

蒿甲醚治疗时, 除原药外, 其代谢物可能在杀虫过程中起重要作用, 值得研究.

REFERENCES

1 Li Y, Yu PL, Chen YX, Li LQ, Gai YZ, Wang DS, *et al.* Synthesis of some derivatives of artemisinin. *Kexue Tongbao* 1979; 24 : 667-9.

2 Gu HM, Liu MZ, Lu BF, Xu JY, Chen LJ, Wang MY, *et al.* Antimalarial effect and toxicity of methyl-dihydroartemisinin in animals. *Acta Pharmacol Sin* 1981; 2 : 138-44.

3 Xiao SH, Catto BA. *In vitro* and *in vivo* studies on the effect of artemether on *Schistosoma mansoni*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33 : 1557-62.

4 Le WJ, You JQ, Yang YQ, Mei JY, Gou HF, Yang HZ, *et al.* Studies on the efficacy of artemether in experimental schistosomiasis. *Acta Pharm Sin* 1982; 17 : 187-93.

5 Wu LJ, Yang HZ, Yang YQ. Histological and histochemical changes of *Schistosoma japonicum* and host liver caused by artemether. *Acta Pharm Sin* 1983; 18 : 7-14.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1992 May; 13 (3) : 284-288

284-288

葛根素在大鼠、家兔、犬中的药物动力学

金普陆<sup>1</sup>, 朱秀媛 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050, 中国) R969.4 R282.710.5

Pharmacokinetics of puerarin in rats, rabbits, and dogs

JIN Xi-Lu<sup>1</sup>, ZHU Xiu-Yuan (Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

ABSTRACT The puerarin was determined by HPLC with fluorescence detection. The plasma concentration-time course of puerarin in rats and dogs after iv was best fitted to a two-compartment open model, while that in rabbits was best fitted to a three-compartment open model. Species specificity was found among rats, rabbits, and dogs, calculated with compartment model program. The  $T_{1/2\beta}$  after iv puerarin  $9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  in rats, rabbits, and dogs were 11, 21, and 67 min, respectively. There were no significant differences in pharmacokinetic parameters after iv  $4.5-30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  to rabbits and dogs.

KEY WORDS puerarin; pharmacokinetics; species specificity; high pressure liquid chromatography

提要 本文用反相高压液相色谱荧光检测法研究了葛根素在大鼠, 家兔、狗体内的药物动力学. 结果表明: 葛根素在大鼠、狗体内的药时过程符合开放二房室模型, 在家兔体内的药时过程符合开放三房室模型. 房室模型程序及统计矩程序计算结果均表明, 葛根素在三种动物中的药物动力学过程存在着种特异性.

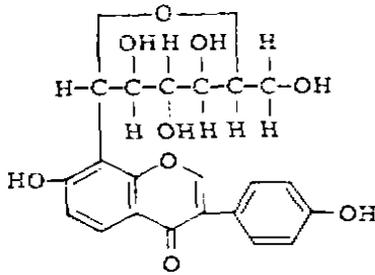
关键词 葛根素; 药物动力学; 种特异性; 高压液相色谱

鼠, 兔, 犬, 野葛

葛根素(puerarin, Pue)是野葛 [*Pueraria lobata* (Willd) Ohwi]根的主要有效成分之一<sup>(1)</sup>. Pue的药理和临床应用已有不少资料<sup>(2-9)</sup>. 本实验室曾用薄层uv分光光度法及薄层荧光分光光度法研究了Pue在大鼠体内的代谢及药物动力学<sup>(10,11)</sup>. 为阐明Pue在大动物中的代谢规律及完善其药物动力学资料, 我们采用高压液相色谱(HPLC)法, 研究了Pue在大鼠、家兔及狗的动物药理学.

Received 1990 Sep 25 Accepted 1992 Jan 4

<sup>1</sup> Now in Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China.



Puerarin (7,4'-dihydroxyisoflavone

8-C- $\beta$ -glucopyranoside).  $C_{21}H_{20}O_9$ .  $M_r = 416$ .

