

· 药物代谢 ·

# 冰片-安息香配伍对苯甲酸、肉桂酸药代动力学的影响

黄萍, 夏厚林\*, 贾芳, 黄小燕, 宁梓君, 唐建军  
(成都中医药大学, 成都 611137)

**[摘要]** 目的: 探讨安息香与冰片配伍对安息香主要成分苯甲酸、肉桂酸药代动力学的影响。方法: SD大鼠随机分为两组, 分别灌胃给予单味安息香及安息香-冰片配伍药液, 采集不同时间点的血浆样品, 分别测定血浆中苯甲酸及肉桂酸的含量, 并计算其药代动力学参数。结果: 给予单味安息香和安息香-冰片配伍药液的  $T_{max}$  分别为苯甲酸  $(1.57 \pm 1.99)$ ,  $(11.42 \pm 3.78)$  min, 肉桂酸  $(32.86 \pm 3.13)$ ,  $(11.71 \pm 2.96)$  min;  $C_{max}$  分别为苯甲酸  $(34.93 \pm 11.65)$ ,  $(40.35 \pm 22.72)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 肉桂酸  $(2.96 \pm 1.10)$ ,  $(3.43 \pm 1.38)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $\text{AUC}_{(0-\infty)}$  分别为苯甲酸  $(4481.42 \pm 879.21)$ ,  $(3942.21 \pm 977.52)$   $\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 肉桂酸  $(601.16 \pm 45.84)$ ,  $(401.33 \pm 23.35)$   $\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结论: 安息香与冰片配伍, 苯甲酸和肉桂酸的  $T_{max}$  显著减小, 提示二药配伍能加快苯甲酸和肉桂酸在大鼠体内的吸收速度。

**[关键词]** 安息香; 冰片; 苯甲酸; 肉桂酸; 药代动力学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0118-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150118

## Influence of Benzoinum and Borneolum Syntheticum on Pharmacokinetics of Benzoic Acid and Cinnamic Acid in Rats

HUANG Ping, XIA Hou-lin\*, JIA Fang, HUANG Xiao-yan, NING Zi-jun, TANG Jian-jun  
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the pharmacokinetics of benzoic acid and cinnamic acid in rats plasma after oral administration of Benzoinum liquid or the mixing liquid of Benzoinum and Borneolum Syntheticum. **Method:** SD rats were divided into two groups randomly, giving Benzoinum liquid or the mixing liquid of Benzoinum and Borneolum Syntheticum respectively, collecting the plasma samples at different time. Then determining benzoic acid and cinnamic acid contents, and calculating the pharmacokinetic parameters. **Result:** The experiments showed the  $T_{max}$  were  $(41.57 \pm 1.99)$ ,  $(11.42 \pm 3.78)$  min for benzoic acid,  $(32.86 \pm 3.13)$ ,  $(11.71 \pm 2.96)$  min for cinnamic acid. The maximum plasma concentration ( $C_{max}$ ) were  $(34.93 \pm 11.65)$ ,  $(40.35 \pm 22.72)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  for benzoic acid,  $(2.96 \pm 1.10)$ ,  $(3.43 \pm 1.38)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  for cinnamic acid. The  $\text{AUC}_{(0-\infty)}$  were  $(4481.42 \pm 879.21)$ ,  $(3942.21 \pm 977.52)$   $\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$  for benzoic acid  $(601.16 \pm 45.84)$ ,  $(401.33 \pm 23.35)$   $\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$  for cinnamic acid. **Conclusion:** In the compatibility of Benzoinum with Borneolum Syntheticum the  $T_{max}$  of benzoic acid and cinnamic acid were significantly reduced, suggesting that the compatibility of the two drugs can accelerate the absorption speed of benzoic and cinnamic acid in rats.

