

· 基于药物体系导向研究专题 ·

失眠模型下女贞子红景天苷制备物药代动力学分析研究

彭平 孙道涵 冯朵 赵丽敏 杨书娟 朱乃亮 张璐 李焕娟 折改梅 石任兵

【摘要】 目的 阐明女贞子红景天苷制备物作为治疗失眠病症药物的药代动力学表征特性。**方法** 采用超高效液相色谱法, PDA 检测器, ACQUITY UPLC H-CLASS T3 色谱柱(50 mm × 2.1 mm × 1.8 μm); 流动相: 乙腈—水(3:97), 流速 0.3 mL/min; 柱温 25℃。**结果** 失眠模型下, 入血成分红景天苷 C_{max} 20.24 μg/mL、 T_{max} 0.5 h、 $T_{1/2}$ 2.53 h、 K_0 0.27, 酪醇 C_{max} 0.49 μg/mL、 T_{max} 0.75 h, 血药浓度比值(酪醇: 红景天苷)最大值为 3.90:100, 为体外含量比值的 12.58 倍。**结论** 在失眠模型下, 女贞子红景天苷制备物体内主要入血成分为红景天苷和酪醇, 且表征出药代协同性; 与正常状态比较, 表现出体内成分生物利用度增加的药代亲和性。

【关键词】 红景天苷; 酪醇; 药代动力学; 失眠; 亲和性

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.03.006

Study on the pharmacokinetic characterization of salidroside drugs in the insomnia model rats

PENG Ping, SUN Dao-han, FENG Duo, et al. Key Unit of Exploring Effective Substances of Classical and Famous Formulas of State Administration of Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Corresponding author: SHI Ren-bing, E-mail: shirb@126.com

【Abstract】 Objective To study the pharmacokinetic characterization of Salidroside drug which was prepared from Fructus Ligustri Lucidi as a drug for insomnia treatment. **Methods** The drug content was measured by UPLC with PDA detector. Analyzes was performed on an ACQUITY UPLC H-CLASS T3 (50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) column with salicin as the internal standard. The mobile phase was acetonitrile: water solution (3:97, v/v) at a flow rate of 0.3 mL/min. The temperature of column was 25℃. **Results** The C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, and K of salidroside were 20.24 μg/mL, 0.5 h, 2.53 h, and 0.27 in insomnia rats, respectively; and the C_{max} , T_{max} of tyrosol were 0.49 μg/mL and 0.75 h respectively in insomnia rats. The maximum content ratio of tyrosol / salidroside was 3.90/100, which was 12.58 times higher than that in vitro. **Conclusion** Salidroside and tyrosol were the main components of salidroside drug into the blood and they exhibited a synergistic effect for absorption in the insomnia model rats. The bioavailability of drug was increased in insomnia model rats when compared with the health rats.

【Key words】 Salidroside; Tyrosol; Pharmacokinetic; Insomnia; Adaptation

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划(2012BAI29B06); 北京中医药大学科研创新团队资助项目(2011-CXTD-12); 北京中医药大学重点学科开放课题(2013-2DXKKF-23)

作者单位: 100102 北京中医药大学中药学院 国家中医药管理局中药经典名方有效物质发现重点实验室[彭平(博士研究生)、孙道涵(硕士研究生)、冯朵(硕士研究生)、赵丽敏(硕士研究生)、杨书娟(硕士研究生)、朱乃亮(博士研究生)、张璐(硕士研究生)、李焕娟(硕士研究生)、折改梅、石任兵]; 北京市教委中药质量控制技术工程中心(石任兵)

