

· 药物代谢 ·

葛根芩连汤中14种功效成分在大鼠体内的组织分布

刘昌顺, 晋臻, 陈飞龙, 谭晓梅*

(南方医科大学中医药学院, 广东省中药制剂重点实验室,
广东省中药制剂技术工程实验室, 广州 510515)

[摘要] **目的:**研究葛根芩连汤(GQT)功效成分在大鼠体内的组织分布特征,通过方药功效成分在体内各组织中的靶向性揭示其作用机制。**方法:**大鼠给予GQT后不同时间点取组织(小肠、大肠、肝、心、脾、肺、肾),样品处理后采用HPLC-MS/MS分析14种功效成分在各组织匀浆液中的含量,Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm),流动相0.1%甲酸水溶液-乙腈梯度洗脱,流速0.4 mL·min⁻¹,电喷雾离子源,正离子模式检测,选择柚皮苷作为内标物。**结果:**建立了同时测定组织匀浆液中14种GQT主要功效成分的HPLC-MS/MS分析方法,该方法的专属性、标准曲线、回收率、基质效应、精密度、准确度和稳定性良好。在小肠组织中,异黄酮类主要成分葛根素、大豆苷元和3'-羟基葛根素的药时曲线下面积(AUC_{0-10h})分别为22 174.9, 3 882.5, 15 893.1 h·mg·L⁻¹,黄酮类主要成分黄芩素、汉黄芩素、汉黄芩苷和黄芩苷的AUC_{0-10h}分别为15 423.6, 15 408.4, 7 017.3, 3 697.7 h·mg·L⁻¹,生物碱类主要成分小檗碱的AUC_{0-10h} = 2 544.0 h·mg·L⁻¹,这些成分在小肠组织的分布水平显著高于其他组织。**结论:**GQT的功效成分群主要分布于肠道组织,推测其抗炎、止泻的药理作用可能与其成分在肠道组织的作用趋向相关。

[关键词] 葛根芩连汤; 功效成分; 组织分布; 作用靶向; 生物碱; 黄酮类; 异黄酮类

[中图分类号] R22; R24; R28; C37; R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)10-0093-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190549

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.2209.049.html>

[网络出版时间] 2018-11-21 08:52

Tissue Distribution of 14 Bioactive Components After Oral Administration of Gegen Qinlian Tang in Rats

LIU Chang-shun, JIN Zhen, CHEN Fei-long, TAN Xiao-mei*

(Guangdong Provincial Engineering Laboratory of Chinese Medicine Preparation Technology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmaceuticals, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the tissue distribution of major bioactive components from Gegen qinlian Tang (GQT) in rats, and to reveal the mechanism for the efficacy of GQT by the tissue targeting of its bioactive ingredients *in vivo*. **Method:** After oral administration of GQT in rats, tissues were collected at different time points, including small and large intestine, liver, heart, spleen, lung, and kidney. Samples were prepared for determination of 14 bioactive components of GQT in tissue homogenate by HPLC-MS/MS. The chromatography separation was performed on an Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column (2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid in water for gradient elution. Electrospray ionization (ESI) was applied and operated in the positive ion mode. Meanwhile, naringin was used as the internal standard for determining.

[收稿日期] 20181003(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81374049)

[第一作者] 刘昌顺,在读博士,从事中药体内过程研究,E-mail:leshun1225@163.com

[通信作者] *谭晓梅,博士,研究员,从事中药新制剂及中药复方配伍规律研究,Tel:020-61648265,E-mail:txm@fimmu.com

Result: HPLC-MS/MS for simultaneous determination of 14 components from GQT in tissue homogenate was developed and validated by specificity, calibration curves, recovery test, matrix effect, precision, accuracy, and stability. In the small intestine, the the area under the curve (AUC_{0-10h}) of major isoflavonoids (puerarin, 3'-hydroxypuerarin, and daidzein) were 22 174.9, 15 893.1, 3 882.5 $h \cdot mg \cdot L^{-1}$, major flavonoids (baicalein, wogonin, wogonoside, and baicalin) were 15 423.6, 15 408.4, 7 017.3, 3 697.7 $h \cdot mg \cdot L^{-1}$, and major alkaloid (berberine) was 2 544.0 $h \cdot mg \cdot L^{-1}$, respectively. The distribution of these ingredients in the small intestine was significantly higher than that in other tissues. **Conclusion:** The effective ingredients of GQT are mainly distributed in the intestinal tissues, which speculates that the anti-inflammatory and antidiarrheal activities of GQT may be related to its targeting in the intestine.

[**Key words**] Gegen Qinlian Tang; effective components; tissue distribution; functional targeting; alkaloids; flavonoids; isoflavones

葛根芩连汤(Gegen Qinlian Tang, GQT)为《伤寒论》经典方剂,具有解表清里、升清止利之功效,治疗协热下利证,临床上对轮状病毒和细菌感染所致腹泻的疗效突出^[1]。现代药理学研究表明,该方具有解热、抗炎、抗菌和止泻等作用^[2],发挥功效的主要成分为异黄酮类、黄酮类和生物碱类等^[3]。目前对 GQT 的研究报道主要集中在药理学方面,而较少研究其药效成分的体内过程。本课题组前期研究了 GQT 口服后其主要功效成分在血浆中的药代动力学^[4],然而 GQT 主治感染性肠道疾病,药理作用多、作用途径广,其入血成分并不能解释方药在肠道的抗炎、止泻等作用。鉴于中药复方多成分、多靶点的特征,口服后其不同药效成分通过体循环分布至体内不同组织脏器,这种分布特征将会影响成分的体内蓄积和方药的药理作用。因此,本研究在考虑 GQT 主要功效成分药理活性、在汤液中含量及检测灵敏度的基础上,选择了君药葛根中具有解热、止泻功效的 6 种异黄酮类成分^[5],臣药黄芩中具有抗炎活性的 4 种黄酮类成分^[6]和黄连中具有抗菌止泻作用的 3 种生物碱类成分^[7],以及佐使药甘草中具有抗炎作用的甘草苷^[8],通过 HPLC-MS/MS 同时测定 GQT 中上述 14 种成分在组织匀浆液中的含量,研究其在大鼠体内的组织分布特征,为该方药的作用机制研究提供实验依据。

