

葛根素和葛根黄酮的药代动力学研究概述

郭宇洁, 孟 硕, 徐 辉, 刘建勋*

(中国中医科学院西苑医院实验中心, 北京 100091)

[摘要] 中药的作用特点是多成分、多途径、多靶点, 中药药代动力学的研究是中药研究的关键技术之一。葛根的主要有效成分和有效部位为葛根素及葛根黄酮, 该文从生物样品预处理、样品测定、葛根素及葛根黄酮在体内的吸收、分布、代谢排泄和药动学参数等方面着手, 对葛根素和葛根黄酮的药代动力学研究进行综述, 认为应加强正常和病理状态下葛根素和葛根黄酮在脑脊液及脑组织中的分布和代谢研究, 为临床脑血管疾病以及相关疾病的治疗提供用药指导。

[关键词] 葛根素; 葛根黄酮; 药代动力学

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2009)06-0082-04

A Brief Review on Herbal Pharmacokinetics Study for Puerarin and Flavone of *Radix puerariae lobatae*

GUO Yujie, MENG Shuo, XU Hui, LIU Jian-xun*

(Center for Research, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] The action principles of Chinese traditional medicines feature multi-active components, multi-paths, multi-target sites. One of the key points in Chinese traditional medicine research is the study of herbal pharmacokinetics. The chief active constituent and effective part of *Radix puerariae lobatae* are puerarin and flavone. The pharmacokinetics researches for the two components are summed up, including biological specimen pretreatment, sample identification, absorption, distribution, metabolism and excretion in vivo.

[Key words] puerarin; flavone of radix puerariae; pharmacokinetics

[收稿日期] 2008-07-03

[通讯作者] * 刘建勋, Tel: (010) 62875599-6177; E-mail: jianxun@ht.rol.cn.net

中药药代动力学研究是中药复方研究的热点、弱点和难点,是近 20 年来发展起来的领域,以成分复杂、干扰因素多为其特点和难点,很多学者仍然在这一领域进行了有效的探索研究。葛根素及葛根黄酮作为葛根主要有效成分和有效部位,治疗高血压、冠心病、心绞痛、心肌梗死、脑缺血、脑梗死、偏头痛、突发性耳聋和糖尿病等病症,在临床的应用不断拓展,其药代动力学研究日益深入,现将近年来葛根素和葛根黄酮的药代动力学研究概述如下。

1 样品预处理

1.1 血浆及胆汁中的样品预处理 药代动力学样品预处理均需要沉淀去除其中的蛋白,加入有机溶剂为沉淀蛋白的常用方法,多加入无水甲醇^[1]、无水乙醇^[2]、95%乙醇^[3]、乙腈^[4],血浆与溶剂的比例多为 1:4 或 1:8^[5-6]。

张志荣等^[7]认为用无水乙醇沉淀蛋白,需要用量较大才能使蛋白沉淀完全,故在血浆中只加入等量 $0.58 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的高氯酸溶液进行蛋白质沉淀即可,不再加入别的溶剂^[8-10]。

药物在胆汁排泄时进行样品预处理,曾只用甲醇进行萃取,发现效果不好。根据葛根素的理化性质采用了甲醇与氯仿的混合溶剂,甲醇和氯仿的比例不同,提取的效果也不同,甲醇:氯仿=2:1 时效果最好^[11]。

郭莹^[12]等进行血样预处理时曾采用甲醇法沉淀血样中的蛋白,沉淀效果均较好,但对比空白血浆和空白血浆加标准品图谱,发现空白血浆图谱上葛根素出峰时间处有一杂质峰干扰,未能通过流动相的调整将干扰避开。采用乙腈处理蛋白的同时可将干扰峰除去。用乙腈处理血浆样品后离心得到上清液,直接注入色谱系统检测,发现其内标物对羟基苯甲酸峰分裂出 1~2 个肩峰,改用氮气吹干后用流动相溶解,消除这一现象,峰形较好。

另外,还有加入等量蛋白沉淀剂^[13]、水浴法^[14-15]、固相萃取法(SPE)^[16]等预处理样品的报道。

1.2 组织样品预处理 对于组织样品^[17],按 1:4(G/V)加入生理盐水,匀浆后按 1:13.5(G/V)加入无水甲醇,沉淀蛋白。

2 样品测定

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 色谱柱 ShimpackCLC-ODS 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)^[17]; InertsilODS-3 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)^[18]; NovapakC₁₈ 4 μm 色谱柱^[9]; 不锈钢分析色谱柱 250 mm × 4.6 mm, 保护柱 50 mm × 4.6 mm, 固定相为 YWG-C16, 10 μm^[19]; ODSC₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)^[12]。

