

三黄汤煎剂中黄芩苷在大鼠体内药动学研究

王添生^{1*},熊国强¹,吴艳萍²(1. 深圳市盐田区人民医院,深圳市 518081;2. 南方医科大学中医药学院,广州市 510515)

中图分类号 R285.5;R969.1 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2009)12-0896-03

摘要 目的:研究三黄汤煎剂中黄芩苷在大鼠体内的药动学规律 方法:大鼠 ig 三黄汤煎剂后,在规定时间内取血,用高效液相色谱法测定血浆中黄芩苷浓度,并计算主要药动学参数 结果:大鼠体内黄芩苷的主要药动学参数分别为 $t_{max1} = (15 \pm 4.23) \text{ min}$, $t_{max2} = (6.8 \pm 0.54) \text{ h}$, $C_{max1} = (4.49 \pm 1.56) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $C_{max2} = (3.25 \pm 1.23) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-18} = (35.52 \pm 12.35) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t_{1/2} = (5.12 \pm 0.23) \text{ h}$, $\text{CL} = (3.86 \pm 0.91) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 结论:该方法样品处理简单,快速准确,专属性好,灵敏度较高,可作为含黄芩苷中成药的血药浓度监测手段

关键词 三黄汤煎剂;黄芩苷;药动学

Pharmacokinetics of Baicalin of Sanhuang Decoction in Rats

WANG Tian-sheng, XIONG Guo-qiang (Shenzhen Yantian District People's Hospital, Shenzhen 518081, China)

WU Yan-ping (School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangdong 510515, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the pharmacokinetic profiles of baicalin (a constituent in Sanhuang decoction) in rats. METHODS: Blood samples were collected as schedule from rats after intragastrically administration of Sanhuang decoction, then the content of baicalin was determined by HPLC and the chief pharmacokinetic parameters were computed. RESULTS: The chief pharmacokinetic parameters of baicalin in rats were as follows: $t_{max1} = (15 \pm 4.23) \text{ min}$; $t_{max2} = (6.8 \pm 0.54) \text{ h}$; $C_{max1} = (4.49 \pm 1.56) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; $C_{max2} = (3.25 \pm 1.23) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; $\text{AUC} = (35.52 \pm 12.35) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; $t_{1/2} = (5.12 \pm 0.23) \text{ h}$; $\text{CL} = (3.86 \pm 0.91) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$. CONCLUSION: The method is simple in sample treatment, rapid and accurate, specific and sensitive, and it can be used as a means for the monitoring of the serum concentration of baicalin-containing Chinese patent medicines and so as to provide reference for clinical rational drug use.

KEY WORDS Sanhuang decoction; Baicalin; Pharmacokinetics

三黄汤是由黄连、黄芩、黄柏组成,具有清热燥湿、泻火解毒、退热除蒸等功效。临床上主要用于治疗三焦热盛,目赤肿痛,口鼻生疮,咽喉肿痛,牙龈出血,尿赤便秘等证^[1]。现代药理

研究表明,三黄汤对于急性上呼吸道感染、急性胃肠炎、痢疾等症具有较好的治疗效果,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌等细菌具有显著的抑制或杀灭作用。本实验以三黄汤煎剂

=====

experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Immunol*, 2002, 168: (5): 2 508.

[2] 邢清和,郑荣远,王永铭,等. Wistar 大鼠过敏性脑脊髓炎动物模型的建立 [J]. 上海医科大学学报, 2000, 27(6): 471.

[3] Kono DH, Urban JL, HorvaTh SJ, et al. Two minor determinants of myelin basic protein induce experimental allergic encephalomyelitis in SJL/J mice [J]. *Exp Med*, 1988, 168(1): 213.

[4] 陈月,陈政良. 白细胞介素-12 研究进展 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(2): 261.

[5] Mavropoulos A, Sully G, Cope AP, et al. Stabilization of NF- γ mRNA by MAPK p38 in IL-12 and IL-18 stimulated human NK cells [J]. *Blood*, 2005, 105(1): 282.

[6] 肖继皋,吴树杨,李晶阁,等. 粉防己碱对实验性后色素膜炎的治疗作用 [J]. 实验动物与动物实验, 1994, 6(2): 7.

