

注射用黄芩苷镁盐冻干粉在大鼠体内的 药代动力学及组织分布

金鹏, 李景, 刘翠哲*

(承德医学院, 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000)

[摘要] **目的:**研究尾静脉注射黄芩苷镁盐后药物在大鼠体内的药代动力学和组织分布特征,比较黄芩苷镁盐和黄芩苷的药代动力学差异。**方法:**大鼠尾静脉注射黄芩苷镁盐和黄芩苷后,在不同时间点眼眶取血,采用 HPLC 测定各时间点的药物浓度,绘制药-时曲线,利用 DAS 3.0 软件计算药代动力学参数,应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。尾静脉注射黄芩苷镁盐后,于不同时间点检测药物在心、肝、脾、肺、肾中的质量分数。**结果:**当黄芩苷镁盐给药剂量为 25 ~ 100 mg·kg⁻¹时,药时曲线下面积 AUC_{0~t}和 AUC_{0~∞}与剂量呈良好的线性关系($r < 0.95$),而其他药代动力学参数各剂量组间大部分无明显差异。与黄芩苷等摩尔剂量组比较,黄芩苷镁盐中剂量组的平均驻留时间(MRT_{0~t})显著增高。静脉注射黄芩苷镁盐 0.25 h 后各组织中药物浓度最高,至 0.75 h 时目标成分质量分数迅速降低,其中肾脏中分布最多,其次是肺,在心、肝和脾中分布量较少。**结论:**注射给药后,黄芩苷镁盐能迅速在体内分布且快速消除,其主要从肾脏排泄。

[关键词] 黄芩苷镁盐; 冻干粉; 黄芩苷; 药代动力学; 组织分布; 芦丁; 尾静脉注射

[中图分类号] R22;R24;R28;R969.1;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)10-0102-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190103

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181015.1731.015.html>

[网络出版时间] 2018-10-17 15:28:24

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Baicalin Magnesium Salt Freeze-dried Powder for Injection in Rats

JIN Peng, LI Jing, LIU Cui-zhe*

(Hebei Province Key Laboratory of Research and Development for Chinese Medicine,
Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the pharmacokinetics and tissue distribution of baicalin magnesium salt in rats after tail vein injection, and compare pharmacokinetic differences between baicalin magnesium salt and baicalin. **Method:** After tail vein injection of baicalin magnesium salt and baicalin, orbital blood was collected at different time points. The drug concentration was measured by HPLC, the drug concentration-time curve was plotted, the pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 3.0 software, SPSS 19.0 software was used for statistical analysis. At the same time, the drug distribution in heart, liver, spleen, lung and kidney was measured at different time points after tail vein injection of baicalin magnesium salt. **Result:** When the dose of baicalin magnesium salt was 25-100 mg·kg⁻¹, area under the curve (AUC_{0~t} and AUC_{0~∞}) showed a good linear relationship with the dose ($r > 0.95$), but most of the other pharmacokinetic parameters had no significant

[收稿日期] 20180627(012)

[基金项目] 河北省自然科学基金项目(H2014406036);河北省教育厅重点研究项目(ZH2012050);河北省研究生创新项目(CXZZSS2018117)

[第一作者] 金鹏,在读硕士,从事中药制剂现代化研究,E-mail:jinpeng0880@163.com

[通信作者] *刘翠哲,博士,博士生导师,研究员,从事中药制剂现代化研究,Tel:0314-2291142,E-mail:liucuihexy@163.com

difference between different dose groups. The mean residence time (MRT_{0-t}) of medium dose group of baicalin magnesium salt was significantly higher than that of equal molar dose group of baicalin. After intravenous injection of baicalin magnesium salt, the drug concentration was the highest in each tissue at 0.25 h, and the concentration of target component decreased rapidly at 0.75 h. The distribution of target component in kidney was the most, followed by lung. **Conclusion:** After injection, the baicalin magnesium salt can be rapidly distributed and quickly eliminated *in vivo*, which is mainly excreted from the kidney.

