

GC-MS 测定莪术中  $\beta$ - 榄香烯的血药浓度及大鼠体内药代动力学研究\*

李婧, 刘文静

(西南民族大学药学院, 成都 610041)

**摘要** 目的: 建立快速灵敏的气质联用(GC-MS)法测定莪术中  $\beta$ - 榄香烯在大鼠血浆中血药浓度, 并研究  $\beta$ - 榄香烯在大鼠体内的药代动力学特征。方法: 血浆样品的处理采用正己烷液-液萃取方法, 萘为内标。色谱柱: DB-5 毛细管柱(30 m  $\times$  0.25 mm, 0.25  $\mu$ m); 程序升温: 初始 60  $^{\circ}$ C, 保持 1 min, 再以 30  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$  的速度升温至 160  $^{\circ}$ C, 保持 3 min, 再以 10  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$  的速度升温至 200  $^{\circ}$ C, 保持 2 min。采用电子轰击离子源及选择离子扫描模式(SIM); 选择监测离子:  $\beta$ - 榄香烯  $m/z$  93, 内标  $m/z$  128。按  $\beta$ - 榄香烯 10 mg  $\cdot$  kg $^{-1}$  灌胃给药后, 测定大鼠血浆中  $\beta$ - 榄香烯的浓度, 并用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数。结果: 血浆中  $\beta$ - 榄香烯质量浓度在 0.05~200.0  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$  浓度范围内线性关系良好( $r^2=0.9991$ ), 定量下限为 0.05  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$ ; 低、中、高 3 个浓度准确度、日内及日间精密度均小于 5%; 提取回收率分别为 91.7%、105.1%、108.8%; 低、中、高 3 个浓度血浆样品在室温放置 12 h, 4  $^{\circ}$ C 冰箱中放置 24 h 及反复冻融 4 次后均能保持稳定。大鼠灌胃莪术提取液后  $\beta$ - 榄香烯药-时曲线符合二室模型; 主要药代学参数:  $AUC_{(0-t)}$  为 (9.83  $\pm$  1.07)  $\mu$ g  $\cdot$  L $^{-1}$   $\cdot$  h,  $t_{1/2\alpha}$  为 (0.47  $\pm$  0.05) h,  $t_{1/2\beta}$  为 (1.82  $\pm$  3.11) h,  $T_{max}$  为 (2.06  $\pm$  0.37) h,  $C_{max}$  为 (2.61  $\pm$  0.17)  $\mu$ g  $\cdot$  mL $^{-1}$ 。结论: 该方法简便、准确, 专属性强, 适用于莪术中  $\beta$ - 榄香烯在大鼠体内的药代动力学研究。

**关键词:** 莪术;  $\beta$ - 榄香烯; 液-液萃取; 挥发油; 大鼠血浆; 血药浓度; 药代动力学; 气相色谱质谱联用

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2019)05-0846-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.05.11

Determination of plasma concentration of  $\beta$ -elemene in *Curcuma zedoaria* by GC-MS and its pharmacokinetic study in rats\*

LI Jing, LIU Wen-jing

(College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

**Abstract Objective:** To establish a rapid, sensitive method for the determination of plasma concentration of  $\beta$ -elemene in *Curcuma zedoaria* using capillary gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and to study the pharmacokinetics in rats. **Methods:** The plasma sample was treated with a liquid-liquid extraction method of *n*-hexane, and naphthalene was used as an internal standard (IS). The determination was performed on DB-5 column (30 m  $\times$  0.25 mm, 0.25  $\mu$ m). The initial column temperature was 60  $^{\circ}$ C, maintained for 1 min, then raised to 160  $^{\circ}$ C at a rate of 30  $^{\circ}$ C  $\cdot$  min $^{-1}$ , maintained for 3 min, and finally increased to 200  $^{\circ}$ C at a rate of

\* 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金项目 (No. 2019NQNS6)

