

乙酰葛根素在大鼠体内的药动学研究

相妍笑¹, 刘 沙², 魏春敏², 魏欣冰¹, 郭瑞臣², 张岫美^{1*}

1. 山东大学医学院, 山东 济南 250012

2. 山东大学齐鲁医院, 山东 济南 250012

摘要:目的 考察乙酰葛根素 ig 和 iv 给药后葛根素在大鼠体内的药动学特征。方法 大鼠 ig 给予 400 mg/kg 或尾 iv 给予 160 mg/kg 乙酰葛根素。采用高效液相色谱 (HPLC) 法检测血浆样品中葛根素。结果 乙酰葛根素在大鼠体内代谢为葛根素, 葛根素药动学过程符合二室模型, 主要药动学参数: ig 给药葛根素 $AUC_{0-\infty}$ 为 $(44.76 \pm 4.13) \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, iv 给药葛根素 AUC 为 $(36.67 \pm 5.3) \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, ig 给予乙酰葛根素后大鼠体内葛根素的暴露水平 (生物利用度) 为 48.12%, ig 给药的 C_{\max} 为 $(12.07 \pm 0.15) \mu\text{g/mL}$, t_{\max} $(1 \pm 0.33) \text{ h}$, $t_{1/2}$ 为 $(2.52 \pm 0.21) \text{ h}$ 。结论 HPLC 法可作为乙酰葛根素在大鼠体内药动学的检测手段, ig 乙酰葛根素后, 葛根素在大鼠体内的暴露水平得到显著提高。

关键词: 乙酰葛根素; 药动学; 葛根素; 生物利用度; 高效液相色谱

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2247-03

In vivo pharmacokinetic study of hexaacetylpuerarin in rats

XIANG Yan-xiao¹, LIU Sha², WEI Chun-min², WEI Xin-bing¹, GUO Rui-chen², ZHANG Xiu-mei¹

1. School of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China

2. Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China

Key words: hexaacetylpuerarin; pharmacokinetics; puerarin; bioavailability; HPLC

葛根素 (puerarin) 是从豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi、甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 干燥根中提取的一种异黄酮类化合物, 是临床上治疗冠心病、心绞痛、脑血栓的常用和有效药物^[1-5]。但由于葛根素脂溶性差, 血脑屏障透过率低, 因此在治疗脑血管疾病时不能充分发挥其药理活性, 很大程度上限制了其临床疗效的发挥。

乙酰葛根素 (六乙酰葛根素, hexaacetylpuerarin, 化学名 8-C- β -D-2", 3", 4", 6"-四乙酰基吡喃葡萄糖-7, 4'-二乙酰基异黄酮) 是由葛根素经用醋酐溶解并酰化得到的葛根素衍生物, 该化合物有望成为制备治疗缺血性脑血管病口服新药的首选化合物^[6]。已有研究证明, 乙酰葛根素对缺糖、缺氧损伤的大鼠神经元有显著保护作用, 其作用机制与提高细胞抗氧化能力、增强细胞抗凋亡能力有关^[7]。乙酰葛根素也能通过抗氧自由基、抗脂质过氧化、

降低 NO 毒性, 对局灶性脑缺血损伤模型大鼠产生重要的脑保护作用, 减轻缺血再灌注损伤^[8-10]。本实验采用高效液相色谱 (HPLC) 法, 考察乙酰葛根素在大鼠体内的药动学及生物利用度, 为后续的药效学研究提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

乙酰葛根素, 山东省医学科学院左春旭教授赠送, 经 HPLC 法测定其质量分数 $\geq 97.0\%$ (按干燥品计)。甲醇为色谱纯, J.T Baker 公司; 市售娃哈哈纯净水。葛根素对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号 110752-200912。

1.2 仪器

岛津高效液相色谱仪, 日本岛津公司; XW-80A 型漩涡混合器, 上海精科实业有限公司; PROINO 离心机, 美国科峻仪器公司; PK514BP 超

收稿日期: 2012-02-06

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2010HM132); 山东大学研究生自主创新基金资助项目 (21300072613091)

作者简介: 相妍笑 (1986—), 女, 山东海阳人, 硕士研究生, 主要从事脑血管药理学研究。Tel: 15098963134 E-mail: 11xiaoxiao23@163.com

*通讯作者 张岫美 Tel: (0531)88383146 E-mail: zhangxm@sdu.edu.cn

声清洗器, 德国 Bandel 公司; AX2 梅特勒-托利多 AX205 Delta Range 电子天平, 瑞士梅特勒公司。

1.3 动物

雄性 Wistar 大鼠, 体质量 300~400 g, 由山东大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK(鲁) 20090001。

