

· 药剂与炮制 ·

基于方证对应理论的黄连解毒汤肠道吸收分析

谈聪，薛世姣，李博，张启春，潘林梅，段金廛，朱华旭*，郭立玮*
(南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心，
江苏省植物药深加工工程研究中心，南京 210023)

[摘要] 目的:基于方证对应理论研究正常和脑缺血病理状态下黄连解毒汤中指标成分肠吸收情况的差异性,探讨临床对症治疗脑缺血疾病的合理性。方法:以黄连解毒汤中盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷为检测指标,建立在体单向肠灌注流模型,考察不同浓度黄连解毒汤在正常和脑缺血大鼠的肠吸收情况。结果:与正常组比较,不同浓度黄连解毒汤中盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷在脑缺血模型组大鼠不同肠段的肠吸收均有一定程度增加,其中盐酸小檗碱在十二指肠、空肠有显著性增加;黄芩苷在全部肠段的肠吸收均有显著性增加;栀子苷在空肠、回肠、结肠有显著性增加。结论:黄连解毒汤主要药效成分在脑缺血大鼠的肠道吸收情况优于正常组,为该复方临床对症治疗脑缺血疾病的合理性提供实验依据,体现了中医方证对应理论。

[关键词] 方证对应;脑缺血;黄连解毒汤;在体单向肠灌注;盐酸小檗碱;黄芩苷;栀子苷

[中图分类号] R283.6;R944.1;R945;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2015)05-0006-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfxj.2015050006

Intestinal Absorption Analysis of Huanglian Jiedu Tang Based on Theory of Correspondence Between Syndrome and Prescription TAN Cong, XUE Shi-jiao, LI Bo, ZHANG Qi-chun, PAN Lin-mei, DUAN Jin-ao, ZHU Hua-xu*, GUO Li-wei* (*Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Jiangsu Refinement Engineering Research Center of Botanical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate intestinal absorption characteristics of index components from Huanglian Jiedu Tang (HLJDT) in normal and cerebral ischemia states, and discuss rationality of HLJDT used in clinical to treat cerebral ischemia, basing on theory of correspondence between syndrome and prescription. **Method:** Taking geniposide, berberine hydrochloride and baicalin in HLJDT as indexes, *in situ* single pass perfusion model was established to investigate intestinal absorption characteristics of HLJDT with different concentrations in rats with normal and cerebral ischemia. **Result:** Compared with the normal group, absorption of geniposide, berberine hydrochloride and baicalin from HLJDT with different concentrations in all model group increased to some extent in different intestine segments. Berberine hydrochloride increased significantly in duodenum and jejunum. Baicalin increased significantly in the whole intestine. Intestinal absorption of geniposide increased significantly in jejunum, ileum and colon. **Conclusion:** Absorption of main active ingredients of HLJDT in the cerebral ischemia model group is better than that in the normal group, which supports rationality of widely use of HLJDT in the clinical application to exerting therapeutic effect and confirms theory of correspondence between syndrome and prescription.

[Key words] correspondence between syndrome and prescription; cerebral ischemia; Huanglian Jiedu Tang; *in situ* single pass perfusion model; berberine hydrochloride; baicalin; geniposide

[收稿日期] 20141209(021)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274096,81303230);江苏省科技厅产学研联合创新前瞻性研究项目(BY2012036);江苏省科技支撑计划社会发展项目(BE-2012763);江苏省科技厅自然科学基金项目(BK2012855);江苏省六大人才高峰项目(2014-YY-014)

[第一作者] 谈聪,在读硕士,从事生物药剂学研究,Tel:18252066951, E-mail:tancong1991@qq.com

[通讯作者] *朱华旭,博士,研究员,从事基于化学结构的中药制药过程研究,Tel:025-85811070, E-mail:huaxu72@126.com;
*郭立玮,博士,研究员,从事以膜技术为主体的中药复方分离工程研究,Tel:025-86798188, E-mail:guoliwei815@126.com

