

# 木兰脂素在大鼠体内的药动学研究

俞瑜\*,袁浩宇#,曾健鹏(核工业四一六医院,成都 610051)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)25-3522-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.25.23

**摘要** 目的:研究木兰脂素在大鼠体内的药动学特征。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-四氢呋喃-水(39:1:60),流速为1.0 ml/min,检测波长为278 nm,柱温为35 ℃,进样量为20 μl。8只Wistar大鼠于给药[10 mg(生药)/kg]前及给药后0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12、20 h尾静脉断尾取血测定血药浓度,采用DAS2.1.1软件计算药动学参数。结果:木兰脂素检测质量浓度线性范围为0.05~10.00 μg/ml( $r=0.9995$ ),精密性、稳定性试验的RSD均小于13%( $n=6$ ),方法回收率为97.32%~102.15%( $n=6$ ),提取回收率为84.63%~90.02%( $n=6$ )。木兰脂素在大鼠体内 $t_{1/2\alpha}$ 为(0.48±0.22) h, $t_{1/2\beta}$ 为(7.96±2.57) h,CL/F为(0.09±0.032) L/(h·kg),AUC<sub>0-20h</sub>为(944.43±212.83) mg·h/L。结论:本方法精密性、稳定性、准确度均符合生物样品测定要求。木兰脂素在大鼠体内AUC<sub>0-20h</sub>与剂量呈良好的线性关系,过程符合二室模型。

**关键词** 辛夷;木兰脂素;高效液相色谱法;药动学;大鼠

## Pharmacokinetic Study of Magnolin in Rats

YU Yu, YUAN Hao-yu, ZENG Jian-peng(The 416th Hospital of CNNC, Chengdu 610051, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of magnolin in rats. METHODS: High performance liquid chromatography (HPLC) was adopted. The determination was performed on Kromasil C<sub>18</sub> with mobile phase consisted of acetonitrile-tetrahydrofuran-water (39:1:60), at the flow rate of 1.0 ml/min, with the measurement wavelength of 278 nm, column temperature of 35 ℃ and the sample size of 20 μl. 8 Wistar rats were docked to collect blood from the caudal vein before administration [10 mg(medicinal materials)/kg] and 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12 and 20 h after administration, to determine the concentration of the drug in blood. DAS2.1.1 software was used to calculate pharmacokinetic parameters. RESULTS: In the determination of magnolin, the mass concentration linear range was found to be 0.05-10.00 μg/ml ( $r=0.9995$ ); the RSD of precision test and stability test were less than 13% ( $n=6$ ); relative recovery rate was 97.32%-102.15% ( $n=6$ ); extraction recovery rate was 84.63%-90.02%;  $t_{1/2\alpha}$  of magnolin in rats was (0.48±0.22) h,  $t_{1/2\beta}$  was (7.96±2.57) h, CL/F was (0.09±0.032) L/(h·kg), and AUC<sub>0-20h</sub> was (944.43±212.83) mg·h/L. CONCLUSIONS: This method conforms to the requirements for the determination of biological samples with respect to precision, stability and accuracy. Magnolin demonstrates a good linear relationship between AUC<sub>0-20h</sub> and the dose in rats, with the process compatible with two-compartment model.

**KEYWORDS** Magnoliae FLOS; Magnolin; HPLC; Pharmacokinetics; Rat

木兰脂素(Magnolin)是从中药辛夷中提取得到的木脂素类主要化合物之一,具有较强的抗过敏作用,而且对炎症早期有较为明显的抑制作用,可视为辛夷抗炎、抗过敏作用的活性成分之一<sup>[1-3]</sup>。辛夷是多种中药方剂和中成药的主要成分,目前研究多集中在药理作用上<sup>[4-5]</sup>,缺乏对活性单体的系统研究。本研究建立了木兰脂素快速、灵敏的血药浓度高效液相色谱(HPLC)检测方法,对大鼠ig木兰脂素后的体内过程进行研究,以期对辛夷制剂的开发奠定药动学基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC2010型高效液相色谱仪,包括紫外检测器、柱温箱(日本岛津公司);AE 200型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];XW-80A型旋涡混合器(上海驰唐电子有限公司);TGL-16G型台式离心机(上海医用分析仪器厂)。

