

远志-厚朴配伍对厚朴酚、和厚朴酚胃肠代谢的影响

罗凤娟, 王建*, 马骁, 黄聪, 田徽, 郑新光, 夏厚林

(成都中医药大学药学院, 教育部重点实验室中药标准化实验室, 成都 611137)

[摘要] **目的:** 研究远志配厚朴对大鼠在胃液-肠液-血浆中不同时间厚朴酚、和厚朴酚含量的影响。**方法:** 利用甲醇沉淀蛋白处理胃、肠液及血浆样品, 采用 HPLC 测定, 色谱条件为 Synergi Hydro-RP C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水 (51:49) 为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 294 nm, 柱温 30 °C。**结果:** 厚朴组及远志配厚朴组大鼠胃肠液中均测得厚朴酚与和厚朴酚, 且配伍组各时间点胃液中的酚类物质含量明显高于单味厚朴组; 给药 150 ~ 480 min 时段肠液中的含量高于厚朴组; 血浆中仅测得和厚朴酚, 配伍组于给药 60 ~ 480 min 时段血浆中和厚朴酚含量高于厚朴组, 并有推迟吸收趋势。**结论:** 远志配伍厚朴后, 可能因远志的助溶效应使胃肠液中的厚朴酚与和厚朴酚含量增加, 从而发挥缓解远志胃肠动力障碍作用。首次采用此法, 对厚朴缓解远志胃肠动力障碍的胃肠吸收机制开展了探索性研究, 具有一定新意。

[关键词] 远志配厚朴; HPLC; 胃液-肠液-血浆; 厚朴酚; 和厚朴酚

[中图分类号] R284.1, R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0154-05

[doi] 10.11653/zgsyfxzz2013070154

Influence of Polygalae Radix Compatibility with Magnoliae Officinalis Cortex on Content of Honokiol Kind Material in Rats Gastrointestinal Liquid and Plasma

LUO Feng-juan, WANG Jian*, MA Xiao, HUANG Cong, TIAN Hui, ZHENG Xin-guang, XIA Hou-lin
(Department of Chinese Materia Medica, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of Polygalae Radix compatibility with Magnoliae Officinalis Cortex to the chemical composition in rats gastrointestinal liquid and plasma. **Method:** Treating plasma with methanol protein precipitation, the residues were analyzed with HPLC system (Synergi Hydro-RP C₁₈ column, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase consisted of acetonitrile-water (51:49), flow-rate of 1 mL·min⁻¹, detected-wavelength of 294 nm, and column temperature of 30 °C. **Result:** Magnolol and honokiol were detected in both of the Magnoliae Officinalis Cortex group and the compatibility group's rats gastric intestinal juice and plasma, and the content of honokiol kind material in compatibility group's rats of gastric juice was obviously higher than the other group at every time point. The content in rat's intestinal juice was higher than the magnoliae officinalis group's rats after ig 150-480 minutes. There are only honokiol which had been detected in the rat's plasma, and the content of it in compatibility group's plasma was much higher than the other group after ig 60-480 minutes, with the trending of delayed absorption. **Conclusion:** After the compatibility of Polygala and Magnoliae Officinalis Cortex, magnolol and honokiol were increased significantly in Magnolia, which may be relevanted with Magnolia relieving Polygala inhibition of gastrointestinal motility. First adopted this method to study the mechanism of Magnolia relieving Polygala inhibition of gastrointestinal motility, which had some innovation significance.

[Key words] Polygalae Radix compatibility with Magnoliae Officinalis Cortex; HPLC; gastric intestinal juice and plasma; magnolol; honokiol

[收稿日期] 20121011(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173567)

[第一作者] 罗凤娟, 硕士研究生, 从事中药理论与应用研究, E-mail: luomanting2006@126.com

[通讯作者] * 王建, 教授, 博士生导师, E-mail: jianwang08@163.com

远志味苦、辛,性温,主归心肾经,具有宁心安神、化痰开窍的功效,为临床常用药,但本草文献中记载其有“令人闷”、“戟人咽喉”、“腹胀”等不良反应,且临床应用及实验研究发现远志常伴随有胃肠道等不良效应发生。课题组前期研究结果显示:远志有明显的胃肠胀气等胃肠动力抑制以及黏膜损伤等副作用,且前期研究结果显示:厚朴能明显改善远志所致的胃动力障碍^[1-4];并对远志与厚朴配伍对胃肠液及血浆中远志酸含量经时变化进行了初步探讨^[5]。厚朴酚与和厚朴酚是厚朴中起主要药效作用的成分^[6-7],故本次将其作为指标成分,探讨远志与厚朴配伍前后在大鼠胃、肠液及血浆中不同时间点的含量变化曲线,以阐释厚朴缓解远志胃肠动力抑制作用的部分机制,从而为临床安全合理用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪, TG16-W 型微量高速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司), WH-3 型微型漩涡混合仪(上海沪西分析仪器厂有限公司), KQ-600 DE 型数控超声波清洗器(40 kHz, 600 W, 昆山市超声仪器有限公司), 旋转蒸发仪, 水浴锅, BP211D 型电子分析天平。

