

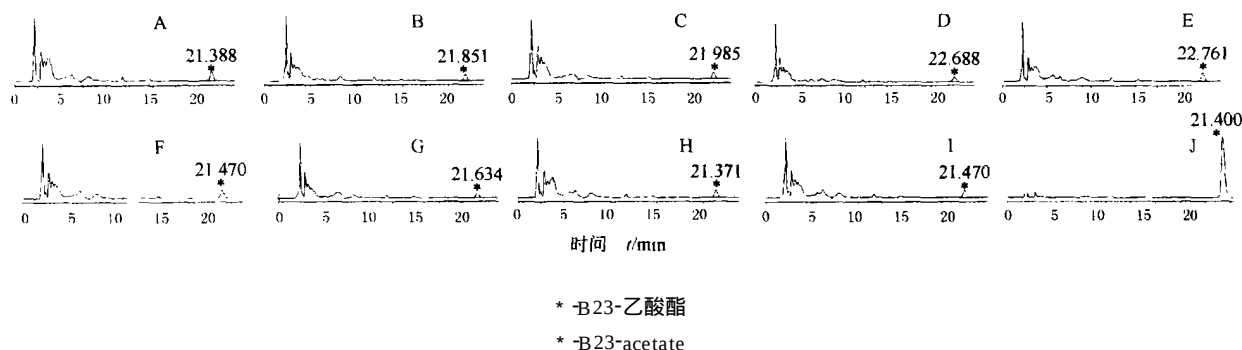


图1 清炒法(A)、烘法(B)、酒炒法(C)、药典盐炙法(D)、樟帮盐炙法(E)、建昌帮盐炙法(F)、盐麸法(G)、樟帮麸炒法(H)、生饮片(I)样品和泽泻醇B23-乙酸酯对照品(J)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of samples with methods of parched (A), toasted (B), wine-baked (C), salt solution-baked of Ch P (D), salt solution-baked of Zhangbang (E), salt solution-baked of Jianchangbang (F), salt solution-bran parched (G), bran-parched of Zhangbang (H), primary processed (I), and alisol B23-acetate reference substance (J)

降,而其他用盐做辅料的炮制品,盐在药粉中占了一定比例而使原药粉的量相对减少,导致泽泻醇B23-乙酸酯的质量分数相对下降。药理研究表明,生品与各炒制品均有一定的利尿作用,而盐泽泻几乎不见利尿作用,临床应用时为保证质量应注意炮制方法。

4.2 《中华人民共和国药典》2000年版中没有泽泻药材的质量分数测定。采用流动相乙腈-水(60:40)时,出峰时间长,用乙腈-水(65:35)为流动相时^[4],出峰时间还是过长。用流动相乙腈-水(70:30)时,峰形良好并可达到完全分离且保留时间较短。

4.3 提取方法和提取时间不同对泽泻醇B23-乙酸酯的提取能力也不一样。结合文献资料和常规提取方法,考察了索氏提取法、回流提取法和超声提取

法,结果表明超声提取法明显优于其他两种提取方法。考察了超声提取30、45、60 min的提取能力,结果三者的提取能力差异无显著性,故超声时间确定为30 min。

References:

- [1] Peng G P, Pan L H. Study of sample of *Alisma orientalis* (Sam.) Juzep [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2001, 17(3): 154-156.
- [2] Wang X T. *Collection of Chinese Materia Medica Processing in Past Generations* (历代中药炮制法汇典) [M]. Nanchang: Jiangxi Science and Technology Publishing House, 1989.
- [3] Gong Q F. *Chinese Materia Medica Preparation* (中药炮制学) [M]. Beijing: Chinese Traditional Chinese Medicine Publishing House, 1994.
- [4] Wen H M, Peng G P. Study the quality control standard for *Rhizoma Alismatis* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18(6): 375-377.

