

• 研究论文 •

杠柳毒苷在大鼠体内的药动学研究

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

1. 天津药物研究院, 天津 300193
2. 南开大学 药学院, 天津 300071
3. 华北煤炭医学院, 河北 唐山 063000
4. 天津中医药大学 中药学院, 天津 300193
5. 天津大学 化工学院, 天津 300072

摘要: 目的 考察杠柳毒苷 iv 给药在大鼠体内的药动学过程。方法 大鼠 iv 给予低、中、高剂量 (0.37、0.74、1.48 mg/kg) 杠柳毒苷后于不同时间点采血, 血浆样品经甲醇沉淀蛋白-C₁₈ 固相萃取处理, HPLC-UV 法测定不同时间点大鼠血浆中杠柳毒苷药物浓度。用 DAS 药动学数据软件计算药动学参数。结果 低、中、高剂量组杠柳毒苷的分布相半衰期 $t_{1/2\alpha}$ 分别为 1.49、2.32、3.48 min, 消除相半衰期 $t_{1/2\beta}$ 分别为 14.00、12.37、15.44 min, 无显著性差异。AUC₀₋₆₀ 分别为 8.581、19.782、50.615 mg/L·min, 与剂量呈线性相关。结论 杠柳毒苷 iv 给药在大鼠体内分布及消除迅速, 其体内过程符合二房室模型, 在 0.37~1.48 mg/kg 符合线性动力学过程。

关键词: 杠柳毒苷; 香加皮; 药动学; 高效液相色谱; 二房室模型

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)02-0081-04

Pharmacokinetic studies of periplocin in rats after intravenous injection

ZHOU Fu-jun^{1,2}, XIE Yue-sheng³, XIAO Xue-feng⁴, XU Yan-yan⁴, ZHANG Zhi-yu⁵, LIU Chang-xiao^{1,4}

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
2. School of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China
3. North China Coal Medical University, Tangshan 063000, China
4. College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
5. School of Chemical Engineering & Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: Objective To investigate the *in vivo* pharmacokinetic properties of periplocin from *Periplocae Cortex* in rats after iv injection. **Methods** Low, medium, and high dosage of periplocin were administered to rats respectively and blood was sampled at designed time points. Plasma samples were pretreated by protein precipitation with methanol, followed by solid-phase extraction with a C₁₈ cartridge. Plasma concentrations of periplocin were determined by HPLC-UV method. Main pharmacokinetic parameters were calculated with DAS software. **Results** After single iv injection with doses of 0.37, 0.74, and 1.48 mg/kg to rats, $t_{1/2\alpha}$ of periplocin were 1.49, 2.32, and 3.48 min, respectively; $t_{1/2\beta}$ were 14.00, 12.37, and 15.44 min, respectively, without significant differences. AUC₀₋₆₀ were 8.581, 19.782, and 50.615 mg/L·min, respectively. The AUCs were found to be linearly correlated with dosages. **Conclusion** Periplocin shows the rapid distribution and elimination in rats after iv injection. Pharmacokinetics of periplocin fits best to a two-compartment model with first order kinetics. Amount of *in vivo* exposure is positively correlated with dosage over the dose range of 0.37—1.48 mg/kg.

Key words: periplocin; *Periplocae Cortex*; pharmacokinetics; HPLC; two-compartment model

杠柳毒苷 (periplocin) 是香加皮的主要效应成分和有毒成分, 其药理效应与香加皮的功效密切相关^[1-5]。临床上香加皮作为传统中药多用于治疗慢性充血性心衰^[6], 常见不良反应和致死病例的报

收稿日期: 2010-12-20

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: 周福军, 副研究员, 从事中药新药研究与开发。E-mail: fujun_zhou@126.com

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

道^[6-10], 这和人们对于杠柳毒苷的体内过程认识不十分清楚, 导致用量过大、时间过长有密切关系。杠柳毒苷易受肝肾功能等多种因素的影响, 而且安全范围狭窄, 特别是与其他强心苷类药物合并使用时, 可能会加重两者的不良反应。因此研究杠柳毒苷动物体内药物动力学过程, 对香加皮中药制剂的安全使用非常关键。本实验建立杠柳毒苷在大鼠血浆中的 HPLC-UV 定量分析方法, 并研究了不同剂量杠柳毒苷 iv 给药后在大鼠体内的药动学过程。

1 材料与试剂

1.1 仪器

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); 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 公司)。

1.2 药品与试剂

杠柳毒苷对照品 (自制, 质量分数大于 98%), 地高辛对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 100015-200308), 水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

