

· 药物代谢 ·

## 藜芦酸在大鼠体内的药代动力学

安燕南<sup>1</sup>, 王如峰<sup>1\*</sup>, 吴秀稳<sup>1</sup>, 刘莉嘉<sup>1</sup>, 彭玉帅<sup>1</sup>, 李沧海<sup>2\*</sup>, 周长征<sup>3</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 北京同仁堂天然药物有限公司, 北京 100176)

**[摘要]** 目的: 考察藜芦酸在大鼠体内的药代动力学。方法: 大鼠口服灌胃给予藜芦酸, 在不同时间点采集血样, 选择 3, 4-二羟基苯甲酸甲酯为内标, 采用 HPLC 测定血药浓度, 流动相乙腈(A)-1% 乙酸(B)梯度洗脱(0~11 min, 5%~57% A; 11~13 min, 57%~5% A), 检测波长 256 nm, 绘制血药浓度-时间曲线, 通过 Kinetica 4.4 软件计算药代动力学参数。结果: 灌胃给药后藜芦酸在大鼠体内的达峰时间分别为(45.00 ± 10.00), (31.00 ± 8.22) min, 存在二次达峰现象; 高、低剂量组的  $C_{max}$  分别为(176.85 ± 28.89), (68.14 ± 12.58) mg·L<sup>-1</sup>,  $t_{1/2}$  分别为(87.74 ± 20.74), (227.18 ± 93.78) min,  $AUC_{0-\infty}$  分别为(50 363.50 ± 11 667.7), (18 830.32 ± 4 354.35) min·mg·L<sup>-1</sup>,  $MRT_{0-\infty}$  分别为(201.39 ± 16.72), (227.40 ± 21.37) min。结论: 藜芦酸口服吸收较快, 消除较慢, 体内作用时间较长。

**[关键词]** 金莲花; 藜芦酸; 药代动力学; 高效液相色谱; 血药浓度

**[中图分类号]** R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0091-03

**[doi]** 10.11653/syjf2014040091

## Pharmacokinetics of Veratric Acid in Rats

AN Yan-nan<sup>1</sup>, WANG Ru-feng<sup>1\*</sup>, WU Xiu-wen<sup>1</sup>, LIU Li-jia<sup>1</sup>, PENG Yu-shuai<sup>1</sup>,  
LI Cang-hai<sup>2\*</sup>, ZHOU Chang-zheng<sup>3</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
3. Beijing Tongrentang Natural Medicine Co. Ltd, Beijing 100176, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study pharmacokinetics of veratric acid in rats. **Method:** Veratric acid was administrate to rats by oral gavage, blood samples were collected at various time points, HPLC was adopted to determine the content of veratric acid in blood samples by taking 3, 4-dihydroxybenzoic acid methyl ester as an internal standard, mobile phase of acetonitrile (A) -1% acetic acid (B) (0-11 min, 5% -57% A; 11-13 min, 57% -5% A), detection wavelength was set at 256 nm, plasma concentration-time curve was drawn, pharmacokinetic parameters were calculated by Kinetica 4.4 software. **Result:** After oral gavage administration, veratric acid existed secondary peak phenmenon in rats,  $T_{max}$  were (45.00 ± 10.00) and (31.00 ± 8.22) min, respectively;  $C_{max}$  of high and low dose groups were (176.85 ± 28.89) and (68.14 ± 12.58) mg·L<sup>-1</sup>,  $t_{1/2}$  were (87.74 ± 20.74) and (227.18 ± 93.78) min,  $AUC_{0-\infty}$  were (50 363.50 ± 11 667.7) and (18 830.32 ± 4 354.35) min·mg·L<sup>-1</sup>,  $MRT_{0-\infty}$  were (201.39 ± 16.72) and (227.40 ± 21.37) min, respectively.

