金芪降糖片配伍对小檗碱大鼠体内药动学的影响

王恩莹，陈 靓#，马 恒，陈 勇，韩凤梅*

湖北大学 中药生物技术省重点实验室，湖北大学生物资源绿色转化协同创新中心，湖北 武汉 430062

摘 要：目的 探讨金芪降糖片中黄连、黄芪和金银花配伍对主要活性成分小檗碱体内药动学的影响。**方法** 雄性 SD 大鼠分别单次 ig 金芪降糖片（0.42 g/kg，相当于 5 mg/kg 盐酸小檗碱）、盐酸小檗碱（5 mg/kg）＋绿原酸（3 mg/kg）及盐酸小檗碱（5 mg/kg），采用 LC-MS/MS 法检测不同时间点血浆中盐酸小檗碱的血药浓度，并采用非房室模型、统计矩法计算盐酸小檗碱在大鼠体内的药动学参数。**结果** 各组 $MRT_{0\sim\infty}$、t_{max} 及 $t_{1/2}$ 无显著变化；盐酸小檗碱组 $AUC_{0\sim\infty}$ 及 C_{max} 最大，绿原酸与盐酸小檗碱合用组 $AUC_{0\sim\infty}$ 及 C_{max} 最小，但其 CL_z 和 V_z 显著高于其他 2 组（其他 2 组无显著变化）。**结论** 绿原酸与小檗碱合用可以降低小檗碱的体内吸收、促进小檗碱的血浆清除及体内分布。黄芪、金银花与黄连配伍可能对小檗碱的血浆消除与体内分布存在相反的影响。

关键词： 金芪降糖片；小檗碱；药动学；绿原酸；黄连；黄芪；金银花

中图分类号： R285.61 **文献标志码：** A **文章编号：** 0253 - 2670(2016)23 - 4231 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.019

Effects of Jinqi Jiangtang Tablet in compatibility on *in vivo* pharmacokinetics of berberine in rats

WANG En-ying, CHEN Liang, MA Heng, CHEN Yong, HAN Feng-mei

Hubei Province Key Laboratory of Biotechnology of Chinese Traditional Medicine, Hubei Collaborative Innovation Center for Green Transformation of Bio-resources, Hubei University, Wuhan 430062, China

Abstract: Objective To study the effects of Jinqi Jiangtang Tablet (JQJT) in compatibility on the pharmacokinetics of berberine hydrochloride (BH) in rats. **Methods** Male SD rats were ig administered with JQJT (0.42 g/kg, equivalently 5 mg/kg BH), BH (5 mg/kg) + chlorogenic acid (CA, 3 mg/kg), and BH (5 mg/kg), respectively. The plasma concentration at indicated time points were determined by LC-MS/MS method after the drug administrations. The pharmacokinetic parameters of BH were calculated with DAS 3.0 software using non-compartmental model. **Results** After the drug administration, no significant change was found for the $MRT_{0\sim\infty}$, t_{max}, and $t_{1/2}$ values of BH, whereas the $AUC_{0\sim\infty}$ and C_{max} values of BH were in the order of BH group >JQJT group > BH + CA group, and the CL_z and V_z values of BH were in the order of BH + CA group > JQJT group ≈ BH group. **Conclusion** The pharmacokinetic results indicate that the co-administration of BH + CA decreases the absorpation, while increases the plasma clearance and distribution of BH in rats. Additionally, the results also suggest that the compatibility of astragalus root or honeysuckle with *Coptidis Rhizoma* is likely to produce the opposite effect on the plasma elimination and distribution of BH *in vivo* in rats.

Key words: Jinqi Jiangtang Tablet; berberine hydrochloride; pharmacokinetics; chlorogenic acid; *Coptidis Rhizoma*; *Astragali Radix*; *Lonicerae Flos*