2.1.2 流动相 甲醇-5.625 mol·L⁻¹醋酸-水(25:3:72)^[17]; 甲醇-水-醋酸(5.625 mol·L⁻¹(39:58:3)^[18]; 甲醇-水(30:70)^[9]; 甲醇-水-0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH7.4)(450:522.5:27.5)^[19]; 甲醇-水(20:80)^[15]; 甲醇-0.5%醋酸水(28:72)^[12]。

2.1.3 检测波长 247 nm, 248 nm, 250 nm, 252 nm^[5,7,9,18]。

2.1.4 内标物 在高效液相测定中,可以不选内标物,也可选择对羟基苯甲酸和大豆甾元等为内标物^[18-19]。

2.2 其他方法 薄层色谱紫外分光光度法和薄层色谱荧光

分光光度法分离测定大鼠体内葛根素,方法操作繁琐,用血量较多,灵敏度较低^[20-21]; 高效毛细管电泳(HPCE)法有理论柱效高,所需样品少等优点^[22],田景振等^[2]用该法对葛根素进行了测定,并认为磷酸缓冲液(pH=7.4)测定葛根素,存在响应值较小和基线不稳定的缺点,用硼酸缓冲液较理想。

3 药代动力学研究

葛根素是葛根和葛根黄酮中的主要有效成分之一,虽然文献^[23]显示,葛根素与葛根黄酮的体内动力学过程不完全相同,葛根素不能完全反应葛根黄酮的药代特征,但是在一定程度上两者有所趋同,选择葛根素为标示成分反映葛根和葛根黄酮的药代动力学过程是合理的,可行的。

3.1 药物的体内吸收

3.1.1 葛根素的体内吸收 葛根素治疗心血管疾病的疗效已得到充分肯定,但是其溶解度低^[20],仅为 $1.1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (即 0.46%)^[24-25],大鼠灌胃和人临床口服葛根素生物利用度均较低。磷脂的乳化作用可提高葛根素在大鼠离体肠管吸收量的 2~4 倍,乳剂凭其脂溶性而易于通过生物膜是提高葛根素生物利用度的物理化学基础^[26]。磷脂可明显增强葛根素改善家兔血液流变和微循环的指标,除了与提高葛根素的生物利用度有关外,还可能与磷脂有利于葛根素通过生物膜进入靶器官内有关^[27]。

3.1.2 葛根黄酮的体内吸收 小鼠(空腹 12 h)口服葛根黄酮不同剂量(2.4 g·kg⁻¹, 0.2 g·kg⁻¹)后,血药葛根素在 15~30 min 达高峰,2 h 后开始下降。血药浓度随给药剂量增加而增高。小鼠不禁食情况下口服葛根黄酮,则血药葛根素的达峰时间后移,约在 0.5~1 h 出现^[3]。对大鼠的十二指肠、空肠、回肠和结肠分别进行在体肠吸收实验^[28],葛根黄酮中葛根素在整个肠道中均有吸收且在十二指肠段吸收较快,为吸收的主要部位,明显高于其他肠段,有统计学意义($P < 0.05$),这与文献^[29]报道药物在小肠上段比小肠下段有较大吸收相符。家兔口服葛根黄酮滴丸后^[30],药物迅速溶出入血,达峰时间为 0.81 h,峰浓度为 $0.73 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, C_{max} 高说明葛根黄酮滴丸显效快,生物利用高,为一速释型制剂。葛根黄酮滴丸较高的生物利用度可认为是由于 PEG 固体分散体使药物均匀地分散在载体中,增加了药物的溶解度,促进了药物的溶出和释放。

3.2 药物的体内分布

3.2.1 葛根素的体内分布 在大鼠、兔、狗、人的实验中表明^[20],葛根素在体内分布快且较广。静注后药物在各组织中的分布以肾、血浆、肝中较高;睾丸、心脏、肌肉和脾脏次之。葛根素可通过血脑屏障进入脑内,但含量较低。蛋白结合实验表明,葛根素同肝、肾、血浆、肺组织蛋白结合率分别为(32.5 ± 4.4)%, (27.1 ± 3.1)%, (24.6 ± 3.5)% 及 15.8%。有实验表明^[10]葛根素通过腹腔注射能透过血房水屏障,进入眼房水,为葛根素全身用药治疗眼部疾病提供了实验依据。

