

大承气汤中大黄酸在大鼠体内的药动学研究

韩刚, 肖倩, 索炜, 刘莉, 康欣, 王彦雪
(河北联合大学药学院, 河北 唐山 063000)

[摘要] **目的:** 研究大鼠灌胃给予大黄及大承气汤后, 大黄酸在大鼠体内药动学过程。**方法:** 大鼠分别灌胃给予大黄及大承气汤, 高效液相色谱法测定大黄酸经时血药浓度变化。色谱柱为 Diomansil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水-冰醋酸 (77:22:1), 检测波长 428 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。血药浓度-时间数据用 3P97 药动学软件处理。**结果:** 大黄酸血药浓度在 1.0 ~ 15 mg·L⁻¹ 线性关系良好。大鼠灌胃给予大黄及大承气汤后大黄酸血浆浓度-时间曲线均符合二房室模型, 大黄及大承气汤的主要药动学参数 AUC 和 C_{max} 均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。**结论:** 大承气汤中大黄与其他成分配伍后, 使大黄酸在大鼠体内的血药浓度降低。

[关键词] 大承气汤; 大黄; 大黄酸; 药动学; HPLC

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0137-04

Pharmacokinetics of Rhein in Dachengqi Decoction in Rats

HAN Gang, XIAO Qian, SUO Wei, LIU Li, KANG Xin, WANG Yan-xue
(Pharmaceutical College of Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the pharmacokinetics of rhein rats were given of Radix et Rhizoma Rhei and Dachengqi Decoction. **Method:** Radix et Rhizoma Rhei group were given a single dose of Radix et Rhizoma Rhei and Dachengqi Decoction group were given Dachengqi Decoction. The plasma concentration of rhein was measured by HPLC. Diomansil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used as analytical column. The mobile phase consisted of methanol-water-acetic acid (77:22:1), and the wavelength of detection was set at 428 nm. Plasma concentration-time data were analysed with the 3P97 pharmacokinetic software. **Result:** The linear ranges of rhein were from 1.0 to 15 mg·L⁻¹. The concentration-time curves of rhein were fitted to the two compartment models in rats. The main pharmacokinetic parameters of the concentration-time curves and the maximum plasma concentration were significant difference between the Radix et Rhizoma Rhei groups and Dachengqi Decoction group after administrated the same dosage of rhein in rats ($P < 0.05$). **Conclusion:** It was decreased the concentration of rhein in plasma when Radix et Rhizoma Rhei compatibility with other chinese medicine in Dachengqi Decoction.

[Key words] Dachengqi Decoction; Radix et Rhizoma Rhei; rhein; pharmacokinetics; HPLC

大承气汤为《伤寒论》名方, 由大黄、厚朴、枳实、芒硝 4 味中药组成, 主治阳明腑实证, 大便不通, 频转失气, 脘腑痞满, 腹痛拒按, 口舌干燥^[1]。素以疗效卓著、药味精简著称^[2]。该方中大黄通滞泻下、清热解毒为君药。大黄主要含有大黄酸、大黄素、大

黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚等游离和结合蒽醌, 结合蒽醌主要产生致泻作用^[3]; 芒硝主要成分为硫酸钠 (Na₂SO₄·10H₂O), 不被肠黏膜吸收而形成高渗液, 增加肠内容, 引起机械性刺激, 致排稀便; 厚朴含厚朴酚类成分, 兴奋肠道平滑肌; 枳实含辛弗林生物碱, 使胃肠运动收缩节律增加而有力, 四药合用产生很强的荡涤肠道、峻下热结的作用^[4]。

多种药物配伍时, 对君药成分大黄酸的药动学过程可能产生影响^[5]。本实验研究大承气汤中大黄

[收稿日期] 20110326(003)

[第一作者] 韩刚, 教授, 从事中药药动学研究, Tel: 0315-3726303, E-mail: yxxhg@163.com

与厚朴、枳实、芒硝配伍后,对大黄酸在大鼠体内药动学的影响,为临床合理用药提供参考。

1 材料

1.1 药品 大黄酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0757-200206),色谱纯甲醇(美国 Fisher 公司),大黄、厚朴、枳实、芒硝均购自唐山市同仁堂大药房,经华北煤炭医学院喇万英教授鉴定。

1.2 仪器 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),KDC-16H 型高速离心机(科大创新公司),BP211D 型电子天平(赛多利斯),氮吹仪(天津奥特赛恩斯公司),SK-1 型快速混匀器(江苏医疗仪器厂)。

1.3 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重 220 ~ 240 g,华北煤炭医学院实验动物中心提供,动物许可证号 SCXK(京)20060330。

