

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2014.12.035

梓醇不同给药途径的药物代谢动力学研究^①

刘智强¹, 杨鲜², 王涛², 祝慧凤², 万东³

1. 四川省内江市第一人民医院药剂科, 四川 内江 614000;

2. 西南大学药学院·中医药学院, 重庆 400716; 3. 重庆医科大学附属第一医院, 重庆 400016

摘要: 目的: 研究地黄梓醇不同给药方式药物代谢动力学. 方法: 分别以肌肉注射, 静脉注射, 灌胃给药对大鼠给药, 给药后通过 HPLC 测定血浆浓度, 绘制浓度曲线, 通过 DAS 3.5 计算药物代谢动力学参数. 结果: 梓醇的肌肉注射和灌胃生物利用度分别为 49% 和 72%, 半衰期分别为 1.4 h 和 0.8 h. 结论: 药物代谢动力学参数及绝对生物利用度表明, 梓醇在灌胃, 肌注 2 种给药途径的体内生物利用度为肌注大于灌胃.

关键词: 梓醇; 不同给药方式; 药物代谢动力学; 生物利用度

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)12-0222-05

给药途径, 又称用药途径, 是药物和机体接触作用的途径. 给药途径通过机体自身的运输和代谢过程, 影响着药物在体内的效用. 口服是最常用给药方式, 具有安全, 经济, 方便等特点, 但其吸收、代谢受药物性质和胃内环境等因素的影响; 药物水溶液肌肉注射时吸收和发挥疗效都十分迅速; 而静脉注射可准确而迅速获得希望的血药浓度, 因而作用产生迅速可靠, 但高浓度的药物迅速到达血浆和组织, 增加了发生不良反应的可能性, 同时需要依赖于静脉通道的建立. 比较药物不同给药途径的药动学参数, 有助于药物剂型和给药途径的选择.

梓醇是从传统中药地黄中提取的有效单体成分, 具有广泛的生理活性, 对帕金森病, 老年痴呆, 脑缺血^[1-3]等中枢系统疾病以及糖尿病^[4]和心血管系统^[5]等外周系统疾病具有良好防治作用, 同时可能具有抗肿瘤活性^[6], 显示出梓醇具有良好的成药前景. 现有研究表明梓醇 0.1 mg/kg 静注^[7]即可以有效地降低糖尿病大鼠血糖水平, 但是 Wang 等使用梓醇口服 50 mg/kg^[8]才有效地降低糖尿病大鼠血糖水平. 武丽南等^[9]对大鼠梓醇灌胃后生物利用度进行了研究, 结果表明梓醇在体内的吸收和代谢均有饱和现象, 当给药剂量为 50 mg/kg 时, 生物利用度为 66.7%. 上述结果提示梓醇不同给药途径对生物利用度等药物代谢动力学参数可能存在较大差异, 因此有必要横向比较口服, 肌注, 静注 3 种给药途径梓醇在体内的变化规律, 为梓醇的后期开发如给药途径和剂型的选择提供前期实验依据.

1 材料与仪器

1.1 动物

健康雄性 SD 大鼠 18 只, 体质量 180~220 g, 清洁级, 由重庆腾鑫生物技术有限公司提供. 合格证号:

① 收稿日期: 2014-01-25

基金项目: 教育部中央高校基本科研业务费重点项目(XDJK2012B010); 国家自然科学基金资助项目(81073084-H2809); 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC, 2010BB5127).

作者简介: 刘智强(1986-), 男, 重庆人, 硕士, 主要从事药物代谢方面的研究.

通信作者: 祝慧凤, 博士, 副教授.

NO. 0000022 使用许可证号: SYXK(渝)2009-0002.

1.2 药品与试剂

梓醇供试品,由石家庄流波百鸟生物技术有限公司提供(批号:20090101);梓醇化学对照品(批号:110808-200508)和内标为桃叶珊瑚苷化学对照品(批号:111761-200601)均由中国药品生物药品鉴定所提供;甲醇,乙腈为色谱纯,由上海泰坦化学试剂公司提供;蒸馏水为 Millipore 纯化水仪自制.

