

[制 剂]

三物黄芩汤组分(群) 配伍在大鼠肝微粒体孵育模型中的相互作用

周 杰¹, 商雪莹¹, 杜慧琴², 卢丽萍¹, 张 蕾^{1*}

[1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 杏汇医疗科技(上海)有限公司, 上海 201203]

摘要: **目的** 研究三物黄芩汤组分(群) 配伍在大鼠肝微粒体孵育模型中的相互作用。**方法** 以高丽槐素和麻黄碱为内标, HPLC 法分别同时测定 7 个时间点(0、15、30、45、60、90、120 min) 全方组分(群) 配伍及单味药材部位(群) 中黄芩总黄酮(黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A) 和苦参总生物碱(氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱) 的含有量, 并计算其体外代谢率。**结果** 在全方组分(群) 配伍中, 黄芩苷、汉黄芩苷含有量先升高(0~0.5 h) 后降低(0.5~2.0 h), 黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 含有量呈升高趋势(0.5 h 内更明显); 各生物碱代谢稳定平缓, 在 20 min 内达到平衡。**结论** 三物黄芩汤中黄芩总黄酮与苦参总生物碱、地黄总多糖配伍后, 可改善其生物利用度, 增强其药效。

关键词: 三物黄芩汤; 组分(群) 配伍; 黄芩总黄酮; 苦参总生物碱; 地黄总多糖; 代谢; 大鼠肝微粒体; HPLC

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)09-1813-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.010

Interactions of component (group) compatibility of Sanwu Huangqin Decoction in incubation model of rat liver microsomes

ZHOU Jie¹, SHANG Xue-ying¹, DU Hui-qin², LU Li-ping¹, ZHANG Lei^{1*}

[1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Xinghui Medtech (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201203, China]

ABSTRACT: **AIM** To study the interactions of component (group) compatibility of Sanwu Huangqin Decoction in incubation model of rat liver microsomes. **METHODS** With maackiain and ephedrine as internal standards, HPLC was adopted in the simultaneous content determination of total flavonoids (baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin and oroxylin A) from *Scutellariae Radix* and total alkaloids (oxymatrine, oxysophocarpine and matrine) from *Sophorae flavescentis Radix* in whole prescription component (group) compatibility and single medicinal material part (group) at seven time points (0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min), followed by the calculation of their *in vitro* metabolic rates. **RESULTS** In whole prescription component (group) compatibility, the contents of baicalin and wogonoside were first increased (0–0.5 h) and then decreased (0.5–2.0 h), those of baicalein, wogonin and oroxylin A showed increasing trends (more obvious within 0.5 h). The stable and gentle metabolisms of various alkaloids reached balance within 20 min. **CONCLUSION** The bioavailability improvement and efficacy enhancement of total flavonoids from *Scutellariae Radix* may attribute to the compatibility with total alkaloids from *Sophorae flavescentis Radix* and total polysaccharides from *Rehmanniae Radix* in Sanwu Huangqin Decoction

KEY WORDS: Sanwu Huangqin Decoction; component (group) compatibility; total flavonoids from *Scutellariae Radix*; total alkaloids from *Sophorae flavescentis Radix*; total polysaccharides from *Rehmanniae Radix*; metabolisms; rat liver microsomes; HPLC

收稿日期: 2016-10-24

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A020226031); 广州市科技计划项目(201607010334); 青年英才培育项目(A1-AFD015131Z08)

作者简介: 周 杰, 男, 硕士生, 从事中药药效物质基础研究。Tel: 15626250632, E-mail: zhoujie_gz@163.com

* 通信作者: 张 蕾(1978—), 女, 博士, 教授, 从事药代动力学及中药药效物质基础与作用机制研究。Tel: (020) 39358081, E-mail: zhangleic431@163.com, 174962153@qq.com

三物黄芩汤始载于《备急千金要方·卷三》，由黄芩、苦参和干地黄 3 味中药组成，具有清热除烦、滋阴凉血之功效，主治血亏阴虚、风邪入里化热、四肢烦热、头不痛者或五六日以上热不除者。根据中医异病同治的原理，该方在临床应用过程中亦用于治疗由于湿热疮毒内郁、郁久化火伤阴，形成以血热血燥为病理特点的慢性肝炎、肝源性糖尿病、红斑性肢痛、尿道炎、慢性结肠炎、湿疹等症^[14]。研究表明，方中主要成分为苦参总生物碱、黄芩总黄酮和地黄总多糖，成分间在体内外可能存在广泛的相互作用^[5-7]。本实验采用体外肝微粒体孵育模型研究这 3 类成分在肝脏代谢环节的相互作用，以期为指导临床合理用药提供依据。

