

剂型因素和给药途径对人参皂苷 Rg_1 在大鼠血清和脑组织中分布的影响

陈新梅

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的:考察剂型因素和给药途径对人参皂苷 Rg_1 (GRg_1) 在大鼠血清和脑组织中分布的影响。方法:大鼠鼻腔给 GRg_1 鼻腔喷雾剂,以大鼠口服和鼻腔给 GRg_1 生理盐水为对照,给药后测定各组大鼠脑和血清中的 GRg_1 的含量。采用 Wagner-Nelson 法处理数据。结果:鼻腔给药途径使 GRg_1 在血清和脑组织中的分布和转运效率分别提高了 5.05, 2.50 倍;喷雾剂的剂型因素使 GRg_1 在血清和脑组织中的吸收和转运效率分别提高了 11.80, 3.35 倍。结论: GRg_1 鼻腔给药途径和喷雾剂都能显著提高其生物利用度。

[关键词] 人参皂苷 Rg_1 ; 鼻腔给药; 喷雾剂

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0043-04

Effect of Dosage Form and Administration Route to Distribution of Ginsenoside Rg_1 in Serum and Brain of Rats

CHEN Xin-mei

(College of pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the effect of dosage form and administration route on the distribution of ginsenoside Rg_1 (GRg_1) in serum and brain of the rats. **Method:** Compared with GRg_1 saline solution administrated from nasal route and oral route, GRg_1 nasal spray was administrated from nasal route in rats. The concentration of GRg_1 in the serum and brain was detected by HPLC-UV. The data was analyzed by the Wagner-Nelson method. **Result:** The distribution and transport efficiency of GRg_1 was improved 5.05 and 2.50 times respectively by nasal administration route. The distribution and transport efficiency of GRg_1 was improved 11.80 and 3.35 times respectively by nasal spray. **Conclusion:** The bio-availability of GRg_1 can be improved dramatically by the nasal administration route and nasal spray.

[Key words] ginsenoside Rg_1 ; nasal administration; spray

人参皂苷 Rg_1 (ginsenoside Rg_1 , GRg_1) 是人参中的一个代表性单体,现代药理学的研究表明: GRg_1 能够作用于神经系统,治疗老年阿尔茨海默症,但 GRg_1 口服后生物利用度很低,只有 1.9% ~ 20%^[1]。本课题组研制了 GRg_1 鼻腔喷雾剂,通过鼻腔给药,治疗和预防中枢神经系统退行性疾病。本研究以大鼠口服和鼻腔给 GRg_1 的生理盐水溶液为对照,将

GRg_1 鼻腔喷雾剂大鼠鼻腔给药后,考察剂型因素和给药途径对其在血清和脑分布的影响,从而为临床给药提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪 (Waters 486 型可变波长紫外检测器、510 型泵、N2000 色谱工作站), 3K30 型高速冷冻离心机 (Sigma 公司), 鼻腔定量喷雾泵 [万通 (苏州) 定量阀系统有限公司], OASIS 固相萃取柱 (HLB 1cc, 美国 Waters 公司)。

1.2 药品与试剂 GRg_1 (吉林省宏久生物科技股

[收稿日期] 20101203(011)

[第一作者] 陈新梅, 博士, 讲师, E-mail: xinmeichen@126.com

份有限公司,批号 20040504,纯度 98.99%),GR_{g1}对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110703-200322),乙腈(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),水为双蒸水,其余试剂为分析纯。

1.3 动物 健康成年 SD 大鼠,雌雄各半,体重(200 ± 20) g,中国药科大学动物中心提供,动物证号 SCXK(苏)2002-0011。

2 方法与结果

2.1 HPLC-UV 测定生物样品中 GR_{g1} 含量的方法学研究

2.1.1 色谱条件 Lichrospher C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),汉邦 C₁₈ 预柱,流动相乙腈-水(28:72),检测波长 203 nm,流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,进样体积 20 μL,灵敏度 0.05 AUS,外标法峰面积定量。

