



雷公藤微乳凝胶中雷公藤甲素的药物动力学研究

管咏梅, 严志宏, 陈丽华, 王森, 赵益, 朱卫丰*, 杨明

(现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立雷公藤甲素在大鼠体内血药浓度的测定方法, 研究雷公藤微乳凝胶经皮给药系统中雷公藤甲素的药代动力学过程。方法: 以雷公藤片剂为对照, 采用 LC-MS/MS 测定不同给药途径给药后, 雷公藤甲素的血药浓度, 采用药动学软件 DAS 处理得药动学参数。结果: 雷公藤甲素在 1~200 ng 呈良好的线性关系 ($r = 0.9967$), 最低检测限为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 该雷公藤甲素属一级动力学过程, 雷公藤微乳凝胶中雷公藤甲素的主要药动学参数为: $t_{1/2}$ 为 $(2.4 \pm 3.00) \text{ h}$, t_{max} $(6.7 \pm 1.63) \text{ h}$, C_{max} $(82.9 \pm 17.63) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 与片剂比较, 微乳凝胶达峰时间较长, 但可维持较长时间平稳的血药浓度; 微乳凝胶和片剂的 AUC_{0-t} 分别为 (2595.3 ± 551.15) , $(209.9 \pm 25.34) \text{ h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 二者有极显著差异 ($P < 0.01$)。结论: 雷公藤经皮给药后, 能在大鼠体内快速吸收, 血药浓度平稳持久, 雷公藤经皮给药具有合理性。

[关键词] 微乳凝胶; 雷公藤甲素; 药代学; 液相色谱-质谱/质谱联用

雷公藤 *Tripterygium wifordii* 为卫矛科 *Celastraceae* 雷公藤属木质藤本植物, 在治疗类风湿性关节炎、银屑病等自身免疫性疾病方面的疗效良好, 目前治疗类风湿性关节炎的上市品种主要为口服制剂, 但口服制剂的血药浓度波动较大, 毒性作用严重。经皮给药系统可以使药物缓慢释放, 保持一个稳态的血药浓度。文献报道^[1-2], 雷公藤透皮给药治疗类风湿性关节炎毒副作用较小。本文将雷公藤提取物制成经皮给药系统——雷公藤微乳凝胶, 建立了经皮给药后大鼠体内雷公藤甲素血药浓度的 LC-MS/MS 测定方法, 测定经皮给药及口服给药后雷公藤甲素的血药浓度, 并计算相应的药代动力学参数, 为雷公藤经皮给药系统的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠 36 只, 雌雄各半, 体重 180~220 g 清洁级, 由江西中医学院实验动物研究中心提供, 合格证号 SCXK(赣)2005-0001。

1.2 试剂与药品

色谱纯乙腈、甲醇 (Merck 公司); 雷公藤多苷片 (上海复旦华兴药业有限公司, 批号 070302); 雷公藤微乳凝胶 (自制, 批号 070912); 雷公藤甲素 (中国药品生物制品检定所, 批号 111567-200502); 其余试剂均为分析级 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 仪器

Agilent1200-6410 高效液相色谱-三重四极杆质谱检测仪, 包括四元泵、在线真空脱气机、柱温箱、自动进样器及大气压化学电离源 (APCI) 和电喷雾电离源 (ESI) (美国 Agilent 公司)。

2 方法

2.1 血浆中雷公藤甲素浓度的 LC-MS/MS 检测方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Agilent XDB-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm, Agilent Technologies, USA)。预柱: Eclipse XDB-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 12.5 mm, 5 μm, Agilent Technologies, USA)。流动相 甲醇-水 (70:30); 流速 $0.25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 35 °C; 进样量 20.0 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源为 ESI 源, 离子化模式为负离子; 扫描范围 (m/z) 200~500; 毛细管电压 3.5 kV; 毛细管出口电压 -130 V; 干燥温度 325 °C; 干燥气流速 $5.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 雾化温度 425 °C; 喷雾器压力 60.0 Pa 延迟时间 200 ms 扫描方式选择性离子反应检测 (SM); 离子质荷比: 定量离子 m/z [M -

[稿件编号] 20100401003

[基金项目] 国家“重大新药创制项目”科技重大专项 (2008ZX09310-005); 江西省教育厅科学技术研究平台建设项目 (赣教技字 [2005] 02); 2008 年江西省卫生厅课题 (2008A067)

[通信作者] * 朱卫丰, 博士, 教授, 研究方向为中药新剂型研究, Td: (0791)7119011, E-mail: zwf.lady@163.com

[作者简介] 管咏梅, 博士, 讲师, 从事中药新剂型与新技术研究, E-mail: guanym2008@163.com



$\text{H}]^- 359.1 \rightarrow m/z [\text{M} - \text{CH}_3\text{COO}]^- 241$, 定性离子 m/z^- , 283.

