

前后体系的能量(表 4)。不论是五元内酯环还是十氢萘环与环糊精作用所形成的包合物的能量均比主客体孤立的处于同一个平面内未被包含状态下低,且均低于主客体能量的简单加合,说明 14 去氧穿心莲内酯与 β -环糊精形成包合物

表 4 14-去氧穿心莲内酯- β -环糊精包合过程的计算机模拟数据

Table 4 Simulation data of 14-deoxyandrographolide- β -cyclodextrin by computer

名 称	SP(kcal/mol)	MM3(kcal/mol)
β -环糊精	427.7467	515.0426
14-去氧穿心莲内酯	53.3747	53.3732
1)+ β -环糊精	488.6518	488.6329
1- β -环糊精	470.5519	488.6329
1'- β -环糊精	477.6318	477.6381

可以在常温下进行,且形成的包合物常温下比较稳定。热力学常数 ΔG 为负,也说明了包合反应可以在常温及恒温条件下自发进行。

参考文献:

- [1] 韩光,曾超,杜钢军,等. 穿心莲内酯衍生物的合成及其抗炎免疫活性[J]. 中草药, 2006, 37(12): 1774-1775
- [2] Gerhard W. An overview of host-guest chemistry and its application to nonsteroid 14-deoxyandrographolide 1 anti-inflammatory drugs [J]. Clin Drug Invest, 2000, 19(2): 21
- [3] 韩光,李景华. 14-去氧穿心莲内酯/ β -环糊精包合作用的研究[J]. 中南药学, 2008, 6(3): 274-277
- [4] Jara F, Mascayano C, Rezende M C, et al. A spectral and molecular dynamics simulation study of β -cyclodextrin inclusion complexes with solvatochromic dyes derived from barbituric acid [J]. J Inclusion Phenomena Macrocyclic Chem, 2006, 54: 95-99

大鼠股静脉给药五味子酚的药动学研究

马晓琳,陈道峰*

(复旦大学药学院 生药学教研室,上海 200032)

摘要:目的 建立测定大鼠血浆中五味子酚浓度的 HPLC 方法,并对五味子酚在大鼠体内的药动学特征进行研究。方法 血浆样品经甲醇沉淀及乙醚萃取后,用 HPLC-DAD 进行测定分析。色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈ Agilent (250 mm×4.6 mm, 5 μ m),流动相为乙腈-水(65:35),检测波长 254 nm;测定大鼠静脉注射五味子酚 18 mg/kg 后的血药浓度,并利用 3P87 软件拟合其药动学参数。结果 五味子酚的血药浓度在 0~2.5 μ g/mL 线性关系良好($r^2=0.999$),最低检测限为 10 ng/mL,在 3 个浓度水平下,方法的回收率为 88%~110%,日间和日内 RSD 小于 15%,符合生物样品分析要求。大鼠股静脉注射 18 mg/kg 后,血药浓度-时间曲线呈二室模型。主要药动学参数 $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 、 V 、AUC、MRT 分别为(0.22±0.11)h、(1.19±0.22)h、(12.81±2.91)L/kg、(1.32±0.19) μ g/mL/h、(1.51±0.24)h。结论 该方法简便、快速、稳定可靠,适用于五味子酚的体内分析。

关键词: 五味子酚; 高效液相色谱法; 药动学

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)02-0216-04

Pharmacokinetic study of schisanhenol via femoral intravenous administration in rats

MA Xiao-lin, CHEN Dao-feng

(Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of schisanhenol in plasma and to study the pharmacokinetics of schisanhenol in rats. **Methods** After sedimentation by methanol, plasma samples were then prepared based on a liquid-liquid extraction by ether. The extracted samples were analyzed by liquid chromatography. Schisanhenol was eluted on Eclipse XDB-C₁₈ Agilent (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) column, using a mobile phase of acetonitrile-H₂O (65:35), and detected at 254 nm. The plasma concentration of schisanhenol in rats was determined after iv administration of 18 mg/kg, and the data were processed with the pharmacokinetic software 3P87. **Results** Calibration curves were linear over 0.1—2.5 μ g/mL ($r^2=0.999$) and the LOD was 10 ng/mL. The recoveries of schisanhenol from plasma

