

丁香苦昔在兔体内的药动学研究

李秋红, 李永吉*, 隋晓璠, 鞠爱霞

(黑龙江中医药大学药学院临床药学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究丁香苦昔的体内动态变化规律。方法: 家兔静脉注射丁香苦昔注射液, 采集血样, 固相柱活化方法处理血浆后高效液相色谱法测定丁香苦昔血浆浓度, 采用药动学软件 Multi97 进行数据处理, 确定药动学参数。结果: 丁香苦昔给药后在体内符合二室模型分布, 其主要药动学参数如下: $T_{1/2(\alpha)} = 2.655 \text{ min}$, $T_{1/2(\beta)} = 16.54 \text{ min}$, $AUC = 272.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}$, $CL = 0.037 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, $K_{12} = 0.124 \text{ min}^{-1}$, $K_{21} = 0.0908 \text{ min}^{-1}$ 。结论: 丁香苦昔在体内分布快, 起效迅速, 消除也快, 体内滞留时间短。

[关键词] 丁香苦昔; 药物动力学; 高效液相色谱法

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)09-0044-03

Study on Pharmacokinetics of Syringopicroside in Rabbits

LI Qiu-hong, LI Yongji*, SUI Xiaofan, JU Ai-xia

(Department of Clinical Pharmacy, College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To identify pharmacokinetics of syringopicroside in rabbits. **Methods:** The plasma samples were collected after intravenous injection and syringopicroside was determined by HPLC after solid-phase extraction. The data were analyzed with software Multi97 and the pharmacokinetic parameters were calculated. **Results:** Two compartment model was shown after syringopicroside administration. The main pharmacokinetic parameters are presented respectively: $T_{1/2(\alpha)} = 2.655 \text{ min}$, $T_{1/2(\beta)} = 16.54 \text{ min}$, $AUC = 272.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{min}$, $CL = 0.037 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, $K_{12} = 0.124 \text{ min}^{-1}$, $K_{21} = 0.0908 \text{ min}^{-1}$. **Conclusion:** The pharmacokinetics of syringopicroside showed a rapid distribution, the elimination was also fast, and the retention time was short.

[Key words] syringopicroside; pharmacokinetics; HPLC

丁香苦昔为丁香叶有效成分的主要组成部分, 属于环烯醚萜苷类化合物, 分子量 494.5^[1]。其含量占干燥叶的 1.1%, 研究表明丁香苦昔 A 体内抑菌作用强, 以丁香叶为原料生产的炎立消胶囊、片剂治疗痢疾、急性黄疸性肝炎, 均收到较好疗效^[2]。丁香苦昔的药物动力学研究尚未见报道, 本文对静脉注

射丁香苦昔后在兔体内的药动学过程进行研究, 为制定临床合理给药方案提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 新西兰纯种白兔, 体重(2~3) kg, ♂, 由黑龙江中医药大学动物中心提供。室温饲养。

1.2 药品和试剂 丁香苦昔对照品(自制, 经面积归一化法计算含量 > 98%); 戊巴比妥钠(上海化学试剂采购供应站); 肝素(北京市海淀区微生物培养基制品厂); 色谱纯甲醇; 其它试剂为市售色谱纯和分析纯; 水为超纯水。

1.3 仪器及色谱条件

仪器: 自动平衡离心机(DZ4-2, 江苏省金坛市医

[收稿日期] 2008-01-28

[基金项目] 黑龙江省科技厅留学归国基金(LC04C13); 黑龙江教育厅海外学人科研资助项目(1054HQ022)

[通讯作者] * 李永吉, Tel: (0451) 82196331; E-mail: liyongji@public.hr.hl.cn

疗仪器厂); 高效液相色谱(LG-2010, 日本 Shimadzu); 紫外检测器(Class-VP 色谱工作站); XK9G 型快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司); SPE 柱 C₁₈ (100 mg·mL⁻¹, 大连依利特分析仪器有限公司)。

色谱条件: 色谱柱为 Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 流动相为 甲醇-水 (43: 57, v/v), 流速为 1 mL·min⁻¹, 柱温为 30 °C, 检测波长为 221 nm, 进样量为 10 μL。

1.4 血浆样品的采集与处理

血样采集 家兔 iv 丁香苦昔溶液 10 mg·kg⁻¹, 分别于给药前及给药后 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 90 min 取血 0.5 mL, 置于经肝素处理过的离心管中, 3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 分离得血浆, 血浆样品在 -20 °C 冷冻保存待分析。

血样处理步骤 固相柱活化步骤: 依次用 1 mL 水, 1 mL 异丙醇, 1 mL 甲醇, 3 mL 蒸馏水反相冲洗小柱, 再以 1 mL 蒸馏水正向冲洗小柱, 最后压出全部液体即可^[3]。离心管中精密加入家兔血浆 100 μL、蒸馏水 100 μL, 涡旋混和 30 s 后, 吸入移液器中, 分次压入小柱(每次停留时间不少于 2 min), 再用 100 μL 蒸馏水冲洗离心管, 最后一同压入小柱, 依次用 1 mL 蒸馏水、1 mL 10% 甲醇溶液、1 mL 50% 甲醇溶液洗脱, 收集 50% 甲醇部分并定容至 1 mL, 过滤后 10 μL 进样分析。

