

元胡白芷有效组分配伍对延胡索乙素小肠吸收的影响*

★ 祝婧云 廖正根** 陈绪龙 梁新丽 赵国巍 王光发 (江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:目的:考察延胡索乙素大鼠小肠吸收特性及白芷、元胡有效组分配伍对延胡索乙素小肠吸收的影响,探讨元胡、白芷有效组分配伍规律。方法:采用大鼠体外小肠吸收模型,考察肠段、浓度对延胡索乙素大鼠小肠摄取的影响;同时考察元胡与白芷有效组分不同比例配伍后,延胡索乙素小肠吸收的变化规律;以延胡索总碱中主要有效成分延胡索乙素为指标,采用 HPLC 法对元胡白芷有效组分小肠浆膜液中的延胡索乙素进行检测。结果:白芷与元胡在一定的配比范围内,延胡索总碱中延胡索乙素的小肠吸收呈现明显增加的趋势。结论:从小肠吸收的角度证实了元胡白芷配伍的合理性。

关键词:元胡白芷配伍;小肠吸收;延胡索乙素;有效组分

中图分类号:R 285.5 文献标识码:A

Influence of match-pair of effective components of Yuanhu-baizhi on rat intestinal absorption of Tetrahydropalmatine

ZHU Jing-yun, LIAO Zheng-gen, CHEN Xu-long, LIANG Xin-li, ZHAO Guo-wei, WANG Guang-fa

Academic Discipline Advisory Office, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

Abstract: Objective: The absorptive characteristics of Tetrahydropalmatine on rat intestinal and the influence of match-pair of Yuanhu-baizhi on rat intestinal absorption of Tetrahydropalmatine was investigated, and the principle of match-pair of Yuan hu -baizhi was studied. Methods: A rat intestinal model in vitro was used to investigate the influence of different portions of intestines and different concentrations of Tetrahydropalmatine on rat intestinal absorption of Tetrahydropalmatine; The absorption of Tetrahydropalmatine after matching the active principle of baizhi with different proportion; Tetrahydropalmatine was used as the index, which is the principal active component in the Corydalis alkaloid, and its concentration in intestinal serosal fluid was detected by high-performance liquid chromatography (HPLC). Results: The intestinal absorption of Tetrahydropalmatine in the Corydalis alkaloid increased significantly with the optimal ration among match-pair of Yuanhu-baizhi. Conclusions: It was confirmed that the match-pair of Yuanhu-baizhi is rational from the angle of the intestinal absorption.

Key words: match-pair of Yuanhu-baizhi; intestinal absorption; Tetrahydropalmatine; active principle

中药延胡索为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,具有活血,利气,止痛的功效,尤以止痛作用显著。现代药理研究表明延胡索的有效成分为具有镇痛的延胡索甲素、延胡索乙素、延胡索丑素等生物碱,其中 TET 的镇

痛作用最强^[1]。临床上常与其它药物配伍治疗各种疼痛,如配伍白芷组成的元胡止痛方^[2]为治疗胃痛、头痛、痛经等的要药。

配伍理论是中医药理论的重要组成部分,近年来有关药物配伍原理的研究逐渐引起人们的兴趣。

* 基金项目:江西省自然科学基金资助项目(2007GZY0932)

** 通讯作者:廖正根,从事中药新剂型与新技术研究, Tel: (0791) 7119011, E-mail: lyzlyg@163.com。

目前,有关中药配伍产生协同效应的研究主要有物理、化学和生物效应等方法。物理方法主要是研究配伍后是否导致活性成分的溶存量增加^[3];化学方法主要是研究配伍后是否导致产生了一些新的活性成分^[4];生物效应法则主要是研究配伍后生物效应是否产生了协同^[2]。元胡止痛方仅由元胡和白芷组成,疗效确切,收载于1985~2005年各版药典,其多种剂型是国家医保品种,有效部位相对清楚,主要有生物碱^[5]、香豆素^[6]和挥发油^[7]等几大类中药有效组分。对于该方的配伍研究仅见元胡和白芷在镇痛方面具有协同作用^[2],而对于其

