

葛根总黄酮分散片的药动学研究及其与愈风宁心片的比较

张嘉家, 易荆丽, 周毅生*, 王嵩, 赵永恒
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 研究葛根总黄酮分散片在大鼠体内的药代动力学特征及生物利用度, 并与市售愈风宁心片进行比较。方法: 大鼠灌胃给药葛根总黄酮分散片(受试制剂)及市售片(参比制剂)混悬液, 采用 HPLC 测定给药后各时间点的血药浓度, 用统计软件计算主要药代动力学参数。结果: 分散片与市售片的 C_{max} 分别为 (20.21 ± 0.18) , $(9.90 \pm 0.25) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 分散片的 $T_{max} = (0.50 \pm 0.03) \text{ h}$, 市售片 $T_{max} = (1.09 \pm 0.02) \text{ h}$; 分散片相对于市售片的生物利用度为 182.68%。结论: 葛根总黄酮分散片吸收快, 起效时间明显提前, 生物利用度明显优于市售片。

[关键词] 葛根总黄酮; 分散片; 愈风宁心片; 血药浓度; 药代动力学

[中图分类号] R783.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0107-04

[doi] 10.11653/syfyj2014010107

Comparison of Pharmacokinetics Between Yufeng Ningxin Tablet and Disperible Tablets of *Pueraria lobata* Flavone

ZHANG Jia-jia, YI Jing-li, ZHOU Yi-sheng*, WANG Song, ZHAO Yong-heng

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To study and compare the serum concentration and pharmacokinetics of disperible tablets of *Pueraria lobata* flavone and Yufeng Ningxin tablet in rats. **Method:** The mice were given disperible tablets of *Pueraria lobata* flavone and Yufeng Ningxin tablet, HPLC was used to test the serum concentration at different time points and design conditions of pharmacokinetics by statistical software. **Result:** The C_{max} of disperible tablets of *Pueraria lobata* flavone and merchant tablet was (20.21 ± 0.18) , $(9.90 \pm 0.25) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The disperible tablet T_{max} was $(0.50 \pm 0.03) \text{ h}$, merchant tablet being $(1.09 \pm 0.02) \text{ h}$. **Conclusion:** Disperible tablets of *Pueraria lobata* flavone has rapid absorbtion, the onset time was rapaid and the pharmacokinetics was superior to the control group.

[Key words] *Pueraria lobata* flavone; disperible tablet; Yufeng Ningxin tablet; serum concentration; pharmacokinetics

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *Pthom sonii* Benth. 的干燥根, 性味甘、辛、凉, 归脾、胃经, 具有解肌退热、生津、透疹, 升阳止泻的功效, 用于外感发热头痛、高血压颈项强

痛等^[1]。现代药理学研究显示, 葛根素具有降低血压、降血脂、改善心脑血管循环、延缓动脉硬化等作用^[2], 多用于治疗高血压、大脑局部缺血^[3]、心肌梗死^[4]、糖尿病^[5]和动脉硬化^[6]等疾病。葛根素的水溶性和脂溶性都比较差, 导致了其口服生物利用度低^[7-8], 而口服给药恰好是临床用药的主要形式, 尤其是治疗慢性疾病。目前, 以葛根为主要药物, 以及从葛根中制备的有效部位葛根黄酮或有效成分葛根素等制剂已在临床应用广泛, 如愈风宁心片。但是以葛根总黄酮制备成分散片, 国内国外均无任何同品种的文献或专利报道。分散片^[9-10]具有药物溶

[收稿日期] 20130302(009)

[基金项目] 广东省高等学校大学生创新实验项目 (1057310021)

[第一作者] 张嘉家, 硕士, E-mail: mao_024@163.com

[通讯作者] *周毅生, 教授, 从事药物新剂型和新技术研究, Tel: 020-36352168, E-mail: yishenzhou@yahoo.com.cn

出迅速、生物利用度较高的优点,可直接吞服、嚼服或投入水中分散后服用,特别适于吞服困难的患者,提高了患者的依从性,因此日益受到人们的关注。本实验采用 HPLC 测定大鼠灌胃市售片和葛根总黄酮分散片后的血药浓度,研究葛根素在大鼠体内的药代动力学特征及口服生物利用度,为葛根总黄酮分散片的制剂研制和临床合理用药提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器与试剂 Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站。高速冷冻离心机(上海安亨科学仪器厂, Anke TGL-16G 型), Diamonsil™ 钻石 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, Phenomenex KJO-4282 色谱预柱, 海尔超低温保存箱等。

自制葛根总黄酮分散片, 愈风宁心片(北京同仁堂制药有限公司, 批号 1120282), 葛根素对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110752-200912), 乙腈为色谱级, 水是蒸馏水。