石菖蒲挥发油中 β -细辛醚在兔体内的药动学研究

魏立平, 吴玫涵*

(解放军总后卫生部药品仪器检验所, 北京 100071)

摘要: 目的 研究石菖蒲挥发油中 β -细辛醚在新西兰兔体内的药动学。方法 采用气相色谱法测定 β -细辛醚的血药浓度,并以气相色谱-质谱联用法确认 β -细辛醚。色谱柱: HP-35毛细管气相色谱柱;程序升温:起始温度为30 $^{\circ}\text{C}$,6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至220 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min;进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;FID检测器温度:320 $^{\circ}\text{C}$;进样量:2.0 μL ;无分流进样;溶剂:甲醇;载气:氦气;柱头压:55 kPa;内标物: α -萘酚。质谱条件:电离方式:EI;电子能量:70 eV;接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;离子源温度:200 $^{\circ}\text{C}$;四极杆温度:100 $^{\circ}\text{C}$;质量扫描范围:35~500 amu;溶剂延迟:2.0 min。结果 β -细辛醚与内标物的峰面积之比(Y)与质量浓度(C)线性关系良好,回归方程为: $Y = 0.01889C + 1.755 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$ 。线性范围:0.04~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。新西兰兔全血中最低检测质量浓度为0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结论 新西兰兔口服石菖蒲挥发油后, β -细辛醚在体内药时过程为线性动力学过程,符合一级吸收二室模型, $t_{1/2\alpha}$ 为18.3 min, $t_{1/2\beta}$ 为114.5 min。

关键词: 石菖蒲; β -细辛醚; 药动学; 气相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)01-0048-04

Pharmacokinetic study of β -asarone in volatile oil from *Acorus tatarinowii* in rabbits

WEILiping, WU Meihan

(Institute of Drug Control of People's Liberation Army, Beijing 100071, China)

Key words: *Acorus tatarinowii* Schott.; β -asarone; pharmacokinetics; GC

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的根茎。石菖蒲中挥发油具有镇静抗惊、解痉平喘及抗心律失常等作用, β -细辛醚(顺-2, 4, 5-三甲氧基-1-丙烯基苯)是其中的主要有效成分之一。因此, 本实验建立了气相色谱法测定 β -细辛醚的血药浓度的方法, 并对其在新西兰兔体内的药动学进行了研究。

1 材料与仪器

石菖蒲购自同仁堂药店, 经解放军总后卫生部药品仪器检验所中药室鉴定为天南星科植物石菖蒲的干燥根茎。 β -细辛醚对照品为 Fluka 试剂(质量分数: 70.9%)。 甲醇(HPLC 级); α -萘酚、乙醚、氯化钠、氟化钠均为分析纯, 超纯水(自制)。新西兰兔, 雌雄各半, 由北京科宇动物养殖中心提供, 许可证号: SCXK(京)2002-0005。

HP 5890 气相色谱仪(惠普公司), HP 5989A 质谱仪(惠普公司), Sartorius R200D 电子天平(赛多利斯公司)

2 实验方法

2.1 色谱条件: HP-35 毛细管气相色谱柱(内径: 0.25 mm; 长: 30 m; 涂膜厚: 0.25 μ m); 程序升温: 起始温度为 30 $^{\circ}$ C, 6 $^{\circ}$ C/min 升至 220 $^{\circ}$ C, 保持 5 min; 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; FID 检测器温度: 320 $^{\circ}$ C; 进样量: 2.0 μ L; 无分流进样; 溶剂: 甲醇; 载气: 氦气; 柱头压: 55 kPa; 内标物: α -萘酚。 质谱条件: 电离方式: EI; 电子能量: 70 eV; 接口温度: 280 $^{\circ}$ C; 离子源温度: 200 $^{\circ}$ C; 四极杆温度: 100 $^{\circ}$ C; 质量扫描范围: 35~ 500 amu, 溶剂延迟: 2.0 min。

