

## 泻心汤黄酮类成分在大鼠体内的药代动力学研究

闫晶超, 刘兆明, 王天明, 石 荣, 马越鸣\*

(上海中医药大学 中药药代动力学实验室, 上海 201203)

**摘要:** 研究泻心汤中黄酮类成分在大鼠体内药代动力学规律。大鼠灌胃给予泻心汤  $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 给药前及给药后不同时间采集血样或尿样, HPLC法测定黄酮类成分浓度, 血药浓度-时间数据和尿药排泄量-时间数据用 DAS软件进行动力学分析。采用大鼠肾匀浆温孵法, 进行黄芩苷的体外代谢研究。结果显示, 黄芩苷、汉黄芩苷血药浓度迅速达峰, 药时曲线呈现双峰现象, 消除  $T_{1/2}$  均为 6 h 左右; 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素在尿中均有排泄, 尿中排泄量占给药量均  $< 10\%$ , 尿排泄  $T_{1/2}$  在 6 ~ 8 h; 大鼠肾匀浆可将黄芩苷代谢生成黄芩素, 酶动力学参数  $V_{\text{max}} = 702 \text{ nmol} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} (\text{protein})$ ,  $K_m = 135 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。可见, 泻心汤中黄酮类成分可迅速吸收入体内; 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素均可从尿排泄, 但尿药排泄量较少; 肾脏可将黄芩苷代谢成黄芩素。

**关键词:** 黄酮类; 泻心汤; 药代动力学; 高效液相色谱法

中图分类号: R917; R969.1 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)07 - 0722 - 08

## Pharmacokinetics of flavonoids from Xiexin decoction in rats

YAN Jing-chao, LIU Zhao-ming, WANG Tian-ming, SHI Rong, MA Yue-ming\*

(Laboratory of Pharmacokinetics, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** To study the pharmacokinetics of flavonoids from Xiexin decoction in rats. SD rats were given a single ig dose of Xiexin decoction  $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , plasma and urine were collected before and after dosing. Flavonoids components in plasma and urine were measured by HPLC. Pharmacokinetic parameters were determined from the plasma concentration-time data and urinary excretion-time data with the DAS software package. Baicalin was incubated with the rat renal homogenate to investigate its metabolism *in vitro*. After oral administration of Xiexin decoction baicalin and wogonoside were quickly absorbed and exhibited double peak phenomena in their plasma concentrations. The first peaks in plasma concentrations of baicalin and wogonoside reached  $C_{\text{max1}}$  of  $(10 \pm 8)$  and  $(1.5 \pm 0.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  at  $T_{\text{max1}}$  of  $(0.27 \pm 0.09)$  and  $(0.17 \pm 0.00) \text{ h}$ , while the second peaks reached  $C_{\text{max2}}$  of  $(3.9 \pm 0.5)$  and  $(0.74 \pm 0.11) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  at  $T_{\text{max2}}$  of  $(7.6 \pm 2.6)$  and  $(16.0 \pm 0.0) \text{ h}$ , respectively. The  $T_{1/2}$  of baicalin and wogonoside were  $(7 \pm 3)$  and  $(6.4 \pm 2.1) \text{ h}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}$  were  $(57 \pm 12)$  and  $(15 \pm 3) \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. After oral administration of Xiexin decoction, not only baicalin and wogonoside but also baicalein and wogonin can be detected in the urine. The amounts of baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin excreted from urine during 0 - 72 h were  $(1.4 \pm 0.3)$ ,  $(3.4 \pm 1.3)$ ,  $(2.2 \pm 0.97)$ ,  $(10 \pm 4) \%$  of dose given in rats, respectively. The excretion  $T_{1/2}$  of the four flavonoids were  $(6.9 \pm 2.1)$ ,  $(9 \pm 4)$ ,  $(8.2 \pm 2.0)$  and  $(7.2 \pm 1.8) \text{ h}$ , respectively. Baicalin was metabolized into baicalein in the rat renal homogenate *in vitro*, and the kinetic parameters were measured as  $V_{\text{max}} = 702 \text{ nmol} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} (\text{protein})$  and  $K_m = 135 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . After oral administration of Xiexin decoction, flavonoids can be absorbed quickly. Only a small quantity of baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin were excreted from urine. Baicalin may be metabolized into baicalein in the rat kidney.

**Key words:** flavonoids; Xiexin decoction; pharmacokinetics; HPLC

收稿日期: 2006-12-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (90409008); 上海市科委基金资助项目 (04DZ19844); 上海市重点学科建设项目资助 (T0301).

\* 通讯作者 Tel / Fax: 86 - 21 - 51322386, E-mail: mayueming\_117@126.com

泻心汤 (Xiexin decoction) 为出自《金匱要略》的经典名方,由大黄、黄芩、黄连组成,具有抗炎<sup>[1]</sup>、抗病原微生物、抗凝、改善高血压、高脂血症、保护胃黏膜等药理作用<sup>[2]</sup>,但对该方的药代动力学特征了解很少。

