



# 蜂蜜对阿昔洛韦在兔眼内转运动力学特性的影响

何群<sup>1\*</sup>, 王适<sup>3</sup>, 张湘晖<sup>2</sup>, 张健<sup>2</sup>, 姜宇<sup>1</sup>, 许江丽<sup>1</sup>

1. 湖南中医药大学 中药药剂学重点学科 湖南中医药大学 中药现代化实验室, 湖南 长沙 410208;
2. 湖南中医药大学 第一临床学院, 湖南 长沙 410007;
3. 湖南中医药大学 第二临床学院, 湖南 长沙 410005)

**[摘要]** 目的:从药动学角度探索蜂蜜增强阿昔洛韦(ACV)治疗单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)药效的作用机制,为2药合用处方及给药方案设计提供依据。方法:分别单次给予兔眼内含5%蜂蜜和0%蜂蜜的目安眼膏,于不同时间取兔眼房水,高效液相色谱法测房水内ACV含量,建立数学模型,通过数学及统计学处理提取药动学参数,比较各参数差异。结果:含5%蜂蜜和0%蜂蜜的目安眼膏在兔眼内的转运均属于二室模型,含5%蜂蜜的目安眼膏在房水中吸收半衰期为不含蜂蜜目安眼膏的2.30倍,分布半衰期为2.12倍,达峰浓度为1.17倍,达峰时间为1.36倍,AUC为1.41倍。结论:蜂蜜可显著提高ACV在眼内的浓度及生物利用度,延长ACV在靶细胞内的作用时间,提高ACV在靶分子的滞留能力,使ACV在靶组织药效持久,从而提高疗效。

**[关键词]** 蜂蜜;阿昔洛韦(ACV);单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK);高效液相色谱法(HPLC);二室模型

单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)是当今世界上危害最严重的眼病之一,其发病率占角膜病的首位,有明显上升的趋势,是重要的致盲性眼病。国内外对HSK的治疗首选阿昔洛韦(ACV)抗病毒治疗,但ACV对角膜修复、愈合及再生能力欠佳,单用抗HSK药物很难控制病毒抗原引起的免疫性炎症反应。前期研究发现<sup>[1-5]</sup>,蜂蜜与ACV配伍制成的目安眼膏,既能增强治疗HSK的药效,又能提高角膜修复、愈合及再生能力,药效学及离体角膜渗透性试验亦证明5%蜂蜜与3%ACV配伍制成的目安眼膏药效最优,渗透性最好。故本文通过研究蜂蜜对ACV在兔眼内转运动力学特性的影响探索2药合用的作用机理,为目安眼膏处方及给药方案设计提供依据。

## 1 材料

**1.1 仪器** Waters 1525 Binary HPLC 泵;Waters 2487 紫外检测器;Breeze 色谱数据工作站(美国Waters公司);电子分析天平(上海岛津国际贸易有限公司);TGL-18M 高速冷冻离心机(湖南赛特湘仪离心机有限公司)。v9.01 版 DPS 统计软件。

**1.2 药品与试剂** 阿昔洛韦对照品(中国药品生

物制品检定所,批号630-200001;甲醇(上海陆都化学试剂厂,色谱纯);高氯酸(上海陆都化学试剂厂,分析纯);无水 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (汕头市西陇化工厂,分析纯);含0%及5%蜂蜜的目安眼膏(本室自制);双蒸水。

**1.3 动物** 新西兰白兔,健康无眼疾,体重2.0~2.5 kg。雌雄各半,共40只,长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供,动物合格证号SCXK(湘)2006-0001。

**2 HPLC法测定目安眼膏中阿昔洛韦的含量及方法学考察<sup>[6]</sup>**

**2.1 色谱条件** 色谱柱 Phenomenex  $\text{C}_{18}$  柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相为甲醇-水(10:90);流速1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长254 nm;柱温30 °C;进样量10  $\mu\text{L}$ 。

