

# 黄连解毒散超微细粉中黄芩苷在家兔体内的药代动力学研究

马玉芳, 林雪玲, 俞道进, 姚金水, 黄小红, 黄一帆\*

(福建农林大学动物科学学院/动物保健研究所, 福州 350002)

**摘要:** 采用高效液相色谱法测定灌胃给予黄连解毒散超微细粉和细粉的家兔血浆中黄芩苷的浓度, 血药浓度-时间数据经药代动力学分析软件(Pharmaceutical Kinetics Software, PKS)处理, 比较黄连解毒散超微细粉和普通细粉中黄芩苷在家兔体内的药代动力学参数。结果如下: 黄连解毒散超微细粉组、普通细粉组黄芩苷的药代动力学最佳模型均为二室开放模型。黄连解毒散超微细粉主要药代动力学参数:  $K_a = 0.497 \text{ h}^{-1}$ ,  $t_{1/2\alpha} = 2.556 \text{ h}$ ,  $t_{1/2\beta} = 8.46 \text{ h}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty} = 3.401 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ,  $V_d = 6.752 \text{ L/kg}$ ,  $T_{\text{peak}} = 3.005 \text{ h}$ ,  $C_{\text{max}} = 0.311 \mu\text{g/mL}$ ; 黄连解毒散普通细粉主要药代动力学参数:  $K_a = 0.419 \text{ h}^{-1}$ ,  $t_{1/2\alpha} = 2.74 \text{ h}$ ,  $t_{1/2\beta} = 5.83 \text{ h}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty} = 2.611 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ,  $V_d = 12.890 \text{ L/kg}$ ,  $T_{\text{peak}} = 3.645 \text{ h}$ ,  $C_{\text{max}} = 0.215 \mu\text{g/mL}$ 。与细粉比较, 黄连解毒散超微细粉中黄芩苷的相对生物利用度提高了 30.26%。上述结果表明, 黄连解毒散超微细粉后吸收相增大, 可显著提高其有效成分黄芩苷的生物利用度。

**关键词:** 黄连解毒散; 超微细粉; 黄芩苷; 药代动力学; 生物利用度

中图分类号: S859.7; S853.7

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)12-1368-05

## Pharmacokinetic Study of the Baicalin from Ultramicro-pulverised Powder of Huanglian jiedusan(HLJDS) in Rabbits

MA Yu-fang, LIN Xue-ling, YU Dao-jin, YAO Jin-shui,

HUANG Xiao-hong, HUANG Yi-fan\*

(College of Animal Science, Institute of Animal Health, Fujian

Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** High performance liquid chromatography(HPLC) was applied to determine the concentrations of plasma baicalin in two groups of rabbits after administering the ultramicro-pulverised powder and the ordinary powder of HLJDS (in water suspension) by gastrogavage respectively. The plasma concentration-time data of baicalin were dealt with Pharmaceutical Kinetics Software (PKS). Pharmacokinetics characteristics of both the ultramicro-pulverised powder and ordinary powder of HLJDS were compared. The results showed that the best pharmacokinetic model of baicalin in either group was two-compartment open model. The main pharmacokinetic parameters of baicalin of ultramicro-pulverised powder were as follows:  $K_a = 0.497 \text{ h}^{-1}$ ,  $t_{1/2\alpha} = 2.556 \text{ h}$ ,  $t_{1/2\beta} = 8.46 \text{ h}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty} = 3.401 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ,  $V_d = 6.752 \text{ L/kg}$ ,  $T_{\text{peak}} = 3.005 \text{ h}$ ,  $C_{\text{max}} = 0.311 \mu\text{g/mL}$ ; The main pharmacokinetic parameters of baicalin of the ordinary powder were as follows:  $K_a = 0.419 \text{ h}^{-1}$ ,  $t_{1/2\alpha} = 2.74 \text{ h}$ ,  $t_{1/2\beta} = 5.83 \text{ h}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty} = 2.611 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ,  $V_d = 12.890 \text{ L/kg}$ ,  $T_{\text{peak}} = 3.645 \text{ h}$ ,  $C_{\text{max}} = 0.215 \mu\text{g/mL}$ . As compared to the baicalin from ordinary powder, the relative bioavailability of baicalin from ultramicro-pulverised powder was increased by 30.26%. These data presented above indicated that the bioavailability of baicalin from HLJDS could be greatly im-