[**Key words**] baicalin magnesium salt; freeze-dried powder; baicalin; pharmacokinetics; tissue distribution; rutin; tail vein injection

黄芩苷属黄酮类化合物,是黄芩的主要成分之一,同时也是黄芩及其制剂的主要质量控制指标成分。2015 年版《中国药典》载录的黄芩提取物是以黄芩药材为原料通过水提酸沉提取,经碱溶酸沉纯化获得,纯度不低于 85%,目前市售黄芩苷也均采用此法制得。但此方法提取得到的黄芩苷几乎不溶于水,给药后吸收差、生物利用度低,有报道指出大鼠在口服给予黄芩苷后,其存在肝肠循环,母体药物的绝对生物利用度仅 $(2.2 \pm 0.2)\%$,严重限制了其临床应用^[1-2]。

针对以上问题,本课题组转换研究思路重新考察了黄芩苷的提取过程。发现其中矛盾点是黄芩苷可以水提取制得,但制得黄芩苷后在水中溶解度反而降低。围绕此矛盾点,本课题组推测这可能与黄芩苷在植物体内的原本存在形式有关,经过前期研究证明黄芩苷在黄芩中的原本存在形式是镁盐形式,其结构式见图 1。其水溶性极好,是黄芩苷的 2 225 倍,稳定性良好^[3]。研究验证了是水提酸沉过程中的加酸步骤破坏了黄芩中黄芩苷的原本存在形式,导致其溶解性质改变。并且找到一种在不改变黄芩中黄芩苷的原有存在形式基础上,从黄芩中提取出黄芩苷镁盐的方法,也找到了将市售黄芩苷制备得到黄芩苷镁盐的方法。经质谱、紫外光谱、红外光谱和核磁共振谱验证,2 种方法所制得的黄芩苷镁盐结构一致,并已获得国家发明专利授权^[4]。

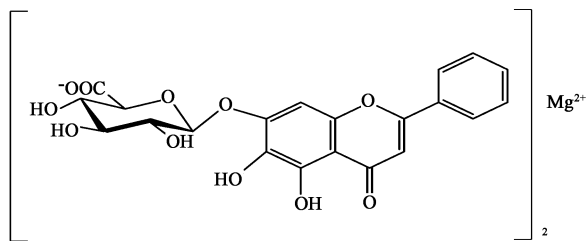


图 1 黄芩苷镁盐的结构式
Fig.1 Structural formula of baicalin magnesium salt

病毒、抗氧化作用外,对四氯化碳(CCl_4)所致急性肝损伤也有保护作用^[5-6],能明显改善 CCl_4 诱导的慢性肝纤维化,是一种有潜力的抗肝纤维化药物^[7]。镁离子是细胞内液和细胞外液中一种重要的阳离子,是许多细胞内酶反应的辅助因子,其对先兆性流产、脑缺血再灌注损伤和肝损伤亦有保护作用^[8]。黄芩苷镁盐作为黄芩苷在植物中的原本存在形式,前期研究证实大鼠尾静脉注射黄芩苷镁盐对 CCl_4 诱导的大鼠肝损伤有良好的保护作用。黄芩苷镁盐作为黄芩苷的原本存在形式,本身水溶性好,母体药物毒性低^[9],适合制成注射剂,具有很大的成药性和临床应用前景。但缺少黄芩苷镁盐注射给药后的药代动力学特征和组织分布研究。本实验采用尾静脉注射给药方式探究黄芩苷镁盐的药代动力学特征,计算黄芩苷镁盐的药代动力学参数与给药剂量之间的线性关系,比较黄芩苷镁盐和等摩尔剂量黄芩苷在大鼠体内的药代动力学参数是否存在差异;同时测定静脉注射给予黄芩苷镁盐后目标成分在各组织中的分布和代谢,为黄芩苷镁盐的后续研制与开发提供参考。

1 材料

1260 Infinity II 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),AG254 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),HSC-12A 型氮气吹干仪(天津市恒奥科技发展有限公司),GT16-3 型离心机(北京时代北利离心机有限公司),Velocity 14R 型高速低温离心机(美国 Dynamica 公司),MS3DS25 型涡旋仪(德国 IKA 公司),Scientz-48 型高通量组织研磨机(宁波新芝生物科技股份有限公司),DW-HL528S 型超低温冰箱(中科美菱低温科技股份有限公司)。

黄芩苷、芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110715-201318,100080-201409,纯度依次为 93.1%,91.9%),氢氧化镁(天津市风船化学试剂科技有限公司),黄芩苷镁盐冻干粉(自制,纯度 93.3%),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇、

