub>0-24h</sub> was (2 060.78 ± 812.18) h·μg/L, V<sub>z</sub> was (46.16 ± 20.98) ml and CL was (9.02 ± 4.45) ml/h; compared to the normal control group, AUC<sub>0-24h</sub> was much greater and V<sub>z</sub> and CL were significantly lower, showing a statistically significant difference (P < 0.05). No significant difference in the pharmacokinetic parameters of ginsenoside Rg<sub>1</sub> was shown between 2 groups (P > 0.05). CONCLUSIONS: Myocardial ischemia may affect the removal of ginsenoside Re in Beagle dogs, but has no effect on the pharmacokinetic process of ginsenoside Rg<sub>1</sub>.

**KEYWORDS** Shenmai injection; Myocardial ischemia model; Ginsenoside Rg<sub>1</sub>; Ginsenoside Re; Beagle dogs; Pharmacokinetics

参麦注射液的主要成分为红参、麦冬, 具有益气固脱、养阴生津、生脉之功效, 临床广泛用于气阴两虚型休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺心病、粒细胞减少症等疾病的治疗<sup>[1-3]</sup>。参麦注射液中红参为君药, 主要成分为人参皂苷, 其中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 含量稳定, 是参麦注射液的标志性成分之

Δ 基金项目: 国家科技重大专项课题 (No. 2012ZX09303017); 临床重点专科建设项目资助 (2013 年); 国家中医药管理局临床中药学重点学科 (2009 年); 辽宁中医药大学杏林学者青蓝工程 (2013 年)

\* 副研究员, 硕士。研究方向: 临床药理学。电话: 024-86803043。E-mail: tangsi81@163.com

# 通信作者: 主任医师, 博士。研究方向: 临床药理学。电话: 024-86803043。E-mail: syyljdlx024@126.com

一。目前, 多项研究报道了参麦制剂的药动学研究<sup>[4-6]</sup>, 但对不同模型下参麦注射液的药动学比较的研究尚未见文献报道。因此, 在本研究中笔者探讨了参麦注射液活性成分人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re 在正常和心肌缺血 Beagle 犬体内的药动学过程, 旨在为其临床应用提供一定的实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

6410 型三重四级杆串联液质联用 (LC-MS/MS) 仪, 包括电喷雾离子源、Quantitative Analysis B.01.04 数据处理系统 (美国安捷伦公司); XW-80A 微型旋涡混合仪 (上海沪西分析仪器厂); XS105 分析天平 (瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); SIGMA3-18k 低温高速离心机 (德国 Sigma 公司); Milli-Q 超纯

水机(德国默克公司);DW-86L836超低温保存箱(青岛海尔公司);MTN-2800W氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

## 1.2 试剂

参麦注射液(正大青春宝药业有限公司,批号:1308261,规格:10 ml/支;1 ml参麦注射液中含人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub> 184.86 μg、人参皂苷Re 105.59 μg);盐酸异丙肾上腺素(上海禾丰制药有限公司,批号:131001,规格:2 ml:1 mg);肝素钠注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司,批号:1209124,规格:1 ml/支)。人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>对照品(批号:110703-201128)、人参皂苷Re对照品(批号:110754-201324)、内标地西洋对照品(批号:171225-200302)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇(色谱纯)均购自德国默克公司。

## 1.3 动物

普通级Beagle犬12只,♂♀各半,体质量(8~10) kg,由北京市沙河通利试验动物养殖场提供,许可证号:SCXY(京)2010-0004。

## 2 方法

### 2.1 色谱与质谱条件

色谱柱为ZORBAX SB-C<sub>18</sub> Synergi POLAR-RP柱(30 mm×2.16 mm, 3.5 μm);流动相为水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~5 min, 15% B→30% B; 5~18 min, 30% B; 18~23 min, 30% B→100% B; 23~25 min, 100% B);流速为0.3 ml/min;柱温为40 ℃;进样量为10 μl。

质谱条件:ESI离子源;气体流量为9 L/min;气体温度为350 ℃;雾化压力为276 kPa;毛细管电压为4 000 V;扫描方式为选择多反应监测(MRM),正离子方式检测;用于定量的离子 $m/z$ 分别为823.5→643.5(人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>)、969.5→789.5(人参皂苷Re),碎裂电压分别为350、320 V,碰撞能量(CE)分别为40 V、45 V;内标 $m/z$ 为285.0→193.0,碎裂电压为165 V,CE为30 V;扫描时间均为200 ms。