**[Key words]** Benzoinum; Borneolum Syntheticum; benzoic acid; cinnamic acid; pharmacokinetics

**[收稿日期]** 20130806(018)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2007CB512606)

**[第一作者]** 黄萍, 硕士, 从事中药质量标准及物质基础研究, Tel: 15928567563, E-mail: huang\_5533@163.com

**[通讯作者]** \* 夏厚林, 教授, 从事中药质量标准及物质基础研究, Tel: 13568899011, E-mail: xhl64@163.com

安息香、冰片是常用的开窍药,具回神醒脑之功效,临床常用于缺血性中风(闭证)的治疗。在开窍复方中,为增强功效,开窍药常配伍使用。目前已见冰片与人工麝香<sup>[1-2]</sup>、冰片与石菖蒲<sup>[3]</sup>、冰片与苏合香的配伍研究,而冰片与安息香的配伍研究尚未见报道。作者在前期实验中对安息香冰片不同配比进行了药效学研究,结果表明安息香与冰片配比4:1在抗脑缺血缺氧及对血脑屏障通透性方面具有显著的协同增效作用<sup>[4]</sup>。本文建立了大鼠血浆中安息香主要成分苯甲酸和肉桂酸的HPLC测定方法,观察并比较安息香与冰片配伍前后苯甲酸和肉桂酸血药浓度的经时变化及其药动学参数的差异。

## 1 材料

**1.1 仪器** 1200型高效液相色谱仪(包括四元泵, DAD检测器,柱温箱,自动进样器,工作站,美国Agilent),AE-240型1/10万电子天平(瑞士梅特勒仪器有限公司,上海),DC-12型氮吹仪(上海安普仪器有限公司),TGL-16G型高速离心机(上海安亭科学仪器厂),WH-3微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司)。

**1.2 试药** 苯甲酸、肉桂酸、水杨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为1000419-200301, 110786-200503, 100106-200303),甲醇为色谱纯(Fisher),水为超纯水,其余均为分析纯;安息香购于成都新荷花中药材市场,合成冰片购于四川青神康华制药有限公司,经成都中医药大学鉴定教研室卢先明教授鉴定为正品药材,经检验各项指标均符合相应标准。

**1.3 动物** SD大鼠,SPF级,雌雄各半,体重(280±20)g,由四川省医学科学院动物研究所提供,合格证号SCXK(川)2008-24。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 对照品溶液的配制** 分别取经干燥的苯甲酸和肉桂酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为0.1,0.05 g·mL<sup>-1</sup>的储备液,再稀释成0.4, 1,5,25,125,625,1 250 mg·L<sup>-1</sup>的苯甲酸对照品系列溶液及1.25,2.5,5,10,20,40,80,160,320 mg·L<sup>-1</sup>的肉桂酸对照品系列溶液。

**2.1.2 内标溶液的配制** 取经干燥的水杨酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>的内标溶液。

**2.1.3 药品的配制** 单味安息香剂量为0.8 g·kg<sup>-1</sup>,安息香-冰片配伍组剂量为(0.8+0.2)

g·kg<sup>-1</sup>,给药时,用5%聚山梨酯80和0.2%CMC-Na分别配制相应浓度。

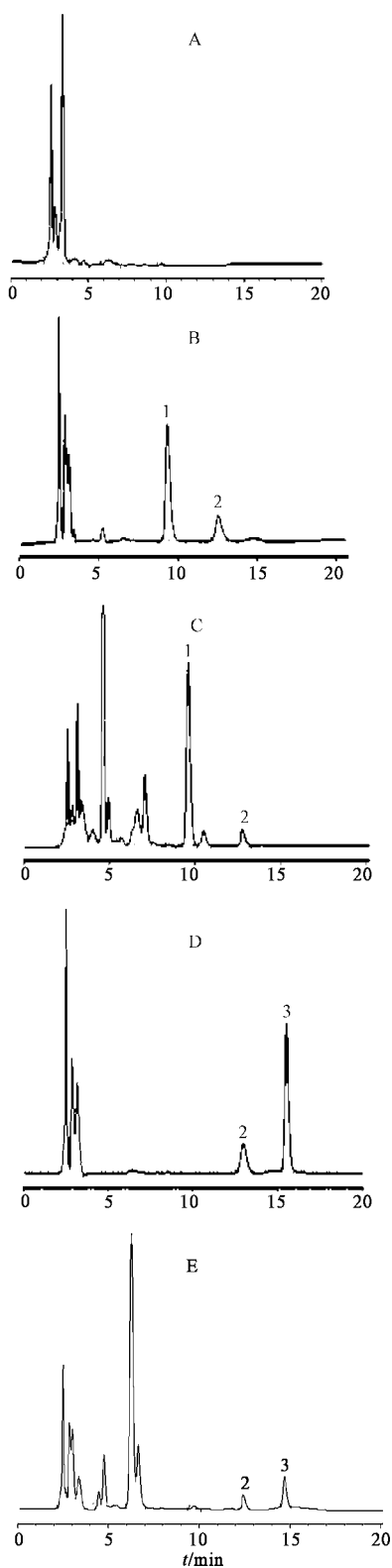
**2.2 给药及取血** 取健康SD大鼠12只,随机分为两组,每组6只。给药前禁食12h,自由饮水。分别灌胃给予单味安息香和安息香-冰片配伍药液,给药体积为0.02 mL·g<sup>-1</sup>。大鼠给药后于2,5,7,10,20,30,40,50,60,120,180,360,720 min眼眶取血0.5 mL,置于预先肝素化的EP管中,静置2 min,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上层血浆,-20℃保存备用。

