

GC-FID法同步测定人含服速效救心丸后血中冰片、川芎嗪含量

郭 军¹, 黄 熙¹, 王 骊¹, 孟 华¹, 张 莉¹, 任 平^{2*}

(1. 第四军医大学附属西京医院 中医药研究中心, 陕西 西安 710032 2. 第四军医大学附属西京医院老年病科, 陕西 西安 710032)

摘要: 目的 探讨建立健康志愿者含服速效救心丸后吸收入血浆成分的药动学的研究方法, 为临床治疗药物监测及证治药动学假说的研究提供实验依据 方法 建立 GC-FID测定健康志愿者血浆中冰片、川芎嗪含量的方法, 不同时间点取健康志愿者含服速效救心丸后的血浆并分别测定其冰片、川芎嗪浓度, 经 3P97 软件处理数据得其药动学参数 结果 健康人血浆中线性范围为 20~ 420 ng/mL, 线性关系良好, 健康人含服速效救心丸后血浆中体内药时过程符合开放性一室模型, 吸收、分布、排泄较为迅速 结论 所建立的 GC-FID测定法灵敏、可靠, 可较好地用于冰片、川芎嗪体内的药动学研究

关键词: 冰片; 川芎嗪; GC-FID法; 药动学

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)08-0730-03

Synchro-determination of borneol and tetramethyl pyrazine in plasma by GC-FID for volunteers administrated with Suxiao Jiuxin Wan

GUO Jun¹, HUANG Xi¹, WANG Li-li¹, MENG Hua¹, ZHANG Li¹, REN Ping²

(1. Research Center of TCM; 2. Department of Geratology, Xijing Hospital,

Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract **Object** To develop a method for pharmacokinetics detection of chemical component in healthy volunteers' plasma administrated with Suxiao Jiuxin Wan, to provide the clinical experimental evidences for therapeutic drug monitoring (TDM) and the hypothesis of pharmacokinetics of traditional Chinese syndrome and recipe. **Methods** A GC-FID method was established for rapid determination of borneol, tetramethyl pyrazine (TMP) content in healthy volunteers' plasma. After obtaining the blood sample at different time, the plasma concentration of borneol, TMP was detected, respectively. The data were processed with the software 3P97 to calculate the pharmacokinetics parameters. **Results** A good linear relationship of borneol, TMP existed in the plasma of healthy persons in the range of 20~ 420 ng/mL. Whole blood concentration-time course of borneol and TMP in the group administrated with Suxiao Jiuxin Wan was fitted to be a one-compartment model. Borneol and TMP in healthy persons were absorbed, distributed and excreted rapidly. **Conclusion** The GC-FID method is sensitive, reliable and rapid, it can be used in pharmacokinetics study of borneol and TMP *in vivo*.

Key words borneol; tetramethyl pyrazine (TMP); GC-FID; pharmacokinetics

速效救心丸是治疗冠心病的常用中成药之一, 在临床实践中有着明确且良好的疗效, 是中成药的典型速效制剂。对其进行临床治疗药物监测的研究, 探究其药效物质作用机制有着较为重要的意义。速效救心丸中主要成分是冰片、川芎嗪。本实验采用毛细管气相色谱法同时检测出健康人含服速效救心丸后血中冰片、川芎嗪的含量, 进行药动学研究, 以期验证中药速效制剂“证治药动学”特点, 从而进一步

阐明相关机制

1 材料

1.1 仪器 药物与试剂: HP4890D气相色谱仪 (美国), 速效救心丸 (天津市第六中药厂产品, 批号 980643), 冰片、盐酸川芎嗪和萘 (中国药品生物制品检定所), 正己烷、三氯甲烷均为色谱纯试剂 (天津市科密欧化学试剂开发中心)。

1.2 健康人 6例, 无特殊相关疾病史, 男女各半,

* 收稿日期: 2002-11-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870932); 国家教育部高等学校骨干教师计划资助项目

