

# 黄连与吴茱萸不同配比中 黄连主要生物碱在家兔体内药动学研究

孙冬梅, 黄雪君\*, 罗文汇  
(广东省中医研究所, 广州 510095)

**[摘要]** 目的: 采用 LC/MS 法测定家兔血浆中小檗碱、巴马汀及药根碱含量, 并探讨其在家兔体内的药动学过程。方法: 家兔分成 3 组, 分别口服给予不同配比黄连吴茱萸 0.84, 1.26, 2.94 g·kg<sup>-1</sup> 后不同时间点采血, LC-MS 法测定血药浓度, 并计算其药动学参数。结果: 家兔口服给予不同配比黄连吴茱萸 0.84, 1.26, 2.94 g·kg<sup>-1</sup> 后, 用房室模型计算药动学参数, 小檗碱的 AUC<sub>0-1</sub> 平均值为 3 762, 4 456, 4 823 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; t<sub>1/2α</sub> 平均值为 51.33, 38.93, 39.02 min; t<sub>1/2β</sub> 平均值为 6.69 × 10<sup>6</sup>, 0.45 × 10<sup>6</sup>, 4.77 × 10<sup>6</sup> min; C<sub>max</sub> 平均值为 6.47, 6.65, 7.64 μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> 均为 90 min。巴马汀的 AUC<sub>0-1</sub> 平均值为 2 291, 2 635, 3 069 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; t<sub>1/2α</sub> 平均值 43.16, 46.95, 50.57 min; t<sub>1/2β</sub> 平均值 3 440, 3 598, 2 788 min; C<sub>max</sub> 平均值为 3.41, 4.83, 5.32 μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> 均为 90 min。药根碱的 AUC<sub>0-1</sub> 平均值为 521, 429, 806 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; t<sub>1/2α</sub> 平均值为 59.53, 254.06, 43.42 min; t<sub>1/2β</sub> 平均值为 9 700, 259, 1 348 min; C<sub>max</sub> 平均值为 0.78, 1.16, 1.51 μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> 均为 90 min。结论: 小檗碱、巴马汀药动学变化趋势较为相似, 峰值血药浓度和生物利用度均随黄连配比的增加而增加, 而药根碱无明显变化趋势。

**[关键词]** 小檗碱; 巴马汀; 药根碱; LC-MS; 药代动力学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0170-04

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120313.1301.006 **[网络出版时间]** 2012-03-13 13:01

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120313.1301.006.html>

## The Pharmacokinetics Study on Major Coptis Alkaloids in Rabbits Plasma after Oral Administration of Different Ratio of Coptidis Rhizoma and Euodiae Fructus

SUN Dong-mei, HUANG Xue-jun\*, LUO Wen-hui

(Guangdong Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

**[Abstract]** **Objective:** The LC-MS method was used to determine the content of major coptis alkaloids in rabbits plasma simultaneously and to investigate pharmacokinetics of berberine, palmatin and jatrorrhizine. **Method:** Blood samples were collected at different time after oral administration of different ratio of Coptidis Rhizoma and Euodiae Fructus. The plasma concentration of berberine, palmatin and jatrorrhizine was determined by LC-MS. **Result:** The pharmacokinetics parameters were calculated by two-compartment model, AUC<sub>0-1</sub>, t<sub>1/2α</sub>, t<sub>1/2β</sub>, C<sub>max</sub> of berberine were: 3 762, 4 456, 4 823 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; 51.33, 38.93, 39.02 min; 6.69 × 10<sup>6</sup>, 0.45 × 10<sup>6</sup>, 4.77 × 10<sup>6</sup> min; 6.47, 6.65, 7.64 μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> was all at 90 min. The pharmacokinetics parameters AUC<sub>0-1</sub>, t<sub>1/2α</sub>, t<sub>1/2β</sub>, C<sub>max</sub> of palmatin were: 2 291, 2 635, 3 069 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>; 43.16, 46.95, 50.57 min; 3 440, 3 598, 2 788 min; 3.41, 4.83, 5.32 μg·L<sup>-1</sup>; T<sub>max</sub> was all at 90 min. The pharmacokinetics parameters AUC<sub>0-1</sub>, t<sub>1/2α</sub>, t<sub>1/2β</sub>, C<sub>max</sub> of jatrorrhizine were: 521, 429, 806 μg·L<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>;

**[收稿日期]** 20110812(002)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873369)

**[第一作者]** 孙冬梅, 主任中药师, 从事中药质量评价研究, Tel:020-83482683, E-mail: tcmgdp@163.com

**[通讯作者]** \* 黄雪君, 主管中药师, Tel:020-83576735, E-mail: sharon510@126.com

59.53, 254.06, 43.42 min; 9 700, 259, 1 348 min; 0.78, 1.16, 1.51  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $T_{\text{max}}$  was all at 90 min.

