

· 药物代谢 ·

栀子柏皮汤不同配伍在大鼠体内的药代动力学研究

韩静文,黄成,宋珏,马陶陶,曹璐,李俊*

(安徽医科大学药学院,安徽天然药物活性研究省级实验室,合肥 230032)

[摘要] 目的:通过测定栀子苷单体及栀子(ZZ)、栀子-黄柏(ZZ-HB)、栀子-甘草(ZZ-GC)和栀子柏皮汤(ZZBPD)4种汤剂中栀子苷在大鼠体内的药动学参数,考察栀子柏皮汤配伍的变化对栀子苷药动学的影响。方法:将SD大鼠随机分为5组,分别灌胃给予含等量栀子苷的栀子苷单体溶液、栀子、栀子-黄柏、栀子-甘草和栀子柏皮汤,采用HPLC测定给药后0.08,0.25,0.5,0.75,1,1.5,2,4,6,8,10h时的血药浓度,采用3P97软件计算药动学参数。结果:栀子苷单体及4种汤剂中栀子苷在大鼠体内的药动学参数有明显差别($P<0.05$),与栀子苷单体组相比,4组汤剂的AUC及 $T_{1/2}$ 均显著增加,其中栀子柏皮汤的 C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$ 均高于其他各配伍组,栀子-黄柏、栀子-甘草和栀子柏皮汤组的 AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$ 及 $T_{1/2}$ 均高于栀子组,栀子-甘草和栀子柏皮汤组 T_{max} 明显延长。结论:栀子柏皮汤不同配伍对栀子苷的药动学存在不同的影响,汤剂给药的生物利用度高于单体给药,全方组给药的生物利用度要显著高于其他各配伍组,说明药材之间的相互作用能促进栀子苷的吸收,延缓其消除,进而提高其生物利用度。

[关键词] 栀子柏皮汤;栀子苷;配伍;高效液相色谱;药代动力学

[中图分类号] R284.1;R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0110-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014080110

Pharmacokinetic Study on Different Compatibilities of
Zhizi Bopi Decoction in Rats

HAN Jing-wen, HUANG Cheng, SONG Jue, MA Tao-tao, CAO Lu, LI Jun*

(School of Pharmacy, Anhui Provincial Laboratory on Bioactivity of Natural Products,
Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

[Abstract] **Objective:** To obtain pharmacokinetics parameters of geniposide in pure geniposide, Gardeniae Fructus (ZZ), ZZ-Phellodendri Chinensis Cortex (HB), ZZ-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (GC) and Zhili Bopi decoction (ZZBPD) and to investigate the effect of the different recipes of ZZBPD on the pharmacokinetics of geniposide. **Method:** Thirty rats were randomly divided into five groups, and were administered pure geniposide, ZZ, ZZ-HB, ZZ-GC and ZZBPD, respectively. The plasma concentration of four recipes at 0.08, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10 h were determined by HPLC, and the pharmacokinetics parameters of geniposide in these recipes were consequently computed by software program 3P97. **Result:** The differences of the predominant parameters of geniposide in rat plasma of the five groups were considered to be noticeable ($P<0.05$). Compared to administration of geniposide alone, the pharmacokinetic parameters (AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$, $T_{1/2}$) were remarkably enhanced following oral administration of ZZ, ZZ-HB, ZZ-GC, ZZBPD. The C_{max} , $T_{1/2}$, AUC_{0-1} and $AUC_{0-\infty}$ of ZZBPD were remarkably enhanced compared to other four groups. The AUC_{0-1} , $AUC_{0-\infty}$, $T_{1/2}$ of ZZ-HB, ZZ-GC and ZZBPD were higher than ZZ. The T_{max} of ZZ-GC and

[收稿日期] 20130606(002)
[基金项目] 安徽省自然科学基金项目(1206c0805026);博士科研启动基金项目(XJ201118)
[第一作者] 韩静文,硕士,从事生物药剂学研究,E-mail:han6567369@163.com
[通讯作者] *李俊,教授,博士生导师,E-mail:lj@ahmu.edu.cn

ZZBPD were longer than ZZ and ZZ-HB. **Conclusion:** Different recipes of ZZBPD had different impact on the pharmacokinetics of geniposide. The bioavailability of geniposide in decoctions were higher than in monomer and the bioavailability of geniposide in ZZBPD was higher than other groups. It can be deduced that herb-herb interaction may increase the absorption, delay the elimination, and significantly improve the oral bioavailability of geniposide in rats.

