

大鼠灌胃黄芩苷及其苷元黄芩素的药动学研究

龚明涛,虞丽芳,陈庆华,谢保源,陆伟根*

(上海医药工业研究院 药物制剂部,上海 200437)

摘要:目的 研究大鼠灌胃黄芩苷及其苷元黄芩素后的体内药动学特征。方法 分别对大鼠灌胃给予等量黄芩素和黄芩苷,采用高效液相方法测定大鼠血浆中黄芩苷,比较其药动学参数及生物利用度。结果 大鼠灌胃黄芩苷后体内的黄芩苷血浓经时曲线具有典型的双峰现象,灌胃黄芩素后体内的黄芩苷血浓经时曲线无双峰现象,黄芩素的相对生物利用度是黄芩苷的200.9%。结论 黄芩苷制备成黄芩素后可提高其口服生物利用度。

关键词:黄芩素;黄芩苷;药动学;高效液相色谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0392-03

黄芩苷是黄芩的主要有效成分,目前主要以片剂和胶囊用于急慢性肝炎、迁延性肝炎的辅助治疗,并在黄芩汤、葛根芩连汤和双黄连口服液等多个经典复方中作为主要有效成分应用于临床。研究结果表明,黄芩苷口服生物利用度较低,从2.2%到30%左右不等^[1,2]。为提高黄芩苷的口服生物利用度,笔者根据文献报道^[3]制备了黄芩苷元黄芩素,同时建立了测定大鼠血浆中黄芩苷的HPLC方法,分别对大鼠灌胃给予等剂量的黄芩苷和黄芩素的药动学行为进行比较研究。

1 材料与仪器

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110715-200212);黄芩苷原料(质量分数>90%,成都欧康植化科技有限公司);黄芩素对照品(成都欧康植化科技有限公司,质量分数>98%);黄芩素原料(本实验室自制,经HPLC归一法检测质量分数>97%);抗坏血酸钠(河北维尔康制药有限公司);乙腈(色谱纯,美国天地公司);甲醇(色谱纯,上海振兴化工一厂);磷酸二氢钾、冰醋酸均为分析纯。

Waters 510 泵、Waters 486 检测器(美国 Waters 公司);HW-2000 色谱工作站(千谱软件有限公司)。

SD 大鼠,SPF 级,雄性,(250±20)g,上海斯莱克实验动物有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:参照文献报道^[4]并加以改进。色谱柱为迪马公司 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-3%冰醋酸溶液(30:70);检测波长 278 nm;柱温 35℃。理论塔板数按黄芩苷峰计算应不少于 3 000,黄芩苷与相邻杂质峰的分

度应大于 1.5。

2.2 血浆样品的处理:于大鼠眼底静脉丛取血 0.25 mL 置肝素处理的 Eppendorf 管中,5 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,置-20℃冰箱保存。取血浆 0.1 mL,加入 1 mol/L KH₂PO₄ 溶液 50 μL (内含 1%抗坏血酸钠),振荡混匀;加入甲醇-乙腈(1:1) 150 μL 涡旋 5 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.3 方法专属性试验:照上述色谱条件,取空白血浆按血浆样品的处理项下方法操作,考察血浆中其他成分对黄芩苷的有干扰,见图 1。可见,血浆中的其他物质不干扰黄芩苷的测定。

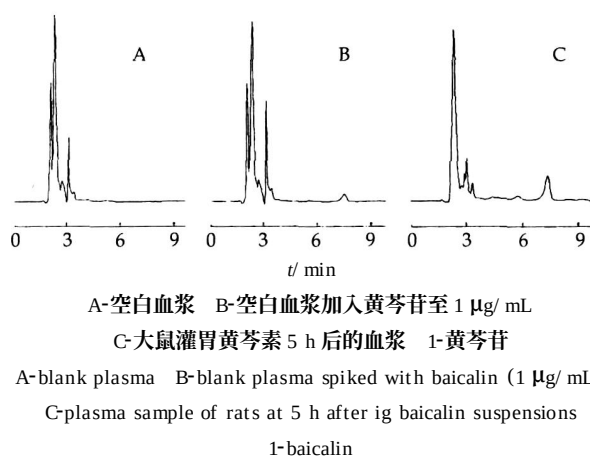


图1 大鼠血浆中黄芩苷的色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of baicalin in plasma of rat

