

# 醋制增效理论试验研究 ——延胡索生品醋制品中延胡索乙素在大鼠血浆及 脏器中分布的比较研究

顾雪竹, 游修琪, 李先端, 李兰芳, 毛淑杰\*  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 比较延胡索生品、用水炮制品、用醋炮制品中延胡索乙素在大鼠血浆及脏器中分布的差别, 阐明药物在体内动态变化规律, 为醋制增效理论的科学性提供实验依据。方法: 血浆和组织匀浆样品采用液-液萃取法提取, 用 YMC C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) HPLC 柱温 30 ℃, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(三乙胺调 pH 6.0) (63:37), 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm。结果: 在大鼠血浆中醋制品中延胡索乙素的浓度在不同时间点均高于生品和水制品, 在肝脏中 2, 3, 4 h 延胡索乙素的浓度均高于生品和水制品。结论: 大鼠灌胃延胡索不同炮制品水煎液后, 醋制品中延胡索乙素在血浆及肝脏中浓度最高, 这一结果为揭示“延胡索醋制增效”传统理论的科学内涵积累实验数据。

[关键词] 醋制理论; 延胡索乙素; 血浆; 组织匀浆

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0036-03

延胡索乙素是罂粟科植物延胡索根茎中的主要有效成分, 又称为四氢巴马汀。药理研究表明, 延胡索乙素有镇痛和镇静催眠、钙拮抗作用以及抑制血小板聚集等。查阅本草方书了解到, 中医临床多以延胡索的醋炙饮片入药。经多年的临床实践证明, 延胡索经醋制后镇痛作用加强, 并将此经验上升理论为“醋制入肝增强止痛作用”。本文采用给大鼠 1 g 延胡索生品、水制品、醋制品的水煎液来比较大鼠血液及肝组织和脑组织中延胡索乙素浓度的差别, 为阐明“醋制增效”理论的科学性积累数据。

## 1 仪器与试药

HP1100 高效液相色谱仪, HP1100 紫外-可见检测器; SORVALL SUPER21 台式高速冷冻离心机; GZ-I 多用振荡器(北京冰箱电机厂), NA-5L 氮气空气一体机(北京中心汇利科技发展有限公司); 电动匀浆机(宁波生物仪器公司)。

参照《中国药典》一部 2005 年版/药材炮制通则有关规定炮制出延胡索生品、延胡索水制品、延胡索醋制品。

各炮制品水煎液制备: 以上 3 种炮制品, 各称取

50 g, 分别用 10 倍量水煎煮 3 次, 每次药液沸腾后改用文火, 煎煮 30 min, 且在煎煮过程中加适量水, 保持水量相对稳定。分别合并各品种 3 次煎煮液, 各浓缩成 25 mL (每 1 mL 含生药 0.2 g) 备用。

延胡索对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 110726-200409); 甲醇为色谱纯; 水为高纯水; 磷酸、冰醋酸、三乙胺、氨水为分析纯。

SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 210 ~ 300 g

## 2 方法

**2.1 色谱条件** YMC C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 30 ℃, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(三乙胺调 pH 至 6.0) (63:37), 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 230 nm, 进样量 20 μL。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取延胡索乙素对照品 2.57 mg, 加甲醇溶解定容于 25 mL 量瓶中, 摇匀, 制成浓度为 0.102 8 g·L<sup>-1</sup> 的延胡索乙素对照品溶液, 于冰箱 4 ℃ 保存。

**2.3 生物样品的采集** 取健康 SD 大鼠 5 只, 给药前禁食 12 h, 自由饮水, 以 20 mL·kg<sup>-1</sup> 的剂量 ig 延胡索生品水煎液, 于给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 h 从大鼠眼眶后静脉丛取血, 置肝素抗凝管中, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 分离血清, 于 -20 ℃ 保存至分析测定<sup>[1]</sup>。同法另取大鼠 1 只采血制备空白血浆。

取健康 SD 大鼠 16 只, 随机分为 4 组, 给药前禁

[收稿日期] 2009-12-04

[第一作者] 顾雪竹, 实习研究员, 从事中药炮制方面研究。

[通讯作者] \* 毛淑杰, 研究员, 从事中药炮制方面研究, Tel: 010-84036552, E-mail: maoshujie@163.com

食 12 h, 自由饮水, 分别 ig 延胡索生品、水制延胡索水煎液、醋制延胡索水煎液、生理盐水  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 于给药后 1, 2, 3, 4 h 从大鼠眼眶后静脉丛取血, 并离心分离出血清。随后将其窒息致死, 取出大鼠的肝脏、脑, 置于生理盐水中洗去浮血, 用滤纸吸干表面水分后, 分别称量各脏器的湿重, 加入 2 倍量的生理盐水匀浆<sup>[2]</sup>, 制成匀浆液, 于  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

