

阿魏酸及其不同配伍药代动力学比较研究

冯彬彬¹, 张建海¹, 徐晓玉^{2*}¹重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404120; ²西南大学, 重庆 400716

摘要: 本文主要探讨阿魏酸及其不同配伍给药在大鼠体内的代谢动力学规律。将 32 只 SD 大鼠, 分为阿魏酸组 50 mg/kg、阿魏酸 + 川芎嗪 (50 mg/kg + 30 mg/kg) 组、阿魏酸 + 延胡索乙素 (50 mg/kg + 20 mg/kg) 组、阿魏酸 + 川芎嗪 + 延胡索乙素 (50 mg/kg + 30 mg/kg + 20 mg/kg) 组, 分别灌胃给药, 采用高效液相色谱法测定各组大鼠血浆中阿魏酸的浓度, DAS 2.0 程序计算药代动力学参数。结果表明: 川芎嗪、延胡索乙素均可延长阿魏酸在大鼠体内的作用时间, 增加阿魏酸在大鼠体内的吸收。

关键词: 阿魏酸; 配伍; 药代动力学; 高效液相色谱法

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

Comparative Study on the Pharmacokinetics of Ferulic Acid in Different Combinations of Rats

FENG Bin-bin¹, ZHANG Jian-hai¹, XU Xiao-yu^{2*}¹Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China; ²Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the pharmacokinetics of ferulic acid and its different combinations. 32 Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups: ferulic acid 50 mg/kg, ferulic acid 50 mg/kg + tetramethylpyrazine (TMP) 30 mg/kg, ferulic acid 50 mg/kg + tetrahydropalmatine (TET) 20 mg/kg and ferulic acid 50 mg/kg + TMP 30 mg/kg + TET 20 mg/kg. All rats were given by intragastric administration then blood samples were obtained from fossa orbitalis at several time points. All the concentrations of ferulic acid in plasma were analyzed by HPLC and the data were analyzed by DAS 2.0 program. The results showed that TMP and TET prolonged the action time of ferulic acid in rats, increased the absorption of ferulic acid in rats.

Key words: ferulic acid; compatibility; pharmacokinetics; HPLC

阿魏酸是一种有机酸, 为当归、川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 等中药的有效成分之一, 具有抑制血小板聚集、血栓形成及抗肿瘤和抗炎等功效。临床上用于治疗血管栓塞性脉管炎、急性脑血栓和偏头痛、动脉粥样硬化症等疾病^[1,2]。近年来, 有关阿魏酸钠盐的药动学研究及药材配伍中阿魏酸的药动学研究较多^[3-6], 但阿魏酸单体及其不同单体配伍对阿魏酸在体内的吸收、分布与代谢等药代动力学研究报道较少^[7,8]。本实验主要研究川芎嗪、延胡索乙素 2 个单体对阿魏酸在雌性大鼠体内的药动学的影响, 结合中药辩证药动学的研究, 对阿魏酸及其不同配伍药动学进行比较研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器与药品

H1650-W 台式微量高速离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司); EL-204 电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; Agilent 1200 高效液相色谱 (HPLC) 仪; 智能柱温箱; MWV 紫外检测器; WH-2 微型涡旋混合仪 (上海沪西分析仪器厂)。

甲醇为色谱纯, 购自迪马公司; 冰醋酸为分析纯; 水为去离子水; 阿魏酸对照品, 批号: 110773-200611, 购自中国药品生物制品检定院; 香豆素对照品, 购自 Sigma 公司; 阿魏酸、川芎嗪 (TMP)、延胡索乙素 (TET) 原料药, 购自南京泽朗有限责任公司, 含量均在 98% 以上。

1.2 动物

Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 清洁级, 雌性, 体重为 220 ± 20 g, 由重庆医科大学实验动物中心提供,

收稿日期: 2013-07-02 接受日期: 2013-12-20

基金项目: 重庆市重大科技攻关项目 (CSTC, 2008AA5004); 重庆市自然科学基金 (CSTC, 2012jjA10012)