第一作者 Tel: 13550163485; E-mail: 27918716@qq.com

10 °C · min<sup>-1</sup> and maintained for 2 min. EI and single ion monitoring pattern (SIM) were used for ion scanning with  $m/z$  93 ( $\beta$ -elemene) and  $m/z$  128 (IS). After administration of  $\beta$ -elemene 10 mg · kg<sup>-1</sup> by oral gavage, the concentration of  $\beta$ -elemene in rat plasma was determined, and the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 software. **Results:** There was excellent linearity of the plasma concentration of  $\beta$ -elemene in the range of 0.05–200.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r^2=0.9991$ ), and the lowest limit of quantification was 0.05  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . The accuracy, intra-day and inter-day precisions of low, medium and high concentrations were less than 5% and the recovery rates were 91.7%, 105.1% and 108.8%, respectively. The plasma samples of low, medium and high concentrations were kept at room temperature for 12 h, and were stable after being placed in refrigerator at 4 °C for 24 h and repeatedly frozen and thawed for 4 times. The concentration–time curve of  $\beta$ -elemene of the extract of rats after administration of *Curcuma zedoaria* by oral gavage was consistent with the two-compartment model. The main pharmacokinetic parameters were as follows:  $\text{AUC}_{(0-t)}$  was (9.83 ± 1.07)  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$ ,  $t_{1/2\alpha}$  was (0.47 ± 0.05) h,  $t_{1/2\beta}$  was (1.82 ± 3.11) h,  $T_{\text{max}}$  was (2.06 ± 0.37) h, and  $C_{\text{max}}$  was (2.61 ± 0.17)  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . **Conclusion:** The established method is simple, accurate, specific and suitable for pharmacokinetic studies of  $\beta$ -elemene in curcuma zedoaria in rats.

**Keywords:** *Curcuma zedoaria*;  $\beta$ -elemene; liquid–liquid extraction; essential oil; rat plasma; drug plasma concentration; pharmacokinetics; GC/MS

中药莪术 (*Curcuma zedoaria*) 是姜科植物蓬莪术、广西莪术和温郁金的干燥根茎, 具有行气破血、消积止痛之功效<sup>[1]</sup>。莪术根茎主要含姜黄素类、挥发油以及多糖类、酚酸类、甾醇类、生物碱类等成分, 挥发油主要含莪术醇、 $\beta$ -榄香烯、莪术二酮、异莪术烯醇等<sup>[2]</sup>, 这些成分通过调节多种关键信号通路, 发挥抗炎, 抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡等作用<sup>[3-7]</sup>。 $\beta$ -榄香烯能诱导细胞周期停滞, 抑制细胞增殖; 诱导 caspases-3、7、9 的活性, 抑制 bcl-2 的表达, 使细胞色素 C 释放, 诱导肿瘤细胞凋亡; 还可以抑制 HCT-8、KB、K562 和 EJ 细胞增殖, 并且对分子靶向类抗癌药物具有协同增效作用<sup>[8-12]</sup>。 $\beta$ -榄香烯作为莪术的主要药效成分之一, 具有较好的开发前景,  $\beta$ -榄香烯注射液在大鼠及人体内药代动力学的测定方法已有报道<sup>[13-14]</sup>, 莪术药材中  $\beta$ -榄香烯的提取及测定方法也有报道<sup>[15]</sup>, 而对于莪术药材中  $\beta$ -榄香烯的药代动力学研究少见报道。莪术药材中成分较为复杂, 需建立高效的提取方法以及灵敏的测定方法, 本文采用液–液萃取法进行提取并采用气质联用 (GC-MS) 法, 测定莪术药材中  $\beta$ -榄香烯在大鼠血浆中的血药浓度, 进行了大鼠体内药代动力学研究, 为莪术药材的新药研发及临床研究提供方法及数据参考。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

GC 6890–5973MSD 气质联用仪 (安捷伦公司),

G1701DA MSD Chemstation 工作站; BS224S 万分之一电子天平 (赛多利斯公司); TGL-16B 台式高速离心沉淀器 (上海安亭科学仪器厂); XW-80 型旋涡混合器 (上海医科大学实验仪器厂); MTN-2800D 型氮吹仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 高纯氮气 (纯度  $\geq 99.5\%$ )。

### 1.2 试剂

对照品  $\beta$ -榄香烯 (批号 100268–200401) 和萘 (批号 111673–200803), 中国食品药品检定研究院; 莪术药材 (四川新荷花中药饮片股份有限公司), 经西南民族大学吕露阳副教授鉴定为姜科植物蓬莪术; 甲醇、正己烷为色谱纯, Fisher 公司; 水为双蒸水; 其余试剂均为分析纯。清洁及 SD 大鼠 (雌雄各半, 体重 (250 ± 20) g, 四川大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK (川)–2013–026。