3.2.2 葛根黄酮的体内分布 给小鼠口服新工艺制备的葛根黄酮后 30 min,心、脑、肝、肾中均有分布,且药物浓度由高

到低依次为肾>肝>脑>心,在大鼠体内为肾>脾>心>肝>肺>脑,其在脑中的分布虽然较低,但其代谢较缓慢^[3]。

生理状态下,静脉注射 CBN(金森脑泰注射剂) 15 min 后,葛根素在肾和肝中的浓度均达到最高,分别占总给药量的 31.7% 和 0.3%,并随时间延长而很快下降。1 h 后肾内的药量占总药量的 3%,30 min 时肝中的药物浓度仅为给药量的 0.09%,说明金森脑泰注射剂中葛根黄酮的主要成分葛根素主要在肾脏中分布^[17]。

3.3 药物的体内代谢和排泄

3.3.1 葛根素的体内代谢和排泄 葛根素在动物体内的排泄与给药途径密切相关。口服给药时葛根素以粪便排泄为主^[20],为总剂量的 35.7%,尿液中排出量为总剂量的 1.85%;静脉给药时正好相反^[11],以尿液排出为主,占总剂量的 34%,粪中排泄量仅为给药量的 8.9%。由此说明葛根素自大鼠体内的排泄与给药途径有关,同时也表明口服给药葛根素吸收较少,生物利用度较低。健康人体静脉注射葛根素^[18,31],主要由肾脏清除,在体内分布迅速,消除快,无蓄积。在糖尿病肾病(DN)早期,葛根素体内代谢与健康人无明显差别,随着肾功能损害的加重,药物的分布及清除将减慢,导致体内药动学过程出现明显改变。建议 DN 进入临床中期时,给药剂量宜偏小。

3.3.2 葛根黄酮的体内代谢和排泄 小鼠口服葛根黄酮制剂,其主要排泄途径为肠道^[3];大鼠尾静脉注射含有葛根黄酮的金森脑泰注射剂(CBN)后收集尿液^[11],给药 12 h 后药物自尿中排出原形药物占给药量的 34.6%,其中 85.6%是在前 2 h 从尿中排泄的。说明葛根素在体内自尿排泄迅速,由肾脏清除,在肾脏不易蓄积。

3.4 药物的动力学参数

3.4.1 葛根素的动力学参数 狗^[19]、葛根素滴眼液给家兔一次滴眼后^[32-33],糖尿病患者^[8]其在体内的药时过程为线性动力学过程,符合开放式二室模型。不同浓度的葛根素其吸收速率常数无显著差异($P > 0.05$),在肠道内的吸收呈现一级动力学过程,其吸收机制为被动扩散^[29]。

3.4.2 葛根黄酮的动力学参数 小鼠、大鼠^[3],兔^[30]口服葛根黄酮后,葛根素在体内的药-时过程为二室模型。小鼠^[3]其在体内的药时过程为线性动力学过程,符合开放式二室模型。

4 影响因素

4.1 动物种类及其生理、病理状态 葛根素在大鼠、兔、犬 3 种动物体内的药代动力学参数与其体重具有相关性^[34]。脑缺血再灌注组和正常组在药时曲线下面积、表观分布容积、平均滞留时间等方面均有较大差异,脑缺血再灌注大鼠体内的消除时间较正常大鼠延长。葛根素在正常大鼠体内为一室模型,在脑缺血再灌注大鼠体内为二室模型^[5]。

4.2 药物的理化性质和不同配比 葛根素从大鼠肝脏的消除为线性动力学过程^[35],维拉帕米和红霉素对葛根素在大鼠离体肝脏的消除有抑制作用,利福平对葛根素在大鼠离体

肝脏的消除有促进作用。黄酮、生物碱、皂苷、挥发油用量配比不同的 9 个组合,对血浆中葛根素代谢变化有不同的影响,有效部位配伍不同血浆中葛根素的代谢变化不同,由此可以探讨中药复方配伍的内在机制^[12]。