1.3 器材

岛津液相色谱仪;台式高速离心机(Eppendorf Centrifuge 5417R);涡旋混合仪;梅特勒-托利多电子天平(JB/T 5374-1991,上海);超声波清洗仪(KQ5200E,昆山).

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZORBAX-Bonus-RP 色谱柱(4.6 mm×250 mm,粒径为 5 μm),流动相为乙腈-水(99.5:0.5),流速 1.0 mL/min,检测波长为 210 nm,柱温为 30 °C,进样量 10 μL.

2.2 方法与结果

2.2.1 对照品溶液的配制

精密称取适量梓醇化学对照品,加入纯化水配制为质量浓度 200 mg/L 的储备液,精密吸取适量,用纯化水分别稀释成浓度为 0.4,0.8,10,20,50,80,120 mg/L 的标准系列溶液,均保存于 4 °C,备用.

2.2.2 内标溶液的配制

精密称取桃叶珊瑚苷化学对照品,用水溶解并稀释至质量浓度为 20 mg/L,于 4 °C 保存备用.

2.2.3 给药液的配制

取梓醇供试品 200 mg,用生理盐水配制为 10 g/L 的溶液,分成 3 份(分别用于灌胃,肌肉注射,静脉注射),分别于 4 °C 保存备用.

2.3 血浆样品预处理

取血浆样品 180 μL,加入 20 μL 内标和 800 μL 蛋白沉淀剂(甲醇:乙腈=4:1,体积比),漩涡混合 1 min,再在 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液 600 μL,35 °C 下氮气温和吹干,再用流动相 100 μL 溶解,取 10 μL 进样.

2.4 方法学验证

2.4.1 专属性考察

取大鼠空白血浆、空白血浆加对照品、给药后血浆样品,按照“2.3 血浆样品预处理”项下方法处理,进样后所得色谱图见图 1.结果表明梓醇和内标均和内源性杂质分离良好.

2.4.2 标准曲线的制作和最低定量限考察

分别吸取“2.2.1 对照品溶液的配制”项下的系列标准溶液 20 μL,加入 180 μL 空白血浆,配制梓醇浓度为 0.4,4,10,20,40,80,120 mg/L 的血浆样品.按“2.3 血浆样品预处理”项下操作,以待测物血液浓度为横坐标,待测物峰面积比值和内标物的峰面积比值为纵坐标,得线性回归方程 $Y = 0.57X + 0.09$, $r^2 = 0.999 0$,线性范围为 0.4~120 mg/L.将 10 mg/L 对照品不断稀释后,按“2.1 色谱条件项下”进行 HPLC 分析,当信噪比 $S/N = 10$ 时确定为最低定量限,梓醇为 4×10^{-6} mg.

2.4.3 提取回收率考察

分别取不同浓度的梓醇标准溶液 20 μL,加入到 180 μL 的空白血浆中,配置成低、中、高(0.4,50,120 mg/L)3 个不同浓度的血浆样品各 5 份,按“2.3 血浆样品预处理”项下操作,进样分析的梓醇峰面积 A_1 .另取不同浓度梓醇样品,用甲醇稀释,同样处理,进样分析得到梓醇峰面积 A_2 .回收率 $\% = A_1/A_2 \times 100\%$.回收率为 80%~92%,大于 70%,且 $RSD < 7\%$,符合生物样品回收率大于 70%, $RSD < 10\%$ 的分析要求.