作者简介: 郭 军 (1966-), 男, 山西人, 第四军医大学附属西京医院主治医师, 硕士研究生, 主要研究方向中西医结合临床药理

Tel (029) 2545490; 13008409962 E-mail g_jmen@mail@163.net

* 通讯作者 Tel (029) 3373914

心电图正常。采样前均签订知情同意书,用药前一周无服类似药物史

2 方法

2.1 服药量及观测指标:按每千克体重 10 mg 口服,服药观测点:空腹及服药后 5, 10, 30, 60, 90 min 6个观测点。各观测点在取血同时均测血压、观察心电图、心率变化

2.2 样品制备:取静脉血,肝素抗凝,立即离心,取上清,密封置 - 20℃ 冰箱保存,备用。

2.3 色谱条件:HP-5石英弹性毛细管柱 (15 m× 0.53 mm),温度:柱温 85℃,进样口温度 230℃,气化室温度 240℃,载气为氮气,流速为 8.1 mL/min

2.4 对照品溶液的制备

2.4.1 对照液的配制:精密称取冰片对照品 10 mg,置 50 mL容量瓶中,加无水乙醇至刻度,得冰片对照液高浓度 200 ng/μL (A₁),取 A₁稀释 10倍得低浓度对照液 20 ng/μL (A₂)。精密称取川芎嗪对照品 10 mg,置 50 mL容量瓶中,加无水乙醇至刻度,得川芎嗪对照液高浓度 200 ng/μL (B₁),取 B₁稀释 10倍得低浓度对照液 20 ng/μL (B₂); A₁和 B₂等量混匀的高浓度对照液 200 ng/μL (C₁), A₂和 B₂等量混匀的低浓度对照液 20 ng/μL (C₂),冰箱保存,备用。

2.4.2 内标液配制:精密称取内标萘对照品 10 mg,置入 100 mL容量瓶中,加无水乙醇至刻度,得萘对照液 100 ng/μL

2.4.3 提取液配制:按正己烷-三氯甲烷 (10:1)混入和 100 mL容量瓶中,加入 0.05% NaOH溶液 20 μL,混匀备用。

2.5 样品预处理:肝素抗凝后样品 1.0 mL,加入内标萘对照液 10 μL,混匀,加入提取液 1.5 mL,振荡 30 s,离心 (3 000 r/min) 10 min,静置 2 min,取上清液 1.2 mL,氮气吹干至 20 μL,进样 3.0 μL

2.6 标准曲线:取冻存健康人空白混合血浆,室温解冻,各取 1.0 mL于 5 mL玻璃试管中,分别加入对照品 10, 40, 160, 300, 600, 1 200, 1 600, 2 100 ng,按 2.5项下方法处理

2.7 血药浓度测定:取已制备健康人血浆样品室温融化后按 2.5项下处理,按内标法以标准曲线定量。

2.8 数据处理:3P97软件处理得其药动学参数

3 结果

3.1 色谱图:见图 1 冰片中异龙脑、龙脑保留时间分别为 8.982 min, 9.515 min,定量计算时取二者

面积之和。川芎嗪的保留时间为 5.682 min,内标萘的保留时间为 10.515 min

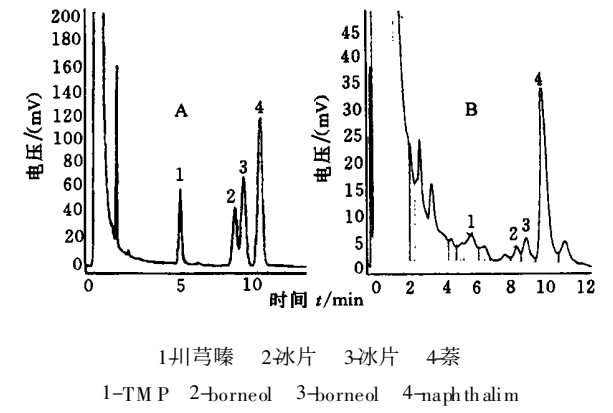


图 1 对照品 (A) 和血浆样品 (B) 色谱图
Fig. 1 Chromatograms of reference substance (A) and plasma sample (B)

