

# 芷冰原位凝胶兔体内的药代动力学

董芙蓉<sup>1</sup>, 朱红霞<sup>2</sup>, 刘莉<sup>2</sup>, 陈志良<sup>1</sup>, 刘强<sup>2\*</sup>

(1. 广州白云山星群(药业)股份有限公司, 广州 510288; 2. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515)

**[摘要]** **目的:**研究芷冰原位凝胶(ZB-ISG)在体内的吸收、分布及消除过程。**方法:**选择新西兰大白兔为受试动物,以口服芷冰药液作为参比制剂,采用双周期两制剂交叉试验法,通过测定血清中欧前胡素的含量评价其体内的生物利用度。**结果:**芷冰药液和 ZB-ISG 的 AUC 分别为(610.89 ± 36.09), (1150.77 ± 64.61) μg·h·L<sup>-1</sup>,表明 ZB-ISG 在兔体内的吸收程度 > 芷冰药液;芷冰药液和 ZB-ISG 的 C<sub>max</sub> 分别为(62.7 ± 7.71), (110.7 ± 10.76) μg·L<sup>-1</sup>,芷冰药液和 ZB-ISG 的 t<sub>max</sub> 分别为(3.35 ± 0.36), (0.82 ± 0.22) h,表明 ZB-ISG 经鼻腔给药欧前胡素的吸收量和吸收速率均 > 口服芷冰药液。**结论:**ZB-ISG 相对于口服芷冰药液大大提高了欧前胡素的生物利用度。

**[关键词]** 芷冰原位凝胶; 药代动力学; 生物利用度

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0144-04

## Pharmacokinetics of ZhiBing In-Situ Gel in Rabbits

DONG Fu-rong<sup>1</sup>, ZHU Hong-xia<sup>2</sup>, LIU Li<sup>2</sup>, CHEN Zhi-liang<sup>2</sup>, LIU Qiang<sup>2\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou 510288, China; 2. College of Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate absorption, distribution and elimination process of ZB-ISG in rabbits. **Method:** Study on pharmacokinetics of ZB-ISG and oral Zhibing solution (reference preparation) by double preparation and double-period method in New Zealand white rabbits, *in vivo* bioavailability of ZB-ISG was evaluated by determining the content of imperatorin in serum. **Result:** AUC of Zhibing solution and ZB-ISG were (610.89 ± 36.09), (1 150.77 ± 64.61) μg·h·L<sup>-1</sup>, respectively, it showed that absorption degree of ZB-ISG in rabbits was higher than Zhibing solution. C<sub>max</sub> of Zhibing solution and ZB-ISG were (62.7 ± 7.71), (110.7 ± 10.76) μg·L<sup>-1</sup>, respectively, t<sub>max</sub> of Zhibing solution and ZB-ISG were (3.35 ± 0.36), (0.82 ± 0.22) h, respectively, these showed that absorption amount and rate of imperatorin after nasal administration of ZB-ISG were higher than oral Zhibing solution. **Conclusion:** Comparing with oral Zhibing solution, ZB-ISG could greatly enhance bioavailability of imperatorin in rabbits.

**[Key words]** ZhiBing in-situ gel; pharmacokinetics; Bioavailability

原位凝胶,亦称在位凝胶,是指高分子材料以溶液或半固体状态给药后,在用药部位对外界刺激发生响应,发生分散状态或构象的可逆转化形成的半固体或液体制剂<sup>[1-2]</sup>,具有凝胶制剂的亲水性三维

网络结构及良好的组织相容性。同时,独特的溶液-凝胶转变性质使其兼有制备简单、使用方便、与用药部位特别是黏膜组织亲和力强、滞留时间长等优点<sup>[3]</sup>。芷冰鼻腔原位凝胶是以白芷、冰片等为主要药物制备成的经鼻腔给药治疗头痛的新剂型,处方来自民间验方。前期报道过其质量标准及体外研究<sup>[4-5]</sup>。为研究芷冰原位凝胶(ZB-ISG)在体内的吸收、分布及消除过程,本试验选择新西兰大白兔为受试动物,对其进行药代动力学研究,并以口服芷冰药液作为参比制剂,评价其在新西兰大白兔体内的生物利用度。

**[收稿日期]** 20120907(005)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2008B030301141)

**[第一作者]** 董芙蓉,硕士,工程师,从事中药新产品研发, Tel: 13725116225, E-mail: 654839319@qq.com

**[通讯作者]** \* 刘强,博士,教授,从事中药新剂型与新技术研究, Tel: 020-61648264, E-mail: gzlq2002@163.com

## 1 材料

白芷购于广东广弘药材有限公司,经南方医科大学中药鉴定教研室陈兴兴教授鉴定为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. Ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 的干燥根。冰片(广东广弘药材有限公司),芷冰药液(ZB-ISG,实验室自制,批号 071103),芷冰原位凝胶(实验室自制,批号 071105),欧前胡素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110826-200409),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