[**Key words**] Zhizi Bopi decoction; geniposide; formula compatibility; HPLC; pharmacokinetics

运用药代动力学研究中药配伍,可定性、定量地分析配伍后化学成分在体内的吸收、代谢、排泄等变化过程,真正阐明中药配伍后发挥药效的物质基础。由于中药复方成分的复杂性,通常选择一种或几种主要活性成分做为指标,来研究其药动学^[1-2]。

梔子柏皮汤始载于汉代名医张仲景的《伤寒论》,由梔子、黄柏和炙甘草 3 味药材组成,用于治疗湿热发黄、热重于湿之阳黄症^[3]。梔子苷是梔子的主要有效成分,药典规定梔子苷为梔子的质量控制指标^[4],具有抗炎、解热、利胆、镇静、抗动脉粥样硬化、抗血栓等作用^[5]。近年来已有一些以梔子苷为指标来研究复方药代动力学的报道^[2],但关于梔子柏皮汤的药代动力学还未见报道。

本实验采用 HPLC,以梔子苷为活性指标,通过比较梔子苷单体、梔子、梔子-黄柏、梔子-甘草和梔子柏皮汤中梔子苷在大鼠体内的药动学参数,考察梔子柏皮汤配伍的变化对梔子苷药动学的影响,探索梔子柏皮汤配伍的合理性。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);配有四元泵、紫外检测器、真空脱气机、手动进样器和色谱工作站,XW-80A 型微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司),Neofuge 23R 型台式高速冷冻离心机(力康发展有限公司),DZE-6050 型真空干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司),FA2004N 型分析天平(上海精密科学有限公司),ROIS5 型 30 L 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂 梔子苷对照品、芍药苷对照品(批号分别为 110749-200714,110736-200320,纯度>98%)均购自中国药品生物制品检定所,梔子、黄柏和制甘草均购自安徽医科大学第一附属医院药剂科,质量符合《中国药典》(2010 年版)标准。甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司),乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司),冰乙酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),水为双蒸水。

1.3 动物 健康 SD 大鼠,雄性,240~260 g,由安徽医科大学实验动物中心提供,合格证号:皖医实动

准字第 06 号。

2 方法

2.1 汤剂的制备 按梔子柏皮汤方中梔子-黄柏-制甘草 10:6:3 称取药材,混合碾碎后,蒸馏水 100℃煮沸,20 min,3 次。合并煎液,20 层纱布滤过,得上清液,浓缩至合适体积,即得梔子柏皮汤。梔子、梔子-黄柏、梔子-甘草汤的制备同法操作。

2.2 汤剂含量的测定 分别取制备的各汤剂 100 μL,稀释 1 000 倍,涡旋混匀,2 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,经 HPLC 分析,各汤剂中梔子苷的质量浓度分别为梔子(4.58 g·L⁻¹),梔子-黄柏(3.47 g·L⁻¹),梔子-甘草(4.59 g·L⁻¹),梔子柏皮汤(4.27 g·L⁻¹)。

2.3 血浆样品分析的色谱条件 Shimadzu Shim-pack VP-ODS(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1%冰乙酸水溶液,梯度洗脱(甲醇比例依次为 0~10 min, 15%~29%;10~25 min, 29%),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 238 nm,进样量 20 μL,柱温 30℃。

2.4 溶液的配制 精密称取梔子苷和芍药苷对照品各 1 mg,分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释成 0.1 g·L⁻¹的储备液,经倍数稀释配成 0.5,1,2,6,10,15,20 mg·L⁻¹系列工作溶液。

2.5 血浆样品预处理 取血浆 200 μL 于 1.5 mL 离心管中,加入内标溶液(30 mg·L⁻¹)20 μL,涡旋混匀,再加乙腈 600 μL,涡旋 2 min,12 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液 700 μL 至 2 mL 离心管中,40℃真空干燥后用 30%甲醇溶液 100 μL 复溶,进样测定。

