

淫羊藿苷元在大鼠体内的血浆动力学和组织分布研究

王 敏^{1,2}, 谷 元^{2,4}, 周 宇², 武丽南², 开跃义², 耿雅杰², 姚景春³, 王现珍^{3*}, 司端运^{2*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

3. 鲁南制药集团股份有限公司 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276000

4. 中国医学科学院药物代谢新技术创新单元, 天津 300193

摘要: **目的** 研究淫羊藿中的主要活性成分淫羊藿苷元在大鼠体内的血浆动力学和组织分布特征, 为黄酮类天然药物的开发提供依据。**方法** 应用高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 测定大鼠血浆及组织中游离淫羊藿苷元 (淫羊藿苷元原型) 和总淫羊藿苷元 (淫羊藿苷元原型及其二相代谢产物的总和) 的浓度, 并应用 WinNonlin 7.0 软件非房室模型计算药动学参数。**结果** 大鼠 iv 淫羊藿苷元 (5 mg/kg) 后, 血浆中游离淫羊藿苷元和总淫羊藿苷元的血药峰浓度 (C_{max}) 分别为 (978±107)、(2390±295) ng/mL, 血药浓度-时间曲线下面积 (AUC_{0-t}) 分别为 (422±38)、(3000±932) ng·h/mL, 消除半衰期 ($t_{1/2}$) 分别为 (1.640±0.767)、(3.82±2.16) h。大鼠 ig 淫羊藿苷元 (10 mg/kg) 后, 血浆中游离型淫羊藿苷元及总淫羊藿苷元的达峰时间 (T_{max}) 为 0.292 h, C_{max} 分别为 (12.90±5.77)、(3800±1110) ng/mL, AUC_{0-t} 分别为 (12.00±8.01)、(5760±2200) ng·h/mL, $t_{1/2}$ 分别为 (0.812±0.263)、(2.73±1.28) h。大鼠 ig 淫羊藿苷元 (10 mg/kg) 后, 游离淫羊藿苷元在组织中的分布程度由高到低排序依次为胃、肠、肺 (110~220 倍血浆)、肝、子宫 (20~65 倍血浆)、心、卵巢、脾 (4~15 倍血浆)、骨髓、肾、肌肉 (1~2 倍血浆)、血浆、脑、脂肪 (20%~50%血浆)、睾丸 (未检测到); 总淫羊藿苷元在组织中的分布由高到低排序依次为肠、胃、肺 (1~2 倍血浆)、血浆、肝、肾、子宫、卵巢 (20%~60%血浆)、肌肉、心、脾、睾丸、骨髓、脂肪、脑 (1%~7%血浆)。**结论** 大鼠 ig 给药后, 血浆中游离淫羊藿苷元及总淫羊藿苷元吸收迅速, 消除较快, 与 iv 给药相比, 游离淫羊藿苷元的绝对生物利用度仅为 1.42%, 而总淫羊藿苷元绝对生物利用度达到 96.0%。血浆中游离淫羊藿苷元的暴露量明显低于总淫羊藿苷元, 仅占总淫羊藿苷元暴露量的 0.208%, 提示淫羊藿苷元 ig 给药后在大鼠血液循环系统中主要以 II 相结合型产物暴露为主。但在多数组织中游离淫羊藿苷元的暴露量、暴露持续时间均明显高于血浆, 而且游离淫羊藿苷元与总淫羊藿苷元的比例也明显大于血浆。

关键词: 淫羊藿苷元; 游离淫羊藿苷元; 总淫羊藿苷元; 血浆动力学; 组织分布

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)10-3030-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.10.020

Pharmacokinetics and tissue distribution of icaritin after intragastric administration in rats

WANG Min^{1,2}, GU Yuan^{2,4}, ZHOU Yu², WU Li-nan², KAI Yue-yi², GENG Ya-jie², YAO Jing-chun³, WANG Xian-zhen³, SI Duan-yun²

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Lunan Pharmaceutical Group, State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Linyi 276000, China

4. Research Unit for Drug Metabolism, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300193, China

收稿日期: 2020-11-03

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2019-I2M-5-020); 释药技术与药代动力学国家重点实验室 (天津药物研究院) 自主研究课题 (010161005)

