

• 研究论文 •

杜鹃素在大鼠体内的药动学研究

鲁滔滔, 梁泰刚, 班树荣, 李青山*

山西医科大学药学院, 山西 太原 030001

摘要: 目的 研究杜鹃素在正常大鼠体内的药动学特征。方法 杜鹃素单剂量 ig 给予大鼠后, 采用 HPLC 法测定给药后不同时间点大鼠血浆中的杜鹃素, 通过 DAS 软件程序模拟计算, 得出杜鹃素在大鼠体内相应的药动学参数。结果 杜鹃素在大鼠体内的药动学模型符合二室模型, 主要药动学参数为: $t_{1/2\alpha} = (0.33 \pm 0.10)$ h, $t_{1/2\beta} = (15.22 \pm 8.98)$ h, $CL/F = (14.89 \pm 3.45)$ L/(h·kg), $C_{\max} = (1.61 \pm 0.14)$ mg/L, $T_{\max} = (0.25 \pm 0.01)$ h, $MRT_{(0-t)} = (2.35 \pm 0.08)$ h, $AUC_{(0-t)} = (3.06 \pm 0.16)$ mg·h/L。结论 本研究建立的 HPLC 方法专属性强, 简便、准确, 可用于杜鹃素在大鼠体内的药动学研究; 大鼠 ig 给予杜鹃素后, 其在血浆中分布较快, 半衰期较短。

关键词: 杜鹃素; 药动学; 高效液相色谱法; 二房室模型

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)02-0081-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.001

In vivo pharmacokinetic study on farrerol in rats

LU Tao-tao, LIANG Tai-gang, BAN Shu-rong, LI Qing-shan

School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To study the *in vivo* pharmacokinetic characteristics of farrerol in normal rats. **Methods** The plasma concentration of farrerol in rats after ig single-dose administration was determined by HPLC and the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS software. **Results** The plasma concentration-time curve of farrerol was fitted to two-compartment model, and the main pharmacokinetic parameters were as follows: $t_{1/2\alpha}$ of (0.33 ± 0.10) h, $t_{1/2\beta}$ of (15.22 ± 8.98) h, CL/F of (14.89 ± 3.45) L/(h·kg), C_{\max} of (1.61 ± 0.14) mg/L, T_{\max} of (0.25 ± 0.01) h, $MRT_{(0-t)}$ of (2.35 ± 0.08) h, and $AUC_{(0-t)}$ of (3.06 ± 0.16) mg·h/L. **Conclusion** The established HPLC method is specific, simple, and accurate, and could be used to study the pharmacokinetics of farrerol in rats. Rapid distribution and short half-life of farrerol in rat plasma are observed after ig administration.

Key words: farrerol; pharmacokinetics; HPLC; two-compartment model

杜鹃素 (farrerol) 属于二氢黄酮类化合物, 其化学名为 5, 7-二羟基-2-(4-羟基苯基)-6, 8-二甲基-2, 3-二氢苯并吡喃-4-酮, 是满山红及其他杜鹃属药用植物中的一种有效成分^[1-2], 现已能人工合成^[3-4]。药理学实验表明, 杜鹃素具有明确的祛痰作用, 可直接作用于呼吸道黏膜, 促进纤毛运动, 增强气管、支气管机械清除异物的功能, 使痰黏度下降, 痰液变稀, 易于咳出。此外, 杜鹃素对皮肤烫伤性炎症渗出也有一定的抑制作用^[5]。目前, 杜鹃素在临床上

主要用于慢性气管炎所致的痰多黏稠等呼吸系统疾病的治疗。

药动学是应用动力学原理与数学处理方法, 定量的描述药物通过各种途径进入体内的吸收、分布、代谢、排泄过程的“时量”变化或“血药浓度经时”变化动态规律的一门科学^[6], 是评价药物疗效与毒性的基础, 它不仅在临床前药理研究阶段, 而且在新药研究的所有阶段都有很重要的作用^[7]。虽然国内外针对杜鹃素的药理作用进行了大量的研究^[8],

收稿日期: 2013-01-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81172938)

作者简介: 鲁滔滔, 男, 硕士, 研究方向为药物代谢动力学。Tel: (0351)4934148 E-mail: luttiao@163.com

*通信作者 李青山, 男, 博士, 教授, 博导, 研究方向为基于代谢和机制研究的药物设计合成、中药及天然药物的药效物质基础研究。

Tel: (0351)4690322 E-mail: sxlqs2012@163.com

但对其在动物体内的药动学研究还未见报道,故本文采用 HPLC 法建立了杜鹃素在大鼠血浆中的检测方法,并较系统地研究杜鹃素在大鼠体内的药动学特征,为其制剂研究、临床应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

