

experiment rat liver fibrosis [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2000, 19(5): 410-413.

- [2] Zhang M, Mai X, Chen X Y, et al. The study of anti-carcinoma activity of PAB231 *in vitro* [J]. *Acta Acad Med CPAPF* (武警医学院学报), 2000, 9(3): 243-245.
- [3] Yu B M, Lu A G, Zheng M H, et al. Preliminary study on

ATRA induced LoVo cell apoptosis [J]. *Pract J Cancer* (实用癌症杂志), 1998, 13(3): 167-170.

- [4] Chen X Y, Zhang M, Mai X. The rapid test by Hoechst 33342/PI live biofluorescence of medicament sensitivity of tumour cell [J]. *Acta Acad Med CPAPF* (武警医学院学报), 2001, 10(4): 300-302.

## 大黄素葡甲胺犬静脉注射体内药动学研究

蒋王林<sup>1,2</sup>, 张尊建<sup>2</sup>, 高玉白<sup>1</sup>, 田京伟<sup>1</sup>, 傅风华<sup>1\*</sup>

(1. 山东省天然药物工程技术研究中心 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003;

2. 中国药科大学 分析测试中心, 江苏 南京 210009)

大黄素具有抗炎作用, 能显著抑制醋酸所致的小鼠毛细血管通透性增加<sup>[1]</sup>; 促进豚鼠离体肠管收缩<sup>[2]</sup>; 呈剂量依赖性加强豚鼠结肠平滑肌细胞电和收缩活动, 机制与抑制细胞膜  $K_{ATP}$  等钾通道的活性相关<sup>[3]</sup>; 亦明显抑制大鼠肝纤维化形成<sup>[4]</sup>。本实验对大黄素 iv 给药在犬体内的药动学进行了研究, 为临床用药提供理论指导。

### 1 材料与仪器

1.1 药品与试剂: 大黄素葡甲胺冻干粉针 (由山东省天然药物工程技术研究中心制剂室提供, 纯度 > 95%, 批号 011106); 肝素钠注射液 (徐州万邦生化制药有限公司, 批号 020419); 大黄素葡甲胺对照品 (自制, 纯度 > 99.5%); 色谱纯甲醇, 高氯酸、醋酸乙酯为分析纯, 重蒸水 (自制)。

1.2 动物: Beagle 犬 6 只, 雌雄各半, 4 个月龄, 6.5~8.0 kg, 中国科学院上海实验动物中心提供, 动物合格证号: 中科沪动管第 99-0011 号。

1.3 仪器: HPLC 色谱仪 (泵: TSP P2000; 自动进样品: TSP AS3000; 检测器: UV3000; 工作站 OS/2 cHemstation; 恒温箱); 色谱柱: Discovery C<sub>18</sub> 柱 (25 cm × 4.6 mm, 5 μm); 低压溶剂过滤器; 冷冻离心机, 涡旋振荡器。

### 2 方法

2.1 色谱条件<sup>[5]</sup>: 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (85:15); 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 254 nm; 柱温为 40 °C; 采用标准曲线法定量测定血浆中大黄素葡甲胺浓度。

2.2 试验方案: 取大黄素葡甲胺冻干粉针, 生理盐

水溶解, 配成 4.0 mg/mL 药液, 犬耳缘 iv 给药, 剂量为 4.0 mg/kg (按对大鼠实验性肠黏连具有治疗作用的有效剂量 10 mg/kg 制定), 给药体积为 1.0 mL/kg, 10 s 给完, 分别于给药 2、10、20、30、40、50、60、75、90、120 min 后犬股静脉抽血 2 mL, 肝素抗凝, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 0.40 mL, 待测。

2.3 样品处理方法: 取血浆 0.40 mL 于 1.5 mL Eppendorf 管中, 加入 6% 高氯酸 0.20 mL, 闭塞, 振摇 1 min, 加入醋酸乙酯 0.40 mL, 闭塞, 振摇 1 min, 10 000 r/min 离心 10 min, 精密吸取醋酸乙酯层 0.20 mL 于 1.5 mL Eppendorf 管中, 于 40 °C 吹干, 精密吸取甲醇 0.60 mL, 振摇溶解转移至 1.5 mL 进样瓶中, 自动进样, 上高效液相色谱 (HPLC) 柱, 进样体积为 20 μL, 用标准曲线法进行色谱分析。

