

## 家兔鼻腔给药冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的药动学研究

邓晋丽<sup>1</sup>, 马莉<sup>2,3\*</sup>, 韩峰<sup>2,3</sup>, 高静<sup>2,3</sup>, 王亚飞<sup>1</sup>

1. 天津大学理学院, 天津 300072

2. 天津药物研究院, 天津 300193

3. 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室(天津), 天津 300193

**摘要:** 目的 研究冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物经鼻腔给药后在兔体内的药动学。方法 包合物经鼻腔给药后, 采用 GC 法测定兔血浆中冰片浓度, 以 DAS 2.1.1 软件拟合, 计算相关药动学参数。结果 冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物经兔鼻腔给药后的体内过程符合二室模型,  $C_{\max}$  为 8.162 mg/L, 达峰时间  $t_{\max}$  为 1 min。结论 明确了冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物经鼻腔给药后在兔体内的药动学特征, 为进一步制剂研究提供了参考。

**关键词:** 冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物; 冰片; 薄荷脑; 药动学; 气相色谱

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)03-0258-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.03.006

## Pharmacokinetics in rabbits blood after intranasal administration of borneol-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion

DENG Jin-li<sup>1</sup>, MA Li<sup>2</sup>, HAN Feng<sup>2</sup>, GAO Jing<sup>2</sup>, WANG Ya-fei<sup>1</sup>

1. School of Science, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine (Tianjin), Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To study the pharmacokinetics in rabbits blood after intranasal administration of borneol-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion. **Methods** After intranasal administration, GC method was used to determine contents of borneol in plasma, and the pharmacokinetic parameters were calculated by the software of DAS 2.1.1. **Results** Pharmacokinetics of borneol-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion in rabbits fitted with the two compartment model, and  $C_{\max}$  was 8.162 mg/L,  $t_{\max}$  was 1 min. **Conclusion** Pharmacokinetic characters of borneol in rabbits are confirmed which can provide reference for further study of preparation.

**Key words:** borneol-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin; borneol; menthol; pharmacokinetics; GC

冰片又名龙脑, 其合成品含龙脑和异龙脑。冰片中标志性成分为右旋龙脑, 常被作为冰片的主要质量控制指标。右旋龙脑分子式为  $C_{10}H_{18}O$ , 具有挥发性, 因此大多采用气相色谱法测定。《本草纲目》记载冰片有“通诸窍、散郁火”、“芳香走窜”、“引药上行”之功效, 是常用的开窍药和佐使药<sup>[1-2]</sup>。目前冰片在临床上的应用极为广泛, 而且多以成药为主<sup>[3-4]</sup>。冰片不但本身极易透过血脑屏障, 还能促进其他药物透过血脑屏障, 且能增加其他药物在血浆

中的浓度, 从而提高疗效。近年来, 通过鼻黏膜给药的研究日益受到关注。鼻黏膜给药避免了药物的首过效应, 鼻黏膜面积大, 血管丰富, 用药方便, 吸收迅速, 起效快, 损伤小, 易于被患者接受。本实验室前期制备了冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物, 在此基础上, 本文建立了测定兔血浆中冰片的方法, 同时对包合物经鼻腔给药后的药动学进行了研究, 对以后研究经鼻制剂中冰片发挥协同药效, 利用冰片促进药物分布、吸收具有重要意义。

收稿日期: 2014-10-13

基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制项目(2011ZX09102-003-05)

作者简介: 邓晋丽, 女, 从事中药新药研究。E-mail: iloveyou-china@163.com

\*通信作者 马莉 Tel: (022) 23006851 E-mail: zhihua504@163.com

## 1 仪器与试剂

Agilent Technologies 6890N 高效气相色谱仪, QL-901 型漩涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司), 3 mL 真空采血管(江苏康健医疗用品有限公司), 电动离心机沉淀器(北京京立离心机有限公司), 200  $\mu$ L 移液枪(DragonLab), AB204-N 分析天平(Metter Toledo 科技有限公司), 3860A 超声清洗仪(CBL Photoelectron Technology)。