* 收稿日期: 2009-05-09

基金项目: 教育部高校优秀青年教师奖励基金资助项目(1999-71); 上海市教育发展基金资助项目(05SG06)

作者简介: 马晓琳(1982—), 女, 上海人, 硕士研究生, 从事中药活性成分药动学研究。E-mail: menthama@gmail.com

* 通讯作者 陈道峰 T el: (021) 54237453 Fax: (021) 64170921 E-mail: dfchen@shmu.edu.cn

were between 88%—110%, and the RSD values of intra-day and inter-day assay were below 15%. After iv administration at 18 mg/kg, the schisanhenol concentration-time curve confirmed in a two-compartment model and the pharmacokinetic parameters of $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, V , AUC, MRT were (0.22 ± 0.11) h, (1.19 ± 0.22) h, (12.81 ± 2.91) L/kg, (1.32 ± 0.19) $\mu\text{g/mL/h}$, (1.51 ± 0.24) h, respectively. **Conclusion** A reliable HPLC-DAD method is developed for the determination of schisanhenol in rat plasma and it is applicable to the *in vivo* analysis

Key words: schisanhenol; HPLC; pharmacokinetics

五味子酚是一种从多种五味子科植物中分离得到的木脂素类化合物^[1~3]。药理研究表明,五味子酚具有抗氧化作用,可抑制氧自由基对大鼠心脏和肝脏细胞线粒体以及小鼠脾淋巴细胞的脂质过氧化作用,对线粒体肿胀和膜流动性降低也有明显保护作用^[4,5],可防止氧自由基引起的大鼠脑突触体和线粒体形态的病理性损伤^[6],同时五味子酚具有抗凝纤溶、抗血小板聚集和扩血管活性,对脑梗死及再灌注损伤在大脑功能和形态学方面均具有治疗保护作用,是一个治疗缺血性脑中风的潜在药物^[7]。因此,对五味子酚进行动物体内的药动学研究具有重要意义。因此本实验建立了测定大鼠血浆中五味子酚浓度的 HPLC-DAD 方法,并采用该方法研究了股静脉注射五味子酚后大鼠血浆中五味子酚浓度-时间过程及其体内药动学行为,提供了该化合物的初步动物药动学研究资料,为其进一步研究提供参考。

1 材料与仪器

HP 1100 型高效液相色谱仪(包括在线真空脱气机,四元梯度泵,二极管阵列检测器,HP Chem-Station 化学工作站)(Agilent),5417R 小型台式高速离心机(Eppendorf),XW-80A 漩涡混合器(上海医科大学仪器厂),电热恒温水浴锅(上海华琦科学仪器有限公司)。

五味子酚由红花五味子果实中分离得到,化学结构经¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 和 IR 等谱学方法鉴定^[8],HPLC 法测定的质量分数>99%;内标五味

子丙素由内南五味子藤茎中分离并鉴定^[9],HPLC 法测定的质量分数>99%;高效液相用有机溶剂为色谱纯,水为去离子水,其余试剂均为分析纯。

健康 SD 大鼠(200~250 g),雄性,由复旦大学实验动物科学部提供(合格证号 SCXK2007-0002)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈ Agilent (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);预柱: Security Guard Cartridges C₁₈ (4.0 mm × 3.0 mm);流动相:乙腈-水(65:35);体积流量:0.8 mL/min;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:254 nm。

2.2 血浆样品处理:取血浆 200 μL ,加入内标五味子丙素溶液(62.5 $\mu\text{g/mL}$) 20 μL 混匀,加入 100 μL 甲醇沉淀蛋白后,用 1 mL 乙醚萃取,漩涡混匀后 5 000 r/min 离心 5 min,吸取醚层溶液,重复上述萃取操作 1 次,合并两次乙醚萃取液,于 55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上氮气吹干,用 100 μL 甲醇溶解混匀后,10 000 r/min 离心 10 min,取 20 μL 上清液,即得。

2.3 方法专属性考察:上述色谱条件下,空白血浆、空白血浆+内标+五味子酚对照品、实验样品进样后,得 HPLC 色谱图,见图 1。可见血浆中的杂质和内标对五味子酚的测定无干扰。

