

# 大黃及牛黃解毒片大鼠給藥後血漿中大黃活性成分的 藥代動力學比較研究

劉玥昕, 吳曉, 關蓉, 杭太俊, 宋敏\*

(中國藥科大學藥物分析系, 南京 210009)

**摘要** 考察大黃及牛黃解毒片給藥後大黃活性成分在大鼠體內藥代動力學行為的差異。大鼠分別灌胃給予大黃生药材 96 mg/kg(含總蒽醌 1.83 mg/kg, 相當於大黃酸 0.28 mg/kg、大黃素 0.30 mg/kg、大黃酚 0.81 mg/kg、芦荟大黃素 0.23 mg/kg 及大黃素甲醚 0.20 mg/kg)及牛黃解毒片 250 mg/kg(含總蒽醌與大黃生药材等量, 相當於大黃酸 0.33 mg/kg、大黃素 0.38 mg/kg、大黃酚 0.71 mg/kg、芦荟大黃素 0.24 mg/kg 及大黃素甲醚 0.17 mg/kg), 血漿經甲醇沉淀後, 采用 LC-MS/MS 法測定大黃活性成分血藥濃度, WinNonlin 7.0 軟件計算藥代動力學參數。大鼠灌胃大黃及牛黃解毒片後, 大黃酸的  $c_{\text{max}}$  分別為  $(121 \pm 103)$  及  $(474 \pm 251)$   $\mu\text{g}/\text{L}$ ,  $AUC_{0-t}$  分別為  $(275 \pm 176)$  及  $(406 \pm 194)$   $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ ; 大黃酚異構體的  $c_{\text{max}}$  分別為  $(2325 \pm 1390)$  及  $(3580 \pm 2169)$   $\mu\text{g}/\text{L}$ ,  $AUC_{0-t}$  分別為  $(8170 \pm 2661)$  及  $(8856 \pm 4023)$   $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ ; 僅在牛黃解毒片給藥大鼠血漿中檢測出大黃素, 且牛黃解毒片給藥後大鼠血漿中大黃酸的  $c_{\text{max}}$ 、 $AUC$  及  $t_{1/2}$ , 大黃酚異構體的  $V_d$  及  $CL$  與單味大黃相比顯著增加, 大黃酚異構體的  $t_{\text{max}}$  显著下降。實驗結果表明, 牛黃解毒片複方配伍增強了大黃活性成分在大鼠體內的吸收利用, 改變了大黃活性成分的藥代動力學行為。

**關鍵詞** 大黃; 牛黃解毒片; LC-MS/MS; 藥代動力學

**中圖分類號** R969    **文獻標誌碼** A    **文章編號** 1000-5048(2018)04-0449-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180410

**引用本文** 劉玥昕, 吳曉, 關蓉, 等. 大黃及牛黃解毒片大鼠給藥後血漿中大黃活性成分的藥代動力學比較研究[J]. 中國藥科大學學報, 2018, 49(4):449–455.

**Cite this article as:** LIU Yuexin, WU Xiao, GUAN Rong, et al. Comparative pharmacokinetics of active anthraquinones ingredients after oral administration of Rhei Radix et Rhizoma and Niuhuang Jiedu Tablets to rats[J]. J China Pharm Univ, 2018, 49(4):449–455.

## Comparative pharmacokinetics of active anthraquinones ingredients after oral administration of Rhei Radix et Rhizoma and Niuhuang Jiedu Tablets to rats

LIU Yuexin, WU Xiao, GUAN Rong, HANG Taijun, SONG Min\*

Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** The study aims to investigate different pharmacokinetic profiles of anthraquinones after oral administration of Rhei Radix et Rhizoma and Niuhuang Jiedu Tablets (NHJDT) in rats, respectively. Rats were administered with 96 mg/kg of Rhei Radix et Rhizoma (1.83 mg/kg of total anthraquinone, equivalent to 0.28 mg/kg of rhein, 0.30 mg/kg of emodin, 0.81 mg/kg of chrysophanol, 0.23 mg/kg of aloe-emodin and 0.20 mg/kg of physcion) or 250 mg/kg of NHJDT (equal dose of total anthraquinone as Rhei Radix et Rhizoma, equivalent to 0.33 mg/kg of rhein, 0.38 mg/kg of emodin, 0.71 mg/kg of chrysophanol, 0.24 mg/kg of aloe-emodin and 0.17 mg/kg of physcion), respectively. Followed by protein precipitation with methanol, the anthraquinones in plasma samples were determined by LC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were calculated by WinNonlin 7.0. The  $c_{\text{max}}$  of rhein were  $(121 \pm 103)$  and  $(474 \pm 251)$   $\mu\text{g}/\text{L}$ , and the  $AUC_{0-t}$  were  $(275 \pm 176)$  and  $(406 \pm 194)$   $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$  for Rhei Radix et Rhizoma and NHJDT, respectively. The  $c_{\text{max}}$  of chrysophanol isomer were  $(2325 \pm 1390)$  and