### 2.2 贮备液的制备

准确称取人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re和内标对照品各10 mg,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得1 mg/ml的贮备液,4 ℃保存,使用时用乙腈稀释至所需质量浓度即可。

### 2.3 分组、造模与给药

采用分层随机法,将12只Beagle犬分为心肌缺血模型组和正常组,每组6只,♂♀各半。心肌缺血模型组犬sc盐酸异丙肾上腺素(1.1 mg/kg,剂量选择依据文献[7-9]),正常组犬sc等体积生理盐水(2.2 ml/kg)作为对照。两组犬分别于第1天上午8:00、下午13:00和第2天上午8:00给药。第1次给药前16 h各组犬禁食不禁水,第2天给药后1 h,各组犬iv参麦注射液(1.6 ml/kg,剂量选择依据文献[10]),在1 h左右滴注完成。各组犬于iv开始后0、0.25、0.5、0.75、1(iv结束)、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h静脉采血5 ml于肝素化离心试管中,以离心半径为8 cm、3 500 r/min离心10 min分离血浆,于-70 ℃冰箱保存,备用。

### 2.4 血浆样品处理

精密吸取血浆200 μl,置于2 ml空白离心管中,加入内标贮备液10 μl,涡旋混匀30 s;加入乙腈400 μl,涡旋混匀3 min;以离心半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min。取上清液于2 ml空白离心管中,在40 ℃水浴下氮气吹干,再加入流动相100 μl复溶,涡旋2 min,以离心半径为6 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液10 μl进样分析。

### 2.5 人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>和人参皂苷Re测定的方法学考察

按照相关方法考察人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re测定方法的回归方程与线性范围、回收率、基质效应、精密度、准确度和稳定性。

## 2.6 数据处理

采用WinNonlin 6.3药动学软件对犬体内的药-时曲线进行非房室模型拟合,采用SPSS 19.0统计软件对两组犬的药动学参数进行比较。

## 3 结果

### 3.1 方法学考察结果

3.1.1 专属性考察结果 检测方法为课题组前期研究的方法<sup>[9]</sup>。取“2.2”~“2.4”项下溶液按“2.1”项下方法进样测定,结果人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>和人参皂苷Re在选定的色谱和质谱条件下专属性良好。色谱图见图1。

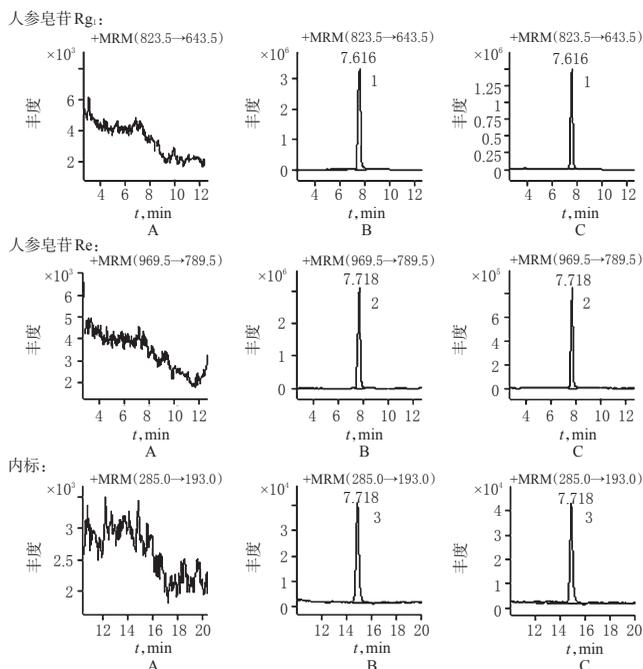


图1 LC-MS/MS 色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>+人参皂苷Re+内标;C.血浆样品+内标;1.人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>;2.人参皂苷Re;3.内标

Fig 1 LC-MS/MS chromatogram

A. blank plasma; B. blank plasma+ginsenoside R<sub>g<sub>i</sub></sub>+ginsenoside Re+internal standard; C. plasma sample + internal standard; 1. ginsenoside R<sub>g<sub>i</sub></sub>; 2. ginsenoside Re; 3. internal standard

3.1.2 线性范围、回收率、精密度及基质效应考察结果 人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re线性范围分别为0.64~509.00 μg/L( $r=0.9967$ )、0.62~501.00 μg/L( $r=0.9978$ ),定量限(信噪比为10)分别为0.64、0.62 μg/L;日间和日内精密度均小于15%( $n=18$ );提取回收率均大于85%( $RSD<15\%$ , $n=9$ );基质效应在90%~110%之间( $RSD<15\%$ , $n=18$ ),结果见表1。