## 2 方法与结果

### 2.1 血药浓度测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱: 安捷伦 DB-5 毛细管柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ); 载气: 高纯度氮气 (>99.5%); 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样口温度: 260 °C; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ ; 分流比: 1:2; 程序升温 (初始 60 °C, 保持 1 min; 以 30 °C · min<sup>-1</sup> 的速度升温至 160 °C, 保持 3 min; 再以 10 °C · min<sup>-1</sup> 的速度升温至 200 °C, 保持 2 min)。

**2.1.2 质谱条件** 电离方式: EI; 扫描方式: 单离子

监测 (SIM) 模式, 正离子方式检测; 电子轰击能量: 70 eV; 离子源温度: 210 °C; 四极杆温度: 100 °C; 选择监测离子:  $\beta$ -榄香烯  $m/z$  93, 萘  $m/z$  128 (内标)。

**2.1.3 莪术挥发油的制备** 取莪术饮片干燥粉末 (过 40 目筛) 100 g, 精密称定, 置 1 L 挥发油提取器中, 加 500 mL 水回流提取 5 h, 以吐温 -80 收集挥发油至 100 mL, 置于 4 °C 冰箱保存, 备用。以 GC 法测得  $\beta$ -榄香烯含量为 6.21%。

**2.1.4 对照品溶液的配制** 精密称取  $\beta$ -榄香烯对照品 100 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 得到  $\beta$ -榄香烯对照品储备液 ( $10.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 置于 4 °C 冰箱中保存, 备用。精密称取内标物萘对照品 100 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 得到内标储备液 ( $10.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 置于 4 °C 冰箱中保存, 备用; 临用前用正己烷稀释配制成浓度为

$100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的内标溶液。

**2.1.5 血浆样品的预处理** 取空白血浆 100  $\mu\text{L}$ , 置于 1.5 mL 洁净 EP 管, 加入内标溶液 ( $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 20  $\mu\text{L}$ , 涡旋混匀 1 min, 加入正己烷 200  $\mu\text{L}$  沉淀蛋白, 涡旋振荡 5 min, 于 4 °C 以  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  高速离心 10 min, 取上清液置于洁净的 EP 管中, 进样 1  $\mu\text{L}$ 。

## 2.2 方法学考察

**2.2.1 专属性** 分别取 6 个不同批次的大鼠空白血浆、大鼠给药后血浆及空白血浆, 加入一定量的  $\beta$ -榄香烯和内标, 按“2.1”项下溶液配制及血浆处理方法进行处理, 采用“2.1”项下色谱与质谱条件测定。 $\beta$ -榄香烯和内标的保留时间分别约为 10.58 和 11.31 min, 两者分离良好, 内源性物质无干扰, 该方法专属性良好。 $\beta$ -榄香烯和内标的质谱图见图 1, 典型色谱图见图 2。

