



冰片对原儿茶酸在家兔体内药动学的影响

杨洁, 王世祥, 兰薇, 刘春芝, 郑晓晖*

(西北大学 生命科学学院, 陕西 西安 710069)

[摘要] **目的:**研究冰片对原儿茶酸在家兔体内药动学的影响。**方法:**建立测定家兔血浆中原儿茶酸的高效液相色谱方法。将12只健康新西兰家兔随机分为2组,分别灌胃原儿茶酸(原儿茶酸 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及原儿茶酸-冰片(原儿茶酸 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +冰片 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),采用RP-HPLC法测定家兔给药后不同时间血浆中原儿茶酸的浓度,DAS 2.0药动学软件拟合房室模型,计算药动学参数。**结果:**原儿茶酸在 $0.04\sim 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性良好($r=0.9983$)。原儿茶酸与冰片配伍给药可使原儿茶酸的吸收半衰期($t_{1/2K_a}$)明显减小,药物达峰时间(T_{\max})显著缩短,血药浓度曲线下面积($AUC_{(0-\infty)}$)增加,表观清除率(CL/F)降低,同时表观分布容积(V_1/F)也相应的减小。**结论:**冰片促进原儿茶酸在家兔体内的吸收,使其吸收量增加,排泄减缓,可提高原儿茶酸的生物利用度。

[关键词] 原儿茶酸;冰片;药动学;高效液相色谱;“君-使”对药

冰片(borneol),又名“龙脑”,芬香开窍,作为佐使药“独行则势弱,佐使则有功”,并有“率领群药”的作用。现代药理研究表明,冰片可提高药物的生物利用度,促进血脑屏障开放,增加药物在脑组织中的分布而提高疗效^[1-2]。原儿茶酸(PA)是广泛存在于广枣、丹参、老鹳草、小蓟等中草药中的一类水溶性酚酸成分^[3-5],具有显著降低心肌耗氧量、提高心肌耐氧能力、减慢心率等药理作用,并且对乙型肝炎病毒的脱氧核糖核酸(DNA)复制具有较强的抑制作用。临床上广泛应用于治疗气滞血瘀病症,具有很高的药用价值^[6]。目前,原儿茶酸含量的测定方法主要有高效液相色谱-紫外检测法、高效液相色谱-电化学检测法、高效液相色谱-质谱联用法和毛细管区带电泳法等^[7],但冰片与原儿茶酸配伍应用的实验研究尚未见报道。本实验从药动学的角度,观察原儿茶酸与冰片合用后,冰片对原儿茶酸在兔体内的药动学过程的影响,以期为临床安全、合理用药提供试验依据。

1 材料

1.1 动物

健康新西兰大白兔,雌雄兼用,体重 $1.9\sim 2.2\text{ kg}$,由西安交通大学实验动物中心提供,合格证号

医动字第08-018号。

1.2 药物与试剂

原儿茶酸(纯度 $\geq 98.0\%$,国药集团化学试剂有限公司,批号YF20051221);原儿茶酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号110809-200503);天然冰片(产自江西。购自陕西省药材公司,由西安交通大学药学院王军宪教授进行鉴定);肝素钠注射液(河北常山生化药业有限公司,批号080303);色谱纯甲醇(美国Fisher公司,批号074833);醋酸乙酯(天津市东丽区天大化学试剂厂,分析纯,批号20080218);实验用水为超纯蒸馏水(自制);其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器与设备

Agilent1100系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);TGL-16G高速离心机(上海安宁科学仪器公司);BF2000氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司);VERTEX-6型快速混匀器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Maxima超纯水机(美国基因公司)。

2 方法

2.1 动物分组

取健康新西兰家兔12只,随机分为2组,每组6只,禁食12h,自由饮水。分别灌服原儿茶酸($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)以及原儿茶酸-冰片(原儿茶酸 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +冰片 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),给药后0,10,20,30,40,50,60,90,120,150,180,240min耳动脉插管取血1mL,置于肝素化离心管中, $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min,分离血浆,于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冻存。

[收稿日期] 2008-07-29

[基金项目] 教育部科学研究重点项目(207151);陕西省中医管理局中医药科研项目(2005103)

[通信作者] *郑晓晖, Tel: (029)88302686, E-mail: zhengxh@nwu.edu.cn



2.2 血药浓度测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Ultimate™ XB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-0.2% 甲酸水溶液 (8:92); 流速 0.8 mL · min⁻¹; 柱温 25 °C; 检测波长 270 nm; 进样量 50 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取原儿茶酸对照品 1.0 mg, 加甲醇定容于 10.0 mL 的棕色量瓶中, 摇匀, 配制成 0.10 g · L⁻¹ 的储备溶液。

