

- baicalein on isoprenaline induced myocardial injury in rats [J]. *J Cap Univ Med Sci* (首都医科大学学报), 1999, 20 (2): 86-88.
- [4] Gao Z H, Huang K X, Xu H B. Progress of studies in the bioactivities of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1998, 33(12): 705-706.
- [5] Aoki M, Abe K, Yoshida T, *et al.* Early immunohistochemical changes of microtubule based motor proteins in gerbil hippocampus after transient ischemia [J]. *Brain Res*, 1995, 669: 189-196.
- [6] Chen Z Y, Su Y L, Laa C W, *et al.* Endothelium dependent contraction and direct relaxation induced by baicalin in rat mesenteric artery [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, 374(1): 41.
- [7] Chen Q, Zheng Y M, Wang J G. Protective of breviscarpin on brain and its effect on immunoreactivity of microtubule motor protein [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2001, 17(2): 117-118.

家兔肛塞前列栓的药动学研究

厉将斌¹, 张 壮², 李曰庆², 闫彦芳², 王硕仁², 那彦群¹, 郭应禄^{1*}

(1. 北京大学第一医院 泌尿外科, 北京大学泌尿外科研究所, 北京 100034 2. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

小檗碱是中药复方前列栓^[1]的有效成分之一, 本研究应用 RP-HPLC 测定小檗碱血清药物浓度, 对兔一次性肛塞前列栓后小檗碱药动学进行研究, 为前列栓的临床合理用药提供实验依据

1 材料

1.1 药物与试剂: 前列栓, 2 g 栓, 每粒栓剂含小檗碱的最低含量为 34 mg, 由北京中医药大学东直门医院药剂科提供; 盐酸小檗碱对照品, 含量 98.14% (供含量测定用), 购自中国药品生物制品检定所, 乙腈, 色谱纯; Na_2HPO_4 $\cdot$ KH_2PO_4 乙醚、乙醇均为分析纯; 氢氧化钠, 分析纯, 使用前配制为 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液; 三蒸水; 甲醇, 优级纯

1.2 受试动物: 日本大耳白兔 10 只, 雄性, 日龄 90~120 d, 30 代次, 体重 (2.5 ± 0.3) kg

1.3 仪器: HP-1100 型 HPLC 系统, 紫外-可见可变波长检测器, JS-3030 型江申通用汉字色谱工作站, 分析柱采用 Alltech, Platinum EPS 柱, C₈ 100 Å (3 μm, 150 mm × 4.6 mm)

2 方法

2.1 色谱条件: 流动相: 乙腈-1/12 mol/L 磷酸盐缓冲液 (70:30), 流速: 0.8 mL/min, 柱温: 40℃, 检测波长: 345 nm, 灵敏度: 0.01 AUFS 采用外标法定量测定血清小檗碱浓度。

2.2 样本处理方法: 精取兔子含药血清 500 μL, 加入 0.2 mol/L 氢氧化钠 100 μL, 混匀。取乙醚 6 mL 分 2 次提取, 每次旋混 60 s, 取尽乙醚层共置于另一试管中。于 40℃ 水浴中, 自然蒸发至干, 精取 280 μL 流动相溶解定容, 进样 100 μL。

2.3 试验方案: 兔肛塞栓前禁食 12 h, 清醒状态下肛塞前列栓 2 粒, 随即将兔肛门荷包缝合, 6 h 后拆缝线。于给药后 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 360, 540, 1 440 min 从耳缘静脉穿刺取血, 每次 2 mL, 分离血清。将血清样本预处理后, 进行 HPLC 分析测定, 拟合药动学模型并计算参数。

2.4 标准曲线: 精取混合空白兔血清 500 μL 9 份, 加入不等量的盐酸小檗碱对照品, 成为血清小檗碱浓度分别为 0.72, 3.62, 7.24, 18.09, 36.19, 72.37, 144.75, 289.49, 578.98 μg/L 的系列药物浓度血清。经预处理后进行 HPLC 测定, 得到小檗碱的面积 (A_{bb})。以 A_{bb} 值作为 Y 轴, 以血清小檗碱浓度 (C_{bb}) 为 X 轴, 得标准曲线回归方程: $A_{bb} = 1451.48 C_{bb} - 613.095$ (实验系数 $r = 0.998614$, 校正系数 $r = 0.998319$)。结果表明, 血清小檗碱浓度在 0.72~578.98 μg/L 线性关系良好, 可满足动物实验血清药物浓度定量分析的要求。

