

# 不同给药途径通窍散瘀方中葛根素在大鼠体内药动学研究

陈晓兰<sup>1,2</sup>, 杜守颖<sup>1\*</sup>, 陆洋<sup>1</sup>, 赵雪姣<sup>1</sup>, 王珊<sup>1</sup>, 李鹏跃<sup>1</sup>, 宋道<sup>1</sup>

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

**[摘要]** 目的: 研究通窍散瘀方经不同给药途径给药后葛根素在大鼠体内的药代动力学。方法: 通窍散瘀方经注射给药(*iv*)、鼻腔给药(*in*)、灌胃给药(*ig*)后于不同时间点取血,以甲醇沉淀血浆蛋白质,反相高效液相色谱测定葛根素在大鼠血浆中的浓度,用 Kinetica 程序软件计算药代动力学参数和生物利用度。结果: 通窍散瘀方静脉注射后,葛根素血中  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(787.99 \pm 70.44) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ,鼻腔给药后  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(376.56 \pm 93.93) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而灌胃给药后  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(491.18 \pm 110.64) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ 。鼻腔给药葛根素绝对生物利用度  $F$  为 47.78%,灌胃给药葛根素绝对生物利用度  $F$  为 6.23%。结论: 通窍散瘀方经鼻腔给药的生物利用度显著高于灌胃,该结果可以为通窍散瘀方的剂型研究和给药途径选择提供实验依据。

**[关键词]** 通窍散瘀方; 葛根素; 生物利用度; 药代动力学

通窍散瘀方为临床经验方,由葛根、丹皮、薄荷脑组成,具有通窍醒脑、活血散瘀的功效。临床上主治卒中、中风、类中风等窍闭神昏之证,相当于西医拟诊脑梗死。由于其自身化学结构的特点,处方中的主要有效成分葛根素口服在动物或人体的药动学研究表明,葛根素口服自胃肠道吸收较快,但吸收程度差,生物利用度较低。而注射给药使用不方便,且不良反应发生率高<sup>[1]</sup>。现代药剂学研究证明鼻腔给药(nasal drug delivery, NDD)是一种有效的给药途径,吸收迅速且生物利用度高<sup>[2]</sup>,而且药物可经鼻黏膜嗅神经通路、嗅黏膜上皮通路和血液循环通路吸收入脑<sup>[3]</sup>。基于此,本课题组对通窍散瘀方经不同给药途径给药后葛根素在大鼠体内血药动力学进行了研究。以此为研制治疗心、脑血管疾病的速效、高效且使用方便的通窍散瘀方新制剂提供新的理论和实验依据。

## 1 材料

LC-10AD 岛津液相色谱仪; SPD-1020A 岛津检

测器; CX-400 型超声波清洗器(北京医疗设备厂); BS 110S 型电子分析天平(北京赛多利斯公司); 葛根素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110752-200912); 葛根提取物(实验室自制,葛根素纯度 52%); 丹皮提取物(实验室自制,丹皮酚纯度 >98%); 薄荷脑(购于北京同仁堂药店); 甲醇(色谱纯, promptar 公司); 娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团); 其他试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠, 雄性, 体重  $(250 \pm 20) \text{ g}$ , 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京) 2006-0009。

## 2 方法与结果

**2.1 葛根素对照品溶液的制备** 精密称取葛根素对照品 10.63 mg 于 10 mL 量瓶中, 用色谱甲醇制成  $1.063 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的葛根素储备液, 置于 4 °C 冰箱中保存。

**2.2 色谱条件** Diamonsil™ 钻石 C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-1% 乙酸水 (26:74); 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 检测波长 250 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。

**2.3 血浆样品的采集** 清洁级 SD 大鼠 15 只, 雄性, 体重  $(250 \pm 20) \text{ g}$ , 禁食不禁水 12 h 后, 按  $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重 (相当于葛根提取物  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 鼻腔给药。按  $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重 (相当于葛根提取物  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 尾静脉注射给药; 按  $8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重 (相

• 2347 •

**[稿件编号]** 20110117002

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目 (81073057); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09502-008); 教育部博士点基金项目 (20090013110007)

**[通信作者]** \* 杜守颖, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向中药新剂型与制剂关键技术, Tel: (010) 84738615, E-mail: dushouying@263.net

