



本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

天然冰片在小鼠组织内的 GC-MS 测定法和组织分布研究*

□黄萍 姜晓飞 邹佳丽 袁月梅 姚美村**

(中山大学药学院 广州 510080)

陆亚松

(Department of Pharmacokinetics, Dynamics and Metabolism, Pfizer Inc., Groton, USA 06340)

摘要:目的:建立天然冰片在小鼠组织内含量测定的 GC-MS 法并进行组织分布研究,初步探索天然冰片的归经特征。方法:采用 DB-5MS 弹性毛细管色谱柱(0.25mm×30m×0.25 μ m);电子轰击(EI)电离方式,轰击能量为 70eV,倍增电压 1100V;选择性离子检测(SIM),天然冰片 m/z 95,内标萘 m/z 128;小鼠组织样品用生理盐水匀浆后,加入萘作为内标,用正己烷振荡萃取,取上清液进样测定。组织分布研究以天然冰片的 CMC-Na 溶液给小鼠灌胃,在不同时间点分批处死小鼠后取各组织样本,经处理后用 GC-MS 法测定组织中的天然冰片含量。结果:本研究建立的天然冰片 GC-MS 测定方法,在 22ng·mL⁻¹~22 μ g·mL⁻¹ 范围内响应信号(Y)与天然冰片浓度(X)呈良好线性关系, Y=0.000486X+0.00036, R²=0.999(n=3),最低检测限为 10ng·mL⁻¹,定量下限为 22ng·mL⁻¹,日内精密度的 3.72~6.11%,日间精密度的 7.29~17.6%,相对回收率和提取回收率分别为 85.95~107.93%和 93.04~103.03%。组织分布研究结果表明,天然冰片分布于大部分组织,单个组织内天然冰片浓度随时间延长呈现多峰现象;天然冰片在肝脏内含量最高,在心、脑、肾等重要组织内的含量也较高。结论:本研究建立的 GC-MS 测定方法准确、可靠,可用于天然冰片在动物体内的定量分析;天然冰片在不同组织内的分布有明显差异,肝、肾、心、脑中分布含量较高;天然冰片的归经特征中有归心经的趋势。

关键词:天然冰片 GC-MS 法 组织分布

冰片是我国常用药物之一,在中药复方中多作为佐使药广泛使用。传统意义上的冰片是从东南亚进口的龙脑香科植物龙脑香 *Dryobalanops aronatica Gaertn. f.* 树脂的加工品。由于来源稀少、价格昂贵,近

年来国内含冰片药物以合成冰片入药为主。然而由于合成冰片中的有效成分(龙脑)在长期放置时转化为樟脑^[1],由此引起的安全性问题已受广泛关注。随着《中国药典》(2005年版)新收录了国内自产的天然冰片以来^[2],以天然冰片替代合成冰片的呼声日渐增多。天然冰片是来源于我国江西、湖南等地樟科植

收稿日期:2009-08-06

修回日期:2009-12-03

* 国家自然科学基金青年科学基金项目(30600825):中药冰片归经的生理药动学模型研究,负责人:姚美村。

** 联系人:姚美村,副教授,硕士生导师,主要研究方向:中药药动学和药物分析学, Tel: 020-39943040, E-mail: Lssymc@mail.sysu.edu.cn。

821 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

物-樟(*Cinnamomum camphora*(L.)Presl)的枝、叶中提取得到的产物,其主要成分右旋龙脑的含量高达97%以上。目前,有关该药物相关研究的报道较少,且多局限在进行天然冰片与合成冰片的安全性比较研究方面^[9],对其在动物体内的含量测定、组织分布和药动学特征等研究未见报道。此外,《中国药典》对于天然冰片的药性特征仅有“辛、苦、凉”的性味描述,缺乏必要的归经特征。为更好的应用中医药理论指导天然冰片入药,探索其归经特征确有必要。中药归经现代研究的方法有很多^[4-6],其中以主要有效成分在动物组织和器官内的分布进行归经归纳的研究方法较易理解和常用。因此,本研究以我国自产的天然冰片为研究对象,建立天然冰片在小鼠体内各组织内的GC-MS含量测定方法,并研究天然冰片单次灌胃后在小鼠体内的组织分布,尝试探索天然冰片的归经特征,为完善天然冰片的药性特征和扩大其应用范围提供数据支持。