黄芩有效成分为黄酮类,主要包括黄芩苷 (baicalin)、黄芩素 (baicalein)、汉黄芩苷 (wogonoside)、汉黄芩素 (wogonin) 等 (图 1)。迄今为止,关于泻心汤黄芩成分的药代动力学研究有 2 篇报道,其中一篇测定了黄芩苷的血药浓度<sup>[3]</sup>,另一篇关于泻心汤沉淀物中黄芩苷及其代谢物的尿排泄量研究<sup>[4]</sup>,均未进行动力学分析。因此,对泻心汤中黄酮类成分的药代动力学规律尚不清楚。本研究分析了泻心汤中黄芩的黄酮类化合物在大鼠体内的动力学变化,以阐明泻心汤中黄芩苷和汉黄芩苷的药代动力学规律,黄芩苷和汉黄芩苷及其苷元的尿排泄规律,并进行了肾脏的体外代谢研究,以便更全面地阐明泻心汤黄酮类成分的药代动力学规律。

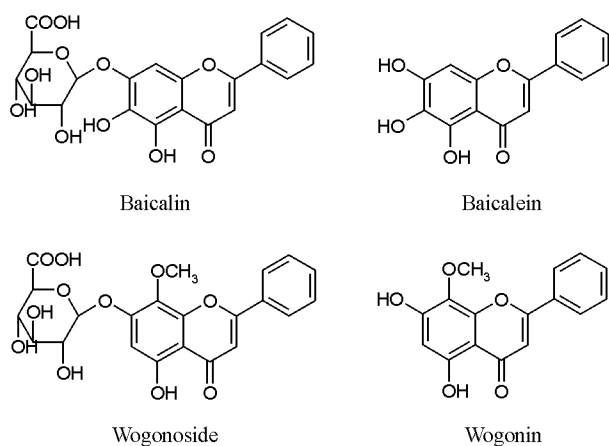


Figure 1 Chemical structures of four flavonoids

## 材料与方法

**仪器** Agilent HP1100 高效液相色谱仪系统 (配有二元泵、DAD 检测器、自动进样器和色谱工作站); TGL-16G-A 型高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

**药品及试剂** 黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素对照品, 购于中国药品生物制品检定所; saccharo-1, 4-lactone 购于 Sigma 公司; 对羟基苯甲酸甲酯对照品, 购于国药集团化学试剂有限公司, 甲醇、乙腈均为色谱纯。

大黄、黄芩和黄连, 购自上海康桥中药饮片有限

公司, 经本校生药教研室赵志礼教授鉴定, 按 2:1:1 比例, 传统方法煎煮, 标准化制备过程制成泻心汤提取物细粉, 由本校科技实验中心中药制药室制备。用 HPLC 法进行含量测定和质量控制<sup>[5]</sup>。

**动物** 清洁级 SD 大鼠, (274 ± 19) g, 雄性, 合格证号: SCXK(沪) 2003-0002, 由本校实验动物中心提供。实验前禁食 12 h, 自由饮水。

**色谱条件** 色谱柱: Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 血药浓度测定为甲醇-0.1%磷酸 (47:53, v/v), 尿药浓度测定为乙腈-0.1%磷酸, 0~30 min 乙腈 23.5%, 30~50 min 乙腈由 23.5% 线性上升至 55%。流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 紫外检测波长: 277 nm。

**样品预处理** 取血浆 0.1 mL, 加入内标 12 mg · L<sup>-1</sup> 对羟基苯甲酸甲酯 10 μL, 1 mmol · L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液 50 μL, 振荡混匀, 再加入甲醇-乙腈 (1:1) 100 μL, 36% 乙酸 5 μL 涡旋 10 min, 16 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 20 min, 取上清液进样分析。取尿样 0.3 mL, 16 000 r · min<sup>-1</sup> 高速离心 20 min, 取上清液 30 μL 进行分析。

## 方法学考察

**专属性** 记录黄酮类标准对照品、泻心汤、空白样品、空白样品加标准对照品和给药后样品的色谱图, 考察分析方法的专属性。

**线性范围及定量限** 制备黄芩苷、汉黄芩苷质量浓度分别为 0, 0.1, 0.5, 2.0, 5.0, 7.0 和 10.0 mg · L<sup>-1</sup> 及 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 和 8.0 mg · L<sup>-1</sup> 血浆样品, 按“样品预处理”项下血浆样品预处理的方法操作, 用样品质量浓度 X 对样品与内标峰面积比 Y 作加权直线回归, 得标准曲线。

制备空白尿样加黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素样品, 使质量浓度分别为黄芩苷 0.087, 0.44, 2.18, 10.92, 21.84, 54.6 和 109.2 mg · L<sup>-1</sup>; 汉黄芩苷 0.06, 0.32, 1.58, 7.90, 15.8, 39.5 和 79.0 mg · L<sup>-1</sup>; 黄芩素 0.044, 0.22, 1.10, 5.52, 11.0, 27.6 和 55.2 mg · L<sup>-1</sup>; 汉黄芩素 0.025, 0.075, 0.37, 1.87, 3.75, 15.1 和 47.6 mg · L<sup>-1</sup>; 按“样品预处理”项下尿液样品预处理的方法操作, 用样品质量浓度 X 对样品峰面积 Y 作加权直线回归, 得标准曲线。

**精密性、准确度与回收率** 制备黄芩苷质量浓度为 0.1, 5.0 和 10.0 mg · L<sup>-1</sup>, 汉黄芩苷质量浓度为 0.2, 1.0 和 8.0 mg · L<sup>-1</sup> 血浆样品, 按“样品预处理”操作, 批内平行 5 份, 用于评价方法的准确度和