配伍原理的其它研究未见报道。文献报道延胡索的镇痛作用具有剂量依赖性作用^[2],因此,增加延胡索活性成分的吸收应可增强延胡索的镇痛效应,而许多挥发油对药物的透皮吸收有促进作用^[8],延胡索和白芷的镇痛协同作用是否是通过白

芷挥发油增加延胡索活性成分的吸收而实现是个值得研究的问题。因此,作者从小肠吸收角度来考察元胡与白芷配伍对延胡索总碱中延胡索乙素小肠吸收的影响,探讨元胡白芷药对的配伍规律。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,雄性,(250±20)g,购于江西中医学院实验动物中心,动物生产合格证书:SCXK(赣)2006-0001。

1.2 药物与试剂 延胡索生物碱(自制,总生物碱含量80.0%)、白芷挥发油(自制,提取率2.0%)、白芷香豆素(自制,总香豆素含量50.1%);延胡索乙素标准品,购自中国药品生物制品研究所,批号:110726-200409,经HPLC检测鉴定为单一色谱峰;乙腈(色谱纯,德国默克),磷酸(分析纯、广州市金华大化学试剂有限公司),三乙胺(分析纯、上海金山亭林工业园区),水为三蒸水。

1.3 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(包括G1322A脱气器、G1310A四元泵、G1316A柱温箱、G1321A FLD检测器 Agilent - Chemistry 工作站,安捷伦科技有限公司);高速冷冻离心机(德国SIGMA公司);二氧化碳培养箱(CB150, Binder Jouan)。

2 方法与结果

2.1 不同配比元胡总生物碱和白芷有效组分供试品溶液的制备 分别按元胡总生物碱、白芷总香豆素1:0、1:0.5、1:1;总生物碱、白芷挥发油1:0、1:0.5、1:1;元胡总生物碱、白芷总香豆素、白芷挥发油1:0:0、1:0.5:0.5、1:1:1三种比例称取延胡索总碱和白芷有效组分(延胡索总碱加入量固定为30mg,折算等效剂量的约3倍,折算生药量为0.81g;随方

的均为生药量的比例,按方中生药比例折算为有效组份量加入)。

2.2 延胡索乙素含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱:XTerra RP18柱(3.9mm×150mm,5μm,Waters);流动相为乙腈-0.1%磷酸水(三乙胺调pH=6.0)(40:60);激发波长:232nm,发射波长:323nm;体积流量:1.0ml/min;柱温:25℃;进样量20μl。

上述色谱条件下,延胡索乙素色谱峰与其他成分分离良好。

2.2.2 延胡索乙素对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品2.5mg,用甲醇溶解并定容于100ml量瓶内,制成0.025mg/ml的延胡索乙素对照品溶液。

2.2.3 线性关系的考察 精密量取上述延胡索乙素对照品溶液0.2、0.5、1.0、2.0、4.0ml于50ml量瓶内,用甲醇溶解并定容至刻度,制成0.1、0.25、0.5、1.0和2.0μg·ml⁻¹的溶液。精密取上述混合溶液各10μl注入液相色谱仪,按上述条件测定,记录色谱图及峰面积。以峰面积Y对进样含量X作线性回归,结果表明,在考察范围内,延胡索乙素的进样含量与峰面积呈良好的线性关系。回归方程:Y=815.78X-0.3357,r=0.9998,线性范围0.1~2.0μg·ml⁻¹。

2.2.4 回收率试验 取已知浓度的供试品溶液6份,按1:1比例精密加入延胡索乙素对照品,依法制备并测定其峰面积,计算延胡索乙素含量,得平均回收率为99.07%,RSD为1.54%。

2.2.5 方法精密度 同上配制0.1、0.5、2.0μg·ml⁻¹的延胡索乙素对照品溶液,各浓度点重复测定5次,RSD分别为0.98%,0.416%,0.62%,均满足分析要求。