### 1.2 药品与试剂

木兰脂素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:028-82991459。E-mail:502662482@qq.com

# 通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:028-82991607。E-mail:yhy416@126.com

110709-200505,纯度:≥98%);绿原酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号:14091701,纯度:≥98%);辛夷提取物(笔者自制,纯度:>95%);甲醇、乙腈(色谱纯,德国Merck公司);水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

健康Wistar大鼠8只,♀♂兼半,体质量(250±20)g,购自四川大学实验动物中心[实验动物使用许可证:SYXK(川)2013-011]。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-四氢呋喃-水(39:1:60),流速:1.0 ml/min;检测波长:278 nm;柱温:35 ℃;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 木兰脂素对照品溶液的制备 取木兰脂素对照品约10 mg,精密称定,置于50 ml量瓶中,用甲醇溶解稀释并定容,摇匀后得质量浓度为200 μg/ml的对照品溶液,于4 ℃贮藏,备用。

2.2.2 绿原酸对照品溶液的制备 取绿原酸对照品约10 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,用甲醇溶解稀释并定容,摇匀后得质量浓度为100 μg/ml的内标溶液,于4 ℃贮藏,备用。

2.2.3 ig药液的制备 取辛夷提取物适量,置于25 ml量瓶中,重蒸水超声混匀得混悬液,得每1 ml混悬液中含木兰脂素为0.5 mg的药剂作大鼠ig药液。

### 2.3 血浆样品预处理

精密量取血浆样品0.15 ml,分别加入甲醇30  $\mu$ l、内标溶液(50  $\mu$ g/ml)30  $\mu$ l,加入10%三氯乙酸溶液0.15 ml以沉淀蛋白,涡旋混匀1 min,以离心半径为13.5 cm、3 000r/min离心3 min。精密量取上清液20  $\mu$ l进样,HPLC法测定血药浓度。

### 2.4 质控样品的制备

精密吸取木兰脂素对照品贮备液适量,分别用甲醇稀释,得到低、中、高质量浓度的工作溶液,各取30  $\mu$ l加入到0.15 ml空白血浆中,使血浆中木兰脂素质量浓度分别为0.10、0.50、1.00  $\mu$ g/ml,按“2.3”项下方法处理测定,作为样品测定时的质控样品。

### 2.5 专属性试验

分别取空白血浆、空白血浆+对照品、给药30 min后血浆样品按“2.3”项下方法处理后,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,木兰脂素保留时间约为9 min,内标保留时间约为7.5 min,血浆中其他杂质不干扰木兰脂素的分离测定。色谱图见图1。