作者简介: 彭平(1987-), 女, 2012 级在读博士研究生。研究方向: 中药有效物质基础研究。E-mail: pengping2177@126.com

通讯作者: 石任兵(1957-), 博士, 教授, 博士生导师。研究方向: 中药(复方)有效物质基础研究与药物创新。E-mail: shirb@126.com

红景天苷、酪醇为中药红景天的特性功效性成分, 现代药理研究表明, 红景天苷具有调节睡眠周期, 抗失眠的药理活性, 可作为失眠病症治疗药物^[1-3]。为了解决红景天的资源缺乏状态, 本实验组发明并建立了从女贞子药材中提取, 并经碱转化后, 大孔树脂分离富集制备红景天苷的方法, 所得女贞子红景天苷制备物(简称: 制备物)以自然药理学为指导, 经药物体系研究导向制备而来^[4-9]。为探寻其药物自然性、协同性、亲和性^[10-11], 本实验组前期研究建立了超高效液相色谱法, PDA 检测器同

时测定红景天苷和酪醇的体内分析方法(体内红景天苷、酪醇的最低检测浓度分别为 $0.5 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.25 \mu\text{g/mL}$,最低定量浓度分别为 $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.5 \mu\text{g/mL}$,平均回收率分别为 90.97%、92.33%),发现了制备物在正常状态大鼠体内可同时检出红景天苷和酪醇两成分,测其在正常大鼠体内药代动力学表征为:红景天苷最大血药浓度值(C_{\max})为 $19.29 \mu\text{g/mL}$ 、最大血药浓度时间(T_{\max}) 0.5 h 、半衰期($T_{1/2}$) 3.28 h 、曲线下面积(AUC_{0-t}) $21.00 \mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$ 、平均滞留时间(MRT) 3.43 h 清除率 K 为 0.21,酪醇最大血药浓度值(C_{\max})为 $0.32 \mu\text{g/mL}$ 最大血药浓度时间(T_{\max}) 0.75 h ,体内同存酪醇与红景天苷血药浓度比值(以红景天苷为参比)最大为 2.99:100,为制备物样品含量比值的 9.65 倍。在药代动力学-成分相互作用(PK-DI)关联研究中还发现了制备物中以红景天苷与酪醇为主要有效成分的有关药物体系在偏头痛模型下表现出药代协同吸收性。

本文研究在 PCPA 致大鼠失眠模型下女贞子红景天苷制备物药代动力学表征,并同时与正常状态下的药代表征对比分析结果,以阐明其作为治疗失眠病症药物的药代动力学表征特性,发现药物与病理模型之间的特性表征,为进一步基于本制备物进行抗失眠的药物创新提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY 超高效液相色谱仪,PDA 检测器,Empower 工作站,自动进样;Waters ACQUITY UPLC H-CLASS T3 色谱柱($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm} \times 1.8 \mu\text{m}$),METTLER TOLEDO XS204 分析天平(METTLER TOLEDO,瑞士),METTLER TOLEDO XP26 分析天平(METTLER TOLEDO,瑞士),sigma 1-14 小型台式离心机(sigma,德国),Labconco(r) CentriVap 离心浓缩仪(LABCONCO,美国),涡旋混合器(其林贝尔,中国), $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤器。

1.2 药品与试剂

红景天苷对照品(北京方程生物科技有限公司,批号 130426;含量 99.9%)、水杨苷对照品(北京方程生物科技有限公司,生产批号 121118;含量 99.9%)、酪醇对照品(北京方程生物科技有限公司,批号 120927;含量 99.9%)、高氯酸(分析纯,天津市鑫源化工有限公司)、色谱乙腈(色谱纯,Fisher 公司)、哇哈哈纯净水、对氯苯丙氨酸(批号:C6506,SIGMA)。

女贞子红景天苷制备物:取女贞子药材(浙江产地)70%乙醇提取,经碱转化后,大孔树脂分离富集制备而得。(批次:20130926,由课题组制备,样品经高效液相色谱法测定,红景天苷含量 64.5%,酪醇含量 0.2%)。

1.3 实验动物

健康 Sprague-Dawley (SD),雌性,大鼠,体质量 $200 \sim 220 \text{ g}$,鼠龄 6~8 周,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2012-0001,批号 20131021。

