

# 天麻素在生物样品中的测定及其药物动力学

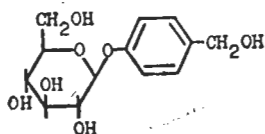
刘克辛、韩国柱、张雅伦、苏成业 (大连医学院药理教研室, 大连 116023)

唐南原、陈玉仁 (大连市医药科学研究所, 大连 116000)

**提要** 用 HPLC 分离及测定生物样品中 Gas 及其代谢产物 HBA。兔、大鼠、狗 iv Gas 后的药-时曲线均属二室开放模型。Gas 在动物体内消除颇快, 在组织中分布不广。兔十二指肠给药及大鼠 ig Gas 的生物利用度分别为 2.9% 和 79.4%。Gas 在兔体内可少量转化为 HBA。Gas 在这 3 种动物体内的药物动力学存在着明显的种特异性。

**关键词** 天麻素; 药物动力学; 高压液相色谱法; 生物利用度; 种特异性

天麻素(gastrodin, Gas)系自天麻(*Gastrodia elata* Blume)中提取的主要有效成分, 化学结构为对羟甲基苯-β-D-吡喃葡萄糖甙(*p*-hydroxymethylphenyl-β-D-glucopyranoside)。国内已能合成并制成片剂和针剂供临床使用<sup>(1)</sup>。Gas 具有镇静、抗惊厥、抗癫痫等药理作用<sup>(2-4)</sup>, 其甙元对羟基苯甲醇(*p*-hydroxybenzyl alcohol, HBA)也具有同样的药理活性<sup>(5)</sup>。临床上 Gas 主要用于治疗神经衰弱和血管神经性头痛等。为了探讨 Gas 在体内的代谢, 使其更合理地应用于临床, 我们建立了用高压液相色谱(HPLC)分离并测定生物样品中 Gas 及 HBA 的方法, 研究了 Gas 在动物体内的药物动力学。



Gastrodin  
(*p*-hydroxymethylphenyl-β-D-glucopyranoside)

## 材 料

Gas 及 HBA 标准品分别由昆明制药厂和

中国科学院昆明植物研究所提供, mp 分别为 154-6°C 和 112-5°C; Gas 的纯度为 98.66%, HBA 经薄层层析显示一个斑点, 经 HPLC 显示单峰。甲醇、乙醇以及内标物间苯三酚均属 AR。

大鼠, ♂, 体重 177 ± SD 9 g; 兔, ♀ ♂ 兼用, 体重 2.63 ± 0.28 kg; 狗, ♂, 体重 17.7 ± 2.4 kg。

实验采用日本分光厂产 Twinkle 高压液相色谱仪, 固定相为 YWG-CH 色谱柱, 5 × 200 mm, 由大连化物所制造。流动相为甲醇-水(2.5:97.5), 流速 1.5 ml/min, 柱前压约 11.8 MPa(120 kg/cm<sup>2</sup>), 采用日本产 UVIDEC-100-Ⅲ型检测器, 检测波长 221 nm。色谱数据由日本岛津 C-RIB 色谱数据处理机处理并打印。实验所得血浆药物浓度-时间数据在 IBM-PC 计算机上采用 MULTI 程序按 damping Gauss-Newton 法做非线性最小二乘法拟合, 初值由残差法确定, 自动计算出有关药物动力学参数。

## 方法与结果

### Gas 及 HBA 在生物样品中的分离与测定

1. 纯品标准曲线及线性关系 用无水乙醇分别制备 0.02% 的 Gas 及 HBA 标准液和 0.01% 的间苯三酚内标液。分别吸取不同量的标准液, 各加 0.5 ml 内标液, 用无水乙醇定容至 2.0 ml。吸取 10 μl 进样, 测定 Gas 及 HBA 对内标物的峰高比。结果表明, Gas 及 HBA 在 10-320 μg/ml 时峰高比(Y)与浓度(X)之间有良好的线性关系, 其相关系数(r)为 0.9990(Gas)和 0.9998(HBA), 其回归方程式

为  $Y = 0.017 + 3.169 X$  (Gas) 和  $Y = 0.010 + 3.193 X$  (HBA)。

2. 样品制备及其标准曲线、回收率 取大鼠血浆、胆汁和用无水乙醇制备的肝匀浆(1:5)、粪匀浆(1:20)及尿稀释液(1:20)各 0.5 ml, 分别加入 0.5 ml 内标液及不同量的 Gas 及 HBA 标准液, 加无水乙醇至 2.0 ml, 于旋涡混合器(XW-80 型, 上海第一医学院仪器厂)上混匀, 离心(1800×g, 10 min), 弃去蛋白沉淀, 取上清液进样 10 μl, 同上测定。绘制诸样品标准曲线, 计算回收率及相关系数(表 1)。