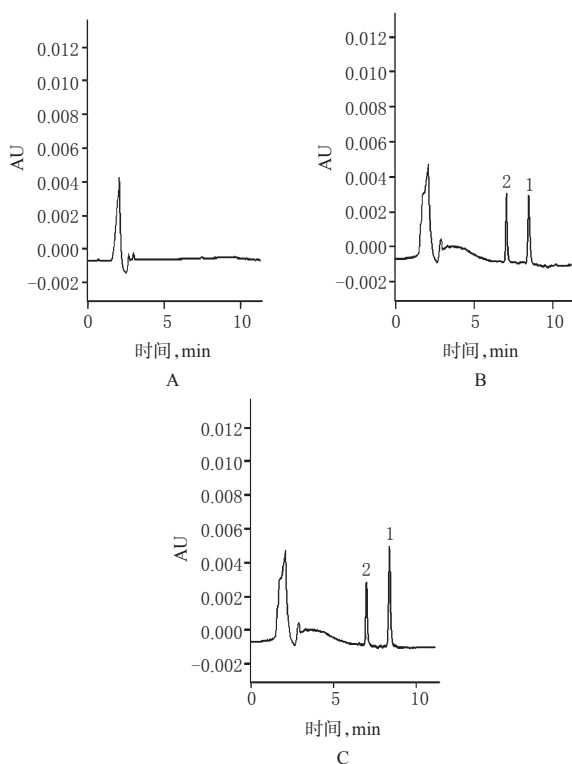


图1 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.对照品;C.血浆样品;1.木兰脂素;2.绿原酸

Fig 1 HPLC chromatographs

A. blank plasma; B. reference substance; C. plasma sample; 1. magnolin; 2. chlorogenic acid

### 2.6 标准曲线的制备

取空白血浆0.15 ml,精密加入不同质量浓度的木兰脂素对照品溶液30  $\mu$ l,使其质量浓度分别为0.05、0.10、0.25、0.5、1.00、2.50、5.00、10.00  $\mu$ g/ml,按“2.3”项下方法处理后,进样测定,记录色谱图。以木兰脂素峰面积和内标峰面积比值(y)为

纵坐标,以木兰脂素质量浓度(x)为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=1.69 \times 10^3 x + 2.25 \times 10^2$  ( $r=0.9995$ )。结果表明,木兰脂素质量浓度线性范围为0.05~10.00  $\mu$ g/ml。定量限为0.05  $\mu$ g/ml,检测限约为15 ng/ml。

### 2.7 方法回收率试验

取“2.4”项下低、中、高质量浓度质控样品,按“2.3”项下方法处理后,进样测定,以测得值与加入量的比值计算方法回收率。结果,低、中、高质量浓度质控样品的方法回收率分别为97.32%、98.37%、102.15%。方法回收率试验结果见表1。

表1 方法回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of relative recovery rate test (n=6)

加入质量浓度, $\mu$ g/ml	测得质量浓度, $\mu$ g/ml						平均回收率, %	RSD, %
	1	2	3	4	5	6		
0.10	0.0966	0.0953	0.0989	0.0949	0.102	0.0962	97.32	2.76
0.50	0.495	0.493	0.478	0.466	0.511	0.508	98.37	3.52
1.00	1.018	1.032	1.045	1.022	9.890	1.023	102.15	1.82

### 2.8 提取回收率试验

取空白血浆0.15 ml,制备低、中、高质量浓度(0.10、0.50、1.00  $\mu$ g/ml)的血浆样品( $c_i$ ),按“2.3”项下方法处理,并求出各质量浓度下3次进样的峰面积均值( $A_i$ )。另取低、中、高已知质量浓度的对照品溶液,以水代替血浆,按“2.3”项下方法处理,测得峰面积( $A_e$ )。以前后两种处理测定得到的对照品峰面积之比( $A_e/A_i$ )计算提取回收率。结果,提取回收率为84.63%~90.02%,RSD为9.1% ( $n=6$ )。

### 2.9 精密度试验

取“2.4”项下低、中、高质量浓度质控样品,分别在同一天内测定6次和每天6次连续测定3 d,分别考察日内和日间精密度。结果,低、中、高质量浓度质控样品的日内RSD分别为7.2%、6.9%和5.8%,日间RSD分别为11.6%、9.9%和8.3% ( $n=6$ ),表明日内、日间精密度良好。

### 2.10 稳定性试验

取“2.4”项下低、中、高质量浓度质控样品,在室温下放置0、1、2、4 h后考察样品在室温条件下的稳定性;在-20  $^{\circ}$ C冰箱中反复冻融3次,考察样品冻融稳定性;在-20  $^{\circ}$ C冰箱中冷冻10 d后,考察样品冷冻稳定性。结果,以上3个试验的RSD均小于13%,表明血浆样品在上述条件下稳定性均良好,可以满足样品分析检测要求。