2.5 回收率: 取小檗碱对照品溶液分别加入 500 μL 混合空白兔血清中, 形成小檗碱浓度分别为 10.86, 108.56, 434.24 μg/L 的低、中、高浓度血清, 在 10 d 内共做 6 组, 经预处理后, 进行 HPLC 测定 C'_{bb} (实测值), 同时根据平均标准曲线计算 3 个浓度所对应的 C_{bb} (理论值), 计算相对回收率 $RC = C'_{bb} / C_{bb}$ 。结果分别为 (91.32 ± 3.33)%, (97.25 ± 1.44)%, (99.60 ± 1.00)%, 符合定量分析要求。

2.6 日内、日间精密度: 含小檗碱低、中、高浓度血清 10.86, 108.56, 434.24 μg/L, 在 1 日内测定 6 组, 结果日内 RSD 值分别为 2.47%, 1.32%,

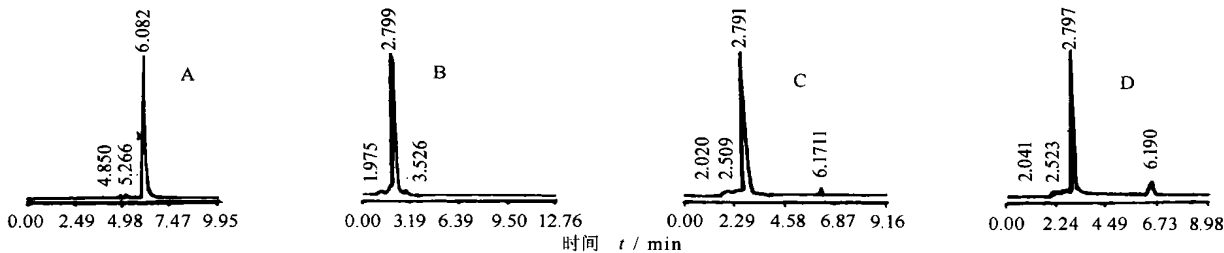
* 收稿日期: 2003-06-28

作者简介: 厉将斌 (1973-) 男, 浙江省磐安人, 2001 年 7 月毕业于北京中医药大学, 获医学博士学位, 同年进入北京大学泌尿外科研究所外科学博士后流动站, 一直从事中医药对前列腺疾病的研究和治疗工作。

0.93%。在 10 d 内不同天内测定 6 次,结果日间 RSD 值分别为 3.33% , 1.44% , 1.00%。

2.7 检测限:以信噪比 (S/N) 为 3 时的小檗碱对照品浓度为 本 HPLC 分析方法的检测限,取浓度为 0.4 μg/L 盐酸小檗碱对照品溶液 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10 μL, 分别加入到 0.5 mL 混合血清中,经预处理后进行分析。结果本法的检测限为 0.36 μg/L

2.8 专一性:由色谱图可以看出,兔血清内源性物质与小檗碱能很好地分离,均已达到基线分离效果。在兔肛塞前列栓后的含小檗碱血清,经预处理后用流动相定容,并在其中加入盐酸小檗碱对照品溶液,只有在保留时间 6.001~ 6.216 min 处的色谱峰加宽增高。表明专一性良好,成为外标法定量分析兔血清小檗碱浓度的前提



A-小檗碱对照品 B-空白血清 C-含药血清 D-含药血清+ 对照品

A-berberine reference substance B-blank serum C-serum with drug D-serum with drug+ reference substances

图 1 小檗碱对照品 (A)、空白血清 (B)、含药血清 (C) 及含药血清加入对照品 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of berberine reference substances (A), blank serum (B), serum with drug (C), and serum with drug added reference substances (D).

