

## 葛根素及其磷脂复合物在 Beagle 犬体内的药动学比较

李 颖<sup>1,2</sup>, 潘卫三<sup>1\*</sup>, 陈士林<sup>2</sup>, 杨大坚<sup>2</sup>, 陈新滋<sup>2</sup>, 徐宏喜<sup>3</sup>

(1. 沈阳药科大学 药剂教研室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 深圳市中药药学及分子药理学研究重点实验室, 广东 深圳 518057; 3. 香港赛马会中药研究院, 香港)

**摘要:**目的 研究葛根素及其磷脂复合物中葛根素在 Beagle 犬体内药动学。方法 采用 HPLC 法测定犬血中葛根素, 以同组犬(3 只, 雄性)交叉口服葛根素及其磷脂复合物, 药-时曲线数据经 3P97 药动学计算程序处理。结果 分别以葛根素及其磷脂复合物给 Beagle 犬口服(剂量为葛根素 52.5 mg/kg), 葛根素的药-时过程符合开放型双室一级动力学模型, 葛根素口服的 AUC、 $C_{max}$ 、 $t_{max}$  分别为(10.91±4.83) mg·h/L、(3.00±1.13) mg/L、(1.62±0.30) h, 而葛根素磷脂复合物的 AUC、 $C_{max}$ 、 $t_{max}$  分别为(13.67±2.72) mg·h/L、(1.91±0.51) mg/L、(2.38±1.27) h, 统计结果表明 AUC 之间差异有显著性。结论 形成磷脂复合物可提高葛根素在 Beagle 犬体内的吸收。**关键词:**葛根素; 磷脂复合物; Beagle 犬; 体内药动学

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2006)05-0695-03

### Comparison of pharmacokinetics between puerarin and its phospholipid complex in Beagle dogs *in vivo*

LI Ying<sup>1,2</sup>, PAN Wei-san<sup>1</sup>, CHEN Shi-lin<sup>2</sup>, YANG Da-jian<sup>2</sup>, CHEN Xin-zhi<sup>2</sup>, XU Hong-xi<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;  
2. Key Laboratory of Chinese Medicine and Molecular Pharmacology, Shenzhen 518057, China;  
3. Institute of Chinese Medicine Limited, Hong Kong Jockey Club, Hong Kong, China)

**Abstract: Objective** To study the pharmacokinetics of puerarin and its phospholipid complex in Beagle dogs *in vivo*. **Methods** To determine the puerarin concentration in blood by HPLC, carry on the cross-experiments in the same group of dogs, and calculate the data using 3P97 pharmacokinetic program software. **Results** The concentration-time profiles of puerarin after ig puerarin and its phospholipid complex (equivalent to 52.5 mg/kg of puerarin) were shown to fit two-compartment open model with first-order absorption. Their AUC,  $C_{max}$ , and  $t_{max}$  for puerarin were (10.91±4.83) mg·h/L, (3.00±1.13) mg/L, and (1.62±0.30) h, while for puerarin in phospholipid complex were (13.67±2.72) mg·h/L, (1.91±0.51) mg/L, and (2.38±1.27) h, respectively. Difference in AUC is significant. **Conclusion** Phospholipid complex formation can effectively enhance puerarin absorption in Beagle dogs *in vivo*.

**Key words:** puerarin; phospholipid complex; Beagle dogs; *in vivo* pharmacokinetics

葛根素是葛根的主要有效成分之一。近年来,国内学者对葛根素的药理作用和临床应用做了大量研究<sup>[1]</sup>。但葛根素溶解度较低,仅为 0.011 mol/L(即 0.46%)<sup>[2]</sup>,临床使用的注射剂以加入助溶剂方法提高其溶解度。大鼠 ig 给药和临床口服葛根素生物利用度都比较低<sup>[3]</sup>,这在一定程度上影响了其疗效的发挥。国外文献报道,天然活性成分与磷脂在一定条件下进行复合,得到天然活性成分磷脂复合物(phytosomes 或 phospholipid complex),其理化性质和生物特性较原化合物均有不同程度的改变,具有较强的亲脂性,可有效地提高天然活性成分在体内的吸收,显著地改变其生物有效性<sup>[4,5]</sup>。因此制备