4.3 吸收促进剂 表面活性剂吐温-80^[36]可以提高葛根素固体分散体的溶出速率;磷脂^[27]的乳化作用可提高葛根素在大鼠离体肠管吸收量的 2~4 倍;不同浓度薄荷醇^[37]可促进葛根素透皮吸收,与氮酮、丙二醇复合应用透皮效果更好;壳聚糖^[38]能够打开消化道上皮间的紧密连接,增加药物的透膜吸收,60% 甲基化的壳聚糖可提高葛根素的口服生物利用度约 3 倍;氮酮^[39]对葛根素的透皮吸收作用有较大的促进作用,不同浓度的氮酮对葛根素的透皮吸收促进率在统计学上有极显著差异($P < 0.01$);中药挥发油肉桂油、丁香油、高良姜油、茴香油、干姜油^[40]等辛类挥发油对葛根素的透皮吸收有促进作用。

4.4 药物剂型 不同的剂型对葛根素和葛根黄酮的吸收有不同的影响。家兔口服葛根黄酮滴丸后,药物迅速溶出入血^[30]。葛根总黄酮缓释片与葛根总黄酮普通片比较^[41],峰浓度(C_{max})明显降低($0.443 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$: $0.398 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$);达峰时间(t_{max})明显延长(1.8 h: 2.4 h);平均滞留时间(MRT)显著延长(3.18 h: 7.67 h);相对生物利用度明显提高,AUC 比值为 186% (2.824/1.520),具有显著的统计学差异($P < 0.01$),提示葛根总黄酮缓释片具有明显的缓释效果。

5 葛根素和葛根黄酮的研究展望

葛根素和葛根黄酮作为药物和保健食品的应用越来越广泛,葛根素具有扩张脑血管、增加脑血流量、改善脑微循环障碍的药理作用。近年来葛根药代动力学研究报道日益增多,葛根素和葛根黄酮可以通过血脑屏障,和临床治疗脑血管疾病的应用具有统一性,通过药动-药效相关分析可将生物效应法与药物浓度法联系起来,从两者差异中找到量化依据,从药代动力学角度推测葛根的作用机制。要加强正常和病理状态下葛根素和葛根黄酮在脑脊液及脑组织中的分布和代谢研究,为临床脑血管疾病以及相关疾病的治疗提供用药指导。

[参考文献]

- [1] 郭东艳,杨大坚,陈士林.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.
- [2] 田景振,魏凤环.葛根黄酮缓释胶囊家兔体内药代动力学研究[J].山东中医药大学学报,2003,27(6):454.
- [3] 杜力军,於兰,常琪,等.新工艺制备的葛根黄酮的药代动力学研究[J].中药药理与临床 1997,13(2):19-24.
- [4] 谭晓梅,吴艳萍.葛根苓连汤配伍葛根素在兔体内药动学的研究[J].中药药理与临床 2006,22(5):1-3.
- [5] 卢弘,邢东明,孙虹,等.CBN 中葛根素、人参皂甙