2.2 石菖蒲挥发油的提取: 采用水蒸气蒸馏法(参照《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 XD 挥发油测定法)提取石菖蒲中的挥发油, 产率为 2.0%。

2.3 样品预处理: 取含待测药物的全血 500 μ L (肝素抗凝)于离心管中, 加入 0.5 mL 水, 150 mg 氯化钠, 25 mg 氟化钠摇匀, 加 α -萘酚, 加 1.0 mL 乙醚振摇提取, 3 000 r/min 离心 10 min, 吸取乙醚层, 再分别用 0.5 mL 乙醚提取两次, 合并乙醚液, 氮气流吹干, 以甲醇 100 μ L 溶解, 即得。

2.4 新西兰兔 ig 给药的药动学研究: 兔禁食 12 h

后, 按 0.1、0.2、0.4 g/kg ig 石菖蒲挥发油(含 β -细辛醚 60.0%), 分别于给药后 5、10、20、30、40、50、60、90、120、150、180、240、360、420 min 耳缘静脉取血 0.5 mL, 收集于肝素化的离心管内, 按样品预处理方法处理。 气相色谱法分析样品, 用 3P87 药动学程序处理血药浓度-时间数据。

为测定 β -细辛醚 ig 给药后的绝对生物利用度, 以 1, 2-丙二醇为溶剂, 将石菖蒲挥发油制成 0.25 g/mL 的注射液, 兔耳缘 iv 给药, 剂量为 0.1 g/kg, 于给药后的 5、10、20、30、40、50、60、90、120、150、180、240、360、420 min 耳缘静脉取血 500 μ L, 收集于肝素化的离心管内, 按样品预处理方法处理。 测定血药浓度, 用 3P87 药动学程序处理血药浓度-时间数据, 并计算绝对生物利用度。

3 实验结果

3.1 β -细辛醚气相色谱行为及方法专属性: 称取 β -细辛醚对照品适量, 加 1.4 mg/mL α -萘酚的甲醇溶液溶解, 制成含 β -细辛醚 0.90 mg/mL、 α -细辛醚 0.34 mg/mL 的对照品溶液。 进样 2.0 μ L, 记录色谱图。 取空白兔血(肝素抗凝)0.5 mL, 按 2.3 项下处理后, 加甲醇 0.1 mL 溶解, 进样 2.0 μ L, 记录色谱图。 取空白兔血(肝素抗凝)0.5 mL, 用微量进样器加 7.0 μ L 607 μ g/mL β -细辛醚甲醇溶液, 加入 α -萘酚, 混匀后按 2.3 项下处理, 用甲醇溶解, 进样 2.0 μ L, 记录色谱图, 结果见图 1。

3.2 被测药物 β -细辛醚的确认: 兔给药后全血中 β -细辛醚的出峰时间与 β -细辛醚对照品的出峰时间完全一致, 初步判断其为 β -细辛醚。 为了进一步确认被测组份, 采用气相色谱-质谱联用法进行结构鉴定。 对出峰时间为 28.5 min 的色谱峰进行分析, 结果分子离子峰 m/z 208 的丰度最高, 与 β -细辛醚的质量数完全吻合。 经检索, 此峰与谱库中的 β -细辛醚的吻合程度为 98%。 综上确定, 此峰为 β -细辛醚峰。

3.3 标准曲线的制备: 取空白全血(肝素抗凝)0.5 mL, 加入不同量 β -细辛醚对照品使全血中药物质量浓度分别为 0.04、0.08、0.40、1.6、8.0、40.0 μ g/mL, 按实验方法所述进行样品处理。 以 β -细辛醚与内标物的峰面积比(Y)对 β -细辛醚的血药浓度(C)作图, 其回归方程为 $Y = 0.01889C + 1.755 \times 10^{-3}$,