葛根素磷脂复合物,有望提高其口服生物利用度。本研究测定了葛根素及其磷脂复合物在 Beagle 犬体内的药动学,并进行了比较。

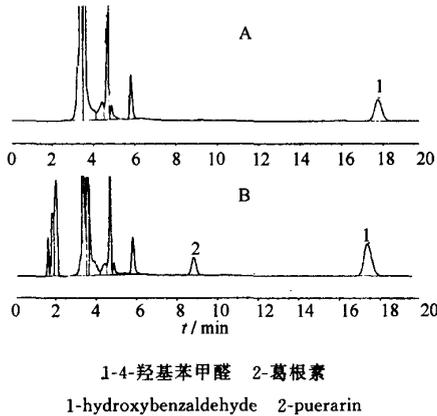
#### 1 材料

色谱纯乙腈(美国 Burdick & Jackson 公司),色谱纯甲醇(德国 Merck 公司),高效液相色谱仪(Agilent 1100 series),Beagle 犬,普通级,雄性,体重 10~13 kg,动物及动物饲料由广州市医药工业研究所 Beagle 犬基地提供。动物质量合格证号:广东省科委实验动物监测所合格证(粤检证字)第 2002A021 号。4-羟基苯甲醛(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 F20020125),葛根素对照品(中国

药品生物制品检定所,批号 752-200108),葛根素(北京协和药厂),磷脂复合物灌胃剂(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件流动相:乙腈-水(15:85),体积流量:0.7 mL/min,检测波长为 250 nm,Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 4 μm),预柱为 Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱。在选定色谱条件下,空白血清对测定无干扰。葛根素与内标物 4-羟基苯甲醛的保留时间分别为 8.84、17.75 min。色谱图见图 1。



1-4-羟基苯甲醛 2-葛根素  
1-hydroxybenzaldehyde 2-puerarin  
图 1 空白血清(A)和血清样品(B)的 HPLC 色谱图  
Fig. 1 HPLC Chromatograms of blank serum (A) and serum sample (B)

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的配制:精密称取葛根素对照品适量,配成质量浓度为 0.5 mg/mL 的葛根素甲醇溶液。从 0.5 mg/mL 葛根素甲醇溶液中精密量取 0.2、1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,得到质量浓度为 10.0、50.0 μg/mL 的葛根素对照品溶液。

2.2.2 内标溶液的配制:精密称取内标物 4-羟基苯甲醛适量,配成质量浓度为 1.0 mg/mL 的甲醇溶液。

2.3 血清样品的制备:用微量进样器精密吸取 0.5 mL 待测血清于装有内标的 1.5 mL 具塞离心管中,混匀,加入适量甲醇,于涡旋振荡器上混合均匀,离心 10 min (10 000 r/min),取上清液,经 0.2 μm PTFE 滤膜滤过后,进样 20 μL。

2.4 标准曲线的绘制:于 1.5 mL 具塞离心管中均加入 1.0 mg/mL 内标甲醇溶液 10 μL,再加入适量对照品溶液,N<sub>2</sub> 吹干。加入空白血清,以下按 2.3 项处理,进样。以对照品的峰面积(A<sub>r</sub>)与内标物的峰面积(A<sub>i</sub>)之比对质量浓度进行回归分析,得到回归方程:C=(A<sub>r</sub>/A<sub>i</sub>-0.029 4)/0.120 9, r=0.999 2。结果表明在 0.1~20.0 μg/mL,葛根素的质量浓度与峰面积比值 A<sub>r</sub>/A<sub>i</sub> 的线性关系良好。

2.5 精密度和回收率的考察:分别于空白血清中精密加入适量的高、中、低质量浓度的葛根素对照品溶液,于 1 d 内连续测定,计算得日内 RSD;连续 5 d,进行测定,得到日间 RSD。分别于 0.5 mL 空白血清中加入适量的高、中、低质量浓度的葛根素对照品溶液,按 2.3 项方法处理后进行测定,计算方法回收率,结果见表 1。