[7] Kondo Y, Imai Y, Hojo H, et al. Selective inhibition of T-cell-dependent immune responses by bisbenzylisoquinoline alkaloids in vivo [J]. *Immunopharmacol*, 1992, 14(7): 1 181.

[8] Lai JH, Ho LJ, Lu KC, et al. Western and Chinese anti-rheumatic drug-induced T cell apoptotic DNA damage uses different caspase cascades and is independent of Fas/Fas ligand interaction [J]. *Immunol*, 2001, 166(11): 6 914.

[9] Chang DM, Chang WY, Kuo SY, et al. The effects of traditional anti-rheumatic herbal medicines on immune response cells [J]. *Rheumatol*, 1997, 24(3): 436.

(收稿日期:2008-10-24 修回日期:2009-02-24)

*副主任中药师。研究方向:医院药学。电话:0755-25216124
E-mail: szytqmed@126.com

ig 大鼠, 对方中有效成分黄芩苷血药浓度的动态变化及规律进行研究, 实验结果能够对该组方的药效物质基础、配伍规律和指导临床用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器

HP-1100 型高效液相色谱(HPLC)仪, G1315A 型紫外-可见光二级管阵列检测器(美国惠普公司); XW-80A 型旋涡混合器(上海精科实业有限公司); LG10-24A 型离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110715-200212); 黄连、黄芩、黄柏药材均购自广东省药材公司, 经深圳市药检所中药室鉴定为真品; 氮气为高纯氮, 水为密里博超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

清洁级 Wistar 大鼠 10 只, ♂, 体质量(250±20) g, 南方医科大学试验动物中心提供(动物合格证: SCXK(粤)2008-007)。

2 方法与结果

2.1 三黄汤煎剂的制备

黄连 200 g, 黄柏 200 g, 大黄 100 g, 传统方法煎煮 2 次, 纱布过滤, 得浓缩水煎液 125 mL。

2.2 色谱条件^[2]

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(48:52); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μL。

2.3 血浆样品采集及处理^[3]

大鼠禁食不禁水 12 h 后 ig 给予三黄汤煎剂 1.25 g·kg⁻¹ (相当于黄芩苷 150 mg·kg⁻¹), 分别于给药前后 5、10、20、30、60、120、180、240、480 min 尾静脉取血 0.5 mL, 置于肝素抗凝管中, 2 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 分离血浆, 取上清液。按照上清液: 乙腈=1:8 的比例加入乙腈, 在旋涡混合器上震荡 5 min, 2 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液, 氮气吹干, 再加甲醇 0.5 mL 于旋涡混合器上溶解, 0.22 μm 滤膜过滤, 即得血浆样品。

2.4 线性关系考察

取空白血浆(未给药时采血), 取黄芩苷对照品 0.5 mg, 用 50% 甲醇溶解, 定容为 10 mL, 制成黄芩苷对照品溶液。将黄芩苷对照品溶液稀释成 0.05、0.25、0.5、2.5、5、10、20 μg·mL⁻¹ 的系列浓度溶液, 按“2.3”项下方法处理, 在上述色谱条件下进样测定, 以黄芩苷检测浓度(X)对峰面积积分值(Y)进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 26.4513X - 0.4536$ ($r = 0.9945$)。结果表明, 黄芩苷检测浓度在 0.05~20 μg·mL⁻¹ 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系, 血浆中黄芩苷最低定量限为 6 ng·mL⁻¹, 血浆中内源性杂质对黄芩苷的测定无干扰。色谱见图 1。

2.5 加样回收率试验

取 2 mL 空白血浆 15 份, 分为 3 组, 分别加入浓度为 1 μg·mL⁻¹ 的黄芩苷对照品溶液, 配制含黄芩苷 0.1、0.5、1.0 μg·mL⁻¹ 的含药血浆溶液, 按“2.3”项下方法处理, 在上述色谱条件下进样测定。结果, 平均加样回收率为 83.53%, $RSD = 2.35%$ ($n = 5$)。

