

天钩降压胶囊中丹皮酚在大鼠体内药代动力学

王瑛兰, 李凌军*, 张微
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 研究不同剂量天钩降压胶囊对大鼠体内丹皮酚药动力学的影响。方法: 大鼠分别灌胃给予低、中、高剂量天钩降压胶囊(相当于丹皮酚 6.884, 13.77, 27.53 mg·kg⁻¹), 于给药后不同时间采集大鼠血浆。血浆样品用甲醇沉淀蛋白, HPLC 测定丹皮酚含量, 各给药组平均血药浓度-时间数据采用 DAS2.0 软件分析。组间药动力学参数用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。结果: 低剂量组大鼠丹皮酚血药浓度在消除相超出最低检测限, 未能测出药时曲线; 中、高剂量组丹皮酚均在 5 min 达最大吸收; $t_{1/2ka}$, C_{max} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-360} , CLz/F 随给药剂量增加而显著性增加; $t_{1/2z}$, MRT_{0-360} , Vz/F 随给药剂量增加而显著性减小。结论: 大鼠灌胃不同剂量天钩降压胶囊后丹皮酚的药动力学参数存在一定差异。

[关键词] 天钩降压胶囊; 丹皮酚; 高效液相色谱法; 药代动力学

[中图分类号] R283.6; R969 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0114-03

In vivo Pharmacokinetics of Paeonol from Tiangou Jiangya Capsule in Rats

WANG Ying-lan, LI Ling-jun*, ZHANG Wei
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To study on influence of *in vivo* pharmacokinetics of paeonol (Pae) from different dosages of Tiangou Jiangya capsule in rats. **Method:** Three dosages (low, medium, high) of TianGou Jiangya capsule (equivalent to paeonol 6.884, 13.77, 27.53 mg·kg⁻¹) were fed to rats by intragastric administration separately. Plasma samples were collected at different time and treated with methanol to precipitate protein. The contents of paeonol in plasma were determined by HPLC. Pharmacokinetic parameters between groups were statistical analyzed by SPSS 16.0. **Result:** Plasma concentration of paeonol was beyond minimum detection limit and plasma concentration-time curve failed to detect at low dosage group; Maximum absorption of middle and high dosages of paeonol reached the maximum absorption in 5 minute, $t_{1/2ka}$, C_{max} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-360} , CLz/F increased significantly with increasing of intragastric administration dosages. $t_{1/2z}$, MRT_{0-360} , Vz/F reduced Significantly with increasing of intragastric administration dosages. **Conclusions:** Pharmacokinetics parameters of paeonol had some differences after intragastric administration of different dosages of Tiangou Jiangya capsule.

[Key words] Tiangou Jiangya capsule; paeonol; HPLC; pharmacokinetics

天钩降压胶囊由天麻、钩藤、杜仲、黄芩、牡丹皮、珍珠母组成, 具有平肝潜阳、镇静安神的功效, 用于轻中度高血压, 属一、二级高血压低中危患者见肝肾不足、肝阳上亢症候者。丹皮酚是牡丹皮的主要

活性成分, 具有抗高血压、抗心律失常、抗缺血再灌注性损伤、抗动脉粥样硬化等作用^[1]。目前, 单体的药动力学研究文献报道较多, 如丹皮酚^[2-3]、马钱苷^[4]、黄芩苷^[5]、丁香苦苷^[6]等。但天钩降压胶囊复方中丹皮酚的药动力学及给药剂量对丹皮酚药动力学的影响尚未见报道。本文研究了低、中、高剂量天钩胶囊中丹皮酚在大鼠体内的药动力学过程, 为深入研究天钩降压胶囊提供了有价值的实验数据。

1 材料

Agilent 1100 型高效液相仪(美国, DAD 二极管阵列检测器, 四元泵), SZ-1 型快速混匀器(江苏金

[收稿日期] 20110828(002)

[基金项目] “重大新药创制”项目(2009ZX09103-403)