API4000 Qtrap 型 LC/MS/MS 联用仪(美国应用生物系统公司),TMP-1 型电子天平(德国 Sartorius 公司),微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ ,上海丰岛实业有限公司),鼻腔喷雾装置(苏州万通定量阀系统有限公司),WH-1 微型漩涡混合仪(上海沪西分析仪器厂),H1650-W 型台式微量高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司),真空采血管(成都瑞琦科技实业有限公司),Agilent 1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

新西兰大白兔,12 只,雌雄各半,体重(2.01  $\pm$  0.25) kg,随机分为 2 组,动物合格证号粤 2002A041,由南方医科大学实验动物中心提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 欧前胡素含量测定

**2.1.1 色谱条件** ZORBAX XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm  $\times$  50 mm,3.5  $\mu\text{m}$ ,安捷伦公司),流动相甲醇-0.1% 乙酸溶液(70:30),流速 0.3 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温室温。

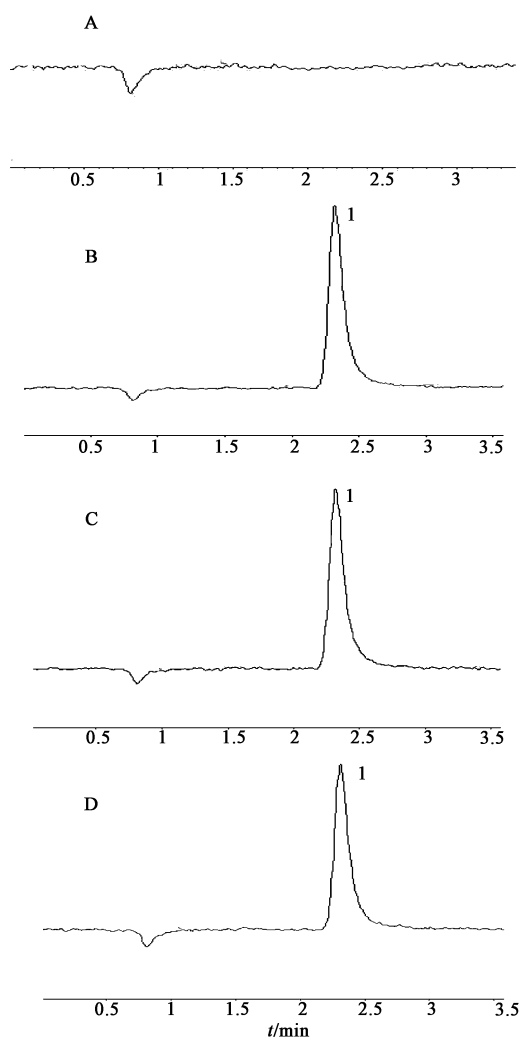
**2.1.2 质谱条件** 电喷雾(ESI)离子源,Curtain Gas 20.0,GS1 30,GS2 40,辅助气化气流速 7 000 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,雾化气流速(NEB)6 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,气帘气流速(CUR)20.0 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,碰撞气流速(CAD)8 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,离子源电压(IS)5 000 V,离子源温度(TEM)350  $^{\circ}\text{C}$ ,去簇电压(DP)70.0 V,聚焦电压(FP)400 V,入口电压(EP)5.0 V,碰撞能量(CE)22 V,碰撞出口电压(CXP)10 V,负离子方式检测,采用多反应检测(MRM)扫描模式,用于定量分析的母/子离子对为  $m/z$  271.1 ~ 203.1,扫描时间 200.0 ms。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 精密称取欧前胡素对照品,加甲醇溶解制成 0.211 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的溶液,作为对照品贮备液,置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱内保存。临用前,根据需要用流动相稀释成 0.528,2.11,10.55,21.1,52.75,84.4,263.8,527.5,844.0,1 055,2 110,2 638  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  系列质量浓度的对照品溶液。

**2.1.4 空白血浆样品的制备** 兔耳缘静脉取血

1 mL,普通生化管收集,3 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上层血清,于 -20  $^{\circ}\text{C}$  下储存备用。取血清 200  $\mu\text{L}$ ,加乙醚 400  $\mu\text{L}$ ,涡旋混匀 1 min,以 9 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取有机相置另一离心管中。继续加入乙醚提取,重复 3 次,合并有机相,(37  $\pm$  1)  $^{\circ}\text{C}$  水浴中 N<sub>2</sub> 流下吹干,残留物加流动相 100  $\mu\text{L}$  溶解,涡旋震荡 1 min,离心 10 min(转速 9 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>),取上清液 20  $\mu\text{L}$  进样测定。