1 材料

1290 型高效液相色谱系统和 6410 三重串联四极杆质谱系统(美国安捷伦科技公司),HC-3018R 型高速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司),BP211D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司),XW-80A 型漩涡混合仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

对照品葛根素(批号 110752-201313,纯度 \geq

97%),大豆苷(批号 111738-200501,纯度 \geq 98%),大豆苷元(批号 200101-111502,纯度 \geq 98%),黄芩苷(批号 110715-201117,纯度 \geq 98.5%),黄芩素(批号 111595-201308,纯度 \geq 97%),汉黄芩素(批号 111514-201304,纯度 \geq 97%),甘草苷(批号 111610-201106,纯度 \geq 98%),盐酸小檗碱(批号 110713-200911,纯度 \geq 98%),盐酸巴马汀(批号 110732-201611,纯度 \geq 97%),盐酸药根碱(批号 110733-201609,纯度 \geq 97%)和柚皮苷(批号 110722-201312,纯度 \geq 98%)均购于中国食品药品检定研究院;对照品 3'-羟基葛根素(批号 17051901,纯度 \geq 98%),染料木苷(批号 20151022,纯度 \geq 98%),染料木素(批号 20160513,纯度 \geq 98%)和汉黄芩苷(批号 20160125,纯度 \geq 98%)均购于晨光生物科技集团股份有限公司;水为双蒸水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。葛根芩连汤(GQT)处方所用药材均购于康美药业股份有限公司,由南方医科大学中医药学院中药鉴定教研室晁志教授鉴定,其中葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* 的干燥根所制饮片(产地安徽,批号 171000721),黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根所制饮片(产地河北,批号 171003251),黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的干燥根所制饮片(产地四川,批号 171103221),炙甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎蜜炙后所得饮片(产地内蒙古,批号 171006291)。

健康 SPF 级 SD 大鼠 36 只,雌雄各半,体质量 180 ~ 220 g,饲养温度 21 ~ 22 $^{\circ}C$,湿度 56% ~ 65%,明暗交替时间为 12 h,由南方医科大学实验动物中心提供,许可证号 SYXK(粤)2011-0074。本实验所涉动物实验操作符合南方医科大学实验动物伦理

委员会的伦理学标准。

2 方法与结果

2.1 GQT水煎液的制备 按《伤寒论》原著所载制法进行制备。称取葛根 15 g,加水 400 mL 浸泡 30 min,加热并保持微沸 20 min,随后加入黄连 9 g,黄芩 9 g 和炙甘草 6 g 一起煎煮 10 min,用纱布过滤,药渣加水 300 mL 再次煮沸 30 min,药液过滤后与第 1 次水煎液合并。将水煎液水浴浓缩至生药质量浓度为 0.3 g·mL⁻¹。

2.2 给药方案与样品采集 动物实验前 12 h 禁食不禁水,36 只大鼠随机分为 6 组,每组 6 只。动物均口服 GQT(3.9 g·kg⁻¹,相当于 91.81 mg·kg⁻¹葛根素,5.05 mg·kg⁻¹ 3'-羟基葛根素,11.79 mg·kg⁻¹大豆苷,0.19 mg·kg⁻¹大豆苷元,0.24 mg·kg⁻¹染料木苷,0.04 mg·kg⁻¹染料木素,13.38 mg·kg⁻¹黄芩苷,0.54 mg·kg⁻¹黄芩素,10.02 mg·kg⁻¹汉黄芩苷,0.28 mg·kg⁻¹汉黄芩素,0.37 mg·kg⁻¹甘草苷,2.40 mg·kg⁻¹小檗碱,0.55 mg·kg⁻¹药根碱和 1.31 mg·kg⁻¹巴马汀)。给药后分别于给药后 0.5, 1.5, 3, 5, 7, 10 h 处死大鼠,取小肠、大肠、肝、心、脾、肺和肾,用生理盐水冲洗干净后 -80 °C 保存待测。

2.3 组织样品的处理 称取大鼠组织样品 0.2 g,加入 4 倍量甲醇匀浆,于 4 °C 以 4 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,精密加入内标工作溶液(用甲醇配制 2 mg·L⁻¹柚皮苷溶液)20 μL,震荡 30 s,加入 0.2% 稀盐酸 100 μL,震荡 30 s,加入乙酸乙酯-正丁醇(2:1)混合液 800 μL,涡旋震荡后离心(4 °C, 15 000 r·min⁻¹, 10 min,下同),分取上层溶液,再以乙酸乙酯-正丁醇(2:1)混合液 800 μL 重复萃取 1 次,合并上层溶液,氮气吹干。残留物用甲醇 200 μL 复溶,涡流 2 min,离心,取上清液进行 HPLC-MS/MS 检测分析。