2.4 标准曲线: 取空白犬血浆, 加入大黄素葡甲胺对照品使血浆中浓度为 0.13、0.26、0.65、1.30、3.25、6.5、16.25 μg/mL, 分别取血浆样品 0.40 mL, 按 2.3 项进行 HPLC 测定, 得大黄素葡甲胺峰面积 ( $A_{bb}$ )。以  $A_{bb}$  值作为纵坐标, 以血浆中大黄素葡甲胺质量浓度 ( $C_{bb}$ ) 为横坐标, 得标准曲线为:  $Y = 87\,708 X + 893$  ( $r = 0.999\,6$ ), 结果表明血浆中大黄素葡甲胺质量浓度 0.043~5.375 μg/mL 线性关系良好。

2.5 回收率: 取分别含大黄素葡甲胺对照品 1.70、0.85、0.425、0.213 μg/mL 的犬血浆 0.40 mL, 每一浓度分别取 6 个样品于 1.5 mL Eppendorf 管

\* 收稿日期: 2004-05-24

作者简介: 蒋王林 (1974—), 男, 安徽芜湖人, 中国药科大学药物分析在读硕士, 现于山东省天然药物工程技术研究中心工作, 从事中药活性成分的药理研究。Tel: (0535) 6706030-8004 Fax: (0535) 6706036 E-mail: wangling@luye-pharm.com

\* 通讯作者 Tel: (0535) 6706060 E-mail: Fenghua@Luye-pharm.com

中,按 2.3 项操作、测定,回收率结果见表 1。

表 1 大黄素葡甲胺血浆样品平均加样回收率 ( $n=6$ )

Table 1 Mean recoveries of meglumine emodin in plasma samples ( $n=6$ )

| 加入量/ $\mu\text{g}$ | 检出量/ $\mu\text{g}$  | 回收率/%            |
|--------------------|---------------------|------------------|
| 0.0336             | 0.0324 $\pm$ 0.0007 | 96.51 $\pm$ 2.22 |
| 0.168              | 0.1630 $\pm$ 0.003  | 96.97 $\pm$ 1.89 |
| 0.84               | 0.8190 $\pm$ 0.023  | 97.53 $\pm$ 2.77 |
| 4.2                | 4.0190 $\pm$ 0.064  | 95.70 $\pm$ 1.53 |

2.6 日内与日间精密度:取分别含大黄素葡甲胺 0.086、1.075、5.375  $\mu\text{g}/\text{mL}$  血浆,按 2.3 项下操作后进行 HPLC 测定,在 48 h 内测定 6 组,结果 48 h 内 RSD 值分别为 3.51%、2.45%、1.89%。

2.7 稳定性:按标准曲线配制方法配制含大黄素葡甲胺 0.26、3.25、16.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  血浆样品,每个浓度 5 份,每隔 5 d 按 2.3 项下操作后进行 HPLC 测定 1 份,考察样品在 -20 $^{\circ}\text{C}$  冷冻放置条件下的稳定性。结果大黄素葡甲胺血浆样品在 20 d 的稳定性较好, RSD 值分别为 4.58%、4.29%、4.35%。

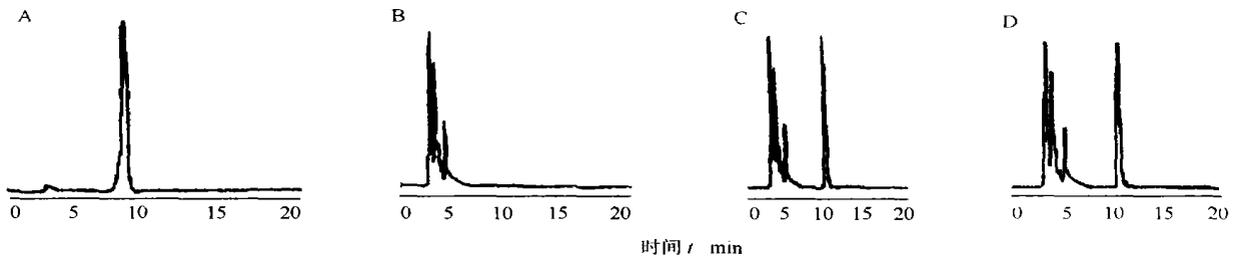


图 1 大黄素葡甲胺对照品 (A)、空白血浆 (B)、空白血浆+ 药物 (C) 和空白血浆+ 药物+ 大黄素葡甲胺对照品 (D) HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of meglumine emodin reference substance (A), blank plasma (B), blank plasma + drug (C), and blank plasma + drug + meglumine emodin reference substance (D)