**2.2 房水样品(供试品)溶液的处理** 取房水100  $\mu\text{L}$ ,加入25%高氯酸溶液100  $\mu\text{L}$ ,震荡1 min后,1万 r · min<sup>-1</sup>高速离心15 min,取上清液100  $\mu\text{L}$ 置1.5 mL离心管中,加入1 mol · L<sup>-1</sup>的 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液60  $\mu\text{L}$ 调pH至弱酸性,1万 r · min<sup>-1</sup>高速离心15 min后取上清液备用。

**2.3 系统适应性实验** 分别取空白房水、给药(目安眼膏)的房水、给阴性药品(未含ACV的目安眼膏)的房水、37 mg · L<sup>-1</sup>的ACV对照品溶液,并按照2.2项下方法处理,考察房水中有无其他物质干扰。

**[稿件编号]** 20100411005

**[通信作者]** \*何群, Tel: (0731) 88458231, E-mail: chengguangyu58@126.com

结果见图1。结果表明,样品ACV的理论塔板数不低于4000,保留时间为7.0 min左右,峰形良好,与空白房水内的杂质能够很好分离,不干扰药物的测定。阴性样品也不干扰ACV的测定。

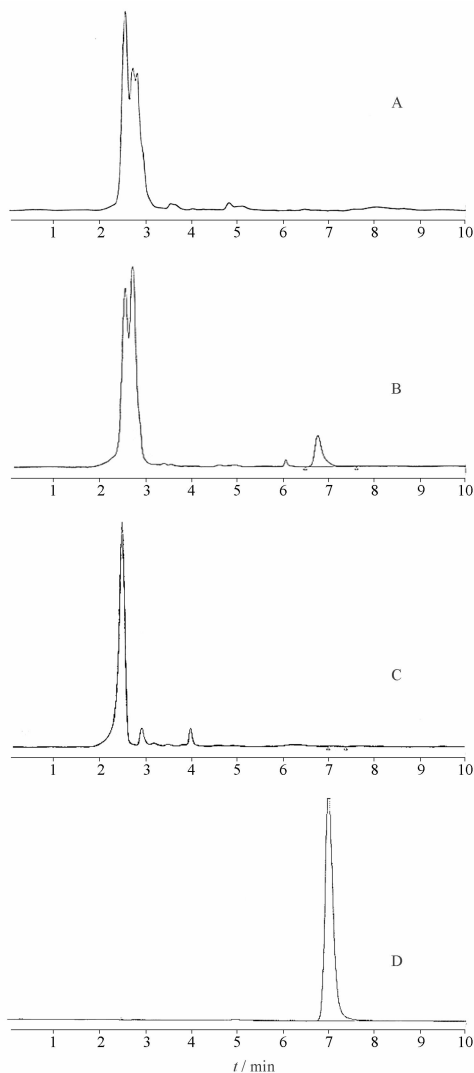


图1 空白房水(A)、给药后的样品房水(B)、给阴性样品后的房水(C)、ACV对照品溶液(D)HPLC图

**2.4 阿昔洛韦对照品溶液的配制及标准曲线的绘制** 精密称定阿昔洛韦对照品0.0037g,用重蒸水溶解并定容至100mL,配制质量浓度为 $37.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ACV对照品溶液,分别取0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、7.5mL的对照品溶液置于100mL量瓶中,用重蒸水定容至刻度。分别取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 进样,每个浓度重复3次,以峰面积平均值(A)对ACV的浓度C进行线性回归,回归直线方程为 $A = 5.342 \times 10^4 C +$

$2.715 \times 10^3$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 6$ ), ACV的质量浓度在 $0.037 \sim 2.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,峰面积对浓度呈良好的线性关系。

**2.5 灵敏度(检测限LOD及定量限LOQ)** 在2.1色谱条件下,当信噪比 $\geq 3$  ( $S/N \geq 3$ )时,阿昔洛韦最低检出量为3ng,折算出房水最低检出质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,可满足体内定量分析要求。