方证对应作为中医辨证论治中的一个重要概念,始见于东汉张仲景《伤寒论》:“病皆与方相应者,乃服之”^[1],通常指方药与病证之间存在着对应关系。分析不同证下的药动学规律有助于深入研究中医药。在君臣佐使、七情合和、四气五味、升降沉浮等传统中医理论基础上,机体作用于方剂,是通过改变方剂的肠道吸收来影响药效成分入体及发挥药效作用,说明从疗效物质基础的肠吸收差异情况来解释方剂与机体的病理状态规律有助于促进方证对应的理论研究^[2]。

临床研究表明,脑缺血损伤与多种脑血管疾病的发生、发展有关。黄连解毒汤载于《外台秘要》,由黄连、黄柏、黄芩、栀子按 3:2:2:3 组方^[3],临床常被广泛用于治疗脑血管病,抗脑缺血、抗血栓作用的主要药效成分为小檗碱、黄芩苷、栀子苷^[4-6]。前期研究表明黄连解毒汤中盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷在脑缺血模型大鼠的血药浓度和吸收效果均优于正常大鼠,并且能够改善大鼠由于脑缺血损伤导致的缺氧状态,升高超氧化物歧化酶(superoxidase dismutase, SOD)活性,降低丙二醛水平^[7-9]。本实验拟通过比较黄连解毒汤中盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷在正常大鼠与脑缺血模型大鼠的肠道吸收差异性,探讨该方临床对症治疗脑缺血病证的合理性。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司),BT100-1L 型恒流蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司),PB-10 型 pH 计(德国 Sartorius 科学仪器有限公司),AEL-40SM 型电子天平(日本岛津公司)。黄连、黄柏、黄芩、栀子均购自安徽福春堂中药饮片有限公司,经南京师范大学龚祝南教授鉴定分别为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的根茎,芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* 的干燥树皮,唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根,茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* 的干燥成熟果实。盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110713-201212, 110715-201318, 110749-201115),酚红(天津市化学试剂研究所),甲醇、乙腈均为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯。清洁级 SD 大鼠,雄性,体重 250 ~ 280 g,购自南京医科大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(苏)2014-0001。

2 方法与结果

2.1 模型制备 SD 大鼠按体重分为模型组和正常组,模型组参照文献[10-11]方法对大鼠进行脑缺血

手术。大鼠按 3.4 mL·kg⁻¹腹腔注射 10% 水合氯醛,待眼睑反应消失后,躺位固定,酒精消毒皮肤,在颈部偏右方切口,钝性分离,分离到右颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),挂线备用。结扎 ECA 远心端,用动脉夹夹闭 CCA 近心端和 ICA 远心端后,迅速于分叉处 ECA 上做一切口,从切口处插入备好的线栓,线导入 ICA 后,在 ECA 处系一线固定线栓,但不宜太紧,打开夹闭 ICA 的动脉夹,轻柔送线接近 20 mm 处,遇阻力即止,固定栓线,4 h 后轻轻拔出线栓,结扎 ECA,缝合皮肤。术后 4 h 进行行为学评分,按文献[12]方法对动物进行神经症状评分。将行为学评分 ≥ 2 分的大鼠作为复制成功的脑缺血模型。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液 精密称取盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷对照品各 25 mg,置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,备用。

2.2.2 灌流液 精密称量氯化钙 0.37 g 和葡萄糖 1.4 g,加水溶解,得溶液 I,备用。精密称取酚红 20 mg,氯化钠 7.8 g,氯化钾 0.35 g,碳酸氢钠 1.37 g,磷酸二氢钠 0.32 g,氯化镁 0.02 g,加水溶解,与溶液 I 混合,加水定容至 1 L,用盐酸和氢氧化钠溶液调 pH 6.0,得灌流液,备用^[13]。

2.2.3 黄连解毒汤灌流液^[14] 取黄连、黄芩、黄柏、栀子共 3 kg,加 10,8 倍量水煎煮 2 次,煎煮时间 1.5 h,合并水煎液,减压浓缩,真空干燥得 5 g·g⁻¹干粉。精密称取干粉 4,12,20 g,分别置于 1 L 量瓶中,加灌流液超声溶解,过滤,加灌流液补足质量,得低、中、高质量浓度黄连解毒汤灌流液。