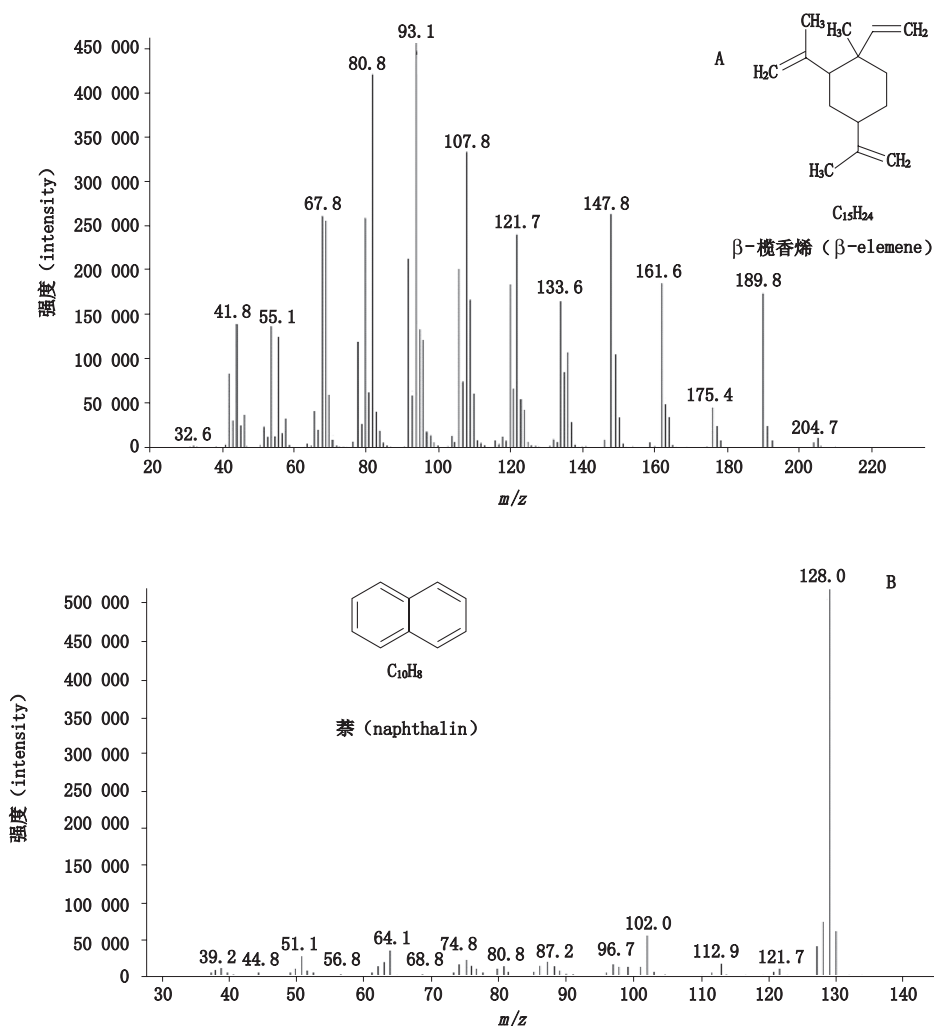
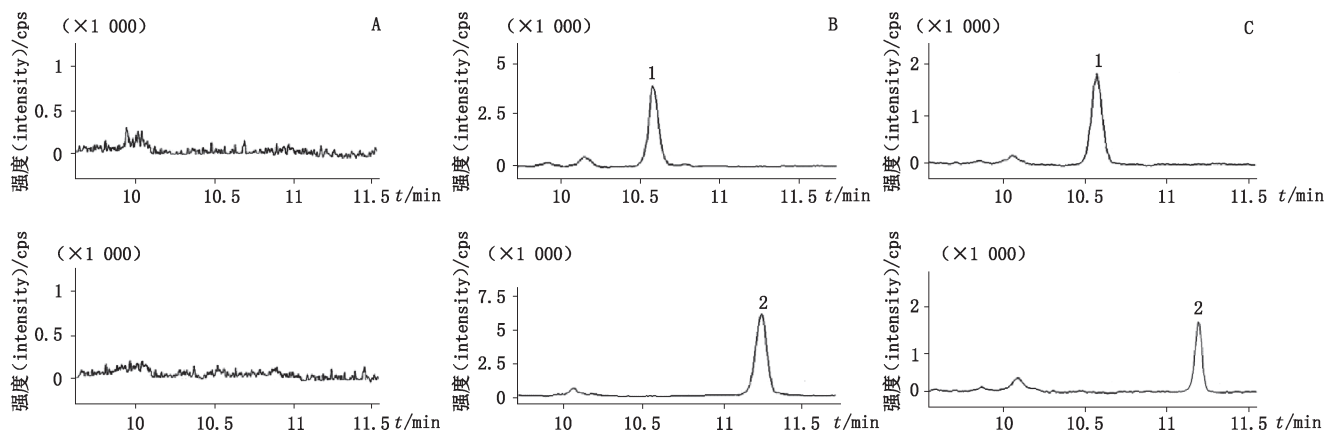


图 1  $\beta$ -榄香烯 (A) 和内标 (B) 全扫描质谱图

Fig. 1 Full scan mass spectra of  $\beta$ -elemene (A) and internal standard (B)



1. 内标 (internal standard) 2. β- 榄香烯 (β-elemene)

