

动力学特点可能与该制剂本身性质有关。一方面该冻干制剂形成了粒径很小的药物微粒,有利于提高药物在体内的循环和吸收,另一方面透明质酸在粒子表面形成一层膜,使药物在体内的释放减慢,消除速度变小,这有利于提高药物的疗效。具体机制有待进一步研究。

References:

- [1] Yuan Y J. *New Anticancer Drugs — Paclitaxel and Docetaxol* (抗癌新药紫杉醇和多烯紫杉醇) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002.
- [2] Sharma A, Straubinger R M. Novel taxol formulations: preparation and characterization of taxol-containing liposomes [J]. *Pharm Res*, 1994, 11: 889-895.
- [3] Kan P, Chen Z B, Lee C J, et al. Development of nonionic surfactant/phospholipid O/W emulsion as vehicle for drug delivery [J]. *J Control Release*, 1999, 58(3): 271-278.
- [4] Feng S S, Huang G F. Effect of emulsifiers on the controlled release of paclitaxel from nanospheres of biodegradable polymer [J]. *J Control Release*, 2001, 71(1): 53-69.
- [5] Liu Y, Chen G S, Yuan Y J, et al. Inclusion complexation and solubilization of paclitaxel by bridged bis (beta-cyclodextrin) containing a tetraethylenepentaamino spacer [J]. *J Med Chem*, 2003, 46: 4634-4637.
- [6] Feng X, Yuan Y J, Wu J C. Synthesis and evaluation of water-soluble paclitaxel prodrugs [J]. *Bioorgan Med Chem Lett*, 2002, 12(22): 3301-3303.
- [7] Lee J Y, Spicer A P. Hyaluronan: a multifunctional, megaDton, stealth molecule [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12(5): 581-586.
- [8] Zeng C X, Bryan P, Shawn T, et al. Inhibition of tumor growth *in vivo* by hyaluronan oligomers [J]. *Int J Cancer*, 1998, 77(2): 396-401.
- [9] Ponta H, Sherman L, Peter A. Herrlich CD44: From adhesion molecules to signalling regulators [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4: 33-45.
- [10] Yuan Y J, Yin D S, Su W C, et al. Injection preparation of taxane [P]. CN: 1421201A, 2002-12-16.
- [11] Liu C X, Wei G L, Li Q S. Methodology study of validation for bioanalysis in studies on pharmacokinetics and bioavailability [J]. *Asian J Drug Metab Pharmacokin*, 2001, 1(4): 279-286.

温里药配伍对口服赤芍小鼠血浆中芍药苷的影响

杨祖贻¹,裴瑾²,刘荣敏¹,程佳¹,万德光²,胡荣²

(1. 四川省肿瘤研究所,四川 成都 610041; 2. 成都中医药大学药学院,四川 成都 610075)

摘要:目的 建立适用于7种温里药分别与活血药赤芍配伍后芍药苷血药浓度的RP-HPLC检测方法。探讨活血温里复方的药物配伍机制。方法 将胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒、丁香、干姜分别与赤芍配伍后ig小鼠,采用HPLC法测定各复方在小鼠血浆中芍药苷血药浓度。结果 胡椒、肉桂、吴茱萸、小茴香、花椒均能不同程度地提高芍药苷的血药浓度($P<0.01$),丁香、干姜对芍药苷的血药浓度提高不明显。结论 温里药胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒与活血药赤芍配伍均能提高赤芍主要有效成分芍药苷的血药浓度。

关键词:赤芍;芍药苷;温里药;血药浓度;高效液相色谱

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**B **文章编号:**0253-2670(2005)02-0195-04

Effect of compatibility with warming-inside drugs on paeoniflorin in mouse plasma

YANG Zu-yi¹, PEI Jin², LIU Rong-min¹, CHENG Jia¹, WAN De-guang², HU Rong²

(1. Sichuan Cancer Institute, Chengdu 610041, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

Abstract: Objective To establish a RP-HPLC method for the determination of the blood concentration of paeoniflorin which was produced by seven kinds of warming-inside drugs (WID) being used with the promoting-blood drugs (PBD) individually and to explore the mechanism of PBD and WID compound prescription. **Methods** The blood concentration of paeoniflorin in mouse plasma was determined by HPLC after ig seven kinds of WID being compatible with *Radix Paeoniae Rubra* (RPR) to mice separately. **Results** *Fructus Piperis* (FP), *Cortex Cinnamoni* (CC), *Fructus Evodiae* (FE), *Fructus Foeniculi* (FF), and *Pericarpium Zanthoxyli* (PZ) compound prescription with RPR can increase the blood concentration of paeoniflorin in different degrees ($P<0.01$). But *Flos Caryophylli* (FC) and *Rhizoma Zingiberis* (RZ) had obscure effect on it. **Conclusion** FP, CC, FF, FE, and PZ compound prescription with RPR separately can increase the blood concentration of paeoniflorin.