1 仪器与试剂

SB25-12D 超声波清洗机（宁波新芝生物科技股份有限公司）；BP211D 电子天平（德国 Sartorius 公司）；TGL-16aR 低温超速离心机（上海安亭科学仪器厂）；MDF-U32V 超低温冰箱（日本三洋仪器公司）；XK96-A 快速混匀器（姜堰市新康医疗器械有限公司）；TU-1 901 双光束紫外分光光度计（北京通用仪器有限责任公司）；LC-20 AT 高效液相色谱仪（日本岛津公司）。

黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、苦参碱、氧化槐果碱、氧化苦参碱、麻黄碱对照品（中国食品药品检定研究院，含量 $\geq 98\%$ ）；汉黄芩苷对照品（西安融升生物科技有限公司，含量 $\geq 98\%$ ）；千层纸素 A、高丽槐素对照品（自制，含量 $\geq 98\%$ ）；还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（NADPH，广州诺嘉生物科技有限公司）。甲醇、乙腈为色谱纯（德国 Merck 公司）；其他试剂为分析纯。黄芩、苦参、干地黄均购自广州致信中药饮片有限公司，由广州中医药大学中药学院药用植物学教研室周劲松副教授鉴定为正品。健康 SD 大鼠，雄性，体质量（ 200 ± 50 ）g，购自广州中医药大学实验动物中心，实验动物合格证号 SCXK（粤）2008-0020。

2 方法与结果

2.1 组分（群）制备与质量控制 根据文献 [8-10]，制备黄芩总黄酮、苦参总生物碱、地黄总多糖部位（群），并建立其质量控制方法^[11]，测得各成分在相应部位（群）的相对含量分别为黄芩苷 50.05%、汉黄芩苷 1.06%、黄芩素 12.08%、汉黄芩素 6.39%、千层纸素 A 0.83%、苦参碱 2.93%、氧化苦参碱 13.7%、氧化槐果碱 5.55%。

2.2 溶液配制

2.2.1 黄芩总黄酮溶液 精密称取黄芩总黄酮部位群喷雾干燥粉末约 20 mg，置于 10 mL 量瓶中，50% 乙醇定容至刻度，即得。

2.2.2 苦参总生物碱溶液 精密称取苦参总生物碱部位群喷雾干燥粉末约 20 mg，置于 10 mL 量瓶中，加水定容至刻度，即得。

2.2.3 组分（群）配伍溶液 根据三物黄芩汤配伍比例（黄芩：苦参：地黄 = 1：1：2）、总黄酮、总生物碱和总多糖在单味药材和各部位（群）中的相对含量^[11]及全方临床给药剂量，按照部位（群）配伍给药后，3 种成分给药剂量相当于原方给药时其相应含量，计算出部位（群）配伍比例约为 1：1：3。依据人与实验动物给药剂量换算关系，最终拟定配置过程如下：精密称取黄芩总黄酮、苦参总生物碱粉末各 20 mg，地黄总多糖干浸膏 60 mg，置于 10 mL 量瓶中，加少量 DMSO 溶解，50% 乙醇定容至刻度，即得。

2.2.4 混合对照品贮备液 精密称取各对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，精密吸取适量，置于 2 个 50 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，即得（黄芩苷 5.0 mg/mL、汉黄芩苷 0.25 mg/mL、黄芩素 2.5 mg/mL、汉黄芩素 1.5 mg/mL、千层纸素 A 2.5 mg/mL、氧化苦参碱 2.0 mg/mL、苦参碱 0.8 mg/mL、氧化槐果碱 0.8 mg/mL）。

2.2.5 高丽槐素内标溶液 精密称取高丽槐素适量，置于 10 mL 量瓶中，得到 1 mg/mL 溶液，精密量取 2.5 mL，置于 10 mL 量瓶中，得到 250 $\mu\text{g/mL}$ 溶液。

2.2.6 麻黄碱内标溶液 精密称取麻黄碱对照品适量，置于 10 mL 量瓶中，得到 100 $\mu\text{g/mL}$ 溶液，精密量取 1 mL 置于 5 mL 量瓶中，定容至刻度，得到 20 $\mu\text{g/mL}$ 溶液。

2.3 肝微粒体制备^[12] 大鼠断头处死取出肝脏，用冰冷的 0.9% 生理盐水冲洗肝脏，将其中血液充分冲洗干净（控制在 5 min 内），滤纸吸干水分后称定质量。将肝脏剪成小块，用冰冷的蔗糖溶液洗至洗出液无色或淡黄色，再用剪刀剪成细浆状，加约 4 倍肝重的蔗糖溶液，在冰浴中匀浆至无明显可见的碎块，再用 2 层已被缓冲液湿润过的纱布过滤，将黏于纱布上的组织匀浆过滤，滤液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 000 $\times g$ 离心 15 min，以沉淀肝匀浆中残存的红血球与肝细胞核、壁等。将上清液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 1 $\times$

