

[³H]石杉碱甲在大鼠及小鼠的药物动力学

王月娥、冯洁、陆维华、唐希灿 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 大鼠 iv 及 ig [³H]石杉碱甲 13.9 MBq/kg 后的药物动力学为开放型二房室模型。ig 的生物利用度是 96.9%。iv 后组织的放射性分布以肾、肝最高, 肺、脾和心次之, 脑内有一定量分布。iv 后主要通过肾脏排泄, 24 h 内尿排出量为剂量的 73.2%。 [³H]石杉碱甲经体内处置后, 部分代谢为水溶性较大的产物排出。

关键词 [³H]石杉碱甲, 胆碱酯酶抑制剂, 药物动力学, 组织分布, 纸层色谱法

石杉碱甲(huperzine A, Hup-A)是从草蛇足石杉(*Huperzia serrata* (Thunb) Trev.)中分到的一个新生物碱⁽¹⁾。本实验室已证明 Hup-A 对乙酰胆碱酯酶具有很强的选择性抑制作用^(2,3), 对大鼠明暗分辨学习与再现过程也有增强作用⁽⁴⁾, Hup-A 的毒性低, 其治疗指数远大于目前临床应用的同类药物。临床使用也已证明 Hup-A 对重症肌无力⁽⁵⁾和脑动脉硬化引起的记忆障碍⁽⁶⁾均有较好的治疗作用。因此, 有必要对 Hup-A 的体内过程进行研究。

材料与方 法

杂种大鼠 6 只, 体重 274±SD 10 g 和小鼠 13 只, 体重 23±1.8 g, ♀♂兼用, 由中科院上海分院实验动物中心提供。

[³H]Hup-A 由中国科学院上海原子核研究所采用氚气曝射方法标记, 制备成盐酸水溶液, 比度为 122 GBq/(mmol·L), 放化纯度大于 95%, 实验时用水稀释, 供 iv 及 ig。

血内 [³H]Hup-A 的提取与分离 大鼠禁食 8 h 后, ip 戊巴比妥钠 20 mg/kg 浅麻(必要时辅以乙醚)后, 在一侧颈动脉插管, 给 Hup-

A 后不同时间, 每次从颈动脉取血 0.2 ml, 加水 0.8 ml, 氨水 2 滴(使 pH>10)及二氯乙烷 5 ml 后, 于旋涡震荡器上混旋 3 min, 离心分离有机相, 其水相再反复提取共 3 次, 合并有机液, 于水浴上蒸干, 其残渣用少量二氯乙烷溶解, 并点样于硅胶层析滤纸上。同一滤纸上点上非放射性 Hup-A 作取样定位。滤纸于氯仿:丙酮:甲醇:氨水=49:49:1:1 展开, 非放射性 Hup-A 用碘化铯钾喷渍显色, 取与非放射性 Hup-A 斑点位的层析滤纸纵 2×横 1 cm² 于含 5 ml 闪烁液的计数杯内, 放置过夜后在 YSJ 液闪仪上测定。正常血浆中加 [³H]Hup-A 9.25 kBq 经溶剂提取及层析后的回收率为 49.3±2.3%。

组织及尿、粪内 [³H]Hup-A 的测定 样品用甲酸与过氧化氢加热消化⁽⁷⁾处理后, 用 10 ml 水性闪烁液溶解, 放置过夜后作液闪测定。

结 果

[³H]Hup-A 的血药-时曲线及动力学特性 大鼠 3 只, 各 iv [³H]Hup-A 13.9 MBq/kg 后 1, 5, 15, 30, 60, 120 及 180 min 从颈动脉取血, 经溶剂提取, 层析分离后, 测得血药-时曲线(图 1); 大鼠 3 只, 各灌服 [³H]Hup-A 13.9 MBq/kg 后 3, 6, 10, 15, 30, 60, 90,

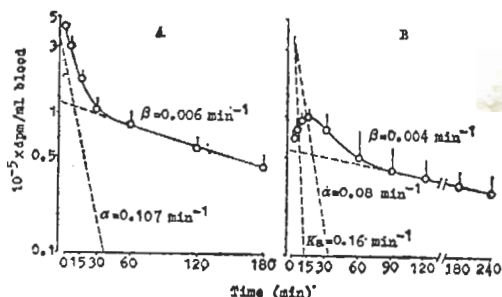


Fig 1. Triexponential decline of [³H]huperzine A in plasma after iv (A) or ig (B) 13.9 MBq/kg. Each curve is the $\bar{x} \pm SD$ of 3 rats.