2.2 对照品溶液的配制

取雷公藤甲素对照品 10.0 mg 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 加入少量的 50% 甲醇-水溶解, 并定容至刻度, 为对照品储备液, 备用; 用移液器准确吸取 100 μL 雷公藤甲素对照品储备液于 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 备用。

2.3 血浆样品的采集与处理

2.3.1 经皮给药方案及血样采集

SD 大鼠 36 只, 分别于实验室饲养 3 d 以适应本实验室环境, 试验前 1 d 小心剪去背部皮肤毛 (5 cm \times 5 cm), 注意不要损伤皮肤, 禁食 1 夜, 自由饮水。按一定剂量经皮给药, 将凝胶用棉签轻涂于老鼠皮肤上, 并于给药前及涂药后 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 h 每个时间点每组取 6 只动物, 分别于眼眶静脉丛取血约 0.4 mL, 置于肝素化试管中, 3 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取上层血浆, 于 -20°C 保存待测。

2.3.2 口服给药方案及血样采集

SD 大鼠 36 只, 分别于实验室饲养 3 d 以适应本实验室环境, 试验前 1 d 禁食 1 夜, 自由饮水。按一定剂量口服给药, 并于给药前及涂药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 h 每个时间点每组取 6 只动物, 分别于眼眶静脉丛取血约 0.3 mL, 置于肝素化试管中, 立即 3 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取上层血浆, 于 -20°C 保存待测。

2.3.3 血浆样品的制备与测定

在 5 mL 离心管中, 准确加入 1.0 mL 大鼠血浆, 加入乙酸乙酯适量, 涡旋振荡 3 min, 静置 10 min, 离心 10 min (4 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液于玻璃试管中, 于 40°C 水浴下用氮气吹干, 残渣用 200 μL 50% 甲醇-水溶解, 涡旋 1 min, 15 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 吸取样品液 20 μL 进样, 记录色谱峰并计算结果。

2.4 数据统计

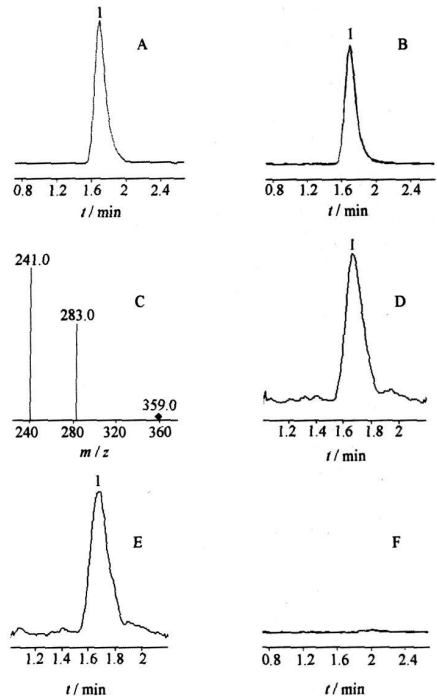
数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 DAS2.0 药物动力学程序计算。

3 结果

3.1 系统适用性

雷公藤甲素对照品溶液、大鼠给药后血浆样品、空白血浆加对照品、空白血浆的色谱图见图 1。结果表明, 在上述色谱和质谱条件下, 内源性物质不干

扰测定。



A. 对照品色谱图; B. 雷公藤甲素定量及定性粒子色谱峰;
C. 雷公藤甲素质谱图; D. 血浆样品色谱图; E. 空白血浆加对照品色谱图; F. 空白血浆样品色谱图; 1. 雷公藤甲素。

图 1 典型色谱图

3.2 线性试验

精密吸取空白血浆 0.2 mL 置 5 mL 离心管中, 分别加入不同浓度的雷公藤甲素系列溶液各 200 μL , 使血浆中药物分别为 1, 2, 5, 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 按 2.3 项下方法操作, 进样测定, 记录色谱图。以峰面积为横坐标, 浓度为纵坐标进行回归, 得回归方程 $A = 198.56C + 1445 (r = 0.9967)$, 表明血浆中雷公藤甲素在 $1 \sim 200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积线性关系良好。以信噪比等于 3 计, 雷公藤甲素的最低检测浓度为 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.3 回收率试验