1.2 试药 远志与厚朴购于西南药都中药材市场, 经成都中医药大学卢先明教授鉴定, 远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 为远志科植物远志的干燥根, 厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 为木兰科植物凹叶厚朴的干燥干皮。厚朴酚与和厚朴酚对照品(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号 MUST-11050601, MUST-11050602)。

远志水煎液:取生远志 50 g, 加蒸馏水 500 mL, 浸泡 30 min, 武火煎煮至沸腾, 调为文火(保持微沸), 开始计时, 60 min 后停火, 过滤, 浓缩至 100 mL, 即得 $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的远志水煎液, 即相当于每 1 mL 药液中含远志原生药 0.5 g。

厚朴水煎液:取厚朴 100 g, 加蒸馏水 1 000 mL, 浸泡 30 min, 武火煎煮至沸计时, 文火续煎 15 min, 停火, 过滤, 浓缩至 100 mL, 即得 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的厚朴水煎液, 即相当于每 1 mL 药液中含厚朴原生药 1 g。

远志配厚朴 1:2 水煎液:取生远志 50 g, 加蒸馏水 500 mL, 浸泡 30 min, 武火煎煮至沸腾, 调为文火(保持微沸), 15 min 后将称好的 100 g 厚朴用 1 000 mL 蒸馏水浸泡 30 min, 加入远志中, 调为武火至沸腾, 调成文火并计时, 15 min 后停火, 过滤, 浓缩至 100 mL,

即得 $1.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 远志配厚朴 1:2 水煎液(基于前期优选配比), 相当于每 1 mL 药液中含远志原生药 0.5 g, 厚朴原生药 1 g。

乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物 健康雄性 SD 大鼠, 体重 $(230 \pm 20) \text{ g}$, 由四川省医学科学院实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(川)2008-24。

2 方法与结果

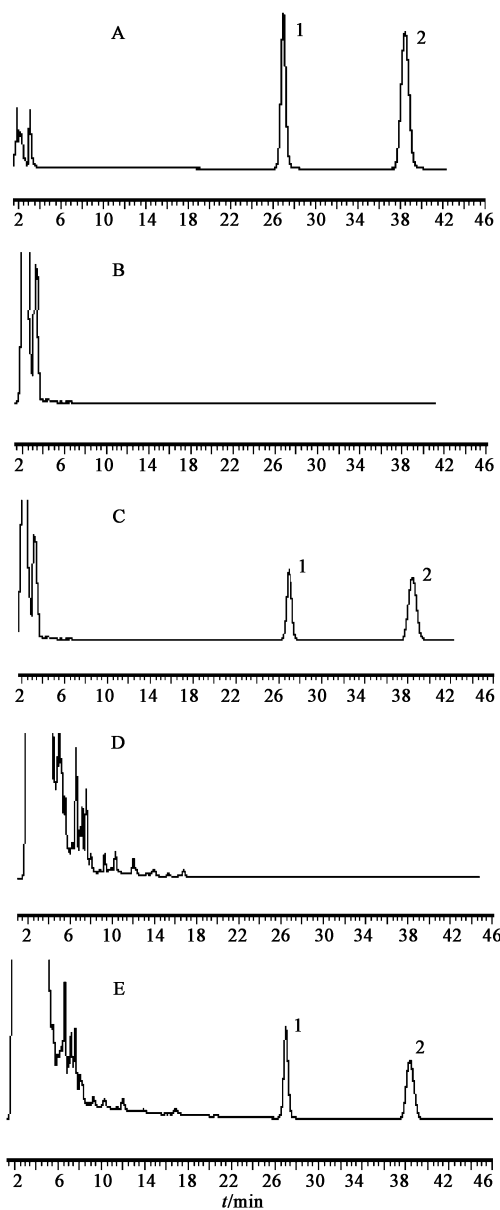
2.1 胃液、肠液、血浆样品处理方法的建立 取 33 只大鼠, 按体重随机分为空白组、远志组、厚朴组、远志配厚朴 1:2 组, 除空白组 3 只外, 其余 3 组各 10 只。在禁食不禁水 12 h 后, 远志组、厚朴组、远志配厚朴 1:2 组分别灌胃远志水煎液 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、厚朴水煎液 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、远志配厚朴 1:2 水煎液 $30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 空白组给予同体积生理盐水。给药剂量为药效剂量, 由前期试验决定。给药体积均为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 并分别于给药后 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 480 min 取血约 3 mL(取血管预先加入肝素钠溶液 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干), $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 分离得血浆于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。依时取血后立即处死大鼠, 剪取胃、肠段, 每只大鼠胃用 10 mL 蒸馏水清洗, 肠段用 20 mL 蒸馏水清洗, 以 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液, 置水浴锅上浓缩至约 1 mL ^[8], 于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 下保存备用。