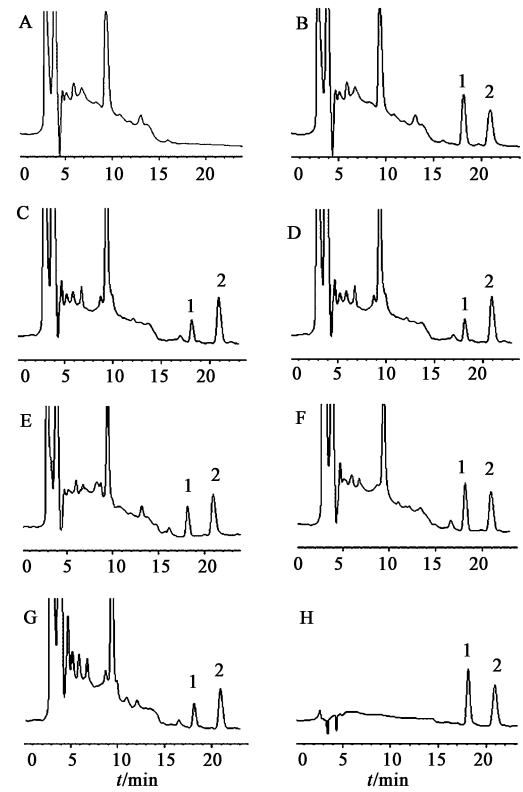
2.6 药动学实验 将雄性 SD 大鼠 30 只随机分成 5 组,每组 6 只,实验前禁食 12 h,自由饮水。分别灌胃给予梔子苷单体溶液、梔子、梔子-黄柏、梔子-甘草和梔子柏皮汤,每组梔子苷灌胃量相等为 40 mg·kg⁻¹,分别于给药后 0.08,0.25,0.5,0.75,1,1.5,2,4,6,8,10 h 眼眶取血 0.5 mL 置 1.5 mL 肝素化的离心管中,6 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清液于 -80℃冷冻待测。

2.7 数据分析 血药浓度-时间数据采用 3P97 药代动力学软件分析, 求算药代动力学参数, 并经 SPSS 16.0 软件对 5 组的药动学参数进行比较。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验 空白血浆、空白血浆加栀子苷和内标芍药苷对照品、各组给药后含药血浆的色谱图见图 1, 由色谱图可见, 栀子苷和内标的保留时间分别约为 18.4、1.2 min, 分离度良好, 内源性物质不干扰测定。



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 栀子苷 + 芍药苷;
C. 灌服栀子苷单体溶液 1 h 后含药血浆;
D. 灌服栀子汤 1 h 后含药血浆; E. 灌服栀子黄柏汤 1 h 后含药血浆; F. 灌服栀子柏皮全方 1 h 后含药血浆;
G. 灌服栀子甘草汤 1 h 后含药血浆;
H. 栀子苷 + 芍药苷; 1. 栀子苷; 2. 芍药苷

图 1 栀子苷的 HPLC

3.1.2 线性范围和灵敏度试验 取大鼠空白血浆 200 μL , 分别加入栀子苷系列工作溶液, 制成 0.05、0.10、0.20、0.60、1.00、1.50、2.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 按照 2.5 项下方法处理后进样。以栀子苷质量浓度为横坐标, 栀子苷与内标的峰面积比为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 0.6789X + 0.0120$ ($r = 0.9998$)。结果表明栀子苷在 0.05 ~ 2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 最低检测限为 0.05 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.1.3 精密度试验 取大鼠空白血浆 200 μL , 分别加入适量栀子苷对照品溶液, 制成 0.10、0.60、1.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的低、中、高浓度血样 ($n = 5$), 按照 2.5 项下方法处理后进样。1 d 内测定 5 次, 连续测定 5 d, 计算日内和日间精密度和准确度。结果日内精密度 (RSD) 分别为 7.04%、1.87%、3.29%, 日间 RSD 分别为 6.05%、1.07%、1.59%, 表明本方法精密度符合要求。

3.1.4 准确度试验 同上配置低、中、高质量浓度 (0.10、0.60、1.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 血样 ($n = 5$), 按照 2.5 项下方法处理后进样。按准确度 = $C_{\text{实测}}/C_{\text{理论}} \times 100\%$, 计算出低、中、高 3 个质量浓度的准确度分别为 109.51%、99.84%、100.41%, 表明本方法准确度符合要求。

