

# HPLC 法测定心舒口服液中阿魏酸血浆浓度及其在大鼠体内的药动学研究

夏东亚, 郭涛, 潘文灏, 隋因, 党大胜\*  
(沈阳军区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** 目的 建立测定血浆中阿魏酸浓度的 HPLC 法, 并用于心舒口服液中阿魏酸在大鼠体内的药动学研究。方法 色谱柱为 Nucleosil C<sub>18</sub> 柱, 流动相为甲醇-水-冰乙酸(35:65:0.1), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 320 nm。以替硝唑为内标, 血浆样品酸化后用醋酸乙酯提取。结果 标准曲线线性范围 0.25~16.0 mg/L,  $r=0.9992$ 。阿魏酸平均回收率 96.9%~100.6%, 最低检测浓度为 0.2 mg/L, 日内 RSD<3.0%, 日间 RSD<5.3%。心舒口服液中阿魏酸在大鼠体内的药-时曲线符合二房室模型,  $T_{1/2\alpha}$  为 12.6 min,  $T_{1/2\beta}$  为 305 min。结论 方法简便、快速、准确、重现性好, 适用于阿魏酸血药浓度测定及药代动力学研究。

**关键词:** 心舒口服液; 阿魏酸; 高效液相色谱; 药动学

中图分类号: R285.61; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)01-0036-03

## Determination of plasma level of ferulic acid in Xinshu Oral Liquid by HPLC and its *in vivo* pharmacokinetics in rats

XIA Dong-ya, GUO Tao, PAN Wen-hao, SUI Yin, DANG Da-sheng

(Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** **Object** To develop an HPLC method for the determination of plasma level of ferulic acid and study the *in vivo* pharmacokinetics in rats. **Methods** The used analytical column was Nucleosil C<sub>18</sub>. The mobile phase was methanol-water-acetic acid (35:65:0.1). The flow rate was 1.0 mL/min and detection wavelength at 320 nm. Plasma samples were prepared for analysis by addition of internal standard (Tinidazole) followed by extracting with ethyl acetate. **Results** Linear calibration curve was obtained by plotting concentration vs peak area ratio over the range 0.25—16.0 mg/L with a correlation coefficient of 0.9992. The average recovery of ferulic acid was 96.9%—100.6%. The minimum detectable concentration of ferulic acid was 0.2 mg/L. The relative standard deviations for within-day and between-days were less than 3.0% and 5.3%, respectively. The plasma concentration-time curve of ferulic acid in Xinshu Oral Liquid given to rats was found to fit a two-compartment model with  $T_{1/2\alpha}$  of 12.6 min and  $T_{1/2\beta}$  of 305 min. **Conclusion** The method is simple, rapid, accurate, and precise, which can be used for the determination of plasma level of ferulic acid and the study of its pharmacokinetics.

**Key words:** Xinshu Oral Liquid; ferulic acid; HPLC; pharmacokinetics

阿魏酸(ferulic acid)是当归、川芎中的主要有效成分之一, 具有抗氧化、抑制血小板聚集及抗血栓形成等作用。我院研制的心舒口服液是由当归、川芎、红花等组方, 经科学方法提取有效成分精制而成的中药复方制剂<sup>[1]</sup>。具有疏通心血管、降低血液黏滞度、增加冠脉血流量、改善心肌缺氧、减轻心脏负荷等作用。临床初步应用结果表明, 治疗冠心病心绞痛总有效率达 86.9%。为配合该药的研制及开展中药复方效应成分的药动学研究, 本实验建立了测定血浆中阿魏酸浓度的 HPLC 法, 并用于心舒口服液中

阿魏酸在大鼠体内的药动学研究。

### 1 材料与方法

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪, 包括 510 型高压泵、484 型紫外检测器(美国 Waters 公司); SC1100 色谱工作站(北京化工大学); YHK—型液体快速混合器(江西医疗器械厂)。