收稿日期 2018-03-15 \*通信作者 Tel:025-83271090 E-mail:cqsongmin@sina.com

基金項目 國家自然科學基金資助項目(No. 81173648)

( $3.580 \pm 2.169$ )  $\mu\text{g}/\text{L}$ , and the  $\text{AUC}_{0-t}$  were ( $8.170 \pm 2.661$ ) and ( $8.856 \pm 4.023$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{L}$ , respectively. Emodin in very low levels was only detected in rat plasma samples after oral gavage of NHJDT. The  $c_{\max}$ ,  $\text{AUC}$  and  $t_{1/2}$  of rhein, as well as Vd and CL of chrysophanol isomer were observed with a much increased degree in comparison with Rhei Radix et Rhizoma counterparts. However, much shorter  $t_{\max}$  was found in NHJDT group. Therefore, NHJDT with co-existing components enhanced the absorption and influenced the pharmacokinetic behaviors of active ingredients in Rhei Radix et Rhizoma.

**Key words** Rhei Radix et Rhizoma; Niuhuang Jiedu Tablets; LC-MS/MS; pharmacokinetics

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81173648)

牛黃解毒片作為清熱解毒的傳統複方,歷經800多年發展,形成目前《中華人民共和國藥典》收載的由人工牛黃、雄黃、石膏、大黃、黃芩、桔梗、冰片、甘草等八味中藥以一定工藝炮製而成的中藥複方制剂<sup>[1~3]</sup>。臨牀上主要用於治療火熱內盛、咽喉腫痛、牙齦腫痛、口舌生瘡及目赤腫痛<sup>[1]</sup>。大黃作為其處方的主要成分之一,具有顯著的瀉下作用。近年來,隨着研究的不斷深入,其保肝利膽<sup>[4]</sup>、抗凝抗炎<sup>[4~5]</sup>的作用也逐漸得到証實。大黃的主要活性成分包括大黃酸、大黃素、大黃酚、芦荟大黃素及大黃素甲醚5種蒽醌類成分<sup>[6~7]</sup>。

目前,對於大黃活性成分的體內過程研究主要針對單味药材大黃<sup>[8~9]</sup>,但對牛黃解毒片中大黃的藥代動力學未見報道。本研究採用LC-MS/MS測定牛黃解毒片中大黃主要成分在大鼠血漿中的經時過程,分析藥代動力學特徵,並與給藥單味大黃進行比較,從藥代動力學角度揭示方劑配伍的特性。

## 1 材 料

### 1.1 仪 器

TSQ Quantum UltraAM型MS/MS聯用儀(美國Thermo Finnigan公司);XW-80C型旋渦混合器(上海青浦沪西儀器廠);Explorer超純水機(上海沉黃科學儀器有限公司);BS110S型萬分之一天平(德國Sartorius公司);TGL-16台式高速冷凍離心機(湖南湘儀儀器有限公司);高速多功能粉碎機(永康市天祺盛世工貿有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

牛黃解毒片(北京同仁堂科技發展股份有限公司製藥廠);大黃(安徽井泉中藥股份有限公司);大黃酸對照品、大黃素對照品(含量98.8%)、大黃酚對照品(含量99.7%)、芦荟大黃素對照品

(含量98.3%)、大黃素甲醚對照品(含量99.8%)、1,8-二羟蒽醌對照品(含量99.4%)(成都德斯特生物技術有限公司);L-抗壞血酸(國藥集團化學試劑有限公司,含量99.7%);甲醇(美國Tedia公司,色譜純);其餘試劑均為市售分析純。超純水(自制,18.25 MΩ·cm)。