**2.3 血浆样品处理方法** 精密吸取血浆样品150 μL,分别精密加入内标液(水杨酸)15 μL,甲醇300 μL,涡旋1 min,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,精密量取上清液于40℃氮气吹干,残留物加甲醇150 μL复溶,涡流混合,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液,备用<sup>[5]</sup>。

**2.4 色谱条件与系统适用性试验** Phenomenex Gemini 5 μ C<sub>18</sub> 110A色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),预柱为迪马公司Phenomenex C<sub>18</sub>保护柱(4.0 mm×3.0 mm),柱温30℃,流动相为甲醇(A)-0.3%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min,46% A, 10~12 min,46%~55% A,12~20 min,55% A),检测波长苯甲酸为225 nm,肉桂酸为278 nm,进样量10 μL。取大鼠空白血浆、空白血浆加对照品溶液加内标液、给药后血浆样品,处理后依法进样分析,见图1。结果血浆中内源性杂质不干扰苯甲酸、肉桂酸及内标物水杨酸的测定,相应色谱峰分离度好,理论塔板数不低于5 000。

**2.5 线性范围考察** 精密吸取空白血浆150 μL,加入苯甲酸对照品系列溶液15 μL,配制质量浓度分别为0.04,0.1,0.5,2.5,12.5,62.5,125 mg·L<sup>-1</sup>苯甲酸对照品溶液及0.125,0.25,0.5,1,2,4,8,16,32 mg·L<sup>-1</sup>的肉桂酸对照品溶液,按2.3项进行操作,每一质量浓度进行双样本分析。以待测物质量浓度(X,mg·L<sup>-1</sup>)为横坐标,以待测物与内标物的峰面积比值(Y)为纵坐标,用加权(W=1/X<sup>2</sup>)最小二乘法进行回归运算,求得的线性回归方程,苯甲酸为Y=0.131 2X-0.120 2(r=0.998 9),肉桂酸为Y=0.089 3X-0.013 1(r=0.999 3),血浆中苯甲酸在0.04~125 mg·L<sup>-1</sup>,肉桂酸在0.125~32 mg·L<sup>-1</sup>线性关系良好。

**2.6 精密度与准确度试验** 取空白血浆150 μL,按2.3项配制质量浓度分别为0.04,12.5,125 mg·L<sup>-1</sup>的苯甲酸质控样品及质量浓度分别为0.125,2,



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 苯甲酸 + 内标; C. 样品血浆(苯甲酸) + 内标; D. 空白血浆 + 肉桂酸 + 内标; E. 样品血浆(肉桂酸) + 内标;  
1. 苯甲酸; 2. 水杨酸(内标); 3. 肉桂酸

图 1 大鼠血浆苯甲酸和肉桂酸 HPLC

32 mg·L<sup>-1</sup>的肉桂酸质控样品,每一质量浓度进行 5 样本分析,连续测定 5 d。根据当日的随行标准曲线,

计算质控样品的浓度。结果苯甲酸低、中、高 3 个质量浓度的日内精密度分别为 3.96%、3.11%、2.52%,肉桂酸为 4.36%、3.77%、3.24%;苯甲酸日间精密度分别为 4.62%、3.29%、3.43%,肉桂酸为 4.83%、4.42%、2.12%;苯甲酸准确度分别为 82.3%、82.9%、85.1%,肉桂酸为 80.1%、82.3%、88.2%。