Key words: *Radix Paeoniae Rubra* (RPR); paeoniflroin; warming-inside drugs (WID); blood concentration; HPLC

赤芍是毛茛科植物芍药 *Paeonia veitchii* Lynch 的根茎。芍药苷是赤芍主要有效成分之一。研究发现芍药苷具有抗血栓形成、抗血小板凝集、抗凝血、激活纤溶、调血脂、改善高黏血症等作用。但芍药苷的胃肠吸收很差,生物利用度低^[1,2]。临床使用活血温里复方即活血化瘀药与温里药配伍后温里药可提高活血药疗效,故推测在上述配伍形式的复方中,温里药可能增加了活血药的胃肠吸收,提高了活血药的血药浓度和生物利用度。本研究建立了适用于7种温里药分别与活血药赤芍配伍后小鼠血浆中芍药苷的 RP-HPLC 分析方法,用该方法比较赤芍及赤芍分别与胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒、丁香、干姜配伍后小鼠血浆中芍药苷质量浓度,探讨一类温里药对活血药赤芍的主要有效成分芍药苷血药浓度的影响,为活血温里复方药物配伍内涵的深入研究建立了方法学基础。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪,二极管阵列检测器,Agilent 色谱数据处理系统。芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0736-200219)。赤芍、胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒、丁香、干姜药材购自四川省中药材公司,经成都中医药大学万德光教授鉴定为赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch、肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl、小茴香 *Foeniculum vulgare* Mill.、胡椒 *Piper nigrum* L.、吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.、丁香 *Eugenia caryophyllata* Thunb.、干姜 *Zingiber officinale* Rosc.。所用甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为重蒸水。各复方制剂均为赤芍提取物分别与以上7味温里药提取物按7:3的比例混合用蒸馏水配制,各复方制剂中芍药苷质量浓度均为49 mg/mL。复方制剂由四川省肿瘤研究所制备。小鼠,雌雄各半,体重22 g,由四川省中药研究所实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 7 μm);流动相:甲醇-水(38:62);体积流量0.5 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:25℃;灵敏度:0.01 AUFS;进样量:10 μL。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇溶解,制成0.50 mg/mL的对照品溶液,

置于4℃冰箱备用。

2.3 血样预处理:取100 μL血浆,置于0.5 mL高速离心管中,加入3倍体积的乙醇,电动混匀器充分混匀后经5 000~10 000 r/min离心15~20 min,取上清液置于0.5 mL试管中,37℃水浴挥干,用50 μL甲醇重溶,再次5 000~10 000 r/min离心15~20 min,取上清液置微量进样管中。

2.4 血药浓度测定:将小鼠随机分为空白对照组、对照组和实验组,每组10只。空腹14 h后,根据小鼠体重按剂量ig:空白对照组水、赤芍提取物(PE)、赤芍胡椒复方、赤芍肉桂复方、赤芍小茴香复方、赤芍吴茱萸复方、赤芍花椒复方、赤芍丁香复方、赤芍干姜复方(PPE),PE和PPE各组中PE浓度相同。对照组和各实验组芍药苷的给药剂量相同,均为490 mg/kg。ig后分别于30、60、90、120、150、180 min眼眶取静脉血0.5 mL,用肝素血液抗凝,离心取上清,得血浆,按血样预处理方法处理后进行测定。

2.5 色谱行为:在上述色谱条件下,分别测定芍药苷对照品,赤芍提取物,空白对照组、对照组、各实验组血浆。可见芍药苷与血浆中蛋白质峰、内源性物质、芍药提取物的其他成分以及这些成分的体内代谢物和结合性成分均能很好的分离。通过二维、三维色谱图对其吸收峰定性,其保留时间均与对照品一致(图1)。

2.6 标准曲线和最低检测浓度:分别取芍药苷对照品溶液1.5、10、50 μL,室温下分别加入空白血浆50 μL,再加入甲醇定容至100 μL,按色谱条件下操作测定。以芍药苷峰面积与对应进样量进行直线回归,得此条件下芍药苷的回归方程 $C = 4.037 \times 10^{-4} A - 1.098 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$ 。结果表明血浆中芍药苷在5.0~250.0 ng/μL与峰面积线性关系良好。以信噪比(S/N)为3时的芍药苷质量浓度为方法的检测限,取0.050 mg/mL芍药苷对照品溶液0.5、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL分别加入到50 μL空白血浆中,按血样预处理方法处理后进样分析,结果本方法的检测限为1.49 ng/μL。