2.4 HPLC-MS/MS 分析条件

2.4.1 色谱条件 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 2.5 min, 15% ~ 30% B; 2.5 ~ 4.5 min, 30% ~ 50% B; 4.5 ~ 7 min, 50% ~ 80% B; 7 ~ 8 min, 80% ~ 15% B),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,进样量 2 μL。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),毛细管电压 4 kV,雾化器压力 207 kPa,干燥气流温度 350 °C,干燥气流速 8.0 L·min⁻¹,碰撞气为高纯氮气。采集模式为多反应监测模式(MRM),正离子扫描方式,待测成分及内标的 MRM 参数见表 1。

表 1 葛根苓连汤中 14 种功效成分及内标的 MRM 参数

Table 1 MRM parameters of 14 ingredients in Gegen Qinlian Tang (GQT) and internal standard

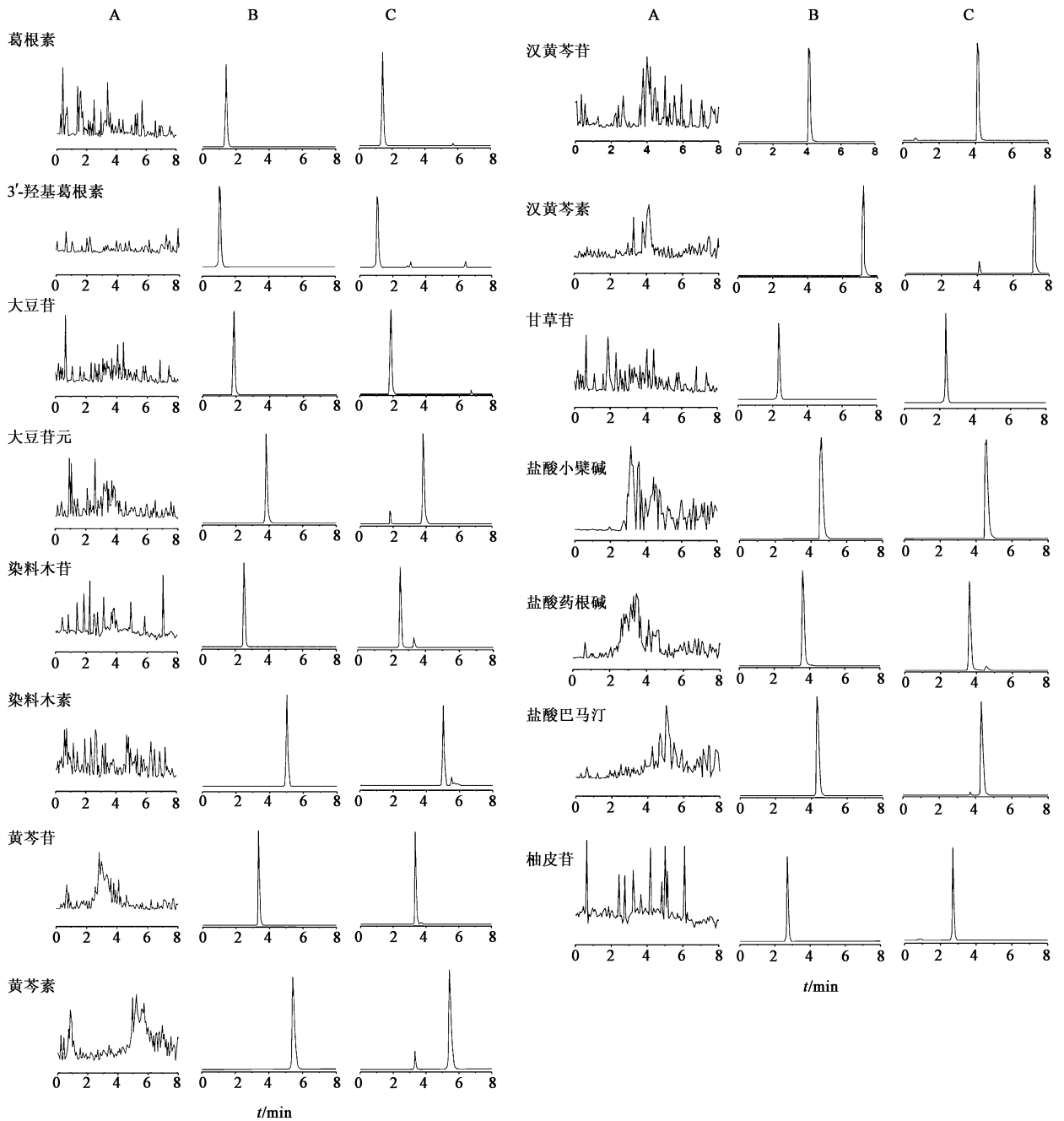
分析物	母离子 m/z	子离子 m/z	裂解电压 /V	碰撞能量 /eV
葛根素	417.0	297.0	140	24
3'-羟基葛根素	433.1	313.1	120	21
大豆苷	417.0	255.0	130	10
大豆苷元	255.0	199.0	135	30
染料木苷	433.1	271.2	125	10
染料木素	271.0	153.2	130	32
黄芩苷	447.0	271.0	135	26
黄芩素	271.2	123.1	135	30
汉黄芩苷	461.0	285.1	130	12
汉黄芩素	285.0	270.0	135	25
甘草苷	417.2	255.1	135	10
小檗碱	336.0	321.0	135	26
药根碱	338.0	322.0	135	25
巴马汀	352.0	336.0	135	30
柚皮苷	581.0	273.0	120	24