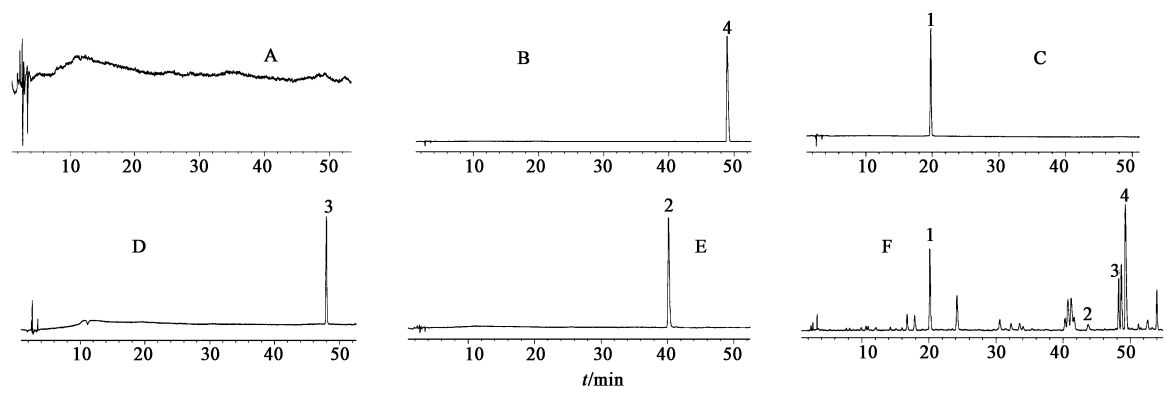
2.2.4 空白肠灌流液 取 2.2.2 项下灌流液进行在体单向肠灌流试验,收集流出液,即得。

2.3 在体单向肠灌流试验 取禁食 16 h(自由饮水)SD 大鼠,按 3.4 mL·kg⁻¹腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉,固定,用剪刀沿腹中线剖开腹腔,小心依次分离出十二指肠、空肠、回肠、结肠,用直尺测量约 10 cm,同时用小剪刀分别于肠两端切口插管,用缝合线小心结扎,用 37 ℃ 生理盐水冲洗各肠段直至内容物排出,用空气排净生理盐水,取 37 ℃ 不同质量浓度的供试液 200 mL,以 1.0 mL·min⁻¹ 的流速灌流 10 min,以 0.2 mL·min⁻¹ 平衡 30 min,依次于 40 ~ 55,55 ~ 70,70 ~ 85,85 ~ 100 min 时间段收集样品溶液,经 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,计算各样品中盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷、酚红的含量。依次剪取各肠段,量取内径和长度。十二指肠段为距幽门

下方 1 cm 处开始量取 10 cm,空肠段为距幽门 15 cm 处开始量取 10 cm,回肠段为距盲肠上方 20 cm 处开始量取 10 cm,结肠段为紧邻盲肠处开始量取 10 cm^[13]。

2.4 色谱条件 Zorbax C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水(含

0.05% 三乙胺)(B)梯度洗脱(0~20 min,5%~15% A;20~40 min,15%~20% A;40~50 min,20%~30% A;50~60 min,30%~5% A),盐酸小檗碱、酚红检测波长均为 254 nm,黄芩苷、栀子苷检测波长分别为 280,238 nm,流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量 10 μL,见图 1。



A. 空白样品;B,C,D. 对照品;E. 含酚红的肠灌液;F. 供试品;1. 栀子苷;2. 酚红;3. 黄芩苷;4. 盐酸小檗碱

图 1 黄连解毒汤肠灌液 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of intestinal perfusate of Huanglian Jiedu Tang

2.5 方法学考察

2.5.1 标准曲线制备 用空白肠灌液配置含盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷质量浓度均为 3.91, 7.81,15.63,32.25,62.5,125,250 mg·L⁻¹,同时含酚红质量浓度分别为 0.875,1.75,2.5,5,10,20,40 mg·L⁻¹的系列溶液,过 0.45 μm 滤膜,取续滤液,按 2.4 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷、酚红回归方程分别为 $Y = 10.308X + 51.585$ ($r = 0.9996$), $Y = 4.871X + 27.175$ ($r = 0.9996$), $Y = 14.970X - 23.916$ ($r = 0.9997$), $Y = 27.879X - 20.381$ ($r = 0.9996$),3 个指标成分的线性范围均为 3.91~250 mg·L⁻¹,酚红线性范围 0.88~40 mg·L⁻¹。