$10^5 \times g$ 离心 60 min, 取出沉淀, 用 0.1 mol/L Tris-HCl (pH=7.6) 缓冲液重悬, 在 4 ℃ 下 $10\,000 \times g$ 离心 60 min, 沉淀用 3 倍肝重的 Tris 缓冲液转移合并, 混悬均匀, 置于 -80 ℃ 冰箱中冻存。

2.4 肝微粒体蛋白质含量测定 精密称取牛血清蛋白 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 即得 1 mg/mL 贮备液, 4 ℃ 下保存, 在 24 h 内使用。精密量取适量, 加水稀释制成 0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mg/mL 标准溶液, 各取 1.0 mL, 加入 0.1 mg/mL 考马斯亮蓝 G250 溶液 5 mL, 充分混合后放置 5 min。以蛋白浓度 0 mg/mL 为空白对照, 在 595 nm 波长处测定吸光度, 以蛋白浓度 (X) 对吸光度 (A) 进行线性回归, 得标准曲线为 $A = 4.494X + 0.0943$ ($r = 0.9998$)。将待测样品用 250 mmol/L 蔗糖溶液稀释适当倍数, 取 1 mL, 加入 0.1 mg/mL 考马斯亮蓝 G250 溶液 5 mL, 以同体积蔗糖溶液代替肝微粒体样品处理后作为空白对照, 依据标准曲线计算蛋白浓度, 测得大鼠肝微粒体蛋白质含量为 52.3 mg/mL。

2.5 微粒体细胞色素 P450 酶含量测定 采用 CO 还原差示光谱法, 取蛋白含量已知的肝微粒体匀浆样品, 用冰冷的含 20% 甘油的 PBS 缓冲液稀释成 0.5 mg/mL 肝微粒体悬液蛋白, 置于冰上。样品在 400 ~ 500 nm 波长范围内扫描, 记录基线。在参比池和样品池中各加入少许连二亚硫酸钠, 轻微搅拌; 向样品池轻轻冲入 CO 大约 1 min, 再进行扫描, 记录吸收峰及吸光度, 按公式 $(A_{450-490\text{ nm}} \times 1\,000) / (91 \cdot C_{\text{蛋白终浓度}})$ 求出 CYP450 酶含量。

2.6 色谱条件

2.6.1 苦参总生物碱 Phenomenex Gemini C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 预柱为 C₁₈ 保护柱 (20 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-10 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (15 : 85); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 210 nm; 柱温 25 ℃; 进样量 10 μL。

2.6.2 黄芩总黄酮 Phenomenex Luna C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 预柱为 C₁₈ 保护柱 (4.0 mm × 2.0 mm, 5 μm); 流动相 0.1% 甲酸 (A)-乙腈 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 5 min, 32% ~ 35% B; 5 ~ 15 min, 35% ~ 50% B; 15 ~ 25 min, 50% B); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 275 nm; 柱温 25 ℃; 进样量 20 μL。

2.7 孵育条件及样品处理方法 分别取 2 mg/mL 黄芩总黄酮溶液和三物黄芩汤组分配伍溶液 (1)、

苦参总生物碱溶液和三物黄芩汤组分配伍溶液 (2) 各 100 μL, 置于 10 mL 试管中, N₂ 吹干, 加入 50 μL 5 mg/mL 大鼠肝微粒体, pH 7.4 的 PBS 缓冲液 390 μL (1)、290 μL (2) 于 37 ℃ 水浴锅中预孵育 3 min, 加入 NADPH (A 液 50 μL、B 液 10 μL) 启动反应, 于 37 ℃ 水浴中温孵振荡, 于 0、15、30、45、60、90、120 min 取样 (1) 50 μL、(2) 25 μL, 立即加入冰冷的甲醇溶液 100 μL (1)、25 μL (2) 终止反应, 再加入高丽怀素溶液 (内标, 1) 50 μL、麻黄碱溶液 (内标, 2) 50 μL, 涡旋混合 3 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

2.8 方法学考察

2.8.1 专属性试验 取空白肝微粒体 (100 ℃ 灭活 30 min, 盐酸调 pH 1 ~ 2, 或 100 ℃ 灭活 30 min)、含有黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A (1); 氧化苦参碱、氧化槐果碱和苦参碱 (2) 的对照品溶液和内标溶液的灭活肝微粒体样品、大鼠肝微粒体给药后的孵育样本, 按“2.7”项下方法处理后, 进行 HPLC 分析, 结果, 该方法专属性良好, 内源性物质不干扰待测物和内标物质的测定, 峰形理想, 具体见图 1。