1986年12月17日收稿 1987年8月31日接受
本工作于1986年3月在中国药理学会首届药物代谢学术会议(广州)宣读

Tab 1. Pharmacokinetic parameters of [³H]huperzine A 13.9 MBq/kg in each group of 3 rats. $\bar{x} \pm SD$

Parameters	iv	ig
$\alpha(\text{min}^{-1})$	0.107 ± 0.016	0.08 ± 0.04
$\beta(\text{min}^{-1})$	0.006 ± 0.003	0.004 ± 0.001
$K_a(\text{min}^{-1})$	—	0.16 ± 0.07
$T_{1/2\alpha}(\text{min})$	6.6 ± 1.1	10 ± 6
$T_{1/2\beta}(\text{min})$	149 ± 96	203 ± 53
$T_{1/2K_a}(\text{min})$	—	5.1 ± 3
$K_{12}(\text{min}^{-1})$	0.047 ± 0.02	0.05 ± 0.03
$K_{21}(\text{min}^{-1})$	0.05 ± 0.04	0.024 ± 0.004
$K_{10}(\text{min}^{-1})$	0.014 ± 0.006	0.013 ± 0.006
$V_c(\text{L/kg})$	1.6 ± 0.9	2.4 ± 0.7
$V_d(\text{L/kg})$	3.6 ± 1.0	7.8 ± 2.3
$Cl_p \text{ L}/(\text{kg} \cdot \text{min})$	0.020 ± 0.006	0.028 ± 0.014
$AUC 10^{-7} \times (\text{dpm} \cdot \text{min})/\text{ml}$	2.6 ± 0.9	1.8 ± 0.8
$T_{max}(\text{min})$	—	21 ± 12
$C_{max}(\text{dpm/ml})$	—	98569 ± 12153

$$F = Cl_{p,ig} \cdot AUC_{ig} / Cl_{p,iv} \cdot AUC_{iv} = 96.9\%$$

120, 180 及 240 min 时分别取血, 经上述同样提取与分离过程后, 测定 ig 给药的血药-时曲线, 见图 1。用最小二乘法计算各鼠药物动力学参数, 各组参数平均后所得结果列于表 1。两种给药途径得到的药-时曲线, 采用清除率校正方法⁽⁸⁾, 计算出 [³H]Hup-A ig 给药的生物利用度约为 96.9%。

组织内放射性分布 小鼠 3 只, 各 iv [³H]Hup-A 9.25 MBq/kg, 15 min, 2, 4 及 12 h 后分别放血处死, 各脏器取样消化后测定放射性, 结果见图 2。给药后 15 min, 以肾、肝含量最高, 其次是肺、脾、肾上腺和心, 脂肪与脑内含量最低; 给药后 2 h, 除脑外其余脏器内放射性量均有明显下降; 给药后 4 h, 各脏器放射性量较 2 h 时下降不明显; 给药后 12 h, 各脏器内仍测得有放射性量; 直至给药后 24 h 时才接近微量。

怀孕 14 d 的孕小鼠 4 只, iv [³H]Hup-A 5.74 MBq/kg, 15 min 后从眼眶静脉丛取血并



Fig 2. Distribution of radioactivity in the tissues after iv [³H]huperzine A 9.25 MBq/kg in 3 mice. $\bar{x} \pm SD$

随即处死小鼠, 取羊水、胎儿及胎盘, 分别测得其放射性量为 396 ± 41 , 65 ± 11 , 202 ± 34 与 374 ± 58 dpm/ $(\mu\text{l} \cdot \text{mg})$ 。结果表明, iv [³H]Hup-A 少量药物可以通过胎盘进入胎儿。