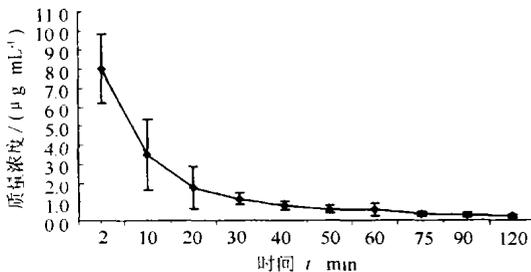


图 2 大黄素葡甲胺血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Curve of plasma drug concentration-time of meglumine emodin

3.3 大黄素葡甲胺药动学特征:大黄素葡甲胺 iv 给药在犬体内的药动学过程符合二房室模型,其主要药动学参数见表 2。结果表明大黄素葡甲胺在犬体内半衰期短,大黄素葡甲胺 iv 给药具有消除快,无药物蓄积的特点。

2.8 检测限:取空白犬血浆,使血浆中分别含大黄素葡甲胺对照品 0.02、0.040、0.080  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,分别取 0.40 mL 血浆,按 2.3 项下操作测定。结果本法的检测限达 0.013  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $S/N=3$ )。

2.9 数据处理:应用中国药理学委员会编制的 3P97 药动学计算软件进行处理。

### 3 结果

3.1 各样品色谱图:由图 1 可见,犬血浆内源性物质与大黄素葡甲胺能很好地分离,均已达到基线分离效果,含大黄素葡甲胺血浆,处理后加入大黄素葡甲胺对照品溶液,峰重叠,表明专一性良好。大黄素葡甲胺对照品的色谱峰均一,定量 99.5%,保留时间为 10.101 min,犬含药空白血浆保留时间为 10.228 min,犬血浆样品加入大黄素葡甲胺对照品保留时间为 10.232 min。

3.2 大黄素葡甲胺血药浓度-时间曲线:6 只犬 iv 大黄素葡甲胺后,测得大黄素葡甲胺平均血药浓度-时间曲线,见图 2。

表 2 大黄素葡甲胺 iv 给药在犬体内药动学参数 ( $n=6$ )

Table 2 Pharmacokinetic parameters of meglumine emodin in dogs by iv administration in vivo ( $n=6$ )

| 参数              | 单位   | $\bar{x} \pm s$    |
|-----------------|--|--------------------|
| $T_{1/2\alpha}$ | min  | 5.300 $\pm$ 2.9    |
| $T_{1/2\beta}$  | min  | 37.400 $\pm$ 6.7   |
| $K_{21}$        | $\text{min}^{-1}$                                      | 0.035 $\pm$ 0.009  |
| $K_{10}$        | $\text{min}^{-1}$                                      | 0.085 $\pm$ 0.030  |
| $K_{12}$        | $\text{min}^{-1}$                                      | 0.069 $\pm$ 0.062  |
| $V_e$           | $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$                       | 347.300 $\pm$ 84.4 |
| AUC             | $\text{min} \cdot \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$      | 0.147 $\pm$ 0.024  |
| CL              | $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ | 27.800 $\pm$ 4.5   |

### 4 讨论

Liang 等<sup>[6]</sup>对大黄素 iv 给药在家兔 ( $n=6$ ) 体内的药动学进行了研究,结果 iv 给药 10 mg/kg 后在家兔血中药动学符合二房室模型处置特征。本实验首次对大黄素葡甲胺盐在犬体内药动学进行了研究,结果犬 iv 4 mg/kg 后,在犬血浆中药动学符合

二房室模型处置特征, 与文献研究结果基本一致<sup>[6]</sup>。

本实验采用 HPLC 法测定犬血浆中大黄素葡甲胺盐, 该方法色谱行为、大黄素葡甲胺血样日内与日间精密度试验、稳定性试验、大黄素葡甲胺血样加样回收率试验均符合要求, 该方法具有分析时间短, 大黄素出峰时间短, 无干扰峰的特点, 适用于血浆样品中大黄素的测定。

References:

[1] Qi Hong. The anti-inflammation of emodin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(7): 522-523.  
 [2] Jin Z H, Ma D L, Lin X Z, et al. Study on effect of meglumine emodin on the isolated intestinal smooth muscle of guinea pigs [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med*

(中国中西医结合杂志), 1994, 14(7): 429-431.  
 [3] Li J Y, Yang W X, Hu W W, et al. Effect of meglumine emodin on the activity of K channel in guinea pig taenia coli smooth muscle cells [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(5): 321-325.  
 [4] Zhan Y T, Li D G, Wei H S, et al. Effect of meglumine emodin on development of hepatic fibrosis in rats [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2000, 20(4): 276-278.  
 [5] Chen X, Cheng Y Y, Hu Y Z, et al. Determination of emodin in Niu Huang Jie Du Pian by HPLC and studies on method ruggedness [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1994, 25(6): 335-338.  
 [6] Liang J W, Hsiu S L, Wu P P, et al. Emodin pharmacokinetics in rabbits [J]. *Planta Med*, 1995, 61: 406-408.

## 黄芩茎叶总黄酮对家兔实验性动脉粥样硬化的预防作用

佟继铭, 陈光晖, 刘玉玲, 李晓军\*  
 (承德医学院中药研究所, 河北承德 067000)

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 根是中医临床常用中药, 其茎叶产量数倍于根, 一直被废弃, 造成茎叶资源浪费。为了充分利用黄芩资源, 本研究所对黄芩茎叶的药化和药理作用进行了系统的研究, 总黄酮是从黄芩茎叶中提取分离出的有效部位, 主要成分为野黄芩苷、黄芩苷、白杨素苷、芹菜素苷。前期研究证明总黄酮对大鼠实验性高血脂症有显著的防治作用<sup>[1]</sup>、有一定的抗凝和抗氧化作用、对人胎儿和大鼠的平滑肌细胞增殖均有显著的抑制作用<sup>[2-4]</sup>。本实验采用食饵性家兔动脉粥样硬化模型, 观察黄芩茎叶总黄酮对动脉粥样斑块形成及其相关因素的影响。

### 1 材料与与方法

1.1 药物与试剂: 黄芩茎叶总黄酮 (total flavonoid from stems and leaves of *S. baicalensis*, TFSS), 由承德医学院中药研究所植化研究室提供, 含总黄酮 60.18%。胆固醇, 荷兰产; 氯贝丁酯, 广州药业公司广州明兴制药厂产品, 批号 010528; 总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) 试剂盒, 北京化工厂临床试剂分厂产品; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒, 南京建成生物工程

研究所产品。

1.2 动物: 雄性新西兰家兔, 体重 2.0~2.5 kg, 普通级, 河北医科大学实验动物中心提供, 合格证号 04063。

1.3 高脂饲料配方: 基础饲料 84%、蛋黄粉 5%、猪油 10%、胆固醇 1%。

### 1.4 方法

1.4.1 动物高脂模型复制、分组及给药: 家兔 48 只, 禁食 12 h, 耳静脉取血, 测定血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平, 按 TC 水平分层随机分为 6 组, 每组 8 只。正常对照组, 喂普通饲料; 高脂模型组, 喂高脂饲料; 总黄酮 (50、100、200 mg/kg) 组和氯贝丁酯 (30 mg/kg) 组, 在喂高脂饲料的同时分别 ig 给予相应的药物, 每日给药 1 次。

1.4.2 指标检测: 于给药第 12 周末, 禁食 12 h, 耳静脉取血 3 mL, 分离血清, 按试剂盒说明书方法测定血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C、MDA 水平和 SOD 活性, 计算 AI (AI = (TC - HDL-C) / HDL-C)。采血后处死动物, 取主动脉弓、胸主动脉、腹主动脉和心脏。纵向剖开动脉, 以 4% 甲醛溶液固定, 苏丹染色, 显微镜下观察动脉内膜斑块, 并参照文献方

\* 收稿日期: 2004-05-07

基金项目: 河北省科学技术厅资助项目 (002764030)

作者简介: 佟继铭 (1951—), 女, 满族, 河北省青龙满族自治县人, 教授, 硕士生导师, 现任承德医学院中药研究所药理毒理研究室 (河北省中药研究与开发重点实验室) 主任, 研究方向为中药新药研究与开发。

Tel: (0314) 2658216 E-mail: tongjiming@yahoo.com.cn