2 方法

2.1 给药方案与样品采集

SD 大鼠随机分为 14 组(分别为 14 个取血时间点组),每组 5 只,采用腹腔注射 PCPA 剂量 300 mg/kg 致大鼠失眠模型,连续注射造模 7 天,于末次注射 PCPA 后 30 分钟灌胃给药女贞子红景天苷制备物。

失眠模型大鼠,采用单次灌胃给药女贞子红景天苷制备物,给药剂量 60 mg/kg ,于给药后 2 分钟、5 分钟、10 分钟、15 分钟、30 分钟、45 分钟、1 小时、1.5 小时、2 小时、3 小时、4 小时、8 小时、12 小时、24 小时腹主动脉取血,每次 5 mL , 10000 r/min 离心 15 分钟,分离血清,即为含药血清,于 -80°C 保存备用。

2.2 血药浓度测定方法

血样处理方法:取 $300 \mu\text{L}$ 含药血清,置于 2 mL 离心管内,准确加入 $50 \mu\text{L}$ 浓度为 $100 \mu\text{g/mL}$ 的内标水杨苷溶液,涡旋 30 秒,加 0.4 mol/mL 高氯酸 $180 \mu\text{L}$,涡旋 30 秒,静置 15 分钟, 14800 r/min 高速离心 15 分钟,取上清液 $200 \mu\text{L}$ 加 $1 \mu\text{L}$ 50% NaOH 调 pH 到 6~7,过 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤器,供 UPLC-PDA 检测分析。

2.3 液相色谱分析条件

液相色谱条件 Waters ACQUITY 超高效液相色谱仪,PDA 检测器,Empower 工作站,ACQUITY UPLC H-CLASS T3 色谱柱($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm} \times 1.8 \mu\text{m}$);流动相:乙腈-水(3:97),流速为 0.3 mL/min ;柱温为 25°C ;进样体积为 $10 \mu\text{L}$,检测波长 276 nm 。

3 结果

3.1 失眠模型下红景天苷制备物药代动力学测定结果

取各给药组血清样品制备测定,计算失眠模型

大鼠给药后各时间点体内红景天苷、酪醇的血药浓度,结果见表 1。

表 1 失眠模型大鼠给药后不同时间点体内红景天苷和酪醇的血药浓度(n=5)

时间	红景天苷(μg/mL)	酪醇(μg/mL)
2 分钟	3.12 ± 0.42	—
5 分钟	3.77 ± 0.30	—
10 分钟	12.59 ± 3.19	—
15 分钟	18.07 ± 3.5	0.4 ± 0.06
30 分钟	20.24 ± 2.3	0.47 ± 0.04
45 分钟	18.95 ± 10.13	0.49 ± 0.06
1 小时	8.97 ± 0.66	0.35 ± 0.01
1.5 小时	6.28 ± 2.86	—
2 小时	4.24 ± 0.83	—
3 小时	3.16 ± 0.58	—
4 小时	2.45 ± 0.19	—
8 小时	—	—
12 小时	—	—
24 小时	—	—