取上述胃液、肠液、血浆各 0.5 mL, 加甲醇 2 mL, 置旋涡仪上振荡 3 min, 以 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干, 0.1 mL 甲醇复溶, 涡旋混合 1 min, 取 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 进样, HPLC 测定^[9]。

2.2 色谱条件的优化 参照 2010 年版《中国药典》及文献资料, 分别考察了甲醇-水(65:35)、乙腈-水(60:40)、乙腈-水(51:49)3 种流动相, 其中乙腈-水(51:49)流动相, 大鼠胃、肠液及血浆样品中厚朴酚与和厚朴酚的分离度均在 1.5 以上, 且无干扰峰, 故其后的含量测定分析流动相以此为据。色谱条件: Synergi Hydro-RP C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 乙腈-水(51:49)为流动相, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 294 nm, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 进样量 $20 \text{ } \mu\text{L}$ 。

2.3 专属性试验 按 2.2 项下色谱条件, 厚朴酚与和厚朴酚的分离度良好, 且胃肠液及血浆中内源性杂质以及远志中化学成分对厚朴酚与和厚朴酚的含量测定无干扰。色谱图见图 1~3。

2.4 线性关系考察 取空白胃液、肠液及血浆 0.2 mL, 精密加入厚朴酚与和厚朴酚对照品适量, 同 2.1

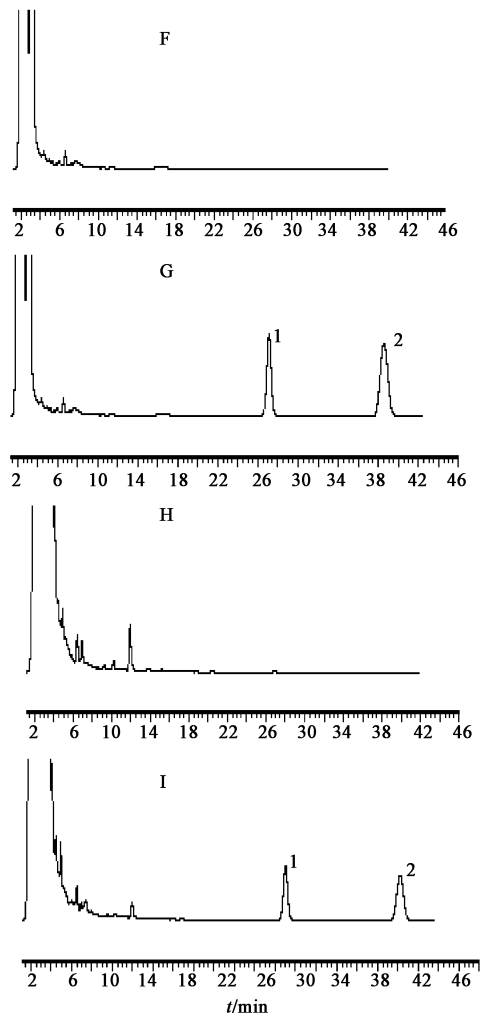


A. 厚朴酚、和厚朴酚对照品; B. 空白胃液;
C. 空白胃液 + 厚朴酚 + 和厚朴酚; D. 大鼠灌胃远志胃液;
E. 大鼠灌胃远志厚朴配伍胃液; 1. 和厚朴酚; 2. 厚朴酚

图 1 胃液 HPLC

项下操作,按峰面积计算得标准曲线方程。按照回收率配制厚朴酚与和厚朴酚高中低 3 种质量浓度胃液、肠液和血浆样品溶液,各样品平行操作 6 份,按样品处理与测定方法进行。胃液中厚朴酚与和厚朴酚最低检测质量浓度为分别为 $0.0018, 0.0122 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 肠液中厚朴酚与和厚朴酚最低检测质量浓度分别为 $0.0098, 0.0068 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 血浆中和厚朴酚最低检测质量浓度为 $0.0010 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。厚朴酚与和厚朴酚在胃液、肠液及血浆中的回归方程、样品回收率、线性范围见表 1。

