

## 黄连吴茱萸不同配比的大鼠在体肠吸收研究

涂瑶生, 孙冬梅, 曾晓会, 陈玉兴, 黄雪君\*

(广东省中医研究所, 广州 510095)

**[摘要]** **目的:**研究黄连吴茱萸不同配比的在体肠吸收,比较不同配比在不同肠段吸收系数的异同。**方法:**采用大鼠在体单向肠灌注模型,以 HPLC 测定灌注后药液浓度,考察黄连与吴茱萸不同配比对小肠吸收和转运的影响。**结果:**黄连吴茱萸 6:6 在空肠的吸收常数比其他肠段要大,差异有显著性( $P < 0.05$ );黄连吴茱萸 6:1 在空肠和回肠的吸收常数比其他肠段大,差异显著( $P < 0.05$ )。黄连吴茱萸 1:1 在空肠、回肠及结肠的吸收速率常数  $K_a$  值比十二指肠大,在回肠的表观吸收系数  $K_{app}$  值比其他肠段要大( $P < 0.05$ );黄连吴茱萸 2:1、黄连吴茱萸 6:1 及吴茱萸单煎在回肠的吸收常数较其他肠要大( $P < 0.05$ )。在回肠中黄连吴茱萸 2:1 吸收较其他 2 个比例药物要好( $P < 0.05$ );在结肠中黄连吴茱萸各比例吸收没有吴茱萸单煎好( $P < 0.05$ )。**结论:**黄连和吴茱萸无论单煎或不同比例组方在各肠段均有吸收,其中黄连:吴茱萸为 1:1 和 6:1 时于空肠和回肠较易吸收;黄连:吴茱萸为 2:1 时较易于回肠吸收。

**[关键词]** 黄连;吴茱萸;吸收;在体单向肠灌注

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0116-04

## Study on Rat Intestinal Absorption of Match-pair of Coptis-Evodia

TU Yao-sheng, SUN Dong-mei, ZENG Xiao-hui, CHEN Yu-xin, HUANG Xue-jun\*

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

**[Abstract]** **Objective:** To study the intestinal absorption of the different match-pair of Coptis-Evodia, to compare the intestinal absorption rate and absorption coefficient. **Method:** Single pass perfusion models in rats and HPLC were used to study the concentration and absorption coefficients of match-pair of Coptis-Evodia, to study the absorption and transport in the small intestine. **Result:** The absorption rate of Coptis-Evodia 6:6 were the largest in jejunum as Coptis-Evodia 6:1 were the largest in Jejunum and Ileum, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). The  $K_a$  of Coptis-Evodia 1:1 in jejunum, ileum and colon was larger than that in Duodenum as the  $K_{app}$  was the largest in ileum; the absorption rate of Coptis-Evodia 2:1 and 6:1 in ileum were larger than the other intestine, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). The absorption rate of Coptis-Evodia 2:1 in ileum were larger than the other match-pair, the difference was significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Coptis-Evodia 1:1 and 6:1 were better absorbed in jejunum and ileum, Coptis-Evodia 2:1 was better absorbed in ileum.

**[Key words]** Coptis; Evodia; absorption; single pass perfusion models

黄连和吴茱萸配伍使用历史悠久,黄连、吴茱萸

不同配伍,其功能主治亦不相同。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,有着良好的临床疗效和使用范围。本文采用大鼠在体肠吸收和单向灌注模型,研究黄连与吴茱萸不同配比的肠吸收机制,探讨黄连吴茱萸的配伍机制。

### 1 试剂与药物

**1.1 仪器** Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国),

**[收稿日期]** 2011-01-04

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873369)

**[第一作者]** 涂瑶生,研究员,从事中药新制剂及质量评价研究, Tel: 020-83576736, E-mail: cyx89333@ yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \*黄雪君,中药师,从事中药药理及毒理研究, Tel: 020-83576735, E-mail: sharon510@ 126.com