岛津 LC-10AD 高效液相色谱仪 (LC-10AT 二元泵, DGU-12A 真空脱气机, SPD-10A 紫外检测器, LcSolution 色谱工作站), BP121S 精密电子天平 (上海君达仪器仪表有限公司), TGL-16G 飞鸽牌台式离心机 (上海市安亭科学仪器厂), QL-901 涡旋仪 (海门市其林贝尔仪器制造公司)。

1.2 试剂

杜鹃素对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号 110850-200604), 杜鹃素原料药 (山西医科大学药学院药物合成实验室提供, 质量分数 $\geq 99.0\%$), 2-(呋喃-2-基)-5, 7-二羟基-6, 8-二甲基-2, 3-二氢苯并吡喃-4-酮 (山西医科大学药学院药物合成实验室提供, 质量分数 $\geq 99.0\%$) 甲醇 (色谱纯, 天津四友精细化学品有限公司), 乙腈 (色谱纯, 天津四友精细化学品有限公司), 水为三蒸水, 其余试剂为分析纯。

1.3 动物

健康雄性 SD 大鼠, 体质量 (200 \pm 20) g, 清洁级, 由山西医科大学实验动物中心提供, 实验动物合格证号为 SCXK(晋)2009-0001。

2 方法

2.1 色谱条件

Diamonsil C₁₈ (150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流动相为甲醇-乙腈-0.5%醋酸水溶液 (62:5:33); 体积流量 0.8 mL/min; 检测波长 296 nm; 柱温 25 $^{\circ}$ C; 进样量 20 μ L; 内标 (IS) 为 2-(呋喃-2-基)-5, 7-二羟基-6, 8-二甲基-2, 3-二氢苯并吡喃-4-酮。

2.2 对照品及内标溶液的制备

精密称取干燥至质量不变的杜鹃素对照品适量, 加入甲醇制成含杜鹃素 0.5 mg/mL 的对照品溶液。精密称取干燥至质量不变的内标适量, 加甲醇制成质量浓度为 1 mg/mL 的内标储备溶液, 置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中备用。

2.3 血浆样品处理

取血浆 150 μ L 置 1.5 mL EP 管中, 加入色谱甲醇 50 μ L 及内标溶液 (20 mg/L) 50 μ L, 摇匀, 涡旋混悬 2 min, 再加入乙醚 800 μ L, 涡旋混悬 2 min 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 置 N₂ 流下吹

干^[9-10], 再加入 200 μ L 甲醇, 涡旋混悬 2 min, 13 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 取续滤液 20 μ L 进样分析。

2.4 药动学研究

取健康雄性 SD 大鼠 6 只, 实验前禁食 12 h, 自由饮水, 单剂量 ig 杜鹃素 100 mg/kg, 分别于给药后 5、10、15、20、30、45、60、90、120、180、240、360 min 大鼠眼眶静脉丛取血 0.5 mL, 置于经肝素处理过的 EP 管中, 经 5 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液 150 μ L 置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。按“2.1”项下色谱条件测定杜鹃素。

2.5 数据处理

血药浓度-时间数据用 DAS 2.0 软件进行处理, 得出药动学参数。

3 结果

3.1 杜鹃素的色谱特征

按“2.1”项下色谱条件, 血浆中的内源性物质不干扰杜鹃素的测定, 且血浆中杜鹃素与内标的保留时间分别为 9.7 min 和 12.8 min, 二者能够完全分离且峰形良好, 能满足生物样品分析的检测要求。结果见图 1。

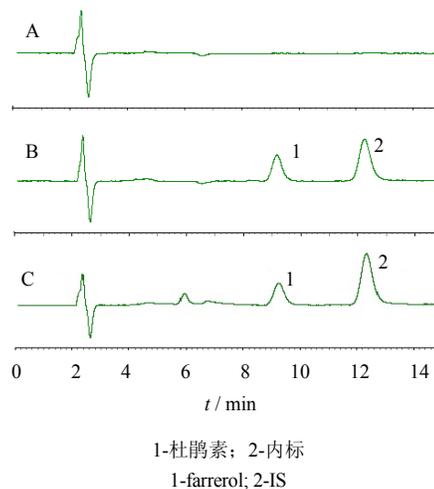


图 1 大鼠空白血浆 (A)、大鼠空白血浆+杜鹃素对照品+内标溶液 (B)、大鼠 ig 杜鹃素 30 min 后血浆+内标溶液 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank rat plasma (A), blank rat plasma spiked with farrerol reference substance and IS solution (B), and plasma of rat in 30 min after ig administration of farrerol spiked with IS solution (C)