2 方法与结果

2.1 给药及样品采集

大鼠实验前一晚禁食不禁水。将乙酰葛根素溶于生理盐水中配制成混悬液, ig 给药, 剂量 400 mg/kg。另将乙酰葛根素溶于含 2% 二甲基亚砜(DMSO) 的生理盐水中, iv 给药, 剂量 160 mg/kg (2.5 mL/kg)。于给药前及给药后 5、10、20、30、60、90、120、240、360、480 min 颈静脉穿刺取血 0.5 mL, 肝素抗凝, 10 800 r/min 离心 5 min, 取上清液, 低温保存备用。

2.2 对照品溶液制备

乙酰葛根素在大鼠体内以葛根素的形式存在^[11], 因此选择葛根素作为对照品。精密称取葛根素对照品 10.00 mg 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇配制成 1.00 g/L 的葛根素储备液, 4 °C 冰箱避光保存备用。用前以甲醇稀释成 0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、25.0 mg/L 系列对照品溶液备用。

2.3 血浆样品处理

精密吸取血浆样品 100 μL, 置 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mol/L 盐酸溶液 15 μL, 涡旋振荡 0.5 min, 加入醋酸乙酯-正己烷 (3:1) 萃取液 900 μL 以及异丙醇 10 μL, 涡旋振荡 2 min, 5 000 r/min 低温离心 5 min, 取上清液, 37.5 °C 水浴, 氮气吹干, 残渣用 100 μL 流动相复溶, 涡旋 2 min, 进样 10 μL。血浆样品需在低温操作台上处理。

2.4 色谱条件

色谱柱为 XB-C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm);

流动相为甲醇-0.1% 枸橼酸 (65:35); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C; 紫外检测波长 247 nm, 进样量 20 μL。

2.5 样品测定

在上述色谱条件下, 葛根素的保留时间约 3.5 min, 血浆中内源性杂质对葛根素的测定基本无干扰。结果见图 1。分别吸取“2.2”项下系列对照品溶液 0.5 mL, 加入空白血浆 0.5 mL, 按“2.3”项下方法操作, 按“2.4”项测定, 分别记录峰面积, 以葛根素峰面积为纵坐标 (Y), 葛根素浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得标准曲线的回归方程为 $Y=25.89 X-0.524$, $r^2=0.999 7$, 葛根素在 5~50 μg/mL 线性关系良好。该方法的精密度试验、在 3 h 内的稳定性试验、重现性试验的 RSD 分别为 0.63%、0.78%、1.19%; 回收率为 98.33%, RSD 为 1.22%, 结果良好, 符合规定。

2.6 数据分析

将所得葛根素在大鼠体内的血药浓度-时间数据用 DAS2.0 药动学程序处理, 计算其在大鼠体内的药动学参数 (用 $\bar{x} \pm s$ 表示) 及绝对生物利用度。

2.7 乙酰葛根素不同给药途径的药动学研究

大鼠 ig 及 iv 给予乙酰葛根素后, 葛根素的血药浓度-时间曲线见图 2, 经 DAS 2.0 软件进行分析, 计算出乙酰葛根素 ig 及 iv 给药后葛根素在大鼠体内的药动学参数 (表 1), 并根据公式计算绝对生物利用度 (Fab)。

$$Fab = (AUC_{ig \text{ 给药}} \times iv \text{ 剂量}) / (AUC_{iv \text{ 给药}} \times ig \text{ 剂量})$$

经计算乙酰葛根素 ig 给药后葛根素在大鼠体内的绝对生物利用度为 48.12%。

3 讨论

由于异黄酮母核结构的特殊性, 葛根素的水溶性及脂溶性均较差, ig 给药其在大鼠体内的绝对生物利用度仅为 5%~6%, 在临床上口服较大剂量才

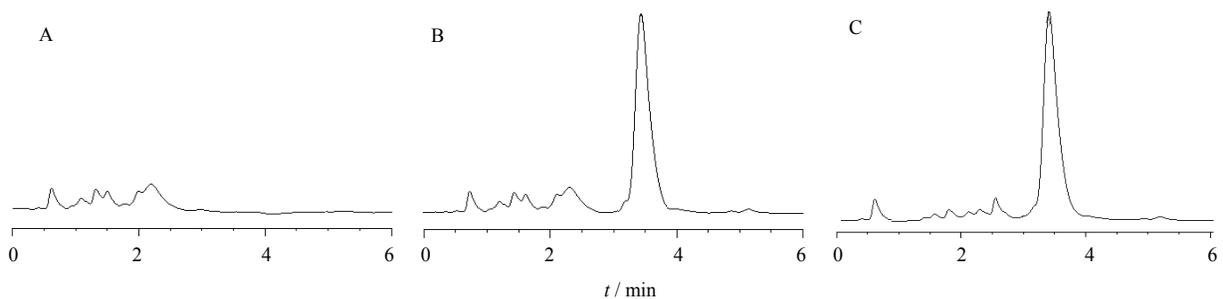


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆+葛根素 (B)、给药后血浆样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank plasma (A), blank plasma+puerarin (B), and plasma sample with drug (C) in rats