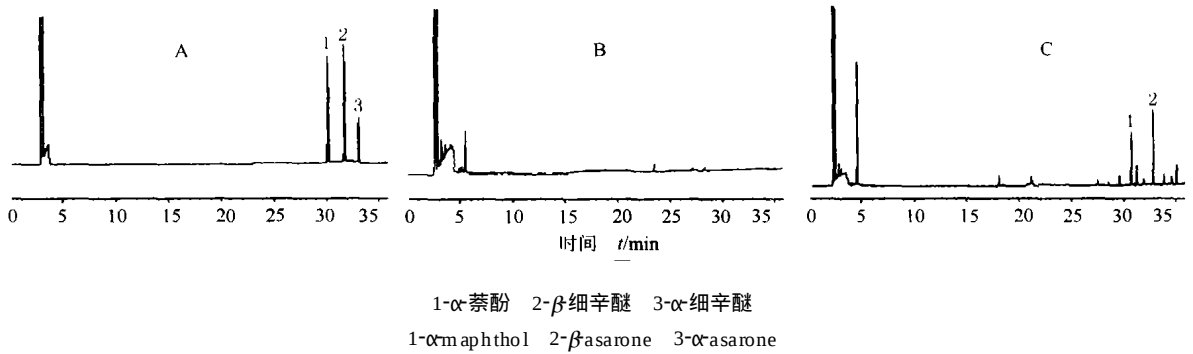


图 1 对照品(A)、空白血样(B)和含 β -细辛醚血样(C) 的 GC 图谱

Fig. 1 GC chromatograms of reference substance (A), blank blood (B), and blood sample with β -asarone (C)
 $r = 0.999\ 9$, 线性范围为 $0.04 \sim 40\ \mu\text{g/mL}$ 。兔全血中最低检测质量浓度为 $0.04\ \mu\text{g/mL}$ 。

3.4 精密度试验: 配制 0.098 、 0.981 、 $9.81\ \mu\text{g/mL}$ β -细辛醚全血样品, 于当日取 $0.5\ \text{mL}$ 全血样品, 按 2.3 项下处理并测定药物浓度, 测定后置室温保存, 每种浓度平行做 5 份, 计算日内精密度; 于第 1、2、3、4、5 日重复测定, 计算日间精密度, 结果见表 1。表明, 在上述 3 种质量浓度下, 日内与日间 RSD 均 $< 11.0\%$ 。

表 1 精密度试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Precision test ($\bar{x} \pm s, n = 5$)		
β -细辛醚质 量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	日内 质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	日间 质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
	RSD /%	RSD /%
0.098	0.091 ± 0.09	0.081 ± 0.009
0.981	0.931 ± 0.061	0.937 ± 0.020
9.81	9.730 ± 0.190	9.370 ± 0.270

3.5 准确度试验: 配制 $0.099\ 6$ 、 0.498 、 0.996 、 1.99 、 $3.98\ \mu\text{g/mL}$ β -细辛醚全血样品, 按样品预处理方法处理, 每种质量浓度各做 5 份, 计算 β -细辛醚与内标的峰面积比值, 按标准曲线法计算质量浓度, 所得质量浓度与实际质量浓度的比值即为相对回收率, 结果见表 2。

表 2 相对回收率试验结果

Table 2 Relative recovery test ($\bar{x} \pm s, n = 5$)		
β -细辛醚质量浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得质量浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 /%
0.099 6	$0.096\ 4 \pm 0.008\ 4$	97.5 ± 7.9
0.498	0.498 ± 0.022	98.2 ± 4.4
0.996	0.977 ± 0.025	98.0 ± 2.4
1.99	1.97 ± 0.03	99.1 ± 1.3
3.98	3.91 ± 0.07	98.1 ± 1.7

