

## 药理实验与临床观察

# 保心微丸中肉桂酸大鼠体内的药代动力学研究

阳长明,侯世祥,孙毅毅,李超英\*

(华西医科大学药学院,四川成都 610041)

**摘要:**目的 研究保心微丸中肉桂酸在大鼠体内的药代动力学。方法 采用高效液相色谱法测定肉桂酸血药浓度,色谱柱: Hypersil ODS C<sub>18</sub>, 150 mm×4.6 mm, 5 $\mu$ m, 柱温 30 $^{\circ}$ C。流动相: 甲醇-1%醋酸 (45: 55); 流速: 0.5 mL/min; 检测波长 273 nm; 进样量 10 $\mu$ L。结果与结论: 建立了用高效液相色谱法测定肉桂酸血药浓度的方法, 肉桂酸的峰面积 ( $Y$ ) 与浓度 ( $X$ ) 之间的回归方程为  $Y = 4973.534 + 42867.96678X$ , 相关系数  $r = 0.9998$ 。肉桂酸在血浆中的回收率为 97.5%,  $RSD$  为 1.33%。检测限为 0.15 ng, 大鼠血浆中最低检测浓度为 75 ng/mL。肉桂酸口服吸收在大鼠体内的药时过程为线性动力学过程, 符合一级吸收一级消除的开放式室模型,  $t_{1/2}(K_a)$  为 7.12 min,  $t_{max}$  为 53.29 min,  $C_{max}$  为 0.20  $\mu$ g/mL,  $t_{1/2}(K_e)$  为 340.74 min。该药代动力学参数可能是保心微丸中肉桂酸及有关成分等多种成分在大鼠体内的综合体现。

**关键词:** 保心微丸; 肉桂酸; 药代动力学; 高效液相色谱法

中图分类号: R285.61 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)07-0616-03

## Pharmacokinetics of cinnamic acid of BAOXIN PILL in rat

YANG Chang-ming, HOU Shi-xiang, SUN Yi-yi, LI Chao-ying

(School of Pharmacy, West China University of Medical Sciences, Chengdu Sichuan 610041, China)

**Abstract Object** To study the pharmacokinetics of cinnamic acid in BAOXIN PILL<sup>\*</sup> in rat. **Methods**

Plasma concentration of cinnamic acid was determined by HPLC under the following conditions: column: Hypersil ODS C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 $\mu$ m); column temperature 30 $^{\circ}$ C; mobile phase: methanol-1% acetic acid (45: 55); flow rate 0.5 mL/min; detection wavelength 273 nm; aliquot injected 10 $\mu$ L. **Results** A method for the determination of plasma cinnamic acid concentration by HPLC was established. Regression equation of cinnamic acid peak area ( $Y$ ) and plasma concentration ( $X$ ) was found to be  $Y = 4973.534 + 42867.96678X$ ; correlation factor  $r = 0.9998$ ; rate of cinnamic acid recovery from plasma = 97.50% and  $RSD = 1.33\%$ ; detection limit = 0.15 ng; minimal detectable concentration in rat plasma = 75 ng/mL. Absorption pattern of cinnamic acid after ig does showed linearity, corresponding to a first order absorption and elimination of open chamber model. The  $t_{1/2}(K_a) = 7.12$  min;  $t_{max} = 53.29$  min,  $C_{max} = 0.20$   $\mu$ g/mL, and  $t_{1/2}(K_e) = 340.74$  min. **Conclusion** The pharmacokinetic parameters obtained in this study may be attributed to the combined action of cinnamic acid and other constituents in the compound preparation of BAOXIN PILL.

**Key words** BAOXIN PILL (heart protecting pill); cinnamic acid; pharmacokinetics; HPLC

\* BAOXIN PILL (heart protecting pill) is a compound TCM drug dosage form containing musk, cinnamon, storax and dried toad venom for the treatment of coronary heart diseases and angina pectoris.