Tab 1. Recovery rates of gastrodin (Gas) and *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) in tissues.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm SD$

	Gas (%)	HBA (%)
Plasma	97 ± 5	94 ± 5
Liver	95 ± 5	100 ± 6
Urine	102 ± 3	94 ± 5
Bile	129 ± 17	118 ± 9
Faeces	105 ± 6	100 ± 8

3. 精密度实验 取含 Gas 及 HBA 各 160 μg/ml 兔血浆样品, 一日内重复测定 6 次, 得日内精密度, Gas 及 HBA 含量值的变异系数分别为 2.94% 和 3.08%; 同一样品每天测定一次, 共 6 d, 得日间精密度, Gas 及 HBA 含量值的变异系数分别为 4.97% 和 4.67%, 说明本测定方法精密度较高。

4. 方法特异性 兔 iv Gas 100 mg/kg 后抽血制备血浆测定, 结果见图 1。内标物、Gas 及 HBA 的保留时间分别为 5.5、7.5 和 10.2 min, 与其标准品一致, 三者之间不但可以达到基线分离, 而且不受血浆成分干扰。大鼠 iv Gas 200 mg/kg 后分别制备胆汁、肝匀浆和粪、尿样品进行测定, 除 HBA 未被测出外, 内标物及 Gas 的保留时间及分离图谱与血浆基本一致, 且均不受生物样品成分干扰。

### Gas 在动物体内的药物动力学

1. Gas iv 后自血浆的消失 兔 10 只分为 2 组, 1 组 6 只, 另 1 组 4 只, 分别耳缘 iv

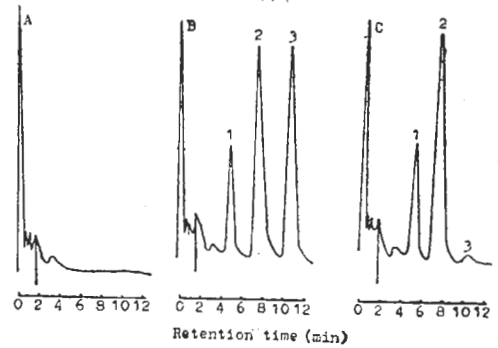


Fig 1. Chromatograms from plasma blank (A), containing 1 μg of gastrodin (Gas) and *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) (B), and plasma sample after iv Gas (C). 1: internal standard, 2: Gas; 3: HBA.

Gas 100 和 200 mg/kg, 不同时间后由股动脉取血。大鼠 57 只分 2 组, 1 组 24 只, 另 1 组 33 只。分别尾 iv Gas 100 及 200 mg/kg, 不同时间后断头取血。狗 3 只, 下肢 iv Gas 50 mg/kg 后不同时间由对侧静脉取血。取血时动物均不麻醉。血样用肝素抗凝, 制备血浆样品并测定 Gas 及 HBA 含量。绘制平均药-时曲线(图 2)。

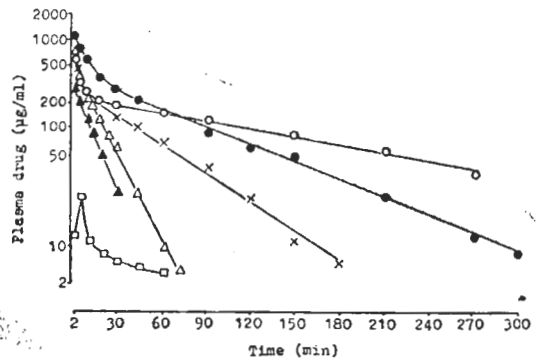


Fig 2. Plasma gastrodin (Gas) levels after iv Gas in dog (50 mg/kg, ○), rabbit (200 mg/kg, ●), rabbit (100 mg/kg, ×), rat (200 mg/kg, ▲), rat (100 mg/kg, △) and plasma *p*-hydroxybenzyl alcohol levels in rabbit after iv Gas of 100 mg/kg (□).

兔、大鼠和狗的血药浓度初期下降很快, 后期较缓慢, 分别于 30、10 和 20 min 处有一

Tab 2. Pharmacokinetic parameters after iv gastrodin.

