

· 药物代谢 ·

艾片口服给药后在小鼠体内的组织分布

赵静宜, 杜守颖*, 陆洋, 武慧超, 李慧云, 刘慧敏, 程艳珂

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**建立龙脑在小鼠组织中 GC-FID 含量测定方法,考察艾片口服给药后在小鼠体内的组织分布情况。**方法:**小鼠按 30.0 mg·kg⁻¹灌胃给予艾片,分别于给药后 1,3,5,10,20,30,60,90,120 min 脱颈椎处死小鼠,迅速分离出小鼠全脑、心、肝、脾、肺、肾,匀浆后以十八烷为内标,乙酸乙酯萃取,采用 GC 测定各组织中龙脑质量浓度。**结果:**建立的含量测定方法中萃取回收率、日内和日间精密度、稳定性均符合生物样品的分析要求。艾片口服给药后分布于各主要脏器,组织中龙脑含量顺序为肝>肾>心>脑>脾>肺,龙脑在肝、脾、肺中达峰时间明显早于心、脑、肾。**结论:**建立的 GC-FID 适用于组织中龙脑的含量测定,艾片在不同组织内分布存在差异,在肝、肾、心、脑等血流丰富的组织中含量较高。

[关键词] 艾片; 气相色谱的氢火焰离子化检测器; 口服给药; 组织分布

[中图分类号] R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0159-03

[doi] 10.11653/syjf2013150159

Tissue Distribution of Borneol in Mice after Oral Administration

ZHAO Jing-yi, DU Shou-ying*, LU Yang, WU Hui-chao, LI Hui-yun, LIU Hui-min, CHENG Yan-ke

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a GC-FID method for determination of borneol concentration in mice tissues and investigate its tissues distribution after oral administration. **Method:** Wholebrain, heart, liver, spleen, lungs and kidneys were quickly isolated by executing mice at 1, 3, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 min after oral administration of borneol with a dosage of 30.0 mg·kg⁻¹. These tissues were extracted with ethyl acetate and detected by GC-FID, octadecane was used as an internal standard. **Result:** Calibration curve was good linear, extraction recoveries, RSD of within-day and between-day with low, medium and high concentration were satisfied for analysis requirements of biological samples. Borneol distributed in all major organs after administration with the order of liver > kidney > heart > brain > spleen > lung, T_{max} in liver, lung and spleen was earlier than in heart, brain and kidney. **Conclusion:** Established GC-FID could be applied to determination of borneol in tissues. There were differences of borneol distribution in each tissues, it mainly distributed in abundant blood-supply tissues such as liver, kidneys, heart and brain.

[Key words] borneol; GC-FID; oral administration; tissue distribution

艾片为菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera* (L.) DC. 的新鲜叶经提取加工制成的结晶,具清香

气,味辛、凉,具有开窍醒神、清热止痛之功效^[1]。临床应用极为广泛,尤其在心脑血管疾病中,艾片能

[收稿日期] 20130225(011)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073057);国家自然科学基金青年基金项目(81102816);北京中医药大学创新团队发展计划项目(2011-CXTD-13)

[第一作者] 赵静宜,在读硕士,从事中药新剂型与新技术研究, Tel:15201391425, E-mail:zhaojingyi9289@sina.com

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

提高药物的生物利用度,发挥开窍和“引药入脑”作用^[2-3]。本实验以艾片的有效成分龙脑为指标,测定艾片口服给药后在小鼠脑、心、肝、脾、肺、肾中分布经时变化情况,揭示其在小鼠体内的组织分布规律,为艾片的临床应用及推广提供依据。

1 材料

GC7980 型气相色谱仪 (ALS 7020 型进样器, D7980 型色谱工作站, 上海天美科学仪器有限公司), AE 240 型电子分析天平 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司), BT25S, BS110S 型电子分析天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司), MP5002 型电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司), VDRTEX-5 型旋涡混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司), Anke TGL-16G 型高速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

龙脑对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110881-200706), 艾片 (贵州金色制药有限责任公司), 聚山梨酯 80 (天津市光复精细化工研究所), 十八烷、乙酸乙酯均为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

ICR 小鼠, 雄性, 体重 (20 ± 2) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物许可证号 0256504。