A. 空白血浆 (blank plasma) B. 空白血浆 + β- 榄香烯 + 内标 (blank plasma + β-elemene + internal standard) C. 大鼠灌胃 2 h 后的血浆样品 + 内标 (plasma samples + internal standard of rats 2 h after oral gavage)

图 2 典型色谱图

Fig. 2 Typical chromatograms

**2.2.2 线性范围和检测灵敏度** 取 β- 榄香烯对照品储备液适量,用甲醇稀释成 7 个不同浓度对照品溶液;取空白血浆 100 μL,分别加入上述不同浓度的对照品溶液,配制成相当于 β- 榄香烯质量浓度分别为 0.05、0.2、1、5、10、50、200 μg · mL<sup>-1</sup> 的系列标准血浆样品,按“2.1.5”项下方法处理,进样分析。以 β- 榄香烯与内标峰面积比值 (Y) 为纵坐标,浓度 (X) 为横坐标,在 0.05~200.0 μg · mL<sup>-1</sup> 浓度范围内,两者呈良好的线性关系,线性方程为  $Y=0.043\ 32X-0.000\ 396\ r^2=0.999\ 1\ (n=7)$

定量下限为 0.05 μg · mL<sup>-1</sup>。

**2.2.3 准确度及精密度试验** 取空白血浆 100 μL,加对照品溶液分别配制 β- 榄香烯低、中、高 3 种浓度 (0.2、1、5 μg · mL<sup>-1</sup>) 的标准血浆样品,每个浓度平行 5 份,按“2.1.5”项下方法操作,进样分析。各浓度标准血浆样品分别平行测定 5 次,连续测定 5 d,根据当日标准曲线计算各样品中 β- 榄香烯的浓度,考察方法的准确度、日内精密度及日间精密度。结果低、中、高 3 个浓度的准确度及日内、日间精密度均小于 5%,符合方法学验证要求。见表 1。

表 1 精密度试验结果 (x ± s, n=5)

Tab. 1 Results of accuracy and precision tests

浓度 (concentration) / (μg · mL <sup>-1</sup> )	准确度 (accuracy)		日内精密度 (intra-day precision)		日间精密度 (inter-day precision)	
	实测值 (found) / (μg · mL <sup>-1</sup> )	RSD / %	实测值 (found) / (μg · mL <sup>-1</sup> )	RSD / %	实测值 (found) / (μg · mL <sup>-1</sup> )	RSD / %
0.2	0.19 ± 0.02	3.8	0.21 ± 0.03	4.2	0.21 ± 0.04	4.8
1	1.04 ± 0.19	2.7	1.05 ± 0.28	3.9	1.6 ± 0.37	4.1
5	5.14 ± 0.32	2.3	5.27 ± 0.42	1.7	4.81 ± 0.85	3.9

**2.2.4 提取回收率试验** 取空白血浆 100 μL,加对照品溶液分别配制成 β- 榄香烯低、中、高 3 个浓度 (0.2、1、5 μg · mL<sup>-1</sup>) 的标准血浆样品,每个浓度平行 5 份,按“2.1.5”项下方法操作,测定 β- 榄香烯 (A<sub>1</sub>) 和内标 (A<sub>2</sub>) 的峰面积,与在相同基质条件下未经萃取的 β- 榄香烯 (B<sub>1</sub>) 和内标 (B<sub>2</sub>) 的峰面积进行比较,计算回收率。按 A<sub>1</sub>/B<sub>1</sub> × 100% 计算 β- 榄香烯低、中、高 3 个浓度的回收率分别为 (91.7 ± 3.8)%、

(105.1 ± 5.8)%、(108.8 ± 1.5)% ,各浓度水平回收率的 RSD 在 1.8%~6.4% 之间,满足要求。

**2.2.5 基质效应** 取 6 份不同批次的空白血浆,每个批次 3 份,每份 100 μL,加对照品溶液分别配制成 β- 榄香烯低、中、高 3 个浓度 (0.2、1、5 μg · mL<sup>-1</sup>) 的标准血浆样品,按“2.1”项下方法处理,进样测定,记录 β- 榄香烯及内标峰面积,计算 5 个点平均血药浓度 (C<sub>1</sub>)。同时,不加血浆直接用对照品溶