2.5.2 加样回收率试验 用空白肠灌液配置低、中、高质量浓度的混合对照品溶液(盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷质量浓度均为 7.81,31.25,125 mg·L⁻¹,同时酚红质量浓度依次为 1.75,5,20 mg·L⁻¹),按 2.4 项下色谱条件测定($n = 3$),计算盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷、酚红的平均加样回收率分别为 99.19%,98.97%,98.75%,99.89%,RSD 依次为 0.6%,0.6%,0.9%,1.2%。

2.5.3 稳定性考察 用盐酸和氢氧化钠溶液调空白 Krebs-Ringer 溶液(K-R 液)pH 分别为 5.5,6.0,6.5,7.0,用不同 pH 的空白 K-R 液配制 2.5.1 项下低、中、高质量浓度的对照品溶液,置于密闭容器中,

于 37 ℃ 水浴中放置,分别于 3 h 按 2.4 项下色谱条件测定,结果表明盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷、酚红在不同 pH 的 K-R 液中稳定性不一致,考虑到组分的稳定性和肠道环境,选取 pH 6.0 的 K-R 缓冲液。

2.6 数据分析 运用酚红法校正灌液流入和流出的体积,以排除灌液体积变化对试验的影响,出口处样品质量浓度按公式 $C_{校正} = C_{出口} C_{酚红-入口} / C_{酚红-出口}$ 校正。计算各单体成分有效渗透系数(P_{eff})和吸收速率常数(K_a)。式中 $C_{校正}$ 和 $C_{出口}$ 分别表示出口处校正后各单体成分质量浓度和实际测得的各单体成分质量浓度, $C_{入口}$ 表示灌流液中各单体成分质量浓度; $C_{酚红-入口}$ 和 $C_{酚红-出口}$ 分别表示入口处和出口处酚红质量浓度; v 表示灌流液的流速; L 和 r 分别表示各肠段长度和内径。应用统计软件 SPSS 16.0 分析处理数据, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异^[13]。

$$P_{eff} = v \ln(C_{出口} / C_{校正}) / 2\pi r L$$
$$K_a = (1 - C_{校正} / C_{出口}) / \pi r^2 L$$

2.7 黄连解毒汤在大鼠不同肠段中吸收参数 不同质量浓度的黄连解毒汤在正常和脑缺血大鼠各肠段间的吸收参数见表 1~3。结果表明正常组中盐酸小檗碱在整个肠段吸收均较差,在结肠段吸收较好;黄芩苷在全肠段均可以被吸收,但吸收均较差,无特殊吸收窗;栀子苷在整个肠段均有吸收,无特殊吸收窗,其中十二指肠或空肠段吸收较好。与正常

组比较,在脑缺血模型动物组中,各质量浓度的盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷在不同肠段的肠吸收均有一定程度增加,其中盐酸小檗碱在十二指肠、空肠有显著性增加;黄芩苷在全部肠段的肠吸收均有显著性增加;栀子苷在空肠、回肠、结肠有显著性增加。在

正常组和模型组中,低质量浓度黄连解毒汤的肠吸收结果均优于中、高质量浓度的样品。提示黄连解毒汤与脑缺血病症间存在方证对应关系,这种方证对应的关系与动物对黄连解毒汤中主要药效成分的肠吸收密切相关。