2.5 稳定性试验 取厚朴酚与和厚朴酚对照品溶



F. 空白肠液; G. 空白肠液 + 厚朴酚 + 和厚朴酚;
H. 大鼠灌胃远志肠液;
I. 大鼠灌胃远志厚朴配伍肠液; 1. 和厚朴酚; 2. 厚朴酚

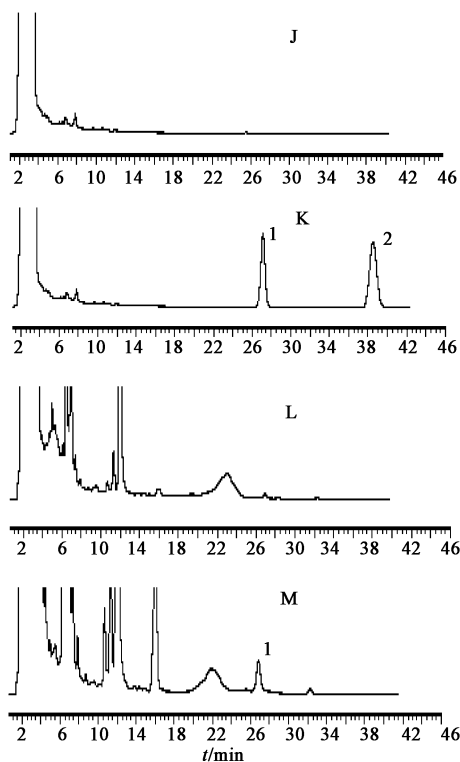
图 2 肠液 HPLC

液适量,制成含厚朴酚与和厚朴酚低、中、高 3 种质量浓度 ($0.1092, 0.9828, 8.8452 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; 0.1525, 0.9531, 5.9570 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的胃液样品, ($0.1772, 0.7086, 2.8350 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; 0.1220, 0.4880, 1.9520 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的肠液样品以及 ($0.0022, 0.0088, 0.0352 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的血浆样品,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下存放 3 d,室温放置 6 h,冻融 3 次。按 2.1 项下进行样品预处理并进行含量测定。结果厚朴酚与和厚朴酚低、中、高 3 种质量浓度的胃液样品平均 RSD 4.33%, 4.43%, 肠液样品平均 RSD 4.98%, 4.65%, 血浆样品平均 RSD 10.55% ($n=6$)。

2.6 精密度试验 配制含厚朴酚、和厚朴酚低、中、高 3 种质量浓度 ($0.1092, 0.9828, 8.8452 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; 0.1525, 0.9531, 5.9570 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的胃液样品, ($0.1772, 0.7086, 2.8350 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; 0.1220,$

表1 厚朴酚与和厚朴酚在胃液、肠液及血浆的标准曲线、线性范围、回收率($n=6$)

位置	成分	标准曲线	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	r	平均回收率/%	RSD/%
胃液中	厚朴酚	$Y=602\ 296X-7\ 038.100$	0.036 4~8.845 2	0.999 8	93.87	2.24
	和厚朴酚	$Y=69\ 1977X-10\ 791$	0.061 0~4.392 0	0.999 7	93.72	2.12
肠液中	厚朴酚	$Y=631\ 339X-45\ 239$	0.088 6~2.835 0	0.999 8	93.21	1.76
	和厚朴酚	$Y=705\ 410X-13\ 665$	0.061 0~1.952 0	0.999 9	93.16	1.56
血浆中	和厚朴酚	$Y=668\ 391X+47.756$	0.001 1~0.035 2	0.999 7	91.74	0.90