2.8.2 标准曲线绘制 取系列浓度的黄酮混合对照品贮备液 (1)、生物碱混合对照品溶液 (2), 加到灭活的大鼠肝微粒体悬液中, 使反应液中最终浓度为黄芩苷 25 ~ 500 μg/mL、汉黄芩苷 1.25 ~ 25 μg/mL、黄芩素 12.5 ~ 250 μg/mL、汉黄芩素 7.8 ~ 150 μg/mL、千层纸素 A 1.25 ~ 25 μg/mL (1); 氧化苦参碱 2 ~ 100 μg/mL、氧化槐果碱 0.8 ~ 40 μg/mL、苦参碱 0.8 ~ 40 μg/mL (2), 设计 6 个梯度质量浓度, 按“2.7”项下方法操作, 以待测物质量浓度为横坐标 (X), 待测物与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 用加权 ($W = 1/X^2$) 最小二乘法进行回归分析, 结果见表 1。

2.8.3 准确度、精密度、提取回收率试验 分别配制低、中、高 3 个梯度: (1) 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 质量浓度分别为 50、100、400 μg/mL, 2.5、5、20 μg/mL, 25、50、200 μg/mL, 15.6、31.25、120 μg/mL, 2.5、5、20 μg/mL; (2) 氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱分别为 4、20、80 μg/mL, 1.6、8、32 μg/mL, 1.6、8、32 μg/mL, 平行 6 次, 连续 3 d, 根据当日标准曲线计算其质量浓度, 结果与配制质量浓度对照, 并进行方差分析, 测定准确度和