* 通讯作者 E-mail: xxy0618@sina.com

合格证号:SCXK(渝)2007-0001,动物饲养于 SPF 级实验动物中心,实验环境合格证号:SYXK(渝)2009-0002。

2 实验方法

2.1 HPLC 条件

色谱柱:Agilent SB-C₁₈ ODS(4.6 × 250 mm,5 μm);流动相:甲醇:0.3%冰醋酸水溶液(42:58);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;温度:30 ℃。

2.2 标准品及内标溶液制备

取阿魏酸对照品 50 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,得 0.5 mg/mL 的对照品储备液。同样方法配制香豆素储备液浓度为 0.73 mg/mL。再将阿魏酸储备液分别稀释为八个不同浓度,香豆素储备液稀释至浓度为 7.3 μg/mL。

2.3 标准曲线绘制

精密吸取大鼠空白血浆 8 份各 100 μL,分别加入 100 μL 不同浓度的阿魏酸标准品和 100 μL 相同浓度的内标,配制成含阿魏酸 0.0254、0.2535、0.5071、1.0142、2.0417、4.0833、8.3333、11.1111 μg/mL 系列浓度;涡旋 2 min,10000 r/min 离心 5 min,上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,取 10 μL 进样,以阿魏酸和内标的峰面积之比与阿魏酸浓度作回归方程,绘制标准曲线。

2.4 回收率实验

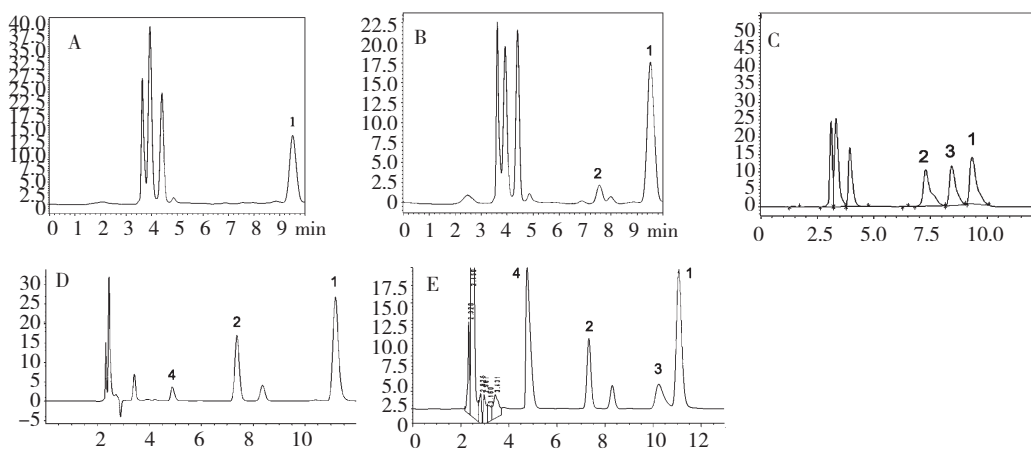
精密吸取大鼠血浆 9 份各 100 μL,加入低、中、高不同浓度的阿魏酸标准溶液 100 μL,再加相同浓度的内标 100 μL,配成低、中、高不同浓度的样品,按照 2.3 项下的样品处理方法进行处理。