1.3 实验动物

Wistar 大鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 (225 ± 25) g, 北京维通利华实验动物销售公司。

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 血浆样品处理

固相萃取小柱 (C₁₈, 100 mg), 预先以 1 mL 甲醇活化, 1 mL 水冲洗 (体积流量 1 mL/min), 待用。取大鼠血浆 0.25 mL, 加入内标地高辛 (1.0 μg/mL) 至 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, 于 40 °C 水浴氮气吹干。加入 1 mL 超纯水, 涡旋重溶 1 min, 上预先活化好的固相萃取小柱。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, 取上清液进样 20 μL。

2.3 方法专属性

分别取 6 只大鼠空白血浆各 0.25 mL, 除不加内标外, 其余按 “2.2” 项下操作, 进样测定, 获得空白血浆色谱图 (图 1-A)。取上述混合空白血浆 0.25 mL, 加入杠柳毒苷标准溶液 (0.05 μg/mL), 按 “2.2” 项下其余内容操作, 进样测定, 获得相应的色谱图 (图 1-B)。在该测定条件下杠柳毒苷和地高辛的保留时间分别为 7.5、10.4 min。取大鼠 iv 给予杠柳毒苷后的血浆样品依同法操作, 获得给药后的血浆样品色谱图 (图 1-C)。结果表明, 空白血浆中内源性物质不干扰杠柳毒苷和内标地高辛的测定。

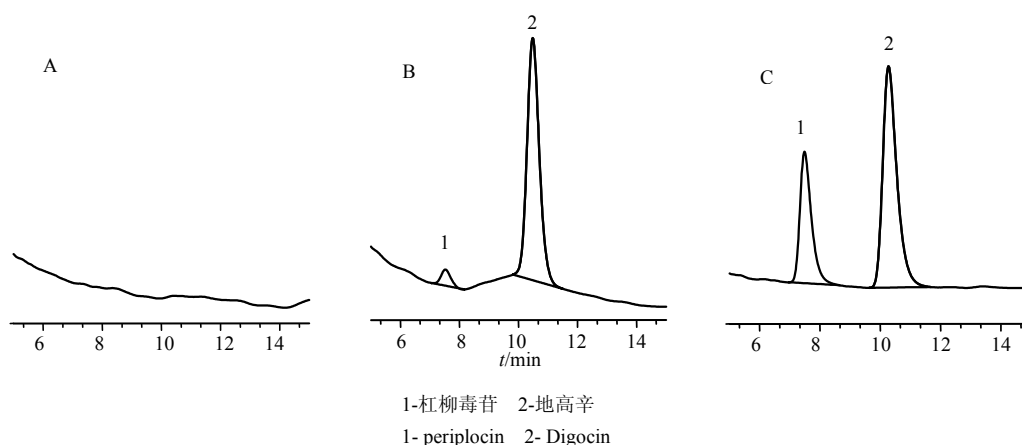


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加 0.05 μg/mL 杠柳毒苷和 1.0 μg/mL 地高辛样品 (B) 及 iv 杠柳毒苷后的大鼠血浆样品 (C) HPLC 图

Fig. 1 Chromatograms of blank plasma (A), blank plasma sample spiked with 0.05 μg/mL periplocin and 1.0 μg/mL Digocin (B), and plasma sample following iv injection of 0.37 mg/kg periplocin (C) of rats

2.4 标准曲线与定量下限

取空白大鼠血浆 0.25 mL, 加入杠柳毒苷对照品系列溶液, 配制成相当于杠柳毒苷质量浓度为 0.025、0.05、0.25、1.00、5.00、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆样品, 从加入内标溶液起按“2.2”项下内容操作, 每一质量浓度进行双样本分析, 以待测物质量浓度为横坐标 (X), 待测物与地高辛 (内标物) 的峰面积比值为纵坐标 (Y), 用加权最小二乘法进行回归运算, 求得的直线回归方程。连续测定 3 个分析批。典型血浆样品标准曲线为 $Y=0.966X-0.0041$, $r=0.9988$; 血浆中杠柳毒苷测定的线性范围为 0.025~10.0 $\mu\text{g/mL}$, 定量下限为 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.5 精密度与准确度试验

按“2.4”项下配制杠柳毒苷低、中、高 3 个质量浓度 (0.05、1.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$) 溶液。按“2.2”项内容操作, 每一质量浓度进行 5 样本分析, 连续测定 3 个分析批 (与标准曲线同时进行)。根据当日标准曲线, 计算质控 (QC) 样品的测得浓度, 与配制浓度对照, 求得测定方法的准确度在 101.5%~108.3%, 日内和日间精密度 (RSD) 均小于 8.3%。