收稿日期: 2006-12-28

基金项目: 国际科技合作重点项目(2003DF030008); 福建省科技厅重点项目(2004N031); 福建省自然科学基金项目(B0710002)

作者简介: 马玉芳(1970-), 女, 宁夏中宁人, 硕士, 副教授, 主要从事临床兽医学研究, E-mail: myfau850@sohu.com

\* 通讯作者: 黄一帆(1954-), 福建闽清人, 教授, 博士生导师, 主要从事动物疾病与保健研究, E-mail: zjhyfang@163.com

proved after processing and preparing by the technique of ultramicro-pulverization.

**Key words:** Huanglian jiedusan(HLJDS); ultramicro-pulverised powder; baicalin; pharmacokinetics; bioavailability

超微粉碎是近年来国际上发展非常迅速的一项新技术,应用这种技术可将固体物料粉碎成直径小于  $10\ \mu\text{m}$  的粉体。粉碎是中药生产和制备各种剂型的基本操作,而超微粉碎的细胞破壁率特别高,大于 95%,所以将它应用于中药制剂的制备,可大幅度地提高药材中有效成分的释放和在体内的吸收,提高中药制剂的生物有效性<sup>[1,2]</sup>。不少业内专家认为,超微粉碎技术在中药加工上的应用研究,将带来中药行业的新一轮的技术革命。

黄连解毒汤出自王焘《外台秘要》,该方由黄连、黄柏、黄芩、栀子组成。具有清热泻火解毒之功效,主治疗一切实热火毒、三焦热盛之证。无论内服、外用具有良好的治疗作用<sup>[3~5]</sup>。《中华人民共和国兽药典》(2000 年版)中的黄连解毒散即源于此方。据研究,本方具有一定的抗菌、解毒、耐缺氧、抗自由基等作用,在兽医临床上广泛应用于败血症、脓毒血症、痢疾等各种急性炎症<sup>[6]</sup>。

黄一帆等<sup>[7]</sup>已对中药方剂黄连解毒散进行普通粉碎和超微粉碎后的粉末形态进行了比较观察,发现药材经超微粉碎后,粉末颗粒细微均匀,颗粒的球性度提高,复方均质度明显改善,绝大多数细胞破壁。黄芩苷是黄连解毒散黄芩中主要的有效成分,与黄芩的清热解毒,燥湿等功效有十分密切的关系。药理研究表明黄芩苷具有抗菌、抗病毒、降压、保肝、解毒、免疫调节等药理作用<sup>[8]</sup>。体外溶出度试验<sup>[9]</sup>表明超微粉碎可提高黄连解毒汤中黄芩苷溶出量。对该方进行超微粉碎后有效成分黄芩苷在体内的药代动力学研究,国内未见报道。本文在此基础上,采用高效液相色谱法测定家兔体内黄芩苷的血药浓度,比较黄连解毒散超微细粉、细粉中黄芩苷在家兔体内的药代动力学参数,以期揭示黄连解毒散经超微粉碎后主要成分在体内的变化规律及其生物利用度,为黄连解毒散超微粉在临床应用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

10 只健康家兔(购自福建医科大学实验动物中心),雌雄各半,体重  $2.5\sim 3.0\ \text{kg}$ 。单笼饲养,自由

饮水。

### 1.2 主要仪器

美国 Agilent 公司 1100 型高效液相色谱仪; HSC-24A 型氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司); BMF-6 型倍力超微粉碎机(济南倍力粉技术工程有限公司); FZ-102 型植物试样粉碎机(河北黄骅市家务科学仪器厂); Statorius BS210S 型电子天平(北京塞多利斯天平有限公司); AL104 型电子天平(西德); TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.3 药材与试剂