2.5 精密度实验

按 2.4 项下配制成高、中、低 3 种浓度的阿魏酸血浆样品各 3 份,用同一标准曲线测定得精密度。

2.6 血浆样品制备

将 SD 大鼠分为阿魏酸组、阿魏酸 + 川芎嗪组、阿魏酸 + 延胡索乙素组、阿魏酸 + 川芎嗪 + 延胡索乙素组,每组 8 只,受试大鼠禁食不禁水 12 h 后,根据前期工作以及相关预实验较为理想的结果^[7,8],分别按 50 mg/kg、50 mg/kg + 30 mg/kg、50 mg/kg + 20 mg/kg 和 50 mg/kg + 30 mg/kg + 20 mg/kg 剂量灌胃给药,阿魏酸组成成分于灌胃后 0、2、5、10、20、30、45、60、90、120、180、240 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;阿魏酸 + 川芎嗪组于灌胃后 0、5、10、20、30、45、60、90、150、210、300、480、720 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;阿魏酸 + 延胡索乙素组于灌胃后 0、5、10、20、30、60、90、150、240、480、720、1440、2160 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;阿魏酸 + 川芎嗪 + 延胡索乙素组于灌胃后 0、5、10、20、30、45、60、90、120、180、300、480、720、1440、2610 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;所采血液均放入有肝素钠的 EP 管中,10000



A:空白 + 内标;B:阿魏酸 + 内标;C:阿魏酸 + 川芎嗪 + 内标;D:阿魏酸 + 延胡索乙素 + 内标;E:阿魏酸 + 川芎嗪 + 延胡索乙素 + 内标。1:内标香豆素峰;2:阿魏酸峰;3:川芎嗪峰;4:延胡索乙素峰

A: blank + internal standard; B: ferulic acid + internal standard; C: ferulic acid + TMP + internal standard; D: ferulic acid + TET + internal standard; E: ferulic acid + TMP + TET + internal standard. 1: Internal standard coumarin; 2: ferulic acid; 3: TMP; 4: TET

图1 阿魏酸及其不同配伍的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of ferulic acid with different combinations

rpm 离心 5 min;取血浆放-20 °C 冰箱保存,用于阿魏酸血药浓度的检测。

2.7 血样处理

精密吸取大鼠血浆样品 100 μL ,加 100 μL 内标和 100 μL 甲醇,按 2.3 项下的处理方法处理。

2.8 数据处理

所测数据采用 DAS2.0 药代动力学程序,计算主要药动学参数。

3 结果与分析

3.1 方法专属性考察

在本色谱条件下测得的色谱图见图 1。阿魏酸和内标(香豆素)得到较好分离,无明显干扰峰。

表 1 阿魏酸回收率试验结果($n=3, \bar{x} \pm S$)

Table 1 Recovery of the developed HPLC method for the quantification of ferulic acid($n=3, \bar{x} \pm S$)

分组 Group	阿魏酸组 Ferulic acid	阿魏酸+川芎嗪组 Ferulic acid + TMP	阿魏酸+延胡索乙素组 Ferulic acid + TET	阿魏酸+川芎嗪+延胡索乙素组 Ferulic acid + TMP + TET
平均回收率% Average recovery	102.36 \pm 4.58	101.65 \pm 2.95	98.75 \pm 4.34	99.23 \pm 1.65
RSD%	3.50	6.54	6.75	3.38

3.4 精密度试验

精密度实验结果见表 2。由表 2 可以看出阿魏酸低浓度精密度 RSD 均小于 20%,中、高浓度精密

3.2 标准曲线及线性范围

根据 2.2 项下的方法绘制标准曲线。以阿魏酸浓度为横坐标,以阿魏酸和内标的峰面积之比为纵坐标绘制标准曲线, $y=0.1276x-0.0032, r=0.9996$,表明:阿魏酸在 0.0254 ~ 11.1111 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

3.3 回收率试验

回收率实验结果见表 1。由表 1 可以看出川芎嗪组阿魏酸、阿魏酸+川芎嗪组、阿魏酸+延胡索乙素组、阿魏酸+川芎嗪+延胡索乙素组中的阿魏酸平均回收率均在 80% ~ 120% 之间, RSD 均小于 10%,表明该方法回收率符合要求。

度 RSD 均小于 15%,表明精密度良好,符合生物样品精密度要求。

表 2 阿魏酸精密度试验结果($n=5, \bar{x} \pm S$)