### 2.11 药动学实验

取8只Wistar大鼠,实验前一晚禁食10 h,自由饮水。次日早晨按10 mg(生药)/kg的剂量ig给予辛夷提取物的混悬液,于给药前及给药后0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、8、12、20 h尾静脉断尾取血约0.4 ml,置预先肝素化的离心管中,分离血浆后置于-20  $^{\circ}$ C贮藏,备用。得到的血药浓度数据采用DAS 2.1.1药动学软件处理,计算药动学参数。结果,辛夷提取物在大鼠体内的消除过程属于一级消除, $AUC_{0-20h}$ 与剂量呈良好的线性关系,符合二室模型。木兰脂素在大鼠体内的药-时曲线见图2,药动学参数见表2。

## 3 讨论

木兰脂素是辛夷药材中木脂素类主要成分之一,常作为含辛夷制剂的质量控制指标成分;文献中常为各类中成药的含量测定方法的报道对象,有木兰脂素单一成分的测定<sup>[6-7]</sup>,也有与其他药材指标成分的同时测定<sup>[8-9]</sup>,但尚未见其在生物体内情况的研究,也未见生物基质中测定方法的报道。笔者首

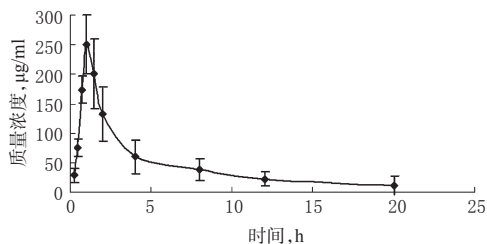


图2 木兰脂素药-时曲线( $n=8$ )

Fig 2 Concentration time curve of magnolin( $n=8$ )

表2 木兰脂素在大鼠体内的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of magnolin in rats( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

参数	测得值
$c_{max}$ , mg/ml	250.88 ± 49.67
$t_{max}$ , h	1.0 ± 0.18
$t_{1/2\alpha}$ , h	0.48 ± 0.22
$t_{1/2\beta}$ , h	7.96 ± 2.57
$V_d/F$ , L/kg	0.012 ± 0.008
$CL/F$ , L/(h·kg)	0.09 ± 0.032
$AUC_{0-20h}$ , mg·h/L	944.43 ± 212.83
$AUC_{0-\infty}$ , mg·h/L	1 064.42 ± 334.18

先取木兰脂素对照品甲醇溶液适量,在200~400 nm波长范围内扫描,结果显示木兰脂素在278 nm波长处有最大吸收,故此波长作为检测波长。结合文献研究及方法学验证,最终确定了本研究的血药浓度高效液相测定方法,其血浆样品处理方法简单,分离效果较好,专属性强<sup>[10]</sup>。以辛夷药材中木兰脂素高纯度提取物为研究对象,单剂量ig给予大鼠,考察其在大鼠体内的过程,初步阐明其在大鼠体内的药动学情况。结果显示,木兰脂素在大鼠体内过程符合二室模型,约1.0 h达峰,

吸收较快; $t_{1/2\beta}$ 为(7.96 ± 2.57) h,消除较慢; $V_d/F$ 为(0.012 ± 0.008) L/kg。本研究结果充实了木兰脂素动物药动学研究,也为进一步研究开发辛夷制剂奠定了良好的药动学基础。