表 1 血清中葛根素测定方法的精密度和回收率试验结果 (n=5)

Table 1 Precision and recovery test of puerarin determination in serum (n=5)

加入量 (mg·L <sup>-1</sup> )	日内		日间		回收率/%
	测得量/ (mg·L <sup>-1</sup> )	RSD/ %	测得量/ (mg·L <sup>-1</sup> )	RSD/ %	
0.200	0.201±0.004 5	2.2	0.203±0.007 2	3.5	100.57±2.17
1.000	0.844±0.007 5	0.9	0.833±0.017 0	2.0	96.58±6.70
10.000	10.722±0.148 0	1.4	10.477±0.223 0	2.1	107.22±1.48

2.6 药动学参数:将受试 Beagle 犬(3 只)隔夜禁食 12 h,按 52.5 mg/kg(葛根素或相当于葛根素)的剂量口服葛根素(交叉实验间隔 7 d 后给葛根素磷脂复合物),分别于服药后第 0、10、20、30、45 min、1、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h 抽取前肢静脉血约 5 mL,静置约 60 min 后,于 3 000 r/min 离心 10 min 后,取血清,置于一 20 ℃ 冰箱中保存,待测。按 2.3 项下方法测定。结果葛根素及其磷脂复合物的葛根素血药浓度-时间数据经计算机曲线拟合,动力学行为符合开放型双室一级模型。主要动力学参数见表 2,拟合曲线见图 2。

表 2 葛根素在 Beagle 犬体内动力学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of puerarin in Beagle dogs in vivo

参数	单位	葛根素	葛根素磷脂复合物
A	μg·mL <sup>-1</sup>	15.29±7.88	11.34±9.36
α	h <sup>-1</sup>	1.697±1.35	0.522±0.278*
B	μg·mL <sup>-1</sup>	30.56±1.72	9.82±15.16*
β	h <sup>-1</sup>	0.679±0.188	0.421±0.17
k <sub>a</sub>	h <sup>-1</sup>	1.02±0.39	0.687±0.160
V/F(c)	mg·μg·mL <sup>-1</sup>	138.02±5.2	156.30±103.41
t <sub>1/2α</sub>	h	0.493±0.38	1.555±0.643*
t <sub>1/2β</sub>	h	1.069±0.27	1.817±0.628
t <sub>1/2k<sub>a</sub></sub>	h	0.741±0.24	1.042±0.217
k <sub>21</sub>	h <sup>-1</sup>	0.747±0.1	0.504±0.28
k <sub>10</sub>	h <sup>-1</sup>	0.608±0.32	0.437±0.17
k <sub>12</sub>	h <sup>-1</sup>	24.48±3.97	0.003±0.001*
AUC	mg·L <sup>-1</sup> ·h	10.91±4.83	13.67±2.72*
CL(s)	mg·h <sup>-1</sup> ·μg <sup>-1</sup> ·mL <sup>-1</sup>	65.11±25.47	58.52±21.12
t <sub>max</sub>	h	1.62±0.30	1.91±0.51
C <sub>max</sub>	μg·mL <sup>-1</sup>	3.00±1.13	2.38±1.27

两组相比,\*P<0.05

\* P<0.05 between two groups

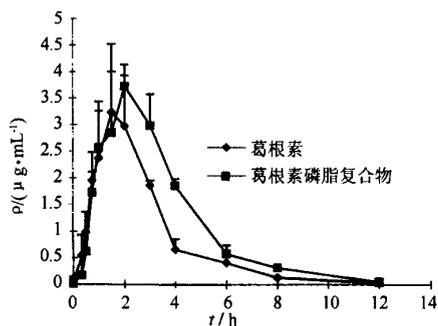


图 2 Beagle 犬口服葛根素和葛根素磷脂复合物后葛根素的血药浓度-时间曲线 (n=3)