3.2 标准曲线:用上述方法进样,取 6次平均值,得冰片 (冰片以龙脑、异龙脑峰面积之和计算) 回归方程 $Y = -0.0367 + 0.00082X$, $r = 0.9978$,得川芎嗪回归方程 $Y = 0.1549 + 0.00045X$, $r = 0.9808$,线性范围:20~420 ng/mL,最低检测限为 2 ng,最低检测浓度为 16 ng/mL

3.3 回收率、精密度的试验:用上述预处理方法,回收率见表 1,冰片日内及日间 RSD 分别为 4.09% 和 8.29% ($n = 5$),川芎嗪日内及日间 RSD 分别为 1.89% 和 7.40% ($n = 5$)。

表 1 冰片、川芎嗪的回收率

Table 1 Recovery of borneol and TMP				
样品	加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 %	相对误差 %
冰片	300	310.200	103.3	3.34
	600	550.240	91.7	-8.30
	1 200	1 142.300	95.2	-4.80
川芎嗪	300	325.870	108.6	8.60
	600	545.096	90.8	-9.10
	1 200	1 171.360	97.6	-2.40

3.4 速效救心丸中冰片和川芎嗪的血药浓度测定:6名健康志愿者早上空腹取空白血后,舌下含服速效救心丸 (每千克体重 10 mg),待全部含化后 (限定 1 min内),温开水 100 mL漱口咽下,计时,于 5, 10, 30, 60, 90 min 取血 5 mL,肝素抗凝,处理方法同前述。结果见图 2

3.5 用 3P97药动学数据处理软件拟合数据,其药动学特征符合开放一房室模型,参数见表 2

4 讨论

自 1991年黄熙教授提出的“证治药动学”以来,在其带领下对其假说的验证经历了 10余年^[1~3],该科学假说在逐步完善和提高。该假说包含

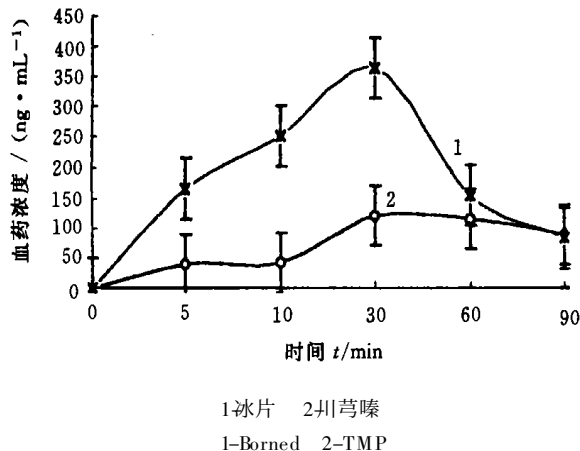


图 2 健康人含服速效救心丸冰片和川芎嗪
血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time curve of borneol and
TMP in healthy volunteers following sublingual
administration of 10 mg/kg Suxiao Jiuxin Wan

6要素,即方剂进入体内的活性成分:①能定性定

表 2 冰片、川芎嗪的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Pharmacokinetics parameters of borneol and
TMP in healthy volunteers ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	冰片	川芎嗪
A	ng/mL	2 073.63 ± 377.01	115.708 ± 58.835
K _e	1/min	0.02 ± 0.01	0.000 ± 0.000
K _a	1/min	0.36 ± 0.13	0.081 ± 0.014
t _{1/2} K _a	min	6.16 ± 1.27	8.528 ± 2.154
t _{1/2} K _e	min	66.14 ± 12.61	760.180 ± 234.150
T _{peak}	min	16.03 ± 2.54	55.874 ± 9.852
C _{max}	ng/mL	408.84 ± 48.66	108.727 ± 50.102
AUC	(ng/mL)·min	30 229.63 ± 456.91	125 474.703 ± 819.735
CL/F (s)	g/kg/min/(ng/mL)	0.02 ± 0.01	0.000 ± 0.000
V/F (c)	(g/kg)/(ng/mL)	1.74 ± 0.99	0.087 ± 0.025