2.6 提取回收率

按“2.4”项下配制杠柳毒苷低、中、高 3 个质量浓度 (0.05、1.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$) 的 QC 样品。按“2.2”项内容操作, 以药物在血浆中经过提取处理后测定的峰面积与相应质量浓度的标准工作液直接吹干用流动相复溶后测定的峰面积相比, 计算杠柳毒苷和地高辛的提取回收率及其 RSD 值。每一质量浓度进行 5 样本分析。杠柳毒苷低、中、高 3 个质量浓度组的提取回收率分别为 72.5%、75.6%、73.6%, RSD 分别为 4.9%、3.1%、2.0%; 内标地高辛回收率为 77.7%, RSD 为 3.3%。

2.7 稳定性试验

按“2.4”项下配制杠柳毒苷低、中、高 3 个质量浓度 (0.05、1.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$) 的 QC 样品。血浆样品稳定性考察内容包括: (1) 未经处理的血浆样品室温放置 4 h 的稳定性; (2) 未经处理的血浆样品 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冻存 48 h 的稳定性; (3) 未经处理的血浆样品 -20 $^{\circ}\text{C}$, 3 次反复冻融后的稳定性; (4) 经预处理、流动相复溶后的样品在 20 $^{\circ}\text{C}$ 样品盘放置 5 h 的稳定性。结果各血浆样品测定值与新鲜配制的 QC 样品测定值比较, 准确度在 85%~115%, RSD 为 8.3%, 表明杠柳毒苷大鼠血浆样品在不同条件下放置稳定。

2.8 杠柳毒苷在大鼠体内的药动力学试验

雄性 Wistar 大鼠 30 只, 随机分成 3 组 (0.37、0.74、1.48 mg/kg, 2 只大鼠交错药时数据组成完整药时曲线, $n=5$), 尾 iv 给予杠柳毒苷。分别于给药前及给药后 2、5、10、15、20、30、40、60 min 经大鼠眼球后静脉丛采集血约 0.5 mL, 肝素抗凝, 离心, 分离血浆, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存至测定。血浆样品测定按“2.2”项下内容操作, 每天建立一条标准曲线, 同时配制血浆低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品, 根据当日标准曲线计算未知样品和 QC 样品浓度。大鼠 iv 给予低、中、高 3 个剂量杠柳毒苷后平均血药浓度-时间曲线见图 2, 所得实验数据以 DAS 药动力学软件拟合房室模型并求算各剂量的药动力学参数, 见表 1。

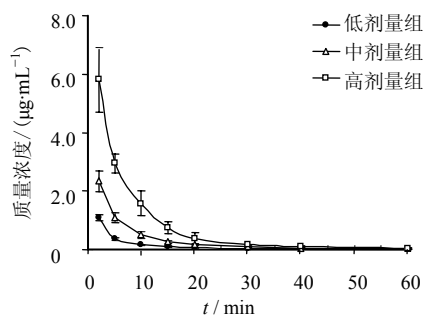


图2 大鼠 iv 给予不同剂量杠柳毒苷后的平均血药浓度-时间曲线 ($n=5$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of different dosages of periplocin after iv injection ($n=5$)

3 讨论

大鼠 iv 给予 3 个剂量 (0.37、0.74、1.48 mg/kg) 试药后, 经房室模型拟合, 杠柳毒苷体内过程符合二房室模型 (权重 $1/c$), 其分布相半衰期 $t_{1/2\alpha}$ 分别为 1.49、2.32、3.48 min, 消除相半衰期 $t_{1/2\beta}$ 分别为 14.00、12.37、15.44 min, 表明杠柳毒苷在体内迅速分布、快速消除。将低、中、高剂量药时曲线下面积 AUC_{0-60} 归一化到 0.74 mg/kg 剂量后, 经方差分析差异无显著性 ($P>0.05$), 同时进行剂量相关性分析 ($r>0.99$), 3 个剂量组的药时曲线下面积与剂量线性相关。表明 3 个剂量 iv 给药, 杠柳毒苷在大鼠体内具有线性动力学特征。

杠柳毒苷在大鼠体内的表现分布容积 (V_d)、 k_{12} 和清除率 (CL) 随给药剂量的倍增呈对应比例下降, 表明杠柳毒苷进入血液系统后, 当杠柳毒苷的血浆浓度增加时, 反而不易向周边组织扩散, 并且肾清除率显著减小。

表1 大鼠 iv 不同剂量杠柳毒苷后的药动学参数 ($n=5$)
Table 1 Mean pharmacokinetic parameters of periplocin in rats after iv injection ($n=5$)

