

· 药物代谢 ·

冰片对栀子在小鼠体内药代动力学的影响

田秀峰¹, 李鹏跃², 王宏洁², 边宝林², 杜守颖^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立小鼠血浆中栀子苷的高效液相色谱(HPLC)分析方法, 研究冰片对栀子苷在小鼠体内药代动力学的影响。方法: 小鼠分别口服给予栀子提取物及栀子提取物加冰片, 采用 HPLC 法测定小鼠血浆中栀子苷浓度, 以 Kinetic 软件拟合, 计算相关药动学参数。结果: 栀子苷在血浆中 $1.188 \sim 76.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性良好 ($r = 0.9993, n = 5$)。栀子单独给药, 栀子-冰片配伍给药栀子苷的代谢均符合非房室模型。栀子与冰片配伍给药可以使栀子苷血药浓度 (C_{\max}) 增大, 药-时曲线下面积 (AUC) 明显增加, 血药浓度平均滞留时间 (MRT) 延长。结论: 冰片与栀子配伍应用能提高栀子苷的吸收, 延长其消除, 提高生物利用度。

[关键词] 栀子; 栀子苷; 冰片; 药代动力学; 配伍应用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)14-0135-04

Effects of Borneol on Pharmacokinetics of Geniposide of Gardenia Jasminoides in Mice

TIAN Xiu-feng¹, LI Peng-yue², WANG Hong-jie², BIAN Bao-lin², DU Shou-ying^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of geniposide in mice plasma by high performance liquid chromatography (HPLC), and study the effect of borneol on the pharmacokinetics of geniposide in mice with the proposed method. **Method:** Mice were divided into two groups and administrated with the extraction of Gardenia jasminoides and the extraction coupled with Borneol, respectively. HPLC was used for the determination of geniposide in plasma, and the pharmacokinetic parameters were calculated by the software of Kinetic. **Result:** The good linearity range of geniposide in plasma was $1.187 \sim 76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9993, n = 5$). The pharmacokinetics model of geniposide in the two groups followed the non-compartment model. Compared with the group administrated with gardenia, the gardenia-borneol group showed significant increase in the area under the plasma concentration-time curve (AUC) and in the peak concentration (C_{\max}), with an extension of the mean residence time (MRT). **Conclusion:** Borneol could accelerate the absorption of geniposide, decelerate its clearance speed, increase its bioavailability.

[Key words] Gardenia jasminoides; geniposide; borneol; pharmacokinetics; combined application

栀子为具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒的功效。其化学成分主要包括环烯醚萜苷类、二萜、三

[收稿日期] 20120423(306)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项基金(20092X09502-008); 国家自然科学基金面上项目(81073057); 北京中医药大学复方中药制药创新团队(2011-CX70-13); 教育部博士点基金(20090013110007)

[第一作者] 田秀峰, 在读博士, 从事中药新药与保健食品研究开发

[通讯作者] * 杜守颖, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新药新剂型与新技术, Tel: 010-84738645, E-mail: dushouying@263.net

萜类、黄酮类、有机酸酯类及挥发油类等,其中以栀子苷为代表性成分。栀子具有脑损伤保护、胰腺保护、降糖、抗肿瘤作用、保肝利胆等药理作用^[1-3]。冰片具有开窍醒神、清热止痛的功效。现代研究表明冰片可提高其他药物生物利用度,引药入脑,促进其他药物通过血脑屏障,从而提高疗效^[4-7]。目前关于冰片与其他药物配伍的体内过程报道较多,栀子与冰片配伍的体内研究未见报道。本文建立了小鼠血浆中栀子苷 HPLC 测定方法,观察了二者配伍前后的血药浓度变化,并进行药代动力学参数的统计学处理,以阐明配伍冰片对栀子苷药代动力学的影响。

1 材料

1.1 仪器 Agilent Technologies 1200 系列高效液相色谱仪, DAD 检测器(美国 agilent); TG16-ws 台式高速离心机(上海安亭科学仪器公司); WH-861 涡旋混合器(上海骥辉科学分析仪器有限公司); N-EVAP-1112 氮吹仪(美国 Organomation Associates); AQUA SOLUTIONS 超纯水机(美国)。

1.2 试药 栀子苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110749-200714); 栀子提取物(含栀子苷约 40%,实验室自制); 冰片药材(艾片,贵州金色制药有限公司); 肝素钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20080317); 乙腈为色谱纯(美国 Fisher); 实验用水为超纯水(自制); 其余试剂为分析纯。

1.3 动物 ICR 小鼠雄性,体重(20 ± 2) g,中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK-(军)-2007-004。