### 1.3 动 物

SPF級SD大鼠,雌雄各半,體重( $200 \pm 20$ )g,上海杰思捷實驗動物有限公司提供,實驗動物生產許可證號:SCXK(滬)2013-0006。動物飼養於中國藥科大學藥學實驗動物中心,飼養溫度為( $23 \pm 3$ )℃,濕度為40%~70%,12 h照明。實驗前禁食過夜12 h,自由飲水。所有動物實驗符合實驗室動物飼料和使用指導原則,並通過中國藥科大學倫理委員會的同意。

## 2 方 法

### 2.1 牛黃解毒片與大黃灌胃溶液的制備

取生藥大黃及牛黃解毒片適量,粉碎成細粉,精密稱定,用0.5%CMC-Na分別配製成質量濃度為20 mg/mL(含總蒽醌19.03 g/kg,相當於大黃酸2.88 g/kg、大黃素3.15 g/kg、大黃酚8.48 g/kg、芦荟大黃素2.41 g/kg及大黃素甲醚2.11 g/kg)及54 mg/mL(含總蒽醌7.27 g/kg,相當於大黃酸1.31 g/kg、大黃素1.50 g/kg、大黃酚2.82 g/kg、芦荟大黃素0.96 g/kg及大黃素甲醚0.68 g/kg)的混懸液,於給藥前充分混勻。

### 2.2 對照品溶液及內標溶液的配制

精密稱定大黃酸、大黃素、大黃酚、芦荟大黃素及大黃素甲醚對照品適量,加入適量二甲亞砜溶解後,用甲醇稀釋並配製成大黃酸2~600 ng/mL,大黃素0.5~20 ng/mL,大黃酚10~400 ng/mL,芦荟大黃素10~400 ng/mL及大黃素甲醚10~400 ng/mL

范围的系列标准溶液。

精密称定1,8-二羟蒽醌适量,加入适量二甲亚砜溶解后,用甲醇稀释并配制成1 μg/mL的内标工作液。

### 2.3 色谱及质谱条件

采用Inertsil ODS-3 C<sub>8</sub>(4.6 mm×150 mm, 5 μm)色谱柱,以0.1%甲酸铵水溶液(A)-0.1%甲酸铵甲醇溶液(B)为流动相,线性梯度洗脱[0 min,A-B(50:50)→1.0 min,A-B(50:50)→1.5 min,A-B(10:90)→9 min,A-B(10:90)→9.1 min,A-B(50:50)→10 min,A-B(50:50)],流速1.0 mL/min,柱温35 °C,进样器温度15 °C,进样量30 μL。

电喷雾负离子化,喷雾电压-3 000 V,毛细管温度350 °C,鞘气(N<sub>2</sub>)压力40 kPa,辅助气(N<sub>2</sub>)压力10 kPa,碰撞气(Ar)1.20 Pa,多反应监测:大黄酸 $m/z$  283.0→ $m/z$  239.0,碰撞能-17 eV;大黄素 $m/z$  269.0→ $m/z$  225.0,碰撞能-25 eV;大黄酚 $m/z$  253.1→ $m/z$  225.0,碰撞能-27 eV;芦荟大黄素 $m/z$  269.2→ $m/z$  240.0,碰撞能-22 eV;大黄素甲醚 $m/z$  283.2→ $m/z$  240.0,碰撞能-26 eV;内标1,8-二羟蒽醌 $m/z$  239.0→ $m/z$  211.0,碰撞能-26 eV。

### 2.4 血浆样品前处理

精密量取血浆样品0.2 mL于2 mL聚塑离心管中,精密加入20% L-抗坏血酸溶液40 μL,甲醇(标准曲线和质控样品中加入对应浓度的标准溶液)50 μL及内标溶液50 μL,涡旋混匀30 s,加入甲醇0.6 mL,涡旋混匀3 min后,12 000 r/min离心10 min,取上清液37 °C下氮气吹干,残渣加入初始比例流动相120 μL,涡旋混匀3 min后,12 000 r/min离心10 min,取上清液30 μL进行LC-MS/MS分析。

### 2.5 动物实验

SPF级SD大鼠40只,随机分为4组,每组10只,大鼠分别灌胃给予大黄96 mg/kg(含总蒽醌1.83 mg/kg,相当于大黄酸0.28 mg/kg、大黄素0.30 mg/kg、大黄酚0.81 mg/kg、芦荟大黄素0.23 mg/kg及大黄素甲醚0.20 mg/kg)或牛黄解毒片250 mg/kg(按人用临床等效日剂量换算,含总蒽醌与大黄生药材等量,相当于大黄酸0.33 mg/kg、大黄素0.38 mg/kg、大黄酚0.71 mg/kg、芦荟大黄素0.24 mg/kg及大黄素甲醚0.17 mg/kg),第1组及

