

对葛根素与葛根黄酮体内 动力学关系的探讨*

——兼论中药药代动力学研究方法

□杜力军** 邢东明 炎彬 卢弘

赵玉男 谢伟东 雷帆 陶佳林

(清华大学生物科学与技术系药物药理研究室 北京 100084)

摘要: 中药药代动力学用分析的方法,对中药多成分的复杂体系的体内动力学过程进行综合表征。探究一个或若干成分在多大程度上能够代表或表征总成分的体内动力学过程,将是研究的关键。本文以所做的工作为基础,结合有关文献,以葛根素与葛根黄酮的体内药代动力学为例,对该问题进行了较为深入讨论。结果表明:葛根素的体内动力学过程与葛根黄酮在许多方面接近,可以用其来表征葛根黄酮的体内动力学过程。同类未定性成分体内动力学特征与葛根素有较好的相关性,可以共同来表征葛根黄酮的药代特征。

关键词: 葛根素 葛根黄酮 药代动力学

近年来,中药药代动力学的研究报道日益增多,但中药药代动力学的内容、思路和方法等,仍需要探索。血药浓度测定应为中药药代动力学研究的主要方法。在中药这一复杂体系中,若干成分间可以相互影响其它成分的体内过程,这样在动态过程中各成分在体内形成了相对平衡,这也是中药药代动

力学研究复杂的原因所在。是否有可能对此体内复杂过程做一简化(这里暂不考虑成分的代谢转化),最大限度的找出其体内的动力学规律?这就是一个概率问题,即选几个成分、在多大程度上能够反映出所研究对象的体内动力学过程。可见“动态”和“概率”,构成了中药药代动力学的特点和难点。药代动力学要求所研究对象明了单一,尽可能排除其它干扰因素,如此才能将其在体内的吸收分布代谢过程

收稿日期:2004-07-13

修回日期:2004-08-15

* 清华大学基础研究基金(JC2000050);中药药代动力学方法学研究,负责人:杜力军。

** 联系人:杜力军,教授,从事心脑血管药理学研究, Tel/Fax: 010-62773630, Email: pharm@mail.tsinghua.edu.cn。

26 [World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

揭示清楚。中药复方(有效部位)是一个复杂体系,中药药代要在复杂体系内,在有多种因素干扰时,将一个或若干成分体内的动力学过程研究分析清楚,进而反映总体成分(复方或有效部位)的体内动力学规律。在此矛盾决策的过程中,我们始终要回答:所选择测试成分在多大程度上反映了总体的药代规律。

我们曾对中药药代研究提出了“优选法则”^[1]。在此法则的指导下,我们对葛根黄酮及其复方 CBN 注射剂进行了较为系统的研究,对于葛根黄酮及其葛根素的体内过程取得了一些规律性的认识。已知葛根素是葛根黄酮中主要成分,又为活性成分,所以考察葛根素的药代动力学能否反映其它有相似化学结构的总成分的体内动力学过程,对于揭示葛根黄酮药代动力学、探讨中药药动力学方法学均具有重要意义。

一、葛根黄酮单次给药后葛根素与葛根黄酮体内动力学比较

葛根黄酮给药剂量为 100mg/kg, 静脉注射。雄性 Wistar 大鼠, 每个采样时间点 5 只。葛根素用 HPLC 测定, 葛根黄酮用荧光分光光度法测定。同时比较了正常和脑缺血再灌状态下大鼠体内葛根黄酮及葛根素的药代动力学变化^[2]。研究发现, 葛根黄酮及血浆样品中均较稳定地出现了 4 个峰, 通过紫外-可见光谱检测, 其中 3 个峰均具有相同的光谱特征, 为葛根黄酮中的成分, 这一点也从相关文献得到印证^[3-4]。这 3 个峰对于反映葛根素及葛根黄酮药物动力学特征有无作用, 在未定性成分的情况下, 能否根据其峰面积特征进行积分, 计算出其相应药代参数, 进而阐明该方体内的代谢规律。我们对此进行了探讨。