一、材 料

1. 药品与试剂

天然冰片(纯度>98%),购自江西省吉安市林科天然冰片厂,批号:20060800;萘(分析纯),购自国药集团化学试剂有限公司,批号:F20070404;天然冰片,购自中国药品生物制品检定所,化学对照品,批号:110743-200504;合成樟脑(分析纯),购自广州黄埔化工厂,批号:YZ0703005;正己烷(色谱纯),购自韩国SK Chemicals,批号:10071751。

2. 仪 器

匀浆机(ULTRA-TURRAXT8,德国);台式离心机(Anke TDL-40B,上海安亨科学仪器厂);漩涡混合器(XW-80A,上海医大仪器厂);振荡器(HY-4调速多用振荡器,江苏省金坛市医疗仪器厂);超声仪(SB25-12DTD,宁波新芝生物科技股份有限公司);Finnigan DSQ Trace 气相色谱-质谱联用仪(美国热电公司);Xcalibular 数据工作站;分析天平(METTLER TOLEDO AL204,梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

3. 实验动物

SPF级昆明种小鼠(合格证号SCXK粤2004-0011粤监字2008A059),体重 20 ± 2 g,由中山大学实验动物中心提供。实验动物给药前12h禁食不禁水。

二、方法与结果

1. 溶液的配制

(1)样品溶液的配制。

精密称取天然冰片粉末0.5g(过100目筛),加入0.8% CMC-Na 5mL,搅拌均匀,即得混悬液。

(2)内标萘溶液的配制。

精密称取萘5.0mg,用正己烷溶解并稀释至10mL;精密吸取1mL,用正己烷稀释至10mL,得到 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的萘溶液作为内标。 -4°C 放置备用。

(3)天然冰片对照品储备液的配制。

精密称取天然冰片对照品11.00mg,用正己烷溶解并定容至10mL,得到 $1.100\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的天然冰片储备液。 -4°C 放置备用。

(4)樟脑溶液的配制。

精密称取樟脑对照品10.18mg,用正己烷溶解并定容至10mL,得到 $1.018\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的樟脑储备液。 -4°C 放置备用。

(5)空白组织(以肝匀浆为例)的制备。

称取一定量的空白肝脏,按照肝脏:生理盐水=1:10(m/v)加入一定量的生理盐水,匀浆后得到10%的空白肝脏匀浆。 -20°C 放置备用。用时取出解冻,振荡均匀。

2. 样品处理及分析方法

将小鼠的组织称重,加入10倍量的生理盐水,匀浆;将组织匀浆超声处理5min;然后加入 $20\mu\text{L}$ 的 $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内标萘溶液,混匀;加入1mL正己烷涡漩30s,并于振荡器上中速振荡20min,以4000rpm离心10min;然后取上清液 $1.0\mu\text{L}$,注入GC-MS仪中进行分析。

样品分析:色谱柱为DB-5MS弹性毛细管色谱柱($0.25\text{mm}\times 30\text{m}\times 0.25\mu\text{m}$);载气:高纯氦气;流速 $1.0\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样口温度 200°C ,接口温度 250°C ,离子源温度 250°C ;柱程序升温:初温 80°C ,保持1min后,以 $30^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 145°C ,保持2min;进样量为 $1.0\mu\text{L}$;电离方式为EI,电子轰击能量为70eV,倍增电压1100V;选择离子监测(SIM),天然冰片和樟脑m/z 95,萘m/z 128。

3. GC-MS测定的方法学验证

(1)色谱系统适用性试验。

本研究首先采用全扫描方式对包含天然冰片、樟脑、萘的样品进行定性分析。在设定分析条件下,GC-

MS法可以很好的分离樟脑、天然冰片和内标萘,天然冰片、樟脑和萘与其它物质峰的分度均大于1.5,且空白基质(如肝脏等组织)对各成分的分析无干扰(因其它组织结果与肝脏类似,以下仅以肝脏为例说明),结果如图1a所示。在选择性离子检测(SIM)的定量分析中,天然冰片和樟脑的质荷比(m/z)均为95,内标萘的质荷比为128^[7]。采用SIM方式得到樟脑、天然冰片和萘的图谱如图1b~图1d。由图可以看出,在该分析条件下,天然冰片和樟脑的峰形和分离度理想,没有受到相关物质的干扰。

(2)标准曲线的绘制。

将天然冰片对照品储备液用正己烷稀释成110、220、550、1100、11000、55000、110000ng·mL⁻¹系列工作溶液。于1mL空白肝匀浆中加入20μL内标萘储备液和相应的天然冰片工作液,使天然冰片的含量分别为22、44、110、220、2200、11000、22000ng·mL⁻¹,然后进行处理和GC-MS分析。以天然冰片峰面积与内标峰面积之比(A/A_i)为纵坐标(Y),天然冰片浓度为横坐标(X),用加权最小二乘法做回归分析(w=1/x),得回归方程Y=0.000486X+0.00036,r=0.999(n=3),表明天然冰片在22~22000ng·mL⁻¹范围内响应与浓度呈良好线性关系。