第2组灌胃大黄,另两组灌胃牛黄解毒片,于给药前0 h及给药后3,5,10,20,30,40,50 min,1,2,3,4,8,12 h采集血浆样本。由于大鼠血容量有限,第1组及第3组于0,5,20,40 min,1,3,8 h;第2组及第4组于3,10,30,50 min,2,4,12 h大鼠眼内眦静脉丛取血0.4 mL至肝素化离心管中,4 000 r/min离心,分取血浆置-20 °C冰箱中保存待测。

## 3 结 果

### 3.1 专属性

大鼠空白血浆、空白血浆添加一定浓度的大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚及内标1,8-二羟蒽醌溶液及大鼠给药1 h后血浆样品的典型色谱图如图1所示。大黄酸、大黄酚异构体、芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚及内标1,8-二羟蒽醌的保留时间分别约为3.9,4.0,4.3,5.1,5.8,6.6及5.2 min,血浆内源性物质对测定无干扰。

### 3.2 标准曲线及定量下限

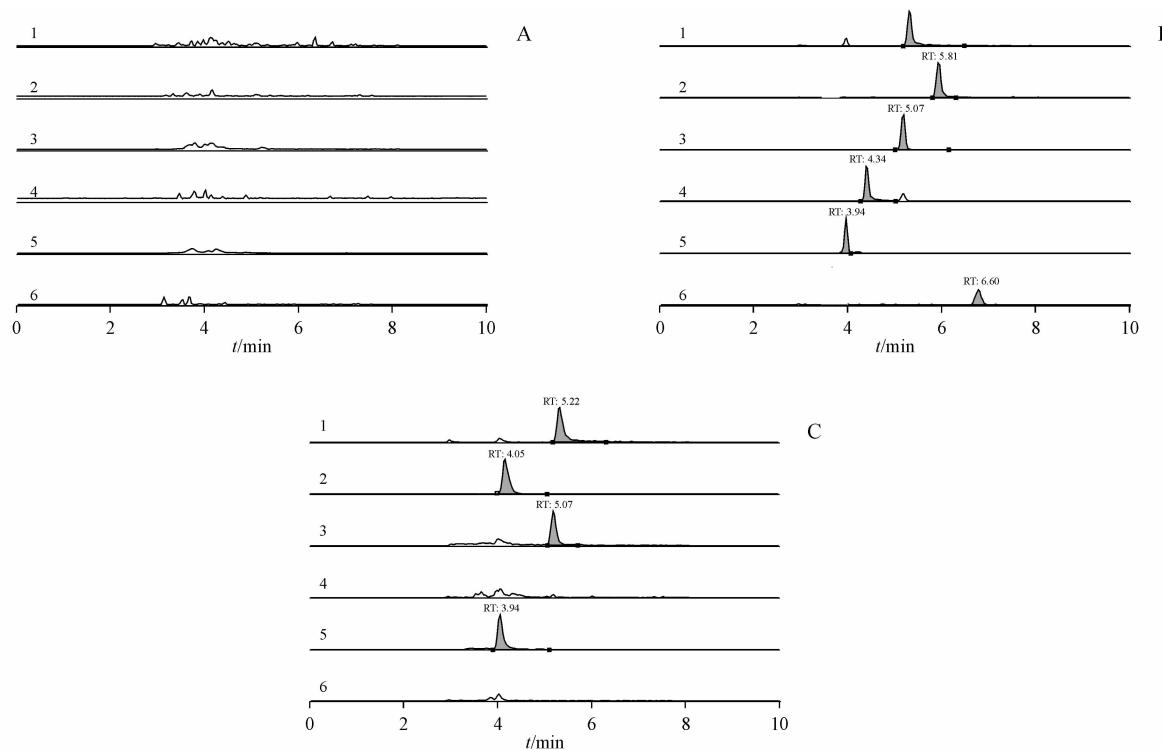
精密量取空白血浆0.2 mL,加入20% L-抗坏血酸溶液40 μL,分别精密加入系列大黄混合对照品溶液50 μL,配制出大黄酸2~600 ng/mL,大黄素0.5~20 ng/mL,大黄酚10~400 ng/mL,芦荟大黄素10~400 ng/mL及大黄素甲醚10~400 ng/mL的系列标准血浆样本,自“精密加入内标溶液50 μL”起,照“2.4”项下同法操作,记录色谱图。以大黄各成分峰面积(As)和内标峰面积(Ar)的比值Y对质量浓度c(ng/mL)进行权重回归( $1/c^2$ )。得大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素及大黄素甲醚的回归方程分别为 $Y = -0.0170 + 0.0472c$ 、 $Y = 0.0182 + 0.464c$ 、 $Y = -0.000836 + 0.0000951c$ 、 $Y = 0.0281 + 0.00258c$ 及 $Y = 0.000285 + 0.0000616c$ ,各成分线性良好,相关系数 $r \geq 0.99$ 。该方法大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素及大黄素甲醚的定量下限分别为2,0.5,10,10及10 ng/mL,准确度在98.09%~114.20%,精密度(RSD)小于15.61%,满足定量下限分析测定的要求。