**2.7 提取回收率试验** 取空白血浆 150 μL,按 2.3 项下方法配制 0.04、12.5、125 mg·L<sup>-1</sup>的苯甲酸质控样品及 0.125、2、32 mg·L<sup>-1</sup>的肉桂酸质控样品,各 6 份;再用空白血浆经处理后获得的上清液配制相同质量浓度的苯甲酸和内标混合标准溶液及肉桂酸内标混合液,6 份。以每一质量浓度 2 种处理方法的峰面积的比值计算提取回收率,得苯甲酸低、中、高 3 个浓度的提取回收率分别为 (79.1 ± 2.3)%、(88.5 ± 10.2)%、(86.1 ± 7.2)%,肉桂酸分别为 (81.5 ± 6.2)%、(83.2 ± 6.2)%、(88.2 ± 3.3)%,内标物用相同方法处理,其平均回收率为 (86.6 ± 3.8)%。

**2.8 样品稳定性考察** 取空白血浆 150 μL,配制苯甲酸 0.04、12.5、125 mg·L<sup>-1</sup>,肉桂酸 0.125、4、32 mg·L<sup>-1</sup>的质控样品,每一质量浓度进行 5 样本分析,贮存于 -20 °C 冰箱中,反复冻融 3 次,每次间隔 24 h,按 2.3 项样品处理项下的方法进行处理后进样测定。苯甲酸低、中、高 3 个剂量平均 RSD 2.69%,肉桂酸平均 RSD 3.12%。

**2.9 药代动力学研究** 用建立的 HPLC 方法,测定大鼠血药浓度,绘制苯甲酸和肉桂酸各时间点平均药-时曲线,见图 2。采用 DAS2.0 按非房室模型求算药动学参数,结果见表 1。

### 3 讨论

苯甲酸和肉桂酸为安息香中主要成分,其中苯甲酸又称安息香酸,具有抗菌,防腐等作用<sup>[5]</sup>,2010 年版《中国药典》规定其含量在安息香中不得少于 27%<sup>[6]</sup>。体内外实验表明,肉桂酸有利胆,抗菌,消炎及抗血小板凝聚等作用<sup>[7]</sup>。本文选择二者作为研究对象,具有较好的代表性,将有利于其配伍合理性的探讨。

文献报道血浆样品中苯甲酸和肉桂酸的处理方法有蛋白沉淀法和液-液萃取法<sup>[8]</sup>。液-液萃取法提取回收率较低,故本文采用蛋白沉淀法对苯甲酸和肉桂酸进行预处理,比较了甲醇,乙腈,高氯酸等溶剂,结果发现甲醇的提取回收率最高。流动相考察了甲醇-磷酸系统,乙腈-乙酸系统<sup>[9]</sup>及乙腈-乙酸铵系统<sup>[10]</sup>最终在甲醇(A)-0.3%磷酸溶液(B),梯度

表1 两组大鼠灌胃给药后苯甲酸和肉桂酸的相关药代动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

参数	单味安息香组		安息香-冰片配伍组	
	苯甲酸	肉桂酸	苯甲酸	肉桂酸
$t_{1/2}/\text{min}$	116.94 ± 15.35	269.56 ± 30.17	220.83 ± 62.47 <sup>1)</sup>	193.42 ± 30.64
$C_{\text{max}}/\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	34.93 ± 11.65	2.96 ± 1.10	40.35 ± 22.72	3.43 ± 1.38
$T_{\text{max}}/\text{min}$	41.57 ± 1.99	32.86 ± 3.13	11.42 ± 3.78 <sup>2)</sup>	11.71 ± 2.96 <sup>2)</sup>
$\text{AUC}_{(0 \sim t)}/\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$	3 494.76 ± 852.39	412.58 ± 52.51	2 837.76 ± 227.83	265.10 ± 22.37
$\text{AUC}_{(0 \sim \infty)}/\text{min} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$	4 481.42 ± 879.21	601.16 ± 45.84	3 942.21 ± 977.52	401.33 ± 23.35
$\text{MRT}_{(0 \sim t)}/\text{h}$	169.89 ± 13.06	159.36 ± 12.74	159.65 ± 9.21	87.52 ± 6.36 <sup>1)</sup>
$\text{CL}/F/\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	72.70 ± 13.99	2.03 ± 0.98	65.00 ± 12.38	2.61 ± 0.95