作者简介: 王 敏, 女, 研究方向为药动学。E-mail: 354068756@qq.com

*通信作者: 司端运, 男, 研究方向为药动学。E-mail: ddysi@sohu.com

王现珍, 女。E-mail: 18764967968@163.com

Abstract: Objective To describe the pharmacokinetics and tissue distribution of icaritin in rats and provide supports for further development of natural flavonoids. **Methods** The concentrations of free (icaritin) and total icaritin (the sum of icaritin and its two phase metabolites) in rats were detected by HPLC-MS/MS, the pharmacokinetic parameters were calculated by WinNonlin 7.0 with non-compartment model. **Results** After intravenous injection of icaritin (5 mg/kg) in rats, the C_{max} of free and total icaritin in plasma were (978 ± 107) and (2390 ± 295) ng/mL, respectively; AUC_{0-t} of which were (422 ± 38) and (3000 ± 932) ng·h/mL, respectively, $t_{1/2}$ were (1.640 ± 0.767) and (3.82 ± 2.16) h, respectively. After intragastric administration of icaritin (10 mg/kg) in rats, the t_{max} of free and total icaritin in plasma were about 0.292 h, C_{max} were (12.90 ± 5.77) and (3800 ± 1110) ng/mL, respectively; AUC_{0-t} were (12.00 ± 8.01) and (5760 ± 2200) ng·h/mL, respectively, the results of $t_{1/2}$ were (0.812 ± 0.263) and (2.73 ± 1.28) h, respectively; After intragastric administration of icaritin (10 mg/kg) in rats, the distribution of free icaritin in tissues in the order from high to low as follows: stomach, intestine, lung (110—220 times of plasma), liver, uterus (20—65 times of plasma), heart, ovary, spleen (4—15 times of plasma), bone marrow, kidney, muscle (1—2 times of plasma), plasma, brain, fat (20%—50% plasma), testicle (not detected). The distribution of total icaritin in tissues in the order from high to low as follows: intestine, stomach, lung (1—2 times of plasma), plasma, liver, kidney, uterus, ovary (20%—60% plasma), muscle, heart, spleen, testicle, bone marrow, fat, brain (1%—7% plasma). **Conclusion** After intragastric administration, the free and total icaritin in plasma were absorbed and eliminated rapidly, compared with intravenous administration, the absolute bioavailability of free icaritin was only 1.42%, while that of total icaritin was 96.0%. In plasma, the exposure of free icaritin was lower than that of total icaritin, the ratio of free icaritin to total icaritin exposure (AUC) was about 0.208%, which suggested that icaritin was mainly exposed as II binding products in the blood circulation system of rats. However, the exposure amount and exposure time of free icaritin in most tissues were significantly higher than those in plasma, and the ratio of free icaritin to total icaritin was significantly higher than that in plasma.

Key words: icaritin; free icaritin; total icaritin; pharmacokinetics; tissue distribution

随着社会的发展和国家对中药的高度重视，天然产物逐渐成为药物研究的热点，从天然产物中寻找活性成分或通过改善其结构，来获取新的化学药品已然成为新药开发的一种重要途径^[1]。淫羊藿作为我国传统中药，约有上千年的应用历史，具有治疗骨质疏松^[2-5]、抗癌^[6]、抗肿瘤、提高免疫力^[7]、治疗老年痴呆^[8]等作用，因其广泛的药理活性受到关注。

淫羊藿苷元是淫羊藿中主要药效单体成分，属于黄酮类化合物。黄酮类化合物的基本母核为苯并吡喃酮（C₆-C₃-C₆）的一类多酚化合物，以游离或与糖结合成苷的形式广泛存在于多种植物中，具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、神经保护、清除自由基、抗炎、心血管保护等多种药理活性^[9]。尽管黄酮类化合物具有广泛的药理活性，但是由于其结构中的多酚羟基，使该类化合物在体循环血浆中主要以与葡萄糖醛酸或硫酸酯结合物的形式暴露，发挥药效作用的游离黄酮苷元的暴露量很低，普遍被认为具有较低的生物利用度，限制了该类化合物的成药性开发^[10-12]。但是化合物在体内的真实浓度并不只是血药浓度所表现的，其在体内的生物利用度和暴露水平与血药浓度及组织浓度都有关系，而且组织中的存在形式更是直接影响药效的发挥。淫羊藿苷或淫羊藿苷元在动物血浆和组织中浓度测定的相关研