**2.1.5 方法专属性考察** 取欧前胡素对照品溶液(84.4  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )20  $\mu\text{L}$  进样,记录保留时间;取兔空白血清,按生物样品处理方法同法操作,记录色谱图,在与欧前胡素相同保留时间处无干扰峰出现,表明内源性物质不干扰样品测定。见图 1。



A. 空白血清;B. 空白血清+对照品;  
C. 芷冰药液给药后血清;D. 供试品;1. 欧前胡素

图 1 芷冰原位凝胶 LC/MS

**2.1.6 标准曲线的制备** 取空白血清 200  $\mu\text{L}$ ,加欧前胡素对照品系列对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,配制成相

当于质量浓度为 1.0, 5.0, 25.0, 50.0, 100.0, 250.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的样品, 按生物样品处理项下依法操作, 注入液相色谱仪, 以峰面积为纵坐标, 欧前胡素质量浓度为横坐标, 得标准曲线方程  $Y = 1\ 325.1X + 10\ 411$  ( $R^2 = 0.999\ 7$ ), 线性范围 1.0 ~ 250.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.1.7 样品检测限、定量限的确定** 取空白血清加欧前胡素对照品系列对照品溶液, 配制质量浓度分别为 0.216, 0.108, 0.054  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的样品, 按生物样品处理项下依法操作, 以信噪比  $S/N = 3$  计, 检测限 0.054  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 以信噪比  $S/N = 10$  计, 定量限 0.216  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.1.8 血清样品日内、日间精密度的考察** 取空白血清加入欧前胡素对照品溶液, 制备质量浓度为 4.56, 93.7, 213.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的低、中、高 3 个质量浓度的血浆质控样品 ( $n = 5$ ), 按生物样品处理项下操作, 以当日的标准曲线计算质控样品质量浓度, 于 1 d 内测定, 计算日内精密度, RSD 分别为 3.92%, 5.02%, 6.79%; 同法测定 3 d, 计算日间精密度, RSD 依次为 6.03%, 3.88%, 7.14%; 将实测值与加入值相比, 得低、中、高质量浓度的平均回收率分别为 95.17%, 101.56%, 101.69%, RSD 分别为 3.92%, 5.02%, 6.79%。

**2.1.9 血清样品稳定性考察** 取空白血清加入欧前胡素对照品溶液, 制备成质量浓度为 2.13, 213  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的低、高 2 个质量浓度的血浆质控样品, 分别考察其在  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  贮存 6 d, 室温下放置 2 h 的稳定性, 样品经前处理用  $\text{N}_2$  吹干后,  $4\text{ }^\circ\text{C}$  放置 6 d 的稳定性。结果低质量浓度样品的测定值分别为  $(2.18 \pm 0.22)$ ,  $(2.05 \pm 0.12)$ ,  $(2.07 \pm 0.11)$   $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , RSD 依次为 10.09%, 5.85%, 5.31%; 高质量浓度样品的测定值分别为  $(215.17 \pm 11.56)$ ,  $(208.33 \pm 15.04)$ ,  $(209.67 \pm 14.27)$   $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , RSD 依次为 5.46%, 7.22%, 6.81% ( $n = 3$ )。

**2.2 药代动力学研究** 采用双周期两制剂交叉试验设计。试验前新西兰大白兔经适应性喂养 3 ~ 5 d。受试前一天晚喂食后即禁食至受试当日晨空腹给药后 4 h, 全程不禁水。兔随机分为 2 组, 每组 3 只, 一组经口服给予参比制剂芷冰药液, 剂量为 0.2 mL/只 (相当于白芷原药材 0.2 g), 另一组经鼻腔给予供试制剂 ZB-ISG, 剂量为 0.2 mL/只 (相当于白芷原药材 0.2 g, 两喷剂量)。给药后的取血时间为 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 h。由耳源静脉采血 1 mL,  $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 分离血清,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  保存供测试, 停药 7 d 后 2 组动物分别交叉

给予另一种制剂。

**2.2.1 血清样品的制备** 取兔血清样品 200  $\mu\text{L}$ , 加入提取溶剂乙醚 400  $\mu\text{L}$ , 按 2.1.4 项下方法操作。

**2.2.2 数据处理** 采用 3p97 药代动力学程序, 参考实测值与理论值的相关性, 曲线拟合优度, AIC 等指标, 选择出最优房室模型, 求算参比制剂芷冰药液和供试制剂 ZB-ISG 的各药代动力学参数。对试验所得的 AUC,  $C_{max}$  和  $t_{max}$  进行制剂间、周期间和个体间三因素方差分析, 其中 AUC 和  $C_{max}$  先对数转换, 再进行上述分析。数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理。药时曲线见图 2, 药代动力学参数见表 1。