结果表明, 给药后葛根黄酮及葛根素均呈一室模型分布。同时缺血再灌状态下葛根

黄酮血浆浓度普遍高于正常状态, 葛根素也表现出同样的趋势(图 1~2)。将血药浓度以 3P87 软件拟合, 得药代参数(表 1~2)。

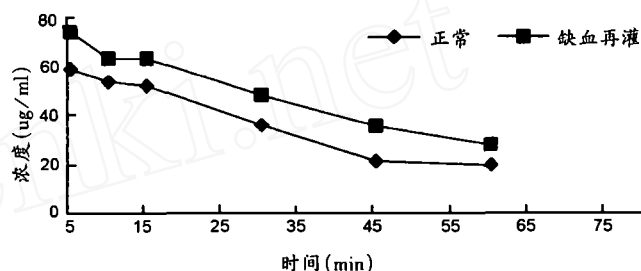


图1 静脉注射葛根黄酮后正常和脑缺血再灌大鼠体内葛根黄酮浓度变化

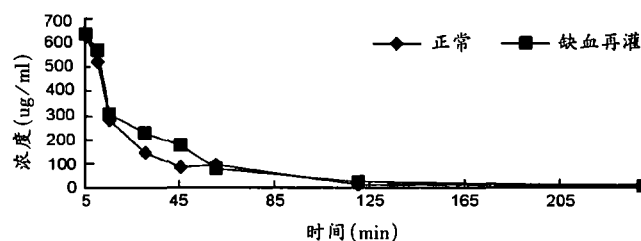


图2 静脉注射葛根黄酮后正常和脑缺血再灌大鼠体内葛根素浓度变化

表1 静脉注射葛根黄酮后正常大鼠葛根黄酮、葛根素及其未知成分药动参数($\bar{x} \pm s$)

参 数	葛根黄酮	葛根素	葛根素+未知1+未知3
$t_{1/2}$ (min)	34.29 ± 11.82	$11.55 \pm 1.18^{**}$	$12.82 \pm 5.77^{**}$
$CL(s)$ (mg/kg·min)	32.36 ± 7.46	$7.18 \pm 1.56^{**}$	$5.21 \pm 0.86^{***}$
AUC(mg/ml·min)	3.22 ± 0.73	$18.24 \pm 4.21^{**}$	$19.61 \pm 3.18^{**}$
MRT (min)	22.64 ± 2.73	24.42 ± 3.81	20.83 ± 4.36

与葛根黄酮相应参数相比, ** $P < 0.01$ 。与葛根素相应参数相比, ## $P < 0.01$, $n = 5$ 。

表2 静脉注射葛根黄酮后脑缺血再灌大鼠葛根黄酮、葛根素及其未知成分药动参数($\bar{x} \pm s$)

参 数	葛根黄酮	葛根素	葛根素+未知1+未知3
$t_{1/2}$ (min)	43.69 ± 24.09	$15.84 \pm 2.09^*$	$17.02 \pm 6.05^*$
$CL(s)$ (mg/kg·min)	22.70 ± 6.93	$6.03 \pm 1.37^*$	$3.99 \pm 0.82^{***}$
AUC(mg/ml·min)	4.95 ± 2.28	$17.24 \pm 3.65^{**}$	$25.80 \pm 4.74^{**}$
MRT (min)	24.00 ± 2.25	26.25 ± 0.69	31.43 ± 11.12

与葛根黄酮相应参数相比, ** $P < 0.01$ 。与葛根素相应参数相比, ## $P < 0.01$, $n = 5$ 。

由上可见,葛根黄酮除平均滞留时间(MRT)外,其它参数均与葛根素的药代参数相差较大,而葛根素与未知成分相加所得参数与葛根素接近。这可能与计算药量和分析测试仪器的不同有关。同时也提示单独以葛根素作为测试成分,尚不能完全反映葛根黄酮的体内动力学过程。葛根素与其它2种未知峰以峰面积相加所得药代参数与葛根素参数差异不大。提示相同结构的成分具有类似的动力学行为(图3)。值得思考的是,已知给药后体内各成分代谢过程是同时进行的(很少竞争同一个代谢酶或排泄途径),这种简单的以峰面积相加,实际上相当于加大了葛根素的给药剂量,从而使得通过计算得到的参数,因峰面积的增加,而表现出一些剂量依赖性的变化,因此这种以不同成分峰面相加的算法不尽合理。实际上,多成分药代参数应是一个拟合的过程,而不是简单相加。如何拟合,应当考虑。