3.1.5 回收率试验 同上配置低、中、高质量浓度 (0.10、0.60、1.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 血样 ($n = 5$), 按照 2.5 项下方法处理后进样。记录样品峰面积, 除以水代替空白血浆制备相同浓度样品进样的峰面积, 计算提取回收率。栀子苷的提取回收率分别为 82.82%、78.62%、88.09%。

3.1.6 稳定性试验 同上配置低、中、高质量浓度 (0.10、0.60、1.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 血样 ($n = 5$), 对在室温放置 24 h、反复冻融 3 次、 -80°C 保存 30 d 的稳定性进行考察, 栀子苷的 RSD 值分别为 8.05%、4.97%、2.02%; 10.18%、2.05%、1.76% 和 8.90%、2.14%、1.24%, 表明样品在该实验条件下稳定。

3.2 药动学研究 大鼠分别口服栀子苷单体溶液、栀子 (ZZ)、栀子-黄柏 (ZZ-HB)、栀子-甘草 (ZZ-GC) 和栀子柏皮汤 (ZZBPD) 后, 各组的血药浓度-时间曲线见图 2, 所得数据经 3P97 程序拟合药代动力学模型, 以理论血药浓度与实测血药浓度相关系数最大且 AIC 值最小为原则, 结果表明各组中栀子苷在大鼠体内均符合一室模型, 权重为 1, 各组的药代动力学参数结果见表 1。由图 2 和表 1 可看出, 栀子苷

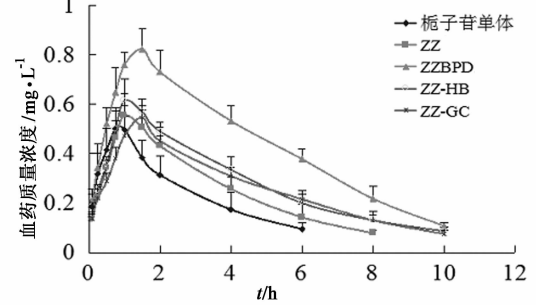


图 2 口服栀子苷单体, 栀子, 栀子柏皮全方, 栀子黄柏, 栀子甘草汤后栀子苷的血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1 口服梔子苷单体、梔子、梔子柏皮全方、梔子黄柏、梔子甘草汤后梔子苷在大鼠血浆中的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	梔子苷单体	ZZ 组	ZZBPD 组	ZZ-HB 组	ZZ-GC 组
Ke/h	0.36 ± 0.10	0.34 ± 0.06	0.28 ± 0.05 ^{1,2)}	0.25 ± 0.03 ^{1,2)}	0.24 ± 0.05 ^{1,2)}
C _{max} /mg·L ⁻¹	0.47 ± 0.09	0.51 ± 0.07	0.78 ± 0.06 ^{1,2)}	0.53 ± 0.06	0.48 ± 0.02
T _{max} /h	0.80 ± 0.10	1.19 ± 0.18	1.57 ± 0.26 ^{1,2)}	1.21 ± 0.08	1.61 ± 0.19 ^{1,2)}
T _{1/2} /h	2.00 ± 0.58	2.05 ± 0.39 ¹⁾	3.00 ± 0.71 ^{1,2)}	2.75 ± 0.38 ^{1,2)}	2.78 ± 0.51 ^{1,2)}
AUC _{0-t} /μg·h ⁻¹ ·mL ⁻¹	1.52 ± 0.32	2.15 ± 0.36 ¹⁾	4.25 ± 0.24 ^{1,2)}	2.63 ± 0.25 ^{1,2)}	2.60 ± 0.19 ^{1,2)}
AUC _{0-∞} /μg·h ⁻¹ ·mL ⁻¹	1.75 ± 0.50	2.36 ± 0.45 ¹⁾	4.95 ± 0.50 ^{1,2)}	2.90 ± 0.31 ^{1,2)}	2.90 ± 0.37 ^{1,2)}
CL/h·kg ⁻¹	24.38 ± 6.96	18.54 ± 2.35 ¹⁾	8.14 ± 0.88 ^{1,2)}	13.89 ± 1.47 ^{1,2)}	13.92 ± 1.76 ^{1,2)}
V _d /kg ⁻¹	67.00 ± 11.81	53.81 ± 5.00 ¹⁾	29.75 ± 5.94 ^{1,2)}	54.99 ± 7.23 ¹⁾	55.10 ± 4.51 ¹⁾