现代药理学研究发现黄芩苷除了具有抗炎、抗

甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

健康 Wistar 大鼠 60 只,雌雄各半,体质量(240 ± 15) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-0006。该批大鼠严格按实验动物护理和使用指南的原则饲养。大鼠在屏障动物房检疫室检疫 7 d,生活环境为温度(22 ± 2) °C,相对湿度(55 ± 5)% ,光照 12 h 循环。给予充足的饲料和饮用水,并定期消毒。本实验所涉及动物的相关操作均在承德医学院实验动物伦理委员会的批准下进行,并严格遵循相关准则,善待动物,无虐待动物行为。

2 方法与结果

2.1 注射用黄芩苷镁盐和黄芩苷的制备

2.1.1 黄芩苷镁盐冻干粉制备 取黄芩苷 5 g 和氢氧化镁 0.138 g 置于 500 mL 圆底烧瓶中,加水 200 mL 混悬。将圆底烧瓶置于旋转蒸发器上,60 °C 水浴。待反应完全,反应液抽滤除去不溶性杂质,抽滤液冷冻干燥 40 h,得黄芩苷镁盐冻干粉。

2.1.2 静脉注射给药黄芩苷镁盐溶液的制备 取黄芩苷镁盐冻干粉适量,加入适当的生理盐水配制成等渗溶液,于给药前现用现配。

2.1.3 静脉注射给药黄芩苷溶液的制备 取黄芩苷原料药适量,加入适量生理盐水,用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至沉淀完全溶解(pH 约 7.5),保证其渗透压和 pH 合格。

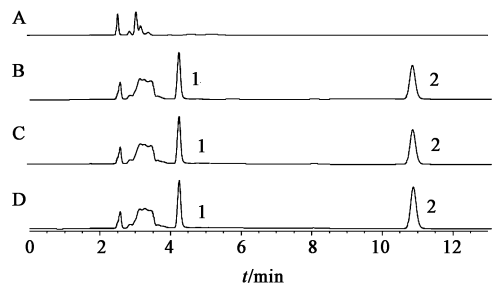
2.2 黄芩苷镁盐在大鼠体内的药代动力学研究

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 0.2% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 4.5 min, 70% A; 4.5 ~ 5 min, 70% ~ 77% A; 5 ~ 9 min, 77% A; 9 ~ 9.5 min, 77% ~ 70% A; 9.5 ~ 13 min, 70% A),柱温 37 °C,流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 278 nm,进样量 10 μL。

2.2.2 溶液的制备 取黄芩苷对照品 4.09 mg,精密称定置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,得黄芩苷对照品储备液,4 °C 保存,备用。精密称取芦丁对照品 5.52 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,得内标溶液,4 °C 保存,备用。

2.2.3 样品的制备 取血浆样品 50 μL 于 0.5 mL 离心管中,加入内标溶液 50 μL 和乙腈 300 μL,涡旋 3 min,15 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液进样检测。分别精密量取不同质量浓度的黄芩苷对照品溶液 100 μL 于 0.5 mL 离心管中,氮气吹干,加入空白血浆 50 μL,按照血浆样品处理方法处理,得血浆质控(QC)样品。

2.2.4 专属性考察 分别取空白血浆, QC 样品和注射给药后的血浆样品,按 2.2.1 项下色谱条件测定,考察血浆内源性物质是否会对目标成分形成干扰。见图 2。



A. 空白血浆; B. 黄芩苷镁盐血浆样品; C. 黄芩苷血浆样品; D. QC 样品;
1. 芦丁; 2. 黄芩苷

图 2 给药 0.033 h 后血浆样品的 HPLC 色谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of plasma samples after 0.033 h of administration

2.2.5 标准曲线绘制 精密量取一定量黄芩苷对照品储备液,加甲醇稀释得系列对照品溶液,精密量取系列质量浓度的对照品溶液 100 μL 于 0.5 mL 离心管中,氮气吹干,加入空白血浆 50 μL,按血浆样品制备方法处理,得质量浓度为 102.26, 34.09, 11.36, 3.79, 0.95 mg·L⁻¹ 的血浆样品,按 2.2.1 项下色谱条件测定,分别以待测化合物质量浓度为横坐标,各待测化合物与内标物的峰面积比值为纵坐标,进行线性回归分析,得黄芩苷标准曲线 $Y = 0.2401X + 0.0104$ ($r = 0.9997$),线性范围 0.95 ~ 102.26 mg·L⁻¹,最低定量限(LLOQ)选择 0.95 mg·L⁻¹。