[第一作者] 王瑛兰, 硕士研究生, 从事中药新药与中药炮制原理研究, Tel: 15215314546, E-mail: wyinglan336@126.com

[通讯作者] *李凌军, 从事中药新药与中药炮制原理研究, Tel: 15953176976, E-mail: lljun66@yahoo.com.cn

坛市金城国胜实验仪器厂),KQ-250E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),Mettler AE240型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),TGL-20M型离心机(长沙维尔康湘鹰离心机有限公司),对甲氧基苯乙酮(Aladdin有限公司),肝素钠注射液(批号100627,江苏常州千红生化制药股份有限公司),水合氯醛(批号20081021,天津市光复精细化工研究所),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

丹皮酚对照品(批号110708-200505,中国药品生物制品检定所),天钩降压胶囊(自制)。

SD大鼠,雌雄不限,体重(250±20)g,由山东中医药大学实验动物中心提供,合格证号SHXK(鲁20050015)。

2 方法与结果

2.1 对照品及内标溶液配制 精密称取丹皮酚对照品5.05 mg,用甲醇溶解并定容于10 mL量瓶中,得505 mg·L⁻¹丹皮酚对照品溶液,4℃冰箱保存。

精密称取对甲氧基苯乙酮0.099 0 g,用甲醇溶解并定容于100 mL量瓶中,即得9.9 mg·L⁻¹对甲氧基苯乙酮溶液,4℃冰箱保存。

2.2 血浆样品的采集^[6] SD大鼠随机分成3组,雌雄不限,每组6只,给药前禁食12 h,自由饮水,天钩降压胶囊细粉以0.5% CMC-Na制备成0.1 g·mL⁻¹混悬液,灌胃剂量为0.325,0.65,1.3 g·kg⁻¹(分别相当于丹皮酚6.883 5,13.767,27.534 mg·kg⁻¹)。大鼠给药后用10%水合氯醛腹腔注射麻醉,于5,10,20,30,60,90,120,180,240,360 min大鼠眼眶取血,每次取血0.5 mL,置肝素处理的试管中,离心10 min(10 000 r·min⁻¹),精密吸取上层血浆0.2 mL,置-20℃冰箱保存。

2.3 色谱条件 Tskgel ODS-1002色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温30℃,流动相甲醇-水(75:25),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长274 nm,进样量20 μL。

2.4 标准曲线绘制 取空白血浆0.2 mL 6份,依次加入稀释的丹皮酚对照品系列溶液,制成含丹皮酚分别为0.040 73,0.081 45,0.162 9,0.325 8,0.651 6,1.303 mg·L⁻¹的血浆样品,按2.3项下方法测定。以丹皮酚峰面积与内标峰面积比值为纵坐标,丹皮酚血浆质量浓度为横坐标,用加权最小二乘法进行回归计算,求得线性回归方程 $Y = 0.108 4 X + 0.003 8 (r = 0.999 2)$ 。结果血浆中丹皮酚浓度在0.040 73~1.303 mg·L⁻¹与峰面积比呈良好线性

关系。

2.5 最低检测限 信噪比S/N为3时的质量浓度为最低检测质量浓度,得丹皮酚的最低检测限为0.013 58 mg·L⁻¹。

2.6 精密度试验 取2.4项下丹皮酚质量浓度为0.081 45,0.325 8,1.303 mg·L⁻¹的低、中、高质量浓度的血浆样品,每种质量浓度各制备6份,按2.3项下方法测定,结果低、中、高3个质量浓度日内精密密度RSD分别为19.2%,9.0%,1.7%;日间精密密度分别为17.3%,6.5%,9.2%。

2.7 稳定性试验 取2.4项下丹皮酚浓度为0.081 45,0.325 8,1.303 mg·L⁻¹的低、中、高质量浓度的血浆样品,每种质量浓度各制备4份,分别冻融1次,冻融2次,冻融24 h,冻融7 d,按2.3项下方法测定,结果RSD分别为15.5%,6.5%,10.2%。