批内精密度的连续测定 3 d, 计算批间精密度的。另取超纯水加入黄芩苷和汉黄芩苷, 使其浓度与血浆样品相同, 按“样品预处理”项下血浆样品的预处理操作, 得标准样品峰面积比, 求得低、中、高 3 个浓度血浆提取回收率。

制备空白尿样加黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素样品, 使质量浓度分别为黄芩苷 0.087, 10.92 和 109.2 mg·L<sup>-1</sup>, 汉黄芩苷 0.063, 15.8 和 79 mg·L<sup>-1</sup>, 黄芩素 0.044, 11.04 和 55.2 mg·L<sup>-1</sup>, 汉黄芩素 0.025, 3.75 和 47.6 mg·L<sup>-1</sup> 的尿样, 按“样品预处理”操作, 批内平行 5 份, 用于评价方法的准确度和批内精密度, 连续测定 3 d, 计算批间精密度。

稳定性 配制与“精密度、准确度与回收率”浓度相同的黄芩苷、汉黄芩苷血浆样品及 4 个黄酮类成分的尿液样品, 在 -70 °C 条件下存放 3 d, 室温放置 20 h, 冻融 1 次。按照“样品预处理”项下预处理操作, 考察稳定性。

方法学质量控制 在生物样本分析方法验证完成以后开始测定未知样品, 同时进行质量控制。每个分析批生物样品测定随行标准曲线, 并进行 3 浓度双样本质量控制样品分析, 并将质量控制样品变异 <15% 作为当批数据是否接受的标准。

泻心汤在大鼠体内的药代动力学 大鼠 5 只, 参考人用等效剂量<sup>[6]</sup>的 2 倍作为本试验中泻心汤的给药剂量, 灌服泻心汤 12 g(生药)·kg<sup>-1</sup> (含黄芩苷 302.02 mg·kg<sup>-1</sup>、汉黄芩苷 55.61 mg·kg<sup>-1</sup>、黄芩素 30.94 mg·kg<sup>-1</sup> 和 汉黄芩素 11.96 mg·kg<sup>-1</sup>)。给药前及给药后 5, 10 和 20 min, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 28 和 32 h 采血, 9 600 r·min<sup>-1</sup> 制备血浆, 用前述方法测定, 由随行标准曲线计算出黄芩苷、汉黄芩苷的血药浓度。

大鼠 5 只, 灌服泻心汤 12 g(生药)·kg<sup>-1</sup>, 给药后置于代谢笼中, 0~4, 4~8, 8~12, 12~24, 24~36, 36~48 和 48~72 h; 按时间段留取尿液样本, 并记录总体积, -80 °C 保存。用前述方法测定, 由随行标准曲线计算出黄酮类成分的尿药浓度及排泄量。

体外肾脏代谢

肾匀浆制备 大鼠处死放血后, 立即取出肾, 在 4 °C 环境中, 加入等体积 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液 (磷酸二氢钾 0.26 g, 磷酸氢二钠 1.158 g, 溶解于 50 mL 纯水中, 用磷酸调节至 pH 7.4), 制成匀浆。

肾脏代谢动力学 用 10 mmol·L<sup>-1</sup> Tris-HCl

缓冲液稀释肾匀浆, 质量浓度为 6 g( protein) ·L<sup>-1</sup>, 分成空白代谢组和加 β-葡萄糖醛酸苷酶抑制剂 ( saccharo-1, 4- lactone) 代谢组。空白代谢组: 加入黄芩苷, 浓度为 3.75, 15, 30, 60, 150 和 300 μmol·L<sup>-1</sup>, 上述体系在 37 °C 水浴中孵育 30 min, 加入含有内标 (对羟基苯甲酸甲酯) 的冰甲醇终止反应, 涡旋 1 min, 4 °C 下 16 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上清液 40 μL 经 HPLC 检测; 加 β-葡萄糖醛酸苷酶抑制剂代谢组: 先加入 β-葡萄糖醛酸苷酶抑制剂 saccharo-1, 4- lactone, 使其终浓度为 381 μmol·L<sup>-1</sup>, 37 °C 水浴中预孵育 10 min, 余同空白代谢组。

数据分析 给药后体内黄酮类成分分析: 大鼠给药后血浆、尿样色谱图与泻心汤及空白样品色谱图进行对比, 并通过与黄酮类成分 (黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素) 标准对照品进行对比确认, 分析给药后血浆及尿液中黄酮类成分。

黄酮类的血药浓度-时间数据、尿药排泄量-时间数据用 DAS 程序进行药代动力学分析, 求算药代动力学参数。体外肾代谢数据用 GraphPad Prism 软件进行 Michaelis-Menten 拟合, 计算酶动力学参数。