究已有报道^[13-19]，但是尚没有研究报道淫羊藿苷元及其 II 相代谢产物在血液循环系统和组织脏器中的暴露形式及相应暴露程度。

本研究通过 LC-MS/MS 建立大鼠血浆及组织中游离淫羊藿苷元及生物样品经葡萄糖醛酸和硫酸复合酶水解后得到的总淫羊藿苷元的检测方法，考察大鼠 ig 淫羊藿苷元后的绝对生物利用度、血浆药理学和组织分布特征，揭示淫羊藿苷元在血液循环系统和组织脏器中的暴露程度、暴露形式及暴露比例，为具有低血浆药物暴露却呈现良好体内药理活性的黄酮类药物开发提供依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

淫羊藿苷元（质量分数 99.33%，批号 170601）、淫羊藿苷元纳米晶（规格为 27.4 mg/mL，批号 181122）、淫羊藿苷元纳米晶溶媒（羟丙甲纤维素 E5LV 和十二烷基硫酸钠的混合物，批号分别为 D011FBLL01 和 101420180501），均为山东新时代药业有限公司产品；汉黄芩素（质量分数 100%，批号 111515-201706），中国食品药品检定研究院；β-葡萄糖醛酸酶（β-葡萄糖醛酸酶和硫酸酯酶复合酶，批号 SLBV4801），Sigma 公司；磷酸二氢铵（色谱纯，天津市立元化工有限公司，批号 20150814）；甲醇、乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司，批号分别

为 185366、186355); 正己烷 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司, 批号 190522); 甲基叔丁基醚 (色谱纯, 美国 Fisher 公司, 批号 18100787); 甲酸铵 (分析纯, 天津市光复精细化工研究所, 批号 20150313); 甲酸 (色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂, 批号 20181006); 甲酸 (质谱级, Sigma-Aldrich 公司, 批号 BCBP4740V); 超纯水为实验室自制。

1.2 仪器

高效液相色谱系统 (含 LC-30AD 二元梯度泵、SIL-30AC 自动进样器、CTO-30A 柱温箱、DGU-20A5 脱气机, 日本岛津公司); 5500 型三重四极杆串联质谱仪 (含 Turbo ESI 源、Analyst 1.5.2 工作站, 美国 AB Sciex 公司); 17R 台式高速冷冻离心机, 美国 Thermo Scientific 公司; 恒温混匀仪, 杭州奥盛仪器有限公司; Turbo Vap LV 型样品浓缩仪, 美国 Caliper 公司。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱 ZORBAX Eclipse Plus C₈ (100 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A)-0.5%甲酸-5%乙腈水溶液 (B) (80:20), 等度洗脱, 洗针水为乙腈-水 (90:10), 体积流量为 0.6 mL/min, 柱温 50 °C, 进样温度 6 °C。

2.2 质谱条件

ESI 离子源, 负离子检测; 喷雾电压为-4500 V; 源温度 500 °C; 加热气和喷雾气均为 60 Pa; 卷帘气为 20 Pa; 出口电压-17 V, 入口电压-10 V; 扫描模式为多反应监测, 淫羊藿苷元和内标汉黄芩素用于定量监测的离子对分别为 [M-H]⁻ m/z 367.1→309、283.1→162.9; 碰撞能分别为-37、-39 eV; 去簇电压分别为-110、-140 V。

2.3 动物

7~9 周龄 SD 大鼠 36 只, SPF 级, 190.5~298.5 g, 雌雄各半, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK (京) 2016-0006、SCXK (京) 2016-0011, 大鼠饲养环境温度为 (25±2) °C, 湿度为 (50±10) %, 12 h 光照, 昼夜交替, 实验方案经天津天诚新药评价有限公司实验动物伦理委员会审核通过 (批准号 2019022501), 实验过程符合动物实验的伦理要求。大鼠给药前禁食 12 h, 自由饮水, 给药后 3 h 统一给食。

2.4 给药溶液配制

剂量的选择参考药效学的量效关系, 大鼠血浆

动力学和组织分布以 10 mg/kg ig 给药, iv 以 5 mg/kg 给药。大鼠 ig 给药制剂为淫羊藿苷元纳米晶供试品, 加入空白溶媒 (淫羊藿苷元纳米晶溶媒) 制成; 大鼠 iv 给药制剂为淫羊藿苷元原料药, 加入 N,N-二甲基甲酰胺溶解后, 再加入 5%葡萄糖注射液 (N,N-二甲基甲酰胺-5%葡萄糖注射液 4:1) 稀释, 配制成溶液型制剂。