**Conclusion:** The relationship between ratio of Coptis and AUC showed a good linearity.

[ **Key words** ] berberine; palmatin; jatrorrhizine; LC-MS; pharmacokinetics

黄连与吴茱萸配伍是中医寒热配伍药对的代表之一,亦是现代临床的常用药对之一,具有良好的临床疗效,和广泛的使用范围,黄连、吴茱萸不同配伍,其功能主治亦不相同。目前对小檗碱的药代动力学研究报道较多,涉及到单体、复方给药等形式,但对黄连中的其他生物碱类成分药代动力学报道较少,本文以黄连吴茱萸不同配比家兔 ig 后,采用 LC/MS 法测定小檗碱、巴马汀及药根碱在血浆中的浓度,进而探讨三者在家兔的体内动力学过程。

## 1 材料

**1.1 供试品** 黄连,为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎;吴茱萸,为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth 的干燥果实,经广东省中医研究所刘法锦教授鉴定。取黄连、吴茱萸一定量,精密称定,置于圆底烧瓶中,第 1 次加 8 倍量水,第 2、3 次分别加 4 倍量水,沸腾后计时,每次 1 h,合并 3 次水煎液,浓缩并真空干燥,制成黄连:吴茱萸 1:1、黄连:吴茱萸 2:1 和黄连:吴茱萸 6:1 3 个配比的供试品浸膏粉,按需要配成合适质量浓度药液进行以下实验。

**1.2 试剂** 乌拉坦,国药集团化学试剂有限公司,批号 T20080917;盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200609)、盐酸药根碱(110733-200806)、盐酸巴马汀(110732-200506)购于中国药品生物制品检定所;甲醇、冰乙酸:MERCK 色谱纯;高纯氮气:纯度 > 99.999%;高纯氩气:纯度 > 99.999%;水为超纯水。

**1.3 动物** SPF 级新西兰兔,雌性,体重 2.5 ~ 3 kg,由广东省实验动物中心提供,实验动物生产许可证号 SCXK(粤)2008-0002。实验动物合格证号 0079294。

**1.4 仪器** DDBT-201 型智能蠕动泵(上海之信仪器有限公司),Accela 高效液相系统,TSQ Quantum Access Max 三重四极杆质谱检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),TDL-5-L 台式离心机(上海安亭),HSC-12A 氮吹仪(天津 Hengao)。

## 2 方法

**2.1 色谱条件** Hypersil GOLD  $C_{18}$  色谱柱(50 mm × 2.1 mm, 3  $\mu\text{m}$ );柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;流动相甲醇-0.01% 乙酸(20:80);流速 0.2  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;进样量 10  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件:高温电喷雾离子源(HESI 源);正离子选择反应监测(SRM);喷雾电压 2.8 kV;喷雾温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ;毛细管温度 300  $^{\circ}\text{C}$ ;鞘气压力 35 Pa;辅助气流速 5 arb;用于定量分析的离子对为 336.122 → 320.135(26 Hz), 352.163 → 336.181(29 Hz) 和 338.170 → 307.215(39 Hz)。

**2.2 对照品储备液的配制** 用 40% 甲醇溶液配制含盐酸小檗碱(397.72  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),盐酸巴马汀(396.94  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和盐酸药根碱(399.36  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )的生物碱对照储备液,置 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存,使用时用 40% 甲醇水溶液稀释至所需浓度。

**2.3 血浆样品的处理** 精密吸取血浆样品 0.4 mL,加甲醇 1 mL,摇匀,离心(3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min),离心后倾出上清液,上清液加甲醇 1 mL,摇匀,离心(3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min),倾出上清液,上清液用氮吹仪吹干,残渣加 40% 甲醇水溶液溶解并定容于 1 mL 量瓶中,过 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜,滤液作为供试品溶液。