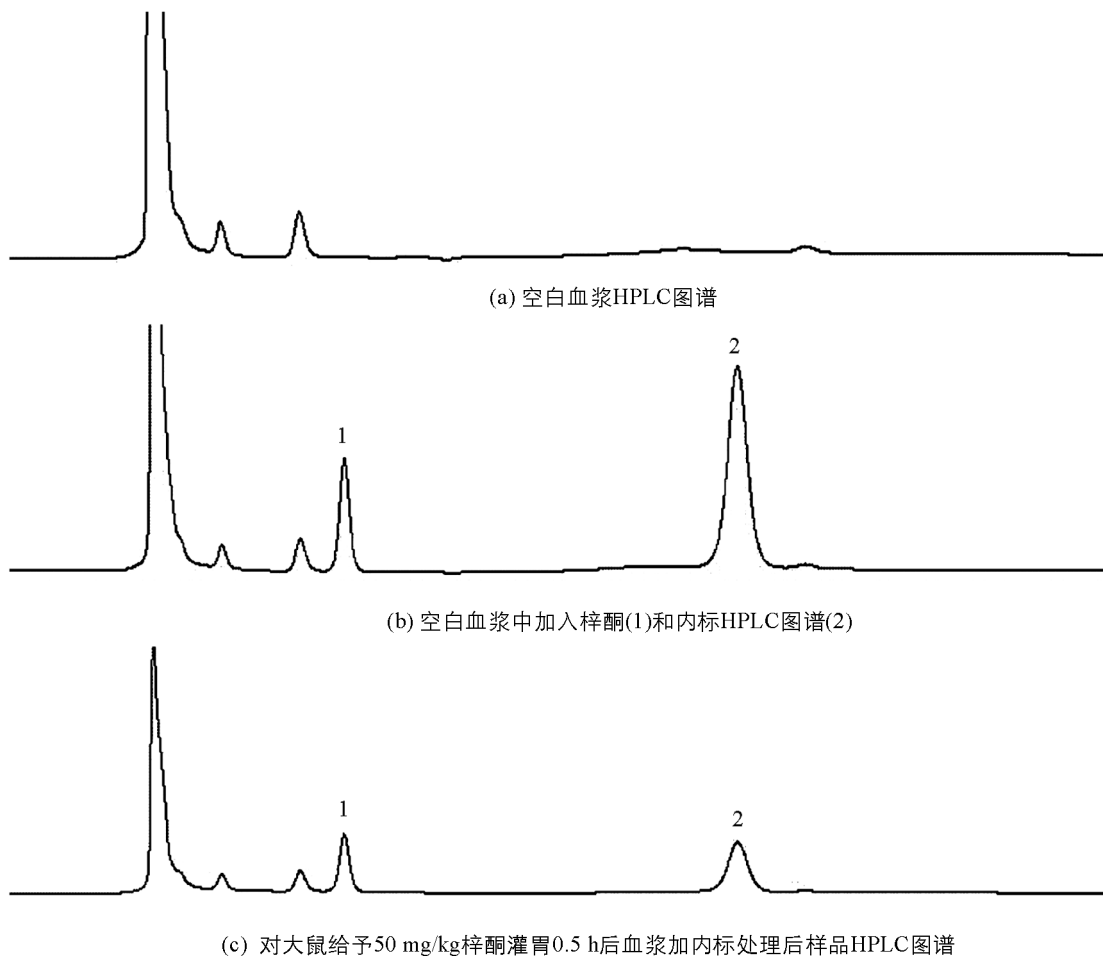


图 1 进样后色谱图

2.4.4 精密度的考察^[10]

分别取空白血浆 180 μL , 加入不同浓度的梓醇对照液, 配制成低、中、高(0.4, 50, 120 mg/L) 3 个浓度的血浆样品各 5 份, 按“2.3 血浆样品预处理”提取处理后进样, 分别测定日内和日间梓醇浓度. 结果显示, 所有的样品日内 RSD < 4.5%, 日间 RSD < 6.5%, 均小于 10%, 符合生物样品分析要求.

2.5 大鼠梓醇给药后的药代动力学研究

2.5.1 药代动力学实验

取 SPF 级 SD 大鼠 18 只, 实验前禁食 12 h, 随机分为 3 组, 分别进行灌胃, 后腿肌肉注射, 尾静脉注射给药, 给药剂量 50 mg/kg, 于给药前(0 min)和给药后 2, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480, 600 min, 眼眶动脉采血. 采血按“2.3 血浆样品预处理”项下处理, 进样分析. 所得的平均血药浓度—时间曲线如图 2 所示.

2.5.2 药代动力学参数计算

将所得的血药浓度—时间数据, 用 DAS 3.5 中统计矩方法求算药代动力学参数. 其主要药代动力学参数见表 1.