2.8 回收率试验

2.8.1 绝对回收率 取2.4项下丹皮酚质量浓度为0.081 45,0.325 8,1.303 mg·L⁻¹的低、中、高质量浓度的血浆样品,每种浓度各制备6份,按2.3项下方法测定丹皮酚峰面积 A_1 。用水代替空白血浆,同法操作,测定丹皮酚峰面积 A_0 ,以 $A_1/A_0 \times 100\%$ 计算绝对回收率分别为100.6%,97.8%,86.5%,RSD分别为4.5%,1.7%,5.2%。

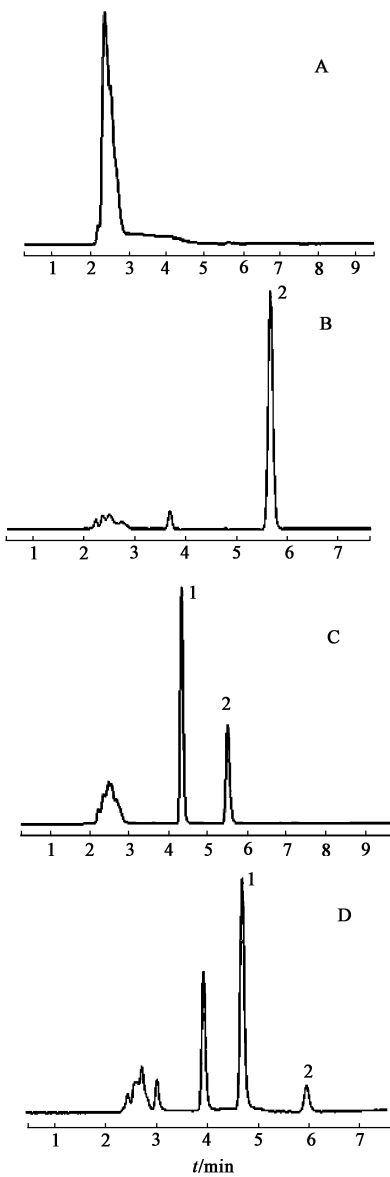
2.8.2 相对回收率 取2.4项下丹皮酚质量浓度为0.081 45,0.325 8,1.303 mg·L⁻¹的低、中、高质量浓度的血浆样品,每种质量浓度各制备6份,按2.3项下方法测定,根据标准曲线计算丹皮酚含量,测得值与理论值相比,得相对回收率,结果见表1。

表1 大鼠血浆中丹皮酚的相对回收率($n=6$)

加入量/mg·L ⁻¹	测得量/mg·L ⁻¹	相对回收率/%	RSD/%
0.081 45	0.085 79	105.3	15.2
0.325 8	0.376 44	115.4	0.4
1.303	1.281 31	98.3	5.0

2.9 血浆样品丹皮酚的含量测定 血浆样品室温自然解冻,精密加入内标液0.4 mL,涡旋30 s,离心10 min(10 000 r·min⁻¹),0.45 μm微孔滤膜滤过,进样20 μL测定,见图1。

2.10 药时曲线拟合及药动学参数 低剂量组大鼠丹皮酚血药浓度在消除相超出最低检测限,未能测出药时曲线;中、高剂量组大鼠平均血药浓度-时间数据采用DAS2.0软件拟合药-时曲线与房室模型,并计算药动学参数。平均血药浓度-时间曲线见图2,药动学参数见表2。