2.4 对照品溶液的配制:精密称取黄芩苷对照品 15 mg 置于 10 mL 量瓶中,以 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液配成质量浓度为 1.5 mg/mL 的黄芩苷对照品贮备液。取适量对照品贮备液置于 10 mL 量瓶中,

* 收稿日期:2008-05-25

作者简介:龚明涛,男,博士后。Tel: (021)55514600-149 E-mail: mingtaogong@hotmail.com

用甲醇定容得 375、150、75、37.5、15、7.5、1.5 $\mu\text{g/mL}$ 黄芩苷对照品溶液。冰箱 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.5 标准曲线的制备:精密吸取大鼠血浆置于 1 mL 离心管中,每份 90 μL ,分别加入黄芩苷对照品溶液 10 μL ,使血浆中药物质量浓度分别为 37.5、15、7.5、3.75、1.5、0.75、0.15 $\mu\text{g/mL}$,摇匀,按血浆样品的处理项下方法操作,记录黄芩苷峰面积,绘制标准曲线。结果表明,黄芩苷在大鼠血浆中为 0.15~37.5 $\mu\text{g/mL}$ 线性良好,回归方程为 $Y = 6 \times 10^{-5} X - 0.287$, $R^2 = 0.9993$ 。在信噪比为 3 的条件下,最低检测限为 25 ng/mL ;在信噪比为 10 的条件下,定量限为 75 ng/mL 。

2.6 回收率试验:取大鼠血浆 9 份,每份 90 μL ,置于 1 mL 离心管中,分别精密加入黄芩苷对照品溶液,制成 37.5、7.5、0.75 $\mu\text{g/mL}$ 溶液(每个质量浓度 3 份样品),按血浆样品的处理项下方法操作,记录黄芩苷峰面积,代入标准曲线回归方程计算,以测得量与加入量之比计算方法回收率。结果表明,3 个水平质量浓度黄芩苷的平均回收率分别为 96.8%、95.6%、101.3%。

2.7 精密度试验:取大鼠血浆 3 份,每份 90 μL ,置于 1 mL 离心管中,分别精密加入黄芩苷对照品溶液,制成 37.5、7.5、0.75 $\mu\text{g/mL}$ 溶液,按血浆样品的处理项下方法操作,于 1 d 内不同时间进行测定,计算日内精密度。同上操作,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,于一周内不同天进行测定,计算日间精密度。结果日内 RSD 分别为 5.4%、3.5%、1.7%;日间 RSD 分别为 8.3%、3.1%、2.6%。

2.8 黄芩苷和黄芩素大鼠口服生物利用度的研究:取 SD 雄性大鼠 10 只,实验前禁食 12 h。随机分成两组,每组 5 只。一组大鼠灌胃黄芩苷 0.5% 羧甲基纤维素钠混悬液(200 mg/kg ,约 0.448 mmol/kg),另一组灌胃黄芩素 0.5% 羧甲基纤维素钠混悬液(121 mg/kg ,约 0.448 mmol/kg),于给药后 0、10 min、0.5、1.0、1.5、3.0、5.0、8.0、10.0、12.0、24.0 h 眼眶取血,按血浆样品的处理项下方法操作,测定药物质量浓度。绘制给药后黄芩苷血浆浓度的经时曲线,对数梯形法计算各组织药物质量浓度-时间曲线下面积(AUC)值,大鼠灌胃黄芩苷后黄芩苷血药浓度经时曲线结果见图 2。