2.5 给药、分组及样品采集

2.5.1 血浆动力学 参考前期预试验结果, 依据总淫羊藿苷元及游离淫羊藿苷元大鼠 ig 给药后的达峰时间、消除特点进行实验设计。将 12 只 SD 大鼠, 随机分为 2 组, 每组 6 只, 分别 ig (10 mg/kg) 和 iv (5 mg/kg) 淫羊藿苷元, 并于给药后 0.083 h、0.25、0.5、1、2、3、4、6、9、12、15、18、24 h 自颈静脉采血, 肝素钠抗凝, 并离心分离血浆, -20 °C 冰箱冻存至 LC-MS/MS 定量分析。实验结束后, 动物统一麻醉后脱颈椎处死。

2.5.2 组织分布 根据血浆动力学的特征, 游离淫羊藿苷元和总淫羊藿苷元在 0.292 h 左右达到峰值, 半衰期分别为 0.812、2.73 h。设计组织样本采集时间点分别 0.25、2、9、18 h, 包含药物的吸收、分布、消除过程。将 24 只 SD 大鼠, 随机分为 4 组, 分别为 4 个时间点, 每个时间点 6 只, ig 淫羊藿苷元 (10 mg/kg), 并于各时间点腹主动脉取血并立即脱颈椎处死动物, 分别取血浆、脑、肌肉、脂肪、卵巢、子宫、睾丸、心、肝、脾、肺、肾、胃、肠 (十二指肠段)、骨髓。组织称质量, 剪刀剪碎, 以 1:5 (g/mL) 的比例用纯甲醇在冰浴条件下制备组织匀浆, -20 °C 冷冻保存待测。

2.6 样品处理

2.6.1 血浆中的淫羊藿苷元

(1) 游离淫羊藿苷元测定: 吸取 50 μL 血浆样品, 加入 150 μL 0.05 mol/L 磷酸二氢铵水溶液, 涡旋 1 min 后, 吸取 150 μL, 加入 50 μL 内标汉黄芩素甲醇溶液, 1.2 mL 提取剂甲基叔丁基醚-正己烷 (2:1), 涡旋 2 min, 4 °C、12 000 r/min 离心 5 min, 取上层有机相 960 μL 于玻璃试管中, 40 °C 水浴氮气吹干, 加入 100 μL 复溶液 (70% 甲醇水溶液) 涡旋复溶, 取复溶后样品于内插管中, 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min 后, 进行 LC-MS/MS 定量分析。

(2) 总淫羊藿苷元测定: 吸取 50 μL 血浆样品, 加入 150 μL 0.05 mol/L 磷酸二氢铵水溶液, 涡旋 1

min, 取 30 μL 加入 125 μL 200 U β -葡萄糖醛酸酶混匀后, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 40 min 后加入 50 μL 内标汉黄芩素, 之后提取等步骤与游离淫羊藿苷元测定步骤相同。

2.6.2 组织中的淫羊藿苷元

(1) 游离淫羊藿苷元测定: 吸取 50 μL 组织匀浆样品, 加入 50 μL 甲醇, 250 μL 0.05 mol/L 磷酸二氢铵水溶液, 25 μL 内标汉黄芩素甲醇溶液, 1.2 mL 提取剂正己烷-二氯甲烷-异丙醇 (20:10:1), 涡旋 2 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 5 min。取上层有机相 960 μL 于玻璃试管中, 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干后, 加入 100 μL 复溶液涡旋复溶, 取复溶后样品于内插管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 10 min 后, 进行 LC-MS/MS 分析。

(2) 总淫羊藿苷元测定: 吸取 50 μL 组织匀浆样品, 加入 50 μL 甲醇, 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干, 加入 250 μL 0.05 mol/L 磷酸二氢铵水溶液, 50 μL β -葡萄糖醛酸酶混匀后, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 40 min, 加入 25 μL 内标汉黄芩素甲醇溶液, 之后提取等步骤与游离淫羊藿苷元测定步骤相同。

2.7 数据处理

血浆药物浓度-时间数据采用 WinNonlin 7.0 软件非房室模型统计矩法计算药动学参数, 其中血药浓度-时间曲线下面积 (AUC) 采用梯形法计算, 消除半衰期 ($t_{1/2}$) 采用 Best Fit 法计算, 峰浓度 ($C_{\max}$) 及达峰时间 ($T_{\max}$) 采用实测值。