### 参考文献

- [1] 谷永红,刘志芳.关于辛夷化学成分和药理作用的综述[J].内蒙古中医药,2014,33(25):122.
- [2] 王永慧,叶方,张秀华.辛夷药理作用和临床应用研究进展[J].中国医药导报,2012,9(16):12.
- [3] 李小莉,张永忠.木兰脂素抗炎、抗过敏作用的实验研究[J].中草药,2002,33(11):1 014.
- [4] 黄川锋,李玲,夏西超,等.辛夷对酒精性肝损伤小鼠氧化应激和CD14、TNF- $\alpha$  mRNA表达的影响[J].中药药理与临床,2014,30(3):95.
- [5] 孙蓉,钱晓路,吕莉莉.辛夷不同组分抗过敏作用活性比较研究[J].中国药物警戒,2013,10(2):71.
- [6] 伍娟.反相高效液相色谱法测定利鼻片中木兰脂素含量[J].中国药业,2011,20(21):22.
- [7] 夏清山. HPLC测定鼻炎片中木兰脂素的含量[J].鄂州大学学报,2010,17(5):18.
- [8] 胡海聪,于珊珊,张晓静,等. HPLC法测定清肺止咳颗粒中木兰脂素、秦皮甲素、秦皮乙素的含量[J].药物分析杂志,2013,33(5):866.
- [9] 刘灵改,支旭然,任非,等. HPLC同时测定防芷鼻咽颗粒中的丹皮酚和木兰脂素[J].华西药学杂志,2014,29(3):311.
- [10] 张红,陈军.从中草药化学成分中开发天然防晒剂的可能性分析[J].中国药房,2010,21(39):3 741.

(收稿日期:2014-12-25 修回日期:2015-02-11)

(编辑:张 静)

## 警惕甲氧氯普胺引起的锥体外系反应

**本刊讯** 甲氧氯普胺是一种多巴胺受体拮抗药,可直接作用于延髓催吐化学感受区,同时还具有五羟色胺3(5-HT<sub>3</sub>)受体拮抗药特性,其适应证包括慢性胃炎、胃下垂以及功能消化不良等引起的腹胀、腹痛、暖气;胃排空延缓以及糖尿病性胃排空障碍;以及手术、化疗、外伤、颅脑损伤等引起的恶心和呕吐等。目前,我国批准的甲氧氯普胺制剂包括片剂、口服液、注射剂、栓剂等。

2014年国家药品不良反应监测数据库共收到甲氧氯普胺不良反应报告1 178例,包括严重不良反应报告86例(7.3%),共涉及不良反应表现1 632例次,其中中枢及外周神经系统损害占31.6%,精神紊乱占15.6%。

### 1 甲氧氯普胺引起的锥体外系反应

1.1 锥体外系反应是甲氧氯普胺常见的不良反应,常见的症状包括局部僵硬、肌肉不随意收缩、抽搐、震颤等,大多数不良反应在用药1 d内出现,大剂量用药、静脉给药速度过快、长期用药等均易诱发锥体外系反应。

1.2 迟发性运动障碍又称迟发型多动症,是一种不可逆的锥体外系反应,长期使用甲氧氯普胺的患者可能出现迟发性运动障碍。该不良反应的发生率较低,多见于长期(1年以上)接受多巴胺受体拮抗药治疗的患者,在减量或停药后最容易发

生。迟发性运动障碍主要表现为某一肌群的不自愿的节律性重复运动,包括口-舌-颊三联症,肢体不自愿的重复运动或抽动,以及躯干肌运动不协调等。国外药品监督管理部门近年对甲氧氯普胺可能引起迟发性运动障碍反复进行警示,国家药品不良反应监测数据库及文献中疑似病例非常少,未见典型病例,但鉴于此不良反应不可逆,且对患者生活质量造成影响,故需引起重视。

1.3 国家药品不良反应监测数据库及文献报道中,儿童使用甲氧氯普胺后出现神经系统不良反应(如锥体外系反应)的构成比显著高于成年人。

### 2 建议

2.1 医务人员应及时告知患者可能出现的不良反应,密切观察用药后的临床表现,如出现局部僵硬、肌肉不随意收缩、抽搐、震颤等症状时,应及时就医。

2.2 儿童及老年人应谨慎使用甲氧氯普胺,并密切监测锥体外系反应。处方中应注意用药剂量,连续用药时间不宜过长。

2.3 药品生产企业应当加强药品不良反应监测,及时更新相关的用药风险信息如不良反应、注意事项等,以有效的方式将甲氧氯普胺的风险告知医务人员和患者,加大合理用药宣传,最大程度保障患者的用药安全。