拟合失眠模型大鼠给药红景天苷制备物后体内入血成分药—时曲线见图 1。

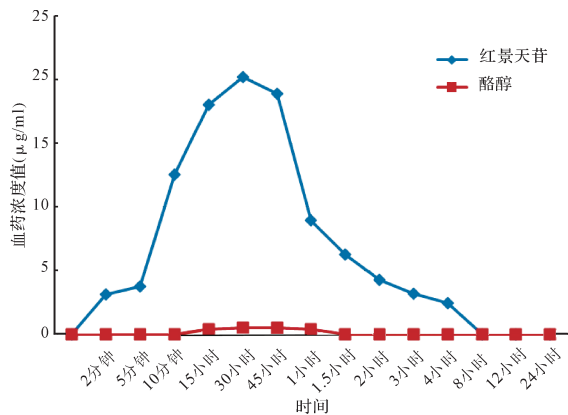


图 1 失眠模型大鼠给药红景天苷制备物后体内入血成分药—时曲线

采用生物学统计软件 PKsolver 计算得各给药组体内红景天药代动力学参数,见表 2。

3.2 药代动力学—成分相互作用(PK-DI)关联分析结果

由表 2 可知,失眠模型下红景天苷制备物给药后,体内成分红景天苷 T_{max} 为 0.5 h,由体内酪醇成分血药浓度值分析可知体内成分酪醇 T_{max} 为 0.75 h;在失眠状态下,红景天苷和酪醇两成分的体

表 2 失眠大鼠体内红景天苷成分药代动力学参数

项目	参数
半衰期 $T_{1/2}$	2.53 h
最大血药浓度时间	0.50 T_{max} (h)
最大血药浓度值	0.24 C_{max} (μg/ml)
曲线下面积	28.31 AUC_{0-1} (μg/ml * h)
平均滞留时间	2.80 $MRT_{0-inf_{obs}}$ (h)
清除率	0.27 K(Cl/V)

内 T_{max} 值基本一致,体内酪醇与红景天苷成分有一定共血药时间,可产生相互作用药动学协同吸收特性。

3.3 红景天苷及酪醇体内外含量相对比值分析

以红景天苷含量为参比,计算体内外制备物中成分酪醇含量与红景天苷含量比值(体外含量比例为:酪醇含量/红景天苷含量;体内浓度比值为:酪醇血药浓度/红景天苷血药浓度)以表征制备物体内外药物体系组成,结果见表 3。

表 3 失眠模型大鼠体内外红景天苷与酪醇含量比值

女贞子红景天苷制备物	酪醇: 红景天苷含量比值
制备物体外	
0.25 小时	0.31: 100
0.5 小时	0.31: 100
0.75 小时	0.31: 100
1 小时	0.31: 100
制备物体内	
0.25 小时	2.21: 100
0.5 小时	2.32: 100
0.75 小时	2.59: 100
1 小时	3.90: 100

结果显示,以红景天苷含量为参比,酪醇与红景天苷含量比值排序为:制备物体外 < 体内 0.25 小时 < 体内 0.5 小时 < 体内 0.75 小时 < 体内 1 小时;在大鼠体内酪醇与红景天苷含量比值较制备物增大了 7.13 ~ 12.58 倍,且从给药后 0.25 小时到 1 小时持续了 0.75 小时的增量动态变化。

4 讨论

4.1 不同状态下药代动力学—成分(PK-DI)相互作用关联比较分析结果

红景天苷制备物在失眠模型下与正常状态下

大鼠体内成分药代动力学参数比较分析,设正常状态下制备物组药代动力学参数为 1,计算分别两组体内红景天苷、酪醇成分药代动力学参数比值(失眠模型组:正常状态组)可知,体内成分红景天苷: T_{max} (0.5/0.5)比值为 1:1,即失眠组 = 正常组, C_{max} (20.24/19.29)比值为 1.05:1,即失眠组 > 正常组, AUC_{0-1} (28.31/21.00)比值为 1.35:1,即失眠组 > 正常组,清除率 K (0.27/0.21)比值为 1.29:1,即失眠组 > 正常组, $T_{1/2}$ (2.53/3.28)比值为 0.77:1,即失眠组 < 正常组, MRT (2.80/3.43)比值为 0.82:1,即失眠组 < 正常组;体内成分酪醇: T_{max} (0.75/0.75)比值为 1:1,即失眠组 = 正常组, C_{max} (0.49/0.32)比值为 1.53:1,即失眠组 > 正常组;分析表明在失眠模型下红景天苷制备物药物体内红景天苷和酪醇成分生物利用度均较正常状态下高,体内代谢速度较快。