排泄 小鼠 3 只, 各 iv [³H]Hup-A 9.25 MBq/kg 后, 放于代谢笼内, 自由饮水与饮食, 每天分别收集尿与粪, 取样测定其放射性量, 并计算出放射性自尿、粪的排出总量, 结果见图 3。给药 24 h 后, 大部分放射性已从尿排出, 排泄量为剂量的 $73 \pm 6\%$, 给药 6 d 内自尿排出的累积排出量为剂量的 $85 \pm 6\%$ 。24 h 内放射性自粪排出的量为剂量的 $2.8 \pm 1.2\%$, 6 d 内自粪排出的累积排泄量为剂量的 $5.4 \pm 1.2\%$ 。结果表明 [³H]Hup-A iv 后主要通过肾脏排泄, 排出较为迅速。

代谢 小鼠 3 只, 各 iv [³H]Hup-A 9.25

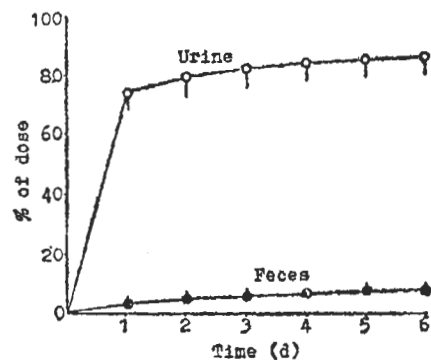


Fig 3. Cumulative excretion of radioactivity after iv [³H]huperzine A 9.25 MBq/kg in 3 mice. $\bar{x} \pm SD$

MBq/kg 后,分别收集 24 h 尿,浓缩后原尿点样于硅胶层析滤纸上,于氯仿:丙酮:甲醇:氨水 = 49:49:1:1 中上行展开,非放射性 Hup-A 用碘化铯钾喷渍显色定位。 $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 与尿样品的层析滤纸自原点至前沿纵 $0.5 \times$ 横 1 cm^2 剪下,作分段液闪测定。结果表明, $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 标准品仅得到一个放射峰,其 $R_F = 0.68 - 0.72$,与非放射性 Hup-A 的显色斑点基本一致。尿样品经分段液闪测定后,发现除在 $R_F = 0.72$ 位有一放射峰(I)外,在 $R_F = 0.2$ 位另有一放射峰(II),其放射量约为前峰的 $47 \pm 3.7\%$ 。又上述尿液用氨水调至 $\text{pH} > 10$,用氯仿反复提取,合并氯仿液,蒸干,其残渣点样,经层析分离与分段液闪测定后,同样得到两个放射峰,而峰 I 的放射量远远大于峰 II,其比值(I:II)为 8.6:1,经氯仿抽提后之尿液浓缩点样后,峰 I 消失,仅得到 $R_F = 0.2$ 位的放射峰。分别收集 iv $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 9.25 MBq/kg 的小鼠前 6 h 与 7-24 h 尿液,按上述方法原尿点样,层析分离及分段液闪测定,结果表明,两个时程的尿液在 $R_F = 0.72$ 与 0.2 位均能得到两个放射峰,但两峰的放射量随着收尿时间的不同而变化,6 h 时峰 I 的放射量 $>$ 峰 II,两者比值为 2.4 倍;7-24 h 时两峰的比值(I:II)为 0.7。上述结果表明, $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 经体内处置后,除了部分仍以原形物排出外,至少有一种代谢产物。

血浆蛋白结合率 用平衡透析法⁽⁷⁾测得 $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 与小鼠血浆蛋白的结合率为 $17 \pm 4\%$,结合率较低。

讨 论

大鼠 iv $[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ 后, $T_{+a} = 6.6 \text{ min}$, ig 给药 $T_{+a} = 10 \text{ min}$, 均表明吸收进入中央室的药物很快分布到周边室到达效应器官。 $T_{+k} = 5.1 \text{ min}$, $T_{\text{max}} = 21 \text{ min}$, 表明 ig 给药胃肠道吸收非常迅速,给药 21 min 后血中浓度已达到高峰,提示在临床若以 ig 途径用药,同样能达到起效快的作用。

$[^3\text{H}]\text{Hup-A}$ iv 后排泄试验表明,给药后 24 h 从小鼠尿中排出量为剂量的 73%,且排出极为迅速,这可能与其血浆蛋白结合率较低而利于从肾小球过滤有关,提示了临床重复用药不易产生蓄积作用。

