

杠柳毒苷在大鼠体内的组织分布

高淑红^{1,2}, 谢跃生³, 肖学风², 许妍妍², 张智禹⁴, 刘昌孝^{2,5*}

1. 山西生物应用职业技术学院, 山西 太原 030031

2. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193

3. 华北煤炭医学院, 河北 唐山 063000

4. 天津大学 化工学院, 天津 300072

5. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: **目的** 考察杠柳毒苷在大鼠体内的组织分布。**方法** 采用高效液相色谱法测定大鼠静脉注射杠柳毒苷后, 组织样品中杠柳毒苷的质量浓度。**结果** 大鼠 iv 杠柳毒苷 0.74 mg/kg, 2、10、20 min 后肝中杠柳毒苷的质量浓度分别为 (2.447±0.687)、(0.631±0.272)、(0.292±0.228) μg/g, 在肝中最高, 其次是肾、心、肺、脾和脑。**结论** 杠柳毒苷静脉注射后, 在大鼠体内分布迅速, 主要分布于肝、肾和心中。

关键词: 杠柳毒苷; 组织分布; 肝; 肾; 心; 高效液相色谱

中图分类号: R285.5; R293 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5515(2011)02-0116-03

In vivo tissue distribution of periplocin in rats

GAO Shu-hong^{1,2}, XIE Yue-sheng³, XIAO Xue-feng², XU Yan-yan², ZHANG Zhi-yu⁴, LIU Chang-xiao^{2,5}

1. Shanxi Biological Application Vocational School, Taiyuan 030031, China

2. College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

3. North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China

4. School of Chemical Engineering & Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

5. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To investigate the *in vivo* tissue distribution of periplocin in rats. **Methods** An established HPLC-UV method was utilized to determine tissue concentrations of periplocin after iv injection. **Results** After a single iv dose 0.74 mg/kg to rats, periplocin concentrations in 2, 10, and 20 min was (2.447±0.687), (0.631±0.272), and (0.292±0.228) μg/g in liver, respectively. So the periplocin concentration was maximum in liver followed by kidney, heart, lung, spleen, and brain. **Conclusion** Periplocin is distributed in rat tissues rapidly following iv injection, and could be mainly distributed in liver, kidney, and heart.

Key words: periplocin; tissue distribution; liver; kidney; heart; HPLC

杠柳毒苷是一种具有甾核和不饱和五元内酯环结构的甲型强心苷, 其化学结构式含杠柳苷元-D-(加拿大麻糖)-D-(葡萄糖)。作为治疗心衰中药香加皮的主要强心成分^[1-2], 杠柳毒苷具有作用速度快, 持续时间短等特点^[3-5]。本课题组已进行的血浆药动力学研究表明, 杠柳毒苷吸收、消除迅速^[6-7]。关于杠柳毒苷的体内过程研究较少。本实验通过前期已建立的大鼠血浆中杠柳毒苷的检测方法, 对其在

大鼠体内的组织分布进行研究。

1 仪器与试剂

Waters 515 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器 (美国 Waters 公司); Gilson AS-PEC Xli 型全自动固相萃取仪 (法国 Gilson 公司); 台式离心机 (美国 Beckman 公司); 氮吹仪 (美国 Organomation 公司); 玻璃组织匀浆器、C₁₈ 型固相萃取小柱 (天津双吉仪器有限公司); 超纯水系统 (美国 Millipore

收稿日期: 2011-01-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973932); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20070063001)

作者简介: 高淑红, 在读硕士, 主要从事中药药物制剂分析。E-mail: hongmantuo@163.com

*通讯作者 刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: liuchangxiao@163.com

公司)。水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

杠柳毒苷对照品(自制,质量分数大于98%)、内标地高辛(批号100015-200308)均购自中国药品生物制品检定所。

雄性 Wistar 大鼠,级别 SPF,体质量(225±25) g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 No.0002845。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent 公司 Zorbax SB-C₁₈(100 mm×2.1 mm, 3.5 μm) 色谱柱,保护柱为 Agilent Zorbax C₁₈(12.5 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(25:75);体积流量 1.0 mL/min;柱温 25 °C;检测波长 220 nm;进样量 20 μL。