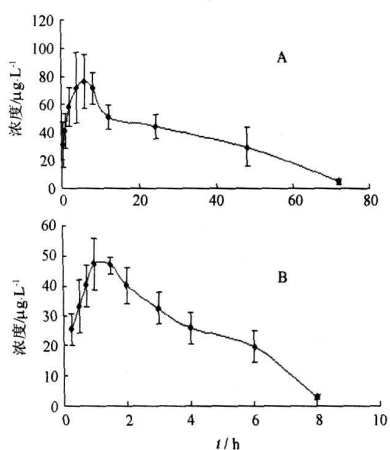
制备雷公藤甲素浓度分别为 1.5, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 各 5 份, 按 2.3 项下方法操作, 进行测定, 记录色谱图。另取相同浓度的雷公藤甲素溶液, 进行测定, 记录色谱图。以两者的比值计算得 3 个浓度血样中雷公藤甲素的提取回收率分别为 82.1%, 78.4%, 81.1%, RSD ($n = 5$) 分别为 3.0%, 4.4%, 2.1%。

3.4 精密度试验

同上制备雷公藤甲素对照品溶液浓度分别为 1.5, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 各 5 份, 按 2.3 项下方法操作, 分别于 1 日内测定 6 次, 连续测定 3 d, 计算得日内 RSD ($n=18$) 和日间 RSD ($n=18$) 分别为 8.21%, 3.9%, 4.3% 和 13.1%, 5.7%, 4.3%。

3.5 药动学研究

雷公藤甲素经皮给药和口服给药的药-时曲线见图 2, 用 DAS2.0 对测定结果进行处理, 主要药动学参数见表 1。



A. 经皮给药; B. 口服给药。

图 2 不同给药途径的雷公藤甲素在大鼠体内的药-时曲线

表 1 主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	经皮给药	口服给药
$t_{1/2}$ /h	2.4 ± 3.00	0.6 ± 0.36
$t_{1/2\alpha}$ /h	18.4 ± 10.25	2.2 ± 1.18
$t_{1/2\beta}$ /h	22.0 ± 3.49	2.63 ± 0.90
t_{max} /h	6.7 ± 1.63	1.08 ± 0.20
MRT /h	23.9 ± 3.35	3.0 ± 0.16
C_{max} / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	82.9 ± 17.63	49.8 ± 4.61
AUC_{0-t} / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	2595.3 ± 551.15 ¹⁾	209.9 ± 25.34

注: 与口服给药比较¹⁾ $P < 0.01$

4 讨论

雷公藤治疗类风湿性关节炎效果显著, 口服制剂的疗效最为明确, 然而其毒性作用十分严重, 使用受到限制^[3,4]。本课题组制备了雷公藤微乳凝胶经皮给药制剂, 并对该制剂进行了体外评价。文献研究表明^[5-6], 雷公藤甲素是雷公藤提取物中的主要有效成分, 但也是有毒成分, 通过对雷公藤甲素在大鼠体内的药动学进行研究, 为临床给药提供依据。

雷公藤微乳凝胶经皮给药及口服给药在大鼠体内均为二室模型, 其中经皮给药与口服给药相比, 雷公藤甲素的达峰时间 (t_{max}) 较长, 达峰浓度 (C_{max}) 较高, 分布半衰期 ($t_{1/2\alpha}$) 较长, 参照 2 种方式给药后的平均药-时曲线可知, 雷公藤微乳凝胶经皮给药后药物浓度的峰谷都不明显, 在 12 h 内血药浓度趋于平稳, 且能维持稳定血药浓度时间较长 (图 3), 能达到持效、长效的目的, 这也是局部给药的优点。

雷公藤外用制剂较口服制剂相比, 达峰浓度及生物利用度均偏高, 其原因为在实验设计中, 考虑到经皮给药的特点, 其给药量较口服给药量大 (为口服给药量的 5 倍); 此外经皮给药途径避免肝脏的首过效应和胃肠道刺激, 使生物利用度得以提高。

[参考文献]

- [1] 戴敏, 刘青云, 赵春. 雷公藤贴膏免疫学、毒理学及临床疗效探讨 [J]. 中成药, 1998, 20(8): 36.
- [2] 邓兆智, 陈伟, 史立, 等. 复方雷公藤涂膜剂治疗类风湿关节炎的对比研究 [J]. 中医杂志, 1998, 39(2): 90.
- [3] 刘昌孝. 实用药物动力学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 383.
- [4] 丁虹, 吴建元, 童静, 等. 雷公藤甲素急性毒性及其机制研究 [J]. 中药材, 2004, 27(2): 115.
- [5] 刘良, 王战勇, 黄光照, 等. 雷公藤甲素亚慢性中度对昆明种小鼠肾脏及睾丸的影响 [J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(3): 214.
- [6] 丁虹, 吴建元, 童静, 等. 雷公藤甲素急性毒性及其机制研究 [J]. 中药材, 2004, 27(2): 115.



