



## 葛根芩连汤配伍黄芩苷在犬体内药动力学研究

葛根芩连汤为医圣张仲景名方，具有轻清解肌，清热止痢之功效，对治疗病毒性肠炎疗效确切。该方由葛根、黄芩、黄连、炙甘草四味药组成，黄芩有一定的解热作用[1]，同时也具有广谱抗病原微生物作用[2]，黄芩的主要成分为黄芩苷。本实验以黄芩苷为药动力学研究指标成分，测定葛根芩连汤配伍黄芩苷在比格犬体内的药动力学过程，从药动力学参数变化评价中药的相互作用，分析该方的组成原理。

### 1 实验材料

#### 1.1 药品与试剂

葛根、黄芩、黄连、炙甘草均购自广东省药材公司，经本校中药鉴定教研室鉴定。乙睛、甲醇(分析纯、色谱纯，美国Fisher公司)，三乙胺(分析纯)，超纯水(Millipore-Q纯水器制备)。对照品：黄芩苷(中国药品生物制品检定所，批号：110715-200212)。

#### 1.2 仪器

美国惠普HP-1100高效液相色谱仪(检测器：G1315A紫外-可见光二级管阵列检测器)；XW-80A旋涡混合器(上海精科实业有限公司)；LG10-24A离心机(北京医用离心机厂)。

#### 1.3 实验动物

比格犬，体质量(12±2) kg，雄性，南海科金实验动物科技有限公司提供(动物合格证SCXK(粤)2003-006)。

#### 1.4 供试液制备

葛根芩连汤煎剂：按处方配比取葛根芩连汤各味药的饮片(葛根15 g，黄芩9 g，黄芩9 g，甘草6 g)4份，加水1600 ml，先煎葛根20 min，余药共煎30 min，煎2次，合并煎液，定容1000 ml，取900 ml浓缩至50 ml，备用。

黄芩单煎液：取黄芩饮片36 g，加水1600 ml，先将水煮沸，再投入药材煎30 min，煎2次，合并煎液，定容至1000 ml，取900 ml浓缩至50 ml，备用。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件[3]

色谱柱：Zorbax SB-C18 柱(250 mm×4 mm，5 μm)；流动相：甲醇：0.2%磷酸(48：52)；流速：1.0 ml/min；柱温：室温；检测波长：280 nm。

#### 2.2 线性关系考察

精密称取黄芩苷对照品0.5 mg，用50%甲醇溶解，定容为10 ml。取对照品溶液分别配制成0.03、0.05、

0.1、0.2、0.5、1.0、2.0  $\mu\text{g/ml}$ 的黄芩苷系列标准溶液，按上述色谱条件进样，以浓度对峰面积进行回归，方程为 $Y=42.4538C+0.85969$ ， $r=0.99477$ ，其浓度在0.03~2.0  $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性关系良好，最小检出浓度为30  $\text{ng/ml}$ 。

### 2.3 样品采集

取比格犬6只，随机分为2组，试验前禁食1 d，称重。第一组灌胃为黄芩单煎剂浓缩液50 ml(含黄芩苷1923.66 mg)，第二组灌胃葛根芩连汤煎液的浓缩液50 ml(含黄芩苷1301.18 mg)。给药后0、2、3、4、6、8、10、12、16、18、20、24 h于股静脉留置滞留针管，定时取血2 ml，置肝素钠抗凝剂的离心管中备用。

### 2.4 样品处理

取采集的全血2 ml，离心(2000 r/min)20 min，取上清液；按照1:8加入乙腈沉淀蛋白，在旋涡混合器上震荡5 min，离心(2000 r/min)20 min，取上清液； $\text{N}_2$ 气吹干，加甲醇1 ml，旋涡混合器上溶解，0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤，即得样品溶液。

