

·药代动力学研究·

龙柴方总萜部位中熊果酸、齐墩果酸在大鼠体内的药动学研究

裴 丹¹, 欧阳臻¹, 赵 明^{1,2}, 曹 旭¹, 刘月琴¹ (1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏大学附属医院, 江苏 镇江 212013)

摘要: **目的** 建立大鼠灌胃龙柴方总萜有效部位后血浆中熊果酸、齐墩果酸的 HPLC 测定方法, 并研究其药动学。**方法** 大鼠灌胃龙柴方总萜有效部位(2 g·kg⁻¹)后, 不同时间点眼眶后静脉丛取血, 制备血浆, 血浆样品经甲醇沉淀蛋白, HPLC-UV 测定血浆浓度。色谱柱: Kromasil-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.04 %磷酸水溶液(88:12); 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长: 220 nm; 柱温: 35 ℃; 进样量: 20 μL。熊果酸、齐墩果酸血药浓度-时间数据用药动力学软件 3P97 处理。**结果** 熊果酸和齐墩果酸的线性范围分别为 7.40~111.0, 7.07~106.05 mg·L⁻¹, 定量下限分别为 1.04, 1.60 mg·L⁻¹, 日内、日间精密度(RSD)均小于 10 %, 方法回收率分别为 93.5 %~100.6 %和 95.3 %~98.6 %, 提取回收率分别为 73.54 %~74.36 %和 73.75 %~75.21 %。熊果酸、齐墩果酸在大鼠体内的血药浓度-时间过程均符合二房室模型, 其中熊果酸 $K_a=(6.26\pm1.22) \text{ h}^{-1}$, $AUC=(1482.58\pm18.37) \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_{\max}=(61.54\pm4.92) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $T_{\max}=(0.50\pm0.00) \text{ h}$; 齐墩果酸 $K_a=(7.22\pm1.71) \text{ h}^{-1}$, $AUC=(419.40\pm8.35) \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, $C_{\max}=(49.09\pm3.92) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $T_{\max}=(0.50\pm0.00) \text{ h}$ 。**结论** 该法准确可靠, 专属性强, 适用于熊果酸及齐墩果酸在大鼠体内的血药浓度测定及药代动力学研究。大鼠灌胃龙柴方总萜有效部位后血浆中熊果酸和齐墩果酸的质量浓度存在双峰现象, 熊果酸的 2 次吸收稍好于齐墩果酸。

关键词: 龙柴方; 总萜; 熊果酸; 齐墩果酸; 高效液相色谱法; 药物动力学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0267-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.016

Pharmacokinetics Studies on Ursolic Acid and Oleanolic Acid from Total Terpenes of *Longchai* Recipe in Rats

PEI Dan¹, OUYANG Zhen¹, ZHAO Ming^{1,2}, CAO Xu¹, LIU Yueqin¹ (1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013 Jiangsu, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212013 Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To develop a HPLC method with ultraviolet detection for simultaneous determination of ursolic acid and oleanolic acid in rat plasma after intragastric infusion of total terpenes of *Longchai* Recipe, and to study the pharmacokinetics of ursolic acid and oleanolic acid. **Methods** The rats were orally treated with 2 g·kg⁻¹ total terpenes from *Longchai* Recipe, and then the plasma samples were collected at different time points from the venous plexus of ocular fundus. The plasma concentrations of ursolic acid and oleanolic acid were analyzed by high performance liquid chromatography after protein precipitation with methanol. The analytes were separated on a Kromasil-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) using methanol-0.04 % phosphoric acid (40:60, V/V) as a mobile phase at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 220 nm, the column temperature was 35 ℃, Sample volume was 20 μL. The pharmacokinetic parameters were calculated by the software of 3P97. **Results** A good linear relationship of ursolic acid was obtained in the range of 7.40 to 111.0 mg·L⁻¹, and the limit of quantitation was 1.04 mg·L⁻¹. A good linear