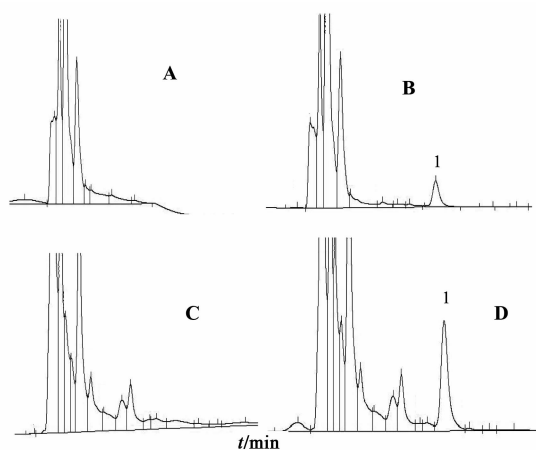
2.1.2 生物样品处理方法

2.1.2.1 血清样品 大鼠用乙醚轻微麻醉后股动脉放血处死,全血室温放置 1 h 后,高速离心(1 万 r · min⁻¹ × 15 min),分离血清。OASIS 固相萃取柱(HLB 1cc)用甲醇 1 mL 活化,再用双蒸馏水 1 mL 平衡。精密吸取血清 0.5 mL 上柱,滤液弃去;用 5% 甲醇水溶液 0.5 mL 洗脱,洗脱液弃去;固相萃取柱上的吸附物以甲醇 0.5 mL 洗脱 3 次,收集洗脱液,40 °C 压缩空气吹干,残渣用流动相 200 μL 溶解,离心(1 万 r · min⁻¹ × 10 min),吸取上清液进样分析,以外标法峰面积定量,记录色谱峰和峰面积。

2.1.2.2 脑组织样品 大鼠用乙醚轻微麻醉后股动脉放血处死,取出脑组织,用生理盐水 5.0 mL 冲洗干净,用定性滤纸吸干,称重。将脑组织样品剪碎,研磨均匀后,精密称定脑组织 1 g,置西林瓶中,加入生理盐水 10.0 mL,匀浆,浆液高速离心(1 万 r · min⁻¹ × 15 min),分离上清液,同 2.1.2.1 处理样品及测定。

在选定的色谱条件下,血清和脑组织中的物质不干扰 GR_{g1} 的含量测定,GR_{g1} 的保留时间为 5.3 min,色谱图见图 1。

2.1.3 血清和脑组织中 GR_{g1} 标准曲线 空白大鼠血清和脑组织匀浆中分别加入 GR_{g1} 对照品溶液,精密配成 1,5,10,25,50 mg · L⁻¹ 的标准溶液,按“生物样品的处理方法”进行处理后 HPLC 测定,依次进样分析,重复 5 次,以 GR_{g1} 质量浓度 C 对峰面积 A 进



A. 空白大鼠脑组织;B. 脑组织样品;C. 空白大鼠血清;
D. 血清样品;1. 人参皂苷 R_{g1}

图 1 血清和脑组织中人参皂苷 R_{g1} HPLC

行线性回归,得标准曲线,血清 $A = 4183C - 224$ ($r = 0.9988$),线性范围 1 ~ 50 mg · L⁻¹;脑组织 $A = 4301C - 278$ ($r = 0.9993$),线性范围 1 ~ 25 mg · L⁻¹。以信噪比 S/N 大于 3 计算,GR_{g1} 在血清和组织中的最低检测浓度为 0.05 mg · L⁻¹。

2.1.4 回收率试验

2.1.4.1 萃取回收率 精密吸取大鼠空白血清 0.5 mL 或脑组织样品制成匀浆后,分别加入不同浓度的 GR_{g1} 标准溶液,配制成高、中、低 3 种质量浓度的 GR_{g1} 生物样品,然后按“生物样品的处理方法”进行处理后 HPLC 测定,记录色谱图和峰面积,峰面积为 A₁;另取含有 GR_{g1} 高、中、低质量浓度的甲醇溶液 20 μL 用 HPLC 测定,得峰面积为 A₂。萃取回收率 = (A₁/A₂) × 100%。血清萃取回收率在低、中、高 3 个质量浓度分别为 80.12%,83.78%,85.39%;脑组织的萃取回收率在低、中、高 3 个质量浓度分别为 82.89%,85.53%,88.78%。

2.1.4.2 方法回收率 精密吸取大鼠空白血清 0.5 mL 或脑组织样品制成匀浆后,分别加入不同质量浓度的 GR_{g1} 标准溶液,配制成高、中、低 3 个质量浓度的 GR_{g1} 生物样品,然后按“生物样品的处理方法”进行处理后 HPLC 测定,记录色谱图和峰面积,所得到的峰面积代入标准曲线计算测得量,以测得量与加入量之比计算方法回收率,血清方法回收率在低、中、高 3 个质量浓度分别为 91.23%,95.86%,100.8%;脑组织的方法回收率在低、中、高 3 个质量浓度分别为 94.57%,99.08%,99.68%。