2.6 精密度试验

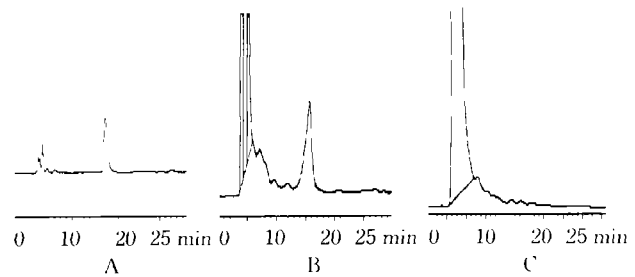


图 1 高效液相色谱

A. 黄芩苷对照品; B. 血浆样品; C. 空白血浆

Fig 1 HPLC

A. baicalin control; B. plasma sample; C. blank plasma

取“2.5”项下 3 个浓度的含药血浆溶液, 在上述色谱条件下于 12 h 内连续测定 4 次; 另取相同样品, 72 h 内连续测定 4 次。结果, 日内、日间的 RSD 分别为 3.21%、2.96% ($n = 5$), 表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

按“2.5”项下方法配制黄芩苷浓度为 0.5 μg·mL⁻¹ 的含药血浆溶液, 按“2.3”项下方法处理, 将配置的血浆于冰箱内冷藏, 分别于 0、1、2、3、4、6、8、10、24、48、72 h 在上述色谱条件下进样测定。结果, 72 h 内 $RSD = 6.52%$, 表明含药血浆溶液在 72 h 内稳定。

2.8 药物浓度-时间曲线的绘制

取“2.3”项下血浆样品, 在上述色谱条件下测定黄芩苷的含量, 计算血药浓度, 绘制药物浓度-时间曲线。黄芩苷药物浓度-时间曲线见图 2。

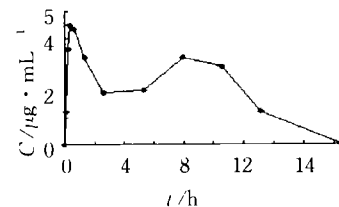


图 2 黄芩苷药物浓度-时间曲线

Fig 2 Conc-time graph of baicalin

2.9 药动学参数测定

用 3p97 药动学软件拟合药动学参数, 三黄汤中黄芩苷的药动学参数见表 1。

表 1 三黄汤煎剂中黄芩苷的药动学参数($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Tab 1 Pharmacokinetics parameters of baicalin of Sanhuang decoction in rats($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数	数值
t_{max1}/min	15±4.23
t_{max2}/h	6.8±0.54
$C_{max1}/\mu g \cdot mL^{-1}$	4.49±1.56
$C_{max2}/\mu g \cdot mL^{-1}$	3.25±1.23
$AUC_{0-12}/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	35.52±12.35
$t_{1/2}/h$	5.12±0.23
$CL/L \cdot h^{-1}$	3.86±0.91

3 讨论

本实验发现, 当大鼠 ig 给予三黄汤煎剂后黄芩苷的血药浓度-时间曲线出现明显的双峰现象, 黄芩苷在 10~30 min 迅速出现第 1 个峰。当黄芩苷迅速通过胃、十二指肠后吸收减少, 到达结肠部位受肠道菌群水解而再次被吸收, 在 6~8 h 出现第 2 个峰, 这与文献报道相符^[4]。第 2 个峰的出现也可能与肝脏循环有关, 说明 po 三黄汤煎剂后有效成分黄芩苷能够转运

消肿止痛胶囊主要药效学研究

陈刚*,于兆海,于科亭(青岛胶南市人民医院,胶南市 266400)

中图分类号 R285.5;R283.65 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2009)12-0898-02

摘要 目的:研究消肿止痛胶囊的药效作用。方法:以大鼠肠系膜微循环法、小鼠疼痛扭体法、小鼠耳肿胀法观察消肿止痛胶囊的药效作用。结果:消肿止痛胶囊能改善大鼠肠系膜微循环障碍,减少由醋酸引起的小鼠疼痛反应,显著抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀。结论:消肿止痛胶囊具有活血化瘀、消肿止痛作用,可为临床应用提供实验依据。

关键词 消肿止痛胶囊;药效学;消肿止痛

Pharmacodynamics of Xiaozhongzhitong Capsules

CHEN Gang, YU Zhao-hai, YU Ke-ting(Qingdao Jiaonan Municipal People's Hospital, Jiaonan 266400, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the pharmacodynamics of Xiaozhongzhitong capsules. METHODS: The pharmacodynamics of Xiaozhongzhitong capsules was studied through rat mesenteric microcirculation test, mouse pain writhing test and mouse ear swelling test. RESULTS: The Xiaozhongzhitong capsules improved rats' mesenteric microcirculation disturbance, attenuated the pain action of mouse induced by acetate acid, and significantly inhibited the ear swelling of mouse caused by dimethylbenzene. CONCLUSION: Xiaozhongzhitong capsules showed proved efficacy in activating blood, dissolving stasis, eliminating swelling and alleviating pain, and the results serve as an experimental basis for the clinical application of Xiaozhongzhitong capsules.