2.7 精密度试验:芍药苷对照品溶液在1 d内连续进样、测定5次,其峰面积日内RSD为1.02%;同法测定对照组、赤芍胡椒复方血浆样品,其峰面积RSD分别为2.36%、3.13%;另连续测定5d,对照

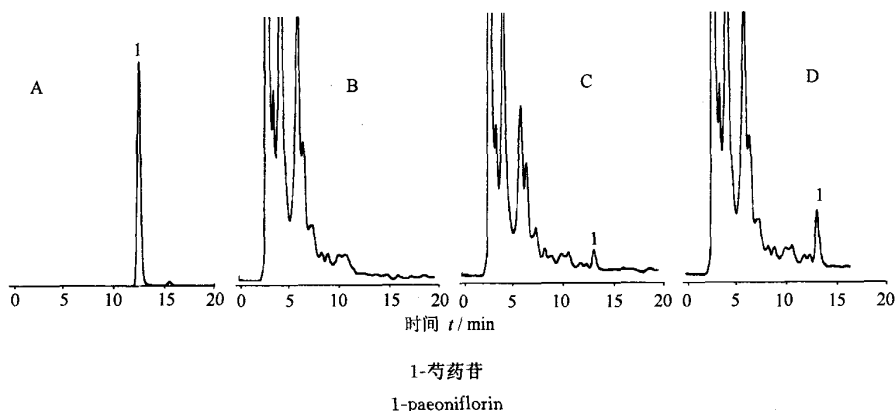


图 1 芍药苷对照品溶液(A)、空白血浆(B)、对照组(C)和赤芍胡椒复方(D)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of paeoniflorin reference substance (A), blank plasma (B), plasma sample of mice after ig PE (C), and plasma sample of mice after ig PPE (D)

品溶液、对照组、赤芍胡椒复方血浆样品峰面积日间 RSD 分别为 3.05%、4.66%、4.21%。结果表明该方法精密密度较好,符合体内药物浓度测定的要求。

2.8 回收率试验:精密量取芍药苷对照品溶液 5、10、20、40 μL ,室温下分别加入空白血浆 50 μL ,加入甲醇定容,制成一定质量浓度的芍药苷血浆对照品溶液,摇匀后按血样预处理项下处理、测定。测定结果可见,各质量浓度回收率符合体内药物浓度测定的要求。4 种质量浓度的平均回收率为大于 90% (表 1)。

表 1 芍药苷回收率试验 ($n=3$)

Table 1 Recoveries of paeoniflorin ($n=3$)

芍药苷对照品溶液 /($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)	测得质量浓度 /($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}, \bar{x} \pm s$)	回收率 /%	RSD /%
19.23	18.07 $\pm$ 6.89	93.96	4.78
38.46	35.96 $\pm$ 4.26	93.50	7.78
76.92	69.23 $\pm$ 7.44	90.00	9.23
153.85	160.94 $\pm$ 8.56	104.61	7.61

2.9 采血时间的确定:芍药提取物 ig 小鼠后分别于 30、60、90、120、150、180 min 取静脉血,按血浆及血样预处理方法处理,测定。结果表明给药 30~120 min 内血药浓度较高,尤其是给药 60 min 后血药浓度达到峰值,但到了 150 min 以后,芍药苷在血中的浓度明显降低(表 2)。因此各实验组的采血时间确定在给药后 60 min。

2.10 血药浓度的测定结果:取已制备好的血浆样品,按上述色谱条件测定,由标准曲线计算出芍药苷的血药浓度,结果见表 3。

3 讨论

目前,有关复方效应成分药动学的研究正在发展。但对活血温里复方中活血药与温里药配伍后活血药效应成分药代动力学的研究却未见报道。本研

表 2 对照组小鼠血浆中各时间点芍药苷质量浓度 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Concentration of paeoniflorin in mouse plasma at different times ($\bar{x} \pm s, n=10$)

取血时间/min	芍药苷质量浓度/($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)
30	28.36 $\pm$ 3.89
60	41.49 $\pm$ 2.86
90	33.05 $\pm$ 2.28
120	31.06 $\pm$ 4.74
150	10.89 $\pm$ 4.25
180	13.14 $\pm$ 5.59

表 3 ig 60 min 时小鼠血浆中芍药苷质量浓度 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Concentration of paeoniflorin in mouse plasma after ig 60 min ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	芍药苷血药浓度/($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)
空白对照	水
对照	赤芍
实验	赤芍胡椒复方
	赤芍吴茱萸复方
	赤芍肉桂复方
	赤芍小茴香复方
	赤芍花椒复方
	赤芍干姜复方
	赤芍丁香复方