3 结果

3.1 方法学验证

血浆中淫羊藿苷元的 LC-MS/MS 定量分析方法经过了完整的方法学验证, 在该分析方法下, 血浆中的内源性物质不会干扰待测物和内标的测定,

总淫羊藿苷元和游离淫羊藿苷元的线性范围分别为 0.01~5 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.5~100 ng/mL, 曲线斜率的变异系数均小于 5.13%, 相关系数大于 0.99, 表明在该范围浓度内线性良好。定量下限分别为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.5 ng/mL, 准确度在 96.3%~108%, 精密度小于 9.52%。低、高 2 个质量浓度水平的基质效应在 87.7%~105%, 变异系数小于 11.6%。

组织中淫羊藿苷元的 LC-MS/MS 定量分析方法分别选取 3 个代表性组织脑、心、肝进行了 1 个分析批的部分方法学验证。组织中的内源性物质不会干扰待测物和内标的测定, 总淫羊藿苷元和游离淫羊藿苷元的线性范围均为 2.5~1000 ng/g, 相关系数大于 0.99, 表明在该范围浓度下线性关系良好。定量下限为 2.5 ng/g, 准确度在 103%~111%, 精密度小于 9.52%。低、高 2 个质量浓度水平的基质效应在 61.9%~89.4%, 变异系数小于 9.16%。

血浆和组织中的方法学验证结果均符合指导原则要求。

3.2 淫羊藿苷元的大鼠血浆药理学

大鼠 ig 给药后血药浓度-时间曲线见图 1。大鼠 ig 及 iv 给药后的主要药动学参数见表 1、2。

大鼠 ig 给药淫羊藿苷元后, 吸收迅速, 消除较快, 在血浆中总淫羊藿苷元的暴露量明显高于游离淫羊藿苷元, 总淫羊藿苷元的 $C_{\max}$ 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别是游离淫羊藿苷元的 295 倍和 347 倍, 提示淫羊藿苷元在血液循环系统中只有少部分以原型的形式存在, 大部分被代谢成为葡萄糖醛酸结合物和硫酸酯结合物。与大鼠 iv 淫羊藿苷元 (5 mg/kg) 相比, 经剂量校正后, 游离淫羊藿苷元的绝对生物利用度 (F) 为 1.42%, 总淫羊藿苷元的 F 为 96.0%。

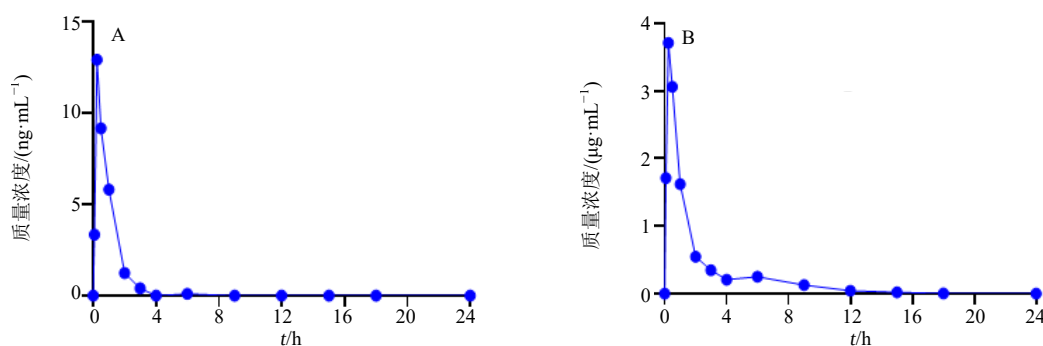


图 1 大鼠 ig 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 淫羊藿苷元后游离淫羊藿苷元 (A) 与总淫羊藿苷元 (B) 的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Fig. 1 Plasma concentration-time curve of free (A) and total (B) icaritin after intragastric administration of icaritin (10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表 1 大鼠 ig 10 mg·kg⁻¹ 淫羊藿苷元后血浆中淫羊藿苷元的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 1 Pharmacokinetic parameters of icaritin in plasma after intragastric administration of icaritin (10 mg·kg⁻¹) in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	游离淫羊藿苷元	总淫羊藿苷元
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	12.90±5.77	3800±1110
$T_{\max}$	h	0.292±0.102	0.292±0.102
AUC_{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	12.00±8.01	5760±2200
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL ⁻¹	16.80±6.89	5840±2180
MRT_{0-t}	h	0.743±0.266	2.580±0.510
$MRT_{0-\infty}$	h	1.130±0.257	2.910±0.558
$t_{1/2}$	h	0.812±0.263	2.73±1.28
F	%	1.42	96.0