3.2 兔肛塞前列栓药动学特点:家兔一次性肛塞前列栓两粒后的小檗碱血药浓度可以用一室模型来描述,结果见表 1

4 讨论

在本实验中之所以选用小檗碱作为药动学检测指标成分,是因为 (1)小檗碱是前列栓中作为质量控制的指标,(2)前列栓的主要药效是消炎止痛,小檗碱具备此药效,(3)本复方是按照中医原则组方而成,小檗碱是君药黄连的主要成分,(4)小檗碱有着较为成熟的药动学研究方法。

传统上一直认为小檗碱口服难以被肠道吸收,经直肠用药的相关文献报道较少。有人利用同位素法测定了外加小檗碱单体经直肠用药后的药动学参数^[2],结果发现,小檗碱单体能得到较快的吸收,并能达到一定的浓度。复方中的小檗碱经直肠给药后,其药动学特征与单体是否有差别,则少见报道

在本研究中,兔肛塞前列栓后,小檗碱吸收十分迅速且各兔之间差异不显著, $t_{1/2k}$ 都在 6min 左右,

2.9 数据处理:应用中国药理学会委员会编制 (张文贵编) 的 3p97 药动学计算软件,在微机上处理兔小檗碱经时血清药物浓度。

3 结果

3.1 各样品色谱图:见图 1 小檗碱对照品色谱图显示盐酸小檗碱对照品的色谱峰均一,经定量为 98.3%,保留时间为 6.082 min (图 1-A),从兔的空白血清色谱图可以看出:血清中杂质峰基本集中在前数分钟,在小檗碱保留时间段前后色谱图,无明显干扰性杂峰 (图 1-B),兔经肛塞途径给药后 18 h 的含药血清色谱图可见小檗碱的色谱峰保留时间为 6.171 min (图 1-C),兔含药血清加入小檗碱对照品的色谱图显示小檗碱保留时间为 6.190 min (图 1-D)。

表 1 兔一次肛塞前列栓两粒的药动学
一室开放模型参数 (n= 7)

Table 1 Pharmacokinetics parameters of one-compartment open model of berberine after two capsules of QLS by once rectal administration in rabbits (n= 7)

参 数	单 位	$\bar{x} \pm s$
K_e	$L^{\circ} \min^{-1}$	$8.26 \times 10^{\pm} 5.37 \times 10^{-3}$
K_a	$L^{\circ} \min^{-1}$	0.3 ± 0.31
lag T_{ime}	min	3.63 ± 0.68
$t_{1/2k}$	min	6.70 ± 3.66
$t_{1/2e}$	min	96.17 ± 37.77
T_{peak}	min	25.06 ± 8.58
C_{max}	$\mu g \cdot L^{-1}$	178.91 ± 88.88
AUC	$\mu g \cdot L^{-1} \cdot \min^{-1}$	$47.917.44 \pm 23.255.57$
GL / F_s	$L^{\circ} \min^{-1}$	$3.74 \times 10^{-3} \pm 3.80 \times 10^{-3}$
V / F_c	L	0.98 ± 1.06

“*” 本来均数为 818.57,标准差为 1 238.39,因第 4 号兔子数据严重偏离,故在计算均数时舍去。

“*” This results were calculated exception of data of 4th rabbit, because data were deviated obviously and removed, as original mean was 818.57, standard deviation was 1 238.39

达峰则在 25 min 左右,峰浓度则有一定的离散度,从 23~281 $\mu\text{g/L}$ 不等,高低之间相差近 14 倍。消除相的差别也较大, $t_{1/2\text{ke}}$ 平均从 36.2~135.5 min 不等,相差约 4 倍。结果表明,前列腺中的小檗碱经肛塞后能被兔肠道迅速吸收入血,并能达到一个较高的浓度,其药动学过程也表现出个体化差异。这在一定程度上反映了前列腺的药动学过程,为前列腺的

临床合理用药提供一定的依据和指导。

References

- [1] Jia Y S, Li Y Q, Sun M J *et al*. Clinical and experimental studies on 104 cases of nonspecific chronic prostatitis (syndrome of damp-heat mixed with blood-stasis) treated with Qianlieshuan suppository [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1999, 40(2): 98-99.
- [2] Liu J X, Lin C R, Wang M, *et al*. The absorption and distribution of Qianlieshuan *in vivo* [J]. *J New Chin Med* (新中医), 2000, 32(4): 59-60.