2.5 方法学考察

2.5.1 对照品溶液的制备 分别精密称取 14 种 GQT 的功效成分对照品适量,加甲醇使溶解,配制质量浓度均为 1.0 g·L⁻¹ 的储备液,于 4 °C 冰箱放置保存。取各成分的储备液适量,配制混合对照品溶液,使葛根素、黄芩素和汉黄芩苷的质量浓度均为 25 mg·L⁻¹,3'-羟基葛根素、大豆苷、大豆苷元、黄芩苷、汉黄芩素和盐酸小檗碱的质量浓度均为 5 mg·L⁻¹,染料木苷、染料木素、甘草苷、盐酸药根碱和盐酸巴马汀的质量浓度均为 0.5 mg·L⁻¹;稀释后得到系列质量浓度的混合对照品溶液,用于制备标准曲线和质控样品,于 4 °C 冰箱保存备用。

2.5.2 方法学考察^[9-11] 以肝组织作为代表进行方法学考察。专属性考察表明 GQT 中各功效成分和内标物柚皮苷的峰形良好,且出峰时间不受组织内源性物质的干扰,见图 1。

线性关系考察表明各分析物在相应的质量浓度范围内与峰面积呈良好线性关系(R² > 0.99),且定量下限满足样品含量测定的要求,见表 2。此外,分析物在低、中、高 3 种质量浓度水平的回收率处于 80.1% ~ 97.5%,基质效应处于 81.7% ~ 103.7%,



A. 空白组织匀浆液; B. 对照品 + 内标 + 空白组织匀浆液; C. 供试品

图 1 葛根芩连汤给药 0.5 h 后肝组织匀浆液的 HPLC-MS/MS 专属性考察

Fig.1 Specificity test of liver tissue homogenate at 0.5 h after administration of GQT by HPLC-MS/MS

提示该方法准确且检测过程不受离子效应干扰,见表 3。日间和日内精密度的 RSD 均 < 15.0%,准确度的相对误差(RE)处于 -7.6% ~ 13.3%,提示该检测方法准确可靠,见表 3。稳定性试验结果表明分析物的 RSD 均 < 15%,RE 处于 -10.4% ~ 14.7%,表明供试品溶液在各放置条件下稳定性良好,见表 4。经验证,该方法符合大鼠组织匀浆液样品中 14 种 GQT 功效成分含量测定的要求。

2.6 组织分布研究 见图 2 和表 5。结果表明 GQT 中异黄酮类成分在小肠和大肠组织具有较高的质量浓度;吸收入血后,葛根素主要分布于肝脏和肾脏,3'-羟基葛根素主要分布于肺,大豆苷元和染料木素主要分布于肾脏,大豆苷主要分布于心脏,而染料木苷的分布则无明显组织趋向性。GQT 中黄酮类成分在小肠和大肠组织同样具有较高的质量浓度;吸收入血后,汉黄芩苷、黄芩素和黄芩苷主要

表 2 葛根芩连汤功效成分在组织匀浆液中的线性关系考察

Table 2 Calibration curves of ingredients from GQT in tissue homogenate of rats

分析物	标准曲线	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	定量下限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
葛根素	$Y = 9.891X + 0.879$	0.991 5	25 ~ 25 000	25.0
3'-羟基葛根素	$Y = 1.172X + 0.091$	0.999 3	5 ~ 5 000	5.0
大豆苷	$Y = 3.745X + 0.703$	0.997 0	5 ~ 5 000	5.0
大豆苷元	$Y = 7.219X + 0.581$	0.993 9	5 ~ 5 000	5.0
染料木苷	$Y = 1.262X + 0.260$	0.998 6	0.5 ~ 500	0.5
染料木素	$Y = 1.637X + 0.443$	0.991 6	0.5 ~ 500	0.5
黄芩苷	$Y = 10.156X + 0.425$	0.995 2	5 ~ 5 000	5.0
黄芩素	$Y = 7.818X + 1.119$	0.991 8	25 ~ 25 000	25.0
汉黄芩苷	$Y = 7.315X + 0.811$	0.994 7	25 ~ 25 000	25.0
汉黄芩素	$Y = 2.671X + 0.789$	0.995 2	5 ~ 5 000	5.0
甘草苷	$Y = 3.463X + 0.105$	0.994 3	0.5 ~ 500	0.5
盐酸小檗碱	$Y = 5.772X + 0.384$	0.992 3	5 ~ 5 000	5.0
盐酸药根碱	$Y = 5.589X + 1.373$	0.996 0	0.5 ~ 500	0.5
盐酸巴马汀	$Y = 2.031X + 0.301$	0.994 1	0.5 ~ 500	0.5

分布于肾脏,汉黄芩素主要分布于肝脏和肾脏,而甘草苷则无明显组织靶向性。GQT 生物碱类成分在小肠组织的质量浓度水平显著大于其他组织;吸入血后,小檗碱和药根碱在肝脏和心脏的质量浓度较高,巴马汀则主要分布在肝脏、心脏和肾脏。

3 讨论

通过前期药动学研究和参考文献[4,12],发现 GQT 功效成分群的吸收相主要在 0 ~ 2 h,平衡相在 2 ~ 6 h,消除相在 6 ~ 12 h,故本研究根据其血清药动学特征设置相应的时间点,开展组织分布研究。结果发现 GQT 功效成分群吸收入血后,在肝脏、肾脏等组织的吸收相主要在口服后 1.5 h 内,消除相在 7 h 之后,这与其药动学行为基本一致。

在肠道组织中,相比于 GQT 中含量比例,大豆苷元和黄芩素等苷元成分的质量浓度显著大于其相应的糖苷类成分,推测这主要与大豆苷和黄芩苷等糖苷类成分在肠道被水解代谢为苷元有关^[13]。研究结果显示 GQT 功效成分主要分布于肠道组织,这可能与其在肠道吸收而停留于肠壁有关。据文献报道,君药葛根中所含的葛根素、大豆苷元和大豆苷具有较好的止泻作用^[14],染料木苷和染料木素具有抗炎和抗病毒作用^[15];臣药黄芩中的黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素具有抗炎活性^[6];臣药黄连的小檗碱也具有较好的抗炎作用^[7];佐使药甘草的甘