2.2.6 精密度和相对回收率试验 按 2.2.3 项下方法制备黄芩苷质量浓度分别为 0.95, 11.36, 102.26 mg·L⁻¹ 的血浆样品作为 QC 样品,于 1 d 内重复进样 6 次,计算日内精密度 RSD 分别为 2.0%, 1.9% 和 1.4%;每天测定 1 次,连续测定 3 d,得日间精密度 RSD 分别为 2.0%, 1.8% 和 1.6%。同时测定其相对回收率分别为 101.73%, 99.65% 和 102.36%, RSD 分别为 2.3%, 3.3% 和 1.9%。

2.2.7 绝对回收率试验 按 2.2.3 项下方法制备黄芩苷质量浓度分别为 0.95, 11.36, 102.26 mg·L⁻¹ 的血浆样品作为 QC 样品,同时制备相应质量浓度的对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样, QC 样品黄芩苷峰面积记为 A_1 , 对照品峰面积记为 A_2 , A_1 与 A_2 的比值即为绝对回收率。结果绝对回收率分别为 93.31%, 92.27% 和 90.46% ($n = 6$), RSD 分别为 3.4%, 2.6%, 3.6%。

2.2.8 稳定性试验 将制备的血浆 QC 样品在室温放置 12 h, 黄芩苷峰面积无明显变化, RSD 1.8%; -80 °C 冷冻放置 2 周, 黄芩苷峰面积变化明显; 反复冻融 3 次, 样品中黄芩苷峰面积为初始峰面积的 81.7%。说明血浆样品应低温保存并在 24 h 内检测完毕。

2.2.9 药代动力学研究 健康 Wistar 大鼠 24 只, 随机分成 4 组, 每组 6 只(雌雄各半), 即黄芩苷镁盐低、中、高剂量(25, 50, 100 mg·kg⁻¹) 组和黄芩苷等摩尔剂量(48.8 mg·kg⁻¹, 与黄芩苷镁盐中剂量为同等摩尔剂量)组, 给药前 12 h 禁食, 自由饮水。各组尾静脉注射给药后 0.033, 0.083, 0.167, 0.333, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 眼眶静脉丛采血 400 μL 置于肝素钠处理后的离心管中, 离心(4 °C, 12 000 r·min⁻¹, 10 min)后取上清液, 于 -80 °C 冰箱保存。测定前取出血浆样品室温融解, 涡旋 60 s, 按 2.2.3 项下方法处理血浆样品, 按 2.2.1 项下色谱条件测定。采用 SPSS 19.0 软件处理实验数据, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间均数比较采用单因素

方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。绘制药-时曲线, 见图 3, 利用 DAS 3.0 软件计算药代动力学参数, 见表 1。

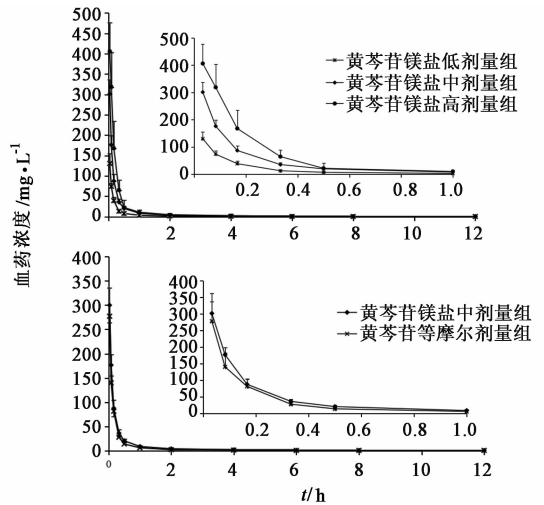


图 3 黄芩苷镁盐和黄芩苷注射给药后的血药浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 3 Concentration-time curves of baicalin magnesium salt and baicalin after injection($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 1 黄芩苷镁盐和黄芩苷注射给药后的药代动力学参数($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of baicalin magnesium salt and baicalin after administration($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