结果

1 方法学考察结果

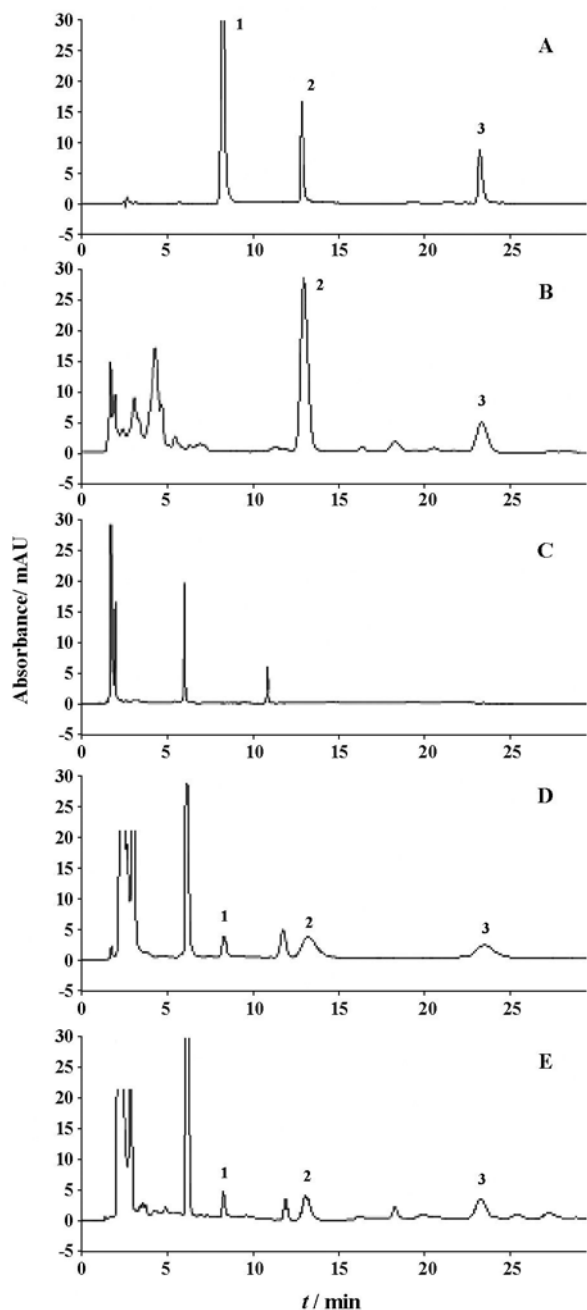
1.1 专属性 血浆和尿样色谱图 (图 2 和图 3) 表明, 空白血浆及尿液在与对照品相同保留时间处没有检出色谱峰, 黄酮类成分与其他成分达到基线分离, 说明血浆及尿液中内源性物质、代谢产物及泻心汤中其他成分均不干扰黄酮类成分的检出。

1.2 线性范围及定量限 血浆黄芩苷标准曲线回归方程 Y=0.458X+0.017 95 (r=0.998 4, n=5); 汉黄芩苷标准曲线回归方程 Y=0.885X+0.045 97 (r=0.996 8, n=5)。黄芩苷和汉黄芩苷血浆质量浓度分别在 0.1~10.0 mg·L<sup>-1</sup> 及 0.1~8.0 mg·L<sup>-1</sup> 线性良好, 定量下限 (LLOQ) 均为 0.1 mg·L<sup>-1</sup>。

尿中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素标准曲线回归方程如表 1。

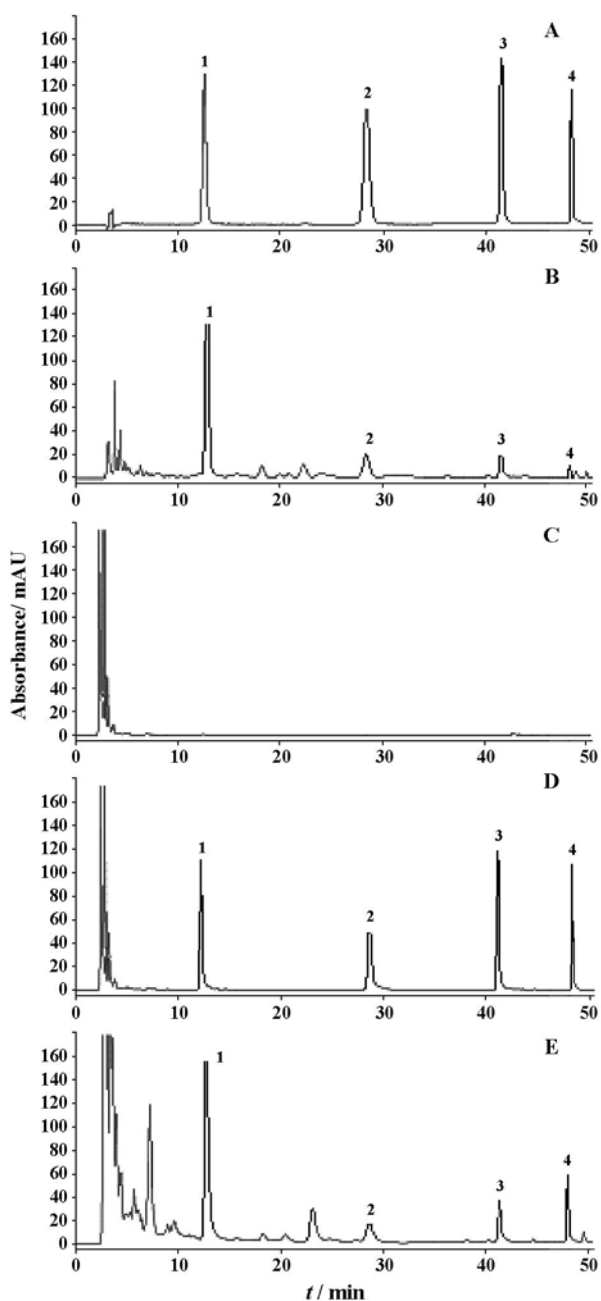
Table 1 Regression equations and correlation coefficients of four flavonoids in rat urine (w=1/c)