Pharmacokinetics of triptolide in *Tripterygium wilfordii* microemulsion gel

GUAN Yongne¹, YAN Zhihong¹, CHEN Lihua¹, ZHU Weifeng^{2*}, YANG Ming¹

(¹Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Objective To establish a method of determining the plasma concentration about the triptolide in rat *in vivo*. And to study the pharmacokinetics of triptolide in transdermal drug delivery system of *Tripterygium wilfordii* microemulsion gel. **Method** The *T. wilfordii* tablet was regarded as the control, the plasma concentration of triptolide was determined by LC-MS/MS after different route of administration, and the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS. **Result** The linear relation of triptolide was excellent within the range of 1-200 ng ($r = 0.9967$). The minimum detectable concentration were $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. It was the first order process. And the pharmacokinetic parameters of triptolide in microemulsion gel was as follow: $t_{1/2}$ (2.4 ± 3.00) h, t_{max} (6.7 ± 1.63) h, C_{max} (82.9 ± 17.63) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. To compare the tablets, the microemulsion gel has a longer peak time and maintain a longer stable plasma concentration. The AUC of tablets and microemulsion gel were (2595.3 ± 551.15) h $\cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and (209.9 ± 25.34) h $\cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and it was a significant differences between the tablet and microemulsion gel ($P < 0.01$). **Conclusion** *T. wilfordii* has rapid absorption in rat *in vivo* and a stable and persistent plasma concentration after transdermal drug delivery. Therefore, it is rationality after transdermal drug delivery.

[Keywords] microemulsion gel; triptolide; pharmacokinetics; LC-MS/MS

doi 10.4268/cjmm20110227

[责任编辑 刘]

第十六届全国药学史本草学术研讨会征文通知

中国药学会药学史专业委员会组织的“第十六届全国药学史本草学术研讨会”定于 2011 年 9 月下旬在成都召开。在此衷心希望得到国内外广大医药学工作者、科学史、社会学等相关学科研究者的广泛关注, 欢迎各相关专业专家学者热情赐稿。同时要求本专业委员会的各位委员积极参与、推荐本专业或相关专业的学术论文。以论文参会代表并可按国家相关规定享受继续教育学分。有关征文的具体事宜通知如下:

一、本次会议的主题:《证类本草》及其作者唐慎微的相关研究。

二、征文范围:

1. 《证类本草》的学术价值、对后世的影响、流传的版本以及作者唐慎微的生平、轶事等相关史学研究。
2. 本草文献学及药学人物研究: 包括对各个时期的历代本草文献及其作者的研究。
3. 药物品种的本草考证研究: 包括中药及各民族用药品种的考证。
4. 药性理论、炮制沿革、临床应用的本草考证研究。
5. 药学史研究: 包括①古代药学史; ②近代药学史(特别是西药的传入及在国内的发展历史); ③中外药物交流史; ④药材生产经营厂店史与名优成药史、地方药事史、药商发展史、药材集散史、药学机构史、药学教育史、单味药药学史; ⑤与医药有关的民俗研究。
6. 民族医药学史研究, 重点是民族医药的史料、古籍文献、用药特点、经典方与民间常用方的整理研究。

三、论文要求: 论文立意要有创新性, 引证资料可靠。字数除特约稿外, 一般在 3000 字以内, 并附 400 字以内的摘要。原则上要求报送电子 Word 文档, 个别无条件者也可报送手写稿。但要求字迹工整清楚。论文入选后, 将统一编印论文集。

四、论文截止日期: 2011 年 7 月 31 日。

五、会议时间地点: 2011 年 9 月下旬, 成都市。

六、联系方式: 纸质文稿请寄北京东直门南小街 16 号, 中国中医科学院中国医史文献研究所, 万芳收(100700)。电子文稿请发至 jind@cpa.org.cn