参数/单位	黄芩苷镁盐低剂量组	黄芩苷镁盐中剂量组	黄芩苷镁盐高剂量组	黄芩苷等摩尔剂量组
$AUC_{0-4} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	21.223 ± 3.618 ²⁾	53.824 ± 9.350	85.790 ± 24.583 ²⁾	43.863 ± 9.807
$AUC_{0-\infty} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}$	22.029 ± 3.850 ²⁾	56.619 ± 10.614	88.629 ± 23.974 ²⁾	46.511 ± 10.007
$t_{1/2\alpha} / \text{h}$	0.111 ± 0.013	0.193 ± 0.098	0.152 ± 0.121	0.117 ± 0.033
$V_z / \text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.185 ± 0.032	0.235 ± 0.082	0.254 ± 0.207	0.186 ± 0.075
$CL_z / \text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.160 ± 0.181	0.911 ± 0.177	1.184 ± 0.254 ¹⁾	1.093 ± 0.249
MRT_{0-4} / h	0.116 ± 0.005	0.153 ± 0.039	0.161 ± 0.051	0.109 ± 0.023 ¹⁾
$MRT_{0-\infty} / \text{h}$	0.136 ± 0.005	0.194 ± 0.061	0.192 ± 0.088	0.140 ± 0.046

注: 与黄芩苷镁盐中剂量组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

由图 3 和表 1 可知, 随着黄芩苷镁盐给药剂量的增加, 药时曲线下面积 AUC_{0-4} 和 $AUC_{0-\infty}$ 均显著增加($P < 0.01$); 在给药剂量为 25 ~ 100 mg·kg⁻¹ 时, AUC_{0-4} 和 $AUC_{0-\infty}$ 与黄芩苷镁盐给药剂量呈良好线性关系($r < 0.95$)。比较黄芩苷镁盐中剂量组和黄芩苷等摩尔剂量组的药代动力学参数, 发现黄芩苷镁盐中剂量组的血浆平均驻留时间(MRT_{0-4}) 显著高于黄芩苷等摩尔剂量组($P < 0.05$), 且黄芩苷镁盐中剂量组的 AUC_{0-4} , $AUC_{0-\infty}$, 消除半衰期($t_{1/2\alpha}$), 表观分布容积(V_z) 均高于黄芩苷等摩尔剂量组, 提示静脉注射给予同等摩尔量的黄芩苷及其镁盐, 黄芩苷镁盐可提高黄芩苷在体内的分布和生物利用度, 延

长药物作用时间。

2.3 黄芩苷镁盐在大鼠体内的组织分布研究

2.3.1 色谱条件^[10] Phenomenex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 0.2% 甲酸水溶液-乙腈(70:30), 柱温 37 °C, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 278 nm, 进样量 10 μL。

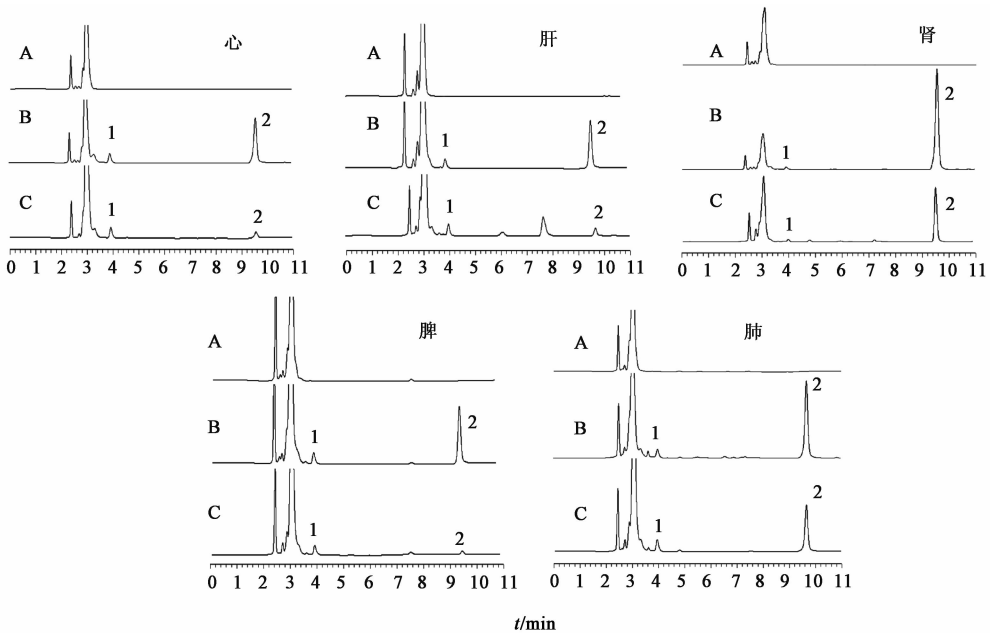
2.3.2 溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 10.96 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得黄芩苷对照品储备液, 4 °C 保存, 备用。精密称取芦丁对照品 5.52 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 得内标溶液, 4 °C 保存, 备用。