## MATERIALS AND METHODS

Pue 标准品由本所制药厂提供, 程桂芳纯化, 为白色针状结晶, mp 203-5°C, 含量 98% 以上. 大豆甙元 (daidzein, Dai 作内标) 标准品由邵国贤提供. Pue 重结晶品 (本所药厂制) 用生理盐水 (NS) 配成 0.9%, 2% 及用 10% EtOH 和 NS 配成 3.75% 的溶液, 用 NaOH  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  调 pH 6.7-7.0, 分别用于大鼠、家兔和狗的药物动力学实验. MeOH、无水 EtOH、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  均为 AR (北京化工厂), 肝素钠 (郑州畜产品综合加工厂); 实验所用流动相中的水为重蒸馏水; 抗凝及酶抑制剂: NS 配制含 2% 的肝素钠和 2% NaF 溶液, 用于试管的抗凝及抑酶处理.

Wistar 大鼠,  $\delta$ , 体重  $214 \pm s 24 \text{ g}$ ; 家兔, 体重  $4.3 \pm 0.4 \text{ kg}$ , 杂种狗, 体重  $15.4 \pm 2.9 \text{ kg}$ , 均雌雄兼用, 由中国医学科学院动物中心供应.

HPLC 系统: 302 型泵 (Gilson); 5 SC 泵头 (Gilson); 803C 型测压仪 (Gilson); 7125 手动进样阀, 20  $\mu\text{l}$  定量管 (Rheodyne, USA); PU 4024 型荧光检测器 (Philips); REC-482 型记录仪 (Pharmacia Fine Chemicals); JAI, IKVA 交流稳压器 (北京市电子机械厂); 不锈钢色谱分析柱 (4.6 mm ID  $\times$  25 cm), 保护柱 (4.6 mm ID  $\times$  5 cm), 固定相均为

YWG-C16 (10  $\mu\text{m}$ , 天津化学试剂二厂).

### 血药浓度测定方法 (待发表资料)

1 测定条件 流动相为 MeOH: 水: 磷酸缓冲液  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4 (450:522.5:27.5 vol/vol), 减压抽滤脱气, 流速  $0.7 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . 荧光检测器的最大发射波长 ( $E_{\text{max}}$ ) 是 470 nm, Pue 及内标 Dai 的最大激发波长 ( $E_{\text{mmax}}$ ) 是 350 nm. 电压 1 mV. 纸速  $2 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ . Pue 的  $T_r = 3.3 \text{ min}$ , Dai 的  $T_r = 7.5 \text{ min}$ ; Pue 平均回收率为 95.3%, 平均 CV 为 3.7%; Pue 在血浆中的最低检测量是  $10 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ .

2 血浆样品制备 于 1 ml 带塞磨口试管中加入 25  $\mu\text{l}$  Dai 无水 EtOH 标准液 ( $100 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ ),  $\text{N}_2$  吹干, 加入 0.1 ml 血浆样品, 旋涡混合器上振摇混合后, 加入 0.4 ml 无水 EtOH 沉淀蛋白, 并在旋涡混合器上振摇 2 min,  $2000 \times g$  离心 15 min, 上清液进样测定 (20  $\mu\text{l}$  容量管定容).

数据处理 将血药浓度-时间数据在长城 0520C-H 计算机上用 3P87 程序作非线性最小二乘法拟合, 计算药物动力学参数.

## RESULTS

大鼠 iv Pue 的药物动力学 大鼠 86 只, 分 14 组, 每组 5-9 只, 尾 iv Pue 后于不同时间分组断头取血, 制备血浆, 按前述方法测定血浆 Pue 的含量. 大鼠 iv Pue 9, 150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的平均血药浓度-时间拟合曲线符合开放二房室模型 (Fig 1),  $R^2$  值分别为 1.0, 1.0; 由平均血药浓度-时间数据计算所得药物动力学参数见 Tab 1. 结果表明, 大鼠 iv Pue 9, 150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  血药浓度经时变化趋势相似, 符合一级动力学过程; Pue 在大鼠体内分布迅速, 消除很快.