MRT 为平均驻留时间

MRT is the average resident time

3.3 淫羊藿苷元的大鼠组织分布

大鼠 ig 给药后各组织分布见图 2 和表 3。

3.3.1 游离淫羊藿苷元 大鼠 ig 给药 10 mg/kg, 除肾、脂肪、肺在给药后 2 h 达分布峰值外, 其余组织中游离淫羊藿苷元均在 0.25 h 达分布峰值。随后逐渐消除, 给药 18 h 后组织中的淫羊藿苷元已降至分布峰值的 1/10 或 1/20 以下, 各组织的分布与血药浓度的时间变化趋势一致, 未发现明显的组织蓄积趋势。大鼠 ig 给药后, 淫羊藿苷元在组织中分布药浓度的时间变化趋势一致, 未发现明显的组织蓄积趋势。大鼠 ig 给药后, 淫羊藿苷元在组织中分布

表 2 大鼠 iv 5 mg·kg⁻¹ 淫羊藿苷元后血浆中淫羊藿苷元的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Pharmacokinetic parameters of icaritin in plasma after intravenous administration of icaritin (5 mg·kg⁻¹) in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	游离淫羊藿苷元	总淫羊藿苷元
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	978±107	2390±295
AUC_{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	422±38	3000±932
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL ⁻¹	425±38	3080±884
MRT_{0-t}	h	0.531±0.049	3.740±0.702
$MRT_{0-\infty}$	h	0.599±0.093	4.500±0.649
V_d	L·kg ⁻¹	28.5±14.9	10.4±7.4
CL	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	11.80±1.05	1.73±0.48

 V_d 为表观分布容积, CL 为清除率 V_d is the apparent volume of distribution, CL is the clearance rate

广泛, 所有被研究的组织中除睾丸外均可检测到游离淫羊藿苷元。基于 AUC_{0-t} 评价游离淫羊藿苷元在组织中的分布程度排序为胃、肠、肺 (110~220 倍血浆) > 肝、子宫 (20~65 倍血浆) > 心、卵巢、脾 (4~15 倍血浆) > 骨髓、肾、肌肉 (1~2 倍血浆) > 血浆 > 脑、脂肪 (20%~50% 血浆) > 睾丸 (未检测到)。总体趋势上组织中游离淫羊藿苷元的暴露量高于血浆。

3.3.2 总淫羊藿苷元 大鼠 ig 给药 10 mg/kg, 除睾丸、肺在 ig 给药后 2 h 达分布峰值外, 其余组织中总淫羊藿苷元均在 0.25 h 达分布峰值。随后逐渐消除, 给药后 18 h 组织中的总淫羊藿苷元已降至分布

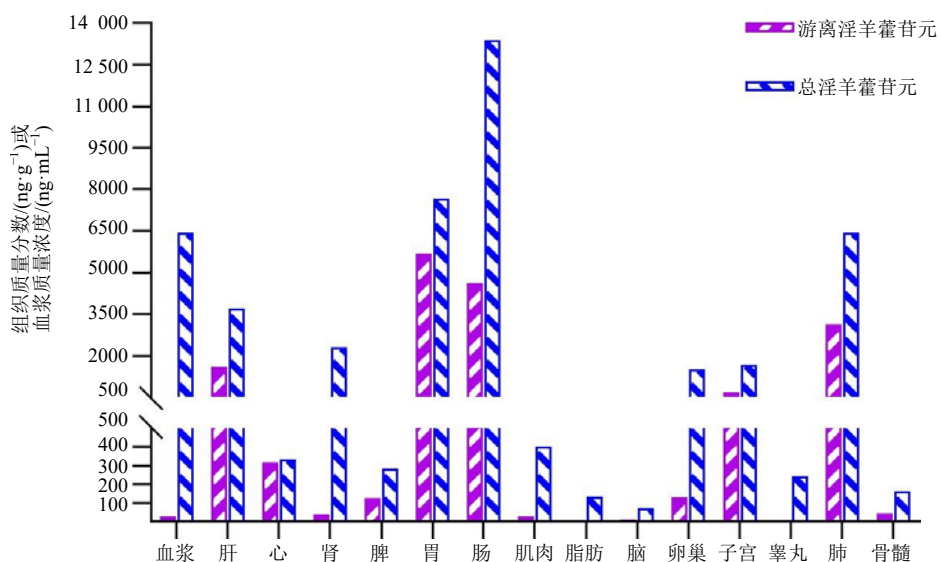
图 2 大鼠 ig 10 mg·kg⁻¹ 淫羊藿苷元后游离和总淫羊藿苷元的组织分布Fig. 2 Tissue distribution profile of free and total icaritin in rats after intragastric administration of icaritin (10 mg·kg⁻¹) in rats