可见灌胃黄芩苷后大鼠体内的黄芩苷血药浓度经时曲线具有典型的双峰现象,这可能是因为黄芩苷 pK_a 值约为 5^[5],在胃及十二指肠上部为分子状态,

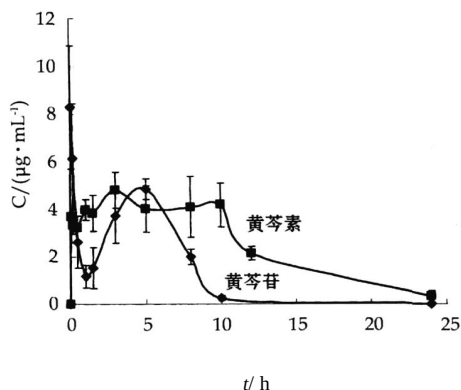


图 2 大鼠灌胃给予黄芩苷混悬液和黄芩素混悬液后的体内药物浓度经时曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time profiles of baicalin in rats following ig administration of baicalin suspension and baicalein suspension

在这些部位易于吸收,故在 10 min 左右快速出现第 1 个峰;当黄芩苷迅速通过胃、十二指肠后,在小肠消化液中呈离子状态,难于透过生物膜,故血药浓度逐渐下降;到达回盲部和结肠部位后,在肠道菌群水解作用下生成黄芩素被吸收,然后在肠黏膜细胞内复原为黄芩苷,于是在 3 h 左右出现第 2 个峰。

大鼠灌胃黄芩素后,黄芩素在肠细胞和血中迅速地转化为黄芩苷,原形药物浓度极低,30 min 后血浆中即检测不到原形药物(数据未给出),因此绘制给药后体内黄芩苷血浆浓度的经时曲线(图 2)。灌胃黄芩素后大鼠体内的黄芩苷血药浓度经时曲线无双峰现象,血药浓度基本保持平稳,波动较小,这是因为黄芩素没有黄芩苷的极性葡萄糖醛酸基团,易于透过生物膜,吸收仅受溶出的影响,从平稳的血药浓度可以推测其呈全肠道近似零级吸收。

应用对数梯形法计算黄芩苷 AUC 值。黄芩苷和黄芩素大鼠灌胃后黄芩苷体内药动学的主要参数见表 1。可见大鼠灌胃等量的黄芩素后生物利用度是黄芩苷的 200.9%,表明将黄芩苷制备成黄芩素前药可以提高其口服生物利用度。

表 1 大鼠灌胃给予黄芩苷混悬液和黄芩素混悬液后的药动学参数

Table 1 Pharmacokinetic parameters of baicalin in rats following ig administration of baicalin suspension and baicalein suspension

参数	单位	黄芩苷	黄芩素
AUC_{0-24}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	29.01 $\pm$ 3.60	58.28 $\pm$ 6.32
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	8.30 $\pm$ 2.58	4.83 $\pm$ 0.76
t_{max}	h	0.17	3.0
相对利用率	%		200.9 $\pm$ 21.8

3 讨论

有关文献研究^[6,7]和笔者前期研究表明,黄芩苷属复原型前体药物,即黄芩苷在胃肠道菌群作用下转化为黄芩素被吸收,然后在肠黏膜细胞内复原为黄芩苷。因此,本实验根据黄芩苷的结构特点,采取与传统酯类前药相反的思路,将苷类药物水解成苷元黄芩素,并比较了黄芩苷和黄芩素在大鼠体内的口服生物利用度。结果表明,黄芩苷水解成其苷元黄芩素后可以改善苷类化合物的理化性质和渗透性,提高了黄芩苷的口服吸收和生物利用度,为以中药苷类活性成分为先导化合物进行结构改造以提高其口服吸收提供了新的思路。

黄芩中的主要成分是黄芩苷,高达9%~14%^[8],只含有微量的黄芩素,约为0.2%左右^[9],因此,从黄芩中提取分离黄芩素是不足取的。人们致力于研究将黄芩苷转变成黄芩素,目前主要有两种方法,即酶法水解^[10]和强酸水解^[3]。强酸水解对药物本身破坏较大,环境污染严重;酶法水解转化率高、无污染。基于此,采用生物技术将中药苷类药物