2.4 标准曲线的制备:精密称取五味子酚对照品 4.0 mg 置于 2 mL 量瓶中,以甲醇配成 2.0 mg/mL 的五味子酚溶液,并以甲醇逐级稀释配成一系列质量浓度的对照品溶液。分别取 1、2、5、10、15、25

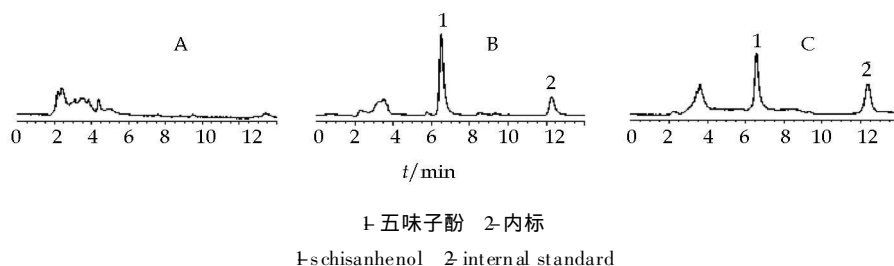


图 1 空白血浆(A)、空白血浆中加入五味子酚和内标(B)和大鼠静注五味子酚后的血浆样品(C)的 HPLC 色谱图
Fig 1 HPLC Chromatograms of blank plasma (A), blank plasma spiked with schisanhenol and internal standard (B), and plasma sample of schisanhenol after iv injection to rats (C)

μg/mL 对照品溶液加入大鼠空白血浆中,使其在血浆中的质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.5 μg/mL。按血浆样品处理项下的方法操作,在上述色谱条件下进样,测定血浆样品中药物峰面积(A_s)与内标峰面积(A_{is}),计算 A_s/A_{is} 。以 A_s/A_{is} 为横坐标(X),质量浓度(Y)为纵坐标,进行线性回归,得到标准曲线方程 $Y = 4\,249.3 X - 0.071\,79$, $r^2 = 0.999$,线性范围:0.1~2.5 μg/mL。

2.5 精密度试验:在空白大鼠血浆样品中加入 2、10、25 μg/mL 五味子酚对照品溶液,使其终质量浓度分别为 0.2、1.0、2.5 μg/mL,按血浆样品处理项下方法操作,于 1 d 内测定 5 次,计算日内精密度,一周内 5 d 测定,计算日间精密度,结果见表 1。

2.6 回收率试验:在空白大鼠血浆样品中加入 2、10、25 μg/mL 五味子酚对照品溶液,使其终质量浓度分别为 0.2、1.0、2.5 μg/mL,按血浆样品处理项下方法操作,测定,以测得值与加入量的比值作为回收率,结果见表 1。

表 1 五味子酚在大鼠血浆中的回收率和精密度试验结果 ($n=5$)

Table 1 Recovery and precision of schisanhenol in plasma of rat ($n=5$)					
水平	加入量/ (μg · mL ⁻¹)	日内		日间	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
低	0.2	109.9	5.9	98.7	14.5
中	1.0	107.9	4.2	97.9	13.5
高	2.5	91.6	9.5	88.8	5.3

2.7 五味子酚的大鼠体内药动学:SD 大鼠 5 只,用乌拉坦麻醉,分离颈总动脉,插管,按 18 mg/kg 由股静脉注射五味子酚 10% 聚山梨酯 80 水悬液 1 mL,给药后于 5、15、30 min 及 1、2、3、4 h 颈动脉插管取血,每次采血后补充等量生理盐水。插管和离心管均事先用 0.4% 肝素生理盐水液润洗以抗凝。血样于 6 000 r/min 离心 10 min,吸取血浆 200 μL。按血浆样品处理项下的方法操作,测定血药浓度,结果见图 2。采用中国药学会编制的 3p87 程序对经时血药浓度数据进行处理,得到五味子酚的主要药动学参数,见表 2。

从动力学参数可以看出,静脉给药分布相半衰期($t_{1/2\alpha}$)仅 13.2 min,说明药物由血液循环迅速分布到组织。消除相半衰期($t_{1/2\beta}$)为 71.4 min,表明代谢和排泄也较快。表观分布容积 $V = 12.81$ L/kg,提示五味子酚在组织中分布很广,这与其亲脂性质相符。