草苷具有免疫调节作用^[8]。这些成分在肠壁的富集,可发挥 GQT 调节肠道黏膜免疫、减轻肠壁炎症和减缓肠道蠕动的的作用。

由表 5 可知,GQT 功效成分经肠道吸收之后,还广泛分布于体内其他组织,其中葛根素和汉黄芩素主要分布于肝脏和肾脏,大豆苷元、染料木素、黄芩苷、黄芩素和汉黄芩苷主要分布于肾脏,3'-羟基葛根素主要分布于肺。文献报道这些成分能够抑制热源的产生,通过抑制氧化应激水平或核转录因子- κB (NF- κB)信号通路来减少炎症因子的激活和释放^[5-6,16],这些成分在体内组织的分布有助于发挥 GQT 解热和抗炎的作用。本研究还发现相比于 GQT,黄连中的小檗碱、巴马汀和药根碱在组织中的药物浓度较低,这主要与其渗透性较差而难以被吸收,以及吸收后被 P-糖蛋白外排出肠腔有关^[7]。但是这些成分具有较强的抗菌活性,滞留于肠腔可以抑制致病菌的繁殖和调节肠道微生态^[17],从而发挥 GQT 的止泻作用。因此,本文研究了口服后 GQT 在正常大鼠主要脏器的分布情况,推测该复方发挥解热、抗炎和止泻等作用可能与其所含功效成分群在不同组织中的作用趋向相关。后续将研究 GQT 功效成分在腹泻发热模型动物组织中的分布情况,以阐明其功效成分在病理机体体内的动态变化,为 GQT 药理作用及物质基础的阐述提供实验依据。

表 3 葛根芩连汤功效成分在组织匀浆液中的回收率、基质效应、精密度和准确度考察 (n=6)

Table 3 Recovery, matrix effect, precision and accuracy tests of ingredients from GQT in tissue homogenate (n=6)