金芪降糖片（Jinqi Jiangtang Tablet, JQJT）是由黄连 *Coptidis Rhizoma*、黄芪 *Astragali Radix*、金银花 *Lonicerae Flos* 等组成，临床用于治疗消渴病气虚内热证及轻、中度非胰岛素依赖型糖尿病[1]。黄连的化学成分包括小檗碱、表小檗碱、小檗红碱、药根碱、黄连碱、木兰花碱、非洲防己碱等，其中小檗碱的量最高，是黄连清热燥湿、泻火解毒和降血糖的主要活性成分[2-3]。小檗碱又称黄连素，是一种季铵型异喹啉生物碱，它通过降低 T 细胞与外基质的黏附能力，阻断炎性细胞 mRNA 的复制与转录，发挥抗炎作用[4]；通过促进胰岛 β 细胞再生及胰岛素释放，抑制肝脏糖原异生，促进糖酵解，从而发挥降血糖作用[5-8]。

中药配伍可导致主要药效成分间的药物相互作

收稿日期：2016-07-09

作者简介：王恩莹，硕士研究生在读，研究方向为药动学。E-mail: wangey91@163.com

*通信作者 韩凤梅，副教授，硕士研究生导师，从事药物分析及药动学研究。E-mail: cy101610@qq.com

#并列第一作者

用，药动学研究对阐明复方中药活性成分在吸收、分布、代谢和排泄过程中的药物相互作用至关重要。本实验研究了金芪降糖片中药材配伍对黄连主要活性成分小檗碱大鼠体内药动学的影响，探讨金芪降糖片的药材配伍合理性，为临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本岛津 LCMS-8040 三重四极杆液相色谱质谱联用仪（包括 LC-30AD 二元泵、SPD-M20A 检测器、CTO-20AC 柱温箱、SIL-30AC 自动进样器、DGU-20A5 在线真空脱气机、CBM-20A 控制器、电喷雾离子化源、LCMS-Solution 工作站）；德国 Eppendorf 5810R 型高速离心机；美国 Beckman 公司 Microfuge 20R 高速离心机；德国 Sartorius BP211D 型电子天平；中国上海精科天平厂 JA3003 型电子天平；韩国 BioTron 公司 Ecospin 3180C 真空冷冻干燥机；上海沪西分析仪器厂 WH-2 微型漩涡混合仪；天津仪器厂 Vortex-5 型漩涡震荡器；昆山市超声仪器有限公司 KQ-250E 型超声波清洗器。

盐酸小檗碱（质量分数≥98%，批号 110713-200208，中国食品药品检定研究院）；绿原酸（质量分数≥98%，批号 DR13313，上海历鼎生物技术有限公司）；内标为咖啡因（质量分数＞98%，批号 121128，成都普菲德生物技术有限公司）；水为屈臣氏蒸馏水；色谱纯甲醇（德国 MERCK 公司）；色谱纯乙腈（美国 TEDIA 公司）；色谱纯甲酸（Sigma 公司）；金芪降糖片（天津中新药业集团股份有限公司隆顺榕制药厂，批号 CK08898）。

1.2 色谱与质谱条件

1.2.1 色谱条件 采用 Shim-pack XR-ODS III C_{18} 色谱柱（75 mm×2.0 mm，1.6 μm）；流动相为乙腈-0.05%乙酸水溶液（15∶85）；体积流量 0.4 mL/min；柱温为 35 ℃。

1.2.2 质谱条件 加热块温度 400 ℃；DL 管加热温度 250 ℃；雾化气（N_2）体积流量 3.0 L/min；干燥气（N_2）体积流量 15.0 L/min；ESI 源，离子喷雾电压−4.5 V；采用正离子多反应监测模式（MRM）检测，用于定量分析的离子对分别为 *m/z* 336.1 $[M+H]^+$→*m/z* 320.1（盐酸小檗碱，碰撞能量−30 V），*m/z* 195.1 $[M+H]^+$→*m/z* 138.1（内标咖啡因，碰撞能量−19 V）；运行时间 5.0 min。

1.3 金芪降糖片定量测定及给药样品制备

取同一批金芪降糖片，研细混匀。精密称定 5.0 mg 置于 10 mL Eppendorf 离心管中，加甲醇 4 mL 超声提取 30 min 后，4 000 r/min 离心 10 min，取上清；沉淀重复提取 1 次后，合并 2 次上清液，甲醇定容至 10 mL。摇匀后用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取滤液进行小檗碱和绿原酸定量测定，测得金芪降糖片中含小檗碱 15.33 mg/g，绿原酸 10.89 mg/g。