Table 2 The precision of the developed HPLC method for the quantification of ferulic acid($n=5, \bar{x} \pm S$)

浓度 Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	日内 Intra-day			日间 Inter-day		
	次数 n	精密度 Precision ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)	次数 n	精密度 Precision ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)
0.50	5	0.4764 \pm 0.0192	4.02	5	0.5187 \pm 0.0871	16.80
2.00	5	1.9498 \pm 0.1778	9.12	5	1.9872 \pm 0.1637	8.24
8.30	5	7.8910 \pm 0.5566	7.05	5	8.3457 \pm 0.4732	5.67

3.5 药代动力学

以 DAS 2.0 药代动力学程序进行曲线拟合,大鼠灌胃给药后不同配伍阿魏酸的药代动力学参数见表 3,药-时间曲线见图 2。

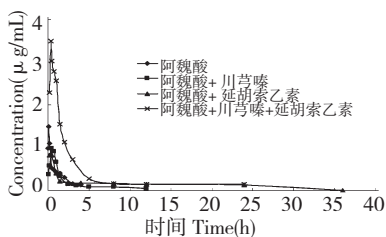


图 2 不同成分配伍阿魏酸药-时间曲线图

Fig. 2 The concentration-time curves of ferulic acid with different combinations

阿魏酸不同成分配伍给药药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 、达峰时间 T_{max} 、半衰期 $t_{1/2}$ 和平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 都大于阿魏酸单独给药,其中与延胡索乙素配伍和与川芎嗪和延胡索乙素两者配伍对阿魏酸 $AUC_{(0-t)}$ 的影响最大,见图 2;阿魏酸与川芎嗪配伍时,药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 和达峰浓度 C_{max} 与阿魏酸单独给药相比没有显著差异,但平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 、半衰期 $t_{1/2}$ 和达峰时间 T_{max} 显著比阿魏酸单独给药时延长 ($P < 0.05$);阿魏酸与延胡索乙素配伍时,达峰时间 T_{max} 和达峰浓度 C_{max} 与阿魏酸单独给药相比没有显著差异,但药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 显著高于阿魏酸单独给药 ($P < 0.05$),平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 和半衰期 $t_{1/2}$ 显著比阿魏酸单独

表3 不同成分配伍阿魏酸药动学参数比较

Table 3 The pharmacokinetic parameters of ferulic acid with different combinations

参数 Parameters	阿魏酸 Ferulic acid	阿魏酸 + 川芎嗪 Ferulic acid + TMP	阿魏酸 + 延胡索乙素 Ferulic acid + TET	阿魏酸 + 川芎嗪 + 延胡索乙素 Ferulic acid + TMP + TET
$AUC_{(0-t)}$ ($mg \cdot h \cdot L^{-1}$)	1.808 ± 0.495	1.984 ± 0.468	5.683 ± 0.406 *	8.586 ± 4.781 *
$MRT_{(0-t)}$ (h)	1.303 ± 0.251	2.894 ± 0.932 *	15.102 ± 1.041 *	6.158 ± 3.038 *
T_{max} (h)	0.229 ± 0.188	0.600 ± 0.137 *	0.333 ± 0.136	0.510 ± 0.246 *
C_{max} (mg/L)	1.483 ± 0.552	1.030 ± 0.275	0.871 ± 0.453	4.087 ± 2.245 *
$t_{1/2}$ (h)	2.182 ± 2.651	7.860 ± 3.970 *	51.001 ± 26.561 *	14.746 ± 11.485 *

注:与阿魏酸单独给药比较, * $P < 0.05$ 。

Note: Compare with ferulic acid group, * $P < 0.05$.