Fig. 2 Concentration-time curves of puerarin after ig puerarin and its phospholipid complex (n=3)

### 3 讨论

本实验采用 4-羟基苯甲醛为内标的 HPLC 法测定葛根素的血药浓度,能有效、快速、简便地测定血清中葛根素的质量浓度,符合药动学研究的要求。药动学数据经 3P97 程序包曲线拟合后,动力学行为符合开放型双室一级模型。

由于葛根素难溶于水和一般有机溶剂,口服吸收差,生物利用度低,从而影响了其临床疗效。通过研制其磷脂复合物,增加其水溶性和脂溶性,改善其

生物利用度。本实验中分别对犬按 52.5 mg/kg 给药葛根素及其磷脂复合物,从结果可见:葛根素及其磷脂复合物中葛根素的 AUC 之间有显著性差异, AUC 为原水平的 1.72 倍,而达峰时间、达峰浓度之间没有显著性差异。表明葛根素磷脂复合物可改善葛根素在犬体内的吸收,从而有效提高葛根素口服的生物利用度。

致谢:本研究获得香港赛马会慈善基金资助

### References:

- [1] Zhu Q L, Lü X R. The pharmacology and clinical application of puerarin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (11): 693-696.
- [2] Wu Z H, Zu Y Q, Yan H Y, et al. The study on the solubility of puerarin and the solubilizing effect of macromolecule polymers on it [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (Suppl): 88-89.
- [3] Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences. *Modern Research of Traditional Chinese Medicine* (中草药现代化研究) [M]. Beijing: Beijing Medical University and China Union Medical University United Press, 1994.
- [4] Bialecka M. The effect of bioflavonoids and lecithin on the course of experimental atherosclerosis in rabbits [J]. *Ann Acad Med Stein*, 1997, 43: 41-44.
- [5] Gatti G, Perua E. Plasma concentrations of free and conjugated silybin after oral intake of a silybinphosphatidylcholine complex in healthy volunteers [J]. *Int Clin Pharmacol Ther*, 1994, 32 (11): 614-618.

## 人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 注射液制备工艺的研究

严铭铭<sup>1</sup>, 王旭<sup>1</sup>, 钟英杰<sup>1</sup>, 李龙云<sup>2</sup>, 曲晓波<sup>1</sup>, 赵大庆<sup>1\*</sup>

(1. 长春中医学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

**摘要:**目的 确定人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 注射液的制备条件。方法 采用正交试验法研究注射液的优化工艺条件。结果 工艺条件是:选用 25% 1,2-丙二醇与 25% 聚乙二醇 400 为混合助溶剂,不加抗氧剂,调节注射液 pH 值为 3.5~5.5。**结论** 该制备工艺稳定、可靠,可作为人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 注射液的制备工艺。

**关键词:** 人参皂苷 Rg<sub>2</sub>; 注射液; 制备工艺

**中图分类号:** R284.2; R286.02

**文献标识码:** B

**文章编号:** 0253-2670(2006)05-0697-04

### Preparation of Ginsenoside Rg<sub>2</sub> Injection

YAN Ming-ming<sup>1</sup>, WANG Xu<sup>1</sup>, ZHONG Ying-jie<sup>1</sup>, LI Long-yun<sup>2</sup>, QU Xiao-bo<sup>1</sup>, ZHAO Da-qing<sup>1</sup>

(1. Changchun College of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130021, China; 2. Jilin Academy of Traditional Chinese Medicine and Chinese Materia Medica, Changchun 130021, China)

**Key words:** ginsenoside Rg<sub>2</sub>; injection; preparation technology

人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 为本室从人参茎叶中提取的单一有效化合物,药理实验表明其具有明显改善心肌血

收稿日期:2005-10-27

基金项目:国家“九五”重大项目“1035”工程项目(96-901-01-12)

作者简介:严铭铭(1968—),女,吉林省长春市人,副教授,在读博士生,研究方向为中药化学与中药新药开发。

E-mail: yanmm595@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 赵大庆 Tel: (0431) 6178561