将实验所得和文献报道^[5-11]的葛根黄酮或葛根素在不同动物体内的分布($t_{1/2\alpha}$)和消除相半衰期($t_{1/2\beta}$)参数汇集如表3。发现无论葛根黄酮还是葛根素,其体内动力学过程有共同点,如分布相和消除相半衰期均较短, $t_{1/2\alpha}$ 在30min左右, $t_{1/2\beta}$ 在

表3 葛根素在不同种属动物体内的部分药代动力学参数

动物	剂量 mg/kg	给药途径	分析方法	时间(min)		$t_{1/2\alpha}/t_{1/2\beta}$
				$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	
家兔	30	灌胃	TLC - UVDM	5.7	27.5	0.207
家兔	30	灌胃	HPLC - 荧光	20	62	0.323
家兔	4.5	静脉注射	HPLC - 荧光	18	109	0.165
家兔	9	静脉注射	HPLC - 荧光	21	102	0.206
家兔	5.2	静脉注射	HPLC - 紫外	10.28	148.1	0.069
家兔	10 ^a	静脉注射	HPLC - 紫外	5.25	36.04	0.146
家兔	150 ^b	灌胃	HPLC - 紫外	13.62	78.03	0.175
家兔	200 ^b	灌胃	HPLC - 紫外	10.44	78.6	0.133
大鼠	9	静脉注射	HPLC - 荧光	0.8	11	0.073
大鼠	150	灌胃	HPLC - 荧光	3.0	18.0	0.167
大鼠	5 ^c	静脉注射	HPLC - 紫外	17.85		
小鼠	5 ^c	静脉注射	HPLC - 荧光	11.04	23.13	0.477
狗	9	静脉注射	HPLC - 荧光	7.6	67	0.113
狗	30	灌胃	HPLC - 荧光	8	71	0.113
狗	4.5	静脉注射	HPLC - 荧光	7	65	0.108
狗	2.25	静脉注射	HPLC - 荧光	6	57.3	0.105
人	5	静脉注射	HPLC - 荧光	10.3	74	0.139

注:除标注外,其余均为葛根素药量。a - 含葛根的小儿热感宁注射剂^[7]。b - 葛根提取物^[8]。c - 含葛根黄酮的CBN注射剂,在大鼠体内呈一室模型分布^[9]。

30min~2h左右,属于分布和消除均较快的药物。体内半衰期的变化无明显的剂量依赖性,将 $t_{1/2\alpha}/t_{1/2\beta}$ 做比值,可以发现,其比值均小于0.5。将灌胃与静脉注射的参数做 $t_{1/2\alpha}$ 与 $t_{1/2\beta}$ 做相关性分析(图4),可见葛根素及其在葛根黄酮和其它中药复方中的 $t_{1/2\alpha}$ 与 $t_{1/2\beta}$ 半衰期趋势基本相同($r_{口服}=0.6311$, $r_{静脉注射}=0.5534$)。

二、复方中葛根素与葛根黄酮体内动力学变化

葛根黄酮在复方中,其葛根素的体内动力学行为与单独给药时是否相同,其变化特征是否能代表葛根黄酮的体内动力学行为。作者以自主研发的脑血管药CBN注射剂为例,对其中葛根素及葛根黄酮的动力学进行了考察^[12-13]。葛根黄酮以荧光分光光度法测定,葛根素以HPLC-紫外法测定。CBN主要由葛根黄酮、三七皂甙等有效部位组成,其中葛根素占5%,是CBN的有效成分,也是质控指标之一。