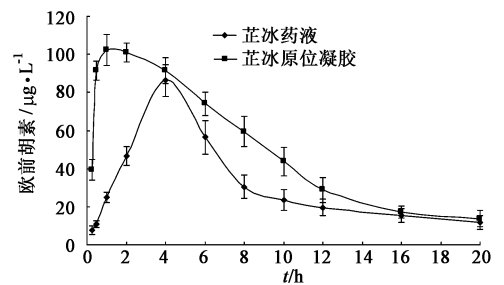


图 2 芷冰药液和芷冰原位凝胶的药时曲线

表 1 血清中欧前胡素的药代动力学参数

参数	芷冰药液	ZB-ISG
$K_e/h^{-1}$	$0.202 \pm 0.023$	$0.107 \pm 0.012$
$K_a/h^{-1}$	$0.419 \pm 0.022$	$3.551 \pm 0.235$
MRT/h	$4.95 \pm 0.78$	$9.35 \pm 1.25$
$T_{1/2(K_a)}/h$	$1.65 \pm 0.09$	$0.19 \pm 0.05$
$T_{1/2(K_e)}/h$	$3.43 \pm 0.38$	$6.46 \pm 0.53$
$T_{max}/h$	$3.35 \pm 0.36$	$0.82 \pm 0.22$
$C_{max}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$62.7 \pm 7.71$	$110.7 \pm 10.76$
$AUC/\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$610.89 \pm 36.09$	$1\ 150.77 \pm 64.61$

由表 1 可知, ZB-ISG 在兔体内的吸收程度 > 芷冰药液; ZB-ISG 经鼻腔给药欧前胡素的吸收量和吸收速率均 > 口服芷冰药液。以 AIC 为判断标准, 表明欧前胡素在体内的药代动力学过程符合单室模型。

计算出每只动物鼻腔给药 ZB-ISG 的 AUC 与口服芷冰药液的 AUC, 相比算出其生物利用度 ( $n = 6$ )。结果表明 ZB-ISG 相对于芷冰药液的生物利用度 ( $F$ ) 为  $(188.56 \pm 8.35)\%$ , 大大提高了欧前

胡素的生物利用度。

### 3 讨论

目前关于原位凝胶报道较多<sup>[6-7]</sup>,但关于中药原位凝胶尤其是兔体内药代动力学研究至今未见报道。本试验对 ZB-ISG 的兔体内药代动力学进行研究,采用 LC-MS-MS 分析欧前胡素在体内的药代动力学过程,具有高灵敏度、重复性好等特点,对于欧前胡素血清质量浓度极低的样品,采用本法亦能比较精密的测定,说明 LC-MS-MS 作为欧前胡素的检测方法切实可行。药代动力学研究表明,ZB-ISG 经鼻腔给药后,可透过鼻黏膜迅速吸收入血,使得欧前胡素的生物利用度提高,治疗头痛的效果增强。

### [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,2005:897.

- [2] 张翠霞,张文涛,王东凯,等. 新型的药物传递系统-原位凝胶的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(4):459.
- [3] 魏刚,徐晖,郑俊民. 原位凝胶的形成机制及在药物控制释放领域的应用[J]. 中国药学杂志,2003,38(8):564.
- [4] 董芙蓉,刘莉,陈志良,等. 芷冰鼻腔原位凝胶的体外释放[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):29.
- [5] 董芙蓉,刘莉,陈志良,等. 芷冰鼻腔原位凝胶剂的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):19.
- [6] 李思佳,杨俊,陈锋,等. 经鼻脑靶向给药研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14):289.
- [7] 项佳音,杨洪军,熊欣,等. 常见温度敏感型原位凝胶载体的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):252.

[责任编辑 全燕]

## 欢迎订阅 2013 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。本刊立足于行业报道的前沿,关注相关的政策动态,跟踪报道中医药重大课题,及时分析报道中医药的新政策、新技术、新发明、新成果、新疗法,努力使信息的选择与表达方式能够充分体现中医药发展水平,为广大读者提供一流的信息服务。

《中国中医药信息杂志》1994 年创刊,2002 年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已被波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等国际检索系统收录。

《中国中医药信息杂志》是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、中医药发展论坛、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、研究与进展、论著、实验研究、流行病学调查、质量标准研究、制剂与工艺、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学等。

《中国中医药信息杂志》为月刊,大 16 开国际开本,112 页,国内外公开发行,每册定价 10 元,全年 120 元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部 邮编:100700 电话:010-64014411-3278 E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn

## 《中国中药杂志》2013 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2013 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.ejcm.com.cn](http://www.ejcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。