3 讨论

钮心懿等^[10]报道了五味子醇甲在大鼠体内药

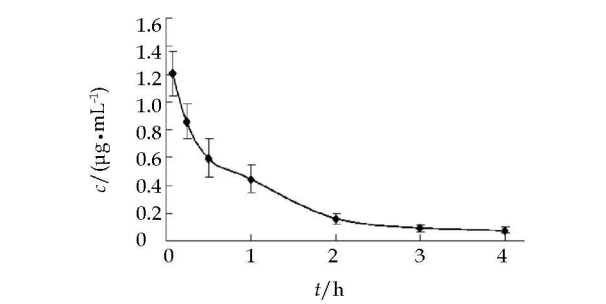


图 2 大鼠静脉注射五味子酚后的平均血药浓度-时间曲线($n=5$)

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve of schisanhenol after iv injection to rats ($n=5$)

表 2 大鼠静脉注射五味子酚后的药动学参数($n=5$)
Table 2 Pharmacokinetic parameters of schisanhenol after iv injection to rats ($n=5$)

参 数	单 位	$\bar{x} \pm s$
A	μg · mL ⁻¹	0.82 ± 0.43
α	h ⁻¹	3.77 ± 1.85
B	μg · mL ⁻¹	0.64 ± 0.15
β	h ⁻¹	0.60 ± 0.12
V	L · kg ⁻¹	12.81 ± 2.91
$t_{1/2\alpha}$	h	0.22 ± 0.11
$t_{1/2\beta}$	h	1.19 ± 0.22
K_{21}	h ⁻¹	1.98 ± 0.84
K_{10}	h ⁻¹	1.12 ± 0.26
K_{12}	h ⁻¹	1.30 ± 1.23
AUC	(μg · mL ⁻¹) · h	1.32 ± 0.19
CL	(mg · kg ⁻¹) · h ⁻¹ (μg · mL ⁻¹) ⁻¹	13.86 ± 1.76
MRT	h	1.51 ± 0.24

动学过程,其静脉注射后同样具有迅速分布、较快消除、组织分布广的特征,可以认为五味子酚和五味子醇甲的体内药动学过程相近,这可能归于它们同属于联苯环辛烯类木脂素,在结构上较为相似的缘故。五味子酚作为多种五味子植物中的主要木脂素成分,在五味子脂溶性部位的体内过程研究中可作为检测的指标成分。

五味子酚极性低,难溶于水,若用无水乙醇溶解后水稀释的方法可以得到澄清溶液,但所需乙醇量较高,会对体内药动学过程产生影响。所以在聚乙二醇、丙二醇、聚山梨酯和羧甲基纤维素等之中,根据增溶悬浮效果和对血浆色谱图无干扰等因素考虑下,最终选择聚山梨酯 80 配制水悬液作为给药剂型。研究结果提示,合适的药物剂型对于五味子酚在机体内发挥作用是重要的,对其胃肠道吸收、组织分布、排泄及体内代谢等环节也需要进一步研究。

参考文献:
[1] 刘嘉森,黄梅芬,高耀良. 翼梗五味子的研究 iv. 五味子酚和去氧五味子素的结构[J]. 化学学报, 1978, 36(3): 193-197.
[2] 刘嘉森,王文贵,黄梅芬. 湖北利川产五味子化学成分研究