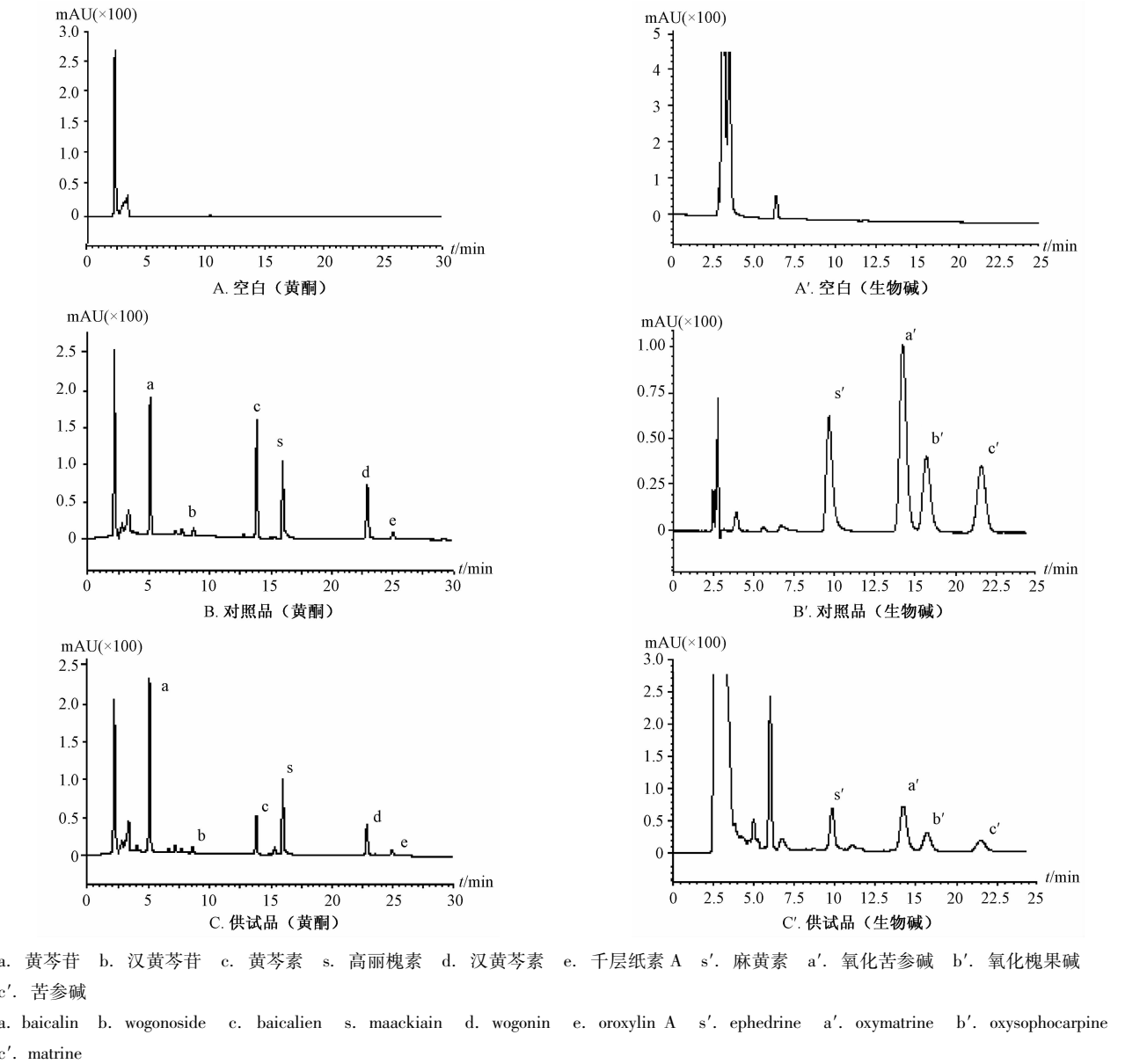


图 1 肝微粒体中各成分典型色谱图

Fig. 1 Typical chromatograms of various constituents in liver microsomes

表 1 各成分线性关系

黄酮				生物碱			
成分	线性方程($\times 10^{-2}$)	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r	成分	线性方程($\times 10^{-3}$)	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r
黄芩苷	$Y=1.86X+1.87$	25 ~ 500	0.997 5	氧化苦参碱	$Y=15.96X-2.03$	2 ~ 100	0.998 6
汉黄芩苷	$Y=2.66X+0.36$	1.25 ~ 25	0.997 2	氧化槐果碱	$Y=16.96X-1.52$	0.8 ~ 40	0.996 7
黄芩素	$Y=1.03X+18.0$	12.5 ~ 250	0.994 9	苦参碱	$Y=17.18X-1.35$	0.8 ~ 40	0.998 4
汉黄芩素	$Y=3.20X+5.75$	7.8 ~ 156	0.993 1				
千层纸素 A	$Y=2.55X+0.92$	1.25 ~ 25	0.993 2				

精密度。同法处理样本，每一质量浓度平行 6 次，获得相应色谱峰面积与相应质量浓度对照品峰面积的比值，计算提取回收率，同法计算内标回收率。结果见表 2 和表 3。

2.8.4 稳定性试验 配制低、中、高 3 个质量浓度的质量控制（QC）样品，平行 6 份，考察肝微粒体样品 4 ℃ 下放置 24 h 后的稳定性，结果见表 4，表明该方法稳定性良好。

表 2 各黄酮精密密度、准确度和提取回收率试验结果 (n = 6)

Tab.2 Results of precision, accuracy and extraction recovery tests for various flavonoids (n = 6)

成分	日间		日内		提取回收率/% (RSD/%)
	准确度/%	RSD/%	准确度/%	RSD/%	
黄芩苷	8.7	4.9	-6.0	8.7	84.9(7.4)
	-2.8	6.8	-3.6	5.5	80.9(8.8)
	-3.5	9.1	3.6	0.4	86.6(5.3)
	9.6	6.8	3.8	9.3	91.6(9.0)
汉黄芩苷	8.0	5.8	-10.0	5.2	89.9(7.5)
	-8.5	3.9	6.5	4.7	94.7(8.1)
	8.8	9.6	-9.2	10.7	76.3(5.90)
	1.1	7.7	6.2	9.5	78.1(11.4)
黄芩素	10.4	8.2	5.5	5.4	78.6(10.2)
	-5.1	8.9	-6.4	9.4	96.9(3.7)
	6.6	4.1	5.0	7.3	90.4(7.7)
	-4.1	5.0	3.5	3.8	88.3(6.5)
千层纸素 A	7.6	5.9	-8.0	8.9	96.3(4.8)
	10.0	4.7	-6.0	7.1	90.5(9.5)
	8.0	5.8	6.5	4.9	98.6(7.1)
	—	—	—	—	98.5(11.4)

表 3 各生物碱精密密度、准确度、提取回收率试验结果 (n = 6)

Tab.3 Results of precision, accuracy and extraction recovery tests for various alkaloids (n = 6)