收稿日期: 2012-12-13

作者简介: 裴丹, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药活性成分研究与新药研发。Email: vickypeidan@sina.com。通讯作者: 欧阳臻, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药活性成分研究与新药研发。Email: zhenouyang@ujs.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(810729851H2801); 江苏省“科技基础实施建设计划”专项资助项目(BM2009903, BM2009903-KF22); 2010 年江苏省高等学校大学生实践创新训练计划立项项目(529)。

relationship of oleanolic acid was obtained in the range of 7.07 to 106.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and the limit of quantitation was 1.60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The intra-day and inter-day precision of this method was both less than 10 %. For ursolic acid and oleanolic acid, the method recoveries ranged from 93.5 % to 100.6 %, 95.3 % to 98.6 %, and the extraction recoveries ranged from 73.54 % to 74.36 %, 73.75 % to 75.21 %, respectively. The plasma ursolic acid and oleanolic acid concentration-time curve could be evaluated by two-compartment model. The main pharmacokinetic parameters of K_a , AUC, $C_{\max}$, $T_{\max}$ were $6.26 \pm 1.22 \text{ h}^{-1}$, $1482.58 \pm 18.37 \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, $61.54 \pm 4.92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.50 \pm 0.00 \text{ h}$ for the ursolic acid, and were $7.22 \pm 1.71 \text{ h}^{-1}$, $419.40 \pm 8.35 \text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, $49.09 \pm 3.92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.50 \pm 0.00 \text{ h}$ for oleanolic acid. **Conclusion** The method has been successfully applied to the determination of ursolic acid and oleanolic acid in rat plasma. Plasma concentration-time curves of ursolic acid and oleanolic acid show the existence of double peaks after intragastric administration of total terpenes of *Lonchai* Recipe. The second absorption of ursolic acid is better than that of oleanolic acid.

Keywords: *Lonchai* Recipe; Total terpene; Ursolic acid; Oleanolic acid; High pressure liquid chromatography; Pharmacokinetics

龙柴方由柴胡、黄芩、山栀、龙葵、白花蛇舌草、垂盆草、女贞子、甘草组成,是江苏省名中医、南京中医药大学博士生导师金实教授治疗慢性乙型肝炎的经验方,具有清热解毒、清热燥湿、清肝泻火、疏肝理气解郁、益气补中、健脾化湿、补肾养肝之功效^[1],目前该方一直以汤剂在应用,有效部位不明确。本研究室前期以抗肝炎药效的相关指标,已筛选出龙柴方有效部位群,并明确其主要化学组分^[2]。熊果酸(ursolic acid)和齐墩果酸(oleanolic acid)为方中两个主要的药效成分,二者属五环三萜类化合物,均具有明显的抗肝炎、护肝降酶、防止肝硬化等作用^[3-6]。目前国内外对熊果酸、齐墩果酸相关的药动学研究相对较少,且在化学上二者属于同分异构体,但二者的药动学特点有何差异,也未见资料报道^[7]。本实验建立了 HPLC 同时测定灌胃龙柴方总萜有效部位后大鼠血浆中熊果酸、齐墩果酸浓度的方法,并对龙柴方总萜有效部位中熊果酸和齐墩果酸在大鼠体内的药动学进行了初步研究,分析二者药动学参数的特点,揭示二者在体内的吸收代谢特征,为龙柴方剂型改进及临床合理用药提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 JASCO LC-1500 高效液相色谱仪,日本分光工业株式会社,配有 JASCO FP21520 智能荧光检测器、JASCO PU21580 泵、JASCO DG21580254 四通道脱气器、JASCO LG21580204 四通道梯度器、JASCO CO21560 柱恒温箱;N2000 双通道色谱工作站,浙江大学智能信息工程研究所;METTLERAE240 分析天平,上海托利多-梅特勒仪器有限公司;Sigma 高速离心机,美国 Sigma 公司;微量移液器,Thermo

Electron 公司;SK-1 快速混匀器,江苏中大仪器厂。

1.2 药物及试剂 熊果酸对照品(批号:110742-200314)、齐墩果酸对照品(批号:110709-200304),中国药品生物制品检定所;龙柴方总萜类有效部位提取物,实验室自制,其中含熊果酸 9.4 %,齐墩果酸 8.7 %;肝素钠注射液,江苏万邦生化医药股份有限公司,批号:0910112;甲醇,江苏汉邦科技有限公司,色谱纯。

1.3 动物 清洁级 SD 雄性大鼠,体质量(250 ± 20) g,江苏大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(苏)2009-0002。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil- C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.04 %磷酸(88:12);检测波长:220 nm;流速:0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μL 。

2.2 对照品溶液的配制 取熊果酸、齐墩果酸适量,精密称定,用甲醇溶解,制得熊果酸($1.11 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和齐墩果酸($1.06 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的混合对照品溶液,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。临用前用甲醇稀释至适当浓度。

