

调节至 6.8 时, 37 °C 水浴放置 5 h, 醋柳黄酮 K-R 试液仍然稳定, 而将醋柳黄酮 K-R 试液 pH 值调节至 7.4 时, 37 °C 水浴放置 2 h 稳定, 5 h 则逐渐降解, 稳定性较差。

表 4 pH 值为 6.8 及 7.4 时醋柳黄酮 K-R 试液的稳定性 (n=3)

pH 值	时间/h	剩余浓度百分比/%	RSD/%
6.8	0	100	0
	1	98.21	2.61
	2	99.25	5.23
	3	99.55	4.08
	4	95.71	1.12
	5	94.67	8.14
7.4	0	100	0
	1	100.63	15.90
	2	105.42	12.16
	3	92.25	8.15
	4	99.14	16.22
	5	82.67	10.27

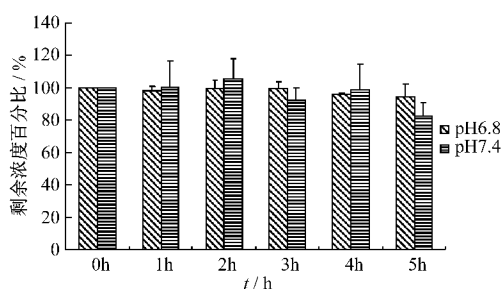


图 4 醋柳黄酮 K-R 试液 (pH6.8 和 7.4) 的稳定性

综上所述, 可以将醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值调至 6.8 进行实验。

3 讨论

3.1 预试验中发现, 醋柳黄酮在肠营养液 (K-R 试液) 中不稳定, 而这种不稳定性可能与溶液的 pH 有关, 因此本文系统地研究 pH 对醋柳黄酮稳定性的影响, 以确保醋柳黄酮肠吸收试验的顺利进行。

3.2 由于小肠的 pH 通常为 6~7, 一般考察药物在体肠吸收时选择肠循环液 pH6.8、7.4、5.4、7.8、7.9^[3-5], 首先调节空白 K-R 试液的 pH 值并配制醋柳黄酮 K-R 试液, 发现经过 37 °C 水浴 5 h 后前后浓度变化较大, 若改为直接调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值, 醋柳黄酮的稳定性有明显好转, 可能是由于醋柳黄酮中有效成分本身显弱酸性, 加入之后会使 K-R 试液的 pH 发生改变, 因此选择直接调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值。

3.3 有文献报道^[6]醋柳黄酮在 pH 值较高条件下长时间放置其结构可发生不可逆的变化, 从而影响其稳定性, 本试验结果也得到相同的结论: 醋柳黄酮在碱性溶液中稳定性较差, 而在酸性溶液中稳定性较好。此外根据小肠的 pH 值选择直接调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值至 6.8 及 7.4, 考察其稳定性, 由结果可知调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值至 6.8 时溶液稳定, 而调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值至 7.4 时溶液稳定性较差。综上可知, 需调节醋柳黄酮 K-R 试液的 pH 值至 6.8, 可确保醋柳黄酮在体肠循环试验的顺利进行。

参考文献:

- [1] 吴素林. 反相 HPLC 法同时测定沙棘果肉异鼠李素、槲皮素及沙棘总黄酮的含量[J]. 沙棘, 1998, 11(4): 31.
- [2] 刘大明, 蒋学华, 张梅娟, 等. 黄芩苷和黄芩素的大鼠在体肠吸收特性[J]. 中国药学杂志, 2006, 12(41): 1784-1787.
- [3] 宋洪涛, 郭涛, 张跃新, 等. 阿魏酸在大鼠体内肠吸收动力学的研究[J]. 中草药, 2005, 36(10): 1516-1517.
- [4] 李岩, 郭涛, 颜鸣. 泛昔洛韦大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 解放军药学学报, 2006, 22(5): 333-335.
- [5] 游本刚, 杨明世, 范玉玲, 等. 尼群地平大鼠在体肠吸收动力学研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(3): 214-216.
- [6] 金邻豫, 凌春生, 王玮, 等. 醋柳黄酮在碱性条件下的稳定性研究[J]. 河南大学学报(医学版), 2008, 27(4): 29-31.