给药时延长($P < 0.05$);阿魏酸与川芎嗪和延胡索乙素同时配伍时药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 、达峰时间 T_{max} 、达峰时间 T_{max} 、半衰期 $t_{1/2}$ 和平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 都显著大于阿魏酸单独给药($P < 0.05$),见表3。

4 讨论

4.1 测定方法的讨论

本试验采用 HPLC 测定血浆中阿魏酸的浓度,用有机溶剂直接沉淀蛋白,所需设备及样本制备过程简单。测定阿魏酸的 HPLC 色谱条件,本实验采用课题组稳定的方法^[7,8]确定色谱条件为:甲醇:0.3% 冰醋酸水溶液(42:58),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 °C。该测定方法精密度高,回收率好,阿魏酸和内标峰型良好,无杂质干扰,基线稳定,适用于生物样本的测定。

4.2 药动学结果讨论

由表3可见:阿魏酸不同配伍给药与单独给药后阿魏酸的药代动力学参数存在差异:阿魏酸与川芎嗪配伍时其主要药动学参数,药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 和达峰浓度 C_{max} 与阿魏酸单独给药没有显著差异,但达峰时间 T_{max} 、半衰期 $t_{1/2}$ 和平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 显著比阿魏酸单独给药时延长($P < 0.05$),说明川芎嗪可以延长阿魏酸在大鼠体内的作用时间,使其消除减慢,有缓释的效果;阿魏酸与延胡索乙素配伍时其主要药动学参数,达峰时间 T_{max} 和达峰浓度 C_{max} 与阿魏酸单独给药相比没有显著差异,但药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 显著高于阿魏酸单独给药($P < 0.05$),平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 和半衰期 $t_{1/2}$ 显著比阿魏酸单独给药时延长($P < 0.05$);说明延胡索乙素能加快并增加阿魏酸在大鼠体内的吸收,并延长阿魏酸在大鼠体内的作用时间;阿魏酸与川芎嗪、延胡索乙素同时配伍时其主要药动学

参数药时曲线下面积 $AUC_{(0-t)}$ 、达峰时间 T_{max} 、达峰时间 T_{max} 、半衰期 $t_{1/2}$ 和平均驻留时间 $MRT_{(0-t)}$ 都显著大于阿魏酸单独给药($P < 0.05$),说明川芎嗪、延胡索乙素能同时加快并增加阿魏酸在大鼠体内的吸收,延长阿魏酸在大鼠体内的作用时间,二者对阿魏酸有协同增效作用。结果表明,阿魏酸不同配伍在大鼠体内的药代动力学有差异,提示不同组分在药动学方面存在相互影响。

参考文献

- Zhang Z(张壮), Yan YF(闫彦芳), Chen KJ(陈可冀). Study on the pharmacokinetics of ferulic acid in Canine serum after giving an intragastrical single dose of Xiongshao capsules to a dog. *J Beijing Univ TCM*(北京中医药大学学报), 2001, 24(1): 25-28.
- Liu XF(刘晓峰), Wu XA(武新安), Wei YH(魏玉辉), et al. 阿魏酸和川芎汤剂中阿魏酸在大鼠体内的吸收动力学研究. *J Chin Med Mater*(中药材), 2007, 30: 831-833.
- Xu S(徐术), Hu JH(胡晋红), Li FQ(李凤前). Determination of sodium ferulate in Beagle dog plasma by HPLC and its pharmacokinetics. *Chin Tradit Patent Med*(中成药), 2005, 27: 1062-1065.
- Liu XD(刘晓东), Xue YY(薛玉英), Xie L(谢林), et al. Pharmacokinetics of ferric acid in rat after oral administration of Radix Angelica Sinensis, Rhizoma Chuanxiong and their compound preparations. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2003, 34: 448-451.
- Liu YJ(刘艳娟), Du ZM(杜智敏), Wang Z(王珍). Pharmacokinetic study of ferulic acid in Ruxian pill in rabbits *in vivo*. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37: 527-530.
- Xia DY(夏东亚), Guo T(郭涛), Pan WH(潘文灏), et al. Determination of plasma level of ferulic acid in Xinshu oral liquid by HPLC and its *in vivo* pharmacokinetics in rats. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2004, 35: 36-38.