Compound	Regression equation	Correlation coefficient
Baicalin	Y=78.541X-44.954	0.999 4
Wogonoside	Y=101.75X-46.899	0.999 7
Baicalin	Y=147.11X-101.89	0.998 8
Wogonin	Y=136.77X+30.984	0.998 6



**Figure 2** HPLC chromatograms of baicalin and wogonoside in rat plasma. A: Standards; B: Xiexin decoction; C: Blank plasma; D: Blank plasma spiked with standards; E: Plasma sample after oral administration of Xiexin decoction. 1: Internal standard; 2: Baicalin; 3: Wogonoside

**1.3 精密度、准确度与回收率** 低、中、高 3 个浓度的准确度 ( $n=5$ ) 黄芩苷为 92.6%, 93.1% 和 92.0%; 汉黄芩苷为 117.7%, 103.6% 和 91.0%。3 个浓度的批内精密度 ( $n=5$ ) 黄芩苷为 4.1%, 8.2% 和 1.6%; 汉黄芩苷为 16.9%, 5.8% 和 12.7%, 批间精密度 ( $n=5$ ) 黄芩苷为 4.2%, 1.5%



**Figure 3** HPLC chromatograms of four flavonoids in rat urine. A: Standards; B: Xiexin decoction; C: Blank urine; D: Blank urine spiked with standards; E: Urine sample after ig administration of Xiexin decoction. 1: Baicalin; 2: Wogonoside; 3: Baicalein; 4: Wogonin

和 1.7%; 汉黄芩苷为 7.4%, 3.9% 和 2.2%。低、中、高 3 个浓度血浆提取回收率 ( $n=5$ ) 黄芩苷为 58.5%, 81.4% 和 68.8%; 汉黄芩苷为 84.2%, 80.9% 和 76.0%。

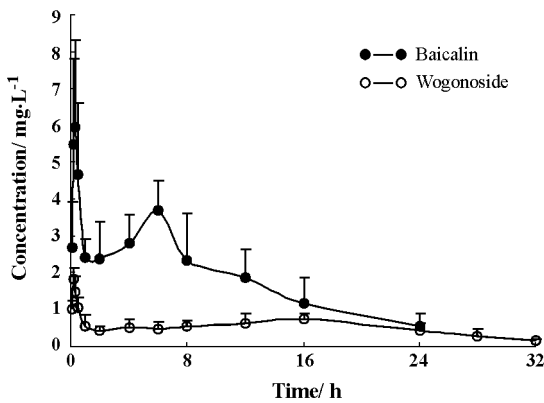
尿中黄酮类成分低、中、高 3 个浓度的准确度 ( $n=5$ ) 黄芩苷为 100.9%, 96.8% 和 102.7%; 汉

黄芩苷为 98.6%, 98.1%和 105.9%; 黄芩素为 102.1%, 101.5%和 104.7%; 汉黄芩素为 90.0%, 97.6%和 83.4%。3个浓度的批内精密度 ( $n=5$ ): 黄芩苷为 8.1%, 1.8%和 1.1%; 汉黄芩苷为 5.3%, 1.1%和 1.4%; 黄芩素为 7.5%, 1.4%和 2.3%; 汉黄芩素为 9.6%, 1.2%和 4.2%。批间精密度 ( $n=5$ )黄芩苷为 11.1%, 2.9%和 2.1%; 汉黄芩苷为 7.0%, 3.4%和 3.4%; 黄芩素为 6.5%, 8.0%和 4.0%; 汉黄芩素为 9.2%, 6.5%和 5.5%。

**1.4 稳定性** 黄芩苷、汉黄芩苷血浆样品及 4 个黄酮类成分的尿液样品, 在  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下存放 3 d, 室温放置 20 h, 冻融 1 次, 各浓度样品测定值的 RSD 均小于 15%, 这表明在此条件下黄酮类成分稳定性良好。

**2 药代动力学研究**

大鼠灌服泻心汤后, 血浆中可检测到的黄酮类成分主要为黄芩苷、汉黄芩苷(图 2), 其对应的苷元黄芩素、汉黄芩素均未检测到。黄芩苷、汉黄芩苷的浓度-时间曲线见图 4。



**Figure 4** Mean concentration-time curves of baicalin and wogonoside in rat plasma after oral administration of Xiexin decoction  $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

结果表明黄芩苷、汉黄芩苷可迅速吸收入体内, 5 min即可检测到。并随时间呈动态变化, 药时曲线呈现双峰现象。黄芩苷在体内的血药浓度高于汉黄芩苷。黄芩苷、汉黄芩苷分别在给药后 24 h 及 32 h 后血药浓度降至定量限以下。

药代动力学参数见表 2。黄芩苷、汉黄芩苷在体内的消除半衰期非常接近, 均为 6 h 左右; 第一峰出现的时间也很接近, 均为 10 min 左右, 但汉黄芩苷第二峰的出现要迟于黄芩苷。