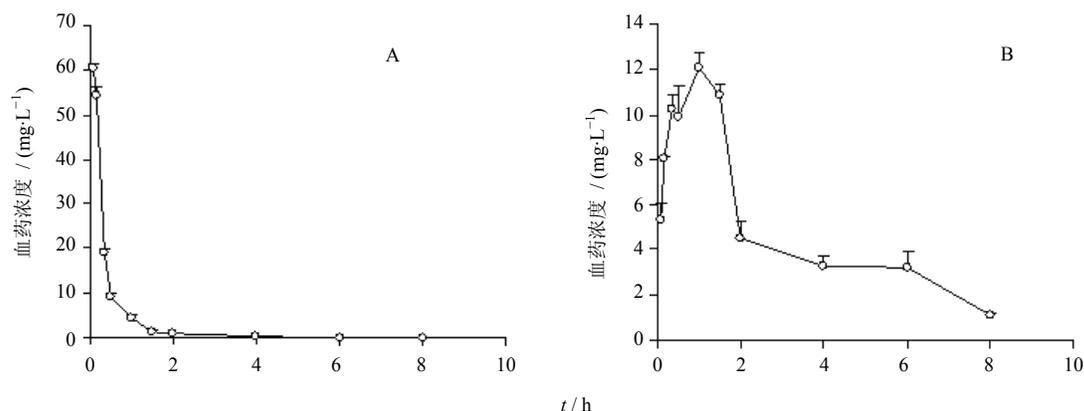


图2 乙酰葛根素 iv 给药 (A) 和 ig 给药 (B) 后葛根素血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Concentration-time curves for iv (A) and ig (B) administration of hexaacetylpuerarin in plasma of rats

表1 乙酰葛根素给药后葛根素在大鼠体内药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 *In vivo* pharmacokinetic parameters of puerarin in rats after administered with hexaacetylpuerarin ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数	单位	iv 给药	ig 给药
C_{max}	$mg \cdot L^{-1}$	60.29 ± 10.08	12.07 ± 0.15
t_{max}	h	0.08 ± 0.17	1.00 ± 0.33
$t_{1/2}$	h	1.63 ± 0.44	2.52 ± 0.21
AUC	$mg \cdot L^{-1} \cdot h$	36.67 ± 5.31	44.76 ± 4.13
MRT	h	0.63 ± 0.12	3.54 ± 1.15

能达到有效血药浓度和治疗效果^[12]。葛根素注射液虽用药剂量小，但由于助溶剂丙二醇等的存在，使药物不良反应发生率大大增加。因而如何提高葛根素在胃肠道及脑血管的吸收，增加其生物利用度，成为葛根素临床应用研究的重要课题。乙酰葛根素无论在安全性、稳定性，还是在生物利用度方面，都有望成为葛根素的替代品^[6]。本实验结果表明，乙酰葛根素 ig 给药，使其吸收较迅速，葛根素绝对生物利用度约达 48%，远远高于葛根素 ig 给予大鼠体内的绝对生物利用度（5%~6%）。因此，就治疗缺血性脑血管疾病新药而言，乙酰葛根素具有良好的开发前景。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 二部. 2005.
 [2] 祝星, 鱼运寿, 李仁君, 等. 葛根素对冠心病患者心肌

缺血的疗效 [J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(3): 343-344.
 [3] 邓晓尧. 葛根素辅助治疗不稳定型心绞痛 32 例临床观察 [J]. 海南医学, 2003, 14(1): 14-15.
 [4] 任丽. 葛根素治疗脑梗死 30 例疗效观察 [J]. 上海中医药杂志, 2002, 36(1): 20-21.
 [5] 王超权. 葛根素注射液对急性冠脉综合症非再灌注治疗患者血液流变学的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 563-565.
 [6] 左春旭, 张岫美, 仲英, 等. 全乙酰葛根素在制备治疗缺血性脑血管病新药中的应用 [P]. 中国专利: CN1823801A, 2006-08-30.
 [7] 蔡雅卫, 魏欣冰, 张岫美. 乙酰葛根素对低糖低氧损伤大鼠皮层神经元的保护作用 [D]. 济南: 山东大学, 2005.
 [8] 侯丽, 魏欣冰, 李雪梅, 等. 乙酰葛根素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的抗脂质过氧化作用 [J]. 中国药理学杂志, 2007(42): 1489-1472.
 [9] 李雪梅, 魏欣冰, 张岫美, 等. 乙酰葛根素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的脑组织及血清 NO 和 NOS 的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(11): 829-832.
 [10] 李雪梅, 魏欣冰, 张岫美, 等. 乙酰葛根素对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤后一氧化氮和内皮素生成的影响 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2005, 43(12): 1173-1177.
 [11] 郭东艳, 杨大坚, 陈士林, 等. 葛根素及其衍生物在大鼠体内的药代动力学研究 [J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(1): 52-54.
 [12] 李伟平, 张喜平. 葛根素制剂的药理和临床应用及存在问题分析 [J]. 医学研究杂志, 2012, 41(1): 16-18.