%

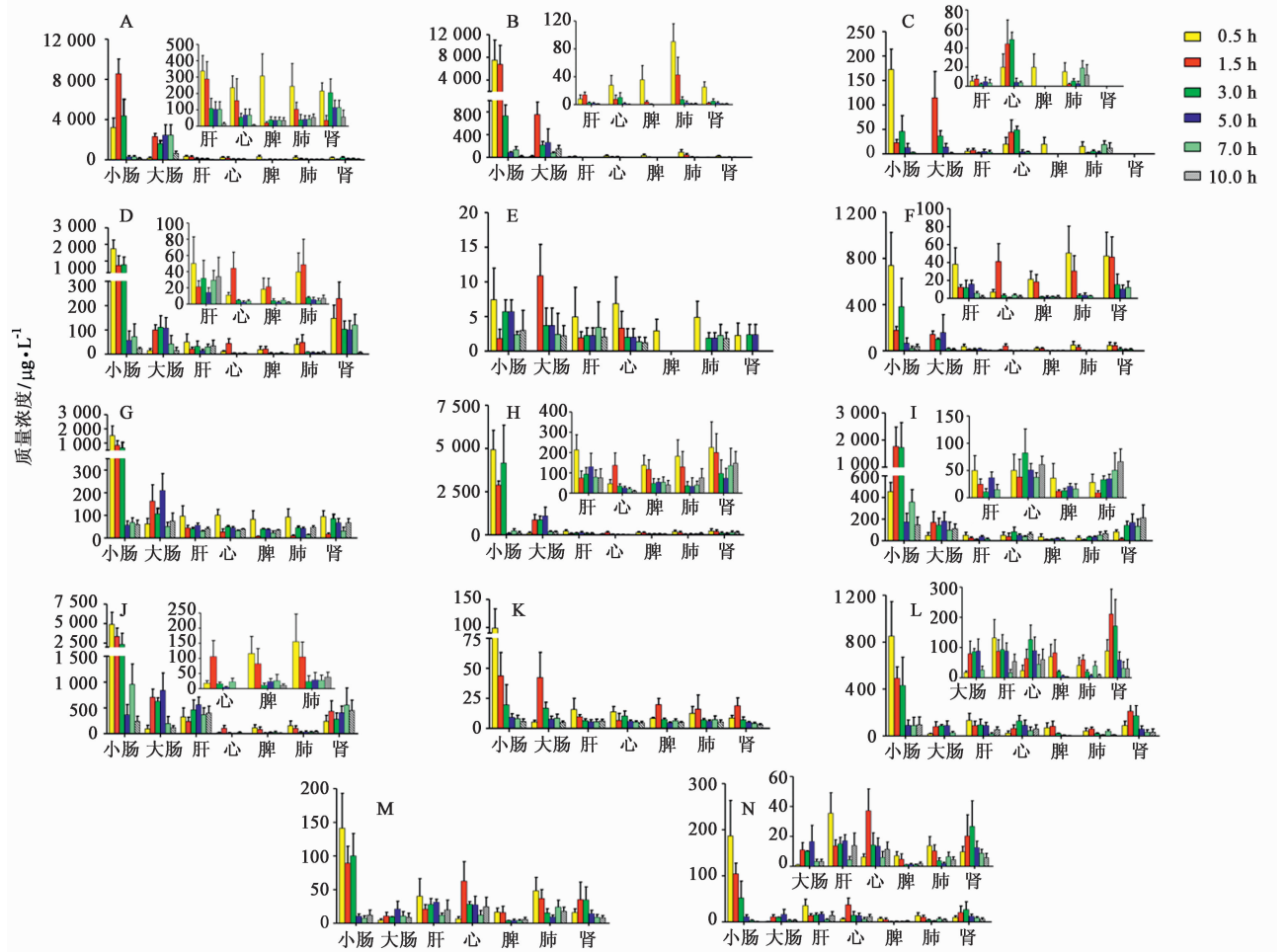
分析物	质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率($\bar{x}\pm s$)	基质效应($\bar{x}\pm s$)	精密度(RSD)		准确度(RE)	
				日内	日间	日内	日间
葛根素	75	81.5 ± 11.0	81.7 ± 9.1	10.8	8.1	2.3	-7.6
	1 500	84.5 ± 4.6	97.3 ± 2.0	6.8	8.3	10.1	13.3
	20 000	92.3 ± 3.8	97.4 ± 2.3	9.5	4.8	-4.5	2.3
3'-羟基葛根素	15	81.9 ± 16.4	85.2 ± 16.5	11.4	10.7	9.1	11.7
	300	96.4 ± 8.8	95.8 ± 7.1	8.3	9.5	-2.1	8.9
	4 000	90.0 ± 6.6	103.5 ± 4.1	8.2	7.7	6.8	9.1
大豆苷	15	86.0 ± 6.5	102.7 ± 8.4	14.0	14.5	2.8	-3.5
	300	90.2 ± 5.1	90.6 ± 11.1	14.3	7.7	-0.6	11.7
	4 000	96.3 ± 1.9	99.3 ± 2.0	8.2	7.2	8.6	9.4
大豆苷元	15	80.4 ± 11.4	91.2 ± 11.4	12.6	14.8	-3.4	7.3
	300	82.8 ± 5.3	96.5 ± 5.6	12.6	8.8	0.1	8.5
	4 000	91.9 ± 4.8	90.0 ± 6.7	4.0	9.7	4.5	-1.5
染料木苷	1.5	80.1 ± 13.3	81.8 ± 7.4	10.6	10.2	-4.6	3.9
	30	96.4 ± 7.1	97.2 ± 3.1	8.4	5.5	0.8	10.2
	400	94.5 ± 3.3	99.2 ± 3.2	8.3	10.4	0.2	4.0
染料木素	1.5	83.5 ± 9.9	81.8 ± 14.2	13.0	7.9	3.2	-1.6
	30	85.6 ± 11.6	99.2 ± 10.4	11.1	10.6	1.1	-4.0
	400	93.1 ± 3.1	97.1 ± 4.4	4.2	7.7	0.8	-1.7
黄芩苷	15	85.8 ± 16.9	85.3 ± 20.6	11.3	12.7	7.0	2.4
	300	95.4 ± 7.8	96.3 ± 10.4	11.7	7.9	9.5	7.0
	4 000	94.7 ± 3.5	99.3 ± 3.5	8.8	7.9	5.3	-4.8
黄芩素	75	90.7 ± 20.6	99.9 ± 10.1	13.6	9.8	-6.2	5.2
	1 500	93.0 ± 2.9	90.9 ± 3.8	14.0	13.2	8.0	9.3
	20 000	91.5 ± 9.6	89.7 ± 5.5	8.0	2.6	10.0	4.4
汉黄芩苷	75	93.6 ± 14.0	98.4 ± 5.3	9.4	4.2	1.1	4.8
	1 500	91.6 ± 3.9	94.0 ± 6.1	7.3	12.7	9.5	7.3
	20 000	90.6 ± 3.1	94.0 ± 2.1	11.5	10.7	-4.2	3.7
汉黄芩素	15	80.6 ± 14.1	93.0 ± 9.6	10.5	9.8	1.4	4.6
	300	96.8 ± 13.3	91.6 ± 5.5	13.2	4.6	3.6	-3.3
	4 000	89.2 ± 4.7	92.7 ± 5.6	13.2	4.3	7.5	-6.8
甘草苷	1.5	97.3 ± 12.3	97.8 ± 5.7	3.3	11.5	7.0	-1.6
	30	85.9 ± 5.5	101.2 ± 6.1	11.2	14.6	0.2	8.5
	400	91.8 ± 5.3	103.7 ± 6.5	14.7	8.7	7.7	8.3
盐酸小檗碱	15	80.2 ± 8.8	91.9 ± 10.0	10.2	12.1	2.7	5.3
	300	92.0 ± 5.6	98.2 ± 2.0	3.9	7.8	2.0	0.2
	4 000	96.3 ± 7.4	94.2 ± 2.3	9.9	2.2	-2.3	-2.7
盐酸药根碱	1.5	82.1 ± 7.2	88.8 ± 7.3	9.9	10.5	7.7	6.0
	30	88.1 ± 10.2	91.4 ± 4.8	9.9	6.6	3.4	7.8
	400	97.5 ± 9.0	86.5 ± 5.6	4.8	4.0	1.8	1.7
盐酸巴马汀	1.5	81.6 ± 7.7	83.0 ± 9.6	12.6	9.8	2.4	-0.2
	30	89.7 ± 3.4	93.7 ± 6.6	7.7	9.0	4.5	9.6
	400	95.2 ± 11.2	90.2 ± 12.6	5.6	6.0	2.1	1.4

表 4 葛根芩连汤功效成分在组织匀浆液中的稳定性考察 (n = 6)

Table 4 Stability test of ingredients from GQT in tissue homogenate (n = 6)