表 3 大鼠 ig 10 mg·kg⁻¹ 淫羊藿苷元后各组织中游离和总淫羊藿苷元的暴露量比较 (n = 6)

Table 3 Comparison of free and total icaritin exposure in different tissues after intragastric administration of icaritin (10 mg·kg⁻¹) in rats (n = 6)

组织/血浆	游离淫羊藿苷元		总淫羊藿苷元	
	AUC _{0-18 h}	组织/血浆	AUC _{0-18 h}	组织/血浆
血浆	26.4 ng·h·mL ⁻¹	1.00	6 446 ng·h·mL ⁻¹	1.00
肝	1604 ng·h·g ⁻¹	60.8	3 704 ng·h·g ⁻¹	0.575
心	316 ng·h·g ⁻¹	12.0	334 ng·h·g ⁻¹	0.051 8
肾	41 ng·h·g ⁻¹	1.55	2 313 ng·h·g ⁻¹	0.359
脾	125 ng·h·g ⁻¹	4.73	286 ng·h·g ⁻¹	0.044 4
胃	5682 ng·h·g ⁻¹	215	7 657 ng·h·g ⁻¹	1.19
肠	4618 ng·h·g ⁻¹	175	13 398 ng·h·g ⁻¹	2.08
肌肉	26.4 ng·h·g ⁻¹	1.00	402 ng·h·g ⁻¹	0.062 4
脂肪	7.91 ng·h·g ⁻¹	0.300	136 ng·h·g ⁻¹	0.021 1
脑	13 ng·h·g ⁻¹	0.492	74.5 ng·h·g ⁻¹	0.011 6
卵巢	131 ng·h·g ⁻¹	4.96	1 530 ng·h·g ⁻¹	0.237
子宫	686 ng·h·g ⁻¹	26.0	1 681 ng·h·g ⁻¹	0.261
睾丸	0	0	244 ng·h·g ⁻¹	0.037 9
肺	3127 ng·h·g ⁻¹	118	6 444 ng·h·g ⁻¹	1.00
骨髓	43.1 ng·h·mL ⁻¹	1.63	161 ng·h·mL ⁻¹	0.025 0

峰值的 1/10 或 1/20 以下, 各组织的分布与血药浓度的时间变化趋势一致, 未发现明显的组织蓄积趋势。大鼠 ig 给药后, 总淫羊藿苷元在组织中分布广泛, 所有被研究的组织中均可检测到结合型的淫羊藿苷元。基于 AUC_{0-t} 评价总淫羊藿苷元在组织中的分布程度, 从高到低排序为肠、胃、肺 (1~2 倍血浆) > 血浆 > 肝、肾、子宫、卵巢 (20%~60% 血浆) > 肌肉、心、脾、睾丸、骨髓、脂肪、脑 (1%~7% 血浆)。总体趋势上, 除胃、肠外的各组织中总淫羊藿苷元的暴露量低于血浆。

大鼠灌胃淫羊藿苷元后, 多数组织中游离淫羊藿苷元的暴露量、暴露时间明显高于血浆, 而且游离淫羊藿苷元与总淫羊藿苷元的比例明显大于血浆。

4 讨论

在测定大鼠血浆和组织中总淫羊藿苷元浓度时, 进行了水解条件的考察和优化, 分别对 β-葡萄糖醛酸酶的浓度 (0、50、100、150、200、300、500 U) 以及孵育时间 (0、10、20、30、40、60 min) 进行了考察, 最终确定酶浓度为 200 U、孵育时间为 40 min 可以达到对总淫羊藿苷元的充分水解。

大鼠 ig 给予淫羊藿苷元后, 血浆中游离淫羊藿

苷元的浓度较低, 游离淫羊藿苷元与总淫羊藿苷元暴露量比为 0.208%, 提示 ig 给药后在大鼠的血液循环系统中淫羊藿苷元主要以 II 相结合型产物暴露为主。进一步结合大鼠 iv 给药 (5 mg/kg) 的数据, ig 给药后以游离淫羊藿苷元形式计算的绝对生物利用度为 1.42%, 以总淫羊藿苷元形式计算的绝对生物利用度为 96.0%, 提示虽然淫羊藿苷元的绝对生物利用度偏低, 但是其吸收分数并不低。除胃、肠外, 多数组织中游离淫羊藿苷元的暴露量明显高于血浆, 总淫羊藿苷元的暴露量低于血浆。除睾丸外, 其他组织中游离淫羊藿苷元与总淫羊藿苷元 AUC_{0-18 h} 比值 (1%~95%) 远高于血浆 (0.208%), 即与血浆相比, 游离的淫羊藿苷元在组织器官中的暴露量和暴露比例更高、持续时间更长。