2.3 延胡索总碱中延胡索乙素小肠摄取试验

由粘膜面到浆膜面的吸收:采用翻转肠囊法^[9],大鼠实验前禁食12h,待用时将大鼠击昏,打开腹腔,取小肠用37℃Krebs液洗净内容物,截成5cm左右肠段,并将其翻转,使小肠黏膜面向外,浆膜侧向内,备用。根据实验设计,肠囊内注入0.5mlKrebs液,将其浸泡于10ml的延胡索总碱提取液中通入95%(体积分数)O₂和5%(体积分数)CO。实验结束后,将肠囊取出,放入冰冷的Krebs液中清洗2次,每次20ml(放入时间2min,以除去黏附于肠囊上的药液)。再将肠囊放入10ml冰冷的0.05mol·l⁻¹NaOH/0.5mol·l⁻¹NaCl洗液中,浸泡10min(以除去结合于肠囊表面的药物),收集浆膜

液^[10]。采用 HPLC 方法测定浆膜液中延胡索乙素的含量。

2.3.1 延胡索乙素在不同肠段的吸收试验 实验考察肠段区间均取 5 cm, 十二指肠段为距幽门 1 cm 处开始取 5 cm; 空肠段为距幽门 15 cm 处开始取 5 cm; 回肠段为盲肠上 20 cm 处开始取 5 cm; 结肠段为紧邻盲肠处开始取 5 cm。按“2.3 翻转肠囊法”制备肠囊, 将其浸泡于 10 ml 分别含有 3 mg·ml⁻¹ 延胡索总碱提取液中, 在 37 ℃ 条件下孵育 60 min。采用 HPLC 方法测定不同肠段延胡索总碱中延胡索乙素经小肠的吸收。结果见表 1。

表 1 不同肠段对延胡索乙素肠吸收的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

肠段	配制体积/ml	延胡索总碱/mg·ml ⁻¹	单位面积吸收量/ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
十二指肠	10	3	0.20 ± 0.11
空肠	10	3	0.10 ± 0.03
回肠	10	3	0.46 ± 0.24
结肠	10	3	0.25 ± 0.06

2.3.2 不同浓度延胡索总碱的肠吸收试验 根据“2.3.2”的实验结果, 选取回肠为研究肠段, 按“2.3 翻转肠囊法”制备肠囊, 将其浸泡于 10 ml 分别含有 1、2、3、4、5 mg·ml⁻¹ 延胡索总碱提取液中, 在 37 ℃ 条件下孵育 60 min。采用 HPLC 方法测定不同浓度延胡索总碱中延胡索乙素经小肠的吸收。结果表明延胡索总碱溶液在 1 ~ 5 mg·ml⁻¹ 延胡索乙素经大鼠小肠吸收量具有明显的浓度依赖性, 结果见图 1。

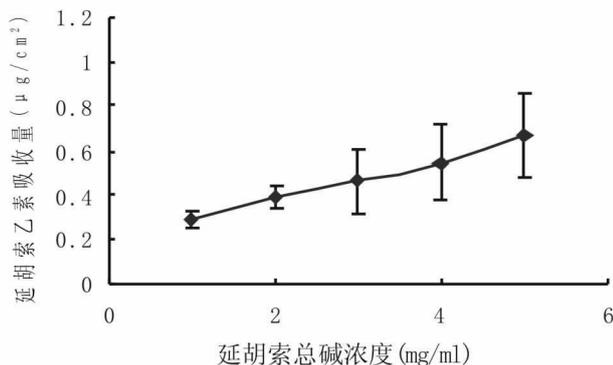


图 1 不同质量浓度延胡索总物碱中延胡索乙素小肠吸收结果($n=6$)