成分	日间		日内		提取回收率/% (RSD/%)
	准确度/%	精密密度/%	准确度/%	精密密度/%	
氧化苦参碱	-7.5	9.1	2.8	7.8	85.9(5.6)
	2.0	5.4	-4.5	5.6	93.1(2.7)
	0.5	3.8	-1.4	2.4	89.4(3.5)
氧化槐果碱	12.5	8.9	8.8	8.9	83.7(2.3)
	11.6	6.7	6.4	6.6	88.3(4.5)
	5.9	2.6	-3.8	5.3	84.6(6.3)
苦参碱	12.5	10.4	6.3	7.7	93.1(7.3)
	-6.3	7.8	-5.8	6.9	96.1(5.4)
	4.7	4.5	-1.3	1.5	90.1(6.7)
内标	—	—	—	—	97.2(5.8)

2.9 代谢率测定 计算公式为 $V = [(C_0 - C_t) / C_0] \times 100\%$, 其中 V 为代谢率, C_0 为温孵体系中初始质量浓度, C_t 为温孵体系中最终质量浓度。

2.9.1 黄酮类成分 由图 2 可知, 单独给药黄芩总黄酮时, 黄芩苷代谢率约为 40.6%, 与文献 [13] 报道一致; 组分配伍给药后, 代谢率降至 31.3%, 提示与苦参总生物碱和地黄总多糖配伍后, 减缓了黄芩苷在肝脏的首过作用。黄芩苷与汉黄芩苷在肝微粒体中的含有量在全方组分 (群) 配伍给药组中呈现随时间先升高后下降的趋势, 而对于黄芩总黄酮给药组则主要表现为下降趋势, 提示配伍苦参总生物碱和地黄总多糖能明显促进黄芩

表 4 各成分稳定性试验结果 (n = 6)
Tab.4 Results of stability tests for various constituents (n = 6)

成分	稳定性		成分	稳定性	
	准确度/%	RSD/%		准确度/%	RSD/%
黄芩苷	-13.0	9.4	氧化苦参碱	5.3	4.8
	-8.3	6.2		6.1	9.5
	7.0	3.7		1.3	3.7
汉黄芩苷	-10.1	3.1	氧化槐果碱	9.0	3.9
	4.3	5.6		-10.2	10.5
	-8.9	8.7		4.1	2.6
黄芩素	-13.5	1.6	苦参碱	-5.8	1.9
	9.5	10.3		-2.7	6.3
	5.6	7.2		-2.3	4.1
汉黄芩素	12.0	6.9			
	11.4	7.8			
	-5.8	3.2			
千层纸素 A	-2.0	4.7			
	-6.4	3.3			
	7.3	6.1			

总黄酮中具有与黄芩苷和汉黄芩苷相同母核结构的多糖苷类成分向黄芩苷和汉黄芩苷转化, 使得肝微粒体孵育液中两者含有量在 0.5 h 内呈上升趋势。在测定时间内, 黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 含有量在全方组分 (群) 配伍给药组中呈上升趋势 (0.5 h 内更明显), 而黄芩总黄酮给药组在整个测试时间内均呈缓慢上升趋势。

2.9.2 苦参总生物碱 由图 3 可知, 黄芩总黄酮给药组和全方组分 (群) 配伍给药组中各生物碱代谢稳定平缓, 在 20 min 内达到平衡。

3 讨论

文献 [13] 报道, 黄芩中的黄酮苷类成分在体内可代谢为相应苷元。本实验肝微粒体孵育液中黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 含有量呈现出升高趋势, 这可能与黄酮苷类成分转化为苷元有关; 与黄芩总黄酮给药组相比, 全方组分 (群) 配伍给药组中其在 0.5 h 内迅速升高, 可能与苦参总生物碱和地黄总多糖明显促进其他黄酮苷向黄芩苷和汉黄芩苷转化, 进而又促进其向苷元转化密切相关。三物黄芩汤组分 (群) 配伍给药组和黄芩总黄酮给药组中三者代谢率分别约为 -620%、-75%、-144% 和 -333%、-9.1%、-18.2%, 即前者中各苷元生成量明显高于后者中。本课题组前期研究表明, 总黄酮配伍苦参总生物碱和地黄总多糖后, 两者均能促进黄酮类成分的吸收、靶向分布及稳定性, 而且与后者的相互作用最为显著, 并且与单体或单部位群给药相比, 明显改善了黄酮生