1.2 药品和试剂: 阿魏酸对照品由中国药品生物制品检定所提供; 替硝唑精制品(湖北广济药业有限公司); 心舒口服液, 由本院药剂科制剂室提供, 批号 980507, 阿魏酸含量 0.20 mg/mL; 水为亚沸蒸馏水,

\* 收稿日期: 2003-04-23

作者简介: 夏东亚(1953—), 男, 江苏省建湖人, 主任药师, 硕士生导师, 主要从事临床药理研究, 已发表研究论文 50 篇。

Tel: (024) 23051430

甲醇为色谱纯, 醋酸乙酯、盐酸等试剂均为分析纯。

1.3 动物: Wistar 大鼠由沈阳军区总医院医学动物实验科提供, 编号 SZD980512, 雌雄兼用, 体重 220~330 g。

1.4 方法

1.4.1 色谱条件: 色谱柱为 Nucleosil C<sub>18</sub> 柱 (200 mm × 5 mm, 7 μm), 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (35 65 0.1), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 320 nm, 柱温为室温。

1.4.2 对照品储备液配制: 精密称取阿魏酸对照品适量, 用甲醇溶解后, 配成 1.00 mg/mL 的对照品储备液, 置冰箱 4 °C 保存, 临用时将对照品储备液用甲醇稀释至所需浓度。

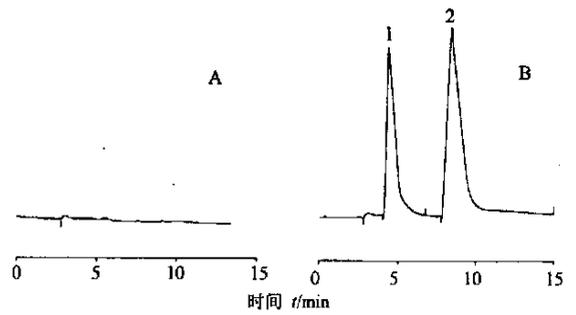
1.4.3 血浆供试品处理: 取大鼠血浆 200 μL, 加内标替硝唑液 10 μL (甲醇溶解后定容为 0.1 mg/mL), 涡旋 10 s, 再加入 0.6 mol/L 盐酸 0.1 mL 和醋酸乙酯 2.5 mL, 涡旋 5 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 取有机相 2 mL, 置 60 °C 水浴氮气流吹干, 残留物用流动相 100 μL 溶解后进样 20 μL。

1.4.4 大鼠体内的血药浓度及药动学参数测定: 取 Wistar 大鼠 10 只, 禁食 12 h, 行颈静脉持久导管术<sup>[2]</sup>。在乙醚麻醉下将大鼠颈部一侧锁骨上 0.5 cm 处皮肤作 1 cm 纵切口, 分离颈静脉, 用常规插管法插入长 12~15 cm 内含 9 g/L 氯化钠注射液的医用硅胶管 (内径 0.51 mm, 外径 0.94 mm), 导管经皮下从颈背部引出并固定。分别 ig 心舒口服液的浓缩液 2 mL (含阿魏酸 1.00 mg/mL), 于给药后 2, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240 min 分别由颈静脉取血 0.5 mL, 置肝素化试管中, 分离血浆, 按 1.4.3 项下方法处理后进样测定。

2 结果

2.1 色谱行为: 在上述色谱条件下, 阿魏酸与空白血浆中杂质峰及内标峰达到良好分离, 内标和阿魏酸的保留时间为 4.5 和 8.6 min。色谱图见图 1。

2.2 阿魏酸血浆标准曲线及最小检测浓度: 在含有 200 μL 空白血浆的具塞试管中分别加入不同量阿魏酸对照品溶液, 使浓度分别为 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 和 16.0 mg/L, 按照 1.4.3 项下操作, 经色谱分离, 计算样品峰与内标峰面积之比 ( $A_s/A_i$ )。以  $A_s/A_i$  为横坐标, 阿魏酸浓度  $C$  (mg/L) 为纵坐标进行回归, 得血浆中标准曲线。其回归方程为  $C = 1.8755 A_s/A_i + 0.1808$ ,  $r = 0.9992$ , 线性范围 0.25~16.0 mg/L。当  $S/N = 2$  时, 最小检测浓度为 0.2 mg/L。