2.4 白芷有效部位对延胡索总碱小肠吸收影响试验

固定延胡索总碱浓度, 制备元胡总生物碱-白芷总香豆素(1:0、1:0.5、1:1), 延胡索总生物碱-白芷挥发油(1:0、1:0.5、1:1), 元胡总生物碱-白芷总香豆素-白芷挥发油(1:0:0、1:0.5:0.5、1:1:1) 配伍的提取物溶液。根据“2.3.2”的实验结果, 选取回肠为研究肠段, 按“2.3 翻转肠囊法”制备肠囊, 将其

浸泡于 10 ml (含延胡索总碱浓度为 3 mg/ml) 各组配伍的提取液中, 同样方法实验, 分别于给样后 60 min 取出肠囊, 收集浆膜液, 测定延胡索总碱中延胡索乙素含量。结果见表 2。

表 2 白芷有效部位不同比例配伍对延胡索总碱小肠吸收的影响试验($n=3$)

组别	单位面积吸收量/ $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$
总碱-香豆素(1:0)	0.46 ± 0.24
总碱-香豆素(1:0.5)	1.67 ± 0.18 *
总碱-香豆素(1:1.0)	1.81 ± 0.09 **
总碱-挥发油(1:0.5)	1.74 ± 0.31 *
总碱-挥发油(1:1.0)	1.58 ± 0.56 *
总碱-香-挥(1:0.5:0.5)	1.88 ± 0.54 **
总碱-香-挥(1:1.0:1.0)	1.54 ± 0.25 *

注:与总碱-香豆素(1:0)组比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

本研究建立的延胡索乙素的 HPLC/FLD 方法, 测定方法专一性、准确性、灵敏度较高(提高了约 40 倍), 操作简便快速, 分析时间短, 为此类药物中 TET 的血药浓度分析提供了较有参考价值的方法。

相同量延胡索总碱与不同量白芷总香豆素配伍后, 经小肠吸收的延胡索乙素的含量均较单纯延胡索总碱提取液为高, 并随方中白芷总香豆素加入量的增加而呈现增加的趋势, 这可能是因为香豆素类对肠道转运蛋白及肠黏膜上皮细胞上代谢酶的影响从而改变延胡索总碱的吸收^[11]; 相同量延胡索总碱与不同量白芷挥发油配伍后, 经小肠吸收的延胡索乙素的含量均较单纯延胡索总碱提取液为高, 并随方中白芷挥发油加入量的增加而呈现先增加后减少的趋势; 等量的延胡索总碱同时配伍白芷总香豆素、挥发油时, 延胡索总碱经小肠吸收趋势同配伍挥发油组。挥发油增加药物的通透性的研究已很多, 但本文中延胡索总碱配伍挥发油出现的随挥发油的用量增加而吸收减少的趋势有待进一步研究。

中药复方元胡止痛方中为延胡索、白芷二味药配伍而用, 元胡止痛方为治疗气滞血瘀所致的胃痛、胁痛、头痛及月经痛的经典良方。其临床上常见剂型有片、胶囊、软胶囊等, 对该方的配伍研究仅见朱央央等^[2]元胡止痛方配伍的化学和药效学比较研究, 未见有关其它对延胡索、白芷配伍的研究。本实验从吸收角度进行延胡索有效组分与白芷有效组分的配伍的研究, 结果表明, 白芷挥发油或/和白芷总香豆素与延胡索总生物碱配伍显著增加了延胡索乙素的吸收。第一次从药物吸收的角度阐明了该方配伍的合理性, 并能合理解释朱央央等得到的“元胡止痛方复方的药效明显优于单味延胡索提的镇痛效果”结论。

中药制造过程链的信息传递规律与控制

★ 吴大章¹ 苏拓童¹ 谢兴亮¹ 岳鹏飞² 廖正根² 杨明^{1,2} (1. 成都中医药大学 成都 611137; 2. 江西中医学院中药现代制剂教育部重点实验室 南昌 330004)