检测器为 DAD 检测器,泵为四元梯度泵,软件为 Agilent G2171BA 数据处理软件系统;智能蠕动泵 DDBT-201 型,上海之信仪器有限公司;BS224S 型 1/10 万电子天平,德国赛多利斯仪器系统有限公司;TDL-5-A 型离心机,上海安亭科学仪器有限公司;HWS26 型电热恒温水浴锅,上海一恒科技有限公司。

**1.2 药物与试剂** 黄连 *Coptis chinensis* Franch,产地四川,批号 090820(广州致信中药饮片有限公司);吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth,产地河南,批号 090820(广州致信中药饮片有限公司),以上药物均由广东省中医研究所中药制剂研究室提供。乙腈(Merck 公司,色谱纯),磷酸、三乙胺等均为分析纯;水为屈臣氏蒸馏水;对照品:盐酸小檗碱(877-200001)、盐酸巴马汀(878-200102)、盐酸药根碱(0733-200005)、吴茱萸碱(110802-200505)、吴茱萸次碱(110801-200505)均购于中国药品生物制品检定所。Krebs-Ringer's 缓冲液,每 1 000 mL 含 NaCl 7.8 g, KCl 0.35 g, CaCl<sub>2</sub> 0.37 g, NaHCO<sub>3</sub> 1.37 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.32 g, MgCl<sub>2</sub> 0.02 g, 葡萄糖 1.4 g。

**1.3 动物** SPF 级 SD 大鼠,雄性,体重 200~250 g,由广东省医学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(粤)2003-0002。

## 2 方法

### 2.1 肠灌流液中药物浓度的测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱:Agilent Extend C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.3% 磷酸-0.2% 三乙胺(B);流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长 268 nm;柱温 20 °C;运行时间 65 min;后运行时间 10 min。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取各样品一定量,精密称定,加入圆底烧瓶中,第 1 次加 8 倍量水,第 2、3 次加 4 倍量水,沸腾后计时,每次 1 h,合并 3 次水煎液,浓缩并定容至 300 mL,分别制成固定黄连用量(含黄连生药 0.33 g·mL<sup>-1</sup>)的黄连单煎、黄连:吴茱萸 6:6、黄连:吴茱萸 6:3 及黄连:吴茱萸 6:1 4 个配比溶液;和制成固定吴茱萸用量(含吴茱萸生药 0.33 g·mL<sup>-1</sup>)的吴茱萸单煎、黄连:吴茱萸 1:1、黄连:吴茱萸 2:1 及黄连:吴茱萸 6:1 4 个配比溶液。取溶液 2 mL 置锥形瓶中蒸干,加甲醇 10 mL,超声 30 min,过滤,滤液蒸干,以甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,滤液为供试品

溶液。

**2.1.3 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液 3 μL,按上述色谱条件,连续进样 6 次,以盐酸小檗碱为参照峰,记录峰面积。

**2.1.4 稳定性考察** 精密吸取同一供试品溶液 3 μL,按上述色谱条件分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进行测定,以盐酸小檗碱为参照峰,记录峰面积。

**2.1.5 质量浓度的测定** 由于供试品成分复杂,现以灌流前浓度为 1,根据灌流前后共有峰峰面积比计算灌流后浓度占灌流前的百分比,再乘以原浓度(94.5 g·L<sup>-1</sup>)得灌流后的药液浓度。

**2.2 大鼠在体肠吸收实验** 实验前大鼠禁食不禁水 24 h, ip 25% 乌来糖(0.5 mL·kg<sup>-1</sup>)麻醉,固定并维持体温。沿腹中线于剑突下 2 cm 处开腹,分离待考察肠段,量取 10 cm 长度,两端切口插管并结扎,用 37 °C 预热的生理盐水将肠内容物冲洗干净。用 pH 6.8 的 Krebs-Ringer's 缓冲液作为肠灌流液基质。每种药物配成 94.5 g·L<sup>-1</sup>,按照 0.2 mL·min<sup>-1</sup> 的流速灌流 30 min,收集出口管中灌流液, -20 °C 保存,以备高效液相检测。各肠段区间:十二指肠段自幽门 1 cm 处开始往下 10 cm 止;空肠段自幽门 15 cm 起往下 10 cm 止;回肠段自盲肠上行 20 cm 开始往下 10 cm 止;结肠从盲肠后端开始往下 10 cm 止。