**2.4 样品预处理** 取大鼠血浆  $0.4 \text{ mL}$ , 置于  $10 \text{ mL}$  具塞离心管中, 加入  $1 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ NaOH}$   $100 \text{ mL}$  混匀, 加入正己烷-异丙醇(95:5)混合提取溶剂  $3 \text{ mL}$ , 涡旋振荡  $2 \text{ min}$ ,  $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 准确移取上层有机相  $2.4 \text{ mL}$ , 于  $45^\circ\text{C}$  空气流吹干, 残余物以流动相  $150 \mu\text{L}$  涡旋振荡溶解, 过滤, 取  $20 \mu\text{L}$  进样。

取肝脏、脑组织匀浆液  $0.5 \text{ mL}$ , 置于  $10 \text{ mL}$  具塞离心管中, 加入  $1 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ NaOH}$   $100 \text{ mL}$  混匀, 加入正己烷-异丙醇(95:5)混合提取溶剂  $3 \text{ mL}$ , 涡旋振荡  $2 \text{ min}$ ,  $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心  $10 \text{ min}$ , 准确移取上层有机相  $2.4 \text{ mL}$ , 于  $45^\circ\text{C}$  空气流吹干, 肝组织匀浆残余物以流动相  $300 \mu\text{L}$  涡旋振荡溶解, 脑组织匀浆残余物以  $200 \mu\text{L}$  涡旋振荡溶解过滤, 取  $20 \mu\text{L}$  进样。

### 3 方法学考察

**3.1 方法的专属性** 将空白血浆色谱图与血浆样品图进行比较, 结果表明样品经液-液提取法处理后, 其中的内源性的物质不干扰延胡索乙素的测定, 见图 1。

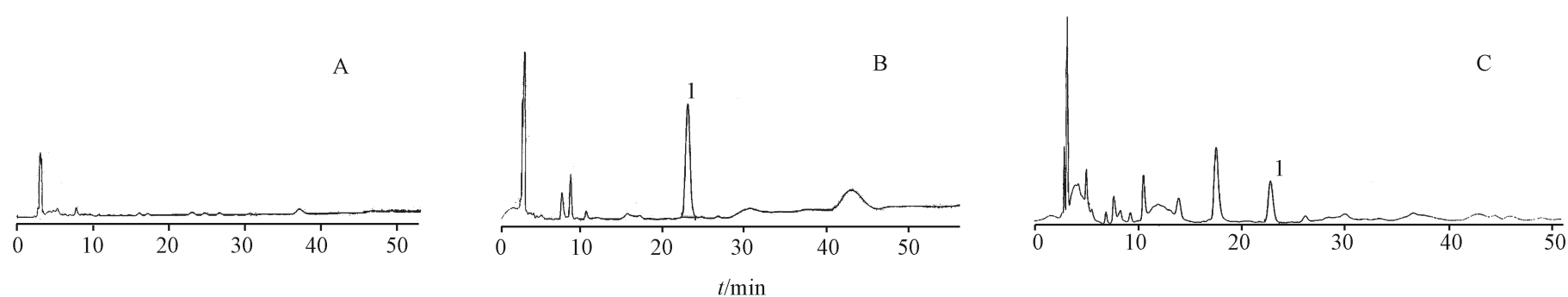


图 1 延胡索乙素 HPLC 色谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 对照品; C. 血浆样品; 1. 延胡索乙素

**3.2 标准曲线的制备** 取大鼠空白血浆、肝组织、脑组织匀浆液各 5 份, 分别加入延胡索乙素对照品溶液适量, 混匀后, 按“样品预处理”及“色谱条件”项下进行测定, 依次测定延胡索乙素各浓度点的峰面积, 与进样浓度  $C$  的浓度进行线性回归, 结果各生物样品在  $0.4 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好,  $r = 0.9996 \sim 0.9980$ 。回归方程分别为: 血浆  $A = 9.9327C + 7.3304$  ( $r = 0.9980$ ); 肝脏  $A = 2.1471C + 3.9586$  ( $r = 0.9996$ ); 脑  $A = 1.5618C + 0.0986$  ( $r = 0.9997$ )。

**3.3 回收率与精密度** 在适量空白血浆和空白组织匀浆液中分别加入延胡索乙素对照品溶液, 配制成低、中、高 3 个浓度的供试品溶液, 各供试品溶液均按“样品预处理”项下操作, 分析测定, 结果见表 1。

**3.4 延胡索乙素的测定** 按 2.3 和“样品预处理”项下操作, 对健康大鼠一次性 ig 给药生延胡索水煎液后, 进行测定, 延胡索乙素血药浓度-时间曲线见图 2。

表 1 延胡索乙素回收率与精密度 ( $n = 5$ )