摘要:应用系统论、信息论、控制论、耗散结构理论等现代科学理论对中医药传统理论思想,整体观、辨证施治进行了阐释,分析了它们之间的相互关联以及在本质上的共通性,并在此基础上对中医防治疾病过程进行了诠释,然后探讨了过程学思想与现代科学理论以及中医药基本理论三者之间的关系,明确指出过程学思想是沟通现代科学理论与传统中医药理论之间的桥梁,符合二者的思想精髓,将其引入到中药制造过程中,指导实践活动,是中医药基本理论与时俱进的需要,是中医药学与其它自然科学之间交叉发展的必然,最后基于过程学思想构建了中药制造过程研究实践模式,并对该实践模式的操作流程进行了叙述。

关键词:中药制造;整体观;辨证施治;过程学;系统论;信息论;控制论;耗散结构论

中图分类号:R 28 **文献标识码:**A

从上个世纪至今,我国药学研究人员在药物的鉴别、提取、分离、纯化、药效等方面取得了显著成果,社会各界也投入了大量资源。但是,过去我们的研究大多局限于药物制造过程中的某一操作单元,没有从系统学角度整体把握,将整个制造过程链接起来,对过程链各单独环节研究有一定的成熟度,但是没有对各环节之间的动态关联进行深入研究,缺乏对中药制造过程链的系统认识与分析,对过程链的信息的传递规律把握不够,其控制手段更是不足。然而,在中医防治疾病过程中,我们早就应用到了过程学的思维,中医防治疾病的过程实质就是一个复杂系统过程,中医以人为对象,应用整体观与辨证施

治等基本理论,首先通过望闻问切收集疾病信息,然后系统整体地分析疾病的病因病机,最后将这些信息传递到处方中,从而对疾病进行治疗,使人体重新达到一种有序的动态平衡。中药制造是以中医药的基本理论为指导,在中药制造过程中应该充分体现中医整体观、辨证施治的核心思想,应该在制造过程中体现处方中的信息,即制剂要保留处方的全部信息。但是,由于我们缺乏对中药制造过程链的系统认识与分析,导致中医处方中的信息在中药制造过程中没有得到很好体现,甚至有些信息在制造过程的传递中衰减。在科研、生产中,我们经常遇到一些问题,例如,口服液澄明度问题、注射液安全性问题

参考文献

- [1] 刘赛月,朱蕴玮. 延胡索生物碱的现代药理研究概况[J]. 中华实用中西医杂志,2006,19(1):83-84.
- [2] 朱中央,余伯阳. 元胡止痛方配伍的化学和药效学比较研究[J]. 中国药科大学学报,2003,34(5):461-466.
- [3] 苏孝共,朱光辉,王增寿. 白芍与柴胡不同比例配伍芍药苷水煎出量的比较[J]. 中国现代应用药学杂志,2005,22(3):256.
- [4] 武洲,刘建利,令亚萍,等. 龙胆汤配伍过程中化学成分的定性定量研究[J]. 西北大学学报(自然科学版),2006,36(1):103.
- [5] 刘芳,罗跃娥. 延胡索研究概况[J]. 天津中医学院学报,2005,24(4):240.
- [6] 聂红,沈映君,吴俊梅,等. 白芷总香豆素的药理作用研究[J]. 时珍国医国药,2005,16(10):954.
- [7] 王梦月,贾敏如,马逾英,等. 白芷挥发油镇痛、镇静作用和身体依赖性研究[J]. 中药新药与临床药理,2002,13(4):221.
- [8] 张韵慧,肖莉,许建辰,等. 天然透皮吸收促进剂的研究进展[J]. 中国药房,2005,16(4):303.
- [9] HG 沃格尔. 药理学实验指南—新药发现和药理学评价[M]. 杜冠华,李学军,张永祥. 著译. 北京:科学出版社,2001:661.
- [10] 张玉杰,杨洁,邹晓翠,等. 黄连肉桂药对配伍对黄连总碱大鼠小肠吸收的影响[J]. 中国中药杂志,2007,32(15):1521-1524.
- [11] 李功奇. 药物与葡萄柚汁的相互作用[J]. 中国药房,2004,7(8):590-591.

(收稿日期:2009-04-29)