家兔 iv Pue 的药物动力学 实验分 4.5, 9.0, 30.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  三个组, 每组 5 只家兔, 在兔耳 iv Pue 后, 另侧耳缘静脉于不同时间

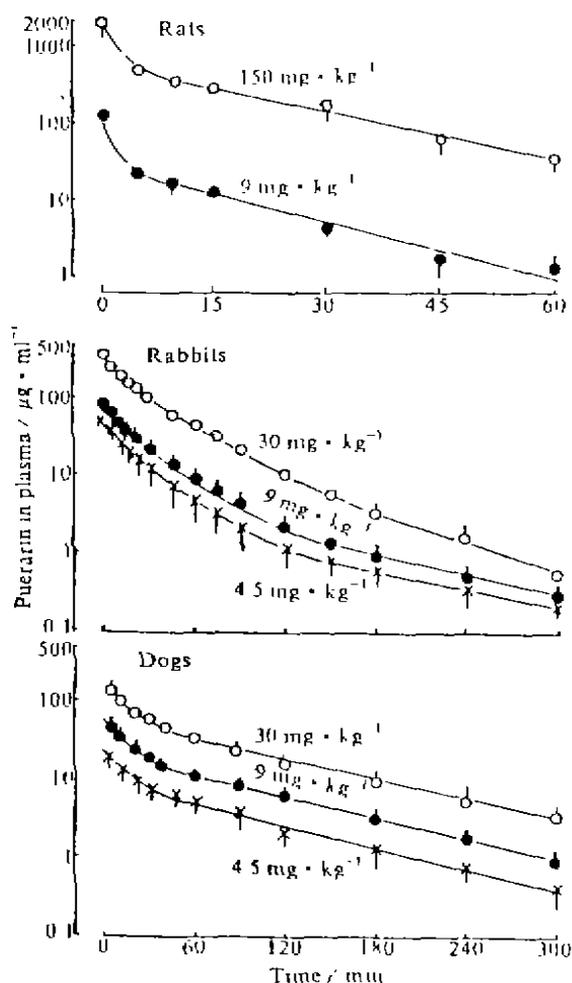


Fig 1. Plasma concentration-time course of iv puerarin.

取血约 0.5 ml, 制备血浆, 测定血浆中 Pue 含量. 各剂量组平均血药浓度-时间拟合曲线符合开放三房室模型(Fig 1),  $R^2$  值均大于 0.9999, 拟合程度好. 药物动力学参数见 Tab 1.

剂量与 AUC 成线性相关 ( $r=0.99$ ,  $P<0.05$ ). 各剂量组的药物动力学参数(除 A, B, AUC)间经  $t$  检验无显著差异 ( $P>0.05$ ). 在 4.5-30.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  间, 家兔 iv Pue 的体内过程为线性一级动力学过程.

**狗 iv Pue 的药物动力学** 实验分 4.5, 9.0, 30.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  三个组, 每组 5 条狗. 在

狗一侧前肢 iv Pue 后, 从对侧前肢静脉于不同时间取血约 0.5 ml, 制备血浆, 测定 Pue 含量. 各剂量组平均血药浓度-时间拟合曲线, 符合开放二房室模型(Fig 1),  $R^2$  值均大于 0.99, 拟合程度好. 药物动力学参数见 Tab 2.

剂量与 AUC, A, B 成线性相关 ( $r$  均  $>0.99$ ,  $P<0.05$ ). 其它各组的药物动力学参数间则无显著差异 ( $P>0.05$ ). 在 4.5-30.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  间, 狗 iv Pue 的体内过程为线性一级动力学过程. Pue 在狗体内分布快, 消除也较快.

