

## · 实验研究 ·

# 丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内药物代谢动力学参数和肠吸收特性的影响

李梦颖<sup>1</sup>, 张 瑞<sup>1</sup>, 杨 晔<sup>1,2</sup>, 邵福平<sup>1</sup>, 徐慧慧<sup>1</sup>, 尹登科<sup>1,2,3</sup>

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽省中医药科学院药物制剂研究所, 安徽 合肥 230012; 3. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012)

**[摘要]目的** 考察丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内药物代谢动力学参数的影响,为两药的临床合用提供依据。**方法** 链脲佐菌素腹腔注射建立糖尿病大鼠模型,考察丹参注射液对格列喹酮药物代谢动力学参数的影响;建立原位在体肠循环模型,研究丹参注射液对格列喹酮肠吸收特性的影响。**结果** 糖尿病大鼠的药物代谢动力学研究表明,两药合用能够显著缩短格列喹酮的达峰时间,增加最大药物浓度、药时曲线下面积,并且可以显著减少清除率。肠吸收特性实验结果显示,丹参注射液可以显著增加格列喹酮在糖尿病大鼠体内吸收速率和表观渗透系数。**结论** 丹参注射液和格列喹酮合用可以显著提高糖尿病大鼠格列喹酮的血药浓度和生物利用度,其原因可能与丹参注射液促进格列喹酮的小肠吸收相关。

**[关键词]** 格列喹酮;丹参注射液;血药浓度;肠吸收

**[中图分类号]** R969.1 **[DOI]** 10.3969/j.issn.2095-7246.2019.05.017

格列喹酮作为第二代磺脲类口服降糖药物,因口服吸收快、作用时间短的特点而在临床上被广泛使用,但是临床上存在低血糖发生的风险<sup>[1]</sup>。丹参因其活血化瘀、祛瘀止痛之功效常用于血瘀证<sup>[2]</sup>的治疗。丹参注射液和格列喹酮在临床上常用于糖尿病及其并发症的治疗,但是丹参注射液对格列喹酮药物代谢动力学参数是否有影响尚不清楚。本研究考察了丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内血药浓度的影响,建立原位在体肠循环动物模型研究丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内肠吸收的影响,观察丹参注射液对格列喹酮药物代谢动力学参数及肠吸收特性的影响,为今后两药的临床合用提供依据。

## 1 材料

1.1 试剂 丹参注射液(批号 1705083):上海中西制药有限公司;格列喹酮标准品(批号 D07F6J1):上海源叶生物科技有限公司;链脲佐菌素(streptozotocin, STZ;批号 EZ2921B400):美国 Sigma 公司;格列喹酮片(糖适平,批号 1140637):北京万辉双鹤药业有限责任公司;甲醇、乙腈(色谱纯):天津

市大茂化学试剂厂;水为 Mill-Q 超纯水;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Hypersil BDS C<sub>18</sub> 色谱柱:大连依利特公司;Waters 1529 高效液相色谱仪:美国 Waters 公司;220-A 型数显电热恒温干燥箱:上海阳光实验仪器有限公司;KQ2200 型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;TG16-WS 台式高速离心机:长沙湘仪离心机仪器有限公司;ZXZ-Z 型循环水式真空泵:河南一恒仪器有限公司。

1.3 动物 健康 SD 大鼠 20 只,雌雄不限,SPF 级,饲养环境温度 18~26 ℃,月龄 1~2 个月,体质量(220±10)g,由安徽医科大学实验动物中心[动物生产许可证号:SCXK(皖)2017-001;动物使用许可证号:SYXK(皖)2017-006]提供。

## 2 方法

2.1 糖尿病大鼠模型的制备 所有动物适应性喂养 1 周后,模型复制前禁食 12 h(一般过夜禁食,不禁水),STZ 按每千克体质量 65 mg 的剂量一次性腹腔注射,临用前用枸橼酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 4.5)配制。72 h 后检测空腹血糖,空腹血糖浓度 > 16.6 mmol/L 即为模型复制成功。