2.3 血浆样品的采集及处理 5 只 SD 大鼠正常饲养 3 d,给药前禁食 12 h,实验过程中自由饮水。按照 2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量给予龙柴方总萜类有效部位提取物,提取物用 0.5 %羧甲基纤维素钠制成混悬液灌服,于给药前及给药后 0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 h 于眼眶后静脉丛取血 0.3 mL,置肝素化的离心管中,10000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血浆,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。精密吸取血浆 0.1 mL,加 0.2 mL 甲醇沉淀蛋白,涡流振荡 1 min,10000

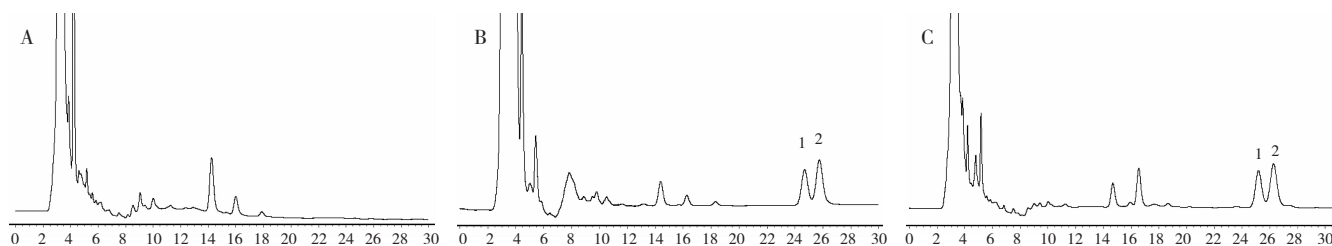
$r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜滤过, 取 $20 \mu\text{L}$ 进样分析。

2.4 数据处理 数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 血浆中熊果酸和齐墩果酸的峰浓度 (C_{max}) 及达峰时间 (T_{max}) 由实测数据直接得出, 其他药动学参数由 3P97 软件处理获得。

2.5 分析方法验证

2.5.1 方法专属性 按 2.3 血浆样品的采集及处理项

下操作, 得空白血浆样品、空白血浆 + 熊果酸、齐墩果酸混合对照品以及灌胃龙柴方总萜类有效部位后大鼠血浆样品的色谱图, 见图 1。在上述色谱条件下, 熊果酸和齐墩果酸能同时被检测到, 保留时间分别为 26.082, 25.015 min, 且两者分离度较好, 检测物峰形良好, 与大鼠的内源性物质达到完全分离, 血浆中的内源性成分不干扰熊果酸和齐墩果酸的测定。



A. 空白血浆样品; B. 空白血浆 + 熊果酸、齐墩果酸混合对照品; C. 给药后 0.5 h 血浆样品; 1. 齐墩果酸; 2. 熊果酸

图 1 灌胃龙柴方总萜类有效部位后大鼠血浆样品 HPLC 色谱图

Figure 1 The representative HPLC chromatograms of ursolic acid and oleanolic acid in rat plasma

2.5.2 标准曲线及线性范围 取大鼠空白血浆 0.1 mL , 精密加入 $10 \mu\text{L}$ 不同浓度的混合对照品溶液, 使其分别含熊果酸 7.40, 14.8, 37.0, 59.2, $74.0, 111.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 含齐墩果酸 7.07, 14.14, 35.35, 56.56, 70.7, $106.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 按血浆样品的处理方法操作, 并进行色谱分析, 以峰面积 Y 对血药浓度 X ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 进行线性回归, 得到熊果酸回归方程为 $Y=1209X+494.96$ ($r=0.9994, n=6$); 齐墩果酸的回归方程为 $Y=1347.5X-611.86$ ($r=0.9996, n=6$)。结果表明熊果酸在 $7.40 \sim 111.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 齐墩果酸在 $7.07 \sim 106.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 熊果酸和齐墩果酸定量下限 (LLOQ) 分别为 1.04, $1.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5.3 精密度和回收率 按 2.5.2 项下操作制备熊果酸 12.4, 24.8, $49.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和齐墩果酸 10.8, 21.6, $43.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质控样品, 用当天的标准曲线测定质控样品的质量浓度, 每个质量浓度 5 个样本, 连续测定 5 d, 计算方法的精密度和回收率, 得熊果酸的日内精密度 (RSD) 分别为 3.14 %、3.69 %、3.07 %, 日间精密度 (RSD) 分别为 4.56 %、5.24 %、5.17 %, 回收率分别为 93.5 %、100.6 %、96.8 %; 齐墩果酸的日内精密度 (RSD) 分别为 5.37 %、6.59 %、5.94 %, 日间精密度 (RSD) 分别为 5.56 %、7.24 %、6.17 %, 回收率分别为 95.3 %、98.6 %、96.2 %。