	Dose (mg/kg)	n	Rate constants (min × 10 <sup>3</sup> )			Half-lives (min)		AUC <sub>∞</sub> (mg·ml <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	V <sub>1</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> )	V <sub>2</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> )	V <sub>d</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> )	Cl <sub>r</sub> (ml·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> )	
			K <sub>12</sub>	K <sub>21</sub>	K <sub>10</sub>	t <sub>1/2α</sub>	t <sub>1/2β</sub>						
Rabbit	100	6	$\bar{x}$	140	130	63	2.9	29	14.4	120	130	250	7.1
			SD	100	60	22	2.0	6	2.3	30	30	30	1.1
	200	4	$\bar{x}$	180	90	60	4	41	33	140	180	310	6.5
			SD	200	40	40	4	11	11	70	60	27	1.6
Rat	100	3	$\bar{x}$	90	180	115	5	10	3.4	260	130	315	30
			SD	150	220	14	5	4	0.7	50	140	18	6
	200	3	$\bar{x}$	400	500	155	1.1	11	9.0	145	150	300	22.4
			SD	301	500	22	0.7	3	0.8	14	40	40	1.9
Dog	50	3	$\bar{x}$	350	150	34	1.6	77	34	52	110	162	1.6
			SD	240	50	16	0.7	24	13	14	18	21	0.6

转折, 表明 Gas 在这 3 种动物血浆中的药物动力学均符合二室开放模型。其药物动力学参数见表 2。

iv Gas 后这 3 种动物的分布相  $t_{1/2}$  和消除相  $t_{1/2}$  分别小于或等于 5.0 及 77 min, 说明该药由中央室向外周室的分布甚快, 消除亦颇为迅速, 表观分布容积值提示 Gas 在这 3 种动物体内的分布不广。

图 2 还表明, 兔 iv Gas 100 mg/kg 后 2 min 即可从血浆中检出 HBA, 5 min 达高峰, 而后迅速衰减。其浓度很低, 大约相当于 Gas 的 1/30, 在大鼠及狗血浆中未能检出 HBA。

2. Gas 胃肠道给药后自血浆的消失 兔 6 只均分 2 组, 禁食 48 h 后分别 ig 及十二指肠注入 Gas 200 mg/kg。十二指肠给药系在乙醚浅麻醉下剖腹找到十二指肠, 待兔清醒后再行注药; 大鼠 51 只均分 3 组, 每组 ig Gas 200 mg/kg, 于给药后不同时间断头取血, 测定血

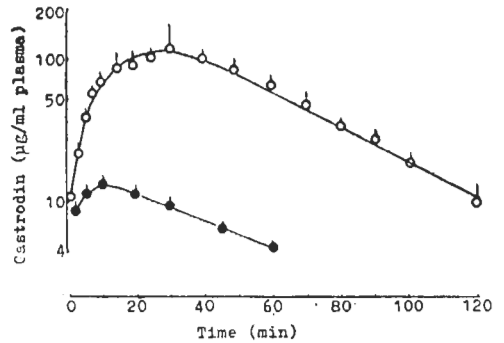


Fig 3. Gastrodin concentration in plasma after gastrodin 200 mg/kg given into stomach of 3 rats (○) and into duodenum of 4 rabbits (●).  $\bar{x} \pm SD$ .

浆药物浓度。结果表明, 兔 ig 后各血浆样品均未检出 Gas 及 HBA, 但十二指肠给药后可测到原形药, 其生物利用度为 2.9%; 大鼠 ig 后 2 min 即能从血浆中测得 Gas, 其生物利用度为 79.4%, 滞差时间为 0.045 min (图 3), 这说明 Gas 自兔胃肠道吸收很差, 而在大鼠胃肠道吸

Tab 3. Pharmacokinetic parameters of gastrodin in rabbits and rats after intraduodenal and ig administrations.

	Dose Route (mg/kg)	n	Rate constants (min × 10 <sup>3</sup> )		Half-lives (min)		AUC <sub>∞</sub> (mg·ml <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	F (ml·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> ) (%)	t <sub>max</sub> (min)	C <sub>max</sub> (µg/ml)	V <sub>d</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> )	Cl <sub>s</sub> (ml·min <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> )	T <sub>0</sub> (min × 10 <sup>3</sup> )	
			K <sub>a</sub>	K <sub>e</sub>	t <sub>1/2α</sub>	t <sub>1/2β</sub>								
Rabbit	Via duode-num	200	$\bar{x}$	500	20.9	1.8	37	0.82	2.90	5.2	14.5	370	7.2	57
			SD	300	0.7	0.8	16	0.16	0.18	1.5	2.2	110	0.9	14
Rat	ig	200	$\bar{x}$	51	44	16.0	15.9	7.1	79.1	26.0	157	510	24.4	45
			SD	5	7	2.9	2.6	0.6	2.7	2.8	29	70	1.9	21