**[作者简介]** 陈晓兰, 副教授, 博士研究生, 主要从事中药新剂型与新制剂的研究

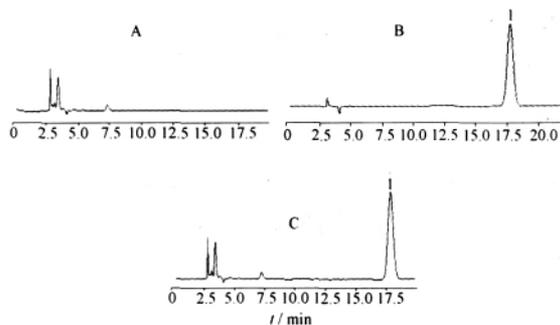
当于葛根提取物 200 mg · kg<sup>-1</sup>) 灌胃给药。

鼻腔给药时,用乙醚麻醉大鼠,用连接 PE 塑料软管的微量注射器插入大鼠鼻腔内约 0.5 cm,将定量药物给入鼻腔,保持大鼠头部水平并观察是否有药液从大鼠鼻腔流失。

各组给药后,分别在 1, 3, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90, 120 min 断尾取血 0.5 mL 于肝素浸润过的离心管中,采集完毕后,10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取血浆置 -20 °C 冰箱保存备用。

**2.4 血浆样品的处理** 精密量取血浆样品 0.1 mL,加入甲醇 0.5 mL,涡旋混匀 1 min,10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液 0.5 mL,于 50 °C 下空气吹干后用 50% 色谱甲醇-水溶液 0.1 mL 复溶,涡旋混匀 1 min,10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液进样。

**2.5 色谱行为** 上述色谱条件下,葛根素的保留时间约为 17.5 min,理论塔板数大于 8 000。空白血浆内源性物质对葛根素的测定无干扰,见图 1。在该血浆样品处理方法及色谱条件下,葛根素在 0.053 15 ~ 53.150 0 mg · L<sup>-1</sup> 线性关系良好 ( $r = 0.999 9$ )。精密密度、回收率、稳定性均符合含量测定要求。当  $S/N \geq 3$  经测定最低检测限为 0.01 mg · L<sup>-1</sup>; 最低定量限为 0.053 15 mg · L<sup>-1</sup>。



A. 空白血浆; B. 葛根素对照品; C. 给药后血浆样品; 1. 葛根素。  
图 1 不同样品的 HPLC 图

表 1 大鼠分别注射、鼻腔及灌胃给予通窍散瘀方后药动学参数( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

给药方式	药动学参数					
	$C_{max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$t_{max}/\text{min}$	$AUC/\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	MRT/min	$t_{1/2}/\text{min}$	F/%
iv	62.612 ± 10.079	-	787.99 ± 70.44	18.52 ± 1.41	14.600 ± 2.749	-
in	12.273 ± 3.600 <sup>1)</sup>	3.4 ± 0.89 <sup>1)</sup>	376.56 ± 93.93 <sup>1)</sup>	30.77 ± 2.80 <sup>1)</sup>	21.119 ± 3.894 <sup>1)</sup>	47.8
ig	11.040 ± 3.182 <sup>1)</sup>	13.76 ± 3.23 <sup>1)</sup>	491.18 ± 110.64	35.36 ± 6.36 <sup>1)</sup>	20.60 ± 16.08 <sup>1)</sup>	6.23

注:与注射组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ 。

**2.6 数据分析** 采用标准曲线法计算血药浓度,血药浓度数据用药动学软件 Kinetica 4.4 处理,计算不同给药途径通窍散瘀方中葛根素在大鼠体内的药代动力学参数。

**2.7 通窍散瘀方经注射、鼻腔及灌胃给药后在大鼠体内的药动学** 单剂量(葛根提取物 20 mg · kg<sup>-1</sup>) iv, in 和 ig(葛根提取物 200 mg · kg<sup>-1</sup>) 给予通窍散瘀方后大鼠的平均血药浓度-时间曲线见图 2,计算出注射给药途径主要药动学参数,将鼻腔给药和灌胃的药-时曲线下面积(AUC)与静脉注射给药组的 AUC 相比较,采用公式  $F = \frac{AUC_{0-t}(in/ig)/X_{in}}{AUC_{0-t}(iv)/X_{iv}} \times 100\%$ , 得到鼻腔给药和灌胃给药的绝对生物利用度 F,见表 1。