煎煮方式对甘草次酸家犬体内药动学影响

王立^{1,2}, 赵瑛¹

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 哈尔滨商业大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

关键词: 葛根芩连汤; 甘草次酸; 药动学; 高效液相色谱法; 家犬

收稿日期: 2009-03-07

基金项目: 黑龙江省博士后基金项目 (LBH-Z08003); 黑龙江省自然科学基金项目 (D200916)

作者简介: 王立 (1975-), 讲师, 研究方向: 中药新剂型。Tel: (0451) 84838207 E-mail: kurb@sohu.com

摘要:目的:测定葛根芩连汤煎剂(T)和甘草单煎剂(S)中甘草次酸(Glycyrrhetic acid, GA)家犬血清中的含量,分析煎煮方式对其体内药动学的影响。方法:建立测定家犬血清中甘草次酸的高效液相色谱法,通过测定不同时刻家犬体内甘草次酸浓度,计算药动学参数。结果:家犬灌服T和S后甘草次酸在家犬体内的 C_{max} 分别(244.8 ± 56.1)和(986.5 ± 116.9) ng/mL; t_{max} 分别为(9.7 ± 1.5)和(10.3 ± 1.5) h; $AUC_{0-\infty}$ 分别为($4\,766 \pm 963$)和($14\,483 \pm 2\,410$) ng/(h·mL)。结论:煎煮方式对甘草次酸家犬体内药动学有显著影响,在葛根芩连汤中甘草次酸清除半衰期明显延长。
中图分类号:R969.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1528(2010)09-1507-04

Effect of extract method on pharmacokinetics of glycyrrhetic acid in dogs

WANG Li^{1,2}, ZHAO Ying¹

(1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

KEY WORDS: Gegen Qinlian Decoction; glycyrrhetic acid; pharmacokinetics; HPLC; dogs

ABSTRACT: **AIM:** To investigate the effect of extraction on pharmacokinetics of glycyrrhetic acid (GA) by determining GA concentration of serum after administration of Gegen Qinlian Decoction (T) and *Glycyrrhiza uralensis* decoction (S). **METHODS:** HPLC method was established to determine serum concentration of GA and pharmacokinetic parameters were calculated. **RESULTS:** The parameters in dogs after administration of T and S were as follows: C_{max} was (244.8 ± 56.1) and (986.5 ± 116.9) ng/mL; t_{max} was (9.7 ± 1.5) and (10.3 ± 1.5) h; and $AUC_{0-\infty}$ was ($4\,766 \pm 963$) and ($14\,483 \pm 2\,410$) ng/(h·mL), respectively. **CONCLUSION:** Extraction has significant effect on pharmacokinetic parameters, the removal half-life of GA in Gegen Qinlian Decoction is markedly extended.

葛根芩连汤为张仲景名方,该方由葛根、黄连、黄芩和炙甘草组成,其中甘草具有一定的解毒、抗病毒、抗溃疡等作用,其主要成分为甘草酸、甘草次酸等^[1]。中药提取工艺的差异往往导致其制剂临床疗效差别很大。由于甘草酸胃肠道给药后在血液中很难检测到^[2,3],因此,本实验通过测定灌服葛根芩连汤全方及单方煎液的家犬体内甘草次酸体内经时过程,分析相应的药动学参数,探讨煎煮方式对甘草次酸家犬体内药动学的影响,以期对生产实践提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

Dinex 高效液相色谱仪(P680泵,ASI-100自动进样器,TCC-100柱温箱,UVD-340U二极管阵列检测,Chromleon色谱工作站);XKG6-A型快速混合器(姜堰市新康医疗器械有限公司);TGL-16G型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 药品与试剂

甘草次酸对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号:A0038),卡马西平(哈尔滨商业大学药物化学教研室提供),乙腈(色谱纯),其他试剂为分析纯。葛根、黄芩、黄连、炙甘草(哈尔滨人和药店)。

1.3 样品制备

葛根芩连汤煎剂(T):按处方配比取葛根芩连汤各味药的饮片(葛根15g,黄芩9g,黄连9g,炙甘草6g)5份,加水2 000 mL,先煎葛根20 min,余药共煎30 min,煎2次,合并煎液,定容1 000 mL,浓缩至200 mL,备用。

甘草单煎液(S):取炙甘草饮片30g,加水2 000 mL,投入药材煎30 min,煎2次,合并煎液定容至1 000 mL,浓缩至200 mL,备用。

1.4 实验动物

健康家犬12只,♀♂不限,体重(14 ± 2.3) kg,沈阳军区总医院实验动物科提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate™ C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温:30 °C;流动相:乙腈-体积分数为0.5%冰醋酸水溶液(42:58, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长254 nm。