DISCUSSION

我们建立的测定血浆 Pue 反相 HPLC 荧光法较本室曾发表的薄层 uv 分光光度法及薄层荧光分光光度法<sup>(10,11)</sup>有较大改进, 具有灵敏度高、特异性强、精密度高、步骤简便、测定时间短及用量少等优点. 实验表明, 大鼠 iv Pue 150.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的药物动力学结果与本室曾发表结果<sup>(10,11)</sup>相当接近. 本实验室用 TLC-uv 扫描法研究家兔 iv Pue 30.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  药物动力学, 因检测灵敏度所限, 只能检测 iv 后 120 min 的血药浓度, 所得结果符合开放二房室模型,  $T_{1/2\alpha} = 5.7 \text{ min}$ ,  $T_{1/2\beta} = 27.5 \text{ min}$ ; 与本文结果比较, 血药浓度较接近, 相对应的药物动力学参数除  $\alpha$ ,  $T_{1/2\alpha}$  外无显著差异 ( $P>0.05$ ). 由此可见检测方法灵敏度, 取样延续时间对结果的影响.

实验表明, Pue 在大鼠, 家兔, 狗种属内的不同剂量间的药物动力学过程均为线性一级动力学过程, 但在三种动物间的药物动力学过程有较大差别. 大鼠, 家兔, 狗 iv Pue 9.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 其  $T_{1/2\beta}$  分别为 11.4, 20.8, 66.6 min; 平均滞留时间(MRT, 用本所计算机房编制的统计矩法计算程序所得)分别为 0.18, 0.76, 1.29 h; 三者有非常显著差异 ( $P<0.01$ ); 动力学参数与体重的异速增大分

**Tab 1. Pharmacokinetic parameters of iv puerarin in rabbits ( $n=5$ ,  $\bar{x}\pm s$ . \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$  vs 4.5 mg · kg<sup>-1</sup>. + $P>0.05$ , ++ $P<0.05$ , +++ $P<0.01$  vs 9.0 mg · kg<sup>-1</sup>) and in rats ( $n=5-9$ ,  $\bar{x}\pm s$ , § $n=6$ ).**

Puerarin / mg · kg <sup>-1</sup>	In rabbits			In rats	
	4.5	9.0	30.0	9.0 <sup>‡</sup>	150.0 <sup>§</sup>
A / mg · L <sup>-1</sup>	38 ± 12	330 ± 621 <sup>*</sup>	190 ± 46 <sup>**+</sup>	80	1 141
B / mg · L <sup>-1</sup>	32 ± 6	53 ± 13 <sup>**</sup>	218 ± 29 <sup>***++</sup>	28	537
C / mg · L <sup>-1</sup>	1.9 ± 0.7	3.5 ± 2.4 <sup>*</sup>	48 ± 69 <sup>++</sup>	—	—
$\alpha$ / min <sup>-1</sup>	0.27 ± 0.13	0.5 ± 0.7 <sup>*</sup>	0.33 ± 0.15 <sup>**+</sup>	0.88	0.60
$\beta$ / min <sup>-1</sup>	0.042 ± 0.017	0.035 ± 0.007 <sup>*</sup>	0.04 ± 0.03 <sup>*-</sup>	0.061	0.047
$\gamma$ / min <sup>-1</sup>	0.008 ± 0.004	0.008 ± 0.003 <sup>*</sup>	0.013 ± 0.005 <sup>**+</sup>	—	—
$V_1$ / L · kg <sup>-1</sup>	0.063 ± 0.007	0.07 ± 0.04 <sup>*</sup>	0.067 ± 0.007 <sup>*-</sup>	0.083	0.089
$T_{1/2\alpha}$ / min	2.9 ± 0.9	3.4 ± 2.2 <sup>*</sup>	2.4 ± 0.9 <sup>*-</sup>	0.8	1.2
$T_{1/2\beta}$ / min	18 ± 5	21 ± 5 <sup>*</sup>	20 ± 8 <sup>**</sup>	11	15
$T_{1/2\gamma}$ / min	109 ± 76	102 ± 62 <sup>*</sup>	62 ± 25 <sup>*-</sup>	—	—
$K_{12}$ / min <sup>-1</sup>	0.09 ± 0.06	0.2 ± 0.4 <sup>*</sup>	0.10 ± 0.05 <sup>**+</sup>	0.47	0.30
$K_{21}$ / min <sup>-1</sup>	0.14 ± 0.04	0.11 ± 0.03 <sup>*</sup>	0.21 ± 0.11 <sup>**+</sup>	0.28	0.22
$K_{13}$ / min <sup>-1</sup>	0.013 ± 0.012	0.019 ± 0.028 <sup>*</sup>	0.010 ± 0.016 <sup>**+</sup>	—	—
$K_{31}$ / min <sup>-1</sup>	0.010 ± 0.006	0.010 ± 0.004 <sup>*</sup>	0.021 ± 0.02 <sup>*-</sup>	—	—
$K_{10}$ / min <sup>-1</sup>	0.07 ± 0.04	0.13 ± 0.19 <sup>*</sup>	0.047 ± 0.006 <sup>**+</sup>	0.19	0.13
AUC / mg · min · L <sup>-1</sup>	1 246 ± 377	2 416 ± 682 <sup>**</sup>	9 805 ± 871 <sup>***++</sup>	559	13 304
Cl / ml · kg <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup>	4.0 ± 1.8	4.0 ± 1.1 <sup>*</sup>	3.1 ± 0.3 <sup>*-</sup>	16.1	11.3