黄连解毒散由黄连、黄柏、黄芩和栀子(购于福州市药材采购供应站)按规定比例混合而成。黄连解毒散细粉由植物试样粉碎机粉碎,过 65 目筛。黄连解毒散超微细粉由济南倍力粉技术工程有限公司采用超微粉碎技术制成。试验前  $40\ ^\circ\text{C}$  减压干燥至恒重,给药前用蒸馏水配成悬浮液。

黄芩苷标准品(中国药品生物制品检定所,批号 10715-200212); 甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司); 磷酸为分析纯(广东光华化学厂有限公司); 肝素钠(上海惠兴生化试剂有限公司)。

### 1.4 给药与血样采集

10 只家兔试验前根据性别、体重随机分为 2 组,即黄连解毒散细粉组和黄连解毒散超微细粉组,按  $4\ \text{g/kg}$  剂量灌胃给药,给药前禁食 12 h,于给药后 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、6、8、12、24 h 分别颈静脉采血  $2.5\ \text{mL}$ , 肝素钠抗凝。3 000 r/min 离心 15 min 分离血浆,分装于 eppendorf 管中,  $-20\ ^\circ\text{C}$  保存待测。

### 1.5 血浆中黄芩苷浓度的测定

1.5.1 样品处理 精密吸取各时间点的含药血浆  $0.2\ \text{mL}$  于离心管中,加  $1.4\ \text{mL}$  甲醇超声振荡 15 min,旋涡振荡 1 min,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液到另一干净的离心管,  $40\ ^\circ\text{C}$  水浴氮气流挥干,残渣加  $0.25\ \text{mL}$  流动相溶解,并旋涡振荡 2 min,超声 5 min,  $0.45\ \mu\text{m}$  滤膜过滤,最后取  $20\ \mu\text{L}$  进样。

1.5.2 标准曲线 精密称取黄芩苷标准品,加流动相配成  $10\ \mu\text{g/mL}$  的标准品溶液。精密吸取黄芩苷

标准品溶液 1 mL 置 10 mL 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,配制成为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品储备溶液。精密吸取 6、12、24、36、50、100  $\mu\text{L}$  黄芩苷标准品储备溶液(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )于离心管中,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气流挥干,分别加入空白血浆 0.2 mL,得不同浓度的血浆标准液(浓度分别为 0.03、0.06、0.12、0.18、0.25、0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),按“样品处理”项下方法处理并进样。得到回归方程: $y = 39.849x + 0.467$ ( $r = 0.9994$ );在 0.03~0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性关系良好。以信噪比 S/N 为 3 计,该方法的检测限为 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.5.3 回收率的测定 用空白血浆和黄芩苷标准品溶液配制 0.03、0.18、0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  黄芩苷血浆样品,每种浓度样品数  $n = 5$ ,按“样品处理”项下方法处理进样分析,测得高、中、低 3 个浓度水平血浆中黄芩苷的回收率分别为 75.96%、78.07%、78.85%,相应的 RSD 分别为 4.29%、4.57%、4.38%。

1.5.4 精密度的测定 用空白血浆和黄芩苷标准品溶液配制 0.025、0.15、0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  黄芩苷血浆样品,每种浓度 5 份,按“样品处理”项下方法处理,测得高、中、低 3 个浓度水平血浆中黄芩苷的日内 RSD 分别为 4.66%、3.16%、4.22%,日间 RSD 分别为 4.71%、3.90%、4.68%。

1.5.5 色谱条件 色谱柱为 Hanbon 1C18254F(4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相为甲醇-水-0.2%磷酸(55:45:0.2);流速 1 mL/min;检测波长 280 nm。黄芩苷的保留时间为 8.4~8.7 min。空白血浆加黄芩苷标准品、家兔灌药血浆样品的色谱模式如图 1、2。