A 空白血浆 B 给药后血浆 1-内标 2-阿魏酸  
A-blank plasma B-plasma after drug administration  
1-internal standard 2-ferulic acid

图 1 大鼠血浆中阿魏酸的 HPLC 图谱

Fig. 1 Chromatogram of ferulic acid in rat plasma

2.3 精密度试验: 在空白血浆中分别加入不同量的阿魏酸对照品溶液, 制备成阿魏酸血浆浓度分别为 1.0, 4.0 和 12.0 mg/L 的供试品各 5 份, 按照 1.4.3 项下操作, 测得低、中、高 3 种阿魏酸浓度的日内 RSD ( $n = 5$ ) 分别为 1.4%, 3.0% 和 3.0%。另取上述不同浓度的血浆供试品, 同法处理, 重复测定 5 d, 测得 3 种浓度的日间 RSD ( $n = 5$ ) 分别为 4.1%, 5.3% 和 3.1%。

2.4 回收率试验: 制备阿魏酸浓度分别为 1.0, 4.0 和 12.0 mg/L 的血浆供试品各 5 份, 按照 1.4.3 项下操作, 进样测定, 计算回收率。3 种浓度的平均回收率分别为 100.6%, 96.9% 和 99.0%, RSD 分别为 1.4%, 2.9% 和 3.0%。

2.5 药动学测定结果: 用 3P87 实用药动学程序对 10 只大鼠 ig 心舒口服液后阿魏酸的血浆浓度-时间数据进行曲线拟合, 经模型判断, 符合一级吸收二房室模型, 拟合曲线见图 2, 其药动学参数见表 1。

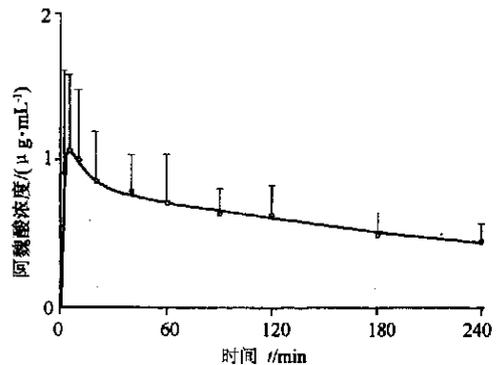


图 2 ig 给药后阿魏酸在大鼠体内的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Mean blood concentration-time curve of ferulic acid in rat after ig administration

表 1 大鼠 ig 给药后阿魏酸的药动学参数 ( $n=10$ )Table 1 Pharmacokinetic parameter of ferulic acid in rats after ig administration ( $n=10$ )

药动学参数	单位	数值
A	mg/L	4.987 ± 8.220
$\alpha$	min <sup>-1</sup>	0.263 ± 0.477
B	mg/L	1.309 ± 1.580
$\beta$	min <sup>-1</sup>	0.002 73 ± 0.001 27
$K_a$	min <sup>-1</sup>	0.489 ± 0.609
$V_d/F$	L/kg	4.793 ± 3.131
$T_{1/2\alpha}$	min	12.62 ± 12.17
$T_{1/2\beta}$	min	305.04 ± 137.93
$T_{1/2K_a}$	min	6.54 ± 8.69
$K_{21}$	min <sup>-1</sup>	0.070 5 ± 0.085 7
$K_{10}$	min <sup>-1</sup>	0.008 05 ± 0.008 60
$K_{12}$	min <sup>-1</sup>	0.187 ± 0.386
AUC	min · mg · L	498.89 ± 482.45
CL/F	mL/min	6.38 ± 3.64
$T_{max}$	min	22.39 ± 28.71
$C_{max}$	mg/L	1.504 ± 1.076