**2.3 数据分析** 本试验采用质量分析法对灌流液的流入与流出体积进行校正<sup>[1]</sup>,按下列方程式计算吸收速率常数  $K_a$  和表观吸收系数  $K_{app}$ 。

$$K_a = (1 - \rho_{out}\rho_{in}/Q_{out}Q_{in})Q/V$$

$$K_{app} = [-Q_{in} \cdot \ln(\rho_{out}\rho_{in}/Q_{out}Q_{in})]/2\pi r l$$

式中: $Q_{in}$  和  $Q_{out}$  分别为肠道进、出口灌流液的流速(mL·min<sup>-1</sup>); $\rho_{in}$ ,  $\rho_{out}$  分别为肠道进、出口灌流液的质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>); $Q$  为灌流速度(mL·min<sup>-1</sup>); $l$  和  $r$  分别为被灌流肠段的长度和内径(cm); $V$  为灌流肠段的体积(cm<sup>3</sup>)。

采用 SPSS 15.0 统计软件处理肠吸收数据,并进行方差分析。

## 3 结果

**3.1 精密度试验** 各主要色谱峰相对保留时间的 RSD 分别为 0.01%~0.14%,相对峰面积的 RSD 分别为 0.06%~4.73%,基本符合指纹图谱的要求。

**3.2 稳定性试验** 各主要色谱峰相对保留时间的 RSD 分别为 0.01%~0.12%,相对峰面积的 RSD 分别为 0.20%~2.30%,表明样品在 24 h 内稳定。

**3.3 固定黄连用量(含黄连生药 0.33 g·mL<sup>-1</sup>)时**

不同肠段对药物吸收的比较 由表 1 可得出,对同一药物配比在不同肠段的  $K_a$  和  $K_{app}$  均数间进行比较,黄连单煎在空肠、回肠及结肠的吸收常数  $K_a$  和  $K_{app}$  比十二指肠要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ );黄连吴茱萸 6:6 在空肠的吸收常数比其他肠段要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ );黄连吴茱萸 6:3 在各肠段的吸收常数差异无显著性;黄连吴茱萸 6:1 在空肠和回肠的吸收常数比其他肠段要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。不同肠段各药物吸收常数比较差异无

显著性。

3.4 固定吴茱萸用量(含吴茱萸生药  $0.33 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )时不同肠段对药物吸收的比较 由表 2 可得出,对同一药物配比在不同肠段的  $K_a$  和  $K_{app}$  均数间进行比较,黄连吴茱萸 1:1 在空肠、回肠及结肠的  $K_a$  值比十二指肠大,在回肠的  $K_{app}$  值比其他肠段要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ );黄连吴茱萸 2:1、黄连吴茱萸 6:1 及吴茱萸单煎在回肠的吸收常数较其他肠段要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

表 1 固定黄连用量时不同肠段对药物吸收的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

药物	吸收常数	肠段			
		十二指肠	空肠	回肠	结肠
黄连单煎	$K_a/\text{min}$	$0.60 \pm 0.99$	$1.91 \pm 0.20^{1)}$	$1.74 \pm 0.57^{1)}$	$1.79 \pm 0.64^{1)}$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$0.76 \pm 0.59$	$1.89 \pm 0.15^{1)}$	$1.82 \pm 0.48^{1)}$	$1.91 \pm 0.55^{1)}$
黄-吴 6:6	$K_a/\text{min}$	$0.92 \pm 0.80$	$1.77 \pm 0.42^{1)}$	$1.56 \pm 0.35$	$1.43 \pm 0.26$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.02 \pm 0.74$	$1.90 \pm 0.59^{1)}$	$1.61 \pm 0.35$	$1.44 \pm 0.34$
黄-吴 6:3	$K_a/\text{min}$	$1.33 \pm 1.15$	$1.66 \pm 0.57$	$1.90 \pm 0.25$	$1.76 \pm 0.27$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.36 \pm 1.06$	$1.76 \pm 0.55$	$1.94 \pm 0.19$	$1.71 \pm 0.44$
黄-吴 6:1	$K_a/\text{min}$	$1.13 \pm 0.96$	$2.19 \pm 0.24^{1)}$	$1.98 \pm 0.52^{1)}$	$1.63 \pm 0.28$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.22 \pm 0.75$	$2.23 \pm 0.37^{1)}$	$2.09 \pm 0.43^{1)}$	$1.62 \pm 0.30$