(3)最低检测限。

用天然冰片储备液配制成浓度在标准曲线末端并逐渐降低的样品,进样测定并以信噪比大于3为限,测得GC-MS的最低检测限为10ng·mL⁻¹。

(4)定量下限(LLOQ)分析。

用天然冰片储备液平行配

制系列浓度溶液进行定量限的测定。结果表明天然冰片的定量限为22ng·mL⁻¹。6份组织样品定量限分

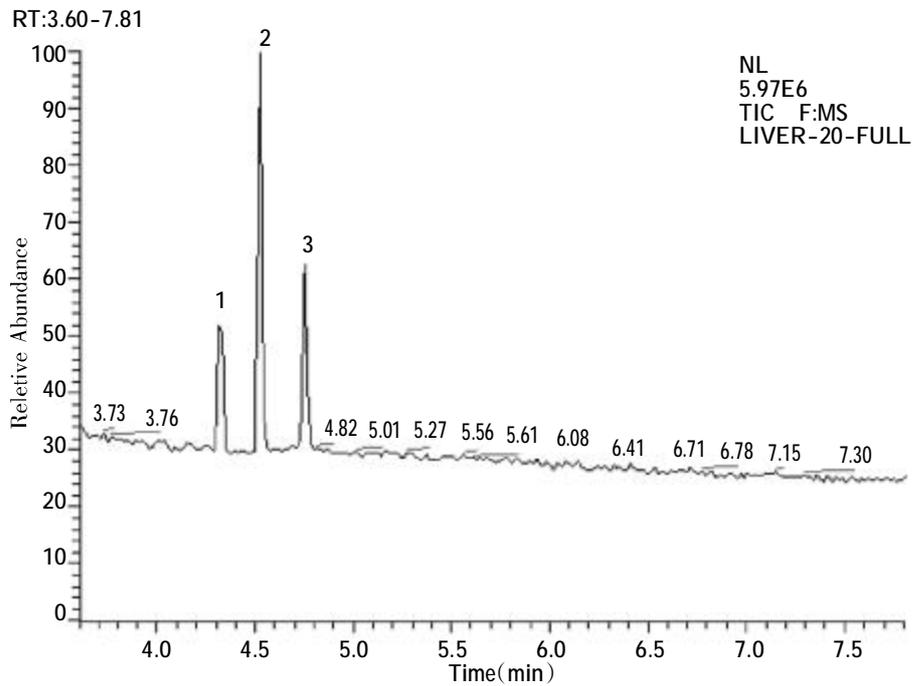


图1a 空白肝匀浆加樟脑、天然冰片、内标萘对照品的GC-MS图(全扫描)