2.3.3 组织样品的制备 取整个组织样品于离心

管中,剪碎,加入 2 倍量乙腈,匀浆(70 Hz,1 min,2 次),离心(15 000 r·min⁻¹,10 min)取上清液 180 μL,加入内标溶液 20 μL,涡旋混合 60 s,离心(1 万 r·min⁻¹,10 min),取上清液进样检测。分别精密量取不同质量浓度的黄芩苷对照品溶液 25 μL 于离心管中,氮气吹干,加入空白组织匀浆

液 180 μL,按上述方法处理,即得组织 QC 样品。

2.3.4 专属性考察 取空白组织样品、组织 QC 样品和大鼠尾静脉注射给予黄芩苷镁盐后的样品,按 2.3.1 项下色谱条件进样分析,结果发现各组织中内源性物质不会对目标成分的测定产生干扰,见图 4。



A. 空白组织;B. 组织 QC 样品;C. 给药后组织样品;1. 芦丁;2. 黄芩苷

图 4 黄芩苷镁盐给药 0.25 h 后各组织样品的 HPLC 色谱

Fig.4 HPLC chromatograms of tissue samples after administration of baicalin magnesium salt for 0.25 h

2.3.5 标准曲线绘制 取黄芩苷对照品储备液,加甲醇稀释得系列对照品溶液,分别精密量取 40 μL 于 0.5 mL 离心管中,氮气吹干,加入各空白组织匀浆液 180 μL,按组织样品制备方法处理,按 2.3.1 项下色谱条件测定,分别以待测化合物质量浓度为横坐标,各待测化合物与内标物的峰面积比值为纵坐标,进行线性回归分析,结果见表 2。

表 2 黄芩苷在各组织中含量测定的线性关系考察

Table 2 Investigation of linear relationship of baicalin in various tissues

组织	回归方程	r	线性范围/mg·L ⁻¹
心	$Y=0.5093X-0.042$	0.9987	0.409~12.782
肝	$Y=0.3496X-0.024$	0.9991	0.409~12.782
脾	$Y=0.5000X+0.023$	0.9997	0.409~12.782
肺	$Y=0.4280X+0.106$	0.9986	1.023~25.564
肾	$Y=0.4230X+0.057$	0.9995	1.010~81.806

2.3.6 精密度和回收率 按 2.3.3 项下方法制备

低、中、高质量浓度的组织 QC 样品,按 2.3.1 项下色谱条件于 1 d 内重复进样 6 次,计算日内精密度;每天测定 1 次,连续测定 3 d,计算日间精密度。同时测定各组织样品中指标成分的相对回收率。绝对回收率为组织 QC 样品与等质量浓度对照品的峰面积比值($n=6$),结果见表 3。

2.3.7 稳定性试验 将制备的组织 QC 样品,在室温放置 12 h,结果发现黄芩苷峰面积无明显变化,RSD 2.0%;-80℃ 冷冻放置 2 周,黄芩苷峰面积变化明显;反复冻融 3 次,黄芩苷峰面积为初始峰面积的 80.1%。

2.3.8 组织分布研究 Wistar 大鼠 36 只,随机分成 6 组,每组 6 只,雌雄各半,给药前 12 h 禁食,自由饮水。大鼠尾静脉注射给药黄芩苷镁盐溶液(给药剂量 50 mg·kg⁻¹),分别于给药 0.25,0.75,1,2,4,8 h 后腹腔注射 20% 乌拉坦溶液麻醉,立即解剖摘取大鼠的心、肝、脾、肺、肾,用生理盐水漂洗组织表面残留血液,滤纸吸干,精密称定并记录各组织的