3.2 方法学考察

3.2.1 线性关系和灵敏度考察 取大鼠空白血浆

150 μL , 分别精密加入杜鹃素对照品溶液 50 μL , 内标溶液 50 μL , 使血浆中杜鹃素的终质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 mg/L , 按照“2.3”项对样品进行处理, 按“2.1”项分析, 用杜鹃素与内标峰面积比值对样品中杜鹃素终质量浓度进行线性回归, 得线性回归方程为 $Y=0.2981X-0.0336$ ($r=0.9990$), 线性范围为 0.1~20 mg/L , 当杜鹃素的峰高分别为仪器噪音的 3 倍和 10 倍时, 测得血浆中杜鹃素的检测限和定量限分别为 0.03 mg/L 和 0.1 mg/L 。

3.2.2 精密度和准确度考察 取大鼠空白血浆 150 μL , 配制高、中、低 (20、2、0.2 mg/L) 3 种质量浓度的杜鹃素对照品血浆样品溶液, 按照“2.3”项下方法进行处理后, 每一浓度进行 5 次样本分析, 连续测定 3 d, 计算精密度和准确度, 结果见表 1。

3.2.3 提取回收率考察 取大鼠空白血浆 150 μL , 配制高、中、低 (20、2、0.2 mg/L) 3 种质量浓度的杜鹃素对照品血浆样品溶液, 按照“2.3”项进行处理后, 每一质量浓度进行 5 次样本分析, 以血浆处理后进样的色谱峰面积分别与用甲醇配制而成的相同质量浓度的对照品溶液直接进样获得的色谱峰面积之比计算提取回收率, 结果见表 1。

3.2.4 稳定性考察 用空白血浆分别制备高、中、低 (20、2、0.2 mg/L) 3 种质量浓度的杜鹃素对照品血浆溶液, 按“2.3”项下方法进行处理后, 考察

表 1 杜鹃素在大鼠血浆样品中的精密度、准确度及提取回收率

Table 1 Precision, accuracy, and extraction recovery for determination of farrerol in rat plasma

质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD/%		准确度/%	提取回收率/ %
	日内	日间		
20	1.92	3.58	108.71 \pm 0.02	94.89 \pm 0.06
2	4.27	4.66	107.47 \pm 0.15	81.75 \pm 0.04
0.2	3.93	2.98	106.22 \pm 0.04	89.73 \pm 0.09

样品在室温放置 24 h、-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件反复冻融 3 次、在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 30 d 条件下的稳定性, 结果, 在 3 种条件下, 血浆的 RSD 分别小于 5.0%、6.8%、7.2% ($n=5$), 说明在室温条件、-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件反复冻融 3 次以及 -20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 d 的条件下, 血浆样品的稳定性良好。

3.3 药动学研究

按“2.4”项下所述方法进行杜鹃素在大鼠体内的药动学研究, 将采集好的样品经“2.3”项下方法处理分析后, 所得的血药浓度 - 时间曲线见图 2。

用 DAS 2.0 软件对大鼠的血药浓度 - 时间数据进行分析处理, 得出的主要药动学参数见表 2。大鼠 ig 杜鹃素后, 体内药动学过程符合二室模型, 分布快, 消除缓慢, 以消除相为主。

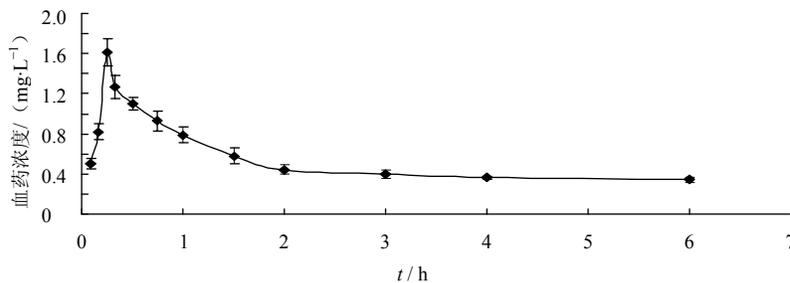


图 2 大鼠 ig 杜鹃素 (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 后的平均血药浓度 - 时间曲线 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curve of farrerol after ig administration to rats (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ($\bar{x}\pm s, n=6$)

表 2 大鼠 ig 杜鹃素 (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 后的药动学参数 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Main pharmacokinetic parameters of farrerol after ig administration (100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) to rats ($\bar{x}\pm s, n=6$)

