

· 药物代谢 ·

葛根素自微乳在大鼠体内药代动力学分析

陈顺尧¹, 雷凯君¹, 吴颖欣¹, 王汝上^{2*}

(1. 广东省佛山市中医院, 广东 佛山 528000; 2. 广州康臣药物研究有限公司, 广州 510530)

[摘要] 目的: 考察葛根素自微乳在大鼠体内的血药浓度经时过程, 评价葛根素自微乳的药代动力学及相对生物利用度。方法: 单剂量给予大鼠葛根素自微乳和葛根素混悬液, 采用 HPLC 测定血浆中葛根素质量浓度, 检测波长 250 nm, 流动相甲醇(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~30 min, 20%~25% A; 30~40 min, 25%~40% A; 40~50 min, 40% A), 运用 DAS 2.1.1 程序拟合药物浓度-时间曲线, 计算药代动力学参数及生物利用度。结果: 葛根素自微乳和混悬液的 t_{max} 分别为 0.71, 1.1 h, C_{max} 分别为 2.052, 1.120 mg·L⁻¹, AUC_{0-24 h} 依次为 2.901, 2.013 mg·h·L⁻¹, 葛根素自微乳相对于混悬液的生物利用度 144.11%。结论: 与葛根素混悬液相比, 葛根素自微乳能显著提高葛根素在大鼠体内的生物利用度。

[关键词] 葛根素; 自微乳; 药代动力学; 生物利用度

[中图分类号] R283.6; R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0106-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100106

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000092.html>

[网络出版时间] 2014-03-07 11:00

Pharmacokinetics of Puerarin Self-microemulsions in Rats

CHEN Shun-yao¹, LEI Kai-jun¹, WU Ying-xin¹, WANG Ru-shang^{2*}

(1. Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000, China;

2. Guangzhou Consun Pharmaceutical Research Co. Ltd, Guangzhou 510530, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quantitative analysis method for pharmacokinetics and bioavailability of puerarin self-microemulsions in rats. **Method:** Puerarin self-microemulsions and suspensions were given by a single dose, HPLC was adopted to determine the concentration of puerarin in plasma with detection wavelength at 250 nm and mobile phase of methanol (A) -0.1% phosphoric acid solution (B) for gradient elution (0-30 min, 20% -25% A; 30-40 min, 25% -40% A; 40-50 min, 40% A), pharmacokinetics parameters and bioavailability was calculated by DAS 2.1.1 programs. **Result:** t_{max} of puerarin self-microemulsions and suspensions were 0.71, 1.1 h, C_{max} were 2.052, 1.120 mg·L⁻¹, AUC_{0-24 h} were 2.901, 2.013 mg·h·L⁻¹, respectively. Relative bioavailability of puerarin self-microemulsions to suspensions was 144.11%. **Conclusion:** Compared with puerarin suspensions, puerarin self-microemulsion could significantly improve bioavailability in rats.

[Key words] puerarin; self-microemulsion; pharmacokinetics; bioavailability

[收稿日期] 20130901(010)

[第一作者] 陈顺尧, 主管药师, 从事药学研究, Tel: 0757-83063172, E-mail: SSSL873@163.com

[通讯作者] * 王汝上, 研究员级工程师, 从事药物分析与化学研究, Tel: 020-82016888-8746, E-mail: resun-com@163.com

葛根素是从野葛根中提取的黄酮类化合物, 可保护缺血的心肌和脑组织, 主要用于治疗心律失常、高血压和心肌缺血等疾病^[1]; 同时具有抗氧化、增加血液流动性、降低肺动脉高压等作用, 可用于治疗糖尿病性周围神经病变和改善胰岛素抵抗等症^[2-3]。但葛根素水溶性差, 在体内吸收不稳定, 生

物利用度低,使其口服制剂的开发利用受到极大限制^[4]。自微乳给药系统能通过提高水难溶性或脂溶性药物的溶解度,改善药物透膜性,达到显著提高药物生物利用度的效果。本实验通过分析葛根素自微乳及其混悬液在大鼠体内的药代动力学参数,考察剂型对该药物生物利用度的影响,为姜黄素等水溶性差成分的自微乳口服制剂开发提供参考。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),GL-20G-C 型高速台式冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),BS224S 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),SK-1 型漩涡混合器(金坛市梅香仪器有限公司)。葛根素混悬液(葛根素 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,批号 20130215),葛根素对照品(批号 110733-201021,中国食品药品检定研究院),葛根素(批号 20120823,西安天瑞生物技术有限公司,纯度 $\geq 98\%$),葛根素自微乳(葛根素 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,批号 20130215),乙腈、甲醇为色谱纯,水为自制超纯水,其他溶剂均为分析纯。