A. 空白血浆; B. 空白血浆加丹皮酚; C. 空白血浆加内标与丹皮酚; D. 给药血浆; 1. 对甲氧基苯乙酮; 2. 丹皮酚

图 1 给药血浆丹皮酚 HPLC

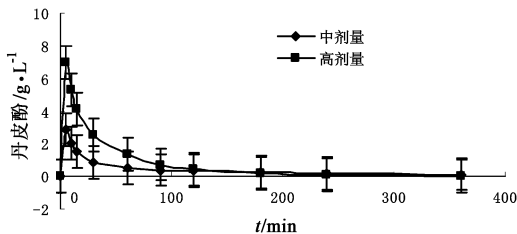


图 2 中、高剂量灌胃天钩胶囊丹皮酚药-时曲线

3 讨论

血浆样品处理方法有固相萃取法、蛋白沉淀法、沸水浴法。本实验采用蛋白沉淀法,考察了甲醇、乙腈沉淀蛋白效果,结果相同量的甲醇、乙腈沉淀蛋白效果相当,杂质不影响成分测定,因此选用甲醇沉淀蛋白。

表 2 中、高剂量天钩胶囊丹皮酚药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	中剂量	高剂量
	(13.767 mg·kg ⁻¹)	(27.534 mg·kg ⁻¹)
$t_{1/2ka}$ /min	0.092 ± 0.042	6.838 ± 12.237 ¹⁾
$t_{1/2z}$ /min	150.779 ± 58.092	92.817 ± 15.41 ¹⁾
T_{max} /min	5	5
C_{max} /mg·L ⁻¹	2.824 ± 0.542	7.017 ± 0.293 ¹⁾
$AUC_{0-\infty}$ /mg·L ⁻¹ ·min ⁻¹	220.861 ± 30.631	278.953 ± 34.762 ¹⁾
AUC_{0-360} /mg·L ⁻¹ ·min ⁻¹	144.077 ± 23.134	269.216 ± 31.644 ²⁾
CLz/F /mL·min ⁻¹ ·kg ⁻¹	63.38 ± 9.113	100.231 ± 14.768 ¹⁾
MRT_{0-360} /min	109.934 ± 10.073	60.339 ± 4.468 ²⁾
Vz/F	27 786.53 ± 10 248.315	13 198.116 ± 1 183.138 ¹⁾

注:与中课题组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

内标选择时考察了肉桂酸、对甲氧基苯乙酮的分离效果。结果显示,肉桂酸在本实验条件下呈现双峰,对甲氧基苯乙酮峰形良好,不干扰丹皮酚测定,故选择对甲氧基苯乙酮为内标。

低剂量组大鼠丹皮酚血药质量浓度在消除相超出最低检测限,未能测出药时曲线。中、高剂量组丹皮酚均在 5 min 达最大吸收,且消除速率很快; $t_{1/2ka}$, C_{max} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-360} , CLz/F 随给药剂量增加而显著性增加; $t_{1/2z}$, MRT_{0-360} , Vz/F 随给药剂量增加而显著性减小,表明大鼠灌胃不同剂量天钩降压胶囊后丹皮酚的药动学参数存在一定差异。中、高剂量组的 AUC_{0-360} 基本呈现线性关系,但 $AUC_{0-\infty}$ 却相差较大,实验数据显示,中剂量组个别大鼠体内丹皮酚血药浓度在 360 min 后偏高,可能是大鼠个体差异所致。

[参考文献]

- [1] 李薇,王运亮,蔡绍哲,等. 丹皮酚和阿司匹林对大鼠血液流变性影响的比较[J]. 中草药,2000,31(1):29.
- [2] 马丽焱,缪剑华,许旭东,等. 丹皮酚在清醒大鼠体内的药动学和绝对生物利用度[J]. 时珍国医国药,2009,20(2):413.
- [3] 孙言才,孙国平,沈玉先,等. 丹皮酚在小鼠体内的药动学研究.[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(5):543.
- [4] 汤继辉,胡容峰,怀素丽. 山茱萸中马钱苷大鼠体内药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):28.
- [5] 李朝霞,倪健,尹兴斌,等. 黄芩苷对连翘苷在家兔体内药动学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):197.
- [6] 李秋红,李永吉,隋晓璐,等. 丁香苦苷在兔体内的药动学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(9):44.

[责任编辑 仝燕]