甲醇、醋酸乙酯(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 龙脑(批号 110881-201107)、薄荷脑(批号 0728-9304) 对照品均由中国食品药品检定研究院提供, 冰片-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物溶液(自制, 冰片的质量浓度为 62.5 mg/mL)。

新西兰家兔, 普通级, 体质量 (2.5 $\pm$ 0.5) kg, 天津市津南区春乐实验动物养殖厂提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

HP-Innowax Polyethylene Glycol Capillary 色谱柱 (30 m $\times$ 250  $\mu$ m $\times$ 0.25  $\mu$ m); 检测器: FID; 柱温: 130  $^{\circ}$ C; 分流比: 10:1; 体积流量: 1.0 mL/min; 载气: 氮气; 进样器: 200  $^{\circ}$ C; 检测器: 250  $^{\circ}$ C; 氢气流量: 40 mL/min; 空气流量: 400 mL/min; 氮气尾吹, 流量 40 mL/min; 进样量: 2  $\mu$ L。

### 2.2 对照品溶液的配制

精密称取龙脑对照品 10.00 mg、薄荷脑对照品 19.12 mg, 分别置于 25 mL 和 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇溶解并稀释至刻度, 制成 400  $\mu$ g/mL 龙脑对

照品储备液和 1.912 mg/mL 薄荷脑对照品溶液。再将龙脑对照品储备液用无水乙醇稀释成 8.800、13.200、17.600、22.176、44.352、88.000、132.800、176.000  $\mu$ g/mL, 薄荷脑对照品溶液稀释成 191.200  $\mu$ g/mL 的内标液。

### 2.3 血浆样品的处理

精密吸取家兔空白血浆 400  $\mu$ L, 加入内标薄荷脑对照品溶液 20  $\mu$ L, 混匀, 加入醋酸乙酯提取液 400  $\mu$ L, 涡旋混匀 3 min, 4 000 r/min 离心 20 min, 上清液过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜, 即得。

### 2.4 标准曲线的建立

精密吸取家兔空白血浆 8 份, 各 400  $\mu$ L, 分别加入 8.800、13.200、17.600、22.176、44.352、88.000、132.800、176.000  $\mu$ g/mL 龙脑对照品溶液 20  $\mu$ L, 按血浆样品的处理项下方法进行处理, 进样测定。以龙脑和内标峰面积比为纵坐标, 质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $Y=0.207 X+0.048$ ,  $r=0.999 9$ , 表明龙脑在 0.210~4.190  $\mu$ g/mL 线性关系良好。以信噪比 $\leq 3$  计算得最低检出质量浓度为 53 ng/mL。

### 2.5 专属性试验

取空白血浆、空白血浆加龙脑、空白血浆加龙脑及内标和包合物给药 1 min 的血浆样品, 进样测定, 色谱图见图 1。

龙脑、异龙脑和内标薄荷脑的保留时间分别为 8.2、7.4、6.5 min, 可见龙脑、异龙脑和内标薄荷脑得到良好的分离, 无明显干扰峰。

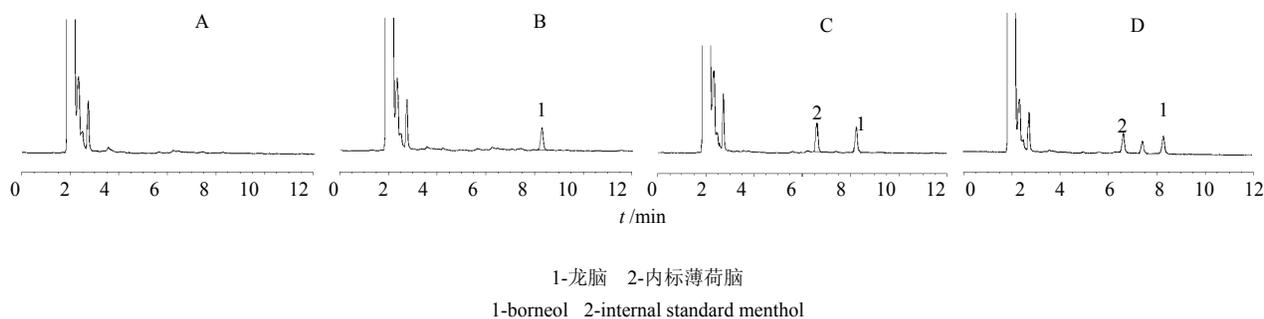


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加龙脑 (B)、空白血浆加龙脑及内标 (C) 和给药后 1 min 的血浆样品 (D) 的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC chromatograms of blank plasma (A), plasma spiked with borneol (B), plasma spiked with borneol and internal standard (C), rabbit plasma sample at 1 min after administration (D)