健康的 SD 大鼠(雌雄各半),体重(190 ± 20) g,动物合格证号 SCXK(粤)2013-0302,由南方医科大学实验动物中心提供。

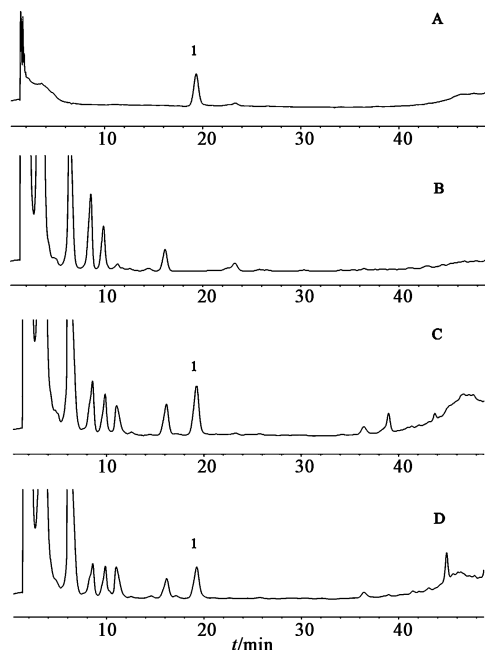
2 方法与结果

2.1 对照品溶液配备 精密称取葛根素对照品 10 mg,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 $0.213 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 储备液。精密量取储备液 2 mL 至 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,得 $17.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液,置 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。

2.2 血浆样品的处理 精密吸取血清 0.2 mL,加入甲醇 0.2 mL,置于漩涡混合器上混合 3 min,于 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取出上清液,经 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,即得^[5]。

2.3 色谱条件 Agilent C_{18} 色谱柱($4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 5 \text{ }\mu\text{m}$),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 250 nm,柱温室温,进样量 $10 \text{ }\mu\text{L}$,流动相甲醇(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~30 min,20%~25% A;30~40 min,25%~40% A;40~50 min,40% A)。理论塔板数以葛根素计不低于 6 000,见图 1。

2.4 标准曲线的制备 精密量取 2.1 项下储备液 0.1,0.3,0.5,1.0,2.0,5.0,10 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,得系列对照品溶液。按 2.3 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 1.332 2X + 66.168$ ($R^2 = 0.999 9$),线性范围 $0.008 25 \sim 852 \text{ }\mu\text{g}$ 。



A. 对照品;B. 空白血清;C. 给药血清;D. 混悬液给药血清

图 1 大鼠给予葛根素自微乳后血清 HPLC

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液($17.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)适量,按 2.3 项下色谱条件重复进样 6 次,计算葛根素峰面积的 RSD 0.72%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批样品按 2.2 项下方法制备 6 份血浆样品溶液,按 2.3 项下色谱条件测定,计算葛根素峰面积的 RSD 0.81%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密量取同一血浆样品溶液,分别于制备后 0,4,8,16,24,60 h 按 2.3 项下色谱条件测定,结果葛根素峰面积的 RSD 0.78%,表明血浆样品溶液在 60 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验 精密量取 $17.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葛根素对照品溶液 10,20,30 μL ,各 3 份,置磨口锥形瓶中,挥去甲醇。精密吸取样品 200 μL 置于上述锥形瓶中,按 2.2 项下方法制备血浆样品溶液,按 2.3 项下色谱条件测定峰面积,结果回收率分别为 $(99.89 \pm 0.38)\%$, $(100.01 \pm 0.27)\%$, $(100.21 \pm 0.24)\%$,平均回收率 100.04%,RSD 0.91%,表明该方法准确度良好。

2.9 药代动力学分析 取健康 SD 大鼠 40 只,随机分为葛根素自微乳给药组和葛根素混悬液给药组,每组 20 只,雌雄各半,每组分别于 20,30,40,60,90,120,180,240 min 取血,给药前禁食 12 h,不禁水。按 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量给药,分别灌胃给予葛

根素自微乳和葛根素混悬液,给药后于相应时间点采血 1 mL(大鼠眼球采血),于 5 000 r·min⁻¹离心 10 min,取血清于 -20 ℃ 冰箱保存备用。按 2.2 项下方法处理血浆样品,通过 HPLC 分析血药浓度数据,采用 DAS 2.1.1 版程序计算药代动力学参数及生物利用度,绘制药-时曲线,见图 2。