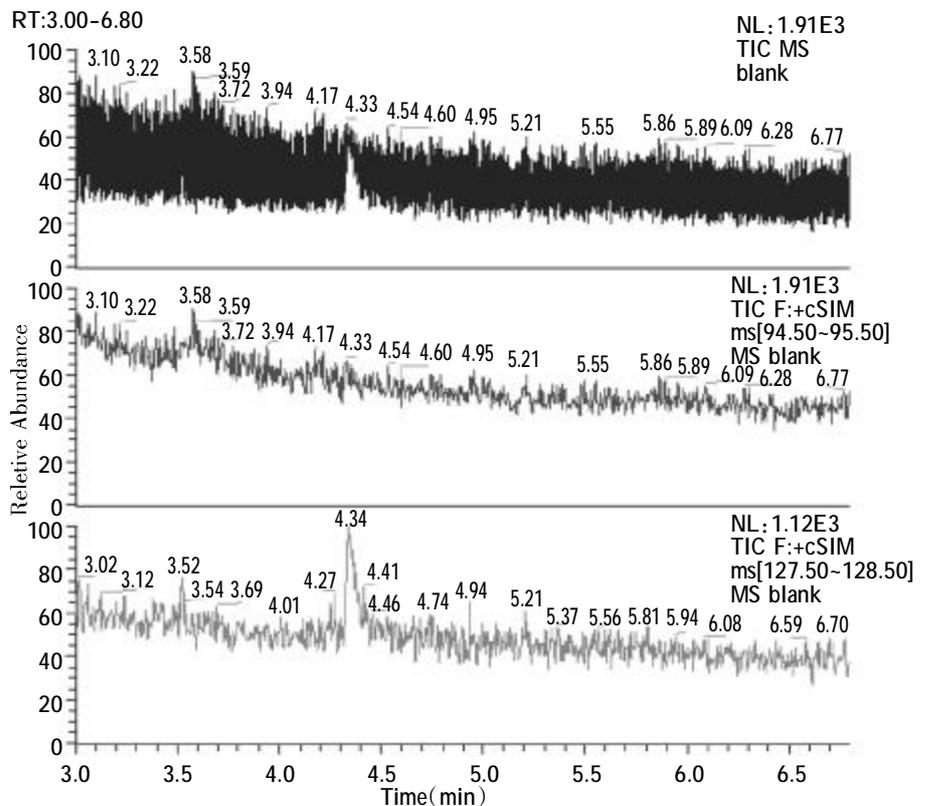


图1b 空白肝脏匀浆的GC-MS图(SIM扫描)

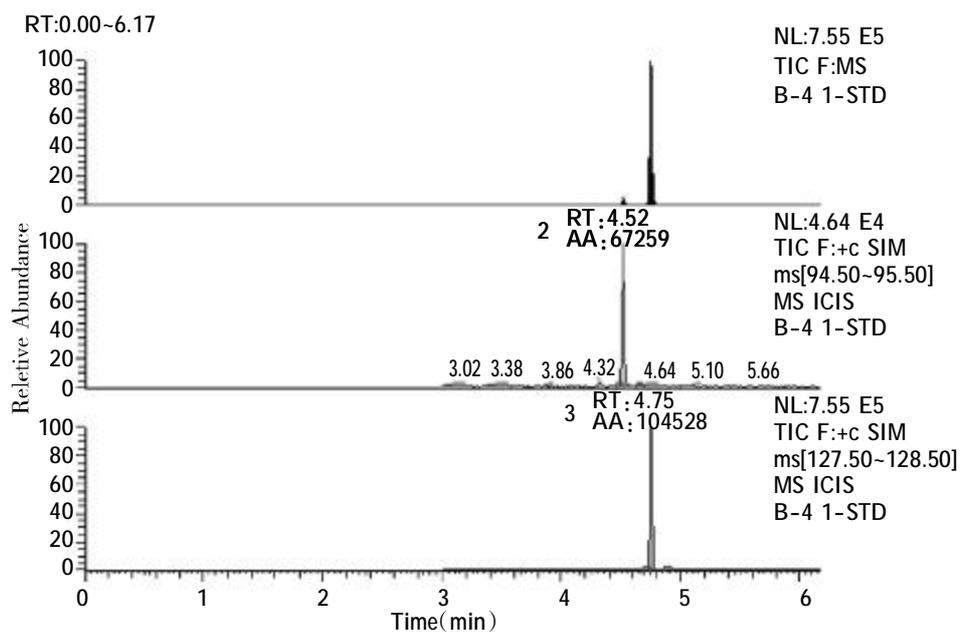


图 1c 空白肝匀浆加天然冰片、内标萘对照品的 GC-MS 图(SIM 扫描)