1.5 数据处理

运用 Multi97V10(日本)药动学数据处理软件分别按照一、二、三室隔室模型进行药时曲线拟合, 对 3 种模型利用 F 检验进行方差分析, 根据 AIC 最小的原则选出最佳模型, 同时求得主要药动学参数。

2 结果

2.1 方法专属性

按照上述色谱条件和血样处理方法, 分别将空白血浆、样品血浆和空白血浆加对照品, 经血样处理步骤操作后进样分析, 所得色谱图见图 1。

由图可见, 在上述色谱条件下, 丁香苦昔具有良好的分离度, 空白血浆中的内源性物质对丁香苦昔的测定在出峰位置没有干扰, 因此本方法具有良好的专属性。

2.2 标准曲线的绘制

精密吸取 10 μg·mL⁻¹ 的丁香苦昔对照品甲醇液 1.0, 5.0, 10.0, 100.0, 200.0, 400.0, 600.0 μL 置于离心管中, 40 °C 水浴蒸干后, 分别精密加入空白血浆 100.0 μL, 涡旋混和 30 s, 配制

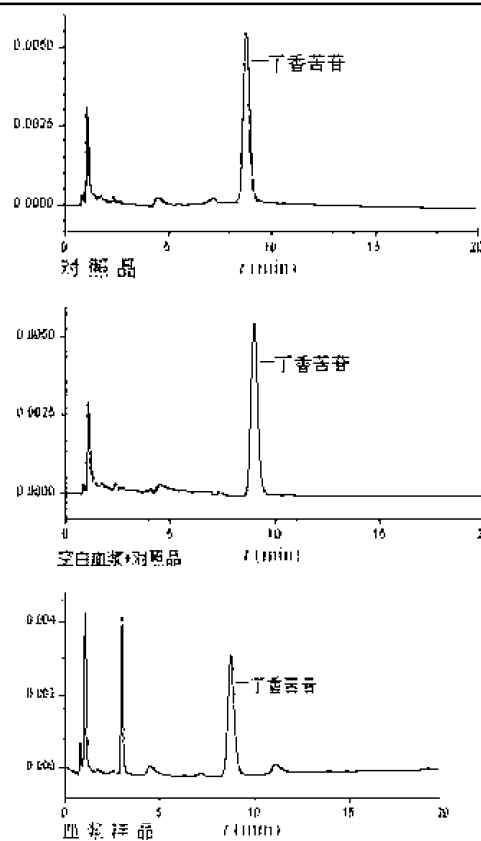


图 1 对照品、空白+对照品及样品血浆中含有丁香苦昔的 HPLC 图谱

成 0.1, 0.5, 1.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0 μg·mL⁻¹ 浓度的标准血浆样品, 按血样处理的方法操作, 在 HPLC 测定条件下, 分别测定丁香苦昔峰面积, 绘制面积(A)-浓度(C)标准曲线, 以直线回归程序进行回归, 得到标准曲线方程: $A = 1.2 \times 10^4 C - 6.5 \times 10^2$, $r = 0.9998$, 线性范围为(0.1~60.0) μg·mL⁻¹。

2.3 回收率和精密度实验

精密吸取丁香苦昔对照品溶液 10.0, 200.0, 400.0 μL 置于离心管中, 40 °C 水浴挥干后, 分别精密加入空白血浆 100.0 μL, 配制 1.0, 20.0, 40.0 μg·mL⁻¹ 浓度的标准血浆质控样品, -20 °C 避光储存备用。取质控样品系列按与血样处理同法处理, 应用同上 HPLC 法测试样品的峰面积, 代入标准曲线方程, 计算出丁香苦昔浓度, 以测定值与实际值之比计算回收率。1.0, 20.0, 40.0 μg·mL⁻¹ 3 种浓度的平均相对回收率为 90.5%, 93.9%, 95.6%。本法的日内、日间精密度 RSD 在 0.22%~4.7%, 符合目前生物样品分析方法指导原则的要求。日间、日内精密度结果见表 1。

2.4 样品稳定性考察

样品于 -20 °C 冷冻保存后融化、再冷冻, 连续 3 次(冻融间期为 7 d), 每次测定其中有效成分浓度, 测定结果表明样品在 3 周内冻融稳定性良好(RSD < 5%), 结果见表 2。

表 1 日间、日内精密度试验结果 (n = 5)

组别	配制浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	测定浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	RSD (%)
日内	1	0.90 ± 0.02	1.7
	20	19.17 ± 0.04	0.22
	40	39.04 ± 0.04	0.97
日间	1	0.91 ± 0.02	2.1
	20	19.47 ± 0.92	4.7
	40	39.35 ± 1.12	4.1