J. 空白血浆;K. 空白血浆+和厚朴酚+和厚朴酚;
L. 大鼠灌胃远志血浆;M. 大鼠灌胃远志厚朴血浆;
1. 和厚朴酚;2. 厚朴酚

图3 血浆 HPLC

0.488 0,1.952 0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的肠液样品以及(0.002 2, 0.008 8,0.035 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的血浆样品,各6份,按2.1项下操作,每个样品进样3次,结果胃液中厚朴酚与和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日内精密度分别为3.83%,2.86%,2.03%;3.90%,2.32%,1.83%;肠液中厚朴酚与和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日内精密度分别为3.37%,3.07%,2.51%;4.84%,3.37%,2.41%;血浆中和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日内精密度为11.3%,10.00%,6.32%。日间精密度按2.1分别制备含厚朴酚与和厚朴酚的胃液、肠液及血浆样品,每天测定1次,连续3d,结果胃液中厚朴酚与和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日间精密度分别为7.72%,3.54%,2.96%;7.155%,5.08%,3.72%;肠液中厚朴酚与和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日间精密

度分别为5.36%,4.49%,3.58%;7.30%,5.63%,4.93%;血浆中和厚朴酚低、中、高3种质量浓度的日间精密度为17.55%,12.75%,8.78%。

2.7 结果 取2.1项下的胃肠液及血浆样品,按照上述色谱条件进行含量测定,结果如图4~8。

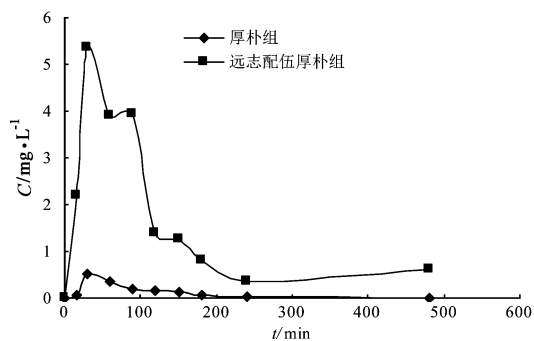


图4 远志厚朴配伍大鼠胃液中厚朴酚的含量变化

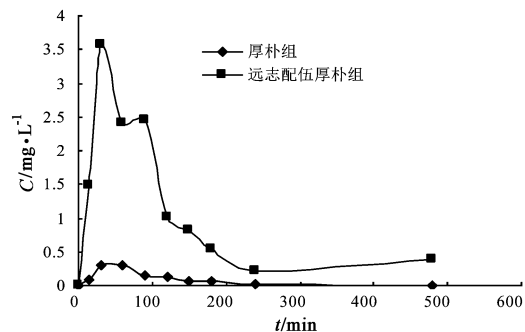


图5 远志厚朴配伍大鼠胃液中和厚朴酚的含量变化

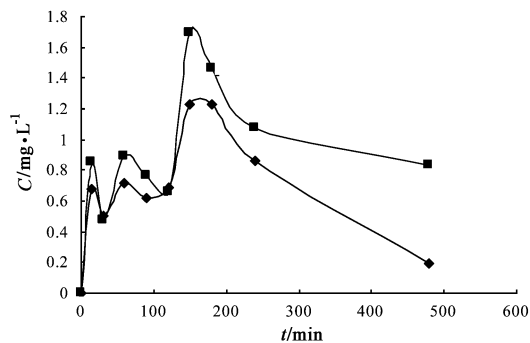


图6 远志厚朴配伍大鼠肠液中厚朴酚的含量变化

由以上图表可知,厚朴组、远志厚朴配伍组大鼠胃、肠液中均检测到厚朴酚与和厚朴酚2个指标性成分,而血浆中检测到和厚朴酚成分。大鼠灌胃给予远志与厚朴配伍组药液后,胃肠液中厚朴酚与和

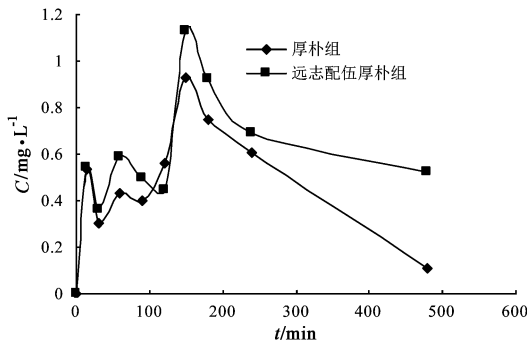


图 7 远志厚朴配伍前后大鼠肠液中和厚朴酚的含量变化

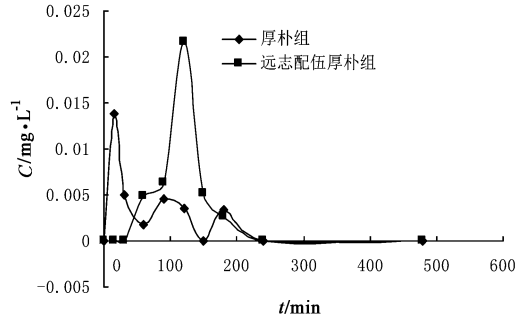


图 8 远志厚朴配伍前后大鼠血浆中和厚朴酚的含量变化

厚朴酚的含量均高于单味厚朴组,尤其胃液中各时间点的酚类物质含量远高于同等量的单味厚朴组;150~480 min 时段肠液中的酚类物质含量高于单味厚朴组。血浆中和厚朴酚的含量于给药 60~150 min 时段明显高于单味厚朴组。