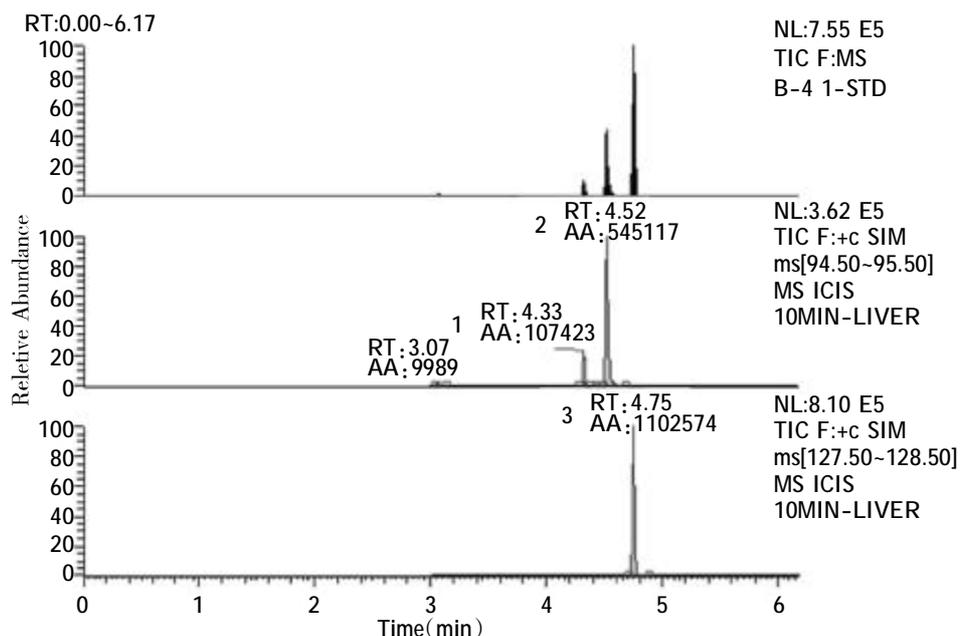


图 1d 小鼠灌服天然冰片的肝组织样本的 GC-MS 图(SIM 扫描)

图 1 空白肝匀浆与空白肝匀浆加入天然冰片等成分的 GC-MS 图

1. 樟脑; 2. 天然冰片; 3. 萘

析的准确度为 104%~120%, 精密密度 RSD 为 5.4%

(5) 精密密度试验。

取 1mL 空白肝匀浆, 加入天然冰片工作液和内标储备液, 制成高 ($22000\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、中 ($220\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、低 ($22\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 3 个浓度的样品, 每个浓度平行制备 5

份, 连续测 3d, 高、中、低 3 个浓度的天然冰片样品测定结果的日内精密密度 RSD 分别为 3.7%、6.1%、5.9%, 日间精密密度 RSD 分别为 7.4%、7.3%、17.6%。

(6) 回收率试验。

取 1mL 空白肝匀浆, 加入天然冰片工作液和内标储备液, 制成高 ($22000\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、中 ($220\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、低 ($22\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 3 个浓度的样品, 每个浓度的样品平行制备 5 份, 然后进行处理并测定, 连续测定 3d; 与配制浓度对照, 求得相对回收率为 86.0~107.9%; 与不加空白血浆配制的相应浓度的溶液测定所得结果进行比较, 求得提取回收率为 93.04~103.03%。

(7) 稳定性试验。

制备天然冰片浓度分别为 110 、 $11000\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 样品各 3 份, 立即进行处理并测定浓度, 计算其平均值作为额定值。同样制备上述溶液, 进行如下操作。

① 室温稳定性试验 各溶液于室温 ($22\sim 25^\circ\text{C}$) 放置 2h 后进行测定, 结果求平均值。

② 冻融稳定性试验 各溶液于 -20°C 完全冰冻后, 取出使之完全自然溶解, 如此反复冻、融 3 个周期后进行测定, 结果求平均值。

③ 长期稳定性试验 各溶液于 -20°C 放置 24h 后测

定, 结果求平均值。

④ 样品液稳定性试验 测过额定值的各溶液于 -30°C 放置 24h 后测定, 结果求平均值。

以上各组试验所求得平均值与额定值进行比较, 计算得相对偏差, 结果如表 1。

从表 1 数据可以看出,样品除室温放置 2h 较稳定外,低浓度或高浓度样品在冷冻和冻融循环条件下均不够稳定,故应避免将样品长期储存,最好在样品取出后立即处理并分析。

4. 给药方案及样品分析

取小鼠 50 只,称重后随机分为 10 组,每组 5 只,其中 1 组为空白组,其余 9 组作为给药组;给药组按照 $1g \cdot kg^{-1}$ 的剂量灌服天然冰片-CMC-Na 溶液,空白组灌服等量的 0.8%CMC-Na 溶液;在给药后 5、

表 1 天然冰片在组织中的稳定性(N=3)

天然冰片浓度 (ng/mL)	额定值	相对偏差 (室温放置 2h 后测得的值)	相对偏差 (3 次冻融循环后测得的值)	相对偏差 (-20℃冷冻 24h 后测得的值)	相对偏差 (-30℃放置 24h 后重新测得的值)
110	0.0350	0.0367 4.8%	0.0386 10%	0.0440 26%	0.0361 3.1%
11000	7.772	7.593 2.3%	6.692 13.9%	7.372 5.2%	6.762 13%