**Conclusion:** Veratric acid had a long *in vivo* acting time due to its quick absorption and slow elimination.

**[Key words]** *Trollius chinensis*; veratric acid; pharmacokinetics; HPLC; plasma concentration

**[收稿日期]** 20130710(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81073018, 81274044)

**[第一作者]** 安燕南, 在读硕士, 从事中药化学成分分析研究, Tel: 010-84738646, E-mail: anyannande@163.com

**[通讯作者]** \* 王如峰, 博士, 副教授, 从事中药化学成分分析研究, Tel: 010-84738646, E-mail: wangrufeng@tsinghua.org.cn;

\* 李沧海, 博士, 副研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 010-84076882, E-mail: leechhn@yahoo.com.cn

金莲花广泛分布于内蒙古、河北、山西等地<sup>[1]</sup>,具有抗菌、抗病毒和抗炎等药理作用<sup>[2-4]</sup>,主要化学成分包括黄酮类、酚酸类和生物碱类,其中黄酮类成分为主要药效物质<sup>[4-12]</sup>,但越来越多的研究证明另外两类成分的作用亦不可忽视<sup>[5,11]</sup>。藜芦酸是金莲花中一种重要的酚酸类化合物<sup>[13]</sup>,质量分数高达0.865~0.896 mg·g<sup>-1</sup>,具有抗菌、抗炎、止痒、抗氧化、降压<sup>[14-18]</sup>等生物活性,具备广阔的新药开发前景。目前对藜芦酸的研究多集中于生物活性和制备方法等方面,该成分对金莲花疗效的贡献度和成药性尚不明确。本实验拟通过研究藜芦酸在大鼠体内的药代动力学,评判该化合物的开发前景,以避免由于药代动力学性质不佳而被淘汰所造成的损失。

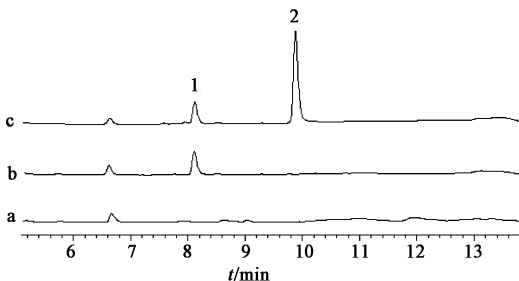
## 1 材料

Waters Breeze 1525 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司),BP 211D 型 1/10 万电子天平(德国赛多利斯公司)。藜芦酸和 3,4-二羟基苯甲酸甲酯对照品(自制,经 HPLC 峰面积归一化法测定纯度均 > 98%),乙腈为色谱纯,水为市售屈臣氏纯净水,其他试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠,雌雄各半,体重(220 ± 20) g,由北京大学医学部实验动物中心提供,合格证编号 SCXK(京)2006-0008。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-1% 乙酸(B)(0~11 min, 5%~57% A; 11~13 min, 57%~5% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 256 nm,进样量 5 μL。理论塔板数以藜芦酸计算约 5 900,见图 1。



a. 空白血浆; b. 加入内标的空白血浆; c. 供试品;  
1. 内标(3,4-二羟基苯甲酸甲酯); 2. 藜芦酸

图 1 藜芦酸血浆样品 HPLC

## 2.2 溶液的制备

**2.2.1 给药溶液** 取藜芦酸对照品适量,加生理盐水制成 2.5, 7.5 g·L<sup>-1</sup> 的溶液,吐温 80 助溶,即得。

**2.2.2 内标溶液** 取 3,4-二羟基苯甲酸甲酯适量,加甲醇制成 0.8 g·L<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

**2.3 给药方案** 将大鼠随机分为高、低剂量组,每组 5 只,试验前 1 d 禁食,自由饮水,分别按 75, 25 mg·kg<sup>-1</sup> 的剂量灌胃给予藜芦酸溶液。

**2.4 采血与样品处理** 分别于给药后 0, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 90, 120, 180, 270, 390, 630 min 眼眶静脉取血约 0.3 mL,置于肝素化的离心试管中,5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上层血浆 200 μL,加入内标溶液 50 μL(0 min 的空白血样不加内标)和乙腈 500 μL,涡旋混匀,10 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,吸取上清液 500 μL,备用。