**2.4 标准曲线的制备** 用 40% 甲醇水溶液将对照储备液稀释成含盐酸小檗碱(1.243, 2.486, 4.971, 9.943, 19.886  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )、盐酸巴马汀(1.240, 2.481, 4.962, 9.924, 19.847  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和盐酸药根碱(1.248, 2.496, 4.992, 9.984, 19.968  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )系列质量浓度的生物碱对照品溶液,以待测物浓度( $C$ )为自变量( $X$ ),峰面积  $A$  为因变量( $Y$ ),进行线性回归分析,得到的直线回归方程为:

盐酸小檗碱:  $Y = 2.3822 \times 10^6 + 2.6496 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9994$ , 线性范围为 1.243 ~ 19.886  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;

盐酸巴马汀:  $Y = -6.00967 \times 10^6 + 6.05678 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9994$ , 线性范围为 1.240 ~ 19.847  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;

盐酸药根碱:  $Y = 531714 + 2.09745 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9995$ , 线性范围为 1.248 ~ 19.968  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.5 精密度试验** 将生物碱对照储备液准确配制成低、中、高 3 个质量浓度[含盐酸小檗碱(1.243, 9.943, 19.886  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )、盐酸巴马汀(1.240, 9.924, 19.847  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和盐酸药根碱(1.248, 9.984, 19.968  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )]的溶液,每个浓度平行配制 6 份,按 HPLC-MS 条件进行分析,计算日内精密度,连续 3 d 配制并测定上述浓度样品,每天随行做标准曲

线,并以当日的标准曲线计算样品的浓度。将结果进行方差分析,计算日内精密度和日间精密度。低、中、高 3 个浓度日内精密度及日间精密度 RSD 均 < 10%。

**2.6 样品稳定性试验** 用空白血浆配制 3 个不同质量浓度[含盐酸小檗碱(1.243,9.943,19.886  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )、盐酸巴马汀(1.240,9.924,19.847  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和盐酸药根碱(1.248,9.984,19.968  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )]的样品,进行稳定性试验。结果在 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下保存 1 周稳定性良好,RSD 均 < 10%。

**2.7 质控样品** 用空白血浆配制 [含盐酸小檗碱(1.243,9.943,19.886  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )、盐酸巴马汀(1.240,9.924,19.847  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )和盐酸药根碱(1.248,9.984,19.968  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )]样品各 3 份,每份进样分析 2 次,在每批样品测试中作为质控样品和标准曲线进行随行测定,结果质控样品的实际测定结果与真实值接近。

**2.8 分组及给药** 取家兔随机分成 3 组:黄连:吴茱萸 1:1,2:1,6:1 组,每组 3 只,给药量分别为 0.84,1.26,2.94  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。实验前各组动物禁食不禁水 12 h。家兔 iv 25% 乌拉坦 4  $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$  麻醉后,分离一侧颈总动脉,插管固定,各组动物 ig 给药,均于给药前和给药后在固定时间点自颈总动脉采集 1 mL 血样,肝素抗凝,3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min 得血浆样品,各样品进行相应处理后 LC-MS 测定药物浓度。

**2.9 药代动力学分析** 测试样品直接注入色谱仪中,按上述液-质条件进样检测,得出样品药物浓度。对盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱的血药浓度数据进行房室模型判别,并计算出  $t_{1/2}$ , CL, AUC,  $T_{\text{max}}$ ,  $C_{\text{max}}$  等药动学参数。

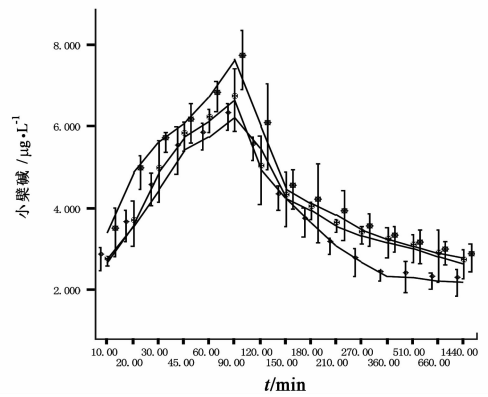
**2.10 统计学方法** 血药浓度数据用软件 DAS2.0 分析,药动学参数用 SPSS 15.0 软件统计进行方差分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

### 3 结果

黄连吴茱萸 3 个不同配比给药后,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀与盐酸药根碱的血药浓度-时间曲线见图 1~3,用 DAS2.0 药动学软件处理,房室模型拟合 3 者均为二室模型,体内分布无显著差异;3 者在家兔体内的主要药动学参数,见表 1~3。