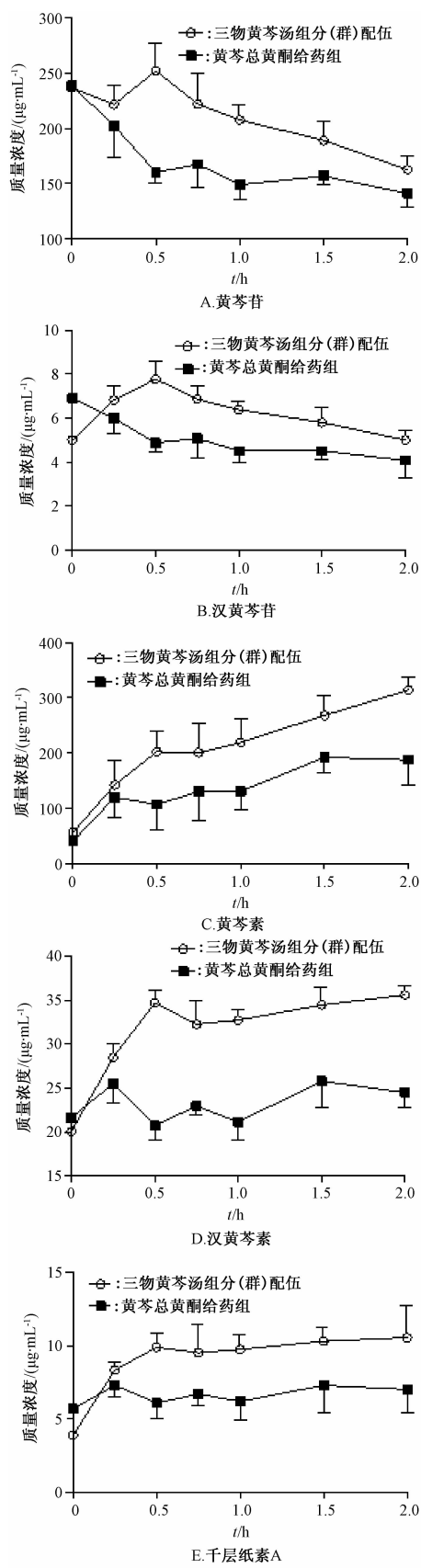


图2 各黄酮浓度-时间曲线

Fig. 2 Concentration-time curves of various flavonoids

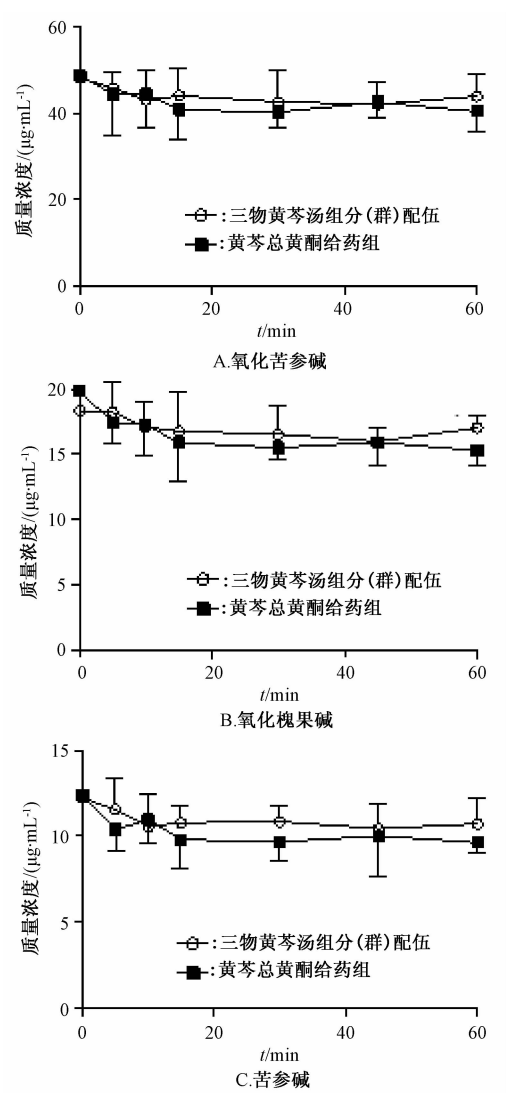


图3 各生物碱浓度-时间曲线

Fig. 3 Concentration-time curves of various alkaloids

物利用度。

以组分配伍为切入点，本实验阐释了黄芩总黄酮、苦参总生物碱、地黄总多糖在吸收环节上的相互作用规律，发现生物碱和多糖能明显促进黄酮的吸收，并且通过离体实验研究了三物黄芩汤组分（群）配伍在大鼠肝微粒体内的代谢率。结果表明，配伍总生物碱和总多糖后，部位（群）之间在肝微粒体代谢环节的相互作用依然有利于提高黄酮生物利用度，从而增强其药效。前期研究也初步证实，这种对药物吸收、分布、代谢与排泄（ADME）特性的促进作用可对溶解度、膜渗透性、稳定性差的部位（群）有明显作用，这在一定程度上也解释了按西药研发标准成药性不佳的黄酮苷、皂苷等成分在中医药临床上却占据着非常重要地位的原因。

参考文献:

[1] 柴瑞霁, 柴浩然. 运用三物黄芩汤治疗烦热症[J]. 实用中医内科杂志, 2001, 15(4): 33.