表 2 高、中、低浓度样品稳定性考察 (n = 3)

浓度	测定值 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	RSD (%)
高	9.42 ± 0.08	0.82
中	4.11 ± 0.14	3.29
低	0.19 ± 0.007	3.68

2.5 药动学研究 静脉注射给药后丁香苦昔随时间变化的血药浓度曲线绘制见图 2。经计算机拟合符合两室模型, 其药物动力学方程为 $C = 15.09e^{-0.261t} + 8.988e^{-0.0419t}$, 求得主要药动学参数 (包括分布速度常数 α , 消除速度常数 β , 分布半衰期 $T_{1/2(\alpha)}$, 消除半衰期 $T_{1/2(\beta)}$, 药物从外周房室向中央房室转运的速率常数 K_{21} , 药物从中央房室向外周房室转运的速率常数 K_{12} , 药时曲线下面积 AUC, 清除率 CL 等, 表 3)。

表 3 药物动力学参数 (n = 4)

Dose ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	10
A ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	15.09
B ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	8.988
α (min^{-1})	0.261
β (min^{-1})	0.0419
$T_{1/2(\alpha)}$ (min)	2.655
$T_{1/2(\beta)}$ (min)	16.54
K_{21} (min^{-1})	0.0908
K_{12} (min^{-1})	0.124
AUC ($\text{min}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	272.32
CL ($\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	0.0371

3 讨论

本实验放弃常规的液-液萃取法, 采用 SPE 法分离除杂, 操作简便, 提取迅速, 固相柱可以再生, 实验成本低。该方法的平均回收率为 93.7%, RSD 为 3.82%, 符合药物动力学研究的要求。

丁香苦昔在 221 nm 和 280 nm 处有最大吸收^[4], 且前者的吸收值高于后者, 采用本方法处理的空白

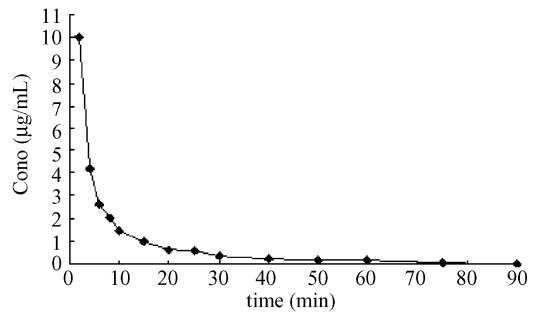


图 2 兔静脉注射丁香苦昔 ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的血药浓度-时间曲线

血浆在两波长处对丁香苦昔均无干扰, 故以 221 nm 作检测波长。

本实验建立的高效液相分析方法测定家兔血浆中丁香苦昔浓度, 丁香苦昔具有良好的分离度和专属性。高、中、低浓度血浆样品的方法回收率大于 90%, 日间、日内精密度的 RSD 均小于 5%, 表明本方法具有良好的准确性、精密度、灵敏性, 符合 2005 版《中国药典》二部附录对生物样品分析方法的要求。

药动学处理结果表明, 家兔颈 iv 丁香苦昔后的药动学过程用开放的二室模型来描述较为合理。分布速度常数 $\alpha = 0.261 \text{ min}^{-1}$, 分布半衰期 $T_{1/2(\alpha)}$ 为 2.655 min, CL 为 $0.0371 \text{ kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, 说明药物分布快, 起效迅速, 分布范围广, $T_{1/2(\beta)}$ 为 16.54 min 左右, 说明药物消除快, 在体内滞留时间短, 可尝试通过改变剂型来延长作用时间。 $T_{1/2(\beta)}$ 大于 $T_{1/2(\alpha)}$, 说明丁香苦昔在兔体内主要以消除过程为主。 K_{12} 大于 K_{21} , 说明丁香苦昔从外周房室向中央房室转运速率略小于从中央房室向外周房室的转运速率。可进一步进行人体药动学研究, 制定合理的临床给药方案。

[参考文献]

- [1] 菊地政雄, 山内洋子. Studies on constituents of Syringa Species I. Isolation and structure of Iridodids and Syringa Secoiridoids from the leaves of reticulate (Blum) Hara [J]. Yakugaku Zasshi, 1987, 107(1): 23-27 (Japan).
- [2] 王迪, 张贵军, 李仁郁. 黑龙江省丁香属植物药资源研究 [J]. 中医药信息, 1985, 3: 32.
- [3] 郜尽, 冯英菊, 杨甫昭, 等. RP-HPLC 法测定大鼠血清中龙胆苦昔的含量 [J]. 西北药学杂志, 2002, 17(2): 51-53.
- [4] 王艳宏, 李永吉, 王艳芝, 等. 紫丁香叶中丁香苦昔的 RP-HPLC 法测定 [J]. 中草药, 2003, 34(3): 268-269.