注:同一药物配比与十二指肠比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

表 2 固定吴茱萸用量时不同肠段对药物吸收的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

药物	吸收常数	肠段			
		十二指肠	空肠	回肠	结肠
黄-吴 1:1	$K_a/\text{min}$	$0.804 \pm 0.68$	$1.37 \pm 0.51^{1)}$	$1.58 \pm 0.32^{1)}$	$1.46 \pm 0.18^{1,2)}$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.01 \pm 0.35$	$1.43 \pm 0.61$	$1.71 \pm 0.34^{1)}$	$1.51 \pm 0.24^{2)}$
黄-吴 2:1	$K_a/\text{min}$	$0.971 \pm 0.84$	$1.92 \pm 0.63$	$3.21 \pm 0.35^{1,2)}$	$1.15 \pm 0.26^{2)}$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.05 \pm 0.78$	$2.08 \pm 0.72$	$3.41 \pm 3.72^{1,2)}$	$1.14 \pm 0.24^{2)}$
黄-吴 6:1	$K_a/\text{min}$	$1.02 \pm 0.92$	$1.27 \pm 0.80$	$1.72 \pm 0.67^{1)}$	$1.29 \pm 0.32^{2)}$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$1.22 \pm 1.14$	$1.41 \pm 0.95$	$1.94 \pm 0.68^{1)}$	$1.32 \pm 0.31^{2)}$
吴茱萸单煎	$K_a/\text{min}$	$1.01 \pm 0.86$	$1.25 \pm 0.44$	$1.99 \pm 0.54^{1)}$	$1.60 \pm 0.30$
	$K_{app}/\times 10^{-2}/\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$0.929 \pm 0.61$	$1.24 \pm 0.43$	$1.98 \pm 0.63^{1)}$	$1.73 \pm 0.41^{1)}$

注:同一药物配比与十二指肠比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;同一肠段中与吴茱萸单煎比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

对各肠段里不同药物的  $K_a$  和  $K_{app}$  均数间进行比较,在回肠中黄连吴茱萸 2:1 吸收常数较其他两个比例药物要大,差异有显著性 ( $P < 0.05$ );在结肠中黄连吴茱萸各比例吸收常数较吴茱萸单煎要小,差异有显著性 ( $P < 0.05$ );其余各组于十二指肠和空肠段中  $K_a$  和  $K_{app}$  均无显著性差异。

#### 4 讨论

本试验采用了单向灌流对黄连吴茱萸药对不同配比的肠吸收进行研究,由于肠道能吸收或排泄水

分,导致供试药液体积改变,故本试验采用质量分析法进行校正<sup>[2]</sup>。

文献报道提示<sup>[3]</sup>,大鼠对药物吸收的  $K_{app} < 0.03 \times 10^{-4}$  表示药物难以吸收,  $K_{app} > 0.2 \times 10^{-4}$  时表示药物易于吸收。从  $K_{app}$  结果来看,可认为各药物于各肠段都易于吸收,说明黄连和吴茱萸无论单煎或不同配比组方均为全肠道吸收。