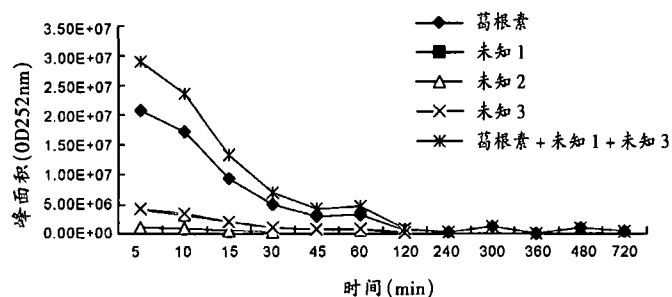


图3 同一色谱条件下4个峰面积的面积积分经时曲线

正常和缺血再灌状态下葛根黄酮均呈二室模型分布见图5。正常状态下CBN中葛根素呈一室模型分布,缺血再灌状态下CBN中葛根素呈二室模型分布见图6。葛根素与葛根黄酮的动力学趋势基本相同,只是葛根黄酮的 $t_{1/2\beta}$ 明显长于葛根素,这可能与所

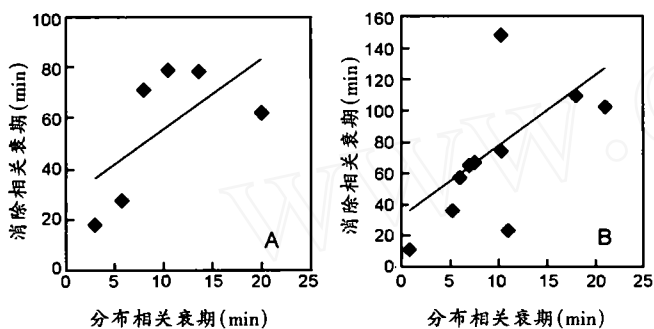


图4 灌胃(A)和静脉注射(B)葛根素、葛根黄酮

以及含葛根素复方后体内分布和消除半衰期相关图

线性方程及相关系数分别为: $y = 2.7524x + 27.982$, $r = 0.6311$ (A)。 $y = 4.4922x + 32.472$, $r = 0.5534$ (B)

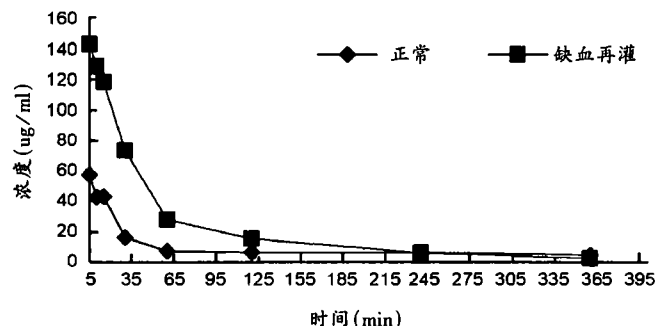


图5 静脉注射CBN(100mg/kg)后正常及缺血再灌状态下小鼠体内葛根黄酮的血药浓度经时变化

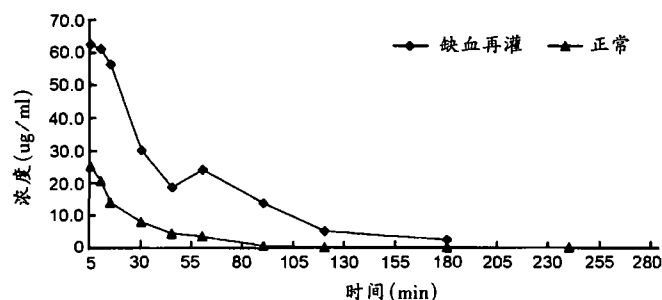


图6 静脉注射CBN(100mg/kg)后正常及缺血再灌状态下大鼠体内葛根素的血药浓度经时变化

用的测试方法不同有关。另外这种动力学过程与单独给葛根黄酮时葛根素的体内分布特点一致。所不同的是CBN中正常和缺血再灌状态下葛根素血浆浓度的差异较单独给葛根黄酮时葛根素血浆浓度的差异明显加大,这一点可以从两者的AUC得到印证。给葛根黄酮时正常和缺血再灌状态下血浆葛根素AUC分别为 (18.24 ± 4.21) 和 (17.24 ± 3.65) mg/ml·min, 两者没有明显差异。给CBN时正常和缺血再灌状态下血浆葛根素AUC分别为 744.32 ± 67.94 和 3015.0 ± 244.0 ($\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{min}$), 两者差异非常显著($P < 0.01$)。表明葛根黄酮中葛根素单独及在复方中使用,其体内动力学不完全相同。