3.1.3 稳定性考察结果 将含人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re的血浆样品分别进行室温(25 ℃)放置6 h、反复冻融、长期冷冻60 d考察。结果显示,人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re在上述条件下均能保持稳定, $RSD$ 均小于15%( $n=18$ )。

### 3.2 药动学研究

两组犬分别于各时间点测定人参皂苷R<sub>g<sub>i</sub></sub>、人参皂苷Re血药浓度,平均药-时曲线见图2。采用WinNonlin 6.3软件,按非房室模型进行处理,计算药动学参数,见表2。

表1 精密度及回收率试验结果( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Results of precision and recovery tests( $\bar{x} \pm s$ )

组分	加入量, $\mu\text{g/L}$	日内精密度		日间精密度		提取回收 率, %	基质效应, %
		测得量, $\mu\text{g/L}$	RSD, %	测得量, $\mu\text{g/L}$	RSD, %		
人参皂苷R <sub>g</sub> <sub>1</sub>	1.28	1.00±0.04	4.48	1.03±0.07	6.85	86.63±8.23	103.67±5.96
	50.90	52.18±3.03	5.80	51.99±2.50	4.80	100.24±2.27	104.06±6.31
	407.20	368.49±32.79	8.90	401.59±36.49	9.09	95.27±6.98	101.49±4.05
人参皂苷Re	1.24	1.05±0.05	5.10	1.00±0.07	6.79	96.22±3.60	108.11±3.84
	50.10	49.36±2.65	5.36	51.98±3.36	6.46	94.54±7.86	94.16±3.84
	400.80	402.20±11.84	2.95	398.91±21.55	5.40	100.97±6.21	99.91±5.12

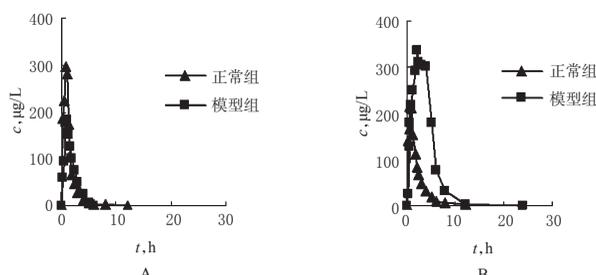


图2 两组犬人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、人参皂苷Re平均药-时曲线

A. 人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>; B. 人参皂苷Re

Fig 2 Mean drug concentration-time curves of ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub> and ginsenoside Re of dogs in 2 groups

A. ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub>; B. ginsenoside Re

表2 两组犬人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、人参皂苷Re药动学参数比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 2 Comparison of the pharmacokinetic parameters of ginsenoside R<sub>g</sub><sub>1</sub> and ginsenoside Re of dogs between 2 groups( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	人参皂苷R <sub>g</sub> <sub>1</sub>		人参皂苷Re	
	正常组	模型组	正常组	模型组
$t_{1/2}$ , h	2.41±2.21	1.04±0.55	2.44±0.98	2.69±1.12
$t_{max}$ , h	0.83±0.29	1.16±0.41	0.81±0.31	2.00±1.10
$AUC_{0-24h}$ , h· $\mu\text{g/L}$	437.45±206.63	363.58±138.82	460.79±173.51	2 060.78±812.18*
$AUC_{0-\infty}$ , h· $\mu\text{g/L}$	443.91±206.48	372.74±138.02	471.51±174.42	2 098.23±855.41*
$V_z$ , ml	178.56±225.53	76.03±57.83	142.55±87.86	46.16±20.98*
CL, ml/h	42.49±17.42	49.39±21.84	38.73±15.96	9.02±4.45*
$MRT_{0-24h}$ , h	0.95±0.31	1.31±0.35	1.69±0.46	4.50±1.23
$MRT_{0-\infty}$ , h	1.20±0.61	1.47±0.42	2.02±0.66	4.66±1.21

注:与正常组比较, \* $P<0.05$

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

结果,正常组与模型组Beagle犬在iv参麦注射液后,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>的主要药动学参数两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。而模型组犬人参皂苷Re的 $t_{1/2}$ 为(2.69±1.12)h,  $AUC_{0-24h}$ 为(2 060.78±812.18)h· $\mu\text{g/L}$ ,  $V_z$ 为(46.16±20.98)ml, CL为(9.02±4.45)ml/h;与正常组比较,模型组犬人参皂苷Re的 $AUC_{0-24h}$ 显著升高,  $V_z$ 、CL显著降低( $P<0.05$ )。