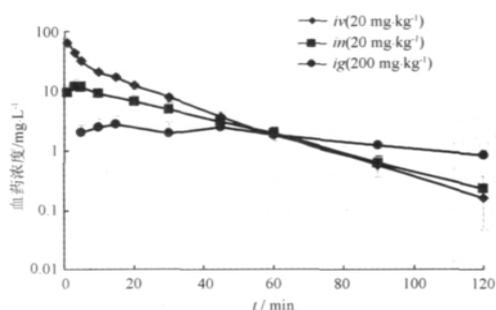


图 2 单剂量通窍散瘀方经不同途径给药后葛根素大鼠血药浓度-时间曲线

### 3 讨论

血浆中葛根素的提取方法已有很多文献报道,多采用有机溶剂沉淀蛋白<sup>[4]</sup>。本实验前期比较了几种方法(甲醇沉淀法、乙腈沉淀法、高氯酸沉淀法、乙酸乙酯沉淀法),结果表明采用甲醇沉淀蛋白和 50% 甲醇-水溶液复溶时对样品的干扰较少,回收率良好,能尽可能地除去血浆中的蛋白质,有效延长色谱柱的使用寿命,此外,葛根素化学性质稳定,甲醇沉淀蛋白 60 °C 以下空气吹干,方法快速简便。

由于口服通窍散瘀方后葛根素吸收少,为了能在给药后大鼠血液中准确检测葛根素的含量,实验中增大了灌胃组大鼠给药剂量,为注射和鼻腔给药组的10倍。由药动学参数可知,通窍散瘀方静脉注射后,葛根素血中  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(787.99 \pm 70.44) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 鼻腔给药后  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(376.56 \pm 93.93) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ , 灌胃给药后  $AUC_{0-120\text{ min}}$  为  $(491.18 \pm 110.64) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ 。鼻腔给药葛根素绝对生物利用度  $F$  为 47.8%, 灌胃给药葛根素绝对生物利用度  $F$  为 6.23%。鼻腔给药和灌胃给药组的达峰时间分别为  $(3.4 \pm 0.89)$ ,  $(13.76 \pm 3.23) \text{ min}$ ; 平均滞留时间(MRT) 分别为  $(30.77 \pm 2.80)$ ,  $(35.36 \pm 6.36) \text{ min}$  与注射给药组  $(18.52 \pm 1.41) \text{ min}$  相比,鼻腔给药和灌胃由于有

吸收过程,故平均滞留时间较注射组长。结果表明,通窍散瘀方经鼻腔给药后葛根素吸收较灌胃迅速,峰浓度能达到注射的1/5,绝对生物利用约达50%,远远高于灌胃给药组(6.23%)。

[参考文献]

- [1] 杨林静,何可月. 葛根的药理学研究及其临床应用进展[J]. 2005,5(2):46.
- [2] Chen Xiaolan, Lu Yang, Du Shouying, et al. *In situ* and *in vivo* study of nasal absorption of paeonol in rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2010,11(12),4882.
- [3] Illum L. Is nose-to-brain transport of drug in man a reality? [J]. *J Pharm Pharmacol* 2004,56: 3.
- [4] 王雪莉,苏慧,邢东明,等. 微细化工工艺制备的葛根微粉抗氧化抗凝血及其体内吸收动力学研究[J]. *中国实验方剂学杂志* 2005,11(3): 32.

## Study on pharmacokinetics of puerarin in rats following different methods of administration of Tongqiao Sanyu prescription

CHEN Xiaolan<sup>1,2</sup>, DU Shouying<sup>1\*</sup>, LU Yang<sup>1</sup>, ZHAO Xuejiao<sup>1</sup>, WANG Shan<sup>1</sup>, LI Pengyue<sup>1</sup>, SONG Xiao<sup>1</sup>  
(1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;  
2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study pharmacokinetic of puerarin in rats following different methods of administration of Tongqiao Sanyu prescription. **Method:** Tongqiaosanyu prescription was administered to rats by caudal vein injection, nasal administration and oral administration. Plasma samples were extracted with methanol and the plasma concentration of puerarin was analyzed by RP-HPLC. The pharmacokinetic parameters and bioavailability were calculated with Kinetica software. **Result:** The main pharmacokinetic parameters were as follows:  $AUC_{0-\infty}$  of caudal vein injection was  $(787.99 \pm 70.44) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $AUC_{0-\infty}$  of nasal administration was  $(376.56 \pm 93.93) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $AUC_{0-\infty}$  and oral administration (The dose was decuple higher than that of caudal vein injection and nasal administration) was  $(491.18 \pm 110.64) \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ . The absolute bioavailability of puerarin was 47.78% by nasal administration and 6.23% by oral administration. **Conclusion:** The bioavailability of nasal administration is higher than oral administration significantly, this result can provide some scientific foundation for the method of administration and the reform of dosage form of Tongqiao Sanyu prescription.

**[Key words]** Tongqiao Sanyu prescription; puerarin; bioavailability; pharmacokinetics.

doi: 10.4268/cjcm20111709

[责任编辑 马超一]