[2] 马海涛. 中西医结合治疗红斑性肢痛症 24 例[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2003, 9(5): 404.

[3] 史文丽, 唐善令, 张 伟, 等. 三物黄芩汤的临床新用[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(1): 70-71.

[4] 唐海燕. 三物黄芩颗粒治疗急性湿疹的相关药效学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2005.

[5] Lu T, Song J, Huang F, *et al.* Comparative pharmacokinetics of baicalin after oral administration of pure baicalin, *Radix scutellariae* extract and Huang-Lian-Jie-Du-tang to rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110(3): 412-418.

[6] Di B, Feng N, Liu W. Pharmacokinetic comparisons of Shuang-Huang-Lian with the different combinations of its constitutional herbs [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107 (3): 401-405.

[7] Wang Y Q, Ma Y Y, Li X H, *et al.* Simultaneous determination and pharmacokinetic study of oxymatrine and matrine in beagle dog plasma after oral administration of Kushen formula granule, oxymatrine and matrine by LC-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, 21(8): 876-882.

[8] 姚 干, 何宗玉, 方积年. 黄芩总黄酮提取及纯化工艺的研究[J]. 2006, 28(11): 1568-1571.

[9] 全 燕, 王锦玉, 张锴镔. 苦参总生物碱提取纯化工艺研究[J]. 2007, 13(1): 19-22.

[10] 赵平鸽, 刘 晓. 地黄多糖的提取纯化工艺研究[J]. 中国药房, 2010, 21(23): 2146-2148.

[11] 李婷婷. 三物黄芩汤组分群配伍的分布、代谢和排泄研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.

[10] 蔡巧玲, 王 莹, 崔 波, 等. 半夏泻心汤及不同配伍对大鼠肝微粒体中黄芩苷和黄芩素代谢的影响[J]. 中药材, 2012, 35(8): 1286-1290.

[12] 柳晓泉, 王广基, 钱之玉. 细胞色素 P450 酶在药物代谢及开发研究中的应用[J]. 药学进展, 2000, 24(6): 334-338.

[13] Cai Q L, Wang Y, Cui B, *et al.* *In vitro* effect of banxiaxixin-decoction and different combinations on the metabolic activities of baicalin and baicalein in rat liver microsomes[J]. *Chin Med Mat*, 2012, 35(8): 1286-1290.

薯蓣皂苷元纳米混悬液的制备

常金花, 薛禾菲, 刘 沛, 刘翠哲*
(承德医学院, 河北省中药研究与开发实验室, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 制备薯蓣皂苷元纳米混悬液。**方法** 介质研磨法制备纳米混悬液后, 冷冻干燥法将其固化。以粒径及多分散系数(PDI)为评价指标, 稳定剂种类、薯蓣皂苷元与稳定剂比例、初混悬液体积与研磨珠质量比例、研磨时间、冻干保护剂种类及其用量为影响因素, 单因素试验筛选制备和固化工艺。观察纳米混悬液形态, 测定纳米混悬液和冻干粉的粒径和PDI。**结果** 最佳条件为薯蓣皂苷元与普朗尼克 F127 (稳定剂 I) 比例 6:1, 与十二烷基硫酸钠(SDS, 稳定剂 II) 比例 50:1, 初混悬液体积与研磨珠质量比例 1:4, 研磨时间 120 min, 以 8% PEG-6000 和 2% 甘露醇为冻干保护剂。纳米混悬液呈棒状或片状, 平均粒径和多分散指数分别为 (348.1 ± 14.2) nm 和 0.244 ± 0.059, 均低于冻干粉。室温下, 纳米混悬液、冻干粉粒径分别在 35 d、3 个月内保持稳定。**结论** 薯蓣皂苷元冻干粉的物理稳定性优于其纳米混悬液, 复溶后即可使用。

关键词: 薯蓣皂苷元; 纳米混悬液; 介质研磨; 冷冻干燥; 单因素试验

中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)09-1819-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.011

Preparation of diosgenin nanosuspensions

收稿日期: 2017-04-13

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (H2014406036); 河北省高等学校科学技术青年基金项目 (QN2015127); 河北省高校重点学科建设项目 (冀教高 [2013] 4)

作者简介: 常金花 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事药物新剂型及药代动力学研究。Tel: (0314) 2290629, E-mail: xiaoniqu@126.com

* **通信作者:** 刘翠哲 (1964—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药制剂现代化及中药药代动力学研究。Tel: (0314) 2290359, E-mail: liucuizhexy@163.com