保心微丸由麝香、苏合香脂、肉桂、蟾酥等组成, 用于治疗冠心病、心绞痛。研究表明, 肉桂有抑制血小板聚集和抗血液凝固作用, 并能增强冠脉流量, 扩张血管、脑血管和外周血管<sup>[1]</sup>。苏合香脂具有明显抗血小板聚集作用<sup>[2]</sup>。肉桂酸是肉桂和苏合香脂的有效成分<sup>[3, 4]</sup>, 体内外实验表明, 肉桂酸都能明显对抗由 ADP 和胶原诱导的血小板聚集<sup>[1, 2]</sup>。抗血小板聚

集有利于减轻心绞痛发作, 因此, 保心微丸在治疗冠心病、心绞痛方面的效果与其成分肉桂酸抗血小板聚集作用有关。本文建立了用高效液相色谱法测定保心微丸中肉桂酸的药浓度的方法, 并对其在大鼠体内的药代动力学进行了研究。

### 1 仪器与实验材料

保心微丸, 自制; 肉桂酸, 中国药品生物制品检

\* 收稿日期: 2000-02-07

基金项目: 国家自然科学基金资助课题, 批准号 39870918

作者简介: 阳长明, 湖南益阳人, 讲师, 博士。主要从事中药新药开发与新型给药系统的研究。

定所;超纯水;其它化学试剂均为分析纯

DLC-20 高效液相色谱仪, DVW-10 Variable Wavelength UV-Vis Detector, D-Star Instruments; TGL-16G 离心机,上海安亭科学仪器厂; YKH-H 型液体快速混合器,江西医疗器械厂。

Wistar 大鼠,体重 (220±10) g,由华西医科大学实验动物中心提供

## 2 方法与结果

2.1 给药方法及样品的采集:实验前经适应性喂养,禁食 12h 后给药,全程不禁饮水。将保心微丸配成混悬液,Wistar 大鼠随机分组,使每个时间点均有 3 只动物  $po$  112.5 mg/kg (相当于给予肉桂酸

约 0.33 mg/kg),给药后于不同的时间点股动脉取血,肝素抗凝,分离血浆,血浆于 -20℃ 冰箱保存。

### 2.2 HPLC测定方法的建立

2.2.1 色谱条件:色谱柱: Hypersil ODS C<sub>8</sub>, 150 mm×4.6 mm, 5μm,柱温 30℃。流动相: 甲醇-1% 醋酸 (45:55);流速: 0.5 mL/min;检测波长 273 nm;进样量 1μL

2.2.2 色谱行为:空白血浆及含定量肉桂酸的血浆样品色谱图,如图 1 所示。肉桂酸  $t_R$  = 21 min,无杂质干扰,表明方法的特异性强,检测限为 0.15 ng,大鼠血浆中最低检测浓度为 75 ng/mL

2.2.3 线性关系:取空白血浆 0.5 mL,加入 100μL

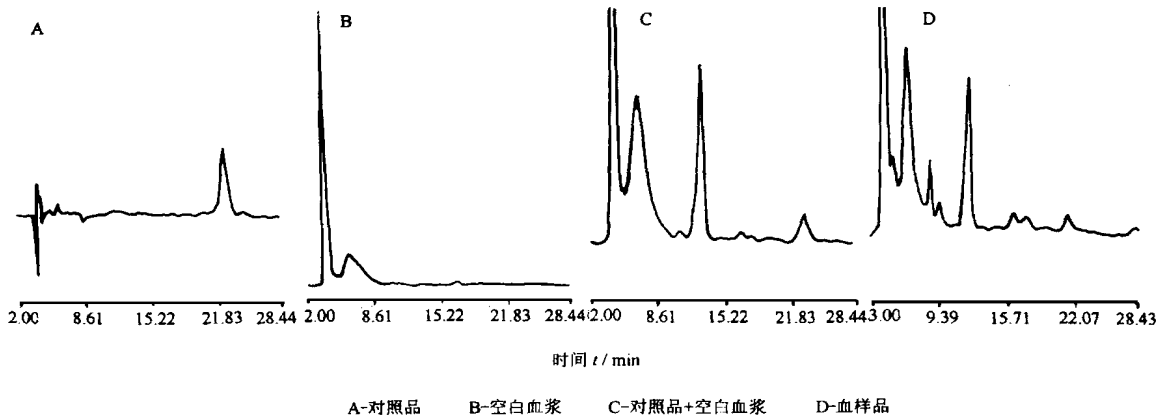


图 1 HPLC 图谱

0.075, 0.15, 0.75, 1.5, 7.5, 15, 30μg/mL 肉桂酸甲醇溶液,旋涡混合,用甲醇提取 (1 mL×2),旋涡混合 2 min,离心 (5000 r/min) 5 min,合并甲醇提取液,于氮气流下减压吹干,残留物用 100μL 甲醇溶解,旋涡混合 2 min,离心,取上清液 10μL 进样,测定肉桂酸的峰面积 (Y),并计算 Y 对肉桂酸浓度 (X) 之间的回归方程,得  $Y = 4973.5348 + 42867.96678X$ ,相关系数  $r = 0.9998$ ,说明线性关系良好。