液分别配制  $\beta$ -榄香烯低、中、高 3 个浓度 (0.2、1、5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的溶液,按“2.1.5”项下方法进行处理,进样测定,记录  $\beta$ -榄香烯及内标峰面积,计算 5 个点平均血药浓度 ( $C_2$ )。按基质效应  $=C_1/C_2 \times 100\%$  计算得血浆中低、中、高 3 个浓度的基质效应分别为 (92.73  $\pm$  4.19) %、(92.11  $\pm$  2.37) % 和 (109.01  $\pm$  5.08) %, RSD 为 1.2%~7.1%,结果显示没有基质效应。

**2.2.6 稳定性考察** 分别取空白血浆 100  $\mu\text{L}$ ,加对

照品溶液分别配制成  $\beta$ -榄香烯低、中、高 3 个浓度 (0.2、1、5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的标准血浆样品,每个浓度平行 5 份,按“2.1.5”项下方法进行处理,进样测定,计算  $\beta$ -榄香烯血药浓度。考察对照品血浆分别在室温放置 12 h (0、1、2、4、6、8、12 h),4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中放置 24 h,-20  $^{\circ}\text{C}$  保存 15 d,反复冻融 4 次等情况下对稳定性的影响。结果见表 2,表明在上述条件下, $\beta$ -榄香烯在血浆中稳定性良好。

表 2 血浆样品中  $\beta$ -榄香烯的稳定性 ( $n=5$ )

Tab. 2 Stability of  $\beta$ -elemene-containing plasma samples

条件 (conditions)	低浓度 (low concentration, 0.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		中浓度 (mid concentration, 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		高浓度 (high concentration, 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	实测值 (found) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	RSD / %	实测值 (found) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	RSD / %	实测值 (found) / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	RSD / %
室温放置 12 h (room temperature for 12 h)	0.22 $\pm$ 0.05	4.5	1.02 $\pm$ 0.17	3.3	5.17 $\pm$ 0.34	2.2
4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 24 h (4 $^{\circ}\text{C}$ for 24 h)	0.21 $\pm$ 0.02	3.1	0.97 $\pm$ 0.09	2.2	4.95 $\pm$ 0.21	0.9
反复冻融 4 次 (four freeze-thaw cycles)	0.23 $\pm$ 0.04	4.3	0.91 $\pm$ 0.12	4.6	5.22 $\pm$ 0.63	3.5

### 2.3 药代动力学研究

**2.3.1 血浆样品的采集** 取体重 (250  $\pm$  20) g 的 SD 大鼠 8 只,实验前适应性喂养 2 d,称量,按 10  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量灌胃莪术提取液,给药后分别于 0、0.2、0.5、1、2、2.5、3、4、6、8、10、12 和 24 h 眼眶采血 0.5 mL,置于 1.5 mL 涂有肝素钠的 EP 管中,轻晃,使与抗凝剂混合均匀,6 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液,置 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用。

**2.3.2 药时曲线及药代动力学参数** 按照“2.1”项下方法,测定大鼠血浆中  $\beta$ -榄香烯的浓度。采用 DAS 2.0 对血药浓度数据进行药代动力学参数拟合处理,结果显示拟合的药-时曲线符合二室模型,权重系数为  $1/C_2$ 。药时曲线见图 3,主要药代动力学参数见表 3。

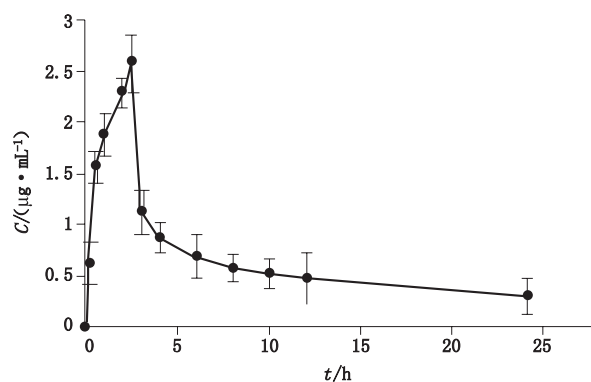


图 3  $\beta$ -榄香烯大鼠灌胃给药后的平均药时曲线图

Fig. 3 Mean concentration-time curve of  $\beta$ -elemene in rats after oral gavage

表 3 主要药代动力学参数 ( $n=8$ )