静脉给CBN后,在不同时间点血样稳定出现4个峰,并有消长变化。我们对其进行全波长扫描,

表4 CBN给药后小鼠体内葛根黄酮药动学参数($\bar{x} \pm s$)

参数	正常	缺血再灌
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.184 ± 0.023	$0.425 \pm 0.05^{**}$
$t_{1/2\beta}$ (h)	38.57 ± 16.06	39.09 ± 19.25
AUC($\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{h}$)	169.57 ± 13.82	$225.87 \pm 11.29^{**}$
MRT (h)	10.04 ± 0.38	$5.55 \pm 0.18^{**}$

与正常组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。 $n = 5$

表5 CBN给药后大鼠体内葛根素的药代参数($\bar{x} \pm s$)

参数	正常	缺血再灌
$t_{1/2\alpha}$ (h)	17.85 ± 0.55	$7.74 \pm 2.29^{**}$
$t_{1/2\beta}$ (h)		38.42 ± 5.35
AUC($\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{h}$)	744.32 ± 67.94	$3015 \pm 244^{**}$
MRT(h)	25.99 ± 3.10	$40.00 \pm 2.95^{**}$

与正常组相比, ** $P < 0.01$ 。 $n = 5$

可以看出峰1和3代表的未知物与葛根素表现出相同的光谱。对4个峰的峰面积积分,并与葛根素的峰面积(均值)作相关性检验,结果见图7。

将图7各未定性峰面积经时变化与葛根素峰面积变化做相关性分析,分别得 $r_{\text{pur-un1}} = 0.9957$, $r_{\text{pur-un2}} = 0.7815$, $r_{\text{pur-un3}} = 0.999$, 相关性程度与葛根素、未知物1、未知物3的光谱图吻合。将相关性较大的葛根素、未知物1和未知物3的峰面积相加,以葛根素的工作曲线 $S = -12119.4 + 73815.8 C$, 计算浓

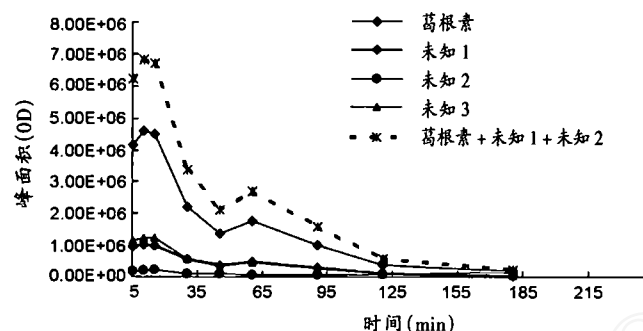


图7 同一色谱条件下4个峰面积的面积积分经时曲线

表6 葛根素与葛根素加未知成分的药动学参数
(根据峰面积计算) ($\bar{x} \pm s$)

参数	葛根素	葛根素 + 未知 1 + 未知 3
$t_{1/2\alpha}$ min	7.74 ± 2.29	5.90
$t_{1/2\beta}$ min	38.42 ± 5.35	34.34
AUC($\mu\text{g}/\text{ml}$). min	3015 ± 244	5599 ± 943
MRT (min)	43.9 ± 2.95	$49.27 \pm 2.87^*$

与葛根素 MRT 相比, * $p < 0.05$ 。n = 5

度,并代入 3P87 软件求药动参数,结果见表 6。

三、讨论

文献报道多以葛根素作为标示成分来反映葛根或葛根黄酮的体内动力学过程。本文结果显示,葛根素与葛根黄酮的体内动力学过程不完全相同,提示葛根素并不能完全反映葛根黄酮的药代特征。但在一定程度上葛根素与葛根黄酮有所趋同。从两者的分布相和消除相半衰期可看出葛根黄酮或葛根素在体内代谢均较快,不易蓄积。