2.2.4 空白血浆回收率:取空白血浆 0.5 mL,分别加入 30, 7.5, 1.5μg/mL 肉桂酸甲醇液 100μL,按血浆样品处理法处理并测定,用标准曲线计算肉桂酸浓度,求得回收率为 97.50% ( $n = 5$ ),  $RSD$  为 1.33% ( $n = 5$ )。

2.2.5 加样回收率:取  $po$  保心微丸后已知含量的大鼠血浆 0.5 mL,分别加入 30, 7.5, 1.5μg/mL 肉桂酸甲醇液 100μL,按血浆样品处理法处理并测定,用标准曲线计算肉桂酸浓度,求得回收率为 100.67% ( $n = 5$ ),  $RSD$  为 5.17% ( $n = 5$ )。

2.2.6 精密度:日内精密度, 30, 7.5, 1.5μg/mL 肉桂酸  $RSD$  (%) ( $n = 5$ ) 分别为 1.08, 2.26, 0.75,表明方法的日内精密度高。日间精密度 3 种浓度  $RSD$  (%) ( $n = 5$ ) 分别为 1.96, 2.72, 0.23,表明方法的日间精密度也高。

2.2.7 样品处理:取血浆 0.5 mL,用甲醇提取 (1 mL×2),旋涡混合 2 min,离心 (5000 r/min) 5 min,合并甲醇提取液,于氮气流下减压吹干,残留物用 100μL 甲醇溶解,旋涡混合 5 min,离心,即得。

2.3 测定与结果:按上述样品处理方法处理样品,取上清液 10μL 进样测定。血药浓度以均值表示,用“实用药代动力学计算程序 (3P87)”拟合,得大鼠  $po$  给药的药代动力学参数见表 1,统计矩结果见表 2 结果表明,肉桂酸  $po$  吸收在大鼠体内的药时过程为线性动力学过程,符合一级吸收一级消除的开放式室模型,  $R^2$  值为 0.9929,说明拟合度较好。  $t_{1/2}$  ( $K_a$ ) 为 7.12 min,  $t_{max}$  为 53.29 min,  $C_{max}$  为 0.20 μg/mL,  $t_{1/2}$  ( $K_e$ ) 为 340.74 min,说明肉桂酸在大鼠体内口服吸收快,消除较慢。

表 5 大鼠口服保心微丸后血浆中肉桂酸的药代动力学参数

参数	单位	数值	参数	单位	数值
$A$	$\mu\text{g}/\text{mL}$	0.2278	$T(\text{peak})$	min	53.2921
$K_e$	1/min	0.0025	$C(\text{max})$	$\mu\text{g}/\text{mL}$	0.2021
$K_a$	1/min	0.1010	AUC	$(\mu\text{g}/\text{mL}) \times \text{min}$	98.6279
Lag $t$	min	12.9678	CL/F(S)	$\text{mL}/\text{min}$	0.7719
$t_{1/2}(K_a)$	min	7.1211	V/F(c)	$(\mu\text{g})/(\mu\text{g}/\text{mL})$	346.4903
$t_{1/2}(K_e)$	min	340.7384			

表 6 统计矩结果

	AUC(SO) ( $\mu\text{g}/\text{mL}) \times \text{min}$	AUMC(S1)	S2	MRT(min)	VRT( $\text{min}^2$ )
Area (0-infinite)	89.0855	31336.2988	0.1591E-08	349.6224	52717.9880
Area (0-T <sub>n</sub> )	86.8070	29014.7324	0.1347E-08	332.7531	42397.9100

### 3 讨论

3.1 有关肉桂酸的含量测定方法,已见报道的有紫外分光光度法<sup>[5]</sup>、薄层扫描测定法<sup>[6,7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[4,8]</sup>及极谱法<sup>[9]</sup>等。Yuan J H等<sup>[10]</sup>建立了高效液相色谱法测定血浆中肉桂酸。但对复方中肉桂酸在血浆中的测定及其药代动力学研究尚未见报道。本文所建立的血浆中肉桂酸的高效液相色谱测定法具有用血量少、灵敏度高、重现性好以及回收率高等优点,因此适用于肉桂酸的药代动力学研究。