2.5.4 提取回收率 按 2.5.2 项下制备熊果酸 12.4, 24.8, $49.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和齐墩果酸 10.8, 21.6, $43.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 质控样品, 按血浆样品的处理项下操作, 进样 $20 \mu\text{L}$,

测得样品峰面积分别为 A_1 , 每个质量浓度 5 个样本; 另取甲醇 0.1 mL , 加入 $10 \mu\text{L}$ 熊果酸和齐墩果酸各 3 种不同质量浓度的标准工作液, 使其质量浓度与质控样品相同, 按血浆样品的处理项下操作, 进样 $20 \mu\text{L}$, 测得样品峰面积分别为 A_2 , 每个质量浓度 5 个样本。从而求得血浆中熊果酸和齐墩果酸的提取回收率 (A_1 / A_2)。结果熊果酸的提取回收率分别为 74.36 %、76.17 %、73.54 %, 齐墩果酸的提取回收率分别为 73.75 %、75.21 %、74.06 %, 表明两者的回收率良好。

2.5.5 稳定性考察 依法制备质控样品, 每个质量浓度 5 个样本, 经预处理后考察室温放置稳定性、临时储存稳定性及长期储存稳定性。结果表明, 血浆样品预处理后室温放置 8 h 稳定; 样品经 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存 24 h 保持稳定; 样品在 $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰冻保存 1 周稳定。以上 3 种条件的相对误差 RE 均在 $\pm 10 \%$ 之内, $\text{RSD} < 10 \%$ 。

2.6 药动学研究 血药浓度 - 时间数据用 3P97 药动学程序拟合处理, 结果表明龙柴方总萜类有效部位中熊果酸和齐墩果酸在大鼠体内的药动学过程均符合二房室模型, 其平均血药浓度 - 时间曲线见图 2, 主要药动学参数见表 1。

3 讨论

齐墩果酸与熊果酸均属三萜类化合物, 结构相似, 两者极性几乎无差别。参考有关文献^[8-9]及预试

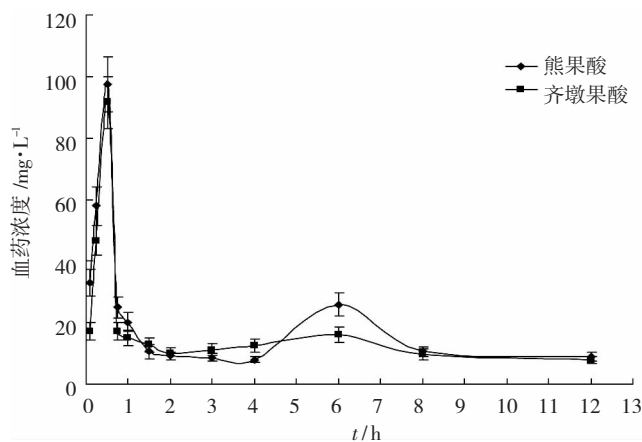


图2 大鼠灌服龙柴方总萜后熊果酸、齐墩果酸的体内药-时曲线($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Figure 2 Mean plasma concentration-time curve of ursolic acid and oleanolic acid after intragastric administration of total terpene of Longchai Recipe in rats

表1 灌胃龙柴方总萜后大鼠血浆中熊果酸和齐墩果酸的药动学参数($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Plasma pharmacokinetic parameters of ursolic acid and oleanolic acid after intragastric administration of total terpene of Longchai Recipe in rats

参数	熊果酸	齐墩果酸
K_a/h^{-1}	6.26 ± 1.22	7.22 ± 1.71
α/h^{-1}	3.13 ± 0.71	4.84 ± 0.74
β/h^{-1}	0.006 ± 0.003	0.03 ± 0.00
$t_{1/2\alpha}/h^{-1}$	0.22 ± 0.10	0.14 ± 0.02
$t_{1/2\beta}/h^{-1}$	114 ± 8.30	22.34 ± 4.71
$t_{1/2K_a}/h^{-1}$	0.11 ± 0.04	0.10 ± 0.01
K_{21}/h^{-1}	0.24 ± 0.06	0.61 ± 0.08
K_{10}/h^{-1}	0.08 ± 0.00	0.25 ± 0.03
K_{12}/h^{-1}	2.81 ± 0.74	4.02 ± 1.14
$AUC/mg \cdot h \cdot L^{-1}$	1482.58 ± 28.37	419.40 ± 10.35
T_{max}/h^{-1}	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00
$C_{min}/mg \cdot L^{-1}$	97.50 ± 8.97	91.53 ± 8.29