试验数据说明,固定黄连用量条件下,黄连吴茱萸 6:6 在空肠吸收较好;黄连吴茱萸 6:1 在空肠和回

## 芎冰微乳在新西兰兔体内的药动学研究

夏祖猛, 王利胜\*, 赖宝林, 吴阳, 陈晓丹, 陈豆, 吕耿彬  
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 研究芎冰微乳制剂在兔体内的药动学特征。方法: 芎冰微乳质量静脉注射给药后, 采用高效液相测定不同时间点 TMP 的血药浓度, 用 DAS2.1 数据处理软件计算药动学参数。结果: TMP 体内质量浓度在  $0.062 \sim 12.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $R^2 = 0.998$ ) 呈良好的线性关系, 其血药浓度曲线符合二室模型, 其主要药动学参数  $t_{1/2\alpha} = 15.617 \text{ min}$ ,  $t_{1/2\beta} = 49.171 \text{ min}$ ,  $V = 0.509 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $CL = 0.014 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $AUC_{(0-\infty)} = 222\,063.235 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $MRT_{(0-\infty)} = 30.841 \text{ min}$ 。结论: 本实验建立的方法简单, 线性、精密度、回收率良好, 专属性强, 可用于川芎嗪体内药动学研究, 并明确了芎冰微乳注射给药在新西兰兔体内的药动学特征。

**[关键词]** 芎冰微乳 川芎嗪 药动学 高效液相法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0119-03

### Pharmacokinetics Investigation of Xiongbing Microemulsion in Rabbit

XIA Zu-meng, WANG Li-sheng\*, LAI Bao-lin, WU Yang, CHEN Xiao-dan, CHEN Dou, LV Geng-bin  
(School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate pharmacokinetics of Xiongbing Microemulsion in rabbit blood. **Method:** The plasma concentration of tetramethylpyrazine (TMP) was determined by HPLC after i. v. The data were processed by DAS 2.1 software to calculate the pharmacokinetic parameters. **Result:** The calibration curve was linear in the range of  $0.062 \sim 12.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $R^2 = 0.998$ ). The measured pharmacokinetics of free TMP concentration fitted open two compartment model after i. v. The main pharmacokinetic parameters for TMP were as follows:  $t_{1/2\alpha}$  was  $15.617 \text{ min}$ ;  $t_{1/2\beta}$  was  $49.171 \text{ min}$ ; and  $V$  was  $0.509 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $CL$  was  $0.014 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $AUC_{(0-\infty)}$  was  $222\,063.235 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $MRT_{(0-\infty)}$  was  $30.841 \text{ min}$ . **Conclusion:** With good linearity, precision and recovery, the method is sensitive and simple, and suitable for pharmacokinetic study and the research of TMP. The pharmacokinetic characteristics of TMP in rabbits were understood.

**[Key words]** Xiongbing microemulsion; tetramethylpyrazine; pharmacokinetic; HPLC

**[收稿日期]** 20110113(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(30873443)

**[第一作者]** 夏祖猛, 硕士研究生, 专业: 药物制剂, E-mail: 389300896@qq.com

**[通讯作者]** \* 王利胜, Tel: 020-39358043, E-mail: wlis68@126.com

肠吸收较好; 固定吴茱萸用量条件下 4 个药物配比均在回肠内吸收较好, 其中以黄连吴茱萸 2:1 吸收最好。得出无论固定黄连或固定吴茱萸用量来制备供试药液, 黄连: 吴茱萸为 1:1 和 6:1 时, 于空肠和回肠较易吸收, 吸收常数较大; 黄连: 吴茱萸为 2:1 时, 较易于回肠吸收, 吸收常数最大。

#### [参考文献]

[1] Suttoncs, Rinaldits, Vukovinskyke, et al. Comparison of the

gravimetric, phenol-red, and 14C-PEG-3350 methods to determine water absorption in the rat single-passintestinal perfusion model[J]. Aaps Pharm Sci, 2001, 3(1): 25.

[2] 聂淑芳, 潘卫三, 杨星钢, 等. 对大鼠在体肠单向灌注技术中质量法的评价[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(10): 1176.

[3] Fagerholm U, Johansson M, Lennernas H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum[J]. Pharm Res, 1996, 13(9): 336.

[责任编辑 何伟]