**2.5 标准曲线的制备** 取藜芦酸对照品适量,用大鼠空白血浆制成 4.16, 20.8, 41.6, 104, 208 mg·L<sup>-1</sup> 的系列溶液,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下色谱条件测定(n=3),记录峰面积,以藜芦酸质量浓度为横坐标,藜芦酸与内标峰面积的比值为纵坐标,得标准曲线方程 Y=0.053 7X-0.145 3(R<sup>2</sup>=0.998 3),线性范围 4.16~208 mg·L<sup>-1</sup>,确定藜芦酸的检测限和定量限分别为 0.05, 0.17 ng。

**2.6 精密度试验** 制备低、中、高 3 个质量浓度(4.16, 41.6, 208 mg·L<sup>-1</sup>)的藜芦酸血浆样品,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算日内精密度 RSD 分别为 4.6%, 3.4%, 0.8%,在 3 d 内测得日间精密度 RSD 分别为 6.0%, 5.7%, 3.0%(n=3),表明仪器精密度良好。

**2.7 重复性试验** 取藜芦酸对照品适量,用大鼠空白血浆制成 4.16, 41.6, 208 mg·L<sup>-1</sup> 的血浆样品各 6 份,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下色谱条件测定,计算峰面积比值的 RSD 分别为 4.2%, 3.5%, 4.6%,表明该方法重复性良好。

**2.8 稳定性试验** 取 2.7 项下低、中、高质量浓度的血浆样品,按 2.4 项下方法处理,考察样品 -20 °C 放置 24 h 后再室温放置 8 h,共 3 个冻融循环后的稳定性,按 2.1 项下色谱条件测定,计算峰面积比值的 RSD 分别为 7.0%, 0.4%, 3.0%,表明藜芦酸血浆样品稳定性良好。

**2.9 回收率试验** 取藜芦酸对照品适量,用大鼠空白血浆制成藜芦酸质量浓度分别为 4.16, 41.6, 208 mg·L<sup>-1</sup> 的血浆样本各 3 份,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下色谱条件测定藜芦酸含量,计算回收率分别为(109.43 ± 3.08)%, (101.14 ± 1.10)%, (100.93 ± 2.82)%,表明该方法可靠。

**2.10 药代动力学研究** 大鼠灌胃给予高、低剂量的藜芦酸后,于设定的时间点取样,按 2.4 项下方法处理,按 2.1 项下色谱条件测定,绘制药-时曲线,见图

2. 利用 Kinetica 4.4 软件分析试验数据,计算主要药代动力学参数,见表 1。结果表明藜芦酸口服给药后很快被吸收,高、低剂量组达峰时间均存在 2 次;体内平均滞留时间和消除半衰期较长,药时曲线下面积较大,表明藜芦酸在大鼠体内吸收程度较高、消除较慢。

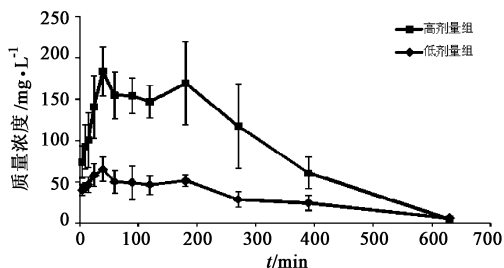


图 2 藜芦酸灌胃给药后在大鼠体内的药-时曲线( $\bar{x} \pm s$ )

表 1 藜芦酸在大鼠体内的主要药代动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

参数	高剂量组	低剂量组
$C_{\max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	176.85 ± 28.89	68.14 ± 12.58
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{min} \cdot \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50 363.50 ± 11 667.7	18 830.32 ± 4 354.35
$t_{1/2}/\text{min}$	87.74 ± 20.74	227.18 ± 93.78
$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{min}$	201.39 ± 16.72	227.40 ± 21.37
$t_{\max}/\text{min}$	45.00 ± 10.00	31.00 ± 8.22