验, 选定甲醇-0.04 %磷酸(88 : 12)为流动相, 在该条件下, 熊果酸和齐墩果酸具有较强的色谱峰和较好的分离度, 血浆中杂质峰和代谢物峰对样品的测定无干扰, 基线噪音小。

本实验采用甲醇沉淀蛋白后直接进样, 复方中其他活性成分及血浆中内源性物质对测定没有干扰, 此法简单易行, 准确度高, 适用于龙柴方萜类部位中熊果酸、齐墩果酸在大鼠体内的药动学研究。

采用 3P97 药动学软件处理计算所得的熊果酸、齐墩果酸血药浓度数据, 拟合药动学房室模型, 计算药动学参数, 根据 AIC 最小作为判断指标, 大鼠灌胃龙柴方总萜有效部位后熊果酸、齐墩果酸在体

内过程均符合二房室模型。由药动学参数可知, 熊果酸、齐墩果酸在胃肠道均能较快地吸收入血, 熊果酸 $K_a = (7.22 \pm 1.71) h^{-1}$ 、齐墩果酸 $K_a = (6.26 \pm 1.22) h^{-1}$, 灌胃龙柴方总萜有效部位后 0.5 h, 二者的血药浓度均达峰值, 说明二者进入大鼠体循环后迅速分布, 药效发挥迅速, 熊果酸 $\alpha = (3.13 \pm 0.71) h^{-1}$ 、齐墩果酸 $\alpha = (4.84 \pm 0.74) h^{-1}$ 。随后缓慢从体内消除, 熊果酸 $t_{1/2\beta} = (114 \pm 8.30) h$, 齐墩果酸 $t_{1/2\beta} = (22.34 \pm 4.71) h$, 齐墩果酸较熊果酸消除快。

熊果酸、齐墩果酸的药动学研究报道均较少, 仅有的几篇文献的研究结果为一室模型, 或非房室模型, 而且均为二者单一成分的报道^[10-13]。本实验首次同时测定了复方制剂中熊果酸、齐墩果酸的血药浓度, 并对二者药动学进行初步研究, 研究结果表明龙柴方总萜部位中熊果酸、齐墩果酸的体内药动学过程均符合二房室模型, 吸收迅速, 体内分布快, 表观容积大, 消除缓慢, 血中药物浓度长时间保持低水平。另外, 本实验发现熊果酸、齐墩果酸的药-时曲线出现了双峰现象, 且均在 0.5 h 迅速出现第一个峰, 4~8 h 出现第二个峰, 但熊果酸的二次吸收稍强于齐墩果酸。双峰现象一方面可能由于灌胃的有效部位为中药复方提取物, 复方中的中药配伍对熊果酸、齐墩果酸的吸收有一定的影响, 另一方面可能为熊果酸、齐墩果酸二者的相互作用, 其具体机制有待进一步研究。

本实验建立的方法具有较高的准确度、灵敏度和专属性, 适合熊果酸、齐墩果酸的体内分析及药动学研究, 研究结果为龙柴方剂型改进及临床给药方案的设计和优化提供了实验依据。

参考文献:

[1] 吴晓燕, 朱方石. 龙柴汤对慢性乙型肝炎疗效机制的理论探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(6): 469-470.

[2] 裴丹, 赵明, 欧阳臻, 等. 龙柴方中黄芩、垂盆草总黄酮的提取纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 59-63.

[3] Mandal V, Subhash C. Design and performance evaluation of a microwave based low carbon yielding extraction technique for naturally occurring bioactive triterpenoid: Oleanolic acid[J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 50(1-2): 63-70.

[4] 王鹏, 张忠义, 吴忠. 熊果酸在药用植物中的分布及药理作用[J]. 中药材, 2000, 23(11): 717-722.

[5] 熊筱娟, 陈蔚云, 崔江龙, 等. 乌索酸对动物实验性肝损伤及胆汁的影响[J]. 中药材, 2003, 6(8): 578-580.

[6] Wang X, Ye XL, Liu R, et al. Antioxidant activities of oleanolic acid in vitro: Possible role of Nrf2 and MAP kinases[J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 184(3): 328-337.