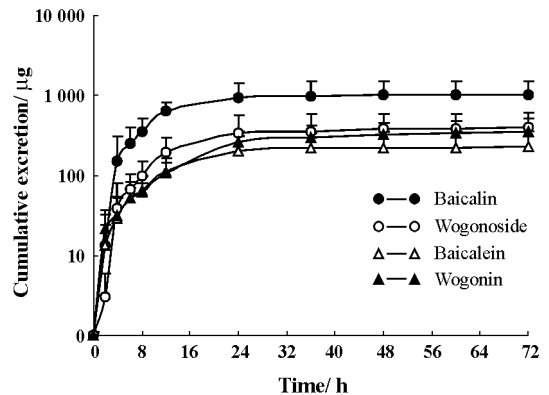
大鼠灌服泻心汤后, 尿液中可检测到的黄酮类

成分不仅有黄芩苷、汉黄芩苷, 同时也可检出其对应的苷元黄芩素及汉黄芩素, 见图 3。

**Table 2** Pharmacokinetic parameters of baicalin and wogonoside after oral administration of Xiexin decoction  $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  in rats ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

Parameter	Baicalin	Wogonoside
$T_{1/2}$ /h	$7\pm 3$	$6.4\pm 2.1$
$T_{max1}$ /h	$0.27\pm 0.09$	$0.17\pm 0.00$
$T_{max2}$ /h	$7.6\pm 2.6$	$16.0\pm 0.0$
$C_{max1}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$10\pm 8$	$1.5\pm 0.5$
$C_{max2}$ / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$3.9\pm 0.5$	$0.74\pm 0.11$
$CL/F$ / $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	$5.5\pm 1.2$	$3.9\pm 0.9$
$V/F$ / $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	$50\pm 17$	$36\pm 16$
$MRT_{0-\infty}$ /h	$10\pm 4$	$13\pm 10$
$AUC_{0-t}$ / $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$48\pm 8$	$14\pm 3$
$AUC_{0-\infty}$ / $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$57\pm 12$	$15\pm 3$

大鼠灌服泻心汤后黄酮类成分尿药累积排泄-时间曲线图见图 5。结果表明 4 个黄酮类成分在尿液中均有排泄。



**Figure 5** Mean cumulative excretion-time curves of four flavonoids in rat urine after administration of Xiexin decoction  $12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

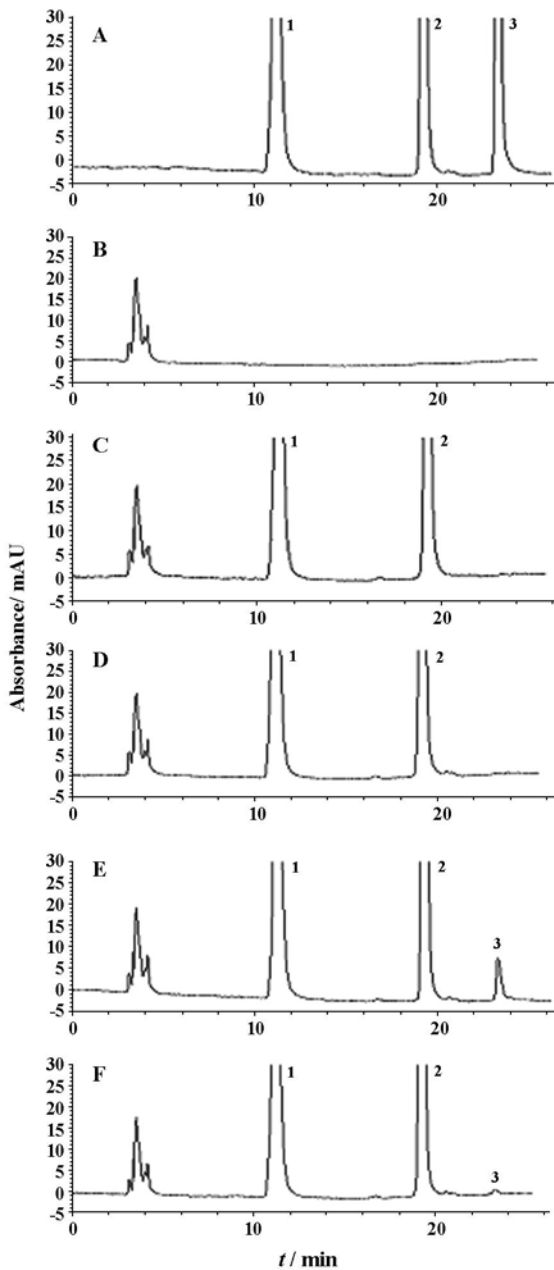
药代动力学参数见表 3, 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等 4 个黄酮类成分在尿中的排泄速率常数非常接近, 排泄半衰期均在 6~8 h 左右; 4 个黄酮类成分 48 h 内尿药累积排泄量超过了尿药总排泄量的 90%; 排出量占给药量的百分比以汉黄芩素为最多, 汉黄芩苷次之, 黄芩素再次, 黄芩苷最少。

**3 体外肾脏代谢**

**3.1 色谱图** 肾匀浆加黄芩苷温孵 30 min 的色谱图见图 6, 空白代谢组肾匀浆温孵后黄芩苷减少, 而温孵液中可检测到黄芩素; 加  $\beta$ -葡萄糖醛酸苷酶抑制

**Table 3** Excretive parameters of four flavonoids in rat urine after oral administration of Xiexin decoction  $12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