1.2 动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 雌雄各半, 体重(220 ± 20)g, 由广州中医药大学试验动物中心提供, 合格证号 SCXK(粤)2008-0020, 试验前动物禁食不禁水 12 h。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil™ 钻石 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(14:86), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL。

2.2 葛根素对照品溶液的制备 称取葛根素对照品 10 mg, 精密称定, 加甲醇充分溶解, 定容于 50 mL 量瓶中, 制成每 1 mL 含 0.201 mg 葛根素贮备液。精密吸取贮备液 0.25 mL 于 10 mL 量瓶中, 以甲醇定容, 摇匀, 得 5.10 mg·L⁻¹ 的葛根素对照品溶液。

2.3 血浆样品的采集 SPF 级大鼠数只, 雌雄各半, 随机分为两组, 每组 6 只, 一组服用自备的分散片, 一组服用市售愈风宁心片。实验前禁食 12 h, 实验期间自由饮水。分别按 400 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃给药, 制剂灌胃体积根据大鼠体重调整。于给药后 5, 10, 15, 25, 30, 60, 75, 90, 105, 115, 130, 150, 200, 240, 480 min 由眼眶后静脉丛取血 300 μL, 置事先涂了肝素钠的离心试管中, 6 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 置 -80 °C 的冰箱中冷冻保存, 备用。

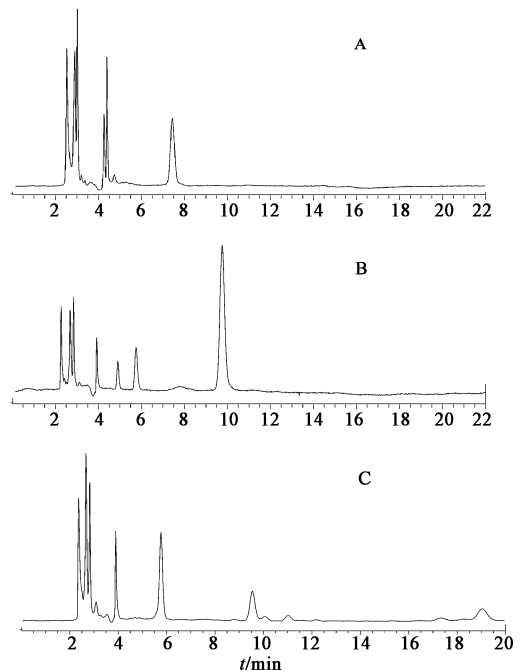
2.4 血浆样品的处理 取 0.1 mL 空白血浆加 0.3 mL 乙腈沉淀蛋白, 涡旋混匀 2 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 氮气 45 度吹干, 用 300 μL

甲醇复溶, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液进样。含药血浆也用同法处理。

2.5 数据分析 采用标准曲线法计算血药浓度, 血药浓度数据用动力学软件 PKsolver V2.0 处理, 计算灌胃给药后葛根素在大鼠体内的药代动力学参数。

2.6 分析方法的确证

2.6.1 系统适用性和专属性试验 在上述色谱条件下, 空白血浆、含葛根素对照品溶液的空白血浆、大鼠灌胃后的血浆样品 HPLC 图谱见图 1。由图可见, 葛根素与其他干扰组分分离效果良好, 无杂质峰干扰。在此色谱条件下, 血浆中葛根素的理论塔板数不低于 3 000, *t_R* 为 9.458 min 左右, 分离度均达到 1.5 以上。



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 葛根素; C. 血浆样品

图 1 葛根总黄酮高效液相色谱

2.6.2 标准曲线 分别于离心管中加入空白血浆 100 μL, 精密吸取 2.2 项下的葛根素对照品溶液 25, 50, 100, 200, 300, 400 μL, 配成 1.275, 2.55, 5.1, 10.2, 15.3, 20.40 mg·L⁻¹ 的含葛根素血浆样品, 按 2.5 项下方法处理进样分析。以葛根素峰面积 *Y* 对葛根素质量浓度 *X* (mg·L⁻¹) 进行线性回归, 回归方程 $Y = 10\ 270X + 3\ 989.3$ ($r = 0.999\ 6$), 葛根素在 1.275 ~ 20.40 mg·L⁻¹ 线性关系良好。

2.6.3 精密度与检测限 分别取空白血浆 100 μL, 加入葛根素对照品溶液, 配制成含葛根素 5.1, 10.2, 20.40 mg·L⁻¹ 的血浆样品 ($n = 5$), 按 2.5 项下方法操作, 于日内和 5 d 内各测定 3 批样品, 计