**3 含0%及5%蜂蜜的目安眼膏在兔眼内转运动力学特性的比较研究**<sup>[7]</sup>

**3.1 给药及采样**<sup>[8]</sup> 将40只健康兔随机分成2大组,每组再分成10小组,2大组分别给予蜂蜜浓度为5%的目安眼膏和不含蜂蜜的目安眼膏,均眼结膜囊内给药0.1g,被动闭合眼睑10次,分别于15、30、45、90、120、150、190、230、290、350min收集房水,每小组对应1个时间点,每个时间点2只兔4只眼。取样时于家兔耳缘静脉注射25%乌拉坦( $5.0\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ )麻醉,然后迅速用10mL生理盐水冲洗兔眼,用纸吸干,分别于角膜缘内抽取房水,迅速冷冻。

**3.2 房水的处理** 房水样品解冻后,按2.2项下同法操作,处理成分析样品,用HPLC测定阿昔洛韦含量,以每小组2只动物4只眼的平均值为该时间点阿昔洛韦在房水中的浓度。

**3.3 各时间点各组房水中阿昔洛韦的浓度** 不含蜂蜜的目安眼膏在不同时间点房水中的ACV浓度见图2。

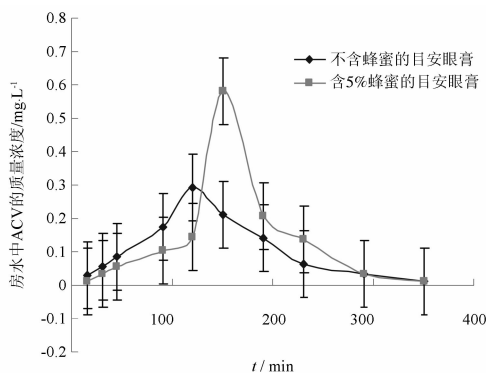


图2 含5%与0%蜂蜜眼膏在兔眼房水中ACV浓度随时间变化曲线

**3.4 统计学处理并计算各药动学参数** 将各个时间点所测得的数据进行异常值检验,均依次采用3S法、狄克松(Dixon)法、格拉布斯(Grubbs)法、指数分布样本法,结果显示每个时间点无异常值( $P <$



0.05)。每个时间点数据进行正态性检验,均采用 Shapiro-Wilk 法和 Kolmogorov-Smirnov 法,结果显示数据符合正态性。数据使用 DPS 软件处理,对各组数据进行方程拟合,排除取点误差(用残差平方和法),得到方程:

含 5% 蜂蜜眼膏:

$$C = 17.9900 \cdot e^{-0.004132t} - 7.0841 \cdot e^{-0.009508t} - 11.3013 \cdot e^{-0.006043t}$$

不含蜂蜜的眼膏:

$$C = 9.7551 \cdot e^{-0.009508t} - 3.1905 \cdot e^{-0.00703t} - 7.0443 \cdot e^{-0.01281t}$$

均为二室模型,主要药动学参数

见表 1。

由 ACV 在兔眼内转运动力学方程拟合结果可知,含 5% 蜂蜜和 0% 蜂蜜的目安眼膏在兔眼内的转运均属于二室模型,由表 1 中数据计算得知,含 5% 蜂蜜的目安眼膏在房水中吸收半衰期为不含蜂蜜目安眼膏的 2.30 倍,分布半衰期为 2.12 倍,达峰浓度为 1.17 倍,达峰时间为 1.36 倍,AUC 为 1.41 倍。由此可见,蜂蜜可显著提高 ACV 在眼内的浓度及生物利用度,延长 ACV 在靶细胞内的作用时间,提高 ACV 在靶分子的滞留能力,使 ACV 在靶组织药效持久,从而提高疗效。