生物样品	加入量 $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	平均回收率 $\%$	日内 RSD/ $\%$	日间 RSD/ $\%$
血浆	0.4	89.50	3.55	4.94
	2	86.00	0.57	2.00
	6	79.31	3.78	3.12
肝脏	2	93.00	1.99	1.77
	10	85.86	1.97	2.18
	200	89.72	2.33	2.93
脑	0.5	92.86	2.56	3.88
	25	86.56	2.94	3.62
	250	90.00	4.07	0.82

按“样品采集 2.3.2”和“样品预处理”项下操作, 测定 ig 不同延胡索样品后大鼠血浆、肝组织和脑组织中延胡索乙素的浓度, 结果见表 2~4。

表 2 延胡索乙素的血药浓度

时间 $/\text{h}$	1号(生品) $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2号(水制) $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	3号(醋制) $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
1	0.8262	0.4998	1.3870
2	0.9418	0.7745	0.9792
3	1.5113	1.8186	1.8302
4	1.1480	0.3717	1.1612

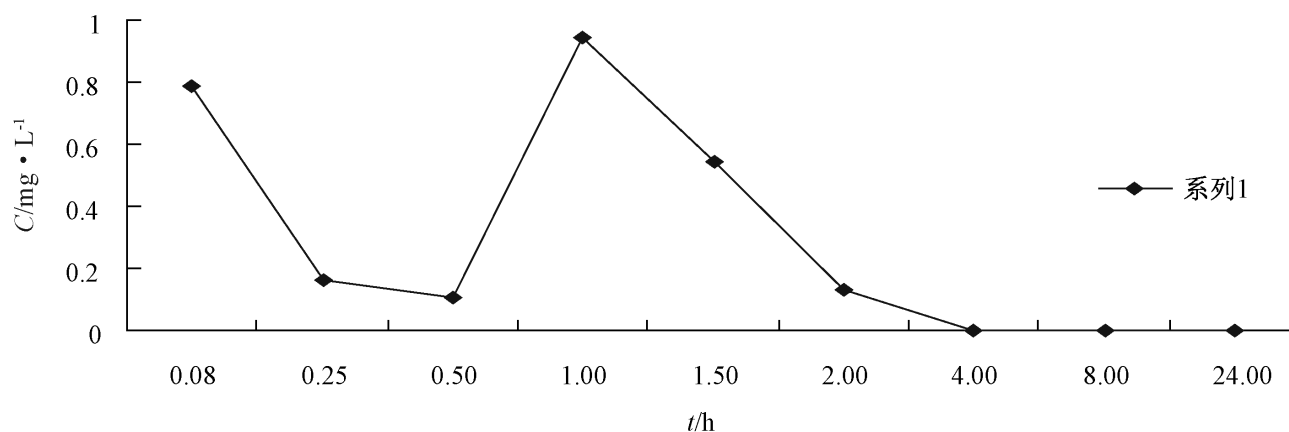


图 2 大鼠 ig 延胡索后血浆中延胡索乙素的血药浓度-时间曲线

表 3 肝脏中延胡索乙素浓度

时间 /h	1 号 (生品) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	2 号 (水制) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	3 号 (醋制) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
1	8.8352	6.9533	7.6426
2	8.7962	8.7535	10.7784
3	10.7180	10.7144	11.2813
4	8.6727	7.2539	10.9967

表 4 脑中延胡索乙素浓度

时间 /h	1 号 (生品) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	2 号 (水制) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	3 号 (醋制) / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
1	8.4620	2.5073	3.2150
2	3.9183	8.4423	3.9240
3	3.8255	6.7491	2.7864
4	4.0943	2.7319	8.6633

#### 4 讨论

以  $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$  的剂量给大鼠 ig 延胡索水煎液, 于给药后 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 h 从大鼠眼眶后静脉丛取血, 观察血浆中延胡索乙素的浓度。结果 4 h 后血浆中延胡索乙素已检测不到, 故选择 4 h 内进行生制品比较。

从表 2 可以看出, 延胡索醋制品在血浆中不同时间点延胡索乙素的浓度均高于生品和水制品, 这是因为延胡索乙素经醋炮制后更易溶于水, 其水煎液中延胡索乙素的含量高于生品和水制延胡索品, 所以 ig 醋制品大鼠其血液中延胡索乙素的浓度也高于生品和水制品。

从表 3 可以看出, 用醋炮制样品在肝脏中 1 h 时延胡索乙素的浓度介于生品和水制品之间, 2~4 h 时均高于生品和水制品。从表 4 可以看出, 醋制样品在脑组织中 4 h 时延胡索乙素的浓度高于生品和水制品, 可能醋制品到达脑组织的时间大约为 4 h。

#### [参考文献]

- [1] 洪战英, 范国荣, 柴逸峰, 等. 延胡索乙素在大鼠体内的立体选择性药代动力学[J]. 药学学报, 2005, 40(8): 746.
- [2] 张典瑞, 任天池, 姜红祥, 等. HPLC 测定冬凌草甲素固态类脂纳米粒在小鼠肝脏中的药物浓度[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(8): 622.

[责任编辑 全燕]