算日内和日间精密度。低、中、高浓度日内精密度 RSD 分别为 2.0%, 1.4%, 0.84%, 日间精密度 RSD 分别为 5.1%, 3.2%, 1.1%。最低检测限, 当 $S/N = 3$, 经测定最低检测限为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 最低定量限 (LOD) 为 $1.275 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6.4 回收率试验 精密吸取 $100 \mu\text{L}$ 空白血浆置于 1 mL 离心管中, 分成 3 组, 精密加入不同量的葛根素对照品, 使其质量浓度分别为 $5.1, 10.2, 20.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 按 2.5 项下方法操作, 在 2.1 色谱条件下测定葛根素含量, 计算回收率。低、中、高浓度的方法回收率分别为 $(103.98 \pm 6.29)\%$, $(99.75 \pm 5.13)\%$, $(99.60 \pm 2.44)\%$, 符合药动学研究要求。

分别吸取空白血浆及色谱甲醇 $100 \mu\text{L}$, 加入葛根素对照品溶液, 配制成含葛根素 $5.1, 10.2, 20.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的血浆样品及甲醇样品, 按 2.5 项下方法操作, 在 2.1 色谱条件下测定葛根素含量, 以血浆中葛根素测得量与甲醇中葛根素测得量之比计算提取回收率。低、中、高浓度的提取回收率分别为 $(68.65 \pm 5.99)\%$, $(71.74 \pm 3.69)\%$, $(76.81 \pm 2.45)\%$ 。符合药动学研究要求。

2.6.5 冻存稳定性试验 分别量取质量浓度为 $5.1, 10.2, 20.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葛根素血浆样品各 5 份, 置 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱冷冻保存, 1, 2, 4, 6 d 后按 2.5 项下方法操作, 记录葛根素峰面积, 计算葛根素的浓度。低、中、高浓度 RSD 分别为 3.1%, 4.2% 和 1.8%。结果表明葛根素的含药血浆冷冻保存在 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱里 6 d 内是稳定的。

2.7 葛根总黄酮分散片和愈风宁心片灌药给药后在大鼠体内的药动学参数 将测得的血药浓度数据用 PKsolver V2.0 药动学程序拟合计算, 结果表明, 根据测定的血药浓度数据的分布趋势, 测定血药浓度的参数比较大, 数据之间差异性比较少, 因此选择权重系数为 1。主要的药动学参数见表 1, 其与愈风宁心片的平均药-时曲线见图 2。

3 小结与讨论

由于血浆样品成分较为复杂, 许多文献提及含量测定方法需要萃取纯化, 浓缩等处理。在预实验中, 通过考察 6% 高氯酸、甲醇、乙腈三种溶剂用不同浓度沉淀蛋白, 最终筛选出以 3 倍量乙腈沉淀蛋白, 得出的样品杂峰少, 可使得葛根素与其他干扰物质色质谱峰有效分离, 而且葛根素出峰时间稳定, 由于其他物质无干扰现象, 故未加入内标物。结果表明, 该方法简便, 且其线性关系、精密度、回收率均符合要求, 适用于葛根总黄酮中葛根素血药浓度的测定

表 1 葛根素在大鼠体内的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s$)

参数	愈风宁心片	葛根总黄酮分散片
$C_{\max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	9.90 ± 0.25	20.21 ± 0.18
T_{\max}/h	1.09 ± 0.02	0.50 ± 0.03
$AUC_{0-1}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	21.80 ± 0.69	45.08 ± 1.14
$AUC_{0-\infty}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	30.47 ± 2.01	48.35 ± 0.45
$T_{1/2\beta}/\text{h}$	4.37 ± 0.35	1.69 ± 0.32
$T_{1/2\alpha}/\text{h}$	0.34 ± 0.05	0.24 ± 0.03
$V_z/F/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$	81.60 ± 0.86	18.70 ± 1.34
$Cl/F/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	13.20 ± 0.61	8.4 ± 0.06
MRT_{0-1}/h	2.77 ± 0.06	1.19 ± 0.03
$MRT_{0-\infty}/\text{h}$	6.03 ± 0.34	1.58 ± 0.07

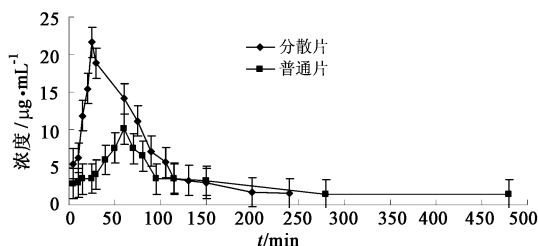


图 2 葛根总黄酮分散片与愈风宁心片的平均药-时曲线及药动学研究。

从表 1 可知, 分散片的吸收明显快于普通片; 峰浓度与普通片之间有显著性差异。AUC 值相比, 分散片的生物利用度是普通片的 182.68%。在预实验中, 将纯葛根素灌胃大鼠给药, 测出葛根素的血药浓度极低, 几乎没有吸收。由此可见, 葛根总黄酮中是否有某些成分能促进生物更好的吸收利用葛根素, 关于单独服用葛根素生物利用度差的原因并未见文献报道。