### 4 讨论

根据最小 AIC 判断法和曲线拟合优度原则,对血药浓度数据进行拟合,并进行房室模型判别,结果表明:小檗碱、巴马汀及药根碱属二室模型吸收;小



—●— 黄连吴茱萸 1:1; —▲— 黄连吴茱萸 2:1;  
—■— 黄连吴茱萸 6:1; (图 2~3 同)

图 1 黄连与吴茱萸不同配比中小檗碱药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

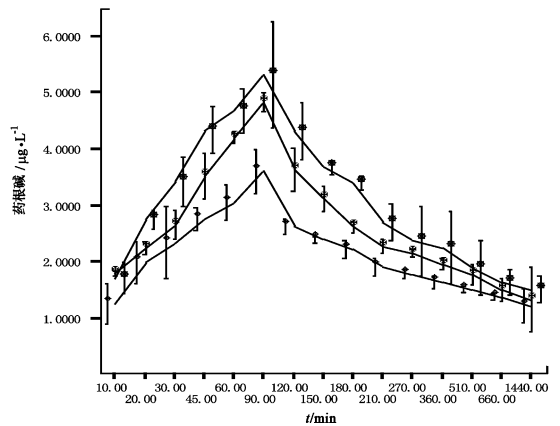


图 2 黄连与吴茱萸不同配比中巴马汀药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

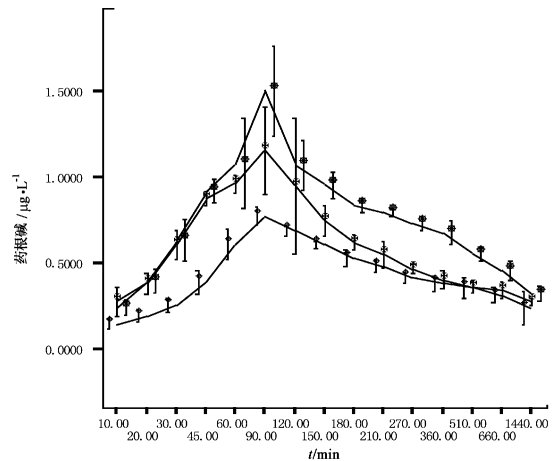


图 3 黄连与吴茱萸不同配比中药根碱药-时曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

檗碱、巴马汀及药根碱在家兔体内的药时过程随黄连吴茱萸配比不同而有波动,小檗碱与巴马汀的 AUC 增长与黄连比例高低之间具有线性关系。

小檗碱、巴马汀及药根碱为黄连主要有效组分,3 者结构极其相似,巴马汀与小檗碱在吸收形式和吸收特征<sup>[1]</sup>上、药根碱与小檗碱在功能上极为相

表1 黄连与吴茱萸不同配比中小檗碱的血浆动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	$T_{max}$ /min	$C_{max}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$t_{1/2\alpha}$ /min	$t_{1/2\beta}$ / $\times 10^6 \text{ min}$	$CL/\times 10^3$ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	$AUC_{0-1}/\times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$AUC_{0-\infty}/\times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
黄吴 1:1	90	6.47 ± 0.35	51.33 ± 13.79	6.69 ± 1.79	1.04 ± 0.11	3.76 ± 0.68	17.86 ± 5.61
黄吴 2:1	90	6.65 ± 0.41	38.93 ± 12.38	0.45 ± 0.16	1.11 ± 0.12	4.46 ± 0.70	15.99 ± 3.82
黄吴 6:1	90	7.64 ± 0.42	39.02 ± 10.53	4.77 ± 1.42	0.17 ± 0.015	4.82 ± 0.55	46.26 ± 8.15

\* 黄吴为黄连吴茱萸简写(表2~3同)。

表2 黄连与吴茱萸不同配比中巴马汀的血浆动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	$T_{max}$ /min	$C_{max}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$t_{1/2\alpha}$ /min	$t_{1/2\beta}$ / $\times 10^3 \text{ min}$	$CL/\times 10^3$ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	$AUC_{0-1}/\times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$AUC_{0-\infty}/\times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
黄吴 1:1	90	3.41 ± 0.47	43.16 ± 9.55	3.44 ± 0.67	5.37 ± 0.38	2.29 ± 0.39	4.03 ± 0.71
黄吴 2:1	90	4.83 ± 0.65	46.95 ± 11.15	3.60 ± 1.08	4.75 ± 0.55	2.64 ± 0.52	4.13 ± 0.43
黄吴 6:1	90	5.32 ± 0.71	50.57 ± 5.75	2.79 ± 0.32	3.25 ± 0.49	3.07 ± 0.46	7.47 ± 0.98