### 3.3 准确度及精密度

分别配制低、中、高不同质量浓度大黄酸(5,100,480 ng/mL)、大黄素(1,4,16 ng/mL)、大黄酚(20,80,320 ng/mL)、芦荟大黄素(20,80,320 ng/mL)及大黄素甲醚(20,80,320 ng/mL)血浆样本各

6份,照“2.4”項下同法操作,一個分析批內測定6次,計算批內變異。不同分析批測定3次,計算批

間變異。結果如表1所示,各成分準確度在89.51%~109.36%,精密度(RSD)小於20.19%。



**Figure 1** Chromatograms of blank plasma (A), blank plasma spiked with standard solution (B) and plasma sample obtained 1 h after oral administration of *Niuhuang Jiedu* Tablets (C)

1:1,8-Dihydroxyanthraquinone ( $t_R$  5.2 min);2:Chrysophanol ( $t_R$  5.8 min) and chrysophanol isomer ( $t_R$  4.0 min);3:Emodin ( $t_R$  5.1 min);4:Aloe-emodin ( $t_R$  4.3 min);5:Rhein ( $t_R$  3.9 min);6:Physcion ( $t_R$  6.6 min)

**Table 1** Inter-and intra-batch precision and accuracy of rhein, emodin, chrysophanol, aloe-emodin and physcion ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Analyte	$c/$ (ng/mL)	Inter-batch			Intra-batch		
		Measured concentration/ (ng/mL)	Accuracy/ %	RSD/ %	Measured concentration/ (ng/mL)	Accuracy/ %	RSD/ %
Rhein	5	5.13 ± 0.34	102.53	6.73	5.47 ± 0.74	109.36	13.49
	100	108.04 ± 9.93	108.04	9.19	106.01 ± 4.33	106.01	4.08
	480	494.04 ± 32.01	102.92	6.48	468.42 ± 64.19	97.59	13.70
Emodin	1	0.99 ± 0.06	99.40	5.62	1.02 ± 0.10	101.59	9.83
	4	3.94 ± 0.17	98.38	4.24	4.10 ± 0.59	102.56	14.39
	16	14.47 ± 0.87	90.47	6.04	15.22 ± 2.13	95.15	13.99
Chrysophanol	20	19.03 ± 1.42	95.17	7.45	18.63 ± 1.66	93.13	8.89
	80	79.19 ± 2.99	98.99	3.78	79.09 ± 3.87	98.87	4.89
	320	329.81 ± 28.28	103.07	8.58	326.98 ± 14.00	102.18	4.28
Aloe-emodin	20	20.29 ± 2.49	101.43	12.30	19.00 ± 2.24	95.02	11.78
	80	83.51 ± 6.08	104.38	7.28	83.53 ± 6.46	104.41	7.74
	320	330.86 ± 17.21	103.39	5.20	334.04 ± 9.63	104.39	2.88
Physcion	20	21.61 ± 3.22	108.07	14.91	20.23 ± 4.08	101.16	20.19
	80	73.21 ± 3.96	91.51	5.40	71.61 ± 5.56	89.51	7.77
	320	307.59 ± 33.72	96.12	10.96	321.06 ± 28.62	100.33	8.91