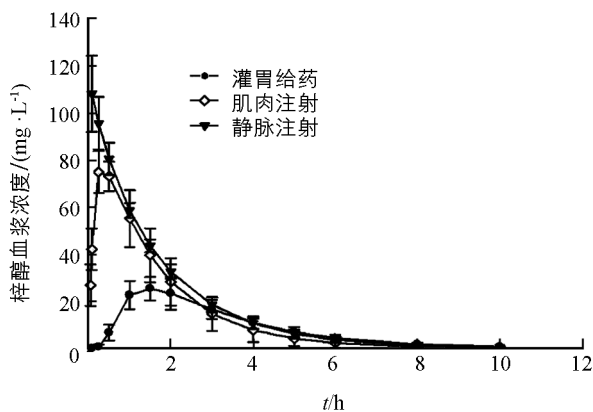


图 2 大鼠给予 50 mg/kg 梓醇灌胃、肌肉注射、尾静脉注射三种方式给药后药时曲线 (n=6)

表 1 梓醇在三种不同给药方式时大鼠体内的主要药动学参数($n=6$)

参 数	灌 胃 组	肌肉注射组	静脉注射组
		50 mg · kg ⁻¹	
$t_{1/2z}$ /h	1.39 ± 0.22**	0.84 ± 0.41	0.68 ± 0.24
AUC/(mg · h · L ⁻¹)	95.23 ± 10.15**	150.23 ± 20.87##	195.79 ± 20.51
MRT/h	3.23 ± 0.37**	1.62 ± 0.20	1.71 ± 0.29
C_{max} /(Mg · L ⁻¹)	24.83 ± 0.58**	80.43 ± 5.59##	110.82 ± 4.10
T_{max} /h	1.66 ± 0.58	0.25 ± 0.1	—
$V_{z/F}$ /(L · kg ⁻¹)	1.17 ± 0.16**	0.40 ± 0.20#	0.57 ± 0.19
$F/\%$	49.38 ± 10.54	71.63 ± 10.28	—

注: ** $p < 0.01$ 灌胃组和静脉注射组比较; # $p < 0.05$ 肌肉注射组和静脉注射组比较; ## $p < 0.01$ 肌肉注射组和静脉注射组比较。

3 讨 论

中国药典(2010 版)对地黄中梓醇测定采用乙腈-0.1 磷酸溶液(1:99)为流动相; 本文使用该方法发现与血清内源性杂质峰有重叠, 改善 PH 对改善分离影响较小. 当选取水-乙腈(99.5:0.5)样品峰的分离度满足实验需求.

从本实验结果看, 梓醇口服半衰期($t_{1/2z} = 1.39 \pm 0.22$ h)显著长于肌注($t_{1/2z} = 0.84 \pm 0.41$ h)和静注($t_{1/2z} = 0.68 \pm 0.24$ h), 这可能是口服吸收时间较长所致. 口服梓醇体内滞留时间 MRT 为 3.23 ± 0.37 h, 长于肌注 MRT(1.62 ± 0.20 h)和静注 MRT (1.71 ± 0.29 h), 和静注比具有显著性差异($p < 0.01$), 提示梓醇在体内作用时间较短, 消除较快, 更适合开发其缓释制剂用于临床.

肌肉注射吸收迅速, T_{max} 为 0.25 ± 0.1 h 显著短于口服 1.66 ± 0.58 h. 一般认为, 大鼠 $V_{z/F}$ 小于 5 L 指药物主要分布于血浆, 所以口服 1.17 ± 0.16 L/kg, 肌注 $V_{z/F}$ 为 0.40 ± 0.20 L/kg, 静注 $V_{z/F}$ 为 0.57 ± 0.19 L/kg, 都代表药物主要分布于血浆. 肌注生物利用度为 71.63% 大于口服的 49.38%. 提示梓醇的后期开发中, 除考虑肌注和静脉注射剂型外, 可以考虑能够增加其口服吸收速度和生物利用度的新剂型.