2.2.3 样品处理 取 2.1 项下血浆 0.5 mL, 加入 50 μL 10% 三氯乙酸-水沉淀蛋白, 涡旋 1 min 后, 加 1.5 mL 醋酸乙酯萃取, 涡旋 1 min, 离心 10 min (8 000 r · min⁻¹), 取出上清液, 萃取 2 次。合并醋酸乙酯层, 氮气吹干后, 加入 0.5 mL 流动相溶解, 用 0.45 μm 水系微孔滤膜过滤, 4 °C 冷藏备用。

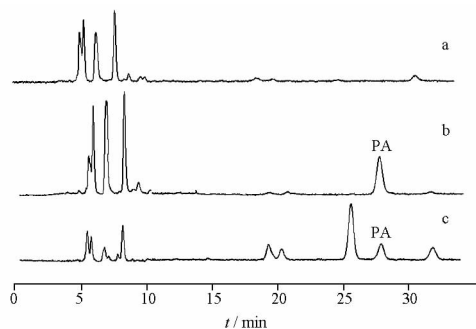
2.3 数据分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计, 组间数据比较采用 *t* 检验。药动学参数的计算采用 DAS 2.0 药动学软件自动处理。

3 结果

3.1 方法的专属性

空白血浆、空白加标血浆、含药血浆色谱图见图 1。在建立的色谱条件下, 内源性物质不干扰酚酸类成分样品峰, 基线噪音小, 原儿茶酸 (PA) 的峰形良好, 保留时间 25.8 min。



PA. 原儿茶酸。

图 1 空白血浆 (a)、空白加标 (b) 和含药血浆 (c) 的 HPLC 图

3.2 线性关系及检测限

取空白血浆 0.5 mL, 分别加入 PA 标准溶液, 配成 0.04, 0.08, 0.16, 0.40, 0.80, 2.00 mg · L⁻¹ 的血浆样品。按 2.2.3 项下处理样品, 在拟定色谱条件下进样分析, 记录峰面积。以待测物峰面积为纵坐标 (*Y*), 进样浓度为横坐标 (*X*, mg · L⁻¹) 进行回归分

析, 得 PA 的回归方程分别为 $Y = 162.10X + 2.5319$, $r = 0.9983$ ($n = 6$), 血浆中 PA 在 0.04 ~ 2.0 mg · L⁻¹ 内线性关系良好, 最低检测限 0.02 mg · L⁻¹。

3.3 精密度和回收率试验

取空白血浆 0.5 mL, 配成 PA 分别为 2.00, 0.40, 0.04 mg · L⁻¹ 的血样数份, 按 2.2.3 项下进行样品处理, 在拟定色谱条件下进样, 日内重复测定 5 次; 将上述 3 个浓度的样品在 5 日内连续测定 5 次, 分别计算日内、日间精密度及回收率。结果见表 1。

表 1 PA 回收率、日内和日间精密度 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

质量浓度 /mg · L ⁻¹	回收率 /%	RSD/%	
		日内	日间
2.00	97.45 ± 2.84	4.30	5.83
0.40	96.72 ± 1.97	5.27	7.41
0.04	98.34 ± 2.36	2.88	3.84

3.4 稳定性试验

取空白血浆 0.5 mL, 配制 PA 分别为 0.04, 0.40, 2.0 mg · L⁻¹ 的血浆样品, 置于 -20 °C 冷冻, 24 h 后室温下解冻, 按 2.2.3 项下处理样品。在拟定分析条件下进样, 测定 PA 的浓度变化。并将样品重新冷冻 24 h。按上述步骤重复 6 次, 考察冻融周期对样品稳定性的影响, 得到低、中、高 3 个浓度的 RSD 值分别为 5.41%, 4.40%, 3.34%, 结果表明, 样品冷冻条件下浓度无明显变化, 稳定性好。

3.5 血药浓度及药代动力学研究

取 2.2.3 项下样品 50 μL, 在拟定色谱条件下进样分析, 按标准曲线计算 PA 的浓度, 以时间 (*t*) 为横坐标, 血药浓度 (*C*) 为纵坐标绘制药-时曲线 (图 2)。血药浓度观察用 DAS 2.0 药动学软件处理, 拟合房室模型, 结果显示 PA 单用及与冰片配伍后均呈一室开放模型, 主要的药代动力学参数见表 2。

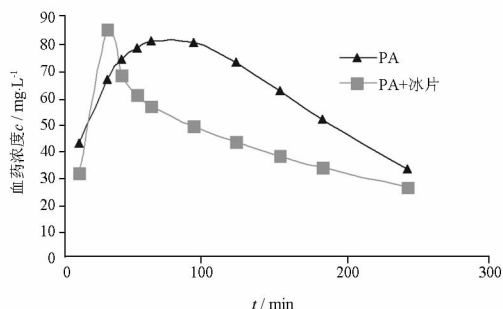


图 2 PA, PA + 冰片药-时曲线



表2 兔灌胃原儿茶酸、原儿茶酸-冰片后的
药代动力学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数及单位	PA	PA + 冰片
$t_{1/2ka}/\text{min}$	54.955 ± 8.13	2.638 ± 0.59 ²⁾
$t_{1/2}/\text{min}$	65.855 ± 9.95	69.315 ± 4.24 ¹⁾
$V_1/F/L \cdot \text{kg}^{-1}$	85.982 ± 16.26	58.883 ± 9.01 ²⁾
$CL/F/L \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.905 ± 0.039	0.589 ± 0.020
$AUC_{(0-t)} / \text{mg} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$	21.744 ± 9.53	31.986 ± 7.72 ¹⁾
$AUC_{(0-\infty)} / \text{mg} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$	22.1 ± 2.04	33.966 ± 4.11 ²⁾
$C_{\text{max}} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	89.94 ± 21.50	84.67 ± 22.89
$T_{\text{max}} / \text{min}$	90 ± 6.33	30 ± 2.35 ²⁾