### 3.4 基质效应和提取回收率

取低、中、高混合对照品溶液 50 μL, 加入 20% L-抗坏血酸溶液 40 μL, 照“2.4”项下同法操作, 作为基质效应对照组, 记录样品峰面积和内标峰面积的比值为 A。取空白血浆, 甲醇沉淀后分取上清液, 加入对应浓度的混合对照品溶液, 照“2.4”项下同法操作, 作为基质效应样品组。记录样品峰面积和内标峰面积的比值为 B。按基质效应因子

$$(MF) = B/A \times 100\% \text{ 计算 MF}。$$

照“3.3”项下分别配制低、中、高质量浓度的 QC 样品, 作为提取回收率样品组, 根据与基质效应对照组的峰面积比值计算提取回收率。基质效应和提取回收率结果见表 2, 在低、中、高不同质量浓度下, QC 样品的基质效应和提取回收率稳定, 符合生物样本定量分析的要求。

**Table 2** Matrix effect and extraction recovery of rhein, emodin, chrysophanol, aloe-emodin and physcion ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Analyte	c/(ng/mL)	Matrix effect/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Rhein	5	158.61 ± 14.29	9.01	71.13 ± 1.48	2.08
	100	157.90 ± 4.90	3.11	64.29 ± 3.86	6.01
	480	179.55 ± 17.07	9.51	66.21 ± 3.93	5.94
Emodin	1	18.29 ± 1.71	9.33	80.44 ± 4.09	5.09
	4	15.18 ± 0.84	5.55	85.46 ± 2.84	3.32
	16	18.55 ± 1.06	5.73	90.78 ± 2.61	2.87
Chrysophanol	20	110.72 ± 14.61	13.20	72.28 ± 14.40	19.92
	80	100.12 ± 12.42	12.40	77.30 ± 10.66	13.79
	320	110.69 ± 7.03	6.35	88.71 ± 5.99	6.76
Aloe-emodin	20	61.29 ± 14.31	23.34	86.08 ± 11.66	13.54
	80	53.23 ± 3.67	6.89	72.89 ± 4.83	6.62
	320	80.65 ± 8.22	10.19	79.41 ± 2.76	3.47
Physcion	20	92.82 ± 18.11	19.51	58.68 ± 8.03	13.69
	80	96.52 ± 7.41	7.68	87.77 ± 17.01	19.38
	320	83.57 ± 6.81	8.14	90.34 ± 10.54	11.67

### 3.5 稳定性

考察了血浆样品于室温(25 °C)放置 8 h, 3 次冻融, 处理后的血浆样品进样盘(15 °C)放置 24 h

的稳定性, 结果见表 3。大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素及大黄素甲醚浓度均无明显变化, 稳定性良好。

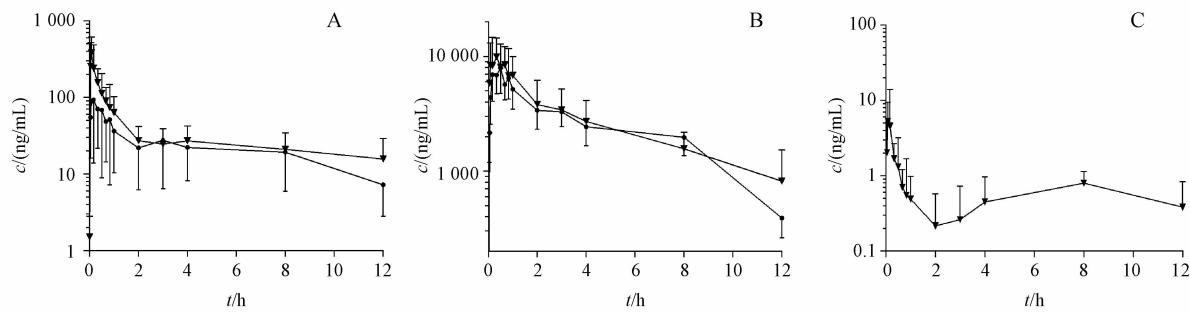
**Table 3** Stability of rhein, emodin, chrysophanol, aloe-emodin and physcion ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Analyte	c/ (ng/mL)	Autosampler (15 °C)		Freeze-thaw cycles		Room-temperature (25 °C)	
		Measured concentration/ (ng/mL)	RSD/%	Measured concentration/ (ng/mL)	RSD/%	Measured concentration/ (ng/mL)	RSD/%
Rhein	5	5.51 ± 0.46	8.29	6.11 ± 0.84	13.80	5.04 ± 0.36	7.24
	480	499.33 ± 60.07	12.03	506.28 ± 23.98	4.74	433.70 ± 26.96	6.22
Emodin	1	0.99 ± 0.10	9.61	1.10 ± 0.12	11.11	0.85 ± 0.15	18.02
	16	13.29 ± 2.03	15.31	14.91 ± 0.94	6.32	15.96 ± 1.54	9.63
Chrysophanol	20	16.15 ± 2.05	12.71	16.35 ± 2.34	14.34	18.22 ± 3.00	16.43
	320	283.49 ± 31.23	11.02	318.30 ± 21.61	6.79	349.31 ± 29.02	8.31
Aloe-emodin	20	23.18 ± 5.82	25.11	23.08 ± 4.80	20.77	20.00 ± 2.61	13.03
	320	281.03 ± 17.83	17.83	337.83 ± 37.75	11.17	329.26 ± 24.39	7.41
Physcion	20	17.87 ± 3.00	16.79	16.40 ± 2.94	17.95	19.05 ± 1.31	6.90
	320	351.71 ± 37.71	10.72	315.14 ± 23.36	7.41	302.53 ± 33.15	10.96