表 1 阿昔洛韦的主要药动学参数

参数	含 5% 蜂蜜 ACV 眼膏	不含蜂蜜 ACV 眼膏	参数	含 5% 蜂蜜眼膏	不含蜂蜜眼膏
$k_a$	0.004132	0.009508	AUC/mg · min · L <sup>-1</sup>	42.78	30.40
$\alpha$	0.006043	0.01281	$K_{21}$	0.007298	0.004051
$\beta$	0.009508	0.00703	$K_{10}$	0.007872	0.02223
吸收半衰期/min	167.7	72.88	$V_e$ /mL	22.47	142.65
分布半衰期/min	114.7	54.10	$V_\beta$ /mL	801.63	1077.15
消除半衰期/min	72.88	98.58	$V_p$ /mL	779.16	934.50
$T_{max}$ /min	103.04	75.51	CL/mL · min <sup>-1</sup>	8.4409	7.5724
$C_{max}$ /mg · L <sup>-1</sup>	0.2386	0.2041			

注:计算参数  $V_e, V_\beta, CL$  时,  $F_0$  为兔眼离体角膜渗透释药试验中 5 h 累计释药百分率(另文报道)。

#### 4 结果

含 5% 蜂蜜目安眼膏在兔眼中的吸收速度常数小于不含蜂蜜的目安眼膏,即吸收半衰期前者大于后者;含 5% 蜂蜜目安眼膏在兔眼中的分布速度常数小于不含蜂蜜的目安眼膏,即分布半衰期前者大于后者,说明它虽然吸收速度慢,但在眼组织中分布时间长,滞留时间长,在靶组织作用持久。

含 5% 蜂蜜目安眼膏在兔眼中的消除速度常数大于不含蜂蜜的目安眼膏,即消除半衰期前者小于后者,说明它消除快,代谢产物排泄快,毒副作用小。

含 5% 蜂蜜目安眼膏在兔眼房水中的达峰时间虽然长于不含蜂蜜的目安眼膏,但峰浓度前者大于后者,且房水中药物吸收总量即 AUC 前者约为后者的 1.41 倍,说明它能提高阿昔洛韦在兔眼内的生物利用度,从而提高疗效。

进一步分析药物在眼内的转运过程:从  $K_{21}$  可以看出,含 5% 蜂蜜目安眼膏中药物从周边室向中央室(房水)转运速度快于不含蜂蜜的目安眼膏,即 ACV 迅速转运至房水中,而 ACV 浓度在房水和靶组织中存在动态平衡,即药物能很快从非靶组织转

运至靶组织;从  $K_{10}$  可以看出,含 5% 蜂蜜目安眼膏中药物从中央室(房水)消除速度慢于不含蜂蜜的目安眼膏,说明阿昔洛韦在靶组织中消除慢、作用时间长,疗效持续时间长。

从总表观分布容积  $V_\beta$  可知,含 5% 蜂蜜目安眼膏小于不含蜂蜜的目安眼膏,说明阿昔洛韦在房水中浓度高即在靶组织中浓度高( $V_\beta$  与阿昔洛韦在房水中的浓度成反比)。

从总清除率 CL 可知,含 5% 蜂蜜目安眼膏清除率大于不含蜂蜜的目安眼膏,说明阿昔洛韦的代谢产物从眼内消除快、排泄快。

#### 5 讨论

蜂蜜与阿昔洛韦合用既能延长阿昔洛韦在靶组织的滞留时间又可以显著提高药物浓度及提高生物利用度(使 AUC 增大),同时能加快阿昔洛韦代谢产物的排泄,从而阐明了含 5% 蜂蜜的目安眼膏治疗单纯疱疹病毒性角膜炎疗效优于不含蜂蜜目安眼膏的作用机制,为处方及给药方案设计提供依据。

从实验结果可知,5% 蜂蜜增强阿昔洛韦治



疗 HSK 药效,是通过延长阿昔洛韦在病毒细胞(靶细胞)的作用时间及增加蓄积浓度从而提高药效的。至于如何修复角膜有待进一步研究。

由于实验条件所限,未能采用微透析技术,所以不能在同一只兔眼内连续取样,而是取 1 次房水换 1 只兔眼,不仅兔子消耗大,浪费大,实验成本高,而且药动试验结果误差大,需多次重复,通过统计学处理,才能得到可靠的结论。

[致谢] 衷心感谢浙江大学数学系唐启义教授、数理教研室退休教师刘明芝副教授对本文数据统计学处理给予的帮助!