2.2 给药与组织样品采集

健康雄性 Wistar 大鼠 15 只,随机分成 2、10、20 min 3 个时间组,每组 5 只。以杠柳毒苷筛选后的有效剂量 0.74 mg/kg 给大鼠尾 iv,给药体积为 2 mL/kg。给药前自由摄食、饮水。3 组动物分别于给药前和给药后 2、10、20 min 乙醚麻醉后股动脉放血处死,立即取心、肝、脾、肺、肾、脑,以生理盐水漂洗除去残留血液,以滤纸吸干表面水分。称定质量,按 1 g:3 mL 的比例,加入水,于玻璃匀浆器中充分匀浆后于-20 °C 冷冻保存;血液抗凝离心后,分离血浆,-20 °C 冷冻保存至测定。

2.3 组织样品处理

取大鼠组织样品 0.25 mL,加入内标地高辛(1.0 μg/mL)置 10 mL 具塞玻璃离心管中,加入 1.5 mL 甲醇,涡旋 1 min,12 000 r/min 离心 3 min,取上清液于 40 °C 水浴氮气吹干。1 mL 超纯水复溶,涡旋 1 min,上预先以 1 mL 甲醇和 1 mL 水(体积流量 1 mL/min)活化好的 C₁₈ 型固相萃取小柱(规格为 100 mg),上样保持 1 min 后,用 40% 甲醇 1 mL 洗涤,1 mL 甲醇洗脱,体积流量 1 mL/min。收集甲醇洗脱液,于 40 °C 水浴氮气吹干。残渣以 100 μL 流动相复溶,涡旋 1 min,离心 5 min,取上清液,即得。

2.4 方法专属性

分别取 6 只大鼠空白组织匀浆(心、肝、脾、肺、肾、脑)各 1.0 mL,按 2.3 项下操作,进样测定,得空白组织色谱图。分别取上述各空白组织匀浆,加入杠柳毒苷对照品溶液(1.0 μg/mL),按 2.3

项下其余内容操作,进样测定,获得相应的色谱图。取大鼠静脉注射杠柳毒苷后的组织匀浆样品,按 2.3 项下其余内容操作,进样测定,得给药后的各组织样品色谱图,见图 1。结果表明,组织中内源性物质不干扰杠柳毒苷和内标地高辛的测定。

2.5 标准曲线与定量下限

取空白组织匀浆 1.0 mL,加入杠柳毒苷对照品系列溶液,按 2.3 项下操作,每一个质量浓度进行双样本分析。以待测物质量浓度为横坐标,待测物与内标物地高辛的峰面积比值为纵坐标,用加权最小二乘法进行回归运算,得回归方程。心: $Y=1.075 X-4 829, r=0.999 1$; 肝: $Y=0.962 5 X+2.240 \times 10^{-3}, r=0.999 0$; 脾: $Y=0.949 X+1.801 \times 10^{-3}, r=0.993 8$; 肺: $Y=0.970 X+2.182 \times 10^{-3}, r=0.994 9$; 肾: $Y=0.997 3 X+0.051 7 \times 10^{-3}, r=0.994 4$; 脑: $Y=1.071 X-4.751 \times 10^{-3}, r=0.999 3$ 。肝、脾、肺和肾的线性范围为 0.025~5.000 μg/mL,定量下限为 0.025 μg/mL;心和脑线性范围为 0.050~5.000 μg/mL,定量下限为 0.050 μg/mL。