### 3.6 药代动力学研究

大鼠灌胃大黄及牛黄解毒片后不同时间点大黄 3 种活性成分的平均血药浓度-时间曲线见图 2,

所得数据经 WinNonlin7.0 软件计算药代动力学参数, 结果见表 4。



—▼—NHJDT (250 mg/kg); —●—Rhei Radix et Rhizoma (96 mg/kg)

**Figure 2** Mean plasma concentration-time profiles of rhein (A), chrysophanol isomer (B) and emodin (C) in rats after oral administration of Rhei Radix et Rhizoma and Niuhuang Jiedu Tablets (NHJDT), respectively ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

**Table 4** Pharmacokinetic parameters of rhein and chrysophanol isomer ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Parameter	Rhein		Chrysophanol isomer	
	Rhei Radix et Rhizoma	NHJDT	Rhei Radix et Rhizoma	NHJDT
$c_{\max}/(\mu\text{g/L})$	121 ± 103 *	474 ± 251 *	8 757 ± 5 226	13 467 ± 8 153
$t_{\max}/\text{h}$	0.14 ± 0.08	0.11 ± 0.08	0.47 ± 0.22 *	0.25 ± 0.16 *
$t_{1/2}/\text{h}$	5.2 ± 1.9 *	6.9 ± 3.5 *	3.4 ± 0.86	4.0 ± 2.0
$AUC_{0-t}/(\mu\text{g}\cdot\text{h/L})$	275 ± 176 *	406 ± 194 *	30 879 ± 9 984	33 342 ± 15 105
$AUC_{0-\infty}/(\mu\text{g}\cdot\text{h/L})$	329 ± 198 *	590 ± 353 *	32 937 ± 10 248	37 727 ± 16 442
$V_d/(\text{L/kg})$	3 406 ± 2 607	5 204 ± 3 340	15.4 ± 5.7 *	43.3 ± 24.6 *
$CL/(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$	427 ± 260	566 ± 292	3.1 ± 0.72 *	7.8 ± 3.0 *

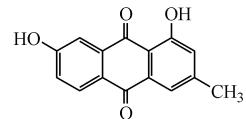
\*  $P < 0.05$

#### 4 讨论

对大鼠血浆样本前处理方法及色谱条件进行了优化。比较了甲醇沉淀、6 mol/L HCl 酸化后甲醇沉淀、乙酸乙酯提取、6 mol/L HCl 酸化后乙酸乙酯提取 4 种前处理方法,结果显示血浆样本经甲醇沉淀提取效率高,重复性好。处理过程中加入 20% L-抗坏血酸溶液,防止蒽醌类成分在前处理操作中被氧化。另外,对色谱条件进行了优化,考察了使用甲醇或乙腈作为有机相、流动相中加入甲酸或甲酸铵及色谱柱种类对大黄 5 种成分保留时间、峰形及响应的影响,以达到增强分离效果、缩短分析时间及提高灵敏度的目的。最终确定了以 0.1% 甲酸铵水溶液-0.1% 甲酸铵甲醇溶液为流动相, Inertsil ODS-3 C<sub>8</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 为最佳色谱条件。