现有研究表明梓醇对于中枢神经系统疾病具有良好的治疗前景, 尽管梓醇可以在脑脊液中检出, 但梓醇水溶性较高, 不易通过血脑屏障, Wang 等^[11]对大鼠静注梓醇后, 脑脊液和血浆的药物代谢动力学进行了研究, 发现 AUC(脑脊液)/AUC(血浆) = 5.8%, 也证实了此点, 这要求我们开发新的剂型时, 考虑如何增加梓醇在脑内的分布.

本实验研究结果为梓醇给药途径和剂型的选择提供了初步的实验依据, 有助于梓醇的后期开发.

参考文献:

- [1] XU G, XIONG Z, YONG Y, et al. Catalpol Attenuates MPTP Induced Neuronal Degeneration of Nigral-Striatal Dopaminergic Pathway in Mice Through Elevating Glial Cell Derived Neurotrophic Factor in Striatum [J]. Neuroscience, 2010, 167(1), 174-184.
- [2] 王红利, 薛莉君, 万 东, 等. 梓醇改善东莨菪碱诱导的学习记忆障碍及机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(9): 1272-1275.
- [3] 祝慧凤, 万 东, 罗 勇, 等. 梓醇上调 GAP-43 表达伴随局灶脑缺血大鼠神经功能恢复 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(9): 1231-1236.
- [4] SHIEH Ja-ping, CHENG Kai-chun, CHUNG Hsien-hui, et al. Plasma Glucose Lowering Mechanisms of Catalpol, an Active Principle from Roots of Rehmannia Glutinosa, in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8): 3747-3753.
- [5] 毕方杰, 张 虎, 胡 健, 梓醇对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌损伤的保护作用及机制研究 [J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(3), 244-248.
- [6] PUNGITORE CARLOS R, LEÓN LETICIA G, GARCÍA CELINA, et al. Novel Antiproliferative Analogs of the Taq

- DNA Polymerase Inhibitor Catalpol [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007, 17 (5): 1332 –1335.
- [7] HUANG W J, NIU H S. Antihyperglycemic Effect of Catalpol in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats [J]. *Journal of Natural Products*, 2010, 73, 1170–1172.
- [8] WANG C F, LI D Q. Oral Supplementation of Catalpol Ameliorates Diabetic Encephalopathy in Rats [J]. *Brain Research*, 2010, 1307(11): 158–165.
- [9] 武丽南, 陆榕, 谷元, 等. 梓醇在大鼠体内的药代动力学和生物利用度研究 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2012, 17(2): 126–130.
- [10] 李艳艳, 周光明, 辛丹敏, 等. HPLC 法测定杜仲中绿原酸和芦丁 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2010 (1): 59–62.
- [11] WANG Q, XING M, CHEN W, et al. HPLC-APCI-MS/MS Method for the Determination of Catalpol in Rat Plasma and Cerebrospinal Fluid: Application to an in Vivo Pharmacokinetic Study [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 70: 337–343.

Pharmacokinetics of Different Administration Routes of Catalpol

LIU Zhi-qiang¹, YANG Xian², WANG Tao²,
ZHU Hui-feng², WAN Dong³

1. Department of Pharmacy, The First Peoples' Hospital of Neijing, Sichuan 614000, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences and Traditional Chinese Medicine, Southwest University, Chongqing 400716, China / Chongqing Engineering Research Center for Pharmacological Evaluation, Chongqing 400715, China;

3. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: Objective: To study the pharmacokinetics of different administration routes of catalpol of *Rehmannia glutinosa*. Methods: Catalpol was administered to rats through intramuscular injection, intravenous injection or intragastric administration. Then plasma concentration was measured via HPLC, and the c-t curve was drawn and the pharmacokinetic parameters were calculated through DAS 3.5. Results: The principal parameters were $F = 51\%$ and 72% , and $T_{1/2} = 1.4$ h and 0.8 h for intramuscular and intragastric administrations, respectively. Conclusions: From pharmacokinetic parameters and absolute bioavailability of catalpol, the order of superiority is intramuscular injection > intragastric injection administration.

Key words: catalpol; different administration route; pharmacokinetics; bioavailability

责任编辑 汤振金