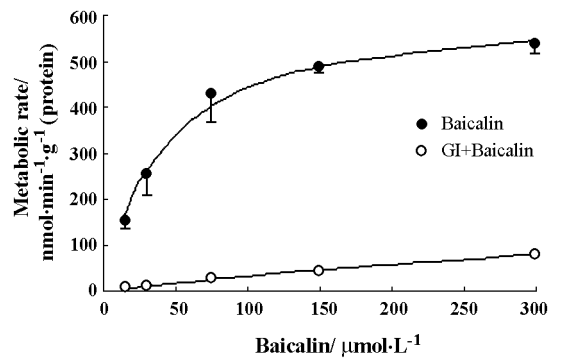
Parameter	Baicalin	Wogonoside	Baicalin	Wogonin
$T_{1/2} / \text{h}$	$6.9 \pm 2.1$	$9 \pm 4$	$8.2 \pm 2.0$	$7.2 \pm 1.8$
$K_e / \text{h}^{-1}$	$0.107 \pm 0.028$	$0.088 \pm 0.027$	$0.088 \pm 0.018$	$0.10 \pm 0.03$
Total excretion in urine/mg	$0.99 \pm 0.30$	$0.45 \pm 0.19$	$0.16 \pm 0.07$	$0.26 \pm 0.09$
Percentage of dose/%	$1.4 \pm 0.3$	$3.4 \pm 1.3$	$2.2 \pm 0.9$	$10 \pm 4$



**Figure 6** HPLC chromatography of renal homogenate. A: Standards; B: Blank homogenate; C: Heat-inactivated homogenate spiked with standards after 30 min incubation; D: Homogenate before incubation; E: Homogenate after 30 min incubation; F: Homogenate after 30 min incubation (+ saccharo-1,4-lactone,  $381 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). 1: Internal standard; 2: Baicalin; 3: Baicalein

剂代谢组肾匀浆温孵后,检测到的黄芩素减少,剩余的黄芩苷增多。

**3.2 代谢动力学** 空白代谢组随着加入的底物黄芩苷浓度的升高,温孵后的体系中产物黄芩素的含量升高。底物浓度-代谢速率曲线见图 7。酶动力学参数  $K_m = 135 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $V_{max} = 702 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  (protein)。加  $\beta$ -葡萄糖醛酸苷酶抑制剂代谢组与空白代谢组比较,代谢速率明显降低。



**Figure 7** Substrate-velocity curve of baicalin metabolism in rat renal homogenate

### 讨论

本研究阐明了泻心汤中黄芩苷及汉黄芩苷的药代动力学参数和黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素的尿排泄动力学参数。结果表明,大鼠灌服泻心汤后,黄芩苷和汉黄芩苷血药浓度在药后 10 ~ 30 min 迅速达峰,表明泻心汤中黄芩苷和汉黄芩苷可以迅速进入体内,利于疗效的发挥;黄芩苷在 8 h 左右,汉黄芩苷在 16 h 左右出现第 2 个峰。黄芩苷、汉黄芩苷的半衰期均为 6 h 左右,在血中维持时间较长,有利于药效的维持。

关于黄芩苷及黄芩素的吸收机制和相互转化有一系列的研究报道。黄芩苷由于极性大不能直接跨膜转运吸收入血,而是在肠道菌群的葡萄糖醛酸苷酶作用下转化为其苷元即黄芩素,黄芩素在小肠黏膜中的 UDPG-葡萄糖醛酸转移酶的作用下转化为黄芩素-葡萄糖醛酸结合物(恰好与原型黄芩苷结构一致),

再以黄芩苷的形式经肠道吸收。进入血液的黄芩素还可在肝脏经 UDPG-葡糖醛酸转移酶转化生成黄芩素-葡糖醛酸结合物(即黄芩苷)<sup>[7]</sup>。体内的黄芩苷又可经胆汁<sup>[8]</sup>和肠黏膜<sup>[9]</sup>转运至肠腔,经历再循环过程。汉黄芩苷的体内转化过程与黄芩苷类似<sup>[10]</sup>。药物浓度-时间曲线双峰现象的原因有多种,如肠-肝循环、肠-肠循环或胃肠循环等。由于黄芩苷和黄芩素之间存在上述转化过程,且复方中同时具有苷和苷元,因而本实验中黄芩苷和汉黄芩苷血药浓度的双峰与多种原因有关,可能是复方中苷元吸收较早产生第一峰,而黄芩苷和汉黄芩苷在肠内转变成苷元再吸收产生了第二峰,可能还有肠-肝循环、肠-肠循环的参与。确切的机制有待进一步研究。