表 1 低浓度黄连解毒汤中指标成分在大鼠各肠段的吸收情况 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Absorption of index components from Huanglian Jiedu Tang in various rat intestinal segments with low concentration($\bar{x} \pm s, n = 5$)											
成分	质量浓度 /mg·L ⁻¹	组别	十二指肠		空肠		回肠		结肠		
			$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	
			/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	
盐酸小檗碱	22.73	正常	0.23 ± 0.007 ¹⁾	0.16 ± 0.076 ¹⁾	0.23 ± 0.007 ¹⁾	0.015 ± 0.006 ¹⁾	0.29 ± 0.002	0.056 ± 0.057	0.34 ± 0.015 ^{2,3)}	0.09 ± 0.047 ^{2,3)}	
		模型	0.29 ± 0.013 ⁴⁾	0.19 ± 0.037	0.28 ± 0.021 ⁴⁾	0.49 ± 0.009 ⁴⁾	0.32 ± 0.018 ⁴⁾	0.14 ± 0.057 ⁴⁾	0.36 ± 0.023	0.09 ± 0.039	
黄芩苷	27.16	正常	0.07 ± 0.007	0.02 ± 0.001	0.06 ± 0.013	0.03 ± 0.001	0.07 ± 0.002	0.03 ± 0.002	0.06 ± 0.010	0.01 ± 0.004	
		模型	0.13 ± 0.018 ⁴⁾	0.10 ± 0.021 ⁴⁾	0.19 ± 0.006 ⁴⁾	0.11 ± 0.009 ⁴⁾	0.17 ± 0.021 ⁴⁾	0.09 ± 0.026 ⁴⁾	0.10 ± 0.018 ⁴⁾	0.11 ± 0.013 ⁴⁾	
栀子苷	8.70	正常	0.36 ± 0.019 ^{1,2)}	0.08 ± 0.024 ^{1,2)}	0.34 ± 0.013 ^{1,2)}	0.06 ± 0.011 ^{1,2)}	0.20 ± 0.025 ³⁾	0.029 ± 0.003 ³⁾	0.22 ± 0.017 ³⁾	0.031 ± 0.004 ³⁾	
		模型	0.39 ± 0.021	0.11 ± 0.013	0.40 ± 0.025 ⁴⁾	0.14 ± 0.011 ⁴⁾	0.30 ± 0.029 ⁴⁾	0.12 ± 0.009 ⁴⁾	0.32 ± 0.023 ⁴⁾	0.17 ± 0.011 ⁴⁾	

注: ¹⁾与结肠中正常组比较 $P < 0.05$, ²⁾与回肠中正常组比较 $P < 0.05$, ³⁾与空肠中正常组比较 $P < 0.05$, ⁴⁾与对应肠段中正常组比较 $P < 0.05$ 。表 2,3 同。

表 2 中浓度黄连解毒汤中指标成分在大鼠各肠段中吸收情况 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Absorption of index components from Huanglian Jiedu Tang in various rat intestinal segments with medium concentration($\bar{x} \pm s, n = 5$)											
成分	质量浓度 /mg·L ⁻¹	组别	十二指肠		空肠		回肠		结肠		
			$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	
			/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	
盐酸小檗碱	48.65	正常	0.22 ± 0.011 ¹⁾	0.10 ± 0.001	0.24 ± 0.008 ¹⁾	0.09 ± 0.009 ¹⁾	0.28 ± 0.007	0.11 ± 0.006	0.32 ± 0.039 ^{2,3)}	0.14 ± 0.013 ^{2,3)}	
		模型	0.29 ± 0.013 ⁴⁾	0.08 ± 0.026	0.30 ± 0.017 ⁴⁾	0.16 ± 0.005 ⁴⁾	0.31 ± 0.024	0.13 ± 0.016	0.37 ± 0.010	0.13 ± 0.036	
黄芩苷	69.60	正常	0.06 ± 0.013	0.03 ± 0.002	0.04 ± 0.010	0.04 ± 0.010	0.05 ± 0.010	0.03 ± 0.009	0.05 ± 0.015	0.04 ± 0.013	
		模型	0.09 ± 0.033 ⁴⁾	0.06 ± 0.014 ⁴⁾	0.16 ± 0.019 ⁴⁾	0.07 ± 0.023 ⁴⁾	0.17 ± 0.021 ⁴⁾	0.08 ± 0.011 ⁴⁾	0.13 ± 0.009 ⁴⁾	0.09 ± 0.002 ⁴⁾	
栀子苷	14.79	正常	0.31 ± 0.004 ^{1,2)}	0.11 ± 0.004 ^{1,2)}	0.30 ± 0.015 ^{1,2)}	0.09 ± 0.0152)	0.19 ± 0.0183)	0.04 ± 0.0063)	0.21 ± 0.0363)	0.05 ± 0.0113)	
		模型	0.40 ± 0.018 ⁴⁾	0.14 ± 0.011	0.41 ± 0.024 ⁴⁾	0.14 ± 0.039 ⁴⁾	0.27 ± 0.009 ⁴⁾	0.07 ± 0.013 ⁴⁾	0.29 ± 0.019 ⁴⁾	0.06 ± 0.031	