### 3 讨论

阿魏酸为弱酸,在酸性条件下更易被有机溶剂提取完全。曾试用血浆供试品沉淀蛋白直接进样,血浆样品酸化后乙醚或醋酸乙酯提取等方法进行样品处理。实验结果表明,血浆供试品酸化后用醋酸乙酯提取的杂质含量少且阿魏酸提取效率高。本实验所建立的方法可测定复方制剂给药后体内的阿魏酸浓度,方法回收率高,3个浓度下测得的回收率均大于95%;精密度好,日内RSD小于3.0%,日间RSD小于5.3%。方法灵敏,阿魏酸的最小检测浓度为0.2 mg/L,故本法适用于阿魏酸的血药浓度测定及药动学研究。

阿魏酸单体及单方中的阿魏酸在不同动物及人

体的药动学已有报道<sup>[3-5]</sup>,多为一室模型,iv,ig或po给药后血药浓度下降迅速, $T_{1/2}$ 较短,均小于1h。复方中阿魏酸po后体内的分布与代谢为二室模型<sup>[6]</sup>。实验结果表明,阿魏酸以方剂口服液形式进入大鼠体内后,自胃肠道吸收迅速,ig给药后平均22min即达血药浓度峰值,随后阿魏酸在大鼠体内迅速分布,其药-时曲线符合二室模型, $T_{1/2\alpha}$ 为12.6min, $T_{1/2\beta}$ 为305min,与文献报道<sup>[6]</sup>川芎单方中阿魏酸的 $T_{1/2\beta}$ 11.5min比较,明显延长,提示复方制剂中多种成分可能对阿魏酸在大鼠体内的药动学过程有显著影响。

给药后5h阿魏酸的血药浓度已低于最低检出浓度,接近平均峰浓度的1/10,基本符合新药药动学研究对采血时程的要求。

### References:

- [1] Guo T, Ma J W, Ding L X, et al. Studies on Xinshu Oral Liquid [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1997, 32(1): 21-23.
- [2] Meng J R. Permanent catheterization of the jugular vein and hepatic portal vein in rats and its application [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 1987, 22(5): 326-327.
- [3] Chang M X, Xu L Y, Tao J S, et al. Studies on metabolism and pharmacokinetics of ferulic acid in mice [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18(5): 300-302.
- [4] Chang M X, Xu L Y, Tao J S, et al. Studies on pharmacokinetics of ferulic acid in Chuanxiong in rabbits [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1996, 31(1): 43.
- [5] Shang G W, Huang X, Jiang Y P, et al. Pharmacokinetics of ferulic acid in healthy after administering a single dose of clinical decoction of Chuanxiong [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1996, 12(6): 38-40.
- [6] Shang G W, Jiang Y P, Huang X, et al. Determination of free ferulic acid in serum of volunteers healthy after administering Compound Chuanxiong Decoctions by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1997, 32(12): 761-764.

## 多指标综合评分法优选葛根提取工艺

张 彤,徐莲英,陶建生,姚震宇\*  
(上海中医药大学中药学院,上海 201203)

摘要:目的 优选葛根提取工艺。方法 采用正交试验法考察乙醇提取葛根的各影响因素,以多指标综合评分法进行数据分析,优选工艺条件。结果 葛根乙醇提取的最佳条件为:80%乙醇提取两次,第一次12倍量乙醇,提取1h,第二次10倍量乙醇提取30min。结论 采用综合评分法优选葛根提取工艺能较好地保证制剂的质量。

关键词:葛根;葛根素;总黄酮;正交试验;综合评分法

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2004)01-0038-03

\* 收稿日期:2003-04-26

基金项目:上海市教委基金资助(01QN80,02CZ24)

作者简介:张 彤(1972—),男,浙江省杭州市人,副教授,1993年毕业于南京大学化学专业,获理学学士学位,1996年—2003年获上海中医药大学医学学士、硕士、博士学位。现为上海中医药大学教学实验中心副主任,目前研究工艺对中药有效成分的影响,并在多项新药的研制中负责工艺优选和质量标准的制定。Tel: (021) 51322318, 51322315 E-mail: zhangtdmj@sohu.com