表 3 各组织中黄芩苷含量测定的精密度和回收率考察

Table 3 Investigation of precision and recovery rate of baicalin in tissues %

组织	质量浓度 /mg·L ⁻¹	日内精密 度 RSD	日间精密 度 RSD	相对回收率 (RSD)	绝对回收率 (RSD)
心	12.782	1.3	1.1	98.77(2.0)	92.56(3.2)
	2.557	0.5	1.4	101.73(2.1)	95.01(2.5)
	0.409	1.8	1.3	97.75(1.5)	91.98(3.9)
肝	12.782	1.4	1.5	102.84(0.3)	94.62(5.2)
	2.557	1.4	0.7	102.16(2.1)	93.72(4.3)
	0.409	1.8	1.6	100.53(1.1)	94.72(3.7)
脾	12.782	0.7	1.5	101.24(1.5)	91.89(4.2)
	2.557	1.9	2.0	104.29(2.0)	95.24(2.8)
	0.409	1.0	1.8	99.59(1.5)	89.94(4.3)
肺	25.564	0.5	0.8	97.98(1.6)	90.56(3.8)
	6.391	1.3	1.7	99.10(2.0)	93.89(2.0)
	1.023	1.8	1.6	102.84(1.1)	92.74(3.2)
肾	81.806	1.3	1.9	97.73(1.6)	91.90(3.1)
	9.090	1.7	1.8	101.10(2.0)	93.82(2.0)
	1.010	1.3	1.9	101.83(1.7)	94.03(2.8)

表 4 黄芩苷镁盐注射给药后在各组织中的质量分数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Drug concentration in various tissues after injection of baicalin magnesium salt ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组织	0.25 h	0.75 h	1 h	2 h	4 h	8 h
心	3.821 ± 0.221	1.645 ± 0.205	0.501 ± 0.090	-	-	-
肝	7.491 ± 1.0637	3.356 ± 0.186	1.827 ± 0.128	0.829 ± 0.086	-	-
脾	1.515 ± 0.398	0.877 ± 0.239	-	-	-	-
肺	17.436 ± 5.782	8.901 ± 0.456	2.389 ± 0.074	1.205 ± 0.021	-	-
肾	103.625 ± 25.632	8.412 ± 2.421	2.315 ± 0.384	0.732 ± 0.112	0.508 ± 0.066	0.850 ± 0.171

本课题组前期研究发现口服黄芩苷镁盐和黄芩苷在大鼠体内的药代动力学参数无明显差异,与肠吸收结果不符,推测其原因可能是黄芩苷镁盐在胃酸作用下被还原成了黄芩苷^[11]。本实验为避开胃部的酸化过程,采用静脉给药方式,以探究黄芩苷镁盐和黄芩苷的药代动力学行为差异。因黄芩苷在水中溶解度低,为实现注射给药本实验选用氢氧化钠溶液调节 pH 助溶,临床常用的双黄连注射液、清开灵注射液、银黄注射液等制剂制备过程中对黄芩苷的处理也常选用此方法,以增加药物溶解度,提高制剂的澄清晰度^[12-13]。静脉注射后的药代动力学结果显示,黄芩苷镁盐给药剂量与药时曲线下面积呈良好的线性关系;比较黄芩苷及其镁盐的药代动力学

质量,于 -80 ℃ 冷冻存放,待用。测定前取出组织,自然解冻,按 2.3.3 项下方法制备组织样品,按 2.3.1 项下色谱条件测定,见表 4。结果发现给药 0.25 h 后各组织中药物分布量均达到最大值,0.75 h 时药物浓度迅速下降,8 h 时仅肾脏中可检测到目标成分;黄芩苷镁盐在大鼠心、肝、脾、肺、肾中的分布程度差别较大。