### 2.6 方法回收率试验

精密吸取家兔空白血浆 15 份各 400  $\mu$ L, 分别加入 22.176、66.4、132.8  $\mu$ g/mL 龙脑对照品溶液 20

$\mu$ L, 配制成低、中、高质量浓度的血浆样品各 5 份, 按血浆样品的处理项下方法进行处理, 进样测定, 记录峰面积比, 带入回归方程计算质量浓度。以含

低、中、高质量浓度的龙脑血浆样品的测定质量浓度与配制质量浓度之比计算方法回收率，结果见表1。可知龙脑3种不同质量浓度的平均方法回收率在98.98~100.06%，RSD值分别为2.42%、0.79%、0.60%。RSD值较小，符合生物样品分析方法要求。

表1 方法回收率试验结果 (n=5)

Table 1 Results of accuracy test (n=5)

质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	测定质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	回收率/%	RSD/%
0.528	0.527±0.013	99.84±2.41	2.42
1.581	1.582±0.012	100.06±0.79	0.79
3.162	3.130±0.018	98.98±0.60	0.60

### 2.7 精密度试验

精密吸取家兔空白血浆15份各400  $\mu\text{L}$ ，分别加入22.176、66.4、132.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 龙脑对照品溶液20  $\mu\text{L}$ ，配制成低、中、高质量浓度的血浆样品各5份，按血浆样品的处理项下方法进行处理，于1 d内连续测定5次，5 d内分别测定5次，结果见表2。可见3种不同质量浓度龙脑血浆样品的日内RSD均小于2%，日间RSD均小于3%，符合生物样品分析方法要求。

表2 精密度试验结果 (n=5)

Table 2 Results of precision test (n=5)

质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	日内精密度		日间精密度	
	测定质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	RSD/%	测定质量浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	RSD/%
0.528	0.503±0.003	1.84	0.512±0.003	2.83
1.581	1.583±0.007	1.74	1.589±0.007	1.74
3.162	3.157±0.006	0.85	3.147±0.006	0.84

### 2.8 提取回收率试验

精密吸取家兔空白血浆15份各400  $\mu\text{L}$ ，分别加入22.176、66.4、132.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 龙脑对照品溶液20  $\mu\text{L}$ ，配制成低、中、高质量浓度的血浆样品各5份，按血浆样品的处理项下方法进行处理，进样测定，记录峰面积。以所测得的峰面积与无水乙醇直接溶解后进样所得龙脑峰面积比较，计算提取回收率，结果见表3。可见3种不同质量浓度龙脑血浆样品的提取回收率分别为(83.22±1.40)%、(92.12±1.29)%、(93.99±0.88)%，RSD值均小于2%，符合生物样品分析方法要求。

表3 提取回收率试验结果 (n=5)

Table 3 Results of extraction recovery test (n=5)

质量浓度/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	回收率/%	RSD/%
0.528	83.22±1.40	1.68
1.581	92.12±1.29	1.40
3.162	93.99±0.88	0.94

### 2.9 药动学参数的测定

取家兔6只，雌雄各半，禁食不禁水12 h。将包合物(冰片按25 mg/kg计给药)鼻腔给药，分别于给药后1、3、5、10、15、30、45、60、90 min耳缘静脉取血0.8 mL，置于真空采血管中，4 000 r/min离心20 min，取上层血浆400  $\mu\text{L}$ ，按血浆样品的处理项下方法进行处理，进样测定，记录峰面积，计算血药浓度。以血药浓度为纵坐标，时间为横坐标，利用软件Origin 8.5绘制药时曲线，见图2。采用DAS 2.1.1软件进行药动学成批数据分析，结果显示冰片符合二室模型，主要药动学参数见表4。