表3 黄连与吴茱萸不同配比中药根碱的血浆动力学参数( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	$T_{max}$ /min	$C_{max}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$t_{1/2\alpha}$ /min	$t_{1/2\beta}$ / $\times 10^3 \text{ min}$	$CL/\times 10^3$ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	$AUC_{0-1}/10^2$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	$AUC_{0-\infty}/\times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$
黄吴 1:1	90	0.78 ± 0.12	59.53 ± 11.68	9.70 ± 1.37	13.23 ± 2.93	5.21 ± 0.64	1.59 ± 0.55
黄吴 2:1	90	1.16 ± 0.59	254.06 ± 12.49	0.26 ± 0.07	39.12 ± 3.98	4.29 ± 0.67	0.52 ± 0.03
黄吴 6:1	90	1.51 ± 0.74	43.42 ± 15.85	1.35 ± 0.14	18.03 ± 3.86	8.06 ± 1.14	1.10 ± 0.17

似。现代研究表明,小檗碱、巴马汀及药根碱3种有效组分药动学过程不仅受黄连自身组分的影响,也与黄连吴茱萸的配伍和剂量配比有关。由此实验结果可知,随着药对中黄连剂量的增加,小檗碱  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-1}$  和  $AUC_{0-\infty}$  呈增加趋势,推测可能是由于吴茱萸比例的减少,小檗碱、巴马汀、药根碱溶出量的持续增加,黄连有效组分生物利用度和血浆峰值浓度不断增加;由于巴马汀与小檗碱吸收特征极其相似,因此巴马汀生物利用度和峰值血药浓度也随药对中黄连配比的增加而增加,但由于巴马汀在原药含较小檗碱低,其生物利用度较小檗碱小;药根碱由于含量较小檗碱和巴马汀更低,则更易受药对中其他有效组分的影响,其药动学随药对中黄连配比增加而改变的趋势较为紊乱,无明显的变化趋势,其确切的机制尚有待进一步证实。此外,由于峰值血药浓度、体内分布、3种有效组分与其代谢影响组分的配比的差异,3种有效组分的消除代谢过程很大程度上有可能取决于其他组分的代谢调控,因此3种有效组分消除的药动学参数( $t_{1/2\alpha}$ ,  $t_{1/2\beta}$  和  $CL$ )变化无明确的规律,并不随药对中黄连配比的增加而增加或减少。

本试验得出的小檗碱、巴马汀及药根碱在体内的药动学过程与文献报道有异同之处<sup>[2-8]</sup>,分析其原因可能为药物组成、剂型、给药途径以及种属差异等。

## 【参考文献】

[1] 谭晓梅,郭友立,钟玉飞. 黄连提取物中盐酸小檗碱及

药根碱大鼠在体肠吸收特征的研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(6):755.

[2] 赵玉男,邢东明,丁怡,等. 解热药 YL2000 中小檗碱在正常和发热大鼠体内的药物动力学比较[J]. 中国药理学通报,2003,19(10):1170.

[3] 林志平,林力,郑晓鹤,等. 不同粒径黄连粉在大鼠体内药代动力学的研究[J]. 中医药学刊,2004,22(5):835.

[4] Wang X, Wang R, Xing D, et al. Kinetic difference of berberine between hippocampus and plasma in rat after intravenous administration of Coptidis rhizoma extract [J]. Life Sci,2005,77(24):3058.

[5] Lu T, Liang Y, Song J, et al. Simultaneous determination of berberine and palmatine in rat plasma by HPLC-ESI-MS after oral administration of traditional Chinese medicinal preparation Huang-Lian-Jie-Du decoction and the pharmacokinetic application of the method [J]. J Pharm Biomed Anal,2006,40(5):1218.

[6] Zuo F, Nakamura N, Akao T, et al. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry [J]. Drug Metab Dispos,2006,34(12):2064.

[7] 孟斌,张振秋. 黄连与厚朴配伍对盐酸小檗碱在大鼠体内药动学的影响[J]. 中成药,2009,31(6):943.

[8] 鲍天冬,李玉洁,杨庆,等. LC/MS 测定大鼠 ig 黄连提取物后血浆中小檗碱、巴马汀及其药物动力学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):186.

【责任编辑 聂淑琴】