Tab. 3 Main pharmacokinetic parameters

参数 (parameter)	单位 (unit)	平均值 $\pm$ SD (mean $\pm$ SD)
$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	9.83 $\pm$ 1.07
$AUC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	14.57 $\pm$ 2.56
$C_{\text{max}}$	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	2.61 $\pm$ 0.17
$T_{\text{max}}$	h	2.06 $\pm$ 0.37
$t_{1/2\alpha}$	h	0.47 $\pm$ 0.05
$t_{1/2\beta}$	h	1.82 $\pm$ 3.11
$MRT_{(0-t)}$	h	22.18 $\pm$ 7.14
CL	$\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.25 $\pm$ 0.19
V	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.90 $\pm$ 0.43

### 3 讨论

随着天然产物的逐步开发,其作为抗癌药物的活性成分取得了较好的成果。莪术的抗癌作用已被大量研究证实,莪术中挥发性成分  $\beta$ -榄香烯具有较好的抗癌活性,目前已有  $\beta$ -榄香烯口服剂与注射剂上市,有研究<sup>[11]</sup>对  $\beta$ -榄香烯注射剂进行了人体药代动力学研究,发现  $\beta$ -榄香烯在人体内具有吸收好及消除快的特点。但目前对  $\beta$ -榄香烯口服剂以及莪术药材中  $\beta$ -榄香烯成分的药代动力学研究较少,其提取分离、预处理及仪器分析方法还有待探索,本文采用液-液萃取法提取血浆中  $\beta$ -榄香烯,建立 GC-MS 方法测定莪术药材中  $\beta$ -榄香烯的血药浓度,并对其提取液灌胃大鼠后的体内药代动力学情况进行了研究,为莪术及  $\beta$ -榄香烯的开发及临

床应用提供了参考。

$\beta$ -榄香烯为莪术中挥发油成分,适合采用GC检测,而药材中 $\beta$ -榄香烯含量较少,其血药浓度含量更低,因此采用GC-MS的方式进行检测,该方法具有较好的分离性能及较高的灵敏度,适用于对 $\beta$ -榄香烯血药浓度的测定。本研究使用选择离子检测(SIM)模式记录色谱图,监测待测化合物的特征离子( $\beta$ -榄香烯  $m/z$  93, 萘  $m/z$  128),在高灵敏度的前提下排除了各种潜在的干扰,同时也使分析时间大大缩短。

$\beta$ -榄香烯不溶于水,只溶于有机溶剂,而血浆及药材中的多种有机物质对其测定会产生一定干扰。本研究在处理血浆样品时采用了液-液萃取法,并考察了乙醚、三氯甲烷、甲醇及异丙醇等溶剂对 $\beta$ -榄香烯及内标物的萃取效果,结果发现正己烷对 $\beta$ -榄香烯及内标物萘的萃取回收率较高,提取液中含有的内源性干扰物较少,因此采用正己烷为萃取溶剂。同时还发现,提取后如果挥干溶剂, $\beta$ -榄香烯损失较大,因此采用正己烷提取,不浓缩直接进样的方法。

$\beta$ -榄香烯的给药途径主要有口服及注射2种,本实验采用口服灌胃的方式对大鼠进行实验,市售 $\beta$ -榄香烯口服制剂的给药剂量为每次0.2 g,根据动物与人每1 kg体质量剂量折算系数,计算得到 $\beta$ -榄香烯的大鼠给药剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。此外,预试验的结果提示,在灌胃莪术提取液后2 h左右血药浓度达到峰值,同时为了兼顾吸收、分布、消除相,拟定采血时间为给药后0、0.2、0.5、1、2、2.5、3、4、6、8、10、12及24 h,得到较完整的数据,本研究发现,莪术药材挥发油中 $\beta$ -榄香烯在大鼠体内达峰时间、吸收消除均较快,提示可以持续给药、缓控释制剂或者静滴方式给药,使血药浓度维持在有效范围内。

#### 4 结论

本文建立了GC-MS测定莪术药材中 $\beta$ -榄香烯在大鼠体内血药浓度的方法,采用液-液萃取法进行预处理,该方法灵敏度高,重复性好,回收率高,稳定性好,能够满足莪术药材中 $\beta$ -榄香烯药代动力学研究要求,为莪术及 $\beta$ -榄香烯的临床研究开发提供参考。