给药前分别精密称取适量金芪降糖片粉末、盐酸小檗碱和绿原酸混合物及盐酸小檗碱适量，混悬于 0.5%羧甲基纤维素钠溶液备用。

1.4 药动学研究

18 只雄性 SD 大鼠［体质量（250±20）g，湖北省实验动物研究中心，许可证号 SCXK（鄂）2015-0018］随机分为 3 组，每组 6 只，即金芪降糖片组（0.42 g/kg，相当于盐酸小檗碱剂量为 5 mg/kg）、盐酸小檗碱（5 mg/kg）＋绿原酸（3 mg/kg）组及盐酸小檗碱组（5 mg/kg）。给药前禁食 12 h、自由饮水。单次 ig 给药后分别于 5、10、15、30、45、60、120、240、360、480、600、1 440 min 经眼眶取血 0.25 mL，置于预先肝素化的 EP 管中，静置 30 min 后，4 000 r/min 离心 10 min 分离血浆，−80 ℃保存待测。

血浆样品处理方法：取 100 μL 血浆，依次加入甲醇 5 μL、内标溶液 5 μL（5 μg/mL 咖啡因溶液）、甲醇 200 μL，震荡 5 min，12 000 r/min 离心 10 min 后，取上清 200 μL 于另一 EP 管中，于 35 ℃真空冷冻挥干。再用 100 μL 流动相复溶，震荡 5 min，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液 10 μL 进样分析。

应用 DAS3.0 软件（中国药理学会专业委员会）对测得盐酸小檗碱血药浓度数据进行非房室模型拟合，统计矩法计算盐酸小檗碱在大鼠体内的药动学参数。

1.5 数据分析方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，并运用 SPSS 软件、采用 *t* 检验法进行组间数据统计学分析。

2 结果

2.1 定量方法学考察

取大鼠空白血浆 100 μL 按血浆样品处理方法处理，进样分析得色谱图 1-A，将含盐酸小檗碱对照品溶液（32 ng/mL）及内标溶液（250 ng/mL）的空白血浆依法操作得色谱图 1-B，取受试大鼠 ig 给予金芪降糖片后的血浆样品同法操作得色谱图 1-C。结果表明，咖啡因和盐酸小檗碱的保留时间分别为 1.4 min 和 3.25 min，空白血浆中的内源性物质不干扰血浆中待测组分和内标的测定。

以血浆样品中待测物质量浓度为横坐标（*X*），

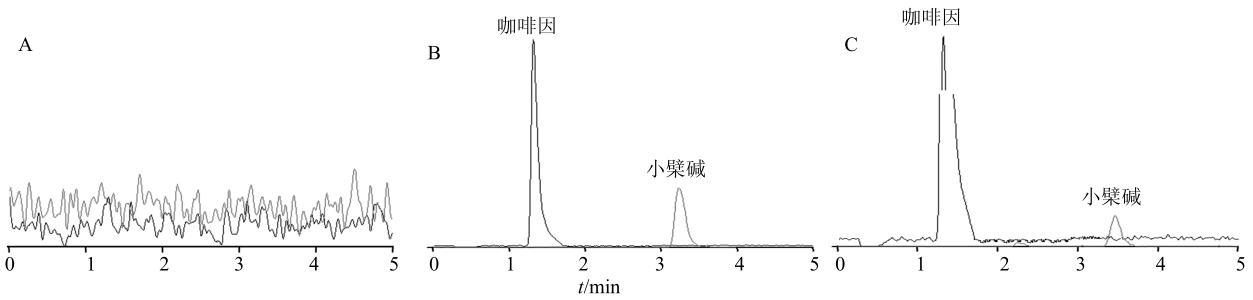

图 1 大鼠空白血浆 (A)、空白血浆＋盐酸小檗碱对照品＋咖啡因 (B) 和 ig 金芪降糖片后 45 min 大鼠血浆样品＋咖啡因 (C) 的 LC-MS/MS 色谱图

Fig. 1 LC-MS/MS chromatograms of blank rat plasma (A), blank rat plasma + berberine hydrochloride refterence substances + caffeine (B), rat plasma collected at 45 min after oral administration with JQJT + caffeine (C)

待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标（Y），用加权最小二乘法求得盐酸小檗碱的回归方程为 Y＝0.004 860 26 X＋0.0165 126（R^2＝0.999），线性范围为 0.25～64.00 ng/mL，定量下限为 0.25 ng/mL。