2.6 组织样品测定

大鼠尾 iv 杠柳毒苷(0.74 mg/kg)2、10、20 min 的组织分布数据见表 1。

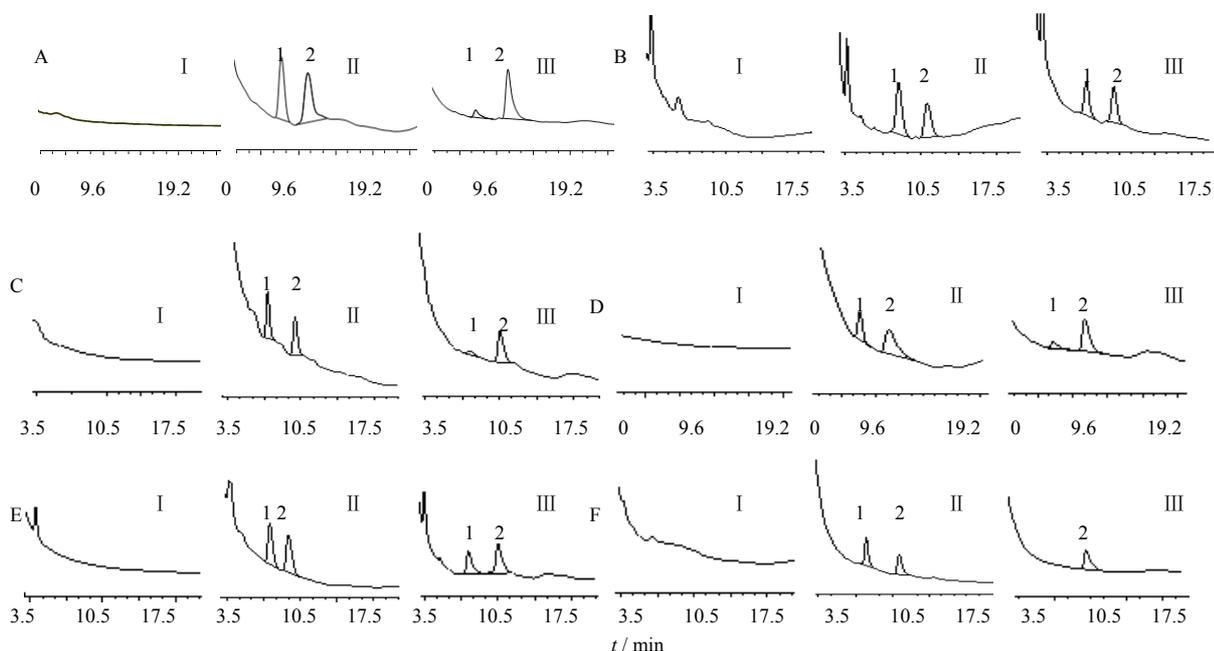
表 1 大鼠尾 iv 杠柳毒苷的体内组织分布数据 (n=5)
Table 1 *In vitro* distribution data of periplocin after iv injection in rat tail (n=5)

组织	杠柳毒苷/(μg·g ⁻¹)		
	2 min	10 min	20 min
肝	2.447±0.687	0.631±0.272	0.292±0.228
肾	1.874±0.410	0.223±0.078	—
心	0.385±0.118	0.125±0.115	0.358±0.224
肺	0.365±0.150	—	—
脾	0.278±0.003	—	—
脑	—	—	—
血浆	1.962±0.244	0.413±0.049	0.162±0.107

—未检测到
—not detected

3 讨论

组织分布实验结果表明,大鼠静脉给药杠柳毒苷后,各组织中杠柳毒苷的质量浓度由高到低依次为肝>血>肾>心>肺>脾>脑。给药 2 min 后,杠柳毒苷能较快分布到除脑以外的各组织,并且在血流灌注充分的肝、肾、心中质量浓度较高。脑中各时间点均未测到杠柳毒苷,这可能与杠柳毒苷极



I-空白组织 II-加入杠柳毒苷和内标地高辛的空白组织 III-加内标地高辛的给药组织样品 1-杠柳毒苷 2-内标地高辛

I-blank tissue II-blank tissue spiked with periplocin and internal standard Digoxin III- sample spiked with internal standard Digoxin 1-periplocin 2- internal standard Digoxin

图 1 给药后心 (A)、肝 (B)、脾 (C)、肺 (D)、肾 (E) 和脑 (F) 组织的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of heart (A), liver (B), spleen (C), lung (D), kidney (E), and brain (F) tissues after iv injection

性偏强, 不易透过血脑屏障有关。2 min 时心与血浆中杠柳毒苷质量浓度之比为 0.2, 10 min 时比值升高为 0.3, 20 min 时比值升高为 2.2。给药后, 血流灌注充分的肝、肾等组织中杠柳毒苷质量浓度随时间迅速减少, 其衰减趋势与血浆相似, 表明其在这些组织的分布与血流灌注有密切关联。

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 中华本草 [M]. 第 6 册. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
 [2] 王丽萍, 刘建利. 香加皮的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 493-496.
 [3] Itokawa H, Xu J P, Takeya K, et al. Studies on chemical

constituents of anti-tumor fraction from *Periploca sepium* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(3): 982-984.

[4] 徐利强, 卢红治, 张雅莉. 北五加皮合剂治疗慢性充血性心力衰竭 147 例临床观察 [J]. 云南中医中药杂志, 1998, 19(4): 29-30.
 [5] 王敏, 贾燕平. 抗心衰中药复方参加片的临床研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(2): 135-136.
 [6] 阙红玉, 谢跃生, 王跃飞, 等. HPLC 法测定小鼠血浆中杠柳毒苷的血药浓度 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1493-1496.
 [7] 周福军, 谢跃生, 肖学风, 等. 静脉注射杠柳毒苷在大鼠体内的药理学研究 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(2): 81-84.