2.2 方法专属性考察

在本实验所采用的色谱条件下,甘草次酸的保留时间在6.2 min左右,内标卡马西平的保留时间在3.7 min左右,峰形良好,血清中其他成分干扰测

定,具有较高的特异性 相关色谱图见图1。

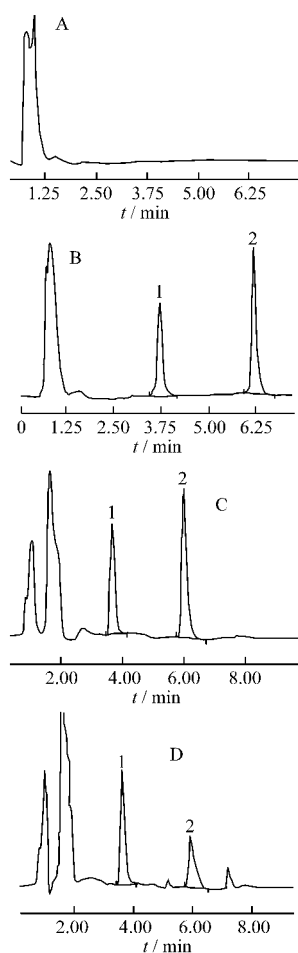


图1 家犬血清中GA的HPLC图

A. 空白血清 B. 空白血清中甘草次酸和内标 C. 家犬灌服甘草单煎液后血清样品图 D. 家犬灌服T后血清样品图 1. 卡马西平
2. 甘草次酸

Fig. 1 HPLC Chromatograms of GA in serum

A. blank serum B. blank serum spiked with GA and internal standard
C. serum sample after administration of decoction S to dogs D. serum sample after administration of decoction T to dogs 1. carbamazepine
2. glycyrrhetic acid

2.3 血样采集

12只家犬随机分为两组,每组各6只,给药前12h禁食过夜,于次日早晨空腹分别插管灌胃给予T及S溶液200mL(相当于甘草原药30g)。于服药前和服药后1、2、4、6、8、10、12、16、20、24、36h分别于股静脉取血5mL,置塑料离心试管中离心分离血清置于-25℃冰冻保存备用。

2.4 血样处理^[4,5]

取1.5mL血清置具塞玻璃离心试管中,加入内标液20μL涡旋混合2min;加入5mL氯仿涡旋混合5min 3500r/min离心10min,取有机层4mL置

试管中50℃水浴条件下氮气吹干。残渣以200μL流动相溶解,15000r/min离心10min,取上清液20μL进样。

2.5 标准曲线制备

精密称取甘草次酸对照品10.0mg至10mL量瓶中,以溶剂H(乙腈:水=8:2,V/V)定容至刻度,得贮备液。贮备液以溶剂H分别稀释得质量浓度为7.5、15、30、60、120和240μg/mL系列工作液,分别取上述工作液10μL于离心试管中加入家犬血清1.5mL涡旋混合2min后加入内标液20μL涡旋混合2min;得浓度分别为50、100、200、400、800和1600ng/mL的含药血清,按“2.4”项下处理、测定,以峰面积比A对质量浓度C(ng/mL)作加权线性回归($W=1/C^2$),得方程为: $A=0.012C+0.027$, $r=0.9995$,血浆中甘草次酸浓度在范围50~1600ng/mL间与峰面积比线性关系良好,最低定量浓度为50ng/mL。

2.6 精密度实验

配制低、中、高3种质量浓度(100、400、1500ng/mL)的标准血样,相同方法处理后进样,由标准曲线计算出质量浓度,计算日内、日间精密度。结果见表1。

表1 甘草次酸日内与日间精密度(n=5)

Tab. 1 Inter-day and intra-day precision of GA in dog serum

加入量 /(ng/mL)	日内		日间	
	测得量/(ng/mL)	RSD/%	测得量/(ng/mL)	RSD/%
100	97.1	4.32	97.3	4.31
400	385.4	3.64	384.3	3.47
1500	147.5	2.15	147.1	2.14

2.7 回收率实验

配制低、中、高3种质量浓度(100、400、1500ng/mL)的标准血样,按“2.4”项处理后进样,同时以相应浓度对照品溶液直接进样,将两组峰面积进行比较计算绝对回收率,低、中、高浓度的绝对回收率分别为(85.3±4.5)%、(84.6±3.9)%和(84.2±3.4)% (n=6)。内标绝对回收率为(74.2±3.7)% (n=18)。

2.8 药-时曲线

两组家犬灌服T、S溶液后,甘草次酸平均血药浓度-时间曲线见图2。

2.9 药动学参数

家犬灌服葛根芩连汤煎剂和甘草单煎液后,药动学参数采用非隔室模型处理, C_{max} 和 t_{max} 以实测值表示,以末端相若干点血药浓度的对数值对时间进

行回归,求得末端消除速率常数 λ_z 及消除半衰期 $t_{1/2}$;运用梯形面积法计算药-时曲线下面积 AUC_{0-t} ; $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/\lambda_z$ 。计算结果见表2。

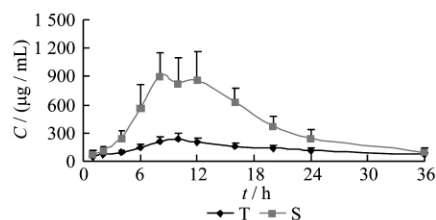


图2 家犬灌服 T、S 溶液后甘草次酸的平均药时曲线
Fig.2 Mean serum concentration-time curve of GA after administration of decoction T and S to dogs