**Tab 2. Pharmacokinetic parameters of iv puerarin in dogs.  $n=5$ ,  $\bar{x}\pm s$ . \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$  vs 4.5 mg · kg<sup>-1</sup>. + $P>0.05$ , ++ $P<0.05$ , +++ $P<0.01$  vs 9.0 mg · kg<sup>-1</sup>.**

Parameters	4.5 mg · kg <sup>-1</sup>	9.0 mg · kg <sup>-1</sup>	30.0 mg · kg <sup>-1</sup>
A / mg · L <sup>-1</sup>	24 ± 9	38 ± 13 <sup>*</sup>	125 ± 45 <sup>***+++</sup>
B / mg · L <sup>-1</sup>	8.3 ± 1.8	19 ± 3 <sup>**</sup>	62 ± 19 <sup>***+++</sup>
$\alpha$ / min <sup>-1</sup>	0.15 ± 0.10	0.10 ± 0.05 <sup>*</sup>	0.10 ± 0.04 <sup>*</sup>
$\beta$ / min <sup>-1</sup>	0.0109 ± 0.0017	0.0105 ± 0.0009 <sup>*</sup>	0.0104 ± 0.0028 <sup>*</sup>
$V_1$ / L · kg <sup>-1</sup>	0.15 ± 0.04	0.16 ± 0.03 <sup>*</sup>	0.17 ± 0.05 <sup>*</sup>
$T_{1/2\alpha}$ / min	7 ± 4	7.6 ± 2.8 <sup>*</sup>	8 ± 4 <sup>*</sup>
$T_{1/2\beta}$ / min	65 ± 11	67 ± 6 <sup>*</sup>	71 ± 21 <sup>*</sup>
$K_{12}$ / min <sup>-1</sup>	0.08 ± 0.07	0.05 ± 0.03 <sup>*</sup>	0.042 ± 0.023 <sup>*</sup>
$K_{21}$ / min <sup>-1</sup>	0.046 ± 0.025	0.044 ± 0.020 <sup>*</sup>	0.041 ± 0.017 <sup>*</sup>
$K_{10}$ / min <sup>-1</sup>	0.035 ± 0.016	0.025 ± 0.005 <sup>*</sup>	0.026 ± 0.010 <sup>*</sup>
AUC / mg · min · L <sup>-1</sup>	970 ± 174	2 305 ± 434 <sup>**</sup>	7 344 ± 947 <sup>***+++</sup>
Cl / ml · kg <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup>	4.8 ± 0.9	4.0 ± 0.1 <sup>*</sup>	4.2 ± 0.5 <sup>*</sup>