注:与梔子苷单体比较¹⁾P<0.05;与ZZ组比较²⁾P<0.05。

单体及 4 种汤剂中梔子苷在大鼠体内的药动学参数有着明显的差别(P<0.05)。与梔子苷单体组相比,4 组汤剂的 AUC 及 T_{1/2}均显著增加,其中梔子柏皮汤的 C_{max}, T_{max}, T_{1/2}, AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}均高于其他各配伍组,梔子-黄柏、梔子-甘草和梔子柏皮汤组的 AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}及 T_{1/2}均高于梔子组,梔子-甘草和梔子柏皮汤组的 T_{max}明显延长。

4 讨论

由药动学结果可知,与梔子苷单体组相比,4 组汤剂中梔子苷的生物利用度均显著增加,这可能与梔子中的其他成分有关。在梔子苷的吸收过程中,肠道菌群起着重要作用^[6],促使梔子苷水解,减少吸收,其活性直接影响着梔子苷的生物利用度,梔子苷为梔子的主要环烯醚萜类成分,除此之外梔子中还含有许多其他环烯醚萜类成分,如梔子新苷、山梔苷等^[9],它们可能与梔子苷一样被相同的肠道菌分解,这种竞争性抑制作用使肠道中梔子苷分解减少,浓度增加,从而使其吸收增加,生物利用度提高。

梔子柏皮汤全方组的 C_{max}, T_{max}, T_{1/2}, AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}显著高于其他各组(P<0.05),这可能与黄柏的抗菌作用有关^[8],抗生素通过抑制肠道菌从而影响药物的吸收已有许多报道,如牡丹皮通过抑制肠道菌使得芍药苷的生物利用度增加^[2],黄柏中的成分如小檗碱等都有抗菌作用^[9],从而减少了梔子苷的水解,使其在胃肠道中浓度增加,同时梔子,黄柏和甘草三者配伍可能产生了协同作用,促使梔子苷吸收增加,消除减慢,从而提高了其生物利用度。

梔子柏皮汤和梔子甘草汤组的 T_{max}明显延长(P<0.05),说明甘草减慢了梔子苷的吸收,有研究表明,甘草提取物会减慢胃排空速率,降低吸收速率,这可能与其中的多酚类和脂类有关^[10]。

除此之外,中药复方在制备过程中各种成分的变化是个很复杂的过程,通常会发生各种水解、络合、成盐、氧化、降解等反应,从而影响药物的体内过程,这也是中药复方配伍后产生增效或减毒作用的

一部分原因。

本研究表明,各配伍组中,梔子柏皮汤全方组的生物利用度最高,从药代动力学角度说明了该复方配伍的合理性与整体性,为中药复方药代动力学研究提供了思路。

[参考文献]

[1] Tong Lu, Jue Song, Fang Huang, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin after oral administration of pure baicalin, Radix Scutellariae extract and Huang-Lian-Jie-Du-Tang to rats[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 110(3):412.

[2] Sun Yan-qing, Feng Fang, Yu Xiu-pei. Pharmacokinetics of geniposide in Zhi-Zi-Hou-Pu decoction and in different combinations of its constituent herbs[J]. Phytother Res, 2012, 26(1):67.

[3] 吴梅,张浩,李容. HPLC 测定梔子柏皮汤中甘草次酸的含量[J]. 华西药学杂志,2006,21(4):399.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:231.

[5] 倪慧艳,张朝晖,傅海珍. 中药梔子的研究与开发概述[J]. 中国中药杂志,2006,31(7):538.

[6] 张燕,朱华旭,郭立玮. 梔子中环烯醚萜类化合物的体内过程及其对相关酶的影响[J]. 中国中药杂志, 2012,37(3):269.

[7] 刘武占,范建伟,高艳红,等. HPLC 同时测定梔子中 8 个环烯醚萜苷类成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2012,37(16):2417.

[8] 吴嘉瑞,张冰,张光敏. 黄柏药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,11(5):160.

[9] 杨勇,雷志英,吴方评,等. 小檗碱的抗菌作用研究进展[J]. 现代生物医学进展,2010,10(9):1783.

[10] Wang Zhao, Nishioka M, Kurosaki Y, et al. Gastrointestinal absorption characteristics of glycyrrhizin from glycyrrhiza extract[J]. Biol Pharm Bull, 1995,18 (9):1238.

[责任编辑 邹晓翠]