2 方法

2.1 血药浓度测定方法

2.1.1 色谱条件 Diomansil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰醋酸(77:22:1),检测波长 428 nm,流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温为室温^[6]。

2.1.2 对照品溶液的制备 准确称取干燥后的大黄酸对照品约 3 mg 于 10 mL 量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度即为对照品溶液。

2.1.3 血浆样品预处理 将血浆样品置于涂有肝素抗凝剂的具塞离心管中,4 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,分离血浆,取 0.2 mL 血浆,加入 0.5 mL 色谱纯甲醇,涡旋混合振荡 30 s,12 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,沉淀蛋白,上清液用氮吹仪吹干,加甲醇 1 mL,漩涡混合振荡溶解,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,20 μL 进样测定大黄酸的峰面积。

2.1.4 大承气汤的制备 分别称取大黄 12 g、厚朴 15 g、枳实 12 g、芒硝 9 g。分别粉碎,过 18 目筛,回流装置中加入 10 倍量的蒸馏水,至沸,先下厚朴和枳实回流 40 min,后下大黄回流 20 min,最后加入芒硝溶解。2 500 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液置于旋转蒸发器中蒸干,得大承气汤提取物,HPLC 分别测定大承气汤提取物中大黄酸的含量。

2.1.5 大黄单煎液的制备 称取大黄 12 g,回流装置中加入 10 倍量的蒸馏水,至沸,下大黄回流 20 min,冷却后,2 500 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液于

旋转蒸发器中蒸干,得大黄提取物,HPLC 测定大黄提取物中大黄酸的含量。

2.1.6 动物分组与给药 SD 大鼠 20 只,适应性饲养 1 周后,随机分为大黄组,大承气汤组。实验前 12 h 禁食不禁水。大承气汤组灌胃给予大承气汤提取物,大黄组灌胃给予大黄提取物,2 组均按大黄酸 10 mg · kg⁻¹ 的剂量给药,提取物均用 1% 的羧甲基纤维素钠制成混悬液灌服。于给药后 4, 8, 12, 16, 25, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min 大鼠眼眶静脉丛取血 0.4 mL 于肝素化试管中,4 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,取上清液 100 μL,按 2.1.3 项下同法操作,记录大黄酸峰面积。

2.1.7 数据分析 数据采用 3P97 药动学软件拟合药动学房室模型,计算药动学参数。大黄组与大承气汤组之间的差异采用 *t* 检验进行统计分析。

3 结果

3.1 方法专属性 由大鼠血浆样品色谱图可知,在选定的色谱条件下,大承气汤中的成分和血浆中内源性成分不干扰大黄酸的测定。见图 1 ~ 4。

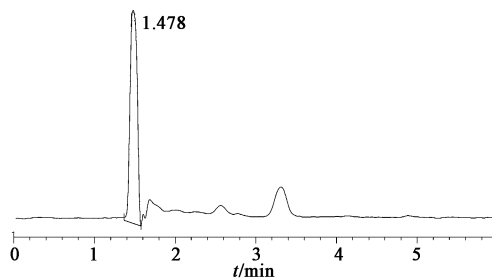


图 1 空白血浆样品色谱

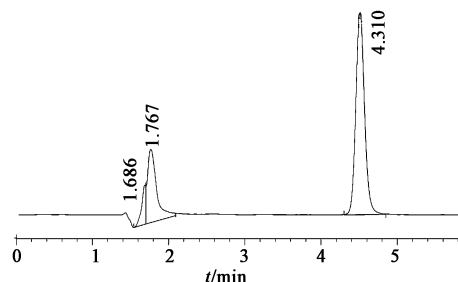


图 2 血浆样品中加入大黄酸色谱

3.2 标准曲线 精密量取大黄酸对照品溶液适量,置于离心管中,加入大鼠空白血浆 100 μL,制成大黄酸质量浓度分别为 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 15.0 mg · L⁻¹ 的系列血浆样本,按 2.1.3 项下操作,以大黄酸的峰面积 *Y* 对大黄酸血药浓度 *X* 进行线性回归,得回归方程 $Y = 28.082X + 1.691$ ($r = 0.9991$),大黄酸在 1.0 ~ 15 mg · L⁻¹ 线性关系良好。