参 数	单 位	不同剂量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组的 参数值		
		0.37	0.74	1.48
$t_{1/2\alpha}$	min	1.495 1	2.325 3	3.485 1
$t_{1/2\beta}$	min	14.005 7	12.373 6	15.441 4
Vd	L	0.845 8	0.325 5	0.159 4
CL	$\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$	0.041 9	0.018 2	0.007 2
AUC_{0-60}	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}$	8.581 4	19.782 1	50.615 1
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}$	8.839 5	20.293 2	51.714 9
k_{10}	min^{-1}	0.278 0	0.191 1	0.156 6
k_{12}	min^{-1}	0.152 6	0.075 6	0.030 1
k_{21}	min^{-1}	0.082 5	0.087 4	0.057 0

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] 李玉红, 高秀梅, 张伯礼, 等. 香加皮提取物对离体心脏功能的影响 [J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(4): 396-397.
- [3] 张援虎, 陈东林. 峨眉杠柳化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(5): 772-774.
- [4] 刘虹, 王萌, 杨虹. HPLC 法测定香加皮提取物中杠柳毒苷和杠柳苷元 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1355-1356.
- [5] 高淑红, 谢跃生, 尚学凤, 等. 杠柳毒苷在大鼠体内的组织分布 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 116-118.
- [6] 董波, 万玉, 李婷. 益气强心饮治疗慢性心力衰竭 34 例分析 [J]. 中医药学刊, 2004, 22(6): 1132.
- [7] 马力行, 李爱. 北五加皮引起心房纤颤 1 例 [J]. 边国医论坛, 1994, 9(2): 30.
- [8] 红英. 用北五加皮出现四例心律紊乱 [J]. 内蒙古中医药, 1987, (3): 29.
- [9] 戴伟川. 北五加皮中毒致严重心律失常 1 例 [J]. 实用中西医结合杂志, 1992, (5): 312.
- [10] 陈颖萍, 李国信, 张锡玮, 等. 香加皮临床应用情况及不良反应预防 [J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(6): 598.

《中草药》杂志 2011 年征订启事

《中草药》杂志是由中国药学会和天津药物研究院共同主办的国家级期刊, 月刊, 国内外公开发刊。

本刊创刊于 1970 年 1 月, 1992 年荣获首届全国优秀科技期刊评比一等奖; 2001 年荣获中国期刊方阵“双奖期刊”; 2003 年荣获第二届国家期刊奖; 2005 年荣获第三届国家期刊奖提名奖; 2005—2010 年连续 6 年荣获“百种中国杰出学术期刊”; 2008 年度荣获“中国精品科技期刊”; 2009 年荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 2011 年荣获“第二届中国出版政府奖”(国家新闻出版行业的最高奖)。本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊。多年来一直入选“CA 千刊表”, 并被美国《国际药理学文摘》(IPA)、荷兰《医学文摘》(EM)、荷兰《斯高帕斯数据库》(Scopus)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich PD)、世界卫生组织西太平洋地区医学索引(WPRIM)、波兰《哥白尼索引》(IC)、英国《质谱学通报(增补)》(MSB-S)、日本科学技术振兴机构中国文献数据库(JST)、美国剑桥科学文摘社(CSA)数据库等国际著名检索系统收录。

本刊主要报道中草药化学成分; 药剂工艺、生药炮制、产品质量、检验方法; 药理实验和临床观察; 药用动、植物的饲养、栽培、药材资源调查等方面的研究论文, 并辟有中药现代化论坛、综述、短文、新产品、企业介绍、学术动态和信息等栏目。

承蒙广大作者、读者的厚爱和大力支持, 本刊稿源十分丰富。为了缩短出版周期, 增加信息量, 2011 年本刊由 A4 开本每期 168 页扩版为 208 页, 定价 35.00 元。国内邮发代号: 6—77, 国外代号: M221。请到当地邮局订阅。

欢迎广大作者踊跃投稿, 欢迎广大读者订阅, 欢迎与中外制药企业合作, 宣传推广、刊登广告(包括处方药品广告)。

中草药杂志社开通网上在线投稿系统。请登陆天津中草药杂志社网站: <http://www.中草药杂志社.中国或www.tiprpress.com> 点击进入 4 刊网页, 在页面左侧有“作者登录”链接, 第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿; 作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。

《中草药》杂志编辑部

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号(300193)

电话: (022) 27474913 23006821

传真: (022) 23006821

E-mail: zcy@tiprpress.com

网址: www.中草药杂志社.中国, www.tiprpress.com