2 方法

2.1 药物制备 栀子加水提取,过大孔吸附树脂纯化,干燥。得含栀子苷约 40% 的栀子提取物,出膏率约为 8%。取栀子提取物约 580 mg(折合生药约 7.2 g)精密称定,加水 20 mL 超声溶解,分成 2 份。其中 1 份加 0.5% CMC 溶液 10 mL 稀释均匀,作为栀子组的给药样品;另 1 份与按配方比例(栀子:冰片 2.4:1)配制的冰片 0.5% CMC 溶液混悬液 10 mL,混悬均匀,作为栀子-冰片组的给药样品。

2.2 分组给药、取血 取雌性 ICR 小鼠 130 只,随机分为 2 组:栀子组、栀子-冰片组。每组 65 只。实验前禁食 12 h,两组均按栀子提取物 7.2 mg·kg⁻¹(含生药 1.8 g·kg⁻¹) ig,每只小鼠给药容量 0.2 mL。于给药后 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 240 min,摘眼球取血 0.5 mL,置肝素钠处理过

的离心管中,备用。

2.3 血药浓度测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱 C₁₈ 色谱柱(Agilent, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水(14:86); 检测波长 238 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 ℃。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称定栀子苷对照品 10 mg, 甲醇溶解于 50 mL 容量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 制备成 200 mg·L⁻¹ 高浓度对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取上述小鼠全血, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液 200 μL, 加入甲醇 600 μL, 漩涡混合器振荡 60 s, 10 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 吸取上清液 700 μL, 60 ℃ 水浴, 吹干, 加入 100 μL 甲醇涡旋振荡 30 s, 10 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清, 备用。

3 结果

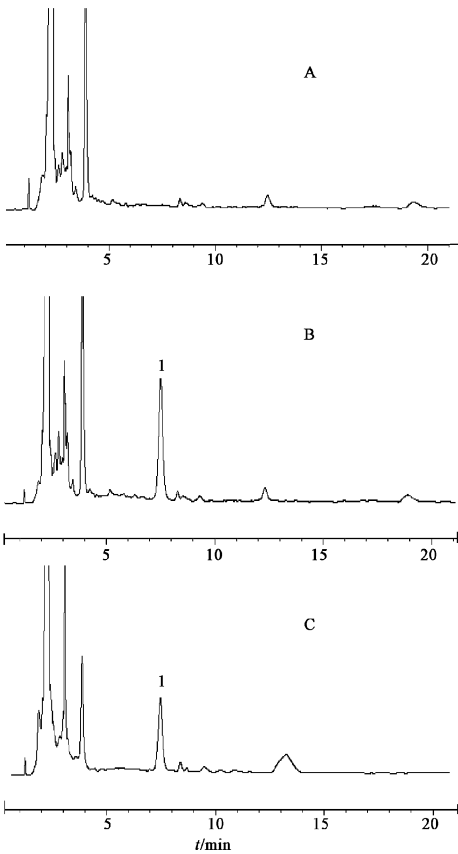
3.1 方法学考察

3.1.1 方法专属性 取空白血浆供试品溶液和空白血浆加栀子苷对照品供试品溶液, 按照色谱条件和分析方法, 进样各 10 μL。结果见图 1。经比较表明, 空白血浆中的杂质不干扰栀子苷的测定。

3.1.2 线性关系考察 取小鼠空白血浆, 配制不同浓度的空白血浆加栀子苷对照品的供试品溶液, 按 2.3.3 制备方法制备样品, 精密吸取 10 μL 注入色谱仪, 记录峰面积。以栀子苷浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行回归, 得回归方程 $Y = 23.942X - 24.486$ ($r = 0.999\ 3, n = 5$)。栀子苷线性范围 1.188 ~ 76.000 mg·L⁻¹。

3.1.3 精密度试验 精密量取不同质量浓度栀子苷对照品溶液置 PE 管中, 吹干, 分别加入空白小鼠血浆 200 μL, 涡旋混匀, 配制成高、中、低(72.7, 24.2, 9.7 mg·L⁻¹) 3 个质量浓度的血浆样品, 按 2.3.3 制备方法制备样品, 取 10 μL 上清液进样, 记录色谱图和峰面积, 根据标准曲线计算出浓度。处理后的样品置于冰箱中保存, 于同一天内进样, 每个浓度各进 6 针, 计算日内精密度 RSD 分别为 2.15%, 0.83%, 2.13, RSD 分别为 6.24%, 7.07%, 5.36%。连续 3 d, 每天每个浓度进样 6 次, 计算日间精密度。