4.2 不同状态下红景天苷及酪醇体内外含量相对比值分析

结果显示,以红景天苷含量为参比,酪醇与红景天苷含量比值(3.90:100),明显大于前期实验研究结果:正常状态下最大比值(2.99:100),且从给药后 15 分钟到 1 小时持续了 45 分钟的增量动态变化,失眠模型下体内同存酪醇与红景天苷血药浓度比值可见失眠状态下体内酪醇与红景天苷成分共血药时间较正常状态下延长,两成分的体内协同作用较正常状态下加强。

失眠模型大鼠给药女贞子红景天苷制备物给药后,体内主要以红景天苷、酪醇两种成分入血,其药代动力学特性表征为体内酪醇、红景天苷两成分药动学协同吸收,且在失眠模型下,红景天苷制备物两入血成分生物利用度均较正常状态下高,尤以酪醇与红景天苷血药浓度比值明显增大,体内两成分酪醇与红景天苷共血药时间延长;可见,在失眠模型下红景天苷制备物药物体内成分药动学协同

作用增强,表现出药物对失眠病症的亲合性。

基于自然药理学观指导思想,自然药物具有自然性、协同性、亲和性三大特性,本研究以药物“三性”为研究导向,着力药物组成成分研究、成分相互作用研究、成分与病理状态关联研究,揭示了女贞子红景天苷制备物药物作为治疗失眠病症药物的药代动力学表征特性,其在失眠模型下显示出红景天苷与酪醇构成药物体系,表征出药代协同性与对失眠病症状态的亲和性,为进一步基于本制备物进行抗失眠的药物创新提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] 李尔逊,许光辉,李廷利,等.红景天苷对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间影响的实验研究[J].中医药学报,2008,36(1):25-26.
- [2] 许光辉,李廷利,郭冷秋,等.红景天苷对失眠大鼠睡眠周期的影响[J].医学研究生学报,2008,21(10):1036-1039.
- [3] 许光辉.红景天苷镇静催眠作用的药理学研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2007.
- [4] 周文娟,石任兵.女贞子有效部位制备工艺及其质量控制方法研究[D].北京:北京中医药大学,2008.
- [5] 石任兵,周文娟,田恒康,等.一种从女贞子中制备高纯度红景天苷的方法:中国,CN101279992[P].2008-10-08.
- [6] 李娟,石任兵.基于碱转化的女贞子红景天苷部位及其单一成分的制备与质量标准研究[D].北京:北京中医药大学,2011.
- [7] 石任兵,姜艳艳,李娟.一种从女贞子中制备红景天苷的新方法:中国,CN102321127A[P].2012-01-18.
- [8] 彭晓敏,石任兵.基于碱转化的女贞子中红景天苷制备工艺及其质量标准研究[D].北京:北京中医药大学,2012.
- [9] 石任兵,彭平,姜艳艳,等.一种从女贞子中制备系列纯度红景天苷的方法:中国,CN103351415A[P].2013-10-16.
- [10] 石任兵,王永炎.自然药理学观的相关性思考[J].北京中医药大学学报,2012,35(4):221-225.
- [11] 石任兵,王永炎,姜艳艳,等.论中药化学发展近况[J].北京中医药大学学报,2012,35(3):153-159.

(收稿日期:2014-09-10)

(本文编辑:董历华)

· 启 事 ·

《环球中医药》杂志应用在线采编系统收稿

本刊 2014 年起启用在线期刊稿件采编系统。系统入口位于《环球中医药》杂志官方网站 www.hqzyy.com 首页。作者投稿,请首先在本刊网站在线注册账号,以该账号登陆稿件采编系统投稿,并可随时了解稿件编审进度。使用稿件采编系统十分方便作者和编辑的随时交流。同时本刊网站提供近年已刊文章的免费下载。此在线采编系统为本刊唯一收稿方式,本刊并未委托其他单位和个人代理收稿。

编辑部邮箱 hqzyy@163.com,hqzyy@126.com 仅供联络,请勿投稿。编辑部电话 010-65133322 转 5203 或 010-65269860。