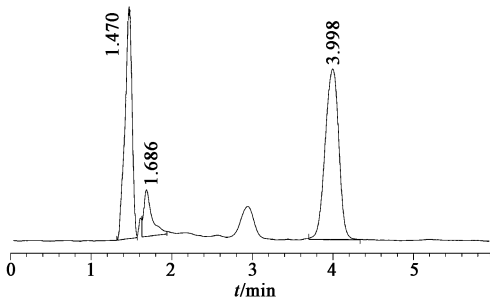


图3 给予大承气汤后血浆样品色谱

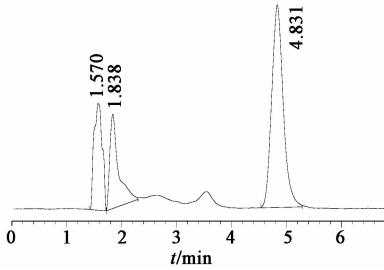


图4 给予大黄后血浆样品色谱

3.3 精密度试验 分别取大黄酸对照品溶液制成 1.0, 6.0, 12.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样品, 每个浓度平行作 5 份, 按 2.1.3 项下操作, 在 1 d 内测定 5 次。结果测得低、中、高 3 种浓度的平均 RSD 为 5.37%。日间精密度同上法制备血浆样品, 每天测定 1 次, 连续测定 5 d。结果测得低、中、高 3 种浓度的平均 RSD 为 5.59%。

3.4 回收率试验 精密量取 100 μL 空白血浆置于离心管中, 分别加入适量的大黄酸对照品溶液, 制成 1.0, 6.0, 12.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样本, 每个浓度平行作 5 份, 按 2.1.3 项下操作, 进样测定, 记录大黄酸峰面积 S, 另取 1.0, 6.0, 12.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 大黄酸对照品溶液, 氮吹仪吹干后加流动相 100 μL 溶解, 进样测定, 记录大黄酸峰面积 A, 用 S 比 A, 计算大黄酸的平均提取回收率为 87.80%。其平均回收率大于 85%, 符合药动学研究的要求。

3.5 稳定性试验 取大黄酸对照品溶液适量, 制成 1.0, 6.0, 12.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 低、中、高 3 种浓度的血浆样品, 在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下存放 5 d, 室温放置 6 h, 反复冻融 3 次。按 2.1.3 项下操作进样测定。结果低、中、高 3 种浓度的血浆样品的平均 RSD 为 6.20%。表明样品在该实验条件下稳定。

3.6 药动学参数 大鼠灌胃给予大黄及大承气汤后, 血药浓度数据经 3P97 药动学程软件合药动学模型, 计算药动学参数。大鼠灌胃给予大黄与大承气汤后, 大黄酸在大鼠体内药动学过程均符合二房室

模型, 主要药动学参数见表 1, 平均血药浓度-时间曲线见图 5。

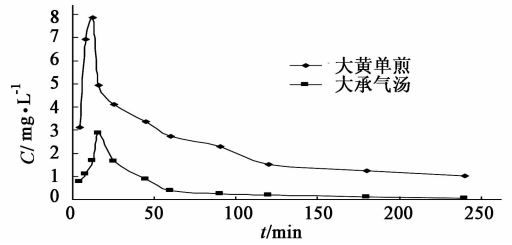


图5 大黄酸在大鼠体内的药-时曲线

表 1 大黄酸在大鼠体内主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

参数	单位	大黄	大承气汤
K_a	h	56.70 ± 7.08	4.97 ± 0.65
$T_{1/2\alpha}$	h	0.26 ± 0.04	0.22 ± 0.03
$t_{1/2\beta}$	h	2.43 ± 0.29	3.24 ± 0.39
$t_{1/2K_a}$	h	0.012 ± 0.02	0.14 ± 0.02
k_{21}	h	1.22 ± 0.16	0.40 ± 0.06
K_{10}	h	1.13 ± 0.15	1.71 ± 0.26
K_{12}	h	0.63 ± 0.08	1.30 ± 0.21
C_{\max}	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	6.81 ± 0.93	1.53 ± 0.19
T_{\max}	h	0.63 ± 0.09	0.26 ± 0.04
AUC	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	12.06 ± 1.34	1.92 ± 0.27
CL	$\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	1.24 ± 0.16	7.80 ± 1.14

4 讨论

与有关文献报道不同, 大鼠灌胃给予大黄和大承气汤后, 血浆中可检测到的主要成分为大黄酸^[7]。大鼠给予大黄及大承气汤提取物后 T_{\max} 分别为 (0.63 ± 0.09) , (0.26 ± 0.04) h, 说明大黄酸能较快速地吸收入血。

大鼠灌胃给予大黄及大承气汤均按大黄酸 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量给药, 大黄的 AUC 和 C_{\max} 分别为 $(12.06 \pm 1.34) \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $(6.81 \pm 0.93) \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 大承气汤的 AUC 和 C_{\max} 分别为 $(1.92 \pm 0.27) \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $(1.53 \pm 0.19) \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。说明大黄与厚朴、枳实、芒硝配伍后, 大黄酸的药浓度降低。