%

分析物	质量浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	短期(室温, 12 h)		长期(-20 °C, 28 d)		冻融(-20 °C 到室温)		制备后(室温, 12 h)	
		RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE
葛根素	75	11.5	3.4	7.2	2.1	12.6	6.3	10.3	0.4
	1 500	3.3	0.2	2.0	3.6	6.0	5.2	8.7	2.5
	20 000	3.5	-2.7	3.6	-0.6	2.0	1.9	8.8	-1.2
3'-羟基葛根素	15	12.6	11.3	11.5	12.5	14.6	12.2	11.8	5.5
	300	3.4	12.7	5.5	4.0	3.6	6.1	7.4	4.1
	4 000	4.3	6.7	5.1	4.0	4.8	3.9	3.7	-3.8
大豆苷	15	7.5	9.1	11.0	5.3	13.7	10.3	12.2	0.5
	300	4.0	9.3	11.1	0.3	6.5	10.1	3.5	5.7
	4 000	4.0	8.3	2.1	2.4	3.8	3.3	5.6	6.3
大豆苷元	15	6.9	0.3	7.3	-0.8	13.2	-1.1	4.4	6.3
	300	5.1	-7.5	5.4	0.6	6.3	0.2	5.6	7.4
	4 000	4.1	3.4	6.9	1.1	5.0	-0.2	4.3	9.3
染料木苷	1.5	13.6	-1.9	8.5	12.4	9.6	9.3	10.7	-3.6
	30	8.0	10.3	7.8	3.9	5.2	7.7	11.6	5.1
	400	3.5	1.1	2.1	-3.9	3.3	-2.8	13.1	8.3
染料木素	1.5	13.3	-4.7	8.5	14.7	10.0	10.4	9.7	-1.7
	30	9.2	12.2	7.8	8.7	11.7	4.8	12.6	5.0
	400	1.5	-1.2	5.7	-0.8	8.3	-3.6	1.7	4.3
黄芩苷	15	13.0	1.2	12.0	-10.4	12.0	8.5	4.2	3.4
	300	9.8	2.3	4.6	0.3	7.9	6.9	5.4	1.3
	4 000	3.5	2.1	4.4	0.8	4.3	-0.2	6.7	5.3
黄芩素	75	10.8	0.4	7.2	4.9	11.4	8.2	3.2	-1.5
	1 500	3.1	10.2	4.1	8.6	4.2	10.2	10.0	3.9
	20 000	3.9	2.9	2.1	-0.2	2.2	1.1	3.5	-1.9
汉黄芩苷	75	7.7	3.9	5.1	-0.6	12.3	-3.8	7.7	3.0
	1 500	2.9	11.0	4.9	8.5	3.4	11.1	4.7	8.5
	20 000	3.2	0.6	4.2	2.5	3.3	3.4	3.4	-1.3
汉黄芩素	15	10.5	5.9	6.7	4.2	13.1	5.9	7.8	-5.4
	300	3.1	4.5	7.6	0.4	5.2	7.4	5.6	3.5
	4 000	4.1	0.8	1.8	5.1	2.7	3.3	8.4	-0.1
甘草苷	1.5	9.8	7.3	2.8	2.3	9.8	7.3	13.3	-4.2
	30	8.7	-2.7	4.3	8.5	8.7	-2.7	6.9	7.9
	400	3.9	-1.7	3.5	1.4	3.9	-1.7	3.6	-0.4
盐酸小檗碱	15	5.3	13.5	3.8	6.9	7.6	7.7	8.5	7.1
	300	6.2	6.8	3.8	4.5	3.8	6.8	2.1	-3.4
	4 000	6.2	2.4	1.9	-0.5	3.0	0.8	6.7	5.1
盐酸药根碱	1.5	14.0	-4.9	6.6	4.2	7.5	10.7	8.8	8.8
	30	3.4	3.9	2.5	1.7	4.3	4.4	6.8	7.7
	400	7.2	3.5	1.6	-0.4	1.4	1.0	7.7	8.1
盐酸巴马汀	1.5	6.5	4.3	2.8	4.9	3.2	11.5	8.8	-2.6
	30	2.7	5.8	3.1	7.3	3.7	7.8	4.4	5.0
	400	3.7	7.4	3.1	0.7	2.0	3.0	3.0	8.8