表 2 天然冰片在小鼠体内各组织的含量变化

T(min)	浓度 $C \pm SD (ng \cdot g^{-1})$						
	心脏	肝脏	脾脏	肺脏	肾脏	脑	肌肉
5	7602.7±1520.5	39702.5±6907.6	8828.1±1412.5	1304.3±140.9	5853.3±1157.9	5170.7±704.0	2409± 457.7
10	18133.4±4533.4	73913.6±12724.6	17277.6±3973.8	4021± 683.6	18574.3±1869.1	18457.3±2953.2	8483.7±1357.4
20	15774.8±4890.2	26854.8±3054.3	37408.8±6359.5	2375.6±292.2	15902.2±2290.5	14941±1494.3	7668.3±920.2
30	30136.8±2712.3	53859.1±1845.3	27301.9±5587.4	9244.6±1100.1	34598.7±8360.3	32889.4±7893.5	12030±1323.3
45	9852.6±1674.9	13409.3±601.0	11744.8±1644.3	2618.6±275.0	10728±2066.1	10271.1±1951.5	5132.8±1108.7
60	66927.6±8366.0	78706.8±3817.2	43170.2±4748.7	28868.3±4070.4	70535.1±12211.8	81100.9±6991.3	32328.9±3394.5
90	1552.2± 512.2	1034.3±303.3	6143.7±1044.4	990±306.9	1532.9±385.5	1158.6±197.0	1103.5±187.6
150	1242.2± 360.2	961.1±39.4	4991±1522.3	969±271.3	1283.5±320.9	1085.7±249.7	1022.7±235.2

10、20、30、45、60、90、150min 等时间点处死小鼠,摘取小鼠各组织(如心、肝、脾、肺、肾、大脑、肌肉等);将以上各组织用滤纸吸干,准确称重后进行处理及含量测定,所得结果如表 2。图 2 为各组织内天然冰片含量随时间而变化的直观曲线图。对图 2 各个组织计算天然冰片的 $AUC_{5-150min}$,结果如表 3 所示。图 3 为各组织中天然冰片 $AUC_{5-150min}$ 值的柱状比较图。

三、结论与讨论

本研究建立了小鼠组织中天然冰片含量测定的 GC-MS 法,方法灵敏、准确、可靠,可用于天然冰片在动物(小鼠)体内各组织的定量分析。组织分布研究表明,天然冰片在肝、肾、心、脑等组织中的含量较高,这对于进行天然冰片在动物体内的药动学研究提供了方法学参考。

本研究采用 GC-MS 法进行小鼠组织中天然冰片的含量测定,采用全扫描法定性和选择性检测(SIM)法定量相结合的方式,避免相关杂质的干扰;采用快速的升温程序,既可以使得所有成分在短时间(6min)内全部出峰,又可以使得樟脑、天然冰片和内标萘的峰完全分开,达到分离度要求,该方法适于

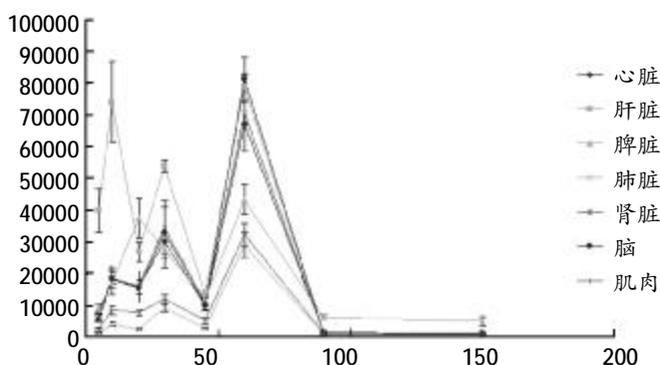


图 2 各个组织中天然冰片含量随时间变化图

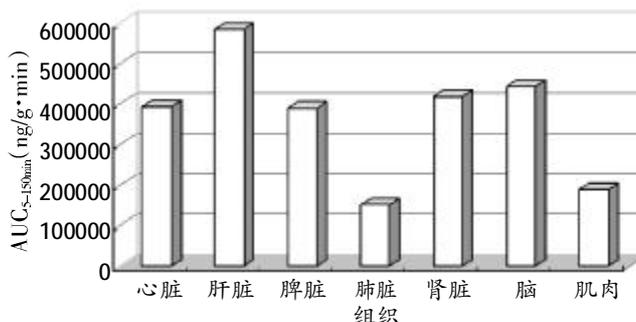


图 3 小鼠各组织中天然冰片的 AUC 比较图

进行大批量生物样品的测定。此外,给小鼠灌胃天然冰片后,在组织样品中检测到了樟脑的存在(见图1d),提示天然冰片在动物体内有转化为樟脑的可能,本研究在此处对樟脑峰只做标记,有关天然冰片体内转化内容请参阅文献^[7]。