3.6 提取回收率试验: 配制 $0.099\ 6$ 、 0.498 、 0.966 、 1.99 、 $3.98\ \mu\text{g/mL}$ β -细辛醚全血样品, 按样品预处理方法处理, 每种质量浓度各做 5 份, 以 β -细辛醚对照品溶液为标准计算回收率, 结果表明, 在 5 种质量浓度下绝对回收率在 $90.2\% \sim 99.3\%$, 见表 3。

表 3 提取回收率 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Absolute recovery of extraction ($\bar{x} \pm s, n = 5$)		
β -细辛醚质量浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得质量浓度 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 /%
0.096 6	$0.089\ 9 \pm 0.009\ 5$	90.3 ± 9.5
0.498	0.466 ± 0.021	93.5 ± 4.3
0.996	0.944 ± 0.024	94.8 ± 2.5
1.99	1.980 ± 0.030	99.3 ± 1.3
3.98	3.930 ± 0.070	98.7 ± 1.7

3.7 兔给药后的吸收药理学: 兔 ig 石菖蒲挥发油, 测得的血药浓度-时间曲线见图 2。兔耳缘 iv 给药, 测得的血药浓度-时间曲线见图 3。经模型拟合, β -细辛醚 ig 给药体内过程符合一级吸收二室模型, 药动学参数见表 4。各剂量组的半衰期与剂量无关, 药时曲线下面积 (AUC) 及峰值浓度与剂量基本成线性。说明 β -细辛醚在 $0.1 \sim 0.4\ \text{g/kg}$ 剂量属于线性药理学。结果表明, 兔 ig 石菖蒲挥发油后, β -细辛醚的绝对生物利用度为 9.0% 。

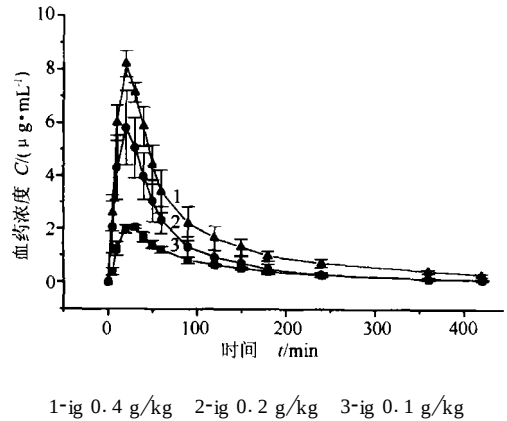


图 2 兔 ig 石菖蒲挥发油后 β -细辛醚的血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Blood concentration-time curve of β -asarone after ig different dose of volatile oil from *A. tatarinowii* to rabbits

4 讨论

4.1 据文献报道, β -细辛醚是石菖蒲挥发油中的主

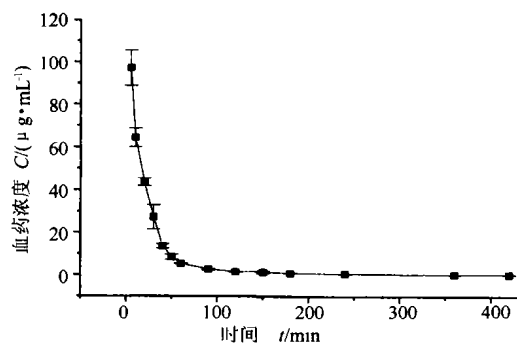


图3 兔 iv 石菖蒲挥发油 0.1 g/kg 后 β -细辛醚的血药浓度-时间曲线

Fig. 3 Blood concentration-time curve of β -asarone after iv 0.1 g/kg of volatile oil from *A. tatarinowii* to rabbits

表4 兔 ig 及 iv 给药后的药动学参数

Table 4 Pharmacokinetic parameters of β -asarone after ig or iv administration to rabbits