水解成其苷元具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Xing J, Chen X Y, Sun Y M, et al. Interaction of baicalin and baicalein with antibiotics in the gastrointestinal tract [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57: 743-750.
- [2] 毛凤斐,朱家璧,屠锡德,等.黄芩苷的人体吸收研究[J].*南京药学院学报*,1983,21(1):61-66.
- [3] 车庆明.一种制备黄芩素的方法[P].中国专利:CN1398862. 2003-02-26.
- [4] 路通,宋珏,谢林,等. HPLC法同时测定灌胃黄芩水煎剂后大鼠血浆中黄芩苷和汉黄芩苷的质量浓度及药动学研究[J].*中草药*,2005,36(6):870-873.
- [5] 王弘,陈济民.黄芩苷在大鼠胃,离体小肠的吸收动力学研究[J].*沈阳药科大学学报*,2000,17(1):5-7.
- [6] Akao T, Kawabata K, Yanagisawa E, et al. Baicalin, the predominant flavone glucuronide of *Scutellariae Radix*, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2000, 52(12): 1563-1568.
- [7] Xing J, Chen X Y, Zhong D F. Absorption and enterohepatic circulation of baicalin in rats [J]. *Life Sci*, 2005, 78: 140-146.
- [8] 王本祥.现代中药药理学[M].天津:天津科技出版社,1997.
- [9] 王慕邹.常用中草药高效液相色谱分析[M].北京:科学出版社,1999.
- [10] 金凤雯.酶法水解黄芩甙葡萄糖醛酸基制备黄芩素的方法[P].中国专利:CN 1584039A, 2005-02-23.

凝胶过滤色谱-蒸发光散射法监测麦冬多糖色谱分离的研究

林晓¹,姜艳¹,徐德生^{1,2*},冯怡¹

(1.上海中医药大学 中药现代制剂技术教育部工程研究中心,上海 201203;

2.上海中医药大学附属曙光医院,上海 200021)

摘要:目的 探讨高效凝胶过滤色谱-蒸发光散射检测法(HPGPC-ELSD)用于监测多糖分离纯化的可行性和优点。方法 以麦冬多糖为模型多糖,比较DEAE Sepharose™ Fast Flow、Sephadex G-50和G-25柱色谱的纯化效果,比较分别以HPGPC-ELSD和传统的蒽酮-硫酸法测定结果为收集标准时的纯化情况。结果 通过HPGPC-ELSD测定确知,DEAE Sepharose可将麦冬多糖粗提物中的非中性糖部分除去;Sephadex G-50和G-25均不能够很有效地将粗多糖中的麦冬多糖与低聚糖和单糖分离。结合HPGPC-ELSD和蒽酮-硫酸法的优点,将其合理组合用于监测麦冬多糖的凝胶色谱分离,可以同时确保多糖色谱分离纯化的速度和质量。结论 以HPGPC-ELSD测定结果作为收集标准特别适合于较难分离或纯化要求较高的多糖类成分的分离纯化。

关键词:麦冬;多糖;高效凝胶过滤色谱;纯化

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0394-04

多糖因其广泛的生物活性和低毒等特点,日益受到人们的青睐。迄今,已发现几百种来源于动物、植物细胞壁和真菌细胞的多糖。多糖最常见的生物活性是免疫调节作用,如抗癌、抗病毒、抗感染、抗氧

化、抗变异或造血等活性。而且,随着新的生物活性的发现,多糖的临床应用范围也在日益扩展。如麦冬多糖近来被证实具有抗心肌缺血活性^[1]。在进行多糖生物活性研究之前,需要将其从提取得到的总

* 收稿日期:2008-06-14

基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术专项(06-07ZQ04);上海市青年科技启明星计划(07QA14050);上海市教委重点学科资助项目(J50302)

作者简介:林晓(1974—),男,福建人,博士,副教授,主要从事中西药药剂学研究。Tel: (021)51322211 E-mail: duotang@163.com

*通讯作者 徐德生 Tel: (021)51322493 E-mail: shutcm@163.com