与对照组比较, ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group

究参考有关文献^[3~6],建立了适合于在 7 个活血温里复方(赤芍分别与 7 味温里药配伍)中采用 HPLC 法测定芍药苷血药浓度的色谱条件,并对生物样品去蛋白处理和小鼠血浆中微量芍药苷提取分离方法进行了筛选。通过比较空白血浆、空白血浆加芍药苷对照品、空白血浆加赤芍提取物、对照组(赤芍)与各实验组(赤芍温里药复方)含药血浆的色谱图,表明血浆中蛋白杂峰、内源性物质、赤芍提取物的其他成

分以及这些成分的体内代谢物和结合性成分均能很好的分离。对样品测定无干扰,方法选择性较好;同时通过系统方法考察,表明本方法回收率高,4个浓度下测得的回收率均大于90%,方法灵敏度较高,芍药苷的最低检测质量浓度为1.49 ng/ μ L。

用赤芍提取物灌胃小鼠后,分别于30、60、90、120、150、180 min测定小鼠血浆中芍药苷浓度,结果表明在灌胃后60 min芍药苷血药浓度达峰值。再给小鼠按一定的剂量和比例分别给予赤芍、赤芍胡椒复方、赤芍肉桂复方、赤芍小茴香复方、赤芍吴茱萸复方、赤芍花椒复方、赤芍丁香复方、赤芍干姜复方灌胃,并于60 min时测定各组血浆中芍药苷浓度,结果发现实验组中赤芍胡椒复方、赤芍肉桂复方、赤芍小茴香复方、赤芍吴茱萸复方、赤芍花椒复方、较对照组芍药苷浓度明显提高($P < 0.01$)。说明在上述温里药与赤芍配伍的复方中,胡椒、肉桂、小茴香、吴茱萸、花椒均可提高赤芍主要有效成分芍药苷的血药浓度。

本研究从复方效应成分药动力学的角度揭示了温

里药与活血药赤芍配伍后,温里药提高了赤芍主要效应成分芍药苷的血药浓度这一活血温里复方配伍的科学内涵。本研究方法的建立为活血温里复方药物配伍机制的深入研究奠定了方法学基础。

References:

- [1] Wang Y S, Deng W L. *Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica* (中药药理与应用) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [2] Huang T K. *Handbook of Composition and Pharmacological Action of Commonly-used Traditional Chinese Medicine* (常用中药成分与药理手册) [M]. Beijing: Chinese Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.
- [3] Guo L W. *The Method and Application of Pharmacokinetics of Chinese Traditional Drugs* (中药药物动力学方法与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [4] Han G Z. *Pharmacokinetics of Chinese Traditional and Herbal Drugs* (中草药药代动力学) [M]. Beijing: Chinese Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1999.
- [5] Sun L H, Hu Y M, Ma J H, et al. HPLC determination of paeoniflorin in Ganfukang Granule [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2002, 11(4): 296-297.
- [6] Lu Q Z, Wang X H, An R, et al. Determination of ferulic acid and paeoniflorin in Huoxue Mistura by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(9): 668-669.

马蔺子素-羟丙基- β -环糊精包合物的鉴定及热力学稳定性研究

张学农¹, 唐丽华¹, 阎雪莹², 张强³

(1. 苏州大学 药学院, 江苏 苏州 215007; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040;
3. 北京大学药学院 药剂系, 北京 100083)

摘要:目的 制备和鉴定马蔺子素-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合物,并考察了马蔺子素与HP- β -CD之间的包合机制及构成摩尔质量比。方法 采用冷冻法制备马蔺子素-HP- β -CD包合物,摩尔梯度法和连续递变法考察了包合物中主客分子之间的包合摩尔比;分别采用X射线衍射(XRD)和差示扫描量热法(DSC)对包合物进行鉴定。结果 主客分子摩尔梯度和反应热力学结果显示,25、35、45 $^{\circ}$ C下HP- β -CD与马蔺子素包合摩尔质量比为2:1,具有最大的增溶特性和较大结合常数,其冻干粉经鉴别已形成包合物。结论 马蔺子素包合物能显著增大药物的溶解度和稳定性。

关键词:马蔺子素;包合物;冷冻干燥;X射线衍射;差示扫描量热法

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2005)02-0198-05

Identification of irisquinone hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion compound and its thermodynamic stability

ZHANG Xue-nong¹, TANG Li-hua¹, YAN Xue-ying², ZHANG Qiang³

(1. Department of Pharmacy, Suzhou University, Suzhou 215007, China; 2. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 3. Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Science, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: Objective To prepare and identify the irisquinone-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (irisquinone-HP- β -CD) inclusion compound. The inclusion mechanism and mol ratio of irisquinone and

收稿日期:2004-06-09

作者简介:张学农(1962—),男,河南西平人,教授,博士后,主要从事药物新剂型研究。

Tel: (0512) 66998384 E-mail: zhangxuenong@163.com