空白血浆中加入盐酸小檗碱低、中、高质量浓度（0.5、8、60 ng/mL）质控（QC）样品的日内、日间精密度（RSD）均小于 5.5%，提取回收率为 96.3%～101.5%，基质效应为 98.5%～100.7%，样品室温放置 12 h、反复冻融 3 次和−80 ℃保存 14 d 的稳定性好（RSD≤4.3%）；内标（250 ng/mL）的提取回收率为 98.3%，基质效应为 97.9%。

2.2 配伍对小檗碱药动学的影响

金芪降糖片（0.42 g/kg，相当于小檗碱剂量为 5 mg/kg）、盐酸小檗碱（5 mg/kg）＋绿原酸（3 mg/kg）混合物及盐酸小檗碱（5 mg/kg）单次 ig 给药后的大鼠血浆中小檗碱药-时曲线见图 2，药动学参数见表 1。

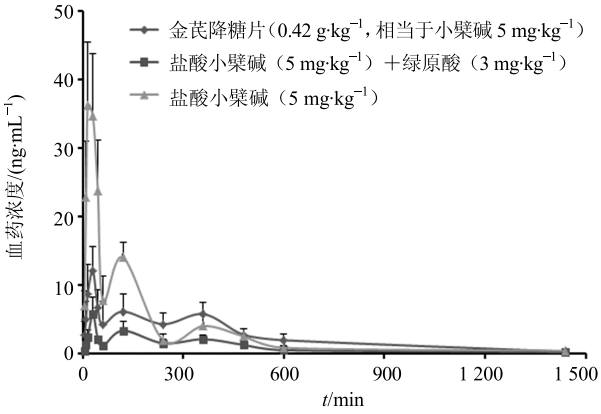

图 2 大鼠 ig 给药后小檗碱平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x}\pm s$, n = 6)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of berberine hydrochloride after single ig administration to rats ($\bar{x}\pm s$, n = 6)

表 1 大鼠 ig 给药后盐酸小檗碱大鼠体内的药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, n = 6)

Table 1 *In vivo* pharmacokinetic parameters of berberine hydrochloride after ig administration to rats ($\bar{x}\pm s$, n = 6)

参数	单位	金芪降糖片	小檗碱＋绿原酸混合物	小檗碱
$AUC_{0\sim t}$	μg·L^{-1}·min	4 242.5±675.7	1 654.0±251.0*	6 167.0±711.7
$AUC_{0\sim\infty}$	μg·L^{-1}·min	4 474.9±592.4	1 839.9±256.4*	6 307.2±784.5
$MRT_{0\sim t}$	min	387.5± 16.2	388.1± 44.7	284.2± 93.2
$MRT_{0\sim\infty}$	min	480.7±104.4	566.8±138.1	435.0±123.4
$t_{1/2}$	min	366.7± 21.7	362.2± 53.4	343.8± 46.4
t_{max}	min	26.3± 7.5	30.3± 4.5	24.0± 8.2
V_z	L·kg^{-1}	608.9±113.8	1 548.9±369.6*	543.6± 66.9
CL_z	L·min^{-1}·kg^{-1}	1.1± 0.1	2.8± 0.4*	1.3± 0.2
C_{max}	μg·L^{-1}	13.2± 4.5*	6.7± 2.3*	45.2± 12.0