利用液相测试中出现固定消长规律的未定性峰,并将未知峰面积简单相加后所得的药代参数与葛根素药代参数更接近,由于其不是一个成分的结果,所以从其代表总成分来说也更接近。本文将各峰面积简单相加,再拟合药代参数,其结果与葛根素不完全相同,表明这种简单相加的算法不能满足计算需要。本试验测得葛根总黄酮与葛根素的动力学参数差异明显,这反映测试仪器和所表达的量的差异,但也表明葛根黄酮中多种成分相互影响,使所得结果与葛根素不尽相同。提示葛根素虽然可以

作为“marker”反映系列同系物的代谢情况,但不能完全取代或反映总黄酮的体内过程。

病理状态下葛根素在一定程度上仍能反映葛根黄酮的药代特征。在 CBN 用于正常动物时,葛根素的代谢过程与单独给葛根黄酮在 $t_{1/2}$ 和 MRT 变化不大,提示在正常状态下 CBN 中其它成分对葛根素影响较小。病理状态下,CBN 中葛根素的血药浓度明显有别于正常状态下葛根素的动力学变化,这种差异超过了单独使用葛根黄酮时的差异,提示在病理状态下 CBN 中其它成分对葛根素的药代过程影响明显。

参考文献

- 杜力军, 邢东明, 刘美凤等. 脑血管药 CBN 注射剂药代动力学研究. 世界科学技术—中医药现代化, 2003, 5(1): 48 ~ 52.
- 炎彬, 孙虹, 何希辉等. 葛根黄酮及葛根素在正常和脑缺血再灌大鼠体内药动学比较. 中国药理学杂志, 2004, 39(3): 208 ~ 211.
- 陈士林, 陈四保, 杨大坚等. 葛根高效液相指纹图谱的研究. 中草药, 2003, 34(7): 661 ~ 3.
- 金文珊, 谈钰元, 陈有根等. 高效液相质谱法测定不同产地葛根中葛根素、大豆苷及大豆苷元的含量. 中国中药杂志, 2003, 28(1): 49 ~ 51.
- 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. 中药药理与临床, 1997, 13(2): 19 ~ 24.
- 张志荣, 游学均, 魏振平等. 愈风宁心胶囊在兔体内的药动学和生物利用度研究. 中国药理学杂志, 1999, 32(4): 224 ~ 6.
- 黄雪梅, 路玫, 潘洪平等. 小儿热感宁注射液在兔体内的药代动力学研究. 中国药房, 2001, 12(10): 584 ~ 5.
- 金昔陆. 葛根素在大鼠、家兔、犬中的药代动力学. 中国药理学报, 1992, 13(3): 284 ~ 6.
- 卢弘, 邢东明, 孙虹等. 金森脑泰注射剂中葛根素在正常和缺血再灌模型大鼠体内的药代动力学研究. 中国药理学杂志, 2002, 37(1): 41 ~ 44.
- 李敏, 卢弘, 杜力军等. 中药有效部位复方 CBN 药代动力学研究. 中药药理与临床, 1999, 15(4): 38 ~ 41.
- 金昔陆, 朱秀媛, 程桂芳等. 葛根素在健康志愿者药代动力学. 中国临床药理学杂志, 1991, 7(2): 115 ~ 7.
- 卢弘, 邢东明, 孙虹等. CBN 中葛根素、人参皂苷 Rg1 在正常和脑缺血再灌大鼠体内药代动力学比较. 哈尔滨商业大学学报, 2001, 17(2), 4 ~ 7.
- 卢弘, 邢东明, 孙立红等. CBN 中葛根素、人参皂苷 Rg1 的 HPLC 测定法及其在脑缺血再灌大鼠体内的药代动力学. 中国药理学通报, 2001, 17(5), 591 ~ 2.