表 3 高浓度黄连解毒汤中指标成分在大鼠各肠段的吸收情况 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Absorption of index components from Huanglian Jiedu Tang in various rat intestinal segments with high concentration($\bar{x} \pm s, n = 5$)											
成分	质量浓度 /mg·L ⁻¹	组别	十二指肠		空肠		回肠		结肠		
			$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	$P_{\text{eff}} \times 10^{-4}$	$K_a \times 10^{-3}$	
			/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	/cm·s ⁻¹	/s ⁻¹	
盐酸小檗碱	73.86	正常	0.13 ± 0.003 ¹⁾	0.02 ± 0.001	0.16 ± 0.008 ¹⁾	0.04 ± 0.008	0.23 ± 0.008 ¹⁾	0.03 ± 0.008	0.31 ± 0.006 ^{2,3)}	0.03 ± 0.006 ^{2,3)}	
		模型	0.26 ± 0.027 ⁴⁾	0.06 ± 0.001 ⁴⁾	0.25 ± 0.014 ⁴⁾	0.09 ± 0.003 ⁴⁾	0.29 ± 0.006	0.09 ± 0.024	0.33 ± 0.026	0.11 ± 0.019	
黄芩苷	83.17	正常	0.06 ± 0.012	0.03 ± 0.001	0.05 ± 0.004	0.02 ± 0.001	0.06 ± 0.005	0.01 ± 0.005	0.04 ± 0.004	0.02 ± 0.013	
		模型	0.13 ± 0.009 ⁴⁾	0.10 ± 0.021 ⁴⁾	0.10 ± 0.016 ⁴⁾	0.11 ± 0.016 ⁴⁾	0.12 ± 0.021 ⁴⁾	0.13 ± 0.012 ⁴⁾	0.09 ± 0.023 ⁴⁾	0.09 ± 0.003 ⁴⁾	
栀子苷	21.31	正常	0.25 ± 0.012 ^{1,2)}	0.08 ± 0.012 ^{1,2)}	0.28 ± 0.028 ^{1,2)}	0.06 ± 0.016 ²⁾	0.17 ± 0.0143)	0.03 ± 0.0133)	0.16 ± 0.0113)	0.04 ± 0.0043)	
		模型	0.35 ± 0.008 ⁴⁾	0.11 ± 0.030 ⁴⁾	0.34 ± 0.015 ⁴⁾	0.09 ± 0.027	0.22 ± 0.007 ⁴⁾	0.06 ± 0.002 ⁴⁾	0.20 ± 0.023	0.06 ± 0.029	

3 讨论

中药肠吸收研究主要集中在单一活性成分,而

关于中药整体或复方的研究甚少,主要原因为中药及其复方成分复杂、有效成分含量较低(难以分

离)、肠吸收对药物溶液的纯度和澄清度要求很高^[15]。单一活性成分肠吸收动力不能完全代表整个中药及其复方的肠吸收情况。黄芩苷在酸性条件下较稳定,在趋碱性溶液中极不稳定,易降解生成黄芩素,故本文仅考察酸性条件下样品的稳定性,并对出口灌流液及时进行酸化,防止黄芩苷降解。为了保证复方用药的整体性,本文将黄连解毒汤干粉直接加入灌流液中溶解,盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷在灌流液中溶解度不一致,且易受到可溶性的其他成分和沉淀影响,因此低、中、高质量浓度复方灌流液中指标性成分含量不与干粉质量成比例。