析是目前药物动力学种属之间相关性及种属间外推的常用方法<sup>(12)</sup>，其分析结果显示  $T_{1/2\alpha}$ 、 $K_{10}$ 、MRT、 $V_{ss}$  均呈显著线性相关 ( $r$  均  $>0.9980$ ,  $P < 0.05$ )。上述表明 Pue 在三种动物间的药物动力学过程存在着种特异性。动物越小，其对 Pue 的分布越快，对 Pue 的代谢或 / 和排泄机能越强，并预示大动物狗对 Pue 处置的结果将接近于人体对 Pue 处置的结果。我们对人 iv Pue 所得结果 (Pue 在健康志愿者和视网膜脉梗阻病人的药代动力学；待发表资料) 表明，Pue 在人的体内过程也符合开放二房室模型，与在狗的体内过程相似；此实验结果与理论推论相符。

本文表明 Pue 在体内分布广且快，消除也快，不易积蓄，无代谢饱和现象为其特点，此为临床安全合理用药提供了有重要意义的实验依据。

**ACKNOWLEDGMENT** 程桂芳、白金叶、刘大培及张守仁同志在实验过程中给予帮助。

**REFERENCES**

1 Fang CC, Lin M, Sun CM, Liu HM, Lang HY. Studies on flavones of Radix puerariae. *Zhonghua Yixue Zazhi* 1974; 54 : 271-4.  
 2 Fan LL, O'Keefe DD, Powell WJ Jr. Effect of puerarin on regional myocardial blood flow and cardiac hemodynamics in dogs with acute myocardial ischemia. *Acta Pharm Sin* 1984; 19 : 801-7.  
 3 Fan LL, Zhao DH, Zhao MQ, Zeng GY. The antidysrhythmic effect of puerariae isoflavones.

*Acta Pharm Sin* 1985; 20 : 647-51.  
 4 Chai XS, Wang ZX, Chen PP, Wang LY, Lu XR, Kang B. Anti-arrhythmic action of puerarin. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 166-8.  
 5 Li XY, Wang PR, Shao JH, Zhu XL, Zhu JF. The effect of intravenous puerarin on size of experimental AMI in dogs. *Acta Acad Med Shandong* 1984; 22 (3) : 9-17.  
 6 Zhu XL, Wang KP, Liu SJ, Zhang XL, Liu J. The experimental study of puerarin on hemodynamics and physical refractory periods in dogs. *Acta Acad Med Shandong* 1985; 23 (4) : 48-50.  
 7 Shen ZF, Xie MZ. Hypoglycemic effect of the combined use of puerarin and aspirin in mice. *Acta Pharm Sin* 1985; 20 : 863-5.  
 8 Zeng GY, Zhang LY, Zhou YP, Fan LL. Pharmacological studies on Radix puerariae IV. Effects of puerariae flavones on the plasma catecholamine (CA) level in patients with hypertension and angina pectoris. *Zhonghua Yixue Zazhi* 1979; 59 : 479-82.  
 9 Li XY, Wang PR, Shao JH. The effect of intravenous puerarin on AMI. *Chin J Cardiol* 1985; 13 : 175-8.  
 10 Zhu XY, Su CY, Li ZH, Yue TL, Yan XZ, Wei HL. The metabolic fate of the effective components of puerariae III. The metabolism of puerarin. *Acta Pharm Sin* 1979; 14 : 349-55.  
 11 Hsiang CS, Yang YL, Zhang WQ, Zhu XY. The pharmacokinetics of puerarin in rats — studies by a spectrofluorometric method. *Acta Acad Med Sin* 1981; 3 Suppl 1 : 48-51.  
 12 Sawada Y, Hanano M, Sugiyama Y, Iga T. Prediction of the disposition of  $\beta$ -lactam antibiotics in humans from pharmacokinetic parameters in animals. *J Pharmacokinet Biopharm* 1984; 12 : 241-61.

~~~~~  
**Second International Congress on Ethnopharmacology**

1992 Jul 2-4

Uppsala, Sweden

Please contract Swedish Academy of Pharmaceutical Sciences, P O Box 1136, S-11181 Stockholm, Sweden.  
 Phone Int + 46 8 24 50 85, Fax Int + 46 8 20 55 11.