2.2 色谱条件 按照文献<sup>[3]</sup>确定色谱条件。Hypersil BDS C<sub>18</sub> (4.6 mm×200 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(65:35),过滤并脱气;流速:1.0 mL/min;检测波长:294 nm;柱温:25 ℃;进样量:20 μL。

2.3 样品的处理方法 精密吸取大鼠血浆 200 μL,加入 1 mL 二氯甲烷,涡旋混匀 2 min 后,4 000 r/min

**基金项目:**国家自然科学基金项目(81102682);安徽省自然科学基金项目(1708085MH216);安徽中医药大学探索性研究项目(2017HXTS42)

**作者简介:**李梦颖(1994-),女,硕士研究生

**通信作者:**尹登科(1977-),男,博士,教授, [yindengke@ahtcm.edu.cn](mailto:yindengke@ahtcm.edu.cn)

离心 10 min, 取二氯甲烷层, 50 °C 氮气吹干, 加入 200  $\mu\text{L}$  甲醇复溶, 涡旋混匀 2 min, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液 20  $\mu\text{L}$  进样。

精密吸取人工肠液样品(Tyrode 液)<sup>[4]</sup> 200  $\mu\text{L}$ , 加入 1 mL 二氯甲烷, 涡旋混匀 2 min 后, 4 000 r/min 离心 10 min, 取二氯甲烷层, 50 °C 氮气吹干, 加入 200  $\mu\text{L}$  流动相复溶, 涡旋混匀 2 min, 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液 20  $\mu\text{L}$  进样。

**2.4 药物代谢动力学研究** 选取 12 只糖尿病大鼠, 随机分为格列喹酮组和丹参-格列喹酮组。格列喹酮组单独灌胃给予 15 mg/kg(按照人与大鼠等效剂量比值 6 倍换算, 相当于药品说明书建议成人每日临床剂量 2.5 mg/kg) 的格列喹酮混悬水溶液; 丹参-格列喹酮组先腹腔注射 2 mL/kg(药品说明书建议成人每日临床剂量 0.5 g/kg) 的丹参注射液 5 min 后, 灌胃给予 15 mg/kg 的格列喹酮混悬水溶液。两组均在给予格列喹酮后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8 h 经眼眶取血 0.3 mL 血样, 所取血样分别置于 1.5 mL 涂有肝素钠的微型离心管中, 静置 30 min 后, 在 4 000 r/min 下离心 10 min, 取上层血浆 200  $\mu\text{L}$ , 按“2.3”项下操作, 记录峰面积, 计算血药浓度, 并绘制平均血药浓度-时间曲线图。

**2.5 肠吸收实验** 按文献<sup>[5]</sup>的方法, 将糖尿病 SD 大鼠(禁食 12 h、自由饮水)随机分为两组(格列喹酮组和丹参-格列喹酮组), 每组 4 只, 称质量后腹腔注射 10% 水合氯醛(3.5 mL/kg), 麻醉后固定并维持体温, 沿腹中线打开腹腔, 暴露小肠, 两组大鼠均选取全肠段(选取肠段标准如下: 十二指肠自幽门 1 cm 处开始向下, 盲肠上行 10 cm 止), 肠段两端切口, 用预热至 37 °C 的生理盐水将肠内容物冲洗干净, 切口两端分别插管, 结扎固定。伤口处用浸有生理盐水脱脂棉覆盖保湿, 保温 37 °C。以 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  格列喹酮-Tyrode 灌注液 40 mL 进行肠循环灌注, 流速为 0.2 mL/min, 待灌注液充满整个循环通路时记为 0 时刻, 循环灌注 180 min 后结束, 期间每隔 20 min 取循环液 1 mL 并检测其中格列喹酮含量。丹参-格列喹酮组在 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  格列喹酮-Tyrode 液灌注前 5 min, 经尾静脉注射丹参注射液(2 mL/kg), 再按上述方法进行实验, 两组均设置空白大鼠对照。实验结束后测定小肠剩余药量  $x$ , 根据小肠剩余药量的对数( $\ln x$ )对取样时间  $t$  作图, 求得速率常数(rate constant,  $K_a$ ), 计算表观渗透系数(apparent permeability coefficient,  $P_{app}$ )。计算公式如下<sup>[4-5]</sup>:

$$\ln x = \ln x_0 - K_a t$$

$$P_{app} = \frac{K_a}{3600A}$$

其中  $x_0$  为灌注液中的药物初始量,  $A$  为小肠吸收面积。

**2.6 统计学方法** 对药-时曲线中的数据用 DAS 2.0 统计软件进行处理。实验数据采用 SPSS 16.0 软件处理, 连续型变量采用“均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )”进行统计学描述, 两组均数比较采用两个独立样本  $t$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内血药浓度的影响** 格列喹酮单独灌胃以及丹参注射液合用后其药物代谢动力学过程在糖尿病大鼠体内均符合一室模型。药-时曲线见图 1, 药物代谢动力学参数见表 1。结果表明, 在与丹参注射液合用后, 格列喹酮在糖尿病大鼠体内的药物代谢动力学参数发生了显著的改变。达峰时间从 2.70 h 缩短到了 2.08 h; 最大药物浓度从 6.35  $\mu\text{g}/\text{mL}$  增加到了 24.14  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 大约提高了 3.8 倍, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 药-时曲线下面积从 37.35  $\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$  提高至 89.42  $\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 并且清除率大约缩小了 2 倍, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

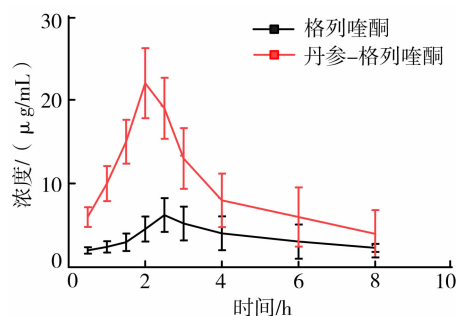


图 1 丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内血药浓度-时间曲线的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

**3.2 丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠肠内吸收的影响** 丹参注射液对格列喹酮肠吸收特性见表 2。与格列喹酮组相比, 丹参-格列喹酮组的吸收速率  $K_a$  从  $(8.53 \pm 1.29) \times 10^{-3}/\text{s}$  增加到  $(21.39 \pm 7.47) \times 10^{-3}/\text{s}$ ;  $P_{app}$  从  $(1.82 \pm 0.22) \times 10^{-8} \text{ cm}/\text{s}$  增加到  $(4.35 \pm 1.35) \times 10^{-8} \text{ cm}/\text{s}$ ; 丹参-格列喹酮组的  $K_a$  和  $P_{app}$  值显著增加, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这表明丹参注射液可以促进格列喹酮在糖尿病大鼠体内的吸收。

### 4 讨论

格列喹酮与丹参注射液合用后能显著增加格列喹酮的  $c_{\max}$ 、AUC, 显著缩短  $t_{\max}$ , 显著减少 Cl。丹

表1 丹参注射液对格列喹酮药物代谢动力学参数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	$t_{1/2}/h$	$t_{max}/h$	$c_{max}/(\mu g/mL)$	Cl/[L/(h·kg)]	AUC/[mg/(L·h)]
格列喹酮	6	2.06±1.08	2.70±0.27	6.35±2.13	3.40±0.90	37.35±10.25
丹参-格列喹酮	6	2.74±1.00	2.08±0.20*	24.14±2.80*	1.43±0.41*	89.42±24.55*