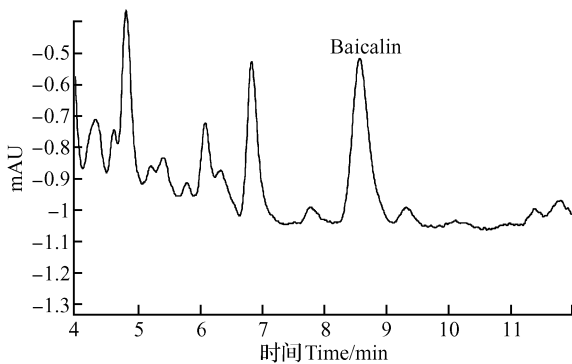


图 1 血浆中黄芩苷标准品的色谱模式  
Fig. 1 Chromatogram of baicalin standard in blank plasma

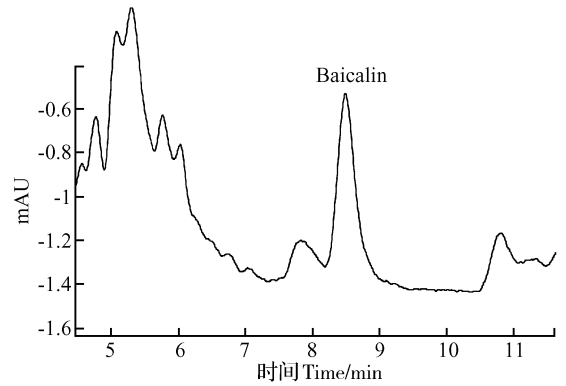


图 2 家兔灌胃 HLJDS 超微细粉血浆黄芩苷色谱模式  
Fig. 2 Chromatogram of plasma baicalin in rabbits administered with the ultramicro-pulverised powder of HLJDS by gastrogavage

## 2 结果

### 2.1 家兔灌服黄连解毒散后的黄芩苷血药浓度

家兔灌胃给予相同剂量的黄连解毒散后,超微粉、细粉分别在给药后 2~3 和 2.5~4 h 维持在一个较高浓度,其结果见表 1。

### 2.2 家兔灌服黄连解毒散的药代动力学参数

计算两组给药后不同时间点采血测得的血药浓度数据的均值,采用药代动力学软件 PKS(Pharmaceutical Kinetics Software)处理药时数据,结果表明与细粉比较,黄连解毒散超微粉的分布相半衰期  $t_{1/2\alpha}$  缩短,消除相半衰期  $t_{1/2\beta}$  延长,达峰时间  $T_{\text{peak}}$  提前,达峰浓度  $C_{\text{max}}$  增加,药时曲线下面积 AUC 增加。其主要药代动力学参数见表 2。

## 3 分析与讨论

由于黄芩苷的结构为 5,6 二羟基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷,易氧化,黄芩苷的浓缩需在低温下进行,所以,在用氮气吹干时,采用了较低的水浴温度(40 $^{\circ}\text{C}$ ),而不是常用的 50~60 $^{\circ}\text{C}$ 。黄芩苷极性较大,且有一定的酸性,为了防止其拖尾,加入磷酸抑制其解离,起到改善峰形的作用。何心等<sup>[10]</sup>用高效液相色谱电化学法测定双黄连中黄芩苷的血药浓度,直接用乙腈沉淀蛋白,在本次试验中,笔者发现甲醇超声提取法的回收率比乙腈超声提取法高一倍,说明用甲醇提取比用乙腈好,这可能是由于中药有效成分的血药浓度都很低(在 ng 和  $\mu\text{g}$  级),因而对提取方法敏感,而且甲醇沉淀蛋白是絮状的,乙腈沉淀蛋白是小块状的,絮状更有利于药物的溶出,因