在 iv 与 ig 给药的药动力学研究中,各参数间存在一定差异,除了实验操作误差因素外,可能大鼠的个体间也存在一定差异,因为即使同一途径给药的不同大鼠中,各参数值亦不完全相同,有的相差甚大。有报道即使同一受试者对不同次给药的消除作用不完全相同,药物消除变异越大,估算的差异性亦越大⁽⁸⁾。本实验测得两种途径给药的消除速率常数 β 相差甚大,因此在估算其它各参数时,势必带来差异性。同样,在计算生物利用度时,若采用曲线下面积与消除速率常数法计算得到的 F 值为 43.0%,势必也包含着较大的差异性。为了减少差异性,有人提出采用消除率来加以校正^(8,9),本文采用后一种方法计算得到的 F 值为 96.9%。根据本实验室整体动物神经肌肉标本实验,表明达到相同作用强度时, Hup-A 的 ig 剂量约为 iv 剂量的 1.2 倍⁽¹⁰⁾,表明 ig 吸收还是较好的,与计算得到 96.9% 的生物利用度基本相符合。

致谢 石杉碱甲由浙江医学研究院药物研究所植化室提供

参 考 文 献

- 1 Liu JS, Zhu YL, Yu CM, *et al.* The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *Can J Chem* 1986; 64 : 837
- 2 王月娥、岳冬贤、唐希灿。石杉碱甲的抗胆碱酯酶作用。中国药理学报 1986; 7 : 110
- 3 宫泽辉、秦伯益。福定碱对胆碱酯酶的抑制特点。军事医学科学院院刊 1986; 10 : 451
- 4 唐希灿、韩怡凡、陈小萍、朱晓东。石杉碱甲对大鼠辨别学习和再现过程的影响。中国药理学报 1986; 7 : 507
- 5 程源深、吕传真、应智林、倪望云、张慧祿、桑国卫。石杉碱甲治疗重症肌无力症 128 例。新药与临床 1986; 5 : 197

- 6 张慈祿. 石杉碱甲治疗老年性记忆功能减退. 同上 1986; 5 : 260
- 7 唐希灿、王月娥、冯洁、张雨龙、庄道玲. [³H]二甲基左旋筒箭毒次碱氙甲烷盐在大鼠的体内过程. 中国药理学报 1982; 3 : 64
- 8 Gibaldi M, Perrier D, eds. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. NY: Marcel Dekker, 1982 : 145-98. (Swarbrick J, ed. *Drugs and the pharmaceutical sciences*; vol 15)
- 9 Ekstrand J, Ehrnebo M, Boréus LO. Fluoride bioavailability after intravenous and oral administration: Importance of renal clearance and urine flow. *Clin Pharmacol Ther* 1978; 23 : 329
- 10 严孝方、陆维华、楼伟建、唐希灿. 石杉碱甲和乙对骨骼肌及脑电的作用. 中国药理学报 1987; 8 : 117

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 193-196

Pharmacokinetics of huperzine A in rats and mice

WANG Yue-E, FENG Jie, LU Wei-Hua, TANG Xi-Can

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Huperzine A, a new alkaloid first isolated in China from *Huperzia serrata*⁽¹⁾, is a reversible cholinesterase inhibitor^(2,3). Clinical studies have shown that huperzine A can improve muscle weakness of myasthenia gravis⁽⁵⁾ and memory function in patients of cerebral arteriosclerosis with memory impairment⁽⁶⁾. The blood level of huperzine A following iv or ig [³H] huperzine A 13.9 MBq/kg in rats declined in two phases, the distribution phase and the elimination phase, with half-lives of 6.6: 149 min (iv) and 10: 203 min (ig) respectively. The pharmacokinetic parameters were calculated according to the 2-compartment open model.

In mice 15 min after iv [³H]huperzine A 9.25 MBq/kg, the radioactivities were

highest in the kidney and liver, moderate in the spleen, lung and heart, and lower in brain. In pregnant mice, the small amount of radioactivity was shown in the fetus after iv [³H]huperzine A. The drug-plasma binding rate was found to be 17%. The majority (73%) of the radioactivity was excreted in the urine 24 h after iv [³H] huperzine A 9.25 MBq/kg in mice, while only 2.4% was recovered from the feces. Paper chromatograms of urine revealed that [³H]huperzine A was excreted partially as prototype and its metabolite respectively.

KEY WORDS [³H]huperzine A; cholinesterase inhibitors; pharmacokinetics; tissue distribution; paper chromatography