A. 葛根素; B. 3'-羟基葛根素; C. 大豆苷; D. 大豆苷元; E. 染料木苷; F. 染料木素; G. 黄芩苷; H. 黄芩素; I. 汉黄芩苷; J. 汉黄芩素; K. 甘草苷; L. 小檗碱; M. 药根碱; N. 巴马汀

图 2 大鼠口服葛根苓连汤后 14 种功效成分的组织分布特征 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Distribution characteristics of 14 major ingredients in tissues after oral administration of GQT in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 5 大鼠口服葛根苓连汤后 14 种主要功效成分在各组织中的 $\text{AUC}_{0-10\text{h}}$ ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分析物	小肠	大肠	肝	心	脾	肺	肾
葛根素	22 174.9 ± 3 091.0	15 294.6 ± 1 520.9	1 147.7 ± 226.5	655.8 ± 148.4	479.5 ± 102.0	619.8 ± 174.7	1 153.9 ± 272.2
3'-羟基葛根素	15 893.1 ± 2 553.7	2 262.9 ± 723.3	32.7 ± 14.9	52.5 ± 19.3	32.7 ± 13.0	143.3 ± 42.3	37.3 ± 11.4
大豆苷	265.4 ± 173.5	237.9 ± 108.7	35.0 ± 14.0	172.0 ± 55.3	-	96.9 ± 26.8	-
大豆苷元	3 882.5 ± 892.9	666.5 ± 78.2	284.4 ± 63.9	84.3 ± 20.7	66.2 ± 13.7	136.6 ± 35.7	1 084.0 ± 244.1
染料木苷	26.6 ± 6.0	48.2 ± 14.5	26.9 ± 13.9	23.1 ± 4.0	-	20.7 ± 4.4	-
染料木素	1 625.4 ± 331.0	764.4 ± 331.0	127.7 ± 14.3	76.1 ± 23.4	53.7 ± 8.0	103.7 ± 38.3	170.9 ± 56.4
黄芩苷	3 697.7 ± 1 082.6	1 092.9 ± 329.8	447.8 ± 33.2	421.2 ± 19.3	321.2 ± 38.5	366.7 ± 48.1	554.3 ± 46.2
黄芩素	15 423.6 ± 4 227.0	5 524.2 ± 928.5	957.2 ± 177.6	383.3 ± 99.0	634.7 ± 131.5	659.1 ± 121.9	1 292.5 ± 277.0
汉黄芩苷	7 017.3 ± 2 372.8	1 269.0 ± 476.3	184.0 ± 31.2	513.4 ± 114.1	141.7 ± 33.2	383.0 ± 94.5	1 314.9 ± 194.6
汉黄芩素	15 408.4 ± 2 369.3	4 377.1 ± 614.8	3 977.9 ± 660.0	235.0 ± 51.1	322.1 ± 42.7	462.1 ± 147.8	4 072.5 ± 1 121.4
甘草苷	210.2 ± 72.1	130.3 ± 34.2	68.7 ± 15.3	68.5 ± 10.2	76.1 ± 5.0	77.8 ± 17.4	66.9 ± 10.6
小檗碱	2 544.0 ± 525.2	493.7 ± 74.2	641.3 ± 101.2	667.7 ± 103.3	222.2 ± 72.4	285.8 ± 179.4	376.9 ± 59.9
药根碱	450.3 ± 257.6	114.6 ± 36.3	226.5 ± 31.3	254.2 ± 45.9	64.6 ± 11.8	214.1 ± 39.5	178.6 ± 45.5
巴马汀	390.6 ± 92.8	77.3 ± 20.6	138.0 ± 20.6	131.5 ± 33.7	20.8 ± 3.0	56.1 ± 12.1	134.5 ± 35.9

[参考文献]

- [1] 郭震浪,苏振宁,戴韵峰,等.葛根芩连汤治疗小儿轮状病毒性肠炎疗效的 Meta 分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(24):199-203.
- [2] 凌霄,项煜强,陈飞龙,等.西藏小型猪大肠埃希菌感染性腹泻模型的建立及葛根芩连汤对其作用分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(3):125-131.
- [3] WANG Q, SONG W, QIAO X, et al. Simultaneous quantification of 50 bioactive compounds of the traditional Chinese medicine formula Gegen-Qinlian decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2016, 1454: 15-25.
- [4] LING X, XIANG Y, TANG Q, et al. Comparative pharmacokinetics of eight major bioactive components in normal and bacterial diarrhea mini-pigs after oral administration of Gegen Qinlian Decoction [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1044-1045: 132-141.
- [5] YAO X J, YIN J A, XIA Y F, et al. Puerarin exerts antipyretic effect on lipopolysaccharide-induced fever in rats involving inhibition of pyrogen production from macrophages [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141 (1): 322-330.
- [6] Lee W, Ku S K, Bae J S. Anti-inflammatory effects of baicalin, baicalein, and wogonin *in vitro* and *in vivo* [J]. Inflammation, 2015, 38(1): 110-125.
- [7] LIU C S, ZHENG Y R, ZHANG Y F, et al. Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability [J]. Fitoterapia, 2016, 109: 274-282.
- [8] 张玉龙,王梦月,杨静玉,等.炙甘草化学成分及药理作用研究进展[J].上海中医药大学学报,2015,29(3):99-102.
- [9] REN M, SONG S, LIANG D, et al. Comparative tissue distribution and excretion study of alkaloids from Herba Ephedrae-Radix Aconiti Lateralis extracts in rats [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 134: 137-142.
- [10] 冯果,吴增光,何新,等. UPLC-MS/MS 分析瓜蒌子中 3,29-二甲苯甲酰基栝楼仁三醇在大鼠体内的组织分布情况[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(21):86-92.
- [11] 杨连荣,张丽杰,姚姣姣,等.白头翁皂苷 B4 在正常大鼠和溃疡性结肠炎大鼠体内组织分布情况的比较[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(21):93-97.
- [12] ZHANG Y, YUAN J, ZHANG Y, et al. LC-MS/MS analysis of Gegen Qinlian Decoction and its pharmacokinetics after oral administration to rats [J]. Biomed Chromatogr, 2015, 29(4): 485-495.
- [13] KANG M J, Ko G S, Oh D G, et al. Role of metabolism by intestinal microbiota in pharmacokinetics of oral baicalin [J]. Arch Pharm Res, 2014, 37(3): 371-378.
- [14] 钟凌云,马冰洁,叶喜德,等.葛根主要药效成分止泻作用研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2015,17(1):109-113.
- [15] 苏妙贤,李药兰,周艳晖,等.瑶药“野葛花”的抗病毒和抑菌活性[J].暨南大学学报:自然科学与医学版,2006,27(2):204-208.
- [16] Tsai C C, LIN M T, WANG J J, et al. The antipyretic effects of baicalin in lipopolysaccharide-evoked fever in rabbits [J]. Neuropharmacology, 2006, 51(4): 709-717.
- [17] 王利红,唐文照,辛义周.黄连中生物碱成分及药理作用研究进展[J].山东中医药大学学报,2015,39(4):389-392.

[责任编辑 刘德文]