2.1.5 精密度试验 分别精密配制含有高、中、低

质量浓度的 GR_{g1} 血清和脑组织样品各 5 份,在 1 天内不同时间 HPLC 测定,根据标准曲线浓度计算日内差。结果表明测定值的 RSD 均小于 15%,符合生物样品分析要求。此后,在 1 周的不同天内,上述样品分别 HPLC 测定,计算日间差。结果表明测定值的 RSD 均小于 15%,符合生物样品分析要求。

2.2 剂型因素和给药途径对 GR_{g1} 在血清和脑组织中的分布影响 健康成年 SD 大鼠 72 只,随机分为 3 组,分别为 GR_{g1} 生理盐水灌胃组、GR_{g1} 生理盐水滴鼻组、GR_{g1} 鼻腔喷雾剂组,每组 24 只,给药剂量为 100 mg·kg⁻¹,于给药后 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 h 处死大鼠,每个时间点 4 只大鼠,分别取血、脑组织,按 2.1.2 项下方法进行处理,用 HPLC-UV 法检测生物样品中 GR_{g1} 的含量。GR_{g1} 在血清和脑组织中分布的直方图见图 2,3。

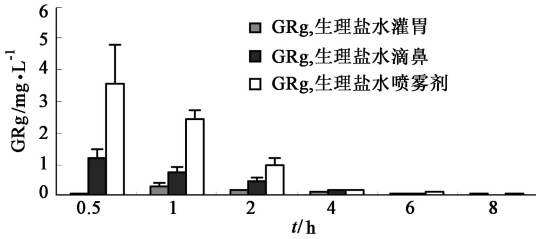


图 2 剂型因素和给药途径对 GR_{g1} 在血清中分布的影响 (n = 4)

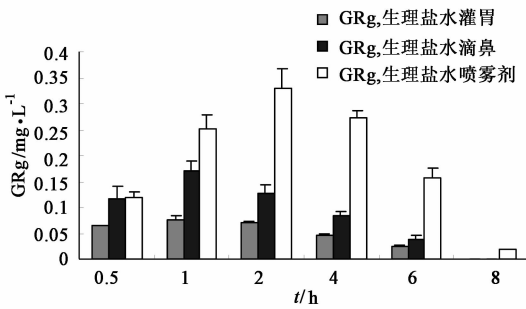


图 3 剂型因素和给药途径对 GR_{g1} 在脑组织中分布的影响 (n = 4)

2.3 数据处理

2.3.1 房室数的确定 采用《3P87 药代动力学计算程序》对大鼠灌胃给予 GR_{g1} 的生理盐水、鼻腔给予 GR_{g1} 的生理盐水、鼻腔给予 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂的数据处理,根据 AIC 值,结合拟合优度,相关系数确定房室模型。结果表明以上 3 组均为单室模型。

2.3.2 脑转运速度的比较 由于 Wagner-Nelson 法最大的优点为结果与转运机制无关,不管转运速度常数是一级还是零级均适用^[2],因此,本实验数据采

用 Wagner-Nelson 法处理数据,结果见表 2, GR_{g1} 的生理盐水溶液经过口服后脑内质量分数为 0.152 3 μg·g⁻¹,达到 100% 吸收的时间为 4 ~ 6 h; GR_{g1} 的生理盐水溶液经过鼻腔给药后脑内质量分数为 0.380 9 μg·g⁻¹,达到 100% 吸收的时间为 4 ~ 6 h; GR_{g1} 鼻腔喷雾剂经过鼻腔给药后脑内药量为 0.509 9,达到 100% 吸收的时间为 2 ~ 4 h;结果表明与口服给药途径相比,鼻腔喷雾剂使 GR_{g1} 在脑内的药量提高了 3.35 倍,时间相对较快;与鼻腔生理盐水溶液相比,鼻腔喷雾剂提高脑内的药量 1.34 倍,时间相对较快。