3.1.4 回收率试验 精密量取不同浓度栀子苷对照品溶液置 PE 管中, 吹干, 分别加入空白小鼠血浆 200 μL, 涡旋混匀, 配制成高、中、低(72.7, 24.2, 9.7 mg·L⁻¹) 3 个质量浓度的血浆样品, 按供试品 2.3.3 方法制备样品, 平行操作 5 份。另精密量取不同浓度的栀子苷吹干, 不加空白血浆, 其余操作同供试



A. 空白血浆; B. 含对照品血浆;
C. 小鼠口服药物后血浆; 1. 栀子苷
图1 栀子苷 RP-HPLC

品溶液制备方法,平行操作各5份。取上清液10 μL 进样,记录色谱图和峰面积。以加血浆样品的峰面积与相应浓度不加血浆样品峰面积比,计算提取回收率;以峰面积,带入标准曲线的浓度,计算方法回收率。见表1。

表2 栀子苷药代动力学参数($\bar{x} \pm s, n=5$)

| 样品 | C_{\max} / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | T_{\max} / min | AUC_{last} / $\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$ | $\text{AUMC}_{\text{last}}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-2} \cdot \text{mL}^{-1}$ | MRT / min |
|-------|---|------------------------------|---|---|-----------------------|
| 栀子 | 16.9 ± 2.0 | 29.0 ± 2.2 | 681.5 ± 31.2 | $29\ 038.1 \pm 3\ 188.3$ | 55.6 ± 7.6 |
| 栀子-冰片 | 17.3 ± 1.1 | 29.0 ± 2.2 | 792.1 ± 25.2 | $39\ 366.0 \pm 860.6$ | 66.1 ± 8.6 |

4 讨论

正常小鼠单独给予栀子和与冰片配伍后给药,栀子苷的体内过程均符合非房室模型。栀子和冰片配伍后,与栀子单独给药比较,栀子苷的最高血药浓度(C_{\max})增大,药-时曲线面积(AUC)明显增加,平均滞留时间(MRT)延长。提示冰片可通过促进栀子苷的吸收,延缓排泄,而提高其生物利用度。

传统中医学中冰片常作为“佐使药”、“引经药”与其他药物配伍使用,现代研究认为冰片具有促进

表1 栀子苷回收率($\bar{x} \pm s, n=5$)

| 质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 提取回收率 | 方法回收率 |
|---------------------------------------|-------------------|------------------|
| 9.7 | 86.00 ± 11.38 | 87.92 ± 9.82 |
| 24.2 | 82.09 ± 5.04 | 82.97 ± 4.79 |
| 72.7 | 81.90 ± 3.67 | 82.19 ± 3.61 |

3.1.5 稳定性试验 取栀子苷配制高、中、低($72.7, 24.2, 9.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)3个浓度的空白血浆加栀子苷的样品,室温下放置0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0 h,按2.3.3制备样品,取10 μL 上清液进样,测定栀子苷含量,考察放置时间对样品稳定性的影响,结果RSD分别为:2.07%, 1.32%, 4.12%,稳定性良好。

3.2 栀子苷在小鼠血浆中血药浓度测定结果 小鼠灌胃给药后按2.3.3制备,进样,记录峰面积,按标准曲线计算栀子苷的浓度,以时间(t)为横坐标,血药浓度(C)为纵坐标,绘制药-时曲线,见图2。以Kinetica软件拟合,结果显示栀子苷符合非房室模型,主要药代动力学参数见表2。

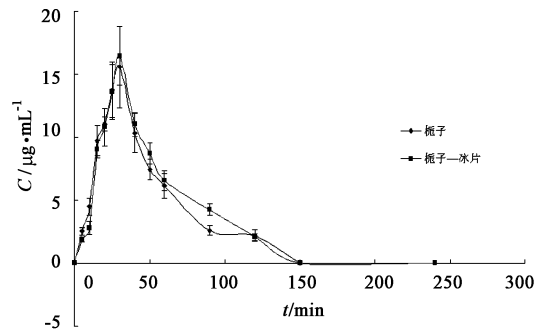


图2 小鼠口服给药后栀子苷药-时曲线($\bar{x} \pm s, n=5$)

其他药物透过血脑屏障、黏膜、皮肤等,从而促进其他药物吸收,影响其他药物体内代谢的特点。

目前,关于冰片能促进其他药物吸收的药理和药代的实验很多。本实验通过对配伍冰片前后栀子苷的药代动力学研究,也证实冰片能提高栀子苷的生物利用度,促进栀子发挥疗效,符合中医传统理论关于佐使药的叙述,二者的配伍关系应为相须相使。