2 方法与结果

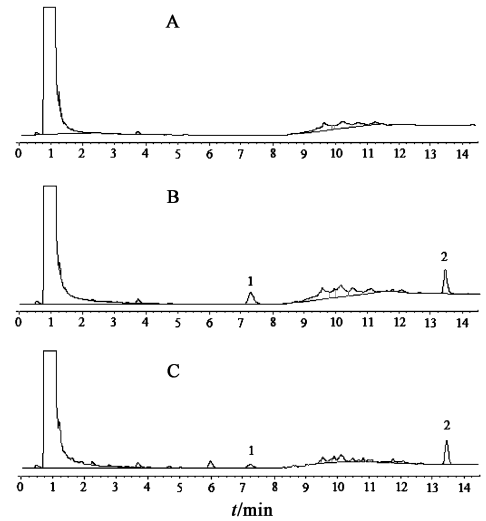
2.1 口服药液的配制 配制复合溶媒 (1% 吐温 80 生理盐水-乙醇-丙二醇 40: 30: 30), 艾片研磨成细粉, 加至上述复合溶媒中, 超声 10 min 使之全部溶解, 艾片质量浓度 150 g · L⁻¹。精密吸取上述溶液 1.0 mL 至 50 mL 量瓶中, 以 1% 聚山梨酯 80 生理盐水溶液分散并稀释至刻度, 混匀, 即得含艾片 3.0 g · L⁻¹ 的口服溶液。

2.2 给药方案 取 45 只小鼠, 给药前禁食 12 h, 自由饮水。小鼠按 30.0 mg · kg⁻¹ 灌胃艾片口服溶液 0.2 mL。分别于给药后 1, 3, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120 min (每个时间点 5 只小鼠) 将小鼠脱颈椎处死, 迅速摘取脑、心、肝、脾、肺、肾组织, 剥离筋膜, 以生理盐水冲洗净表面血迹, 用滤纸吸干, 称定质量。

2.3 小鼠组织样品的处理^[4] 小鼠各组织以组织-生理盐水 (1: 1.5) 匀浆。吸取小鼠组织匀浆液 100 μL, 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 46.6 mg · L⁻¹ 十八烷乙酸乙酯溶液 10 μL, 涡旋 60 s, 加入乙酸乙酯 90 μL, 涡旋 60 s, 10 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 吸取上清液, 进样 1 μL。

2.4 龙脑的 GC-FID 分析^[5] TM-1701 高效毛细管色谱柱 (0.32 mm × 30 m, 0.25 μm), 柱温 (90 °C 保

持 8 min, 以 50 °C · min⁻¹ 升至 170 °C, 保持 6 min), 检测器氢火焰离子检测器, 检测器温度 300 °C, 进样口温度 250 °C, 载气氮气, 载气流量 28 mL · min⁻¹, 进样量 1 μL, 见图 1。



A. 空白组织匀浆; B. 空白组织匀浆加对照品; C. 组织匀浆样品; 1. 龙脑; 2. 十八烷

图 1 小鼠组织中龙脑 GC

2.5 方法学考察 各组织按上述方法处理后进行 GC 测定, 结果表明龙脑在各组织中线性关系良好, 见表 1, 精密度、回收率、稳定性均符合含量测定要求^[6], 最低检测限 0.06 μg · g⁻¹。

表 1 各组织匀浆液中龙脑的标准曲线

组织	标准曲线	r	线性范围/μg · g ⁻¹
脑	Y=0.100 3X+0.039 5	0.999 9	0.16 ~ 63.18
心	Y=0.110 8X+0.040 0	0.999 6	0.13 ~ 50.40
肝	Y=0.127 8X+0.048 7	0.999 8	0.15 ~ 30.12
脾	Y=0.103 4X+0.006 9	0.999 8	0.15 ~ 24.09
肺	Y=0.096 6X+0.030 8	0.999 8	0.13 ~ 25.20
肾	Y=0.145 0X+0.043 7	0.999 8	0.26 ~ 50.40

注: 以龙脑与十八烷峰面积比值为纵坐标, 小鼠组织中龙脑质量浓度为横坐标。

2.6 组织分布^[7-8] 小鼠口服给药于不同时间点处死后, 按 2.3 项下方法处理, 进行 GC 测定, 各组织中龙脑的药时曲线见图 2。数据通过 Kinetic 药动

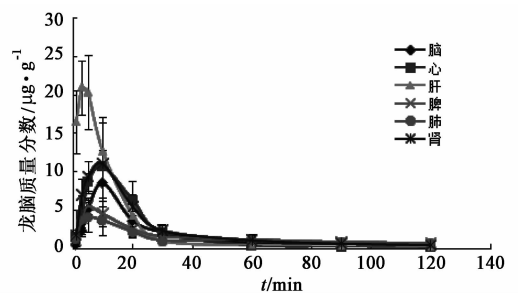


图 2 小鼠口服给药后龙脑在大鼠各脏器中药时曲线 (n=5)