正交设计分析丹参和山楂不同提取物对血脂影响的交互作用

蔡宝祥,谢梅林,顾振纶*

(苏州大学医学院 药理学教研室,苏州中药研究所,江苏 苏州 215007)

消癆片由丹参(SM)水溶性提取物和山楂(FC)脂溶性提取物组成。近年研究表明,该复方具有明显调节血脂和抗动脉粥样硬化作用^[1,2]。为探讨丹参和山楂各部位提取物之间的交互作用,本研究以高脂血症小鼠为模型,比较各部位提取物对小鼠血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的影响。

1 材料与方法

1.1 动物:雄性昆明种小鼠,体重(18±2)g,由第二军医大学实验动物中心提供。

1.2 药物和试剂:丹参提取物(由 75% 乙醇提取物和氨水提取物按 72:22(质量比)组成,含丹参总酚酸 81.9%,以下称丹参提取物)、山楂丙酮提取物(由山楂脂溶性提取物再经丙酮提取,含山楂总三萜酸 69.4%,以下称山楂丙酮提取物)和山楂无水乙醇提取物(由山楂脂溶性提取物再经无水乙醇提取,含山楂总黄酮 10.3%,以下称山楂无水乙醇提取物),由苏州中药研究所提供。血脂康,批号:20020306,由北大维信生物科技有限公司提供,胆固醇为南京生物化学制药厂产品;猪油为市售产品;3号胆盐和丙二醇(分析醇)由中国医药集团上海化学试剂公司提供;甲基硫氧嘧啶,德国产品;聚山梨酯 80,由浙江省温州清明化工厂提供;血清 TG、TG、HDL-C 测定试剂盒,由上海科欣生物技术研究所提供。

1.3 仪器:AT-738 半自动生化仪,由上海安泰分析仪器公司提供。

1.4 方法:以 3 因素 2 水平(表 1)按 $L_8(2^3)$ 正交表随机分组,同时设正常对照组和血脂康阳性对照组,每组 8 只小鼠。除正常对照外,其余小鼠于每日上午 ig 0.2 mL/10 g 脂肪乳剂(胆固醇 10%、猪油 20%、3 号胆盐 2%、甲基硫氧嘧啶 1%、聚山梨酯 80 20%、丙二醇 20%),给药组小鼠于每日下午按各组给药剂量以 0.1 mL/10 g ig 给药,不给药组小鼠 ig 相应体积的生理盐水,连续给药 20 d,于第 21 天进行眼眶取血,按 TG、TG、HDL-C 药盒说明书操作测定其相应的指标,按公式计算 LDL-C。

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - 1/2 \cdot 2\text{TG} - \text{HDL-C}$$

表 1 丹参和山楂提取物的因素水平表

Table 1 Factors and levels of extracts from SM and FC

水平	因素		
	丹参提取物 (A)	山楂丙酮提取物 (B)	山楂无水乙醇提取物 (C)
1- 不给药	-	-	-
2- 给药 $/(mg \cdot kg^{-1})$	94	27	48

2 结果

2.1 对高脂血症小鼠血清 TC 的影响:正常对照组小鼠血清 TC 水平为 $(2.47 \pm 0.39) \text{ mmol/L}$,与正交表(表 2)中 1 号试验组(高脂模型组)相比差异显著 ($P < 0.01$)。给药组方差分析结果表明,丹参提取物和山楂丙酮提取物对降低高脂血症小鼠血清 TC 的作用与高脂模型组比较,差异显著 ($P < 0.01$),见表 2,且两药合用时可协同降低血清 TC。

* 收稿日期:2003-07-15

基金项目:苏州大学医学发展基金资助(NO010721)

作者简介:蔡宝祥(1977-),男,江苏省淮安人,2001年毕业于苏州大学医学院,获临床医学学士学位,现为苏州大学硕士研究生,研究方向为心血管药理学。Tel (0512) 65226479 E-mail xifengke543@ sina.com