3 讨论

本课题组在确定黄芩苷镁盐保肝药理作用后,对其在体内的药代动力学和组织分布进行了研究。在预试验中通过密集的时间点取血,考察了 36 h 内的血药浓度,根据预试验结果,审核并修正了原设计的采血点,最终确定试验时长为 12 h,选取 11 个采血点。前期肝损伤试验表明黄芩苷镁盐静脉注射的最低有效剂量为 25 mg·kg⁻¹,故在探讨黄芩苷镁盐体内吸收的线性关系时选取了 25, 50, 100 mg·kg⁻¹ 分别作为低、中、高剂量组。因为最终结果是检测血液中黄芩苷的含量,而黄芩苷镁盐是由两分子黄芩苷和一分子氢氧化镁脱水组成的化合物,故换算为等摩尔剂量来比较黄芩苷及其镁盐在大鼠体内的药代动力学差异较为合理。

参数,发现黄芩苷镁盐中剂量组的 MRT_{0-∞} 显著高于黄芩苷等摩尔剂量组,推测可能是镁离子与黄芩苷结合较为紧密,同时静脉注射给药避免了胃酸的酸化过程,进而保留时间变长。

组织分布结果说明黄芩苷镁盐在组织中迅速分布、快速消除。肾脏中的药物浓度虽然在 0.75 h 时就已迅速降低,但在 8 h 内仍能持续检测到目标成分,表明黄芩苷镁盐静脉注射后可能主要从肾脏排泄。若临床用药,可选择静脉滴注,即可保持药物迅速分布发挥作用的优点,又可以改善药物消除过快的情况,使其维持在有效药物浓度范围内。有文献报道指出黄芩苷的分布具有病理生理状态差异性:正常生理状态下,黄芩苷主要分布在肺脏;而在脑缺

血再灌损伤后,脑组织中分布明显增多^[14-15]。探索黄芩苷镁盐的分布是否存在病理生理状态差异将是本课题组下一步的研究方向。

[参考文献]

[1] 王春民,刘刚,费艳,等.大孔吸附树脂法纯化黄芩总黄酮工艺的研究[J].中草药,2010,41(1):58-60.

[2] XING J, CHEN X Y, ZHONG D F. Absorption and enterohepatic circulation of baicalin in rats[J]. Life Sci, 2005,78(2):140-146.

[3] 许海舰,刘一鑫,王志轩,等.黄芩苷镁盐的稳定性研究[J].中国药房,2017,28(22):3076-3079.

[4] 刘翠哲,王志轩,苗策禹,等.一种黄芩苷镁化合物及其制备方法与它的用途:中国,CN105732753A[P]. 2016-07-06.

[5] 金鹏,许海舰,徐宝欣,等.黄芩苷研究现状及其镁盐研究前景[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(20):228-234.

[6] Park S W, Lee C H, Kim Y S, et al. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice[J]. J Pharmacol Sci, 2008,106(1):136-143.

[7] PENG X D, DAI L L, HUANG C Q, et al. Correlation between anti-fibrotic effect of baicalin and serum cytokines in rat hepatic fibrosis [J]. World J

Gastroenterol, 2009, 15(37):4720-4725.

[8] 孙设宗,唐微,张红梅,等.镁离子、山药多糖对四氯化碳肝损伤的保护作用[J].中国现代医学杂志,2009,19(12):2780-2786.

[9] 张喜平,程琪辉,沈培红,等.黄芩苷类注射剂安全性与急性毒性实验研究[J].医学研究杂志,2007,36(7):15-21.

[10] 许海舰,刘一鑫,常金花,等.大鼠体内黄芩苷镁盐分析方法建立[J].亚太传统医药,2017,13(24):10-13.

[11] 许海舰,刘一鑫,刘喜刚,等.黄芩苷镁盐和黄芩苷的肠吸收动力学和药代动力学比较[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(4):78-83.

[12] 刘瑞新,李宇辉,高晓洁,等.清开灵注射液中水难溶性成分在不同条件下的表观溶解度测定[J].中国现代中药,2016,18(8):1042-1047.

[13] 卢禹婷,易艳,李春英,等.双黄连注射液的类过敏反应特点及影响因素分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(9):97-101.

[14] 肖兰,张晓杰,王峰,等.正常及脑缺血-再灌注大鼠静脉注射清开灵后黄芩苷在脑、肝、肺中的分布[J].中南药学,2016,4(3):166-169.

[15] 王文娟,任欢欢,韩吉春,等.黄芩苷抗脑缺血再灌注损伤的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(1):113-116.

[责任编辑 刘德文]