参数	单位	iv 0.1 g/kg	ig 0.1 g/kg	ig 0.2 g/kg	ig 0.4 g/kg
A	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	125.4	4.6	14.2	23.6
α	min^{-1}	0.061 8	0.036 7	0.042 8	0.043 5
B	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	4.22	1.23	1.58	2.56
β	min^{-1}	0.008 8	0.006 6	0.006 9	0.005 2
K_a	min^{-1}		0.103	0.102	0.103
$t_{1/2\alpha}$	min	11.2	20.3	17.4	17.1
$t_{1/2\beta}$	min	78.5	105.7	100.7	137.1
$t_{1/2ka}$	min		7.56	6.85	7.01
K_{21}	min^{-1}	0.010 6	0.017 3	0.013 4	0.011 6
K_{10}	min^{-1}	0.051 7	0.014 0	0.023 1	0.019 5
K_{12}	min^{-1}	0.008 4	0.012 0	0.013 1	0.017 7
AUC	$\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{mL}^{-1}$	2 508	227	422	737
t_{max}	min		23.3	19.1	19.2
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$		1.93	5.55	7.83

要有效成分之一,所以,本实验选取 β -细辛醚作为研究对象。石菖蒲挥发油中的另一有效成分 α -细辛醚与 β -细辛醚互为顺反异构体,两者性质极为相近。本实验条件下,两者分离很好,且两者与内标物 α -萘酚亦分离完全。空白血浆无杂质峰干扰。

4.2 经兔 ig α -细辛醚对照品(Fluka 试剂,纯度为 99%)试验证明,在本实验剂量下,石菖蒲挥发油中的 α -细辛醚在体内不会转化成 β -细辛醚,所以不会影响 β -细辛醚的药动学研究。

4.3 本法在样品预处理步骤中加入 0.5 mL 水,150 mg 氯化钠,25 mg 氟化钠摇匀后提取,目的是使血细胞破裂,从而使与血细胞结合的 β -细辛醚释放出来。结果证明,不经过此处理的提取回收率仅为 81.6%,远远低于本实验预处理方法的回收率。

4.4 石菖蒲挥发油中 β -细辛醚的药动学特征可以归纳为以下几点: (1)用 3P87 药动学程序处理血药浓度-时间数据,经模型拟合,以 AIC 最小原则结合相关系数等指标进行最佳模型判别,石菖蒲挥发油中 β -细辛醚经 ig 给药,在兔体内过程符合一级吸收二室模型。(2)兔 ig 3 种剂量(0.1、0.2、0.4 g/kg)的石菖蒲挥发油后,各剂量组的半衰期与剂量无关, AUC 及 C_{max} 与剂量基本成线性关系。说明 β -细辛醚在 0.1~0.4 g/kg 属于线性动力学。(3)兔 ig 石菖蒲挥发油后, β -细辛醚在体内吸收迅速,20 min 左右血药浓度达峰值。 $t_{1/2\alpha}$ 为 18 min, $t_{1/2\beta}$ 为 114 min 左右,说明 β -细辛醚在体内吸收、分布均较快。(4)兔 ig 石菖蒲挥发油后, β -细辛醚的绝对生物利用度很低,仅为 9.0%。

小半夏加茯苓汤中药效物质的正交试验筛选

刘文,冯泳*

(贵阳中医学院,贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 确定小半夏加茯苓汤中药效物质。方法 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验制成不同提取工艺的处方,测定呕吐潜伏期、呕吐次数和总生物碱的质量分数,对数据进行线性回归。结果 呕吐潜伏期与总生物碱呈良好线性关系,呕吐次数与总生物碱也呈良好线性关系。结论 小半夏加茯苓汤中总生物碱是其药效物质。

关键词: 小半夏加茯苓汤; 正交试验; 生物碱

中图分类号: R 284; R 286.4

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)01-0051-02

* 收稿日期: 2004-04-06

作者简介: 刘文(1968—), 辽宁鞍山人, 硕士, 贵阳中医学院副教授, 主要从事中药新药的研究与开发。

Tel: (0851) 5929169 Fax: (0851) 5930605 E-mail: lw@gyctcm.edu.cn