- Rg1 在正常和脑缺血再灌注大鼠体内药代动力学比较[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2001, 3: 5.
- [6] 工雪莉, 邢东明, 盖国胜, 等. 微细化工艺制备的葛根微粉溶出度和生物利用度的研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(4): 283.
- [7] 张志荣, 游学均, 何勤, 等. HPLC 测定血浆中葛根素[J]. 中国药学杂志, 1997, 32(2): 104-106.
- [8] 李妮, 路玫, 陈晖, 等. 葛根素在糖尿病肾病人中的药动学[J]. 中国新药与临床杂志, 2002, 21(1): 51.
- [9] 郭炎荣, 蒙大平, 韦戈, 等. 高效液相色谱法测定全血中葛根素含量[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(6): 343.
- [10] 邓新国, 胡世兴, 张清炯, 等. 葛根素腹腔注射在家兔房水中的药代动力学研究[J]. 眼科研究, 2003, 21(3): 258.
- [11] 王莉, 邢东明, 卢弘, 等. CBN 中有效成分葛根素在大鼠体内的排泄[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(5): 8-10.
- [12] 郭莹, 万海同, 张莉. 不同中药复方有效部位组合对脑缺血大鼠血浆中葛根素代谢变化的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(23): 2531-2534.
- [13] 郭建平, 李国栋, 赵彤英, 等. HPLC 对人血浆中葛根素及葛根黄酮的线性考察[J]. 药学实践杂志, 2003, 21(4): 219.
- [14] 张莉, 黄熙, 任平, 等. 三维 HPLC 法同步测定犬血浆中的葛根素及阿魏酸[J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 18(1): 45.
- [15] 黄熙, 任平, 张莉, 等. HPLC 直接测定血清阿魏酸方剂血样预处理新方法[J]. 中草药, 1999, 30(3): 175.
- [16] 马娜, 陈玲, 熊飞. 固相萃取技术及其研究进展[J]. 上海环境科学, 2002, 21(3): 181-184.
- [17] 王莉, 邢东明, 孙虹, 等. 金森脑泰注射剂中葛根素在生理及病理状态下大鼠肝肾分布的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 41.
- [18] 黄熙, 任平, 张莉, 等. HPLC 法测定犬口服养阴通脑颗粒后血浆中的葛根素[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 127-129.
- [19] 金昔陆, 朱秀媛, 王文杰, 等. 血浆中葛根素的高效液相色谱测定法及其在狗体内的药代动力学[J]. 药理学学报, 1997, 32(10): 782.
- [20] 朱秀媛, 苏成业, 李振华, 等. 葛根有效成分的代谢研究 III 葛根素的代谢及其药代动力学分析[J]. 药理学学报, 1979, 14(6): 349.
- [21] 金昔陆, 朱秀媛. 血浆中葛根素的薄层-紫外光密度扫描测定法及其在家兔的药动学[J]. 中国药理学通报, 1991, 7: 421.
- [22] 王健, 赵岚峰, 王杰, 等. 高效毛细管电泳简介及其在中药分析中的应用[J]. 中成药, 1996, 18(10): 45.
- [23] 杜力军, 邢东明, 炎彬, 等. 对葛根素与葛根黄酮体内动力学关系的探讨[J]. 世界科学技术-中医药现代化(基础研究), 2004, 6(6): 26-30.
- [24] 刘昌孝. 药物代谢动力学[M]. 长沙: 湖南科学出版社, 1979: 174.
- [25] 王成, 刘玉玲, 谷士杰. 葛根素的溶解性及络合助溶的研究[J]. 中国药学杂志, 1993, 28(5): 294.
- [26] 刘振威, 陈雪梅, 高尔. 磷脂对大鼠离体肠管吸收葛根素的影响[J]. 潍坊医学院学报, 1998, 20(4): 253.
- [27] 刘振威, 潘爱美, 李公宝, 等. 磷脂对葛根素改善家兔血液流变学和微循环作用的影响[J]. 潍坊医学院学报, 1998, 20(4): 250.
- [28] 林文慧, 朱春燕, 陈卫. 葛根黄酮在大鼠肠道的吸收动力学研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2): 164-168.
- [29] 周冬菊, 赵会英, 杨英禄. 大鼠小肠对葛根素吸收的动力学研究[J]. 北京化工大学学报, 2006, 33(5): 106.
- [30] 郭建平, 成国祥, 孙其荣, 等. 葛根黄酮滴丸兔体内药动学[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(5): 364-365.
- [31] 金昔陆, 程桂芳, 朱秀媛. 葛根素在健康志愿者的药代动力学[J]. 中国临床药理学杂志, 1991, 7(2): 115-118.
- [32] 吴正红, 朱延勤, 程光忻, 等. 葛根素滴眼液眼内药代动力学的研究[J]. 中国药科大学学报, 1998, 29(3): 221.
- [33] 严汉英, 朱延勤, 吴正红, 等. 葛根素滴眼液降眼压作用及其在眼房水中的药物浓度[J]. 眼科新进展, 1999, 19(2): 73.
- [34] 金昔陆, 朱秀媛. 葛根素在三种动物的药代动力学参数与体重的相关性[J]. 徐州医学院学报, 1991, 11(1): 25.
- [35] 崔升淼, 赵春顺. 大鼠离体肝灌流中葛根素的代谢动力学研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(1): 17-19.
- [36] 黄华, 王显著. 表面活性剂对葛根素固体分散体体外溶出的影响[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(4): 315-317.
- [37] 李彩君, 王燕玲, 黄颖然. 薄荷醇对葛根素体外渗透动力学的影响[J]. 药物研究, 2007, 4(18): 184-185.
- [38] 刘晓彬, 权丽辉, 刘春雨, 等. 甲基化壳聚糖对葛根素小鼠口服吸收的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化(基础研究), 2007, 9(6): 51-54.
- [39] 王锦, 李颖, 杨丽彬. 氮酮对葛根素透皮吸收作用的实验研究[J]. 药学实践杂志, 1995, 13(2): 93-95.
- [40] 李彩君, 王燕玲, 方馥蕊. 辛类中药挥发油对葛根素的透皮吸收促进作用研究[J]. 药物研究, 2007, 4(22): 141-142.
- [41] 朱春燕, 王雪莉, 石峰. 葛根总黄酮缓释片药动学研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化(基础研究), 2007, 9(6): 58-60.