#### [参考文献]

- [1] 王霜玲,张湘晖,何群,等. 目安眼膏治疗兔单纯疱疹性角膜炎的研究[J]. 中国中医眼科杂志,2007,17(5):283.
- [2] 何群,张明亮,张湘晖,等. 阿昔洛韦眼用凝胶基质对兔疱疹性

角膜炎药效的影响[J]. 中国医院药学杂志,2003,23(5):262.

- [3] 谭海波,张湘晖,张明亮,等. 目安眼膏治疗实验性家兔单纯疱疹性角膜炎的研究[J]. 中国中医眼科杂志,2003,13(2):12.
- [4] 吕毅,何群,王霜玲,等. 目安眼用凝胶基质-卡波姆的质量分数筛选研究[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(12):1696.
- [5] 何群,吕毅,张明亮,等. 目安眼膏体外释药特性研究[J]. 中国药房,2008,19(22):1700.
- [6] 沈雁,涂家生,陆洋,等. HPLC 法测定更昔洛韦在家兔房水内的浓度及其市售滴眼液的药动学研究[J]. 药学与临床研究,2007,15(2):100.
- [7] 吕瑞勤,朱家璧. 阿昔洛韦眼用壳聚糖纳米粒的制备及家兔生物利用度研究[J]. 药学与临床研究,2007,15(1):14.
- [8] 银春,涂家生,等. 眼部药物动力学研究中的取样技术[J]. 药学进展,2006,30(5):216.

## Effects of honey to acyclovir in the rabbit eye transport kinetics

HE Qun<sup>1\*</sup>, WANG Shi<sup>3</sup>, ZHANG Xianghui<sup>2</sup>, ZHANG Jian<sup>2</sup>, JIANG Yu<sup>1</sup>, XU Jiangli<sup>1</sup>,

- (1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine and Drug Traditional Chinese Medicinal Pharmaceutics Key Subjects, Hunan University of Traditional Chinese Medicine and Drug Modernization Laboratory of Traditional Chinese Medicine and Drug, Changsha 410208, China;
2. First Clinical College of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China;
3. Second Clinical College of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, China)

[Abstract] **Objective:** Using pharmacokinetics to explore the mechanism of honey to enhance the efficacy of acyclovir (ACV) treatment of herpes simplex keratitis (HSK), providing the basis for combination of the prescription of two drugs and dosage regimen designed. **Method:** Single dosages of 5% honey and 0% honey Meyasu eye ointment are injected into rabbit eyes. The aqueous humor of rabbit eye is measured at different times, specifically the content of ACV in aqueous humor by HPLC. Mathematical models are established, from which pharmacokinetic parameters are extracted and compared by mathematics and statistics methods. **Result:** Both the 5% and 0% honey Meyasu eye ointment in rabbit eyes are belong to a two-compartment model. The absorption half-life of the 5% Meyasu eye ointment in aqueous humor is as 2.30 times longer, the distribution half-life is 2.12 times longer, the peak concentration is 1.17 times longer, the peak time is 1.36 times longer, AUC is 1.41 times longer when compared to the 0% Meyasu eye ointment. **Conclusion:** Honey can significantly increase the ACV concentration and bioavailability in the eye, extend the action time of ACV in target cells and increase the retention capacity of ACV in the target tissue; thereby improving treatment success.

[Key words] honey; acyclovir (ACV); HSK; HPLC; two-compartment model

doi:10.4268/cjcmm20111925

[责任编辑 刘 ■]