表 1 家兔灌服黄连解毒散后黄芩苷血药浓度  
Table 1 Plasma concentration of baicalin in rabbits

 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 

| 采血时间/h<br>Time/h | 黄连解毒散细粉<br>Ordinary powder of HLJDS | 黄连解毒散超微细粉<br>Ultramicro-pulverised powder of HLJDS |
|------------------|-------------------------------------|--|
| 0.25             | 0.062 50±0.008 72                   | 0.093 60±0.015 30                                  |
| 0.5              | 0.073 26±0.008 88                   | 0.113 34±0.013 10                                  |
| 0.75             | 0.094 39±0.010 40                   | 0.133 67±0.013 40                                  |
| 1                | 0.107 16±0.006 88                   | 0.157 59±0.007 08                                  |
| 1.5              | 0.152 61±0.010 50                   | 0.274 00±0.006 11                                  |
| 2                | 0.201 64±0.016 00                   | 0.321 26±0.015 60                                  |
| 2.5              | 0.218 99±0.017 50                   | 0.319 05±0.016 30                                  |
| 3                | 0.217 79±0.017 50                   | 0.315 47±0.022 50                                  |
| 4                | 0.211 81±0.017 90                   | 0.274 20±0.018 70                                  |
| 6                | 0.179 91±0.021 00                   | 0.254 07±0.016 00                                  |
| 8                | 0.167 16±0.023 60                   | 0.175 38±0.016 00                                  |
| 12               | 0.073 87±0.005 51                   | 0.078 85±0.006 10                                  |
| 24               | 0.038 38±0.005 52                   | 0.038 79±0.009 98                                  |

表 2 家兔灌服黄连解毒散(4 g/kg)后血浆黄芩苷药代动力学参数  
Table 2 The pharmacokinetic parameters of plasma baicalin after a single  
dose (4 g/kg) administering by gastrogavage to the rabbits

| 参数<br>Parameter   | 单位<br>Unit                                 | 黄连解毒散细粉<br>Ordinary powder of HLJDS | 黄连解毒散超微细粉<br>Ultramicro-pulverised powder of HLJDS |
|-------------------|--|-------------------------------------|--|
| A                 | $\mu\text{g} / \text{mL}$                  | 0.414                               | 0.990  |
| $\alpha$          | 1/h  | 0.253                               | 0.271  |
| B                 | $\mu\text{g} / \text{mL}$                  | 0.323                               | 0.171  |
| $\beta$           | 1/h  | 0.119                               | 0.081 9  |
| $K_a$             | 1/h  | 0.419                               | 0.497  |
| $t_{1/2\alpha}$   | h  | 2.740                               | 2.556  |
| $t_{1/2\beta}$    | h  | 5.83                                | 8.46   |
| $V_d$             | L/kg                                       | 12.890                              | 6.752  |
| AUC               | $(\mu\text{g} / \text{mL}) \cdot \text{h}$ | 2.611                               | 3.401  |
| $K_{10}$          | 1/h  | 0.152                               | 0.174  |
| $K_{21}$          | 1/h  | 0.197                               | 0.128  |
| $K_{12}$          | 1/h  | 0.022 2                             | 0.051 4  |
| $T_{\text{peak}}$ | h  | 3.645                               | 3.005  |
| $C_{\text{max}}$  | $\mu\text{g} / \text{mL}$                  | 0.215                               | 0.311  |

此,用甲醇更有利于低血药浓度药物的提取。本试验在此色谱条件下测得的黄芩苷精密度好,回收率高,血药有效成分峰和杂质峰分离清楚,灵敏度高,说明该方法稳定,快速准确,简便可行,可以作为本试验血药浓度监测的手段。

本试验所得血药浓度-时间数据经药代动力学软件 PKs(Pharmaceutical Kinetics Software)处理药时数据,根据  $F$  检验和 AIC 值选择房室数,2 组

家兔灌服黄连解毒散超微细粉、细粉后,其有效成分黄芩苷在其体内的代谢过程符合一级吸收二室开放模型。说明黄连解毒散超微细粉和细粉的有效成分黄芩苷在家兔体内的代谢方式基本相似。有文献报道<sup>[11]</sup>家兔经口给予银黄冲剂,银黄冲剂中的代表成分黄芩苷在家兔体内的药时过程也符合一级吸收二室开放模型,但其消除非常缓慢,消除半衰期达到 341.5 h,与本试验的 5.83~8.46 h 相比,差异很

大,这可能与试验方剂不同有关。黄连解毒散中含有利胆作用较强的栀子,这种成分可能对黄芩苷的排泄产生某些显著影响,因为黄芩苷是含羟基的黄酮类化合物,极性较强,有利于血中的快速消除,而且黄酮类化合物的胆汁排泄是其排泄的主要途径<sup>[12]</sup>。