收较快且较完全。兔十二指肠给药及大鼠 ig Gas 后的药物动力学参数见表 3。

## 讨 论

本文建立了用高压液相色谱同时分离及测定生物样品中 Gas 及其代谢产物 HBA 的方法。该法操作简便、迅速、且线性关系较好，回收率、精密性及特异性均较高；但在胆汁中 Gas 及 HBA 的回收率分别为 129% 和 118%，推测这可能是胆汁中的某种成分一方面抑制了内标物的 uv 吸收，使其响应值减小，另一方面又增强了 Gas 及 HBA 的 uv 吸收，使其响应值增大，故峰高比加大，因而使回收率增高。因实验中发现，在胆汁样品中内标物的峰高值下降而 Gas 及 HBA 的峰高值增加，但在空白胆汁样品测定时，相应于 Gas 及 HBA 保留时间处未见任何干扰物存在。

研究表明，3 种动物 iv Gas 后  $t_{1/2\alpha}$  和  $t_{1/2\beta}$  分别小于或等于 5 和 77 min，这说明该药自中央室向周边室的分布相当迅速，消除也颇快。这些实验结果与文献报道<sup>(6)</sup>相似。提示 Gas 在体内不易蓄积，因此在临床用药时为 保证有效的治疗浓度，应反复给药，并适当缩短给药间隔。

Gas 在兔、大鼠和狗血浆中的药物动力学明显不同，大鼠 ig 200 mg/kg 后的生物利用度

较高，但同样剂量给家兔 ig 后血浆中测不到原形药，十二指肠给药虽能测到原形药，但生物利用度很低。此外，Gas 在 3 种动物中的血浆  $t_{1/2}$  及清除率等参数均有很大差别 ( $p < 0.01$ )，这些都表明 Gas 的药物动力学存在着明显的种特异性。

兔 iv Gas 后血浆中能测到其代谢产物 HBA，但浓度很低。

**致谢** 此工作得到本教研室孙卉、刘玉华、周琴等同志的大力协助。

## 参 考 文 献

- 1 周俊、杨雁宾、杨崇仁。天麻的化学研究 II。天麻苷及其类似物的合成。化学学报 1980; 38: 162
- 2 周俊、杨雁宾、杨崇仁。天麻的化学研究 I。天麻化学成分的分 离和鉴定。同上 1979; 37: 183
- 3 柴志康、张雪明、黄念铎。天麻素注射液治疗脑外伤综合征 66 例报告。新药与临床 1985; 4: 72
- 4 柴慧霞、曾怀德、谢扬高、徐建国、陈启贤。合成天麻素对抗马桑内脂所致家兔癫痫的初步观察。四川医学院学报 1983; 14: 288
- 5 钟裕国、庞其捷、张恒渝，等。天麻甙元同系物的合成及中枢镇静抗惊活性。药学通报 1984; 19: 314
- 6 陆光伟、黄坚。剂量对  $^3\text{H}$ -天麻素体内过程的影响。中成药研究 1984; (3): 4

*Acta Pharmacologica Sinica* 1987 Sep, 8 (5): 409-413

## Determination of gastrodin in biological specimens and its pharmacokinetics

LIU Ke-Xin, HAN Guo-Zhu, ZHANG Ya-Lun, SU Cheng-Ye (Department of Pharmacology, Dalian Medical College, Dalian 116023) TANG Nan-Yuan, CHEN Yu-Ren (Dalian Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Dalian 116000)

**ABSTRACT** A reverse-phase high pressure liquid chromatographic method for the simul-

taneous determination of gastrodin (Gas) and its metabolite, *p*-hydroxybenzyl alcohol

(HBA), in biological specimens was developed. This method was simple, rapid, highly specific and precise. The plasma concentration-time curve of Gas iv in rabbits, rats and dogs was described by the two-compartment open model. The distribution and elimination of Gas was very rapid in animals mentioned above. The biological availability was 79.4% after ig Gas 200 mg/kg to rats, but Gas could not be determined in the plasma of rabbits given at the same

dose. However, Gas was assayed in plasma of rabbits after intraduodenal administration, with a biological availability of 2.90%. There was a distinct species specificity in the pharmacokinetic characteristics of Gas among these three species of animals.

**KEY WORDS** gastrodin; pharmacokinetics; high pressure liquid chromatography; biological availability; species specificity

\* \* \* \* \*