注: ① 与 PA 组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; ② PA 剂量 30 mg · kg⁻¹; PA + 冰片剂量 30 mg · kg⁻¹ + 15 mg · kg⁻¹。

4 讨论

在色谱条件的优化过程中,曾考察过乙腈-水和甲醇-水溶液等流动相,发现甲醇-0.2% 甲酸水溶液(8:92)体系产生的分离效果最佳,各成分的色谱峰形对称,保留时间适宜,与其他色谱峰的分度均大于 1.5。

结果显示,兔在原儿茶酸单用给药和原儿茶酸-冰片伍用给药时,体内动力学行为均符合一房室模型。原儿茶酸与冰片伍用灌胃给药后,冰片均可使原儿茶酸吸收半衰期 $t_{1/2Ka}$ 明显减小,药物达峰时间 T_{max} 显著缩短,血药浓度曲线下面积 AUC 增加,表观清除率 CL/F 降低,同时表观分布容积 V_1/F 也相应的减小。提示冰片促进了原儿茶酸在兔体内的吸

收,使其吸收量增加,排泄减缓,提高了原儿茶酸的生物利用度,这可能与冰片能够促进药物进入血脑屏障的的作用机制有关。

冰片促透作用的研究已展示出其独特的价值理论与实践意义。由“佐使则有功”这一冰片的药性特点逐步得到总结验证,可以预见的是,冰片作用的进一步深入研究将为发现使药引药直达病所的体内机制,为中药引经理论及配伍理论的研究提供新的思路和方法。

[参考文献]

- [1] 朱君荣,朱余兵,肖大伟,等.冰片对灯盏花素在大鼠体内药动学的影响[J].中国新药杂志,2007,16(22):1876.
- [2] 郑晓晖,赵欣,房敏峰,等.复方丹参方中使药冰片对君药丹参药动学的影响[J].西安交通大学学报:医学版,2007,28(2):169.
- [3] 邓科君,张艺,王平,等.反相高效液相色谱法同时测定藏药广枣中没食子酸和原儿茶酸的含量[J].色谱,2006,24(6):652.
- [4] 张来新.从小蓟中提取原儿茶酸[J].中医药学报,2004,32(6):27.
- [5] 张善玉,姜艳玲,朴惠顺,等.HPLC测定老鹳草中的原儿茶酸[J].华西药理学杂志,2007,22(4):453.
- [6] 王世祥,兰微,骆凯,等.RP-HPLC法研究广枣在家兔体内的药代动力学[J].药物分析杂志,2007,27(12):1980.
- [7] 韩瑛,熊志立,杨春娟,等.高效液相色谱法测定大鼠血浆中的原儿茶酸[J].色谱,2007,25(2):207.

Effects of borneol on pharmacokinetics of protocatechuic acid in rabbits

YANG Jie, WANG Shixiang, LAN Wei, LIU Chunzhi, ZHENG Xiaohui*
(The College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of borneol on the pharmacokinetics of protocatechuic acid (PA) in rabbits. **Method:** A method for determining PA in rabbit plasma by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. The 12 healthy New Zealand rabbits were randomly divided into 2 groups. PA concentration in plasma samples of rabbits was determined by HPLC after oral administration of PA (30 mg · kg⁻¹) and PA combined with borneol (protocatechuic acid 30 mg · kg⁻¹ + borneol 15 mg · kg⁻¹). The data were processed by DAS 2.0 software to calculate the pharmacokinetic parameters. **Result:** Chromatographic peaks were separated well by the HPLC method. Regression analysis of the data of PA concentration against its peak area showed a good straight line in the range of 0.04-2.0 mg · L⁻¹ ($r=0.9983$). In comparison with PA alone, the pharmacokinetics parameters of PA ($t_{1/2Ka}$, T_{max} , V_1/F , CL/F) in the PA + borneol combination group were decreased, while the $AUC_{(0-\infty)}$ was increased. **Conclusion:** Borneol could significantly promote absorption, increase the dose absorption and slow elimination of PA in rabbits. Borneol could improve the bioavailability of PA.

[Key words] protocatechuic acid; borneol; pharmacokinetics; high performance liquid chromatography; “Jun-Shi” pairing herbs

[责任编辑 古云侠]