芒硝在体外与大黄共煎时对大黄酸的溶出产生影响, 芒硝在肠道中不易被吸收, 吸收进入体内的大黄酸可能受到厚朴和枳实成分的影响, 使大黄酸在体内药动学过程发生改变, 大承气汤中大黄酸的药浓度低, 生物利用度下降。

大承气汤利用大黄中的结合蒽醌直接刺激肠黏膜产生泻下作用^[8], 而大黄中的游离蒽醌直接吸收入血, 过量摄入大黄酸, 可以造成肝损伤^[9]。大黄与厚朴、枳实、芒硝配伍组成的大承气汤方剂, 可通过药物代谢的相互作用, 使吸收进入体内的游离大黄

固相萃取-高效液相色谱法测定大黄酸血药浓度 及在大鼠体内的药动学规律

冯素香^{1,2}, 谢新年¹, 李建生¹, 屈凌波², 梁生旺³, 王淑美^{3*}

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 郑州大学, 郑州 450001;

3. 广东药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 建立测定大鼠血浆中大黄酸的固相萃取-高效液相色谱方法, 研究大黄酸在大鼠体内的药动学规律。方法: 单次给予 SD 大鼠不同剂量的大黄酸, 于不同时间点采集大鼠血浆。以固相萃取法处理血浆样品, 用 HPLC 内标法测定血药浓度, 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈(L)(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水(75:25), 柱温为 30 °C, 检测波长 254 nm, 以 DAS2.0 软件拟合计算药动学参数。结果: 大黄酸的药浓度在 0.019 2 ~ 11.72 mg·L⁻¹ 线性关系良好 (R² = 0.999 1), 检测限为 0.009 6 mg·L⁻¹, 定量限为 0.019 2 mg·L⁻¹, 提取回收率均大于 80%, 日内、日间精密度的 RSD 均小于 6%。结论: 大鼠灌胃给药大黄酸血药浓度-时间曲线呈二室模型。该法操作简便、快速、灵敏, 适用于大黄酸在大鼠体内的药动学研究。

[关键词] 大黄酸; 药动学; 高效液相色谱法; 固相萃取

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0140-04

Determination of Rhein in Plasma by SPE-HPLC and Its Pharmacokinetic Study in Rats

FENG Su-xiang^{1,2}, XIE Xin-nian¹, LI Jian-sheng¹, QU Ling-bo², LIANG Sheng-wang³, WANG Shu-mei^{3*}

[收稿日期] 20110404(004)

[基金项目] 河南省高校青年骨干教师资助项目(2009GGJS-065); 国家自然科学基金资助项目(81073024); 郑州市科技攻关项目(0910SGYS33390-7)

[第一作者] 冯素香, 在读博士研究生, 副教授, 从事中药药代动力学与新药研究工作, Tel:0371-65680562, E-mail:fengsx221@163.com

[通讯作者] *王淑美, 教授, 硕士生导师, 从事中药质量控制研究工作, Tel:020-39352177, E-mail:shmwang@sina.com

酸加速代谢。

[参考文献]

- [1] 季宇彬. 中药复方化学与药理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 119.
- [2] 程如海, 李家庚. 中国名方全书[M]. 北京: 科学技术出版社, 2003: 61.
- [3] 张丽, 张村, 肖勇庆. 大黄 5 种饮片化学成分变化规律[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(12): 839.
- [4] 谢臻, 王术玲, 江滨. 枳实黄酮类成分在大承气汤配伍中的变化规律[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 57.
- [5] Tang W F, Huang X, Yu Q, et al. Determination and pharmacokinetic comparison of rhein in rats after oral

dosed with Da-Cheng-Qi decoction and Xiao-Cheng-Qi decoction[J]. Biomed Chromatog, 2007, 21(11): 1186.

- [6] 韩刚, 安静, 孙海燕. 通脉降脂胶囊质量标准的建立[J]. 中成药, 2005, 27(7): 778.
- [7] Xu F, Liu Y, Zhang Z, et al. Rapid simultaneous quantification of five active constituents in rat plasma by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry after oral administration of Da-Cheng-Qi decoction[J]. Pharm Biomed Anal, 2008, 47(3): 586.
- [8] 闰美娟, 隋峰, 李燕. 大黄各炮制品泻下作用的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 170.
- [9] 由田, 杨臻, 吕晶玉. 过量大黄对小鼠肝脏细胞的毒性作用[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2008, 17(3): 303.

[责任编辑 邹晓翠]