小肠是口服制剂的主要吸收部位,肠内上皮细胞及肠道酶菌系统是吸收的主要屏障,研究中药肠吸收动力学可以了解肠内酶及其细胞的屏障作用对药物吸收的影响^[15]。通过 Caco-2 细胞模型研究发现,盐酸小檗碱为被动扩散,可能受 *P*-糖蛋白的影响,不存在细胞旁路转运;黄芩苷主要为被动扩散,可能是多药耐药相关蛋白 2 的底物;栀子苷为被动扩散,可能存在细胞旁路转运^[16]。大鼠在脑缺血的病理状态下,可能是因为肠内上皮细胞屏障作用的减弱及改变上皮细胞中转运蛋白的活性来增加对黄连解毒汤中指标成分的肠吸收。此外病理状态下的肠道菌群改变亦可影响复方药效成分的肠吸收,有待于研究确认。

本文考察了黄连解毒汤主要药效成分在正常及脑缺血状态下的肠吸收特征,结果显示在脑缺血模型大鼠体内主要药效成分的吸收效果要明显优于正常组,这种差异应该是与脑缺血证相联系的,为临床应用黄连解毒汤治疗脑缺血疾病的合理性提供实验依据,反映了中医理论的方证对应思想。中药复方的肠吸收药动学研究极为复杂,结合相应的证能真实的反应复方方证对应的体内肠吸收的特征及差异,对于阐明复方的药效物质基础及机制具有重要意义。

[参考文献]

[1] 张仲景. 伤寒论. 第六卷[M]. 贵阳:贵州教育出版社,2010: 163.

[2] 周盼盼,王彦刚. 基于中药药效-药动学的中医药方证相应理论的研究进展[J]. 中草药,2013,44(22): 3236-3240.

[3] 付晓春,王敏伟,彭亮. 黄连解毒胶囊防治脑缺血的药效学[J]. 沈阳药科大学学报,2003, 20(1): 41-44.

[4] 张占军,王忠,李澎涛,等. 磁共振 DWI 技术在栀子苷、胆酸及配伍治疗脑缺血大鼠研究中的应用[J]. 中国中西医结合杂志,2006,26(4):332-336.

[5] 吴俊芳,刘少林,潘鑫鑫,等. 小檗碱对培养大鼠神经细胞“缺血”性损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报,1999,15(3):243-246.

[6] 刘萍,王菊英,李倩,等. 黄芩苷对脑缺血-再灌注损伤大鼠神经细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 中国新药与临床杂志,2007,26(2):109-114.

[7] 曾明飞,潘林梅,朱华旭,等. 黄连解毒汤中栀子苷在正常及脑缺血大鼠体内药动学研究[J]. 中草药,2010,41(4): 617-620.

[8] 朱华旭,张新龙,曾明飞,等. 黄连解毒汤中小檗碱在脑缺血模型大鼠体内药动学与药效学相关性研究[J]. 中草药,2012,43(3):546-551.

[9] Zeng M F, Pan L M, Zhu H X, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin in plasma after oral administration of Huang-Lian-Jie-Du-Tang or pure baicalin in MCAO and sham-operated rats [J]. Fitoterapia,2010,81(6):490-496.

[10] 朱继,万东,唐文渊. 改良线栓法制备大鼠局灶脑缺血模型[J]. 第四军医大学学报,2008, 29(8): 685-687.

[11] 王文哲,周静,郭立玮,等. 黄连解毒汤中小檗碱及其他成分模拟组合在脑缺血大鼠体内药动学比较研究[J]. 中草药,2014,45(1):64-68.

[12] 谭杰,李承晏,李涛,等. 局灶性脑梗死模型大鼠相对体质量、Bederson 评分与梗死类型的鉴别[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(37):6875-6878.

[13] 张燕,朱华旭,郭立玮. 在体单向肠灌流模型研究小檗碱及其在复方配伍环境中的大鼠肠吸收特性[J]. 药学报,2012,47(2):233-238.

[14] 钱智磊,李欢,朱华旭,等. 黄连解毒汤中指标性成分药动学与药效学相关性的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):122-128.

[15] 朱容慧,赵军宁,毕岳琦,等. 中药肠吸收动力学的研究进展[J]. 药物评价研究,2010,33(1):25-29.

[16] 张燕. 在体单向肠灌流与 Caco-2 细胞模型研究黄连解毒汤主要指标成分及其在复方配伍环境中的肠吸收机理[D]. 南京:南京中医药大学,2012.

[责任编辑 刘德文]