- [J]. 中草药, 1990, 21(7): 294-295
- [3] 李子燕, 李 良, 张洪彬. 中间五味子化学成分的研究 [J]. 中草药, 1996, 27(1): 3-4.
- [4] Lin T J, Liu G T, Pan Y. Protective effect of schisanhenol against oxygen radical induced mitochondrial toxicity on rat heart and liver [J]. *Biomed Environ Sci*, 1992, 5: 57-64
- [5] 李 莉, 吴若铎. 五味子酚对氧自由基损伤小鼠淋巴细胞的保护作用 [J]. 药理学学报, 1997, 32(3): 178-182
- [6] 李 莉, 刘耕陶. 五味子酚对氧自由基引起大鼠脑突触体和线粒体损伤的保护作用 [J]. 药理学学报, 1998, 33(2): 81-86
- [7] 陈道峰, 蒋仕丽, 章蕴毅. 五味子酚在制备治疗缺血性脑中风药物中的用途 [P]. 中国专利: CN1723879, 2006 01 25
- [8] Chen M, Kilgore N, Lee K H, *et al*. Rubrisandrins A and B, lignans and related anti-HIV compounds from *Schisandra rubriflora* [J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(12): 1697-1701.
- [9] Chen D F, Zhang S X, Kozuka M, *et al*. Interiotherins C and D, two new lignans from *Kadsura interior* and antitumor-promoting effects of related neolignans on Epstein-Barr virus activation [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(9): 1242-1245
- [10] 钮心懿, 边振甲, 任志鸿. 薄层紫外扫描法测定五味子醇甲在大鼠体内的代谢及脑内分布 [J]. 药理学学报, 1983, 18(7): 491-495

大鼠在体肠吸收穿心莲内酯的特征研究

叶 玲, 刘 薇, 唐 斓, 夏笔军, 龚 耘, 刘中秋*

(南方医科大学药学院, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 为探讨穿心莲内酯生物利用度低的原因, 考察穿心莲内酯肠道吸收特性、肝肠循环和肠道酶代谢特点。方法 采用大鼠在体肠灌流模型。运用 HPLC 法测定肠灌流液、胆汁以及经肠道酶降解后样品中穿心莲内酯的量。结果 穿心莲内酯在不同肠段的吸收率, 以十二指肠最高, 达 40%, 而在结肠最低, 仅有 10%。穿心莲内酯在十二指肠灌流液中的生物降解最显著 (1 h 降解约 50%), 在回肠、结肠中则几乎无降解反应。穿心莲内酯有胆汁排泄, 其排泄量为灌流药物总量的 0.76%。结论 穿心莲内酯在大鼠肠道的吸收较差, 而在十二指肠中吸收表现较好是由于存在较强的肠道酶代谢作用。同时, 穿心莲内酯存在明显的肝肠循环。穿心莲内酯生物利用度低的原因与肠吸收差、肠道酶代谢作用强和肝肠循环有关。

关键词: 穿心莲内酯; 大鼠在体肠灌流; 肠道酶; 吸收

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)02-0219-04

Absorption characteristics of andrographolide in rat intestine *in situ*

YE Ling, LIU Wei, TANG Lan, XIA Bi-jun, GONG Yun, LIU Zhong-qiu

(School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Objective To investigate the causes of poor bioavailability of andrographolide, the absorption characteristics, hepatic-enteric recycling, and metabolism of andrographolide in rat intestines were observed. **Methods** A single-pass “four-site” rat intestinal perfusion model *in situ* was employed. The concentration of andrographolide in perfusates, bile, and *in vitro* incubation samples for metabolites of andrographolide by the intestinal enzymes, respectively, was determined by HPLC. **Results** In the perfusion model, maximal absorption of andrographolide occurred in the duodenum with a 40% absorption rate, whereas only 10% of andrographolide was absorbed in the colon. Moreover, andrographolide was rapidly hydrolyzed (about 50% in 1 h) in the duodenum perfusates but was not hydrolyzed at all in the colon and ileum perfusates. On the other hand, andrographolide was excreted by bile with a total of 3.04% perfused amount of andrographolide. **Conclusion** The poor absorption, rapid hydrolysis, and hepatic-enteric recycling in the intestine all contribute to the poor bioavailability of andrographolide.

Key words: andrographolide; the rat intestinal perfusion *in situ*; intestinal enzymes; absorption

* 收稿日期: 2009-04-12

基金项目: 国家“十一五”支撑计划项目(2006BA111B08-04); 广东省高等学校自然科学研究重点项目(06Z008); 广州市科学技术局应用基础研究项目(2007JF C0021)

作者简介: 叶 玲(1984—), 女, 广东阳春人, 2007 级博士研究生, 从事药物吸收与代谢研究。

Tel: (020) 61648597 E-mail: lotus623@126.com

* 通讯作者 刘中秋 Tel: (020) 61648596 E-mail: liuzq@fimmu.com