与盐酸小檗碱组比较：*P<0.05

*P < 0.05 *vs* berberine hydrochloride group

3 讨论

Chen 等[9]研究了大鼠 ig 黄连提取物及戊己丸后小檗碱和巴马汀的药动学，发现戊己丸配伍使得小檗碱和巴马汀在大鼠体内的驻留时间（MRT）较黄连提取物延长了 2～3 倍。其他研究也发现小檗碱在大鼠体内存在的体内药动学性质受配伍中药的影响[10-11]。本研究结果表明：（1）ig 给药后盐酸小檗碱的血浆药-时曲线出现了 3 个吸收峰，与文献报道的小檗碱在大鼠体内的药动学结果一致[12-15]，这可能是由于小檗碱在大鼠体内存在重吸收及肝肠循环作用[16]。（2）大鼠单独 ig 盐酸小檗碱的药时曲线下面积（$AUC_{0\sim\infty}$）及达峰浓度（C_{max}）最大，绿原酸与盐酸小檗碱合用时的 $AUC_{0\sim\infty}$ 及 C_{max} 最小，提示金银花与黄连配伍使用可能对小檗碱的体内吸收有抑制作用。（3）从体内平均驻留时间（$MRT_{0\sim\infty}$）、达峰时间（t_{max}）及消除半衰期（$t_{1/2}$）来看，黄芪、金银花与黄连配伍对小檗碱的体内作用时间无显著影响。（4）绿原酸与盐酸小檗碱合用时的血浆清除率（CL_z）和表观分布容积（V_z）显著高于其他 2 组，说明绿原酸能促进小檗碱的血浆清除及体内分布；但金芪降糖片组与盐酸小檗碱组间上述药动学参数无显著变化，提示黄芪、金银花与黄连配伍可能对小檗碱的血浆消除及体内分布存在相反的影响。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

[2] Tang L Q, Wei W, Chen L M, *et al*. Effects of berberine on diabetes inducedby alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108(1): 109-115.

[3] Wang Y W, Campbella T, Perry B, *et al*. Hypoglycemic and insulin sensitizing effects of berberine in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Metab Clin Exp*, 2011, 60(2): 298-305.

[4] 田智勇, 李振国. 黄连的研究新进展 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(10): 704-706.

[5] Zhang X J, Deng Y X, Shi Q Z, *et al*. Hypolipidemic effect of the Chinese polyherbal Huanglian Jiedu decoction in type 2 diabetic rats and its possible mechanism [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(5): 615-623.

[6] Chen G, Lu F E, Xu L J. Effects of Huanglian Jiedu Decoction on glucose transporter 4 in target tissues of type 2 diabetic rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2007, 5(4): 412-415.

[7] Dong H, Wang N, Zhao L, *et al*. Berberine in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a systemic review and meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, doi: 10.1155/2012/591654.

[8] 袁雪海, 吕 楠, 靳学海, 等. 新工艺金芪降糖片降糖和调脂作用研究 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3219-3222.

[9] Chen Y, Li Y J, Wang Y J, *et al*. Comparative pharmacokinetics of active alkaloids after oral administration of *Rhizoma Coptidis* extract and Wuji Wan formulas in rat using a UPLC-MS/MS method [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2015, 40(1): 67-74.

[10] Li X, Liu H J, Li J, *et al*. Simultaneous determination of berberine and palmatine in rabbit plasma by LC-MS-MS and its application in pharmacokinetic study after oral administration of *Coptidis* and *Coptidis-Gardeniae* Couple extract [J]. *Chromatographia*, 2009, 70(7/8): 1113-1119.

[11] Liu G H, He W, Cai H, *et al*. The simultaneous determination of berberine, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine in rat plasma by LC-MS/MS and a pharmacokinetic comparison after the oral administration of *Rhizoma coptidis* and Jiao-Tai-Wan extract [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(9): 2998-3008.

[12] Yu S, Pang X Y, Deng Y X, *et al*. A sensitive and specific liquid chromatography mass spectrometry method for simultaneous determination of berberine, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine from *Coptidis Rhizoma* in rat plasma [J]. *Int J Mass Spectrom*, 2007, 268(1): 30-37.

[13] Deng Y T, Liao Q F, Li S H, *et al*. Simultaneous determination of berberine, palmatine and jatrorrhizine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in rat plasma and its application in a pharmacokinetic study after oral administration of coptis-evodia herb couple [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 863(2): 195-205.

[14] He W, Liu G H, Cai H, *et al*. Integrated pharmacokinetics of five protoberberine-type alkaloids in normal and insomnic rats after single and multiple oral administration of Jiao-Tai-Wan [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(3): 635-644.

[15] Zan B, Shi R, Wang T M, *et al*. Simultaneous quantification of multiple active components from Xiexin decoction in rat plasma by LC-ESI-MS/MS: application in pharmacokinetics [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(7): 816-826.

[16] Qu Q M, Zhang M F. The pharmacokinetics of berberine [J]. *Chin Acad Med Mag Org*, 2002, 12: 31-35.