学软件拟合,拟合方法选择非房室模型,小鼠各组织的药动学参数见表2。结果可知,小鼠口服艾片后迅速分布于各主要脏器,给药起始时尤以肝脏中分布最多,龙脑在肝、肺、脾中达峰时间明显早于心、

脑、肾;以AUC作为艾片在组织中分布量的指标,表明小鼠组织中龙脑的含量高低顺序为肝>肾>心>脑>脾>肺。

表2 艾片经小鼠口服给药后在各组织中药动学参数

参数	脑	心	肝	脾	肺	肾
$C_{max}/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	8.54 ± 1.96	11.05 ± 1.69	23.72 ± 1.14	6.10 ± 0.61	4.98 ± 1.62	12.94 ± 3.64
T_{max}/min	10.00 ± 0.00	9.00 ± 2.24	3.80 ± 1.10	7.00 ± 2.74	4.80 ± 3.03	7.60 ± 3.36
$AUC_{0-120\text{ min}}/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}$	194.03 ± 23.46	232.26 ± 35.01	311.16 ± 60.43	187.30 ± 27.83	160.12 ± 62.36	278.19 ± 55.50
$AUMC_{0-120\text{ min}}/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^2$	5 903.61 ± 826.07	4 716.02 ± 990.81	5 498.19 ± 1049.84	7 636.01 ± 1 192.59	7 024.85 ± 3 309.75	8 049.30 ± 2 748.00
$MRT_{0-120\text{ min}}/\text{min}$	30.49 ± 3.09	22.01 ± 1.16	17.76 ± 1.86	40.82 ± 2.60	42.90 ± 6.44	28.63 ± 5.57

3 讨论

小鼠口服艾片后迅速分布于各组织器官,之后在组织器官快速消除,随着时间的延长,药物在各组织中含量逐渐降低,在体内无蓄积。龙脑易被肝脏代谢和肾脏排泄,导致龙脑在二者中分布较高,这与龙脑易被消除相吻合。龙脑在心、脑中分布也较高,因为龙脑为小分子脂溶性物质,易透过血脑屏障进入脑部,这也恰巧证实了艾片有利于预防与治疗心脑血管疾病。小鼠各组织中龙脑含量顺序为肝>肾>心>脑>脾>肺,与天然冰片在小鼠组织内分布结果(肝>脑>肾>心>脾>肺)类似^[9],但与该文献中药时曲线相差较大,原因可能为文献中以天然冰片的混悬液灌胃,而本实验以艾片的溶液形式灌胃;天然冰片的主要成分为右旋龙脑,艾片的主要成分则为左旋龙脑,物质的旋光特性可能会影响药物的吸收分布情况。

采用乙酸乙酯直接萃取小鼠组织匀浆液中龙脑,该方法回收率较高,操作过程简便易行。为提高生物样品测定的可靠性,在样品制备过程中加入内标十八烷,建立的GC快速、灵敏、简便,克服了其他分析方法的缺点^[9-10],能准确阐明艾片在小鼠体内的动态变化规律。

[参考文献]

[1] 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,2010:82.

- [2] 张海燕, 郭伟魁, 芦乾, 等. 冰片促进口服药物吸收的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 294.
- [3] 田秀峰, 李鹏跃, 王宏洁, 等. 冰片对栀子在小鼠体内药代动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 135.
- [4] 陆洋, 杜守颖, 陈晓兰, 等. GC-FID测定大鼠静脉注射新型醒脑静后龙脑的血药浓度及药动学研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2200.
- [5] 宋道, 杜守颖, 陆洋, 等. 基于单向灌注法的艾片大鼠在体鼻黏膜吸收研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(18): 2489.
- [6] 赵静宜, 杜守颖, 陆洋, 等. 艾片经静脉和鼻腔给药的小鼠组织分布研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 31.
- [7] 陈永顺, 吴珍. 水飞蓟宾明胶微球在大鼠体内的药动学及组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 128.
- [8] 陈永顺, 吴珍. 汉黄芩素白蛋白微球在大鼠体内的药代动力学及组织分布[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 137.
- [9] 黄萍, 姜晓飞, 邹佳丽, 等. 天然冰片在小鼠组织内的GC-MS测定法和组织分布研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2009, 11(6): 821.
- [10] 李华龙, 陆榕, 赵丽霞, 等. GC/MS方法测定人血浆中龙脑药物含量的方法学研究[J]. 药物评价研究, 2009, 32(1): 43.

[责任编辑 全燕]