3.2 选择甲醇作为血浆样品的提取溶剂,曾与乙酸乙酯、乙醚等溶剂作比较,发现甲醇提取方法最好,对肉桂酸有较高的回收率,且提取物中也无杂质干扰肉桂酸峰。对提取次数考察表明,用甲醇提取两次,提取比较完全。

3.3 所得血药浓度-时间曲线上出现两个血药浓度峰,可能存在肠肝循环,也可能是因为保心微丸中成分复杂,其中肉桂、苏合香中除含有肉桂酸外,尚含有肉桂醛等成分,其中肉桂醛在体内可氧化成肉桂酸<sup>[11]</sup>,因此血浆中所测得的肉桂酸,一部分是由处方中所含有的肉桂酸以原型吸收而来,另一部分可能是由于处方中所含有的肉桂醛在体内氧化所得。因此,

对于中药复方中有关化学成分的药代动力学研究,应考虑复方中所含有的其它成分在体内的转化,所得药代动力学参数可能是复方保心微丸中肉桂酸及有关成分等多种成分在大鼠体内的综合体现。

#### 参考文献:

- [1] 陈一,钟正贤,黄凤娇. 中药肉桂的药理研究-对血液和心血管系统的影响[J]. 中药通报, 1981, (5): 32-34.
- [2] 张文惠,张林根. 苏合香抗血小板聚集活性成分的研究[J]. 中草药, 1985, 16(3): 16-18.
- [3] 王本祥. 现代中药药理学[M]. 天津: 天津科技出版社, 1997.
- [4] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- [5] 杨庆隆,朱力,尤肪,等. 柱分配层析紫外分光光度法测定苏合香油中桂皮酸的含量[J]. 中成药研究, 1988, (6): 13.
- [6] 罗光明,杨武亮,赖学文,等. 苏合香质量控制方法的比较研究[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(5): 338-340.
- [7] 张玲. 双波长薄层扫描测定肉桂中肉桂酸的含量[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(6): 408-410.
- [8] 罗光明,杨蓉修,赖学文,等. 高效液相色谱法测定苏合香及原植物中桂皮酸的含量[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(12): 744-745.
- [9] 过玮,宋俊峰,李焕妮. 肉桂中肉桂酸的单扫描示波极谱法测定[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(4): 3-5.
- [10] Yuan J H, Bucher J R, Goehl T J, et al. Quantitation of cinnamaldehyde and cinnamic acid in blood by HPLC[J]. J Analytical Toxicology, 1992, 16(9/12): 359-362.
- [11] Yuan J H, Dieter M P, Bucher J R, et al. Toxicokinetics of cinnamaldehyde in F344 Rats[J]. Food Chem Toxicol, 1992, 30(12): 997-1004.

## 邮 购 信 息

① 本草纲目(上、下), 230元 ② 白话全译本草纲目(吕兰蕙编译)4卷, 498元 ③ 本草纲目药物彩色图谱(谢宗万), 298元 ④ 白话通解黄帝内经(主编张登本), 5卷, 248元 ⑤ 现代实用中药新剂型新技术(主编董万言), 61元 ⑥ 中成药临床新用(主编梅全喜), 63元 ⑦ 中药临床新用(主编王辉武), 65元 ⑧ 现代中药药理学(主编王本祥), 160元 ⑨ 中成药名方药理与临床(主编陈奇), 110元 ⑩ 新编中成药手册(二版)(陈馥馨等编), 180元 ⑪ 中药药效与临床(丁兆梦编), 78元 ⑫ 汉英双解中医大辞典(原一祥等编), 141元 ⑬ 中药学(英文版)(刘公望等译), 150元 ⑭ 中成药实用手册(三版)(俞长芳主编), 101元 ⑮ 中国食养食疗大全(张有霁等编), 90元 ⑯ 中国保健食品的进展(于守洋等主编), 135元 ⑰ 中药大辞典(上、下、附编三册)(江苏新医学院编), 210.50元 ⑱ 中药大辞典(缩印本)(上、下), 113.70元 ⑲ 常用中草药高效液相色谱分析(王慕邹主编), 60元

邮购办法:① 按书定价汇款,免邮费。挂号发书,保证安全,发票随书寄,汇款时注明所购书名。② 汇款地点: 邮编: 300070 天津市和平区蛇口道同发里底商 11号 金卫医学书店,电话: (022)23522444 ③ 银行汇款: 户名: 天津市和平区金卫医学书店,开户行: 天津市商业银行建业支行 帐号: 065201080054611 \* 本刊 2001年 1-6期邮购信息仍有效