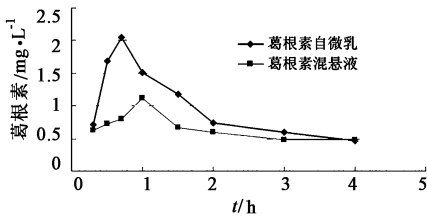


图 2 大鼠血清中葛根素的药-时曲线

利用 DAS 2.1.1 版程序进行数据处理,根据 AIC(赤池信息判据最小规则)结合 Re 值等判定葛根素自微乳为一级双室开放模型,权重因子 1/C/C,混悬液为一级单室开放模型,权重因子 1/C,主要药动学参数见表 1。结果表明大鼠口服葛根素自微乳后达峰浓度(C_{max})为口服葛根素混悬液达峰浓度的 1.833 倍,相对生物利用度 144.11%,达峰时间 1.1 h。

表 1 大鼠单剂量口服葛根素自微乳溶液和混悬液的药动学参数

参数	单位	葛根素混悬液	葛根素自微乳
t _{1/2}	h	0.731	1.647
AUC _(0-24 h)	mg·h ⁻¹ ·L ⁻¹	2.013	2.901
AUC _(0-∞)	mg·h ⁻¹ ·L ⁻¹	3.389	4.185
MRT _(0-t)	h	1.382	1.327
MRT _(0-∞)	h	2.793	1.754
C _{max}	mg·L ⁻¹	1.120	2.052
t _{max}	h	1.1	0.71

3 讨论

血浆样品处理过程中分别考察了乙腈、三氯甲烷、正丁醇等沉淀蛋白,但结果均不理想,最后采用甲醇处理,操作简单快速,且血浆中杂质无干扰。采用 HPLC 测定大鼠血药浓度,方法学考察证实该方法可行,操作简单,符合生物样品分析要求;结果表明两组药物给药后体内血药浓度在 0.5 ~ 1.1 h 时吸收最高,而后下降,但自微乳组给药后的峰浓度明

显高于混悬液组,并且各时间点的葛根素自微乳血药浓度均高于相同时间点的混悬液组血药浓度。

体内药代动力学研究时,一个完整药动学试验最少需要设计 9 个取血点,由于大鼠循环血量较少,如果取血次数太多,后面时间点的血药浓度会随着大鼠循环血量减少而偏高,从而影响整个试验结果,故将每个时间点分组,每组 2 只大鼠,以减少试验误差。

葛根素为难溶性化合物,口服吸收差,会影响临床疗效。近年来在提高葛根素生物利用度方面的研究较多,如葛根素固体分散体^[6]、葛根素亚微乳^[1]、葛根素脂质体^[7]等。通过大鼠体内药代动力学研究表明,葛根素自微乳能显著提高葛根素口服生物利用度。原因可能为葛根素为水不溶性化合物,水中低溶解度限制了葛根素的吸收,而自微乳能显著提高其溶解度;葛根素自微乳在体内液体的稀释下,能快速形成微乳,具有较大的表面积,同时由于其低表面张力容易通过胃肠壁的水化层,使药物直接与胃肠上皮细胞接触,增加了对肠道上皮细胞的通透性,促进了药物吸收^[5]。

[参考文献]

- [1] 岳鹏飞,袁海龙,丛龙波,等.葛根素亚微乳的制备及体内抗溶血评价[J].中国药学杂志,2008,43(2):119.
- [2] 江庆华.葛根素的药理作用与临床应用近况[J].中国热带医学,2006,6(2):326.
- [3] 胡静,徐德生.葛根素药理和临床研究进展[J].世界临床药物,2006,27(4):215.
- [4] Maheshwari R K, Singh A K, Gaddipati J, et al. Multiple biological activities of curcumin; a short review[J]. Life Sci, 2006, 78(18):2081.
- [5] 陈小新,赖小平,李耿,等.葛根素自微乳在小鼠体内的药代动力学研究[J].中成药,2011,33(7):1220.
- [6] 龚显峰,李述溪,赵学玲,等.葛根素固体分散体的制备及大鼠体内生物利用度研究[J].黑龙江医药,2009,22(2):157.
- [7] 宋金春,陈佳丽,黄岭.葛根素环糊精包合物脂质体的制备及体外性质研究[J].中国药学杂志,2008,43(23):1792.

[责任编辑 刘德文]