KEY WORDS Xiaozhongzhitong capsule; Pharmacodynamics; Eliminating swelling and alleviating pain

消肿止痛胶囊由赤芍、丹参、当归、延胡索、香附、土鳖虫、大黄等组成,是我院制剂室研制的中药制剂,具有活血化瘀、消肿止痛作用,用于治疗跌打损伤、扭伤肿痛等症。为了进一步开发该制剂,笔者对其药效学作了初步研究。

1 材料

1.1 仪器

XTW-D型多功能微循环显微镜(北京泰克仪器有限公司), AB104-L 万分之一电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 国际股份有限公司), YA-6 型电热鼓风干燥箱(南通中良实验仪器有限公司)。

1.2 试药

消肿止痛胶囊(本院自制,批号:060309);山莨菪碱注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号:0511021);阿司匹林肠溶片(青岛黄海制药有限公司,批号:0606215);右旋糖酐-40 葡萄糖注射液(上海华源长富药业集团有限公司,批号:05102501)。

1.3 动物

SPF 级昆明种小鼠、SPF 级纯系 Wistar 大鼠,均由青岛市实验动物和动物实验中心提供(动物合格证号:200002001、SCXK(鲁)20030010)

2 方法

2.1 大鼠肠系膜微循环法

取 Wistar 大鼠 40 只,体质量 180~220 g,随机分为 4 组,每组 10 只,♀♂ 各半,即分为空白对照(ig 生理盐水)、阳性对照组(ig 山莨菪碱 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和消肿止痛胶囊高(ig $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低(ig $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)剂量组。实验前禁食不禁水 12 h,戊巴比妥钠 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,脊柱固定,在下腹部剪毛,剪开约 3 cm 切口,拉出一段肠样,平铺于有机玻璃灌流池中,用大头针固定,用 37°C 恒温洛氏营养液缓慢灌注,以使肠系膜标本保温,用多功能微循环显微镜 40 倍观察,固定视野,分离股静脉供给注射,iv 右旋糖酐-40 葡萄糖注射液 $6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 10、20 min 后分别观察并记录微循环障碍指标(毛细血管网交叉点数目、血液状态、血流速度)。

至大肠,发挥对泻痢等疾病的局部治疗作用。对该方中黄连药材的代谢情况进行研究,可以进一步考证 2 味药在使用中的协同作用,进一步揭示该方组方的合理性。

在实验过程中,笔者比较了乙醇、甲醇、丙酮、三氯乙酸、乙腈等溶剂沉淀蛋白的效果,发现乙腈效果最好,故选用乙腈来沉淀蛋白。样品处理直接用乙腈沉淀蛋白,不需分离提取,虽然有内源性杂质掺入,但在设定的色谱条件下,血浆内源性物质及其它杂质不干扰样品的分离测定。该方法样品处理简单,快速准确,专属性好,灵敏度较高,可作为含黄芩苷中成药的药浓度监测手段。

*副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0532-86115922。E-mail:qdyue0127@sina.com

参考文献

- [1] 梁 晔. 三黄汤合石膏知母汤对神经内分泌的影响[J]. 中药药理与临床, 1993, 9(1): 5.
- [2] 吴艳萍, 谭晓梅. 葛根芩连汤配伍黄芩苷在犬体内药理学研究[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(8): 1 239.
- [3] 吴艳萍, 谭晓梅. 葛根芩连汤煎剂中小檗碱在犬体内药理学研究[J]. 中国药房, 2006, 17(11): 811.
- [4] Zhang L, Lin G, Zuo Z. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of baicalin and baicalin 7-glucuronide in rat plasma[J]. J Pharm Biomed Anal, 2004, 36(9): 637.

(收稿日期:2008-11-04 修回日期:2009-01-04)