大鼠分别灌胃给予葛根总黄酮分散片和愈风宁心片, 葛根素的药动学特征比较显示, 其药-时曲线均可知, T_{\max} 有较大差异, 葛根素的 C_{\max} 为市售片的 2.28 倍, $AUC_{0-\infty}$ 为 1.59 倍。这种差异表明, 葛根总黄酮分散片中的葛根素在体内过程有较大的吸收, 提高了葛根素口服吸收的生物利用度。在预实验中, 对葛根总黄酮原料药、葛根总黄酮分散片以及愈风宁心片进行的药动学实验比较, 三者的 $T_{1/2\alpha}$ 相差较小, 前二者的 $T_{1/2\beta}$ 相差也较小, 但前二者与愈风宁心片的 $T_{1/2\beta}$ 相差较大, 由此推断愈风宁心片中葛根素释放缓慢, 在消除的同时可能还有部分吸收, 导致其表观消除半衰期延长。其具体原因有待进一步的研究。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 313.

花红片中槲皮素的药动学-药效学相关性初步研究

齐娜, 黄凤香, 廖迎, 徐勤, 罗朝辉, 李胜联*
(桂林医学院药剂药动教研室, 广西 桂林 541004)

[摘要] **目的:**研究花红片的药效学与其主要成分槲皮素的药动学,探讨其药动学与药效学相关性。**方法:**采用醋酸扭体法和热板法观察花红片对小鼠的镇痛作用,高效液相色谱法测定花红片中有效成分槲皮素在小鼠体内的血药浓度,以效应-时间、效应-血药浓度曲线进行相关分析;采用 WinNonlin 软件对药物效应-血药浓度进行 PK-PD 模型拟合。**结果:**花红片在 1~3 h 发挥较强的镇痛作用,与槲皮素血药浓度-时间曲线的达峰时间相比其具有一定的滞后性。痛阈提高百分率和血药浓度之间的关系符合简单的最大效应模型;镇痛抑制率和血药浓度之间的关系符合效应抑制模型。**结论:**花红片有明显的镇痛作用,其药效学与槲皮素药动学是相关的。

[关键词] 花红片; 槲皮素; 药动学; 药效学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0110-05

[doi] 10.11653/syfyj2014010110

Studies on Correlation Between Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Characteristics of Quercetin from Huahong Tablets

QI Na, HUANG Feng-xiang, LIAO Ying, XU Qin, LUO Chao-hui, LI Sheng-lian*

(Department of Pharmaceutics and Pharmacokinetics of Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

[Abstract] **Objective:** To study pharmacodynamic of Huahong tablets and its main component--quercetin's pharmacokinetics *in vivo* in order to investigate the preliminary correlation of pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK-PD). **Method:** Analgesic effect of Huahong tablets was studied by the writhing test induced by acetic acid and hot plate method in mice, the serum concentration of quercetin as Huahong tablets

[收稿日期] 20130627(021)

[基金项目] 广西教育厅项目(2008.10LX456)

[第一作者] 齐娜,博士,讲师,从事药物新剂型及药物动力学研究, Tel:13768435402, E-mail:qina1012@163.com

[通讯作者] *李胜联,硕士生导师,教授,从事医学科研设计与药理毒理学研究, Tel:13768747739, E-mail:lishenglian@glmc.edu.cn

- [2] 潘洪平. 葛根总黄酮和葛根素的药理作用和临床应用研究进展[J]. 广西药学, 2003, 25(10):1941.
- [3] Gao L, Ji X, Song J, et al. Puerarin protects against ischemic brain injury in a rat model of transient focal ischemia[J]. Neurol Res, 2009, 31:402.
- [4] Zhang S, Chen S, Shen Y, et al. Puerarin induces angiogenesis in myocardium of rat with myocardial infarction[J]. Bio Pharm Bull, 2006, 29, 945.
- [5] Hsu F L, Liu I M, Kuo D H, et al. Antihyperglycemic effect of puerarin in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. J Nat Prod, 2003, 66:788.
- [6] Yan L P, Chan S W, Chan A S C, Puerarin decreases serum total cholesterol and enhances thoracic aorta endothelial nitric oxide synthase expression in diet-induced hypercholesterolemic rats [J]. Life Sci, 2006, 79:324.
- [7] 张好琳, 梁敬钰. 葛根素的研究进展[J]. 海峡药学, 2005, 17(1):2.
- [8] 高远, 吕邵娃, 孙爽, 等. 提高葛根素生物利用度的研究进展[J]. 中医学报, 2012, 40(6):127.
- [9] 项瑞. 重要分散片的研究进展[J]. 首都医药, 2012, 16(4):21.
- [10] 李国栋, 魏华, 仲明远. 分散片发展现状[J]. 解放军药学学报, 1999, 12(15):24.

[责任编辑 邹晓翠]