表2 甘草次酸家犬体内药动学参数 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

参数	单位	甘草单煎液	葛根苓连汤
λ_z	h^{-1}	0.097 ± 0.022	0.047 ± 0.014
C_{max}	$ng \cdot mL^{-1}$	986.5 ± 116.9	244.8 ± 56.1
t_{max}	h	10.3 ± 1.5	9.7 ± 1.5
$t_{1/2}$	h	7.4 ± 1.6	15.8 ± 4.3
MRT_{0-36}	h	16.7 ± 1.7	28.3 ± 4.8
MAT_{0-36}	h	2.7 ± 0.9	5.3 ± 0.8
AUC_{0-36}	$ng \cdot (h \cdot mL^{-1})$	$14\,483 \pm 2\,410$	$4\,766 \pm 963$
$AUC_{0-\infty}$	$ng \cdot (h \cdot mL^{-1})$	$13\,214 \pm 6\,327$	$6\,589 \pm 1\,450$

3 讨论

体内样品分析中,样品的处理是一个关键步骤,其好坏直接影响后续实验的进行。由于涉及到后续实验,因此在参考相关文献^[4-6]的基础上,选择血清

为分析样品,采用有机溶剂萃取的方法,处理甘草次酸血清样品。实验结果表明,本实验所采用的方法可靠,适用于甘草次酸家犬体内药物动力学实验。

家犬灌胃服用葛根苓连汤和甘草单煎液后,其体内甘草次酸药物动力学参数有明显差别,服用 T 与 S 相比,甘草次酸的消除半衰期明显延长;配伍后甘草次酸在家犬体内 AUC 降低,而达峰时间没有明显差异;这说明配伍后,甘草次酸家犬体内入血量降低,清除速率减慢,而方中其他组分的存在并不影响其在体内的达峰时间。至于出现这一结果的原因是方中哪一种成分的单独作用还是哪几种成分的协同影响以及如何影响,将在后续实验中分别详细考察。

参考文献:

- [1] 田圣志,赖宝林,施钧翰,等.甘草解毒作用研究进展[J].世界中西医结合杂志,2008,3(9):560.
- [2] Raggi MA, Maffei F, Bugamelli F, et al. Bioavailability of glycyrrhizin and licorice extract in rat and human plasma as detected by a HPLC method [J]. Pharmazie, 1994, 49(4):269.
- [3] Shibata N, Shimokawa T, Jiang Z, et al. Characteristics of intestinal absorption and disposition of glycyrrhizin in mice [J]. Biopharm Drug Disposit, 2000, 21(3):95.
- [4] 田娟,周彦彬,左英,等. HPLC-MS-MS 测定血浆中的甘草次酸及生物利用度[J]. 中南药学, 2007, 5(5):476.
- [5] 赵文静,王本杰,魏春敏,等. 高效液相色谱-质谱法测定人血浆中甘草次酸浓度及人体药代动力学研究[J]. 山东大学学报(医学版), 2008, 46(11):1111.
- [6] 陆洋,李娟,杜守颖,等. 甘草次酸在大鼠体内药动学的 RP-HPLC 研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(11):1294.

枳壳中脂溶性部位有效成分提取工艺的研究

陈海芳, 魏玲, 袁金斌, 王发英, 黎艳刚, 涂明珠, 杨武亮*
(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 江西南昌 330004)

关键词:枳壳;脂溶性成分;提取工艺;RP-HPLC

摘要:目的:优选枳壳中脂溶性部位成分的最佳提取工艺。方法:HPLC 测定枳壳中 5 种脂溶性成分 meranzin hydrate、马尔敏、川陈皮素、红橘素和葡萄内酯的含量,以 5 种脂溶性成分的含量和脂溶性部位浸膏得率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优化枳壳脂溶性部位成分的提取工艺。结果:枳壳优化后的脂溶性部位成分提取工艺为 $A_2B_2C_2D_2$,乙醇浓度 85%、料液比 1:8、水浴回流 1 h,提取 2 次;以 5 种脂溶性成分的含量计算,则脂溶性部位成分平均含量为 2.86 (mg/g),RSD 为 1.32%,脂溶性部位浸膏的平均得率为 2.81%,RSD 为 1.78%。结论:该提取工艺方法简单、稳定可行,可为

收稿日期:2009-09-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30660230);“重大新药创制”科技重大专项“十一五”计划资助(2009ZX09103-350)

作者简介:陈海芳(1979-),女,硕士,助教,研究方向:天然产物的研究与开发。Tel:(0791)7118657 E-mail:chenh88@126.com

* 通讯作者:杨武亮,男,教授。Tel:(0791)7118657 E-mail:yangwuliang@163.com