#### 参考文献

- [1] 满伟,刘郁山,李文伟,等. 莪术油药理研究及临床应用进展[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(7): 663  
MAN W, LIU YS, LI WW, et al. Pharmacological study and clinical application progress of *Curcuma zedoaria* oil [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2000, 11(7): 663
- [2] CHEN CC, CHEN Y, HSI YT, et al. Cytotoxic chemical constituents and anticancer activity of *Curcuma zedoaria* Rosc. essential oil against non-small cell lung carcinoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(47): 11418
- [3] CHEN HW, LEE JY, HUANG JY, et al. Curcumin inhibits lung cancer cell invasion and metastasis through the tumor suppressor H LJI [J]. Cancer Res, 2008, 68(18): 7428
- [4] 彭炳先,周欣,石京山,等. 蓬莪术挥发油及其中3种成分抗肝癌和子宫内腺癌的研究[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(3): 312  
PENG BX, ZHOU X, SHI JS, et al. Effects of volatile oil and three main components from *Curcuma phaeocaulis* valetanon liver cancer and endometrial carcinoma cell lines [J]. West China J Pharm Sci, 2007, 22(3): 312
- [5] 王佳丽,王秀,夏泉,等. 莪术油中3种倍半萜类化合物对肝癌HepG2细胞增殖抑制作用的研究[J]. 中成药, 2014, 36(7): 1535  
WANG JL, WANG X, XIA Q, et al. The proliferation inhibition effect on hepatoma HepG2 cell of three sesquiterpene components from *Curcuma phaeocaulis* oil [J]. Chin Tradit Pat Med, 2014, 36(7): 1535
- [6] LEE JY, LEE YM, CHANG GC, et al. Curcumin induces EGFR degradation in lung adenocarcinoma and modulates p38 activation in intestine: the versatile adjuvant for gefitinib therapy [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23756
- [7] JAVADI S, ROSTAMIZADEH K, HEJAZI J, et al. Curcumin mediated down-regulation of  $\alpha V \beta 3$  integrin and up-regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) in Erlotinib resistant SW480 colon cancer cells [J]. Phytother Res, 2018, 32(2): 355
- [8] DOU H, SHEN R, TAO J, et al. Curcumin suppresses the colon cancer proliferation by inhibiting Wnt/ $\beta$ -catenin pathways via miR-130a [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 877
- [9] ZOU B, LI Q, ZHAO J, et al.  $\beta$ -Elemene and taxanes synergistically induce cytotoxicity and inhibit proliferation in ovarian cancer and other tumor cells [J]. Anticancer Res, 2013, 33(3): 929
- [10] MU L, WANG T, CHEN Y, et al.  $\beta$ -Elemene enhances the efficacy of gefitinib on glioblastoma multiforme cells through the inhibition of the EGFR signaling pathway [J]. Int J Oncol, 2016, 49(4): 1427
- [11] WANG J, HUANG F, BAI Z, et al. Curcumol inhibits growth and induces apoptosis of colorectal cancer LoVo cell line via IGF-1R and p38 MAPK pathway [J]. Mol Sci, 2015, 16(8): 19851
- [12] YU X, XU M, LI N, et al.  $\beta$ -elemene inhibits tumor-promoting effect of M2 macrophages in lung cancer [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 490(2): 514
- [13] CHEN Z, SONG Y, CHE J, et al. Validation of a sensitive gas chromatographic-mass spectrometric method for the simultaneous determination of  $\beta$ -elemene and  $\beta$ -elemenal in human plasma [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877(4): 408
- [14] 詹琼,周鑫莉,黄若凡,等.  $\beta$ -榄香烯血药浓度测定方法的建立及其药代动力学研究[J]. 中国药房, 2017, 28(2): 173  
ZHAN Q, ZHOU XL, HUANG RF, et al. Establishment of determination method for plasma concentration of  $\beta$ -elemene and its pharmacokinetic study in human [J]. China Pharm, 2017, 28(2): 173
- [15] GAN YX, LUO NN, JIANG YP, et al. Simultaneous determination of beta-elemene, curcumol, germacrone and neocordione in volatile oil of *Curcuma phaeocaulis* and vinegar products by GC-MS [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(7): 1311

(本文于2018年1月28日收到)