参数	单位	数值	参数	单位	数值
K_a	h^{-1}	5.17 \pm 1.56	K_{10}	h^{-1}	0.34 \pm 0.11
$t_{1/2K_a}$	h	0.14 \pm 0.04	K_{12}	h^{-1}	1.48 \pm 0.45
$t_{1/2\alpha}$	h	0.33 \pm 0.10	K_{21}	h^{-1}	0.48 \pm 0.23
$t_{1/2\beta}$	h	15.22 \pm 8.98	C_{max}	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1.61 \pm 0.14
CL/F	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	14.89 \pm 3.45	T_{max}	h	0.25 \pm 0.01
$\text{MRT}_{(0-t)}$	h	2.35 \pm 0.08	$\text{AUC}_{(0-t)}$	$\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	3.06 \pm 0.16

4 讨论

据文献报道^[11], 杜鹃素单次灌胃小鼠急性毒性试验的半数致死量(LD₅₀)为1500 mg/kg, 本实验选取杜鹃素LD₅₀的1/15即100 mg/kg作为给药剂量。本实验改变以往甲醇-0.2%磷酸水溶液二元流动相体系^[12], 采用甲醇-乙腈-0.5%醋酸水溶液(62:5:33)三元体系作为流动相, 可明显改善杜鹃素的峰型, 使得杜鹃素色谱图拖尾现象消失, 除此之外, 本实验还选取了一个杜鹃素的衍生物作为内标, 按本实验的色谱条件, 二者的保留时间相差3 min左右, 不仅能将杜鹃素和内标完全分开, 还能大大缩减分析样品所用的时间, 可以提高实验效率。

本实验采用液液萃取的方法来处理血浆样品, 实验过程中根据杜鹃素易溶于丙酮, 可溶于乙醇、乙醚的性质, 选取了甲醇、丙酮、醋酸乙酯和乙醚4种溶剂进行了实验, 结果从样品提取回收率、萃取时间、使用溶剂量等几方面因素综合考虑, 最终选择了乙醚作为萃取溶剂, 因为只需要4倍样品体积量的乙醚就可以使提取回收率达到80%以上, 并且吹干乙醚的时间也很短, 可大大缩短处理样品的时间, 使得实验效率进一步提高。

参考文献

[1] 李丽, 方芳, 陈立峰, 等. 满山红的化学成分及药理作用[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(3): 64-65.

- [2] 周媛媛, 王栋, 关枫. 满山红止咳平喘有效成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10): 2461-2463.
- [3] 石磊, 班树荣, 冯秀娥, 等. 二氢黄酮类衍生物的合成及抗肿瘤活性研究[J]. 中国药物化学杂志, 2010, 20(3): 176-180.
- [4] 中国医学科学院药物研究所气管炎研究组. 祛痰新药杜鹃素的全合成[J]. 中草药, 1976(6): 31.
- [5] Brown B S, Akera T, Brody T M. Mechanism of grayanotoxin III-induced after potentials in feline cardiac Purkinje fibers[J]. Eur J Pharmacol, 1981, 75(4): 271-281.
- [6] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [7] 郭涛. 药物动力学的新进展[J]. 中国药师, 2004, 7: 251-254.
- [8] 冯玉书, 朱大珠. 杜鹃素的体内代谢[J]. 药学学报, 1979, 14(3): 149-155.
- [9] 李津明, 王树瑶, 李敏, 等. 不同提取工艺的丹参提取物在大鼠体内的药动学研究[J]. 药物评价研究, 2012, 35(5): 332-336.
- [10] 周福军, 谢跃生, 肖学风, 等. 杠柳毒苷在大鼠体内的药动学研究[J]. 药物评价研究, 2011, 34(2): 81-84.
- [11] 沈阳部队后勤部卫生部. 东北常用中草药手册[M]. 沈阳: 辽宁省新华书店, 1970.
- [12] Pan X. Determination of farrerol and quercetin in *Folium Rhododend Daurici* by HPLC[J]. Chin Pharm J, 2002, 37(11): 62-64.

头孢曲松等10种抗感染药易引发不良反应

国家食品药品监督管理局日前发布了2012年药品不良反应监测年度报告, 报告称, 去年共收到药品不良反应/事件报告120万余份, 其中, 抗感染药病例报告数量仍居首位, 有48万余份, 头孢曲松等10种抗感染药易引发不良反应。

与2011年相比, 抗感染药的报告数量增长了29.5%。不合理用药是导致抗感染药不良反应报告居多的原因之一, 比如超适应症用药、超剂量用药、不合理的联合用药、给药途径不合理等。以莫西沙星为例, 莫西沙星口服后吸收良好, 但其注射剂的报告比例高达65.8%, 很多轻症患者完全不必静脉给药。抗感染药严重报告病例数量前10位的药品依次为: 头孢曲松、左氧氟沙星、青霉素G、头孢哌酮舒巴坦、克林霉素、头孢呋辛、阿奇霉素、头孢噻肟、利福平、炎琥宁。

(本刊讯)