本研究对含冰片动物组织样品的处理方法进行了改进。在选择组织样品处理方法时,本研究曾尝试采用向组织样品中加入蛋白沉淀剂,于离心后的上清液中加入正己烷进行涡漩等的不同方法进行提取。然而甲醇、乙腈、饱和硫酸钠溶液、饱和硫酸铵溶液、三氯醋酸等沉淀剂的效果都不理想,以饱和硫酸钠溶液、饱和硫酸铵溶液沉淀蛋白,离心后上清液不能与蛋白清晰分层,乙腈和三氯醋酸作沉淀剂回收率较差,而甲醇作沉淀剂时的基线噪音较大,检出限较高。因此,本研究尝试采用不加蛋白沉淀剂,直接加入正己烷进行中速振荡的方法进行提取,结果表明,该方法既避免了涡漩过程中容易发生乳化的缺点,又避免了沉淀蛋白过程中待测物质的损失,且操作简单,适合于批量生物样品的处理和分析。此外,在不采用蛋白沉淀剂条件下,比较了正己烷和乙酸乙酯的萃取效果,结果发现:在处理一些蛋白含量较高的组织(如脑、肾等)时,乙酸乙酯较容易发生乳化,形成果冻状的中间层,只剩下少量的上清液,正己烷则避免了此种情况。因此,本研究采用不加蛋白沉淀剂,直接向组织匀浆中加入正己烷进行中速振荡的方法来进行样品处理。

本研究结果表明在小鼠的单个组织内天然冰片浓度随时间变化呈现出多峰现象,在60min时达到浓度最高峰。到目前为止,国内外发现的具有多峰现象的药物多达10余种,由此造成的原因也多种多样^[8-9]。一般认为,肠肝循环(EHC)、多部位吸收、药物在组织分布后的再吸收、伪双峰现象、药物对胃肠道的刺激作用、药物制剂因素、个体差异、细胞对药物的吞噬储存和突释等均可造成多峰现象。本研究中天然冰片是脂溶性物质,脂肪组织对其来说是巨大贮库,可能像脂溶性强的麻醉剂硫喷妥钠在体内多次再分布类似,天然冰片被吸收后,血浆中的部分逐渐进入组织后形成第1个峰,但大部分天然冰片仍贮存在贮库里,随时间延长而从贮库中转移到各个组织中形成了第2个峰。由于形成多峰的原因很复杂,本研究将在此方面进一步深入分析。

中药归经作为中药药性理论的主要内容之一,

它所蕴含的科学内涵至今仍未得到完全阐明。从归经来源看,除传统的经络学说、脏腑学说、药物特性和药物疗效外,现代研究也尝试从有效成分的体内分布、微量元素含量分析、环核苷酸检测法(cAMP/cGMP值)、受体学说以及中药体内代谢等多种途径进行探索性研究^[4-6],其中有效成分的体内分布研究由于具有直观、易理解的特点,成为中药归经的常用归纳方法。本研究尝试从天然冰片在动物体内的组织分布进行归经的归纳和分析。

以浓度—时间下面积(AUC)大小作为天然冰片在组织中分布量的指标,从图3可以看出,小鼠组织中天然冰片的含量低顺序为:肝>脑>肾>心>脾>肉>肺。天然冰片在肝脏中的含量均比其它组织的高,在脑、肾、心等组织的含量也较高。肝脏作为主要的代谢器官和排泄器官,药物在肝脏和肾脏中的含量较高相对容易理解;至于天然冰片在心、脑中的含量也较高的原因,考虑到中医脏腑理论中的心以解剖学中的心脏为主要组成器官,因此,中医将冰片归心经与本研究结果有相似,也与合成冰片的归经特征中有归心经的内容基本一致。对于天然冰片透过血脑屏障进入脑部的情况,这在合成冰片的相关研究中已有详细论述^[10-11];由于在晚清时衍生出“脑主神明”的说法,使得冰片有归“脑”的特征;但脑为奇恒之腑之一,且很少有文献提到有药物归经入脑的情况,根据传统中医认为“心主神明”的提法,冰片在脑部大量进入的情况也可以用于解释冰片归心经的特征。此外,历来文献对天然冰片的归经提到“归肺经”的说法,在有效成分的组织分布结果看,天然冰片在小鼠肺中的含量并不比其它组织高,黄天来等^[12]测定的大鼠灌服合成冰片后肺中的冰片含量也较低,因此,从有效成分组织分布角度判断天然冰片是否归肺经显然缺乏可靠依据;至于归肺经原因,应该在于冰片并非直接作用于肺脏,而是与冰片在作为外用药物时透过皮肤进入体内起作用有关,因肺主皮毛,故将冰片的该特征总结为归肺经。由于中药药性理论中归经来源非常复杂,所以在将脏腑理论与现代解剖学的组织器官进行一一对应研究时,很多情况下两个体系并不能够完全重合,单纯将五脏、六腑、经络等概念用现代解剖学的组织器官来解释必定存在诸多困难;但总体来说,中医脏腑作为关系实体,其发源实体仍然是来源于人体的各个解剖脏器,只是受限于当时科技水平的薄弱,中医脏腑理论才逐渐