黄连解毒散超微细粉组和细粉组比较, $T_{peak}$ 缩短了 0.640 h;  $C_{max}$  提高了 43.98%; AUC 反映药物的生物利用度,其中超微细粉、细粉 AUC 分别是 3.401 和 2.611  $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ ,与细粉比较,黄连解毒散超微细粉中黄芩苷的相对生物利用度提高了 30.26%,表明超微细粉比细粉生物利用度大。一般对固体药物来说,溶出是吸收的前提,药物粉体粒径越小,比表面积越大,溶出越快,吸收越好<sup>[13]</sup>。在理论上,散剂的颗粒越细,比表面积愈大,进入体内的颗粒与体液较大的接触面积可使药物较快地溶解和吸收。中药经过超微粉碎后,细胞破壁率达 95% 以上,颗粒细,混合均匀,其有效成分充分暴露出来,在胃液作用下即被溶解,进入小肠后即被同步吸收,起效迅速;另外,中药超微细粉因其超微粉颗粒子吸附力的作用,使药物在消化道内的作用时间较长,提高了药物吸收率,同时药物有效成分由细胞内向外迁移所需时间缩短,吸收明显加快,且吸收量增大、吸收更完全<sup>[14~16]</sup>。药物的生物利用度与药物成分的溶出量和溶出速率在一定程度上具有相关性,因此通过降低药物粉体的粒径可改善药物的溶出速度,提高生物利用度。本试验研究表明中药经超微粉碎后其有效成分吸收更快、更多,对提高中药有效成分的生物利用度具有积极的意义。

#### 参考文献:

[1] 关走增,雷敬卫,郑艳丽. 浅谈超微粉碎[J]. 中国中药杂志,2002,27(7):499~501.

- [2] 杜 军. 超微粉碎—提高兽药生物利用度的有效方法[J]. 中国兽药杂志,2004,38(2):51~53.
- [3] Dai K, Miki K, Fukuoka T, *et al.* Suppression of neuropeptides' s mRNA expression by herbal medicine in a rat model of perpheral inflammation [J]. Life Sci, 2000,66(1):19~29.
- [4] 张国华,马建兵. 黄连解毒汤药理研究进展[J]. 浙江中医杂志,1999,(1):39~41.
- [5] 张艺平,韩 鹏. 黄连解毒汤药理研究最新研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2000,6(6):61~63.
- [6] 张泉鑫,张克家. 黄连解毒汤—清热解暑基础方[J]. 中兽医学杂志,1998,3:36~37.
- [7] 黄一帆,李富文. 黄连解毒汤细粉及超微细粉组织特征扫描电镜观察[J]. 福建畜牧兽医,2003,25(6):1~3.
- [8] 朱 英. 国内黄芩苷的研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志,1993,13(9):567~569.
- [9] 黄一帆,李富文,马玉芳. 超微粉碎对黄连解毒汤中黄芩苷溶出的影响[J]. 福建农林大学学报,2004,33(2):215~218.
- [10] 何 心,石春伟,李 欣,等. 双黄连粉针中黄芩苷的药理学[J]. 中国新药杂志,1998,7(2):147~148.
- [11] 张志荣,胡晓颖,蒋大义,等. 银黄冲剂中黄芩苷在家兔体内的药代动力学研究[J]. 中成药,1996,18(6):1~3.
- [12] 阴 健,任天池,曹春林. 黄芩苷及其在清开灵注射液中的药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,1998,4(4):31~33.
- [13] 梁文权. 生物药剂学与药代动力学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001. 146~156.
- [14] 骆苏芳,翁甲丰,洗显秀. 浅谈超微细中药粉体[J]. 中药材,1999,22(4):209~211.
- [15] 何 煜,郭 琪,杜晓敏. 中药细胞级微粉碎对体内吸收的影响[J]. 中成药,1999,21(11):601~602.
- [16] 舒朝晖,刘根凡,马孟骅,等. 中药超微粉碎之浅析[J]. 中国中药杂志,2004,29(9):823~827.