注:与格列喹酮组相比,\* $P<0.05$ ;  $t_{1/2}$ (half-life):半衰期;  $t_{max}$ (time to peak):达峰时间;  $c_{max}$ (peak concentration):最大血药浓度; Cl(clearance):清除率; AUC(area under curve):血药浓度-时间曲线下面积

表2 丹参注射液对格列喹酮在糖尿病大鼠体内肠吸收特性的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Ka/( $10^{-3}$ s)	Papp/( $10^{-8}$ cm/s)
格列喹酮	4	8.53±1.29	1.82±0.22
丹参-格列喹酮	4	21.39±7.47*	4.35±1.35*

注:与格列喹酮组比较,\* $P<0.05$

参注射液可以显著增加格列喹酮在糖尿病大鼠体内的  $K_a$  和  $P_{app}$ 。这可能是丹参中某些成分影响格列喹酮的吸收、分布、代谢和排泄过程。肠道外排载体和血流速度可能是影响药物口服吸收的因素。有研究表明,丹参酮 I 为丹参的有效成分之一,可以抑制以地高辛为底物的 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)转运<sup>[8]</sup>。笔者推测,丹参中某些成分可能通过抑制 P-gp 而影响格列喹酮的吸收和转运过程。丹参具有活血的作用,丹参的主要成分丹参酮 II A 能通过抑制一氧化氮合成酶和提高细胞色素 P450 代谢产物,引起血管的舒张,从而加快血液流动<sup>[9]</sup>,丹参素 A 和隐丹参酮以及二氢丹参酮同样有着扩张血管的作用<sup>[10]</sup>,扩张血管、加快血液流动可能是丹参注射剂影响格列喹酮肠道吸收的原因之一。格列喹酮在大鼠和人的体内主要由 CYP2C 系列的肝药酶代谢,其他涉及的酶还有 CYP3A、CYP2D、CYP1A 和 CYP2E 系列的酶<sup>[11-12]</sup>。而丹参中活性成分隐丹参酮不仅可以竞争性抑制肝微粒体的 CYP1A2 和 CYP2C9,还可以非竞争性地抑制 CYP3A4 酶的活性;丹参酮可以抑制肝药酶 CYP1A2、CYP2C6 和 CYP2C11 的活性,并且丹参酮 II A 可显著抑制 CYP2C19 的活性<sup>[13-14]</sup>;丹参的乙醇提取物是 CYP1A2 酶的强抑制剂,是 CYP3A4/5 的中等强度抑制剂<sup>[15]</sup>。因此,丹参可能通过抑制一个或多个肝微粒体酶,从而抑制格列喹酮在肝脏内的代谢,进而影响格列喹酮在大鼠体内的血药浓度,改变其药物代谢动力学过程。

综上所述,丹参注射液和格列喹酮合用可以显著提高糖尿病大鼠格列喹酮的血药浓度和生物利用度,其原因可能与丹参注射液促进格列喹酮的小肠吸收相关,提示临床上丹参注射液与格列喹酮联合