### 3 讨论

藜芦酸口服给药后能被快速吸收,并且在体内的存留时间较长,提示其在体内发挥药效的时间较长。藜芦酸又称 3,4-二甲氧基苯甲酸,其苯环上无羟基,相对分子质量小、亲脂性强且容易透过小肠黏膜,故吸收较快;但该化合物的结构稳定、极性较小,被吸收后难被代谢,故消除过程较慢。藜芦酸吸收相的二次达峰现象提示可能存在肝肠循环或其他循环过程(胃-肠循环、肠-肠循环等),导致其被二次或多次吸收,从而增加了体内滞留时间。

金莲花中黄酮类成分例如牡荆素和荜草素的药代动力学特征与藜芦酸明显不同,黄酮类成分为碳苷类化合物,溶解性差,极性大,难于被吸收且在体内消除迅速<sup>[19]</sup>,故生物利用度低。结合药代动力学研究综合分析金莲花的药效物质,尽管黄酮类成分一直被认为是主要贡献者,但药代动力学特点被极大限制,而以藜芦酸为代表的酚酸类化合物则应该引起重视,但藜芦酸难被代谢、消除时间较长的特点是否会引起蓄积毒性有待深入研究。

### [参考文献]

[1] 李良千. 毛茛科金莲花亚科植物的地理分布[J]. 植物分类学报,1995,33(6):540.

- [2] 赵宏伟,赵玉珍. 金莲花醇提物体外抗甲型流感病毒作用研究[J]. 中国药业,2010,19(1):10.
- [3] 袁铭,王如峰,吴秀稳,等. 金莲花不同花部对总黄酮的贡献度研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):81.
- [4] Cai S Q, Wang R F, Yang X W, et al. Antiviral flavonoid-type C-glycosides from the flowers of *Trollius chinensis*[J]. Chem Biodivers,2006,3(3):343.
- [5] 林晨,沈伟哉,李药兰,等. 不同溶媒中金莲花提取物体外抑菌作用的比较[J]. 暨南大学学报:医学版,2001,22(6):54.
- [6] Li Z L, Li D Y, Hua H M, et al. Three new acylated flavone C-glycosides from the flowers of *Trollius chinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res,2009,11(5):426.
- [7] Wang R F, Yang X W, Ma C M, et al. Trollioside, a new compound from the flowers of *Trollius chinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res,2004,6(2):139.
- [8] 刘颖,王如峰,袁铭,等. HPLC 测定金莲花中金莲花苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):75.
- [9] 康少文,于永芳,王沛. 金莲花化学成分的研究[J]. 中草药,1984,15(6):9.
- [10] 李镇. 金莲花中藜芦酸的分离与鉴定[J]. 中草药,1982,13(3):130.
- [11] Wang R F, Yang X W, Ma C M, et al. A bioactive alkaloid from the flowers of *Trollius chinensis* [J]. Heterocycles,2004,63(6):1443.
- [12] 苏占辉,王书君,张滋明,等. 金莲花黄酮分散片处方工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(6):8.
- [13] 杨晶凡,张贵君,张春晖,等. 金莲花不同煎煮方法水提取液中 4 种药效组分含量和比例的测定[J]. 中国现代中药,2009,11(4):16.
- [14] Narasimhan B, Ohlan S, Ohlan R, et al. Hansch analysis of veratric acid derivatives as antimicrobial agents[J]. Eur J Med Chem,2009,44(2):689.
- [15] Saravanakumar M, Raja B. Effect of veratric acid on the cardiovascular risk of L-NAME-induced hypertensive rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2012,59(6):553.
- [16] Saravanakumar M, Raja B. Veratric acid, a phenolic acid, attenuates blood pressure and oxidative stress in L-NAME induced hypertensive rats[J]. Eur J Pharmacol, 2011,671(1/3):87.
- [17] Szwajgier D, Pielecki J, Targonski Z. Antioxidant activity of cinnamic and benzoic acid derivatives [J]. Acta Sci Pol Technol Aliment,2005,4(2):129.
- [18] Raja B, Saravanakumar M, Sathya G. Veratric acid ameliorates hyperlipidemia and oxidative stress in Wistar rats fed an atherogenic diet [J]. Mol Cell Biochem, 2012,366(1/2):21.
- [19] 童成亮,刘晓东. 牡荆素在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报,2007,38(1):65.

[责任编辑 全燕]