脱离实体脏器而上升为关系脏腑；虽然中医脏腑与解剖脏器并非一一对应，但前者总以后者的某一个脏器为主体构成，这也是在进行中药归经现代研究中通过药物(有效成分)在不同脏器的组织分布和药动学研究归经实质的基础。当然,受限于现代科技的水平以及中医药理论的高度综合性,对于中药归经的现代研究仍有许多争议存在,这有待于更多确有成效的新方法、新技术和新思路的发展来揭示归经的实质。

参考文献

- 1 魏刚,林双峰,方永奇,等. GC-MS 法检测冰片的质量. 中成药, 2005, 27(3):353-354.
- 2 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版1部). 化学工业出版社, 2005.
- 3 胡利民,姜民,凌霄,等.天然冰片与合成冰片对小鼠的一般生殖毒性. 毒理学杂志, 2006, 20(4):275-276.
- 4 徐树楠. 中药归经现代研究方法探讨. 中国药理学通报, 2004, 20(5): 598-600.
- 5 梁新武. 中药性味归经考证规范化研究方法. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(5):160-161.
- 6 卢训丛. 中药性味归经理论的研究思路与方法. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(11):803-804.
- 7 姜晓飞,等. 中药冰片在动物体内转化为樟脑的研究. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(3):27-36.
- 8 马越鸣. 药物 c-T 曲线的双峰现象. 国外医学《药学分册》, 1987, 3: 168-173.
- 9 卢海儒. 药-时曲线上的多峰现象. 青海医药杂志, 1995, 25(8):31-32.
- 10 梁美蓉,刘启德,黄天来,等. 冰片在大鼠血清和脑组织中的药代动力学特征. 中药新药与临床药理, 1993, 4(4):38-40.
- 11 上海中医学院基础部. 3H-冰片在机体内的吸收、分布和排泄—中药冰片芳香开窍机理的初步探讨. 中成药研究, 1981, (4):8-12.
- 12 黄天来,叶少梅,欧卫平,等. 冰片在大鼠机体内的含量测定方法探讨. 中华医药杂志, 2005, 5(8):38.

A Novel GC-MS Bioanalytical Method for Natural Borneol and Its Application in Investigating Natural Borneol Distribution in Mice

Huang Ping, Jiang Xiaofei, Zou Jiali, Yuan Yuemei, Yao Meicun

(School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

Lu Yasong

(Department of Pharmacokinetics, Dynamics and Metabolism, Pfizer Inc., Groton 06340, USA)

Abstract: One of the major goals of our group is to understand the meridian tropism of natural borneol. As the first step, this study served two purposes: to develop a GC-MS bioanalytical method for natural borneol, and with the aid of this method to investigate natural borneol distribution in mice. Mouse tissue samples, spiked with naphthalene as the internal standard, were homogenated with NS and extracted using hexane. The extract supernatant was analyzed in GC-MS with conditions of DB-5MS capillary column (0.25mm×30m×0.25 μ m), electron impact (EI) ionization with energy of 70eV and multiplier voltage of 1100V, and the Selected Ion Monitor (SIM) detection mode. The calibration curve was linear in the range from 22ng·mL⁻¹ to 22 μ g·mL⁻¹ with a regression equation Y= 0.000486X + 0.00036, R²= 0.999. The limit of detection was 10ng·mL⁻¹. The lower limit of quantitation was 22ng·mL⁻¹. The within-day and inter-day precisions were 3.72%~6.11% and 7.29%~17.6%, respectively. The relative recovery was 87.8%~103.2% and the extraction recovery 93.04%~103.03%. This bioanalytical method has sufficient recovery and is accurate and reliable for quantitating natural borneol in tissues. The tissue distribution up to 150min after a single oral dose of natural borneol was investigated in mice. This compound was detected in most tissues. The liver had the highest concentration, followed by kidney, heart, brain, and others. Tissue concentration-time curves had double or triple peaks. The tissue distribution pattern suggested that natural borneol may attribute to the cardio-system.

Keywords: Natural borneol; GC-MS method; Tissue distribution

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:张立崑)