用药时格列喹酮用量需适当调整,以免发生不良反应。

#### 参考文献:

- [1] 李慧芳,林惠芳,陈基运.小剂量糖适平引起低血糖 2 例报告[J].右江民族医学院学报,2001,2(3):373.
- [2] 郑绍勇,孙悦,王朝晖,等.干燥综合征血瘀证方药运用规律研究[J].江西中医药,2018,49(12):12-14.
- [3] 陈西敬,张晓楠,贾萍,等.格列喹酮胶囊和片剂的人体药动学和相对生物利用度[J].中国药科大学学报,2000,31(6):419-421.
- [4] WAGNER D, SPAHN-LANGGUTH H, HANAFY A, et al. Intestinal drug efflux: formulation and food effects [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 50(Suppl 1): S13-S31.
- [5] 王利胜,涂星,陈豆,等.在体肠循环法研究黄芪提取物对川芎嗪大鼠肠吸收的影响[J].中国医院药学杂志,2012,32(9):661-664.
- [6] VARMA M V. Prediction of *in vivo* intestinal absorption enhancement on P-glycoprotein inhibition, from rat *in situ* permeability[J]. J Pharm Sci, 2005, 94(8): 1694-1704.
- [7] 李沉纹,罗明和,李卓恒,等.牛蒡子苷大鼠体内肠吸收动力学研究[J].中草药,2013,44(6):727-730.
- [8] LI X X, ZHOU Z W. Role of P-glycoprotein in the transport of tanshinone I, one active triterpenoid from *Salvia miltiorrhiza* [J]. Drug Metab Lett, 2008, 2(3): 223-230.
- [9] CHAN P, LIU I M, LI Y X, et al. Antihypertension induced by Tanshinone II A isolated from the roots of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 3(9): 26-27.
- [10] WAN A K, LEUNG S W, ZHU D Y. Vascular effects of different lipophilic components of "Danshen", a traditional Chinese medicine, in the isolated porcine coronary artery [J]. J Nat Prod, 2008, 71(11): 1825-1828.
- [11] HE F, LI Y, ZENG C, et al. Contribution of cytochrome P450 isoforms to gliquidone metabolism in rats and human [J]. Xenobiotica, 2014, 44(3): 229-234.
- [12] HOLSTEIN A, HAHN M, PATZER O, et al. Impact of clinical factors and CYP2C9 variants for the risk of severe sulfonylurea-induced hypoglycemia [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2011, 67(5): 471-476.
- [13] WANG X, CHEUNG C M, LEE W Y, et al. Major tan-

shinones of Danshen(*Salvia miltiorrhiza*) exhibit different modes of inhibition on human CYP1A2, CYP2C9, CYP2E1 and CYP3A4 activities *in vitro* [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(11): 868-875.

[14] WANG X. Investigation of cytochrome P450 1A2 and 3A inhibitory properties of Danshen tincture[J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(3-4): 348-354.

[15] WANG X, LEE W Y, OR P M. Effects of major tanshinones isolated from Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) on rat CYP1A2 expression and metabolism of model CYP1A2 probe substrates[J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(8): 712-725.

(收稿日期: 2019-03-17; 编辑: 曹健)

## Effect of Danshen Injection on Pharmacokinetic Parameters and Intestinal Absorption Characteristics of Gliquidone in Diabetic Rats

LI Meng-ying<sup>1</sup>, ZHANG Rui<sup>1</sup>, YANG Ye<sup>1,2</sup>, SHAO Fu-ping<sup>1</sup>, XU Hui-hui<sup>1</sup>, YIN Deng-ke<sup>1,2,3</sup>

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 2. Institute of Pharmaceutics, Anhui Academy of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 3. Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula of Anhui Province, Anhui Hefei 230012, China)

**[Abstract] Objective** To investigate the effect of Danshen injection on the pharmacokinetic parameters of gliquidone in diabetic rats, and to provide a basis for rational drug use in clinical practice. **Methods** A rat model of diabetes was established by intraperitoneal injection of streptozotocin to evaluate the effect of Danshen injection on the pharmacokinetic parameters of gliquidone *in vitro*, and an *in situ* intestinal perfusion model was established to analyze the effect of Danshen injection on the intestinal absorption characteristics of gliquidone. **Results** The pharmacokinetic parameters of the diabetic rats showed that Danshen injection significantly shortened the time to peak of gliquidone, increased the maximum drug concentration and the area under the drug-time curve, and significantly reduced clearance rate. The results of the intestinal absorption experiment showed that Danshen injection significantly increased the absorption rate and apparent permeability coefficient of gliquidone in diabetic rats. **Conclusion** Danshen injection combined with gliquidone can significantly increase the plasma concentration and bioavailability of gliquidone, which may be associated with the fact that Danshen injection can promote the small intestinal absorption of gliquidone.

**[Key words]** Gliquidone; Danshen injection; Plasma concentration; Intestinal absorption