考虑到中药复方口服给药后,未吸收残留在肠道的量难以估计,测定粪中的药量难以反映排泄情况,因而本研究未做粪排泄研究,只进行了尿排泄研究。研究中发现,大鼠灌胃给予泻心汤后,尿液中不仅可以检测到黄芩苷和汉黄芩苷,还可以检测到黄芩素、汉黄芩素,而血浆中仅检测到黄芩苷和汉黄芩苷,并且用 HPLC 梯度洗脱和 LC/MS 分析血浆,也未检测到黄芩素和汉黄芩素。据文献<sup>[11,12]</sup>报道静脉注射黄芩素后其在体内迅速转化为黄芩苷,大鼠灌胃黄芩素后在血中未检测到黄芩素,可迅速检测到黄芩素结合型代谢物(包括黄芩苷)<sup>[13]</sup>,有文献<sup>[14]</sup>报道大鼠口服黄芩汤后,经门静脉采血可测得黄芩素,其含量非常低,由于存在肝脏的 UDPG-葡糖醛酸转移过程,如果采集外周血,则可能更难检测到黄芩素。同样汉黄芩素在体内转化为汉黄芩苷及其他代谢物,汉黄芩素含量很低<sup>[10]</sup>。采用更灵敏的方法如 LC/MS/MS 可检测到口服给药后血浆中的汉黄芩素,但浓度很低<sup>[15]</sup>。这些研究结果说明,无论是给予黄芩苷(或汉黄芩苷)还是黄芩素(或汉黄芩素)血中主要是以苷的形式存在,而苷元的浓度很低。在本研究的检测范围内,尿液中检测到苷元(黄芩素和汉黄芩素),而血浆中未检测到苷元(当然,血浆有可能存在很低浓度的黄芩素、汉黄芩素),如果仅仅是由于尿液的浓缩作用,按照对黄芩苷、汉黄芩苷的浓缩比例,在血浆中是应该能够检测到黄芩素、汉黄芩素。我们设想,尿中检测到的明显的黄芩素、汉黄芩素不仅仅来自于血浆经肾小球滤过,而主要来源于肾脏的代谢转化。因此,进一步进行了黄芩苷体外肾脏代谢转化研究,发现肾脏可将黄芩苷代谢成黄芩素,且  $\beta$ -葡糖醛酸苷酶抑制剂可

明显抑制黄芩苷转化成黄芩素。结果表明黄芩苷可经肾脏  $\beta$ -葡糖醛酸苷酶代谢成黄芩素。近年研究发现肾脏具有某些代谢酶参与药物的代谢,关于黄芩苷的肾脏代谢未见研究报道。

在中药药代动力学研究中存在许多难点,如中药的现代研究方法、认识中药的整体观和完整地分析中药作用的物质基础、全面阐述中药作用科学内涵等<sup>[16]</sup>。本文通过复方体内成分的对比如分析,阐明泻心汤中可吸收的黄酮类成分,并对这些成分的血药动力学和尿药动力学规律和体外代谢转化进行了研究,对中药复方药代动力学研究方法进行了有益的探索。

## References

- [1] Ma YM, Yan JC, Wang TM, et al. Anti-inflammatory effects of Xiexin decoction on animal models of acute inflammation [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2006, 24: 1393 - 1397.
- [2] Jiang AP. Researches on pharmacology of San-huang Xiexin decoction [J]. Beijing J Tradit Chin Med (北京中医), 2001, 20: 45 - 46.
- [3] Li Y, Gao JP, Xu X, et al. Simultaneous determination of baicalin, rhein and berberine in rat plasma by column-switching high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr B, 2006, 838: 50 - 55.
- [4] Li JR, Zuo F, Zhang L, et al. Study on the metabolism of the precipitation of Xiexin decoction in rats I [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2005, 30: 1673 - 1676.
- [5] Shi R, Ma YM, Zhang N, et al. Quantitative changes of alkaloids and flavonoids in Xiexin decoction of different combinations [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), in press.
- [6] Ren J. Zhong guo li dai ming yi ming fang quan shu (中国历代名医方全书) [M]. Beijing: Academy Press, 1996: 35.
- [7] Akao T, Kawabata K, Yanagisawa E, et al. Baicalin, the predominant flavone glucuronide of scutellariae radix, is absorbed from the rat gastrointestinal tract as the aglycone and restored to its original form [J]. J Pharm Pharmacol, 2000, 52: 1563 - 1568.
- [8] Xing J, Chen X, Zhong D. Absorption and enterohepatic circulation of baicalin in rats [J]. Life Sci, 2005, 78: 140 - 146.
- [9] Akao T, Sakashita Y, Hanada M, et al. Enteric excretion of baicalin, a flavone of Scutellaria radix, via glucuronidation in rat: involvement of multidrug resistance-associated protein 2 [J]. Pharm Res, 2004, 21: 2120 -

- 2126.
- [ 10 ] Chen XY, Wang HY, Du Y, et al. Quantitation of flavonoid wogonin and its major metabolite wogonin-7 $\beta$ -D-glucuronide in rat plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry [ J ]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002, 77: 169 - 178.
- [ 11 ] Zhang L, Lin G, Zuo Z. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of baicalin and baicalin-7-glucuronide in rat plasma [ J ]. J Pharm Biomed Anal, 2004, 36: 637 - 641.
- [ 12 ] Kim YH, Jeong DW, Paek IB, et al. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry for the simultaneous determination of baicalin, baicalin, oroxlylin A and wogonin in rat plasma [ J ]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006, 844: 261 - 267.
- [ 13 ] Lai MY, Hsiu SL, Tsai SY, et al. Comparison of metabolic pharmacokinetics of baicalin and baicalin in rats [ J ]. J Pharm Pharmacol, 2003, 55: 205 - 209.
- [ 14 ] Zuo F, Zhou ZM, Zhang Q, et al. Pharmacokinetic study on the multi-constituents of Huangqin-Tang decoction in rats [ J ]. Biol Pharm Bull, 2003, 26: 911 - 919.
- [ 15 ] Du Y, Chen XY, Yang HY, et al. Determination of wogonin in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [ J ]. Acta Pharm Sin ( 药学学报 ), 2002, 37: 362 - 366.
- [ 16 ] Liu CX. Difficulty and hot-points on pharmacokinetics studies of traditional Chinese medicine [ J ]. Acta Pharm Sin ( 药学学报 ), 2005, 40: 395 - 401.