(责任编辑: 刘维杰)

(*Shanghai Centre for Intellectual Property Right Study of Traditional Chinese Medicine
and Materia Medica, Shanghai 211203*)

The development of society and the progress of technology urgently demand the implementation of the system of through management in the activities of scientific research. Since most of the research projects of technology development in the industry of Chinese medicines and medicinal materials are related to application, the system of through management of intellectual property right should be even further implemented in this area. This system mainly includes the management and systems in the retrieval of information concerning patent technologies, the report of feasibility analysis of intellectual property right, the scheme of technical secrecy, and the share of intellectual property right in the activities of entrustment or joint scientific research.

Key Words: traditional Chinese medicine and materia medica, management of scientific research, through management of intellectual property right

A Brief Analysis of Industry of Traditional Chinese Medicine in Tianjin

Shang Hongcai and Zhang Boli

(*Tianjin Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193*)

Zhao Haishan, Jin Shuanglong, Duan Zhiqiang and Li Baochun

(*Science and Technology Commission of Tianjin Municipality, Tianjin 300041*)

The modernization of traditional Chinese medicine is a historical progress and an arduous and complex system engineering as well. The medicinal industry plays a decisive role in the development of regional economy in Tianjin since its total annual output value is at the fourth place in the economic development of this municipality. This article discusses the position of TCM industry of Tianjin in the whole country of China, its existing problems and the ideas and counter-measures for it, and suggests that its regional superiority should be clearly understood and be stressed and the priorities of its development be accurately chosen in order to make scientific and sufficient use of its advantageous resources to serve the economic construction and to promote leaping development of medicinal industry of this region.

Key Words: modernization of traditional Chinese medicine, TCM industry

Exploration of Relationship between in vivo Dynamics of Puerarin and Flavone of Root of Kudzu Vine – and a Discussion on Study Method of Pharmacokinetics of Chinese Medicines

Du Lijun, Xing Dongming, Yan Bin, Lu Hong, Zhao Yunan, Xie Weidong, Lei Fan and Tao Jialin

(*Laboratory of Medicine and Pharmacology, Department of Biological Science and Technology,*

Tsinghua University, Beijing 100084)

The pharmacokinetics of Chinese medicines requires that the *in vivo* dynamics process of the complex system of multi – components of Chinese medicines should be comprehensively characterized by analytical methods. It is the key to study to what extent one component or some more can represent or characterize the process of *in vivo* dynamics of the total components. This article gives a rather deep exploration of this subject on the basis of the authors' study, in combination with related literatures and taking the *in vivo* dynamics of puerarin and the flavone of the root of kudzu vine as an example. The result shows that the process of the *in vivo* dynamics of puerarin is quite similar to that of the flavone of the root of kudzu vine and therefore, the former is able to characterize the latter. And the characteristics of *in vivo* dynamics of non – definite components of the latter's like are greatly interrelated and can characterize the latter's pharmacokinetics as well.

Key Words: puerarin, flavone of the root of kudzu vine, pharmacokinetics

Sequential Analysis of Double Indexes of Common and Variant Peak Ratios in Ultraviolet Fingerprint of *Paeonia Suffruticosa* Andr. Root Bark

Yuan Jiurong and Yue Chunhua

(School of Materia Medica, Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan 250014)

Zou Huabin

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100)

Wang Aiwu

(Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021)

Objective: To analyze the ultraviolet fingerprint of the root bark of *Paeonia Suffruticosa* Andr. and other medicinal crops of its kind by the method of sequential analysis of the double indexes of common and variant peak ratios in ultraviolet fingerprint. **Method:** In this article three solvents—Chloroform, absolute ethel alcohol and water are introduced to systematically extract the components of the root bark of *Paeonia Suffruticosa* Andr. and other medicinal plants of its kind in different polar zones, examine their ultraviolet fingerprints and study the differences of the samples. **Result:** This method is able to accurately identify the root bark of *Paeonia Suffruticosa* Andr. and other medicinal plants of its kind in detail. **Conclusion:** Tow or several samples can be reliably identified by the method of sequential analysis of the double indexes of common and variat peak ratios.

Key Words: ultraviolet fingerprint, method of double indexes, ratio of common peak, ratio of variant peak, sequential analysis

[World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 83