3 讨论

基于课题前期开展的一系列研究工作,筛选出了远志与厚朴配伍能够有效改善远志所致胃肠动力抑制的不良反应。其后,进一步考察了两者不同配比对小鼠胃肠动力的影响,结果表明,远志厚朴配伍 1:2 时,能达到“减毒存效”的目的。本课题曾基于胃-肠-血液药物吸收路径,以远志中远志酸为指标成分^[5],从化学的角度探讨厚朴对远志胃肠吸收、血液分布的影响机制,结果显示单味远志组大鼠胃肠液及血浆中均可检测到远志酸,但配伍组中均未检测到远志酸,推测其可能因配伍厚朴后使其成分相对含量降低进而缓解远志胃肠动力障碍的作用机制有关。现代研究认为,多味药物配伍后,其可能不只是单味药物有效成分间的作用,还可能存在着一种有效成分和另一种有效成分间物理或化学的相互作用,从而产生质或量的变化,以达到相应的药理效应^[10]。厚朴性温,具有行气消积、化痰消痞之功,常用于胃肠气滞诸证,厚朴酚与和厚朴酚是厚朴中起主要药效作用的成分。

后,其在大鼠胃、肠液及血浆中的指标成分含量均高于单味厚朴组,尤其胃液中各时间点厚朴酚的含量远远高于同等量的单味厚朴组。李达等^[11]对远志厚朴配伍体外研究结果显示,配伍前后水煎液中化学成分发生了变化,且随着配伍比例的变化,化学成分含量随之增减,其推测厚朴有效缓解远志胃肠不良反应的机制可能与增加厚朴中酚类物质及挥发性成分的含量有关,这与本实验对远志厚朴配伍体内研究的结果相吻合。远志配伍厚朴后,因厚朴的酚类成分增加,从而缓解远志的胃肠动力抑制效应,其可能是发挥降低胃肠动力障碍副作用的主要物质基础。

中药成分复杂,协同起效的特点提示关于药对配伍前后化学成分的探讨有更广的范围,其在体内代谢过程复杂,成分变化多端。除了远志中远志酸以及厚朴中厚朴酚与和厚朴酚以外,是否有新成分生成或其他化学物质参与,尚待进一步从其他路径进行深入研究。

[参考文献]

- [1] 王建,郭娟,武云.生远志与各炮制品的急性毒性及对胃黏膜损伤的影响[J].中国医学研究与临床,2005,3(2):5.
- [2] 郭娟,王建,武云.远志不同炮制品对胃肠运动及消化功能的影响[J].中药药理与临床,2006,22(3):120.
- [3] 吴晖晖,王建.远志及其不同蜜炙品的急性毒性及其对胃肠运动的影响[J].四川中医,2006,24(11):16.
- [4] 江娟,王建,李达,等.远志与厚朴不同煎煮时间及不同配比对小肠胃肠运动的影响[J].西安交通大学学报,2009,30(3):380.
- [5] 岳欣.厚朴与远志配伍对胃-肠-血浆中的远志酸及血浆化学指纹图谱的影响[D].成都:成都中医药大学,2011:12.
- [6] 丁广宇,张振秋.不同炮制方法对厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(15):66.
- [7] 王术玲,姚玉铿,曾建波.黄连-厚朴配伍比例对和厚朴酚、厚朴酚溶出的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):18.
- [8] 彭拓华,谢丽,李锐,等.九分散中土的宁的胃肠吸收动力学研究[J].广州中医药大学,1998,21(12):626.
- [9] 罗芬,池于梅,吴皓.中药代谢动力学研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(14):284.
- [10] 匡海学.中药化学[M].北京:中国中医药出版社,2003:412.
- [11] 李达.远志与厚朴配伍前后化学成分对比及解毒机理初步研究[D].成都:成都中医药大学,2009:6.

[责任编辑 邹晓翠]