表 2 剂型因素和给药途径对 GR_{g1} 脑转运速度的影响

组别	t/h	C/μg·g ⁻¹	C _i + k ∫ ₀ ^t C _d dt	(X _A) _t / (X _A) _∞
GR _{g1} 生理盐水灌胃	0.5	0.065 6	0.070 6	0.463 6
	1	0.075 9	0.091 6	0.601 7
	2	0.071 7	0.109 5	0.719 6
	4	0.067 2	0.147 0	0.965 8
	6	0.065 6	0.185 4	1.218 3
	8	0.009 6	0.152 2	
	0 - ∞		0.152 3	
GR _{g1} 生理盐水滴鼻	0.5	0.115 6	0.130 8	0.343 2
	1	0.171 2	0.223 9	0.587 8
	2	0.127 3	0.258 3	0.677 9
	4	0.094 4	0.341 6	0.896 6
	6	0.079 1	0.417 1	1.094 8
	8	0.000 9	0.380 9	
	0 - ∞		0.380 9	
GR _{g1} 鼻腔喷雾剂	0.5	0.118 5	0.126 4	0.247 9
	1	0.250 9	0.283 2	0.555 6
	2	0.329 7	0.438 8	0.860 8
	4	0.273 1	0.541 8	1.062 7
	6	0.156 5	0.538 9	1.057 2
	8	0.067 9	0.508 8	
	0 - ∞		0.509 9	

2.3.3 血清和脑组织中分布和转运效率的比较 将 GR_{g1} 生理盐水溶液鼻腔给药、GR_{g1} 鼻腔喷雾剂鼻腔给药后的血清与脑组织中的药-时曲线下的面积与 GR_{g1} 生理盐水溶液灌胃给药后的血清与脑组织中的药-时曲线下的面积相比较,求 GR_{g1} 在血清和脑中的转运效率,结果与口服途径相比,鼻腔给药

牛蒡甘草汤的提取工艺优选

邵晶, 樊秦, 郭玫*, 余晓晖, 段文达
(甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 优选牛蒡甘草汤的最佳提取工艺条件。方法: 以牛蒡苷含量和干膏得率的综合评分为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法, 对影响其提取率的重要因素(A)加水量、(B)煎煮时间、(C)煎煮次数进行优选。采用 HPLC 测定牛蒡苷的含量, Hypersil-Keystone C_{18} 色谱柱, 流动相甲醇-水(43:57), 检测波长 280 nm。结果: 优选的最佳水提工艺条件为 8 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 2 h。验证试验显示牛蒡苷质量分数为 20.69%, 干膏得率为 24.37%。结论: 优选出的牛蒡甘草汤水提取工艺稳定可行。

[关键词] 牛蒡甘草汤; 正交设计; 提取工艺; 牛蒡苷; 干膏得率

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0046-03

Optimization of Extraction Conditions of Niubang Gancao Tang by Orthogonal Design

SHAO Jing, FAN Qin, GUO Mei*, YU Xiao-hui, DUAN Wen-da
(Gansu University of Traditional Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the water extraction conditions of Niubang Gancao Tang. **Method:** The $L_9(3^4)$ orthogonal method was employed to study the best extracted technics through analyzing the content of arctiin by HPLC and the weight of ointment. The determination was carried out on a Hypersil-Keystone C_{18} column with the mobile phase of methanol and water (43:57), detection wavelength of 280 nm. **Result:** The best technics of extraction process is 10 times amount of water, decocted 3 times, 2 hours each time. Validatvon test showed that

[收稿日期] 20100315(012)

[第一作者] 邵晶, 硕士, 讲师, 从事中药及其复方制剂研究, Tel:0931-8765394, E-mail:cn221@163.com

[通讯作者] * 郭玫, 硕士, 教授, 从事中药及其复方制剂研究, Tel:0931-8765394, E-mail:yaohua@gszy.edu.cn

可以提高 GR_{g_1} 在血清和脑组织中分布和转运效率; 鼻腔给药这种给药途径使 GR_{g_1} 在血清和脑组织中的吸收和转运效率分别提高了 5.05, 2.50 倍; 鼻腔喷雾剂的剂型因素使 GR_{g_1} 在血清和脑组织中的吸收和转运效率分别提高了 11.80, 3.35 倍。

3 讨论

与口服 GR_{g_1} 生理盐水溶液相比, 鼻腔给药途径使 GR_{g_1} 在脑中的转运速度提高, 在脑中达到 100% 转运的时间缩短; 与鼻腔给 GR_{g_1} 生理盐水相比, 鼻腔喷雾剂使得 GR_{g_1} 在脑中的 AUC 提高; 因此对于应用 GR_{g_1} 预防和治疗中枢神经系统的退行性疾病

来说, 鼻腔给药是良好的给药途径、鼻腔喷雾剂是良好的剂型之一。

[参考文献]

- [1] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution excretion and metabolism of ginseng saponins II. The absorption, distribution and excretion ginsenoside R_{g_1} in the rats [J]. Chem Pharm Bull, 1983, 31(1):292.
- [2] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000:183.

[责任编辑 全燕]