#### 4 讨论

相关研究报道,大剂量注射异丙肾上腺素可致心肌收缩过快、收缩力过大、冠脉充盈不足、心肌耗氧量大大超过供氧量,导致心肌缺血<sup>[7-9]</sup>。笔者前期进行了预实验,筛选异丙肾上腺素制备心肌缺血模型的用量,最终确定sc盐酸异丙肾上腺素1.1 mg/kg复制心肌缺血模型。另外,根据参麦注射液临床用药的剂量,按单位体质量计算剂量<sup>[10]</sup>,经换算后给予Beagle犬参麦注射液剂量确定为1.6 ml/kg。

本研究首次对参麦注射液在心肌缺血与正常Beagle犬中

的药动学参数进行了比较。结果,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>在模型组犬体内药动学无显著变化。但相关研究报道,人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>对心肌缺血有一定治疗作用<sup>[11-12]</sup>,提示后续研究可结合药效研究、扩大样本量进一步探讨人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>治疗心肌缺血的疗效与机制。

相关研究报道,人参皂苷Re可以抑制急性缺血再灌注诱导的心肌细胞凋亡<sup>[13-14]</sup>。本研究表明人参皂苷Re在模型组犬体内的 $V_z$ 、CL显著低于正常组,使血药浓度、 $AUC_{0-24h}$ 和 $AUC_{0-\infty}$ 显著高于正常组,这可能是造模后Beagle犬的组织分布、代谢酶等发生了病理变化原因导致的,但也不排除是由于实验用Beagle犬数量少或是个体差异造成的。

综上所述,心肌缺血会影响Beagle犬体内人参皂苷Re的消除;对人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>药动学过程无明显影响。后续研究应尽可能找出与之相关活性物质及其代谢产物,并结合药理、药效进行更全面的研究。

#### 参考文献

- [1] 余健,辛艳飞,宣尧仙.参麦注射液药理作用的物质基础研究进展[J].医药导报,2013,32(4):662.
- [2] 徐成恒.参麦注射液的临床应用进展[J].安徽医学,2011,32(6):839.
- [3] 曹旭东,丁志山,陈建真.参麦注射液药理及临床研究进展[J].中国中医药信息杂志,2010,17(3):104.
- [4] 李国信,唐思,夏素霞,等.生脉拆方系列注射液中人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>和Re药代动力学研究[J].中华中医药学刊,2010,28(11):2 310.
- [5] 夏素霞,李国信,姜春梅,等.液相色谱-质谱联用法同时测定生脉注射液中人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub>和五味子醇甲在健康人血浆的浓度[J].中国临床药理学杂志,2011,27(10):789.
- [6] 李国信,姜春梅,夏素霞,等.生脉注射液与参麦注射液在健康人体的药代动力学[J].中国临床药理学杂志,2011,27(6):432.
- [7] 孙波,高海成,黄秀英,等.冠脉结扎法与给药法制作大鼠心肌缺血模型比较[J].实验动物科学,2010,27(5):16.
- [8] 杨勇,容蓉,陈明强,等.异丙肾上腺素诱导小鼠急性心肌缺血模型的方法比较[J].中药药理与临床,2010,26(5):153.
- [9] 李晶华,肖铁卉,马静,等.芪丹通脉片对犬慢性心肌缺血预防作用及其机制[J].安徽中医学院学报,2010,29(4):52.
- [10] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等.药理实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):1 069.
- [11] 来方远,潘永明,艾秀锋,等.人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>对急性心肌梗死豚鼠心电图的影响[J].中华中医药学刊,2011,29(17):2 529.
- [12] 来方远,潘永明,艾秀锋,等.人参皂苷R<sub>g</sub><sub>1</sub>对豚鼠急性心肌缺血的保护作用[J].中药新药与临床药理,2011,22(4):390.
- [13] 高莹,杨积武,王艳春,等.人参皂苷Re对大鼠心肌缺血再灌注细胞凋亡及Caspase-3的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(2):124.
- [14] 石楸鸣.人参皂苷的药理作用研究进展[J].中国药房,2010,21(31):2 967.

(收稿日期:2015-11-04 修回日期:2016-07-18)

(编辑:刘明伟)