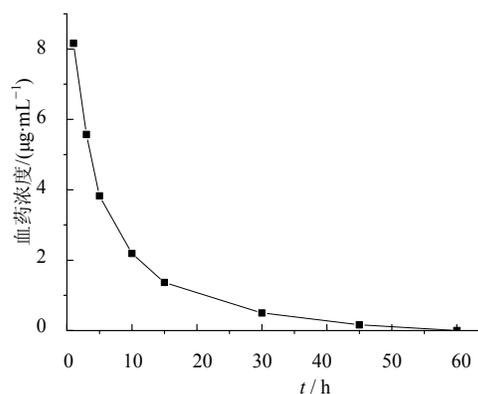


图2 冰片-羟丙基-β-环糊精包合物的血浆药-时曲线

Fig 2 Plasma concentration – time curves of borneol-hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion

表4 冰片-羟丙基-β-环糊精包合物的主要药动学参数

Table 4 Main pharmacokinetic parameters of borneol-hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion

参数	单位	数值
$C_{\text{max}}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.162
$t_{\text{max}}$	min	1
$\text{AUC}_{0-t}$	$\text{mg}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$	74.292
$\text{AUMC}_{0-t}$		708.236
$\text{MRT}_{0-t}$	min	10.095
$\text{VRT}_{0-t}$	$\text{min}^2$	95.831
$t_{1/2\alpha}$	min	1.952
$t_{1/2\beta}$	min	9.812

### 3 讨论

大鼠、家兔被广泛地应用于研究药物的鼻腔吸收,但大鼠的鼻腔构造与人类不同,大鼠的嗅区覆盖了鼻黏膜的大部分,从鼻腔的形态看,家兔与人更接近,但有关兔血浆中冰片的测定及冰片经兔鼻腔给药的研究很少,所以本实验选用家兔作为实验用动物。

弱极性柱对龙脑和异龙脑的分离度不高,因而对冰片的定量产生影响,所以选择强极性色谱柱进行分析。检测时选择的内标物质有水杨酸甲酯<sup>[5]</sup>、萘<sup>[6]</sup>、正十六烷<sup>[3]</sup>等,经实验比较发现,在文中色谱条件下,薄荷脑作为内标峰形理想,分析时间快,分离度好。实验过程中曾采用正己烷、丙酮、甲醇、无水乙醇对血浆中的冰片进行提取,结果发现提取液中杂质较多,干扰冰片的测定,采用醋酸乙酯进行提取,操作简单,易行,提取效率高。

家兔体内药动力学实验表明,鼻腔给药吸收迅速,起效快,冰片包合物经鼻腔给药后的体内过程符合二室模型,最高血药浓度  $C_{max}$  为 8.162 mg/L,达峰时间  $t_{max}$  为 1 min,可以用于一些突发状况和救急。

本实验所建立的高效气相色谱法测定兔血浆中冰片,方法简便,灵敏度高,采用内标法定量准确,

方法重现性好,专一性强,无内源物质干扰冰片的测定,且提取率高,用于冰片包合物经鼻给药后在兔体内的药代动力学研究,也为研究冰片促透的具体机制,揭示冰片在复方制剂中的具体作用,了解中药复方的配伍,提高中成药的疗效提供了一定的帮助。

### 参考文献

- [1] 陈群,李士敏,王玮. GC-MS法同时测定小鼠血浆中冰片和丹皮酚浓度 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(5): 592-594.
- [2] 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): 135-138.
- [3] 胡奇志,聂黎行,刘燕,等. 活血止痛制剂中樟脑的限量检查和冰片的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 117-120.
- [4] 包小红,杨超,周娟. 气相色谱法测定牛黄解毒片中冰片的含量 [J]. 中药与临床, 2010, 1(4): 30-32.
- [5] 王晖,赵继会,苏晓霞,等. GC法同时测定复方微乳中川芎嗪和冰片的含量 [J]. 中国药房, 2012, 23(19): 1768-1770.
- [6] 孟华,黄熙,郭军,等. 冠心病患者含速效救心丸后体内冰片药动力学变化 [J]. 中成药, 2003, 25(5): 379-381.