对冰片这类作用的进一步研究,将有助于发现“引经药”直达病所的体内机制,为中药引经理论和

基于 3,6'-二芥子酰基蔗糖在记忆障碍模型大鼠体内表征的 单体、远志及其经典方开心散药代动力学

巴寅颖¹, 姜艳艳^{1,2}, 刘洋^{1,2}, 吕航¹, 萨础拉¹, 李晓婷¹, 折改梅^{1,2}, 石任兵^{1,2*}

(1. 北京中医药大学中药学院 国家中医药管理局中药经典名方有效物质发现重点研究室, 北京 100102;

2. 北京市教委中药质量控制技术工程中心, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立 RP-HPLC 测定大鼠血清中 3,6'-二芥子酰基蔗糖浓度的方法, 研究 3,6'-二芥子酰基蔗糖、远志及开心散中 3,6'-二芥子酰基蔗糖在记忆障碍模型大鼠体内的药动学特点, 评价远志药材中其他成分和复方中其他配伍对 3,6'-二芥子酰基蔗糖药动学的影响。方法: 大鼠腹腔注射东莨菪碱致记忆障碍模型, 分别灌胃给予 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品、远志水提物和开心散水提物, 腹主动脉采血, 离心, 取血清适量, 加 0.1 mmol 磷酸二氢钾-乙腈沉淀蛋白, 取上清液氮气吹干, 水溶解, 过滤, 用 HPLC 分析, 以 C₁₈ 为固定相, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液梯度洗脱, 在 330 nm 检测 3,6'-二芥子酰基蔗糖血药浓度, Kinetics 4.4 软件处理数据。结果: 3,6'-二芥子酰基蔗糖血清在 0.052 ~ 2.08 mg·L⁻¹ 线性关系良好, 血浆中最低定量限为 52 μg·L⁻¹。记忆障碍模型大鼠灌胃给予 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品、远志水提物和开心散水提物后的药-时曲线均使用非房室模型处理, 主要药动学参数 AUC_{0-∞}, C_{max} 在 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品、远志提取物和开心散各组间均有差异 (P < 0.05)。结论: 建立的 RP-HPLC 测定法, 专属、准确、灵敏, 适用于 3,6'-二芥子酰基蔗糖在大鼠体内的药动学研究。口服开心散全方和远志提取物后 3,6'-二芥子酰基蔗糖呈现双峰吸收, 达峰时间均为 15, 150 min, 口服开心散全方的 3,6'-二芥子酰基蔗糖 AUC 值是单味药远志的 1.60 倍, T_{1/2} 是单味药远志的 1.57 倍, 表明通过复方配伍, 可在提高生物利用度、加速吸收、延长有效血药浓度时间诸方面, 调节其药动学特性, 从而更有利于发挥其药效作用。

[关键词] 3,6'-二芥子酰基蔗糖; 远志; 开心散; 药动学; 高效液相色谱法

[中图分类号] R281.9; R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0138-05

Comparative Pharmacokinetics of 3, 6'-disinapoyl Sucrose after Oral Administration of Pure 3, 6'-disinapoyl Sucrose, Radix Polygalae Extract and Kaixinsan in Acquired Dismnesia Model Rats

[收稿日期] 20120109(012)

[基金项目] 国家重大新药创制项目(2009ZX09502-006); 国家自然科学基金项目(81102776/H2803); “十二五”国家科技支撑计划(2012BAI29B06); 北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-12)

[第一作者] 巴寅颖, 博士, 从事中药复方有效物质基础及药物创新研究, Tel: 13810863142, E-mail: byy3333@sina.com

[通讯作者] * 石任兵, 博士, 教授, 博士生导师, E-mail: shirb@126.com

配伍理论提供新的思路和方法。

[参考文献]

- [1] 陈红, 肖永庆, 李丽, 等. 栀子化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1041.
- [2] 孟祥乐, 李红伟, 李颜, 等. 栀子化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志, 2001, 20(11): 959.
- [3] 陈雁, 张现涛, 张雷红, 等. 栀子化学成分及药理研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(12): 1.
- [4] 桑柏, 王世祥, 兰薇, 等. RP-HPLC 研究冰片对广枣中没食子酸在家兔体内的药动学影响[J]. 中国药学报, 2010, 7: 548.

- [5] 朱君荣, 朱余兵, 肖大伟, 等. 冰片对灯盏花素在大鼠体内药动学的影响[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(22): 1876.
- [6] 郑晓晖, 赵欣, 房敏峰, 等. 复方丹参方中使药冰片对君药丹参药动学的影响[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2007, 28(2): 169.
- [7] 陆洋, 杜守颖, 姚宗玲, 等. 天然冰片、合成冰片对栀子提取物黏膜促渗作用研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(10): 1207.

[责任编辑 何伟]