注:与单位安息香相比<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

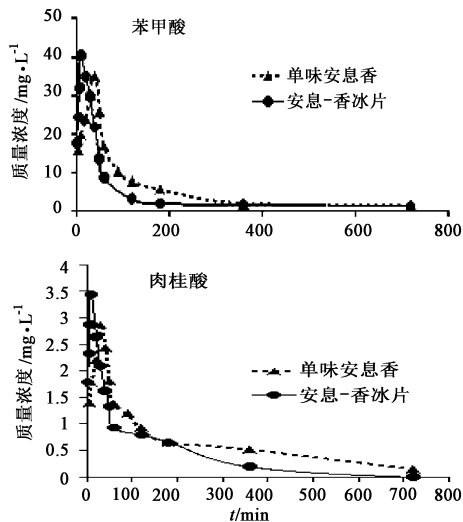


图2 两组大鼠灌胃给药后的苯甲酸和肉桂酸平均药-时曲线( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

洗脱(0~10 min, 46% A, 10~12 min, 46%~55% A, 12~20 min, 55% A)时,分离度好,无杂质干扰,适用于生物样本的测定。

本研究结果表明,安息香配伍冰片后苯甲酸和肉桂酸的  $T_{\text{max}}$  显著减小( $P < 0.01$ ),  $C_{\text{max}}$  有增大的趋势,说明冰片配伍安息香可促进胃肠道对苯甲酸和肉桂酸的吸收,另外也为开窍药临床用于急救药做出了科学合理的解释。二药配伍还明显延长了苯甲酸的半衰期,说明安息香与冰片配伍,可以明显减缓安息香中苯甲酸在大鼠血浆中的消除速度。

前期作者考察了安息香单用与安息香冰片配伍使用对小鼠抗缺血缺氧及对血脑通透性的药效学差异,结果配伍优于安息香单独使用。配伍导致的药代动力学差异可能是其产生药效学差异的原因之一。苯甲酸和肉桂酸的药代学特征能在一定程度上

阐释安息香与冰片配伍的体内过程,但苯甲酸、肉桂酸是否为其药效成分及二药详细的作用机制还有待进一步研究。

### [参考文献]

- [1] 王洋,王建,班炳坤,等.麝香与冰片及其配伍对脑缺血缺氧小鼠模型的影响[J].中药药理与临床,2011,27(2):96.
- [2] 姚洪武,王建,刘岩,等.麝香与冰片不同配比对急性脑缺血模型小鼠血脑屏障通透性的影响[J].成都中医药大学学报,2011,34(4):62.
- [3] 吴雪,欧阳丽娜,向大位,等.冰片及石菖蒲促进羟基红花黄色素A透过血脑屏障的实验研究[J].中草药,2011,42(4):734.
- [4] 黄萍,夏原林,贾芳,等.安息香配伍合成冰片对小鼠脑缺血缺氧及血脑屏障通透性的影响[J].中药药理与临床,2013,24(5):75.
- [5] 张雪梅,池利民.高效液相色谱法测定熟肉制品中苯甲酸和山梨酸含量[J].安徽农业科学,2009,37(13):5823.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:138.
- [7] 周东鹰,齐治实.苏合香合成桂皮酸抗血小板作用的研究(二)[J].北京中医学院学报,1990,13(4):49.
- [8] 张博,刘晓娜,周越,等.苏合香不同剂型在SD大鼠体内的口服药代动力学[J].沈阳药科大学学报,2012,29(4):292.
- [9] 高宇勤,吴杰,江仁望,等.当归四逆汤中肉桂酸及甘草酸在大鼠血清中含量测定及药理学研究[J].中药材,2011,34(3):407.
- [10] 张军,陈玫,居文政,等.脉络宁注射液中肉桂酸血药浓度的LC-MS-MS测定及人体药理学研究[J].中国中药杂志,2010,35(14):1887.

[责任编辑 邹晓翠]