



# 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  $(2.4 \pm 3.00) \text{h}$ ,  $t_{\text{max}}$   $(6.7 \pm 1.63) \text{h}$ ,  $C_{\text{max}}$   $(82.9 \pm 17.63) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,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  $\text{AUC}_{0-t}$  分别为  $(2595.3 \pm 551.15)$ ,  $(209.9 \pm 25.34) \text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,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 wilfordii* 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<sup>[1-2]</sup>,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-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm, Agilent Technologies, USA)。预柱:Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 12.5 mm, 5 μm, Agilent Technologies, USA)。流动相 甲醇-水(70:30);流速 0.25 mL · min<sup>-1</sup>,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 L · min<sup>-1</sup>;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(SIM);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, Tel: (0791)7119011, E-mail: zwfLady@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

$H]^- 359.1 \rightarrow m/z [M - CH_3COO]^- 241$ , 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  $\mu$ L 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  $-20^\circ\text{C}$  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  $-20^\circ\text{C}$  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  $40^\circ\text{C}$  水浴下用氮气吹干, 残渣用 200  $\mu$ L 50% 甲醇-水溶解, 涡旋 1 min, 15 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 吸取样品液 20  $\mu$ L 进样, 记录色谱峰并计算结果。

## 2.4 数据统计

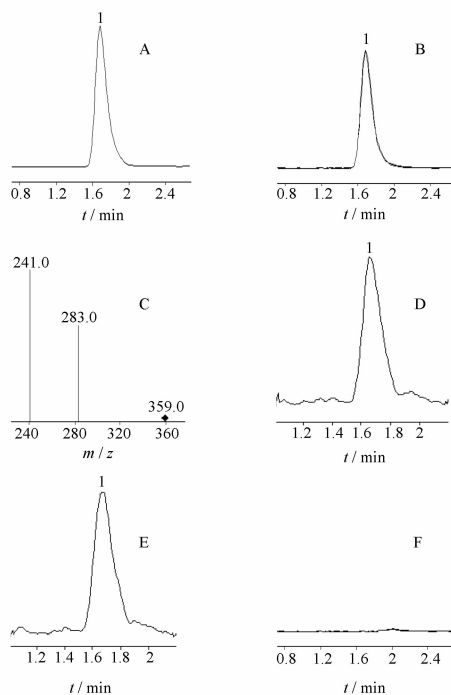
数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 DAS2.0 药物动力学程序计算。

## 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图; 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  $\mu$ L, 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%。

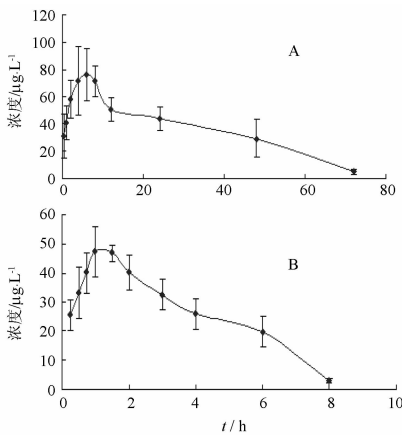


### 3.4 精密度试验

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3d。计算得日内RSD( $n=18$ )和日间RSD( $n=18$ )分别为8.219%, 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
$t_{1/2}/\text{h}$	$2.4 \pm 3.00$	$0.6 \pm 0.36$
$t_{1/2\alpha}/\text{h}$	$18.4 \pm 10.25$	$2.2 \pm 1.18$
$t_{1/2\beta}/\text{h}$	$22.0 \pm 3.49$	$2.63 \pm 0.90$
$t_{\text{max}}/\text{h}$	$6.7 \pm 1.63$	$1.08 \pm 0.20$
MRT/h	$23.9 \pm 3.35$	$3.0 \pm 0.16$
$C_{\text{max}}/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$82.9 \pm 17.63$	$49.8 \pm 4.61$
$\text{AUC}_{0-t}/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$2595.3 \pm 551.15^{1)}$	$209.9 \pm 25.34$

注:与口服给药比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ 。

### 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<sup>[3-4]</sup>。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<sup>[5-6]</sup>,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( $t_{\text{max}}$ )较长,达峰浓度( $C_{\text{max}}$ )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12h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性关节炎的对比研究[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 Yongmei, YAN Zhihong, CHEN Lihua, ZHU Weifeng\*, YANG Ming

(Key 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:  $t_{1/2}$  ( $2.4 \pm 3.00$ ) h,  $t_{\text{max}}$  ( $6.7 \pm 1.63$ ) h,  $C_{\text{max}}$  ( $82.9 \pm 17.63$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . 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 ( $2595.3 \pm 551.15$ ) h  $\cdot \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  and ( $209.9 \pm 25.34$ ) 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.

**[Key words]** 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、药学期机构史、药学期教育史、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。原则上要求投送电子Word文档,个别无条件者也可投送手写稿。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 jinda@cpa.org.cn。