淫羊藿苷元游离/结合形式暴露比例在血浆和组织中呈现出的悬殊差异, 在其他类型的天然药物和化学药物的药动力学研究中鲜有报道。这一现象是淫羊藿苷元特有的, 还是黄酮类化合物可能具有的共性, 以及产生该现象的机制? 是由于其 II 相结合物极性增大, 膜通透性变差, 不易于进入组织细胞, 还是血液和组织中的结合/水解代谢酶的差异引起的? 或转运差异引起的? 以上问题均需要进一步

的研究和验证,以便加快推动黄酮类化合物的成药性开发。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李玲,孙明玉,周涛,等.中国天然药物资源的研究现状与发展趋势[J].中国中医药现代远程教育,2017,15(15):49-52.
- [2] Chen S H, Zheng L Z, Zhang J Y, et al. A novel bone targeting delivery system carrying phytomolecule icaritin for prevention of steroid-associated osteonecrosis in rats [J]. *Bone*, 2018, 106: 52-60.
- [3] Zhao X Q, Lin Y, Jiang B J, et al. Icaritin inhibits lung cancer-induced osteoclastogenesis by suppressing the expression of IL-6 and TNF- α and through AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2020, 31(10): 1004-1011.
- [4] 武密山,赵素芝,任立中,等.淫羊藿苷元磷脂复合物防治去卵巢骨质疏松大鼠骨丢失和提高骨质量的实验研究[J].中国药理学杂志,2013,38(13):2163-2167.
- [5] 张庆涛,张茜,杨柳,等.骨质疏松症及相关中药淫羊藿研究进展[J].医学综述,2015,21(15):2767-2769.
- [6] Zhang C J, Sui X X, Jiang Y D, et al. Antitumor effects of icaritin and the molecular mechanisms [J]. *Discov Med*, 2020, 29(156): 5-16.
- [7] Li Y Y, Huang N Q, Feng F, et al. Icaritin improves memory and learning ability by decreasing BACE-1 expression and the Bax/Bcl-2 ratio in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice [J]. *Evid-Based Complement Altern Med*, 2020, 2020: 8963845.
- [8] 黄秀兰,周亚伟,王伟.淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展[J].中成药,2005,27(6):719-721.
- [9] 祁建宏,董芳旭.黄酮类化合物药理作用研究进展[J].北京联合大学学报,2020,34(3):89-92.
- [10] 王可可,龚其海.淫羊藿化学成分及药理作用的研究进展[J].中国民族民间医药,2015,24(19):16-18.
- [11] 牟佳佳,邱爽,陈党辉,等.天然黄酮类化合物抑制细胞周期蛋白依赖性激酶研究进展[J].沈阳药科大学学报,2020,37(9):852-864.
- [12] 张国辉,马辰.黄酮类化合物药动学研究进展[J].中草药,2004,35(5):582-585.
- [13] 邱峰,陈英杰,鹿野美弘,等.淫羊藿苷在大鼠体内的代谢[J].药学学报,1999,34(3):63-67.
- [14] 贾征,张彦,陈智仙,等.淫羊藿素主动靶向纳米粒在大鼠体内的药代动力学[J].卫生研究,2019,48(5):847-849.
- [15] 刘海培,孟繁华,郭继芬,等.淫羊藿素在大鼠体内的药动学研究[J].中国药理学杂志,2010,45(7):539-543.
- [16] 张双庆,何梦洁,黄振武.淫羊藿素在大鼠体内的组织分布[J].卫生研究,2016,45(6):1016-1017.
- [17] 张双庆,孙丽翠,黄振武.大鼠体内淫羊藿素葡萄糖醛酸代谢物的定量研究[J].卫生研究,2015,44(1):91-94.
- [18] Xu S, Yu J, Zhan J, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism study of icaritin in rat [J]. *BioMed Res Int*, 2017, doi: 10.1155/2017/4684962.
- [19] Zhang B, Chen X, Zhang R, et al. Metabolite profiling, pharmacokinetics, and *in vitro* glucuronidation of icaritin in rats by ultra-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Anal Methods Chem*, 2017, doi: 10.1155/2017/1073607.

[责任编辑 潘明佳]