### 2.5 色谱行为

黄芩苷对照品溶液、空白血浆、血样的HPLC色谱图见图1。由空白血浆图可知血浆内源性杂质对黄芩苷的测定无干扰，黄芩苷出峰时间约为15 min。

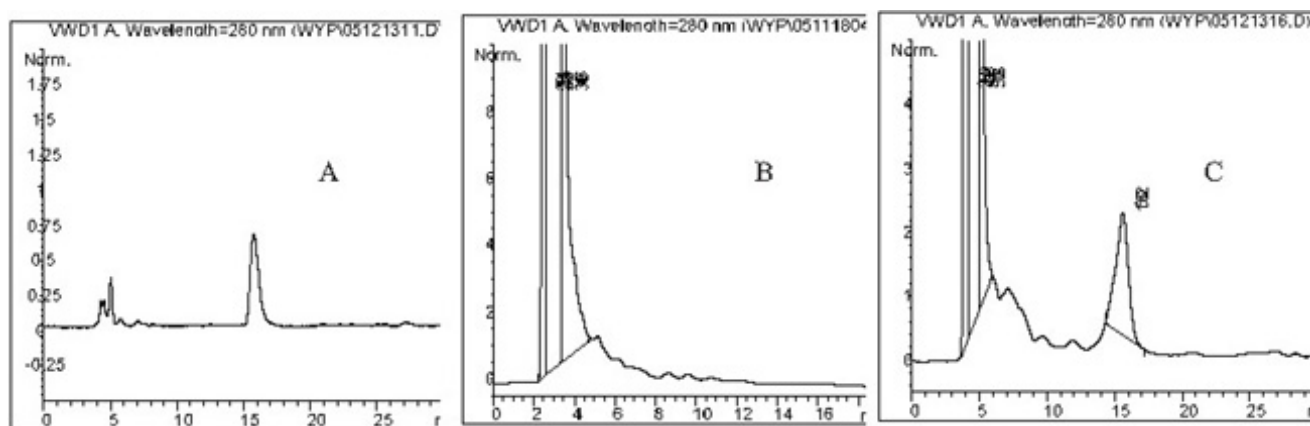


图1 HPLC色谱图  
A: 黄芩苷对照品; B: 空白血浆; C: 血样

### 2.6 回收率试验

取2 ml空白血浆15份，分为3组，分别加入浓度为1  $\mu\text{g/ml}$ 黄芩苷对照品溶液，制成相当于0.1、0.5、1.0  $\mu\text{g/ml}$ 的黄芩苷甲醇溶液，按照“样品处理”项下制备。结果3种浓度平均回收率为93.63%，平均RSD为3.25%。

### 2.7 精密度试验

取回收率试验项下3个浓度的样品，以测定结果为第一次记录，测定不同时间的样品浓度，日内及日间平均浓度的RSD分别为3.23%和3.89%。

### 2.8 血样数据

取2.4项下处理的样品，测定黄芩苷的含量，计算血中浓度，结果见表1。

表 1 葛根芩连汤和黄芩单煎剂的黄芩苷血药浓度 ( $n=3$ )

时间 (h)	黄芩单煎液 ( $\mu\text{g/ml}$ )	葛根芩连汤全方 ( $\mu\text{g/ml}$ )
0	0	0
2	0.170±0.015	0.122±0.025
3	0.268±0.006	0.208±0.022
4	0.536±0.013	0.483±0.038
6	0.616±0.021	0.633±0.042
8	0.731±0.020	0.869±0.019
10	1.070±0.042	0.932±0.017
12	1.576±0.011	1.414±0.031
14	1.147±0.010	0.973±0.014
16	0.720±0.015	0.774±0.023
18	0.357±0.003	0.498±0.019
20	0.198±0.009	0.234±0.008
24	0.137±0.016	0.057±0.020

## 2.9 药动学参数

将所测得血药浓度数据采用WinNonlin软件进行处理, 计算各组的药动学参数, 结果见表2。

表 2 葛根芩连汤及黄芩单煎的药动学参数 ( $n=3$ )

药动学参数	单位	黄芩单煎组	葛根芩连汤组
AUC	$\text{h} \cdot \mu\text{g/ml}$	18.44±0.53	17.25±0.13*
$t_{1/2}$ (K01)	L/h	4.64±0.25	4.35±0.38
$t_{1/2}$ (K10)	L/h	4.70±0.31	4.31±0.05
$C_{\text{max}}$	$\mu\text{g/ml}$	1.01±0.03	1.02±0.01
$T_{\text{max}}$	h	8.92±0.02	8.95±0.36
CL	L/h	130.47±2.50	93.97±0.96*

与单煎剂比较, \* $P<0.05$

## 3 讨论

本试验采用股静脉埋置滞留针并于规定时间取血, 采血时间点准确更加符合试验要求, 同时不对犬进行麻醉, 更能反应正常情况下药物的体内代谢情况。在采血的同时为了保证结果的准确性, 每次取血前先取0.5 ml弃去, 然后才采集血样。

用HPLC法测定黄芩苷犬体内药动学过程, 方法专属性强, 重现性好。在计算参数前以单煎剂黄芩苷的量为标准, 全方的每一个浓度都除以0.68 (全方汤剂中黄芩苷含量/黄芩单煎剂黄芩苷含量=1301.18/1923.66), 以消除煎液中黄芩苷的含量的差异, 然后再用WinNonlin软件进行药动学参数的计算, 试验结果表明方中黄芩苷在犬体内呈一房室模型; 从数据上看全方和单煎黄芩组的黄芩苷 $C_{\text{max}}$ 、 $t_{1/2}$  (K01)及 $t_{1/2}$

(K10) 没有统计学差异，而AUC值变化说明配伍后入血量降低、CL值变化表明配伍后黄芩苷代谢减慢。可见配伍能降低黄芩苷的吸收总量以及减慢黄芩苷在体内的清除速率，而不影响黄芩苷在体内的最大吸收。引起这些变化是否方中某一种或几种药物的协同作用的结果，还有待于进一步研究。（责任编辑：黄开颜）

#### 参考文献：

[1] 杨奎，张德波，史焱，等. 含黄芩血清及黄芩苷影响内生致热原产生的研究[J]. 中药药理与临床, 1994, 10(6): 13.

[2] 将韵，吴芬芬，刘桦，等. 黄芩苷抗过敏机制的药理研究[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1995, 7(3): 7.

---

[回结果列表](#)