- [7] 席佳, 唐海谊, 郑颖. 齐墩果酸口服制剂及其体内药动学研究进展[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(6): 507-515.
- [8] 徐君, 吴连花, 徐文芬, 等. HPLC 法测定对坐叶药材中齐墩果酸和熊果酸[J]. 中成药, 2012, 34(4): 766-767.
- [9] 郑茂, 范博, 丁红. 高效液相色谱法测定不同产地白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的含量[J]. 中国药物与临床, 2010, 10(3): 261-263.
- [10] Jeong DW, Kim YH, Kim HH, et al. Dose-linear pharmacokinetics of oleanolic acid after intravenous and oral administration in rats[J]. Biopharm Drug Dispos, 2007, 28(2): 51-57.
- [11] 范玉玲, 崔福德, 张静. 齐酞酸钠在大鼠肠道吸收动力学研究[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(9): 1147-1150.
- [12] 王敏, 石晓滢, 霍继明, 等. 扶正口服液在家兔体内的代谢动力学研究[J]. 中国微生态学杂志, 2000, 12(5): 280.
- [13] 谢珺, 温明, 刘建明. 齐墩果酸口服自微乳在大鼠体内的药动学研究[J]. 中成药, 2012, 34(2): 257-260.
- (编辑: 梁进权)

吴茱萸碱和吴茱萸次碱血浆蛋白结合率的测定

雷小娟, 王 森, 朱卫丰(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要: 目的 建立兔血浆中吴茱萸碱和吴茱萸次碱浓度的测定方法, 测定吴茱萸碱和吴茱萸次碱的血浆蛋白结合率。**方法** 采用平衡透析法测定吴茱萸碱和吴茱萸次碱血浆蛋白结合率, 利用 HPLC 测定血浆中吴茱萸碱和吴茱萸次碱浓度。**结果** 吴茱萸碱在 0.208, 1.04, 2.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下的血浆蛋白结合率分别为 $(38.5\pm 1.7)\%$ 、 $(36.4\pm 1.0)\%$ 、 $(39.0\pm 1.0)\%$, 吴茱萸次碱在 0.235, 1.18, 2.345 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下的血浆蛋白结合率分别为 $(40.6\pm 3.2)\%$ 、 $(39.3\pm 4.5)\%$ 、 $(41.5\pm 1.2)\%$, 吴茱萸碱和吴茱萸次碱的浓度对血浆蛋白结合率无显著影响。**结论** 吴茱萸碱和吴茱萸次碱与兔血浆蛋白具有较低等强度的结合。

关键词: 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 血浆蛋白结合率; 平衡透析法

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0271-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.03.017

Determination of Plasma Protein Binding Rate of Evodiamine and Rutaecarpine

LEI Xiaojuan, WANG Sen, ZHU Weifeng (Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Materia, Ministry of Education, Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: Objective To establish an analytical method for evodiamine and rutaecarpine concentration in rabbit plasma, and to determine the plasma protein binding rate of evodiamine and rutaecarpine. **Methods** The equilibrium dialysis method was adopted to determine evodiamine and rutaecarpine concentration in plasma, and HPLC was used to calculate rabbit plasma protein binding rate of evodiamine and rutaecarpine. **Results** The protein binding rate of evodiamine was $(38.5 \pm 1.7)\%$, $(36.4 \pm 1.0)\%$, $(39.0 \pm 1.0)\%$ when the plasma concentration of evodiamine was 0.208, 1.04, 2.08 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, and the protein binding rate of rutaecarpine was $(40.6 \pm 3.2)\%$, $(39.3 \pm 4.5)\%$, $(41.5 \pm 1.2)\%$ when the plasma rutaecarpine concentration was 0.235, 1.18, 2.345 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. The binding rates of evodiamine and rutaecarpine were not correlated with the plasma concentration. **Conclusion** Evodiamine and rutaecarpine have a lower protein binding rates with rabbits plasma.

Keywords: Evodiamine; Rutaecarpine; Plasma protein binding rate; Equilibrium dialysis method

收稿日期: 2012-11-16

作者简介: 雷小娟, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药外用制剂。Email: leixiaojuan85@126.com。通讯作者: 朱卫丰, 教授, 研究方向: 中药经皮给药新剂型新技术研究。Email: zwf0322@126.com。

基金项目: 江西省科技支撑计划项目(2010JX00095); 南昌市科技支撑计划项目(2010-KJZCJH-YYYYLQX-108); 江西省研究生创新专项资金项目(YC2011-S111)。