量;②能被测定到的数目相对有限;③与母方疗效有关;④与机体相互作用可形成新的生理活性物质;⑤之间存在药动学的相互作用并与疗效相关;⑥能被机体或“证”机体独特地处置。在上述要素 2和 3的基础上 1999年曾提出了方剂体内血清成分谱与靶成分概念^[4,5]。方剂体内血清成分谱指方剂吸收或进入体内血清内化学成分的结构、性质、分布与数目及其动态状态;靶成分指“谱”中与母方效应相关成分。测定方剂体内血清成分谱,证明服用复方后进入体内成分的数目“相对有限”,就能在相对有限的成分中探明与复方效应相关的药效物质基础,从而阐明中医药作用原理。一系列的循序渐进的川芎复方药动力学研究的工作积累,为复方速效救心丸的临床 TDM (治疗药物监测) 研究创造了极为有利的条件。本实验拟验证“靶成分”新概念:复方体内与母方效应多形式关联成分。为进一步对冠心病

血瘀证的临床治疗药物监测奠定实验基础

通过进行对比分析^[6-8],在正十四烷、樟脑、正辛醇、萘中筛选,选用萘作内标,其与龙脑、异龙脑、川芎嗪的分离度及出峰关系良好,实验重复性好。经过用乙酸乙酯、正己烷、正己烷-二氯甲烷 (10:1)、正己烷-三氯甲烷 (10:1) 对比筛选,显示正己烷-三氯甲烷 (10:1) 作为提取液较正己烷-二氯甲烷 (10:1) 提取分层现象少,提取方便,干扰小,相对稳定。而乙酸乙酯、正己烷做提取液稳定性差。最终确立正己烷-三氯甲烷组做提取液。本实验方法重复性好,冰片与川芎嗪的线性关系良好,健康人的血药浓度测定结果显示速效救心丸舌下含服冰片吸收迅速,16 min 左右即达高峰,川芎嗪吸收较缓慢,近 1 h 才达高峰。

本实验为“证治药动力学”假说提供可靠的实验依据,进一步应证方剂体内成分的定性定量、数目有限和其靶成分的概念。进行方剂临床 TDM 研究并且监测效应局部血药浓度与效应的关系,更有利于阐明方剂的药效物质。以效应为指标的治疗药物监测,把科学量化数据引入中医临床,为进一步临床药理研究提供方法、途径。

致谢:本研究得到第四军医大学化学教研室、西京医院输血科、陕西合阳县医院及研究生徐睿等大力支持与协作。

References

- [1] Huang X, Xia T, Ren P, et al. Influence of combined *Salvia miltiorrhiza* and *Ligusticum wallichii* on pharmacokinetics of tetramethyl pyrazine in rats [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1994, 14(5): 288-301.
- [2] Huang X, Ren P, Wen A D, et al. Is it possible to study the pharmacokinetics of chemical component of decoction? [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1995, 1(4): 297-300.
- [3] Huang X, Jiang Y P, Zhang Y M, et al. Advance in the study of metabolism and pharmacokinetics of chemical components in decoction of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26(10): 546-549.
- [4] Huang X. A concept of serum-component-spectrum and target component in traditional Chinese medicine recipes: contents and meanings [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 1999, 20(4): 277-279.
- [5] Ren P, Huang X. A new concept of traditional Chinese medicine serum-component-spectrum [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(8): 637-641.
- [6] Jin Z Z. Determination of borneol in Suxiao Jiuxin Wan by GC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1984, 4(1): 42-43.
- [7] Hu J G, Wang Y X, Sen Z F, et al. Determination of borneol and isoborneol in three Chinese traditional patent drugs [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1987, 7(2): 98-100.
- [8] Yang L L, Yuan Y S, Tong Y L, et al. Determination of borneol and tetramethyl pyrazine in serum by GC-MSD [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1994, 29(9): 697-701.