大鼠给药后血浆中检测到保留时间约为 4.1 min 的色谱峰,其  $[M - H]^-$  峰及二级质谱均与保留时间约为 5.8 min 的大黄酚完全一致,推测为大黄酚异构体,这与大鼠给药大黄附子汤后血浆中检测到大黄酚异构体的文献 [10] 相似。大黄酚异构体保留时间较短,因此其与大黄酚相比极性更

大,推测其可能结构如图 3 所示。研究中因大黄酚异构体对照品无法获得,故以大黄酚对照品替代计算相对浓度。



**Figure 3** Chemical structure of chrysophanol isomer

大鼠给药后,血浆大黄素暴露量整体较低(图 2-C),这可能在很大程度上归因于大黄素在体内代谢成葡萄糖醛酸苷<sup>[11]</sup>,但其在血药浓度-时间时曲线中仍呈现双峰现象,说明中药同系物成分多样,在体内的代谢与转化,还会相互影响特征成分的药代动力学行为。文献报道<sup>[12]</sup>,大鼠给予大黄附子汤后,芦荟大黄素的血药浓度-时间曲线呈现双峰现象,与本研究中大黄素的双峰现象,均由大黄酸在体内与大黄素及芦荟大黄素发生相互转化所致<sup>[13]</sup>。

研究结果表明,大鼠灌胃单味大黄后,血浆中仅检测出大黄酸及大黄酚异构体 2 种成分;而牛黄解毒片全方给药后,血浆中检测出大黄酚异构体、大黄酸和较低浓度水平的大黄素 3 种成分。SPSS

独立样本  $t$  检验表明,牛黄解毒片给药后大鼠血浆中大黄酸的  $c_{\text{max}}$ 、AUC 及  $t_{1/2}$ ,大黄酚异构体的 Vd 及 CL 与单味大黄相比,显著增加,大黄酚异构体的  $t_{\text{max}}$  显著下降。所以,复方配伍促进了大黄有效成分的吸收利用<sup>[14-15]</sup>,改变了大黄有效成分的药代动力学行为。

### 参 考 文 献

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia: Part 1 [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015.
- [2] Feng YL, Miao JW, Li J, et al. Safety evaluation of *Niu Huang Jiedu* tablet [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, **17**(39): 3221–3225.
- [3] Qiang SP, Zhang YJ, Sun J, et al. Arsenic speciation by HPLC-HG-AFS after oral administration of realgar and *Niu Huang Jiedu Pian* in Beagle dogs [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2013, **44**(2): 141–146.
- [4] Fu XS, Chen F, Liu XH, et al. Progress in research of chemical constituents and pharmacological actions of Rhubarb [J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2011, **20**(16): 1534–1538, 1568.
- [5] Hu LZ, Guo DY. Exploring the main physical and chemical parameters of rhubarb's impact on clotting time based on stepwise regression method [J]. *J Shaanxi Univ Sci Tech* (陕西科技大学学报), 2013, **31**(5): 156–163.
- [6] Yao AM, Huang JQ, Xu DX, et al. Quantitation of multiple constituents in *Zhi-Zi-Da-Huang* decoction by RP-HPLC and its application in the study of chemical components in herb compatibility [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2013, **44**(6): 531–535.
- [7] Ding L, Zou Y, Li ZY. The pharmacology and clinical application of rhubarb [J]. *Chin J Mod Drug Appl* (中国现代药物应用), 2011, (4): 165–166.
- [8] Wu WJ, Yan R, Yao MC, et al. Pharmacokinetics of anthraquinones in rat plasma after oral administration of a rhubarb extract [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, **28**: 564–572.
- [9] Ye H, Wang Y, Wang L, et al. Rhein: a novel matrix for profiling and imaging of endogenous metabolites by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry [J]. *J China Pharm Univ*, 2016, **47**(6): 727–733.
- [10] Liu X, Wang XL, Wu L, et al. Investigation on the spectrum-effect relationships of *Da-Huang-Fu-Zi-Tang* in rats by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS method [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, **154**(3): 606–612.
- [11] Shia CS, Juang SH, Tsai SY, et al. Metabolism and pharmacokinetics of anthraquinones in *Rheum palmatum* in rats and ex vivo antioxidant activity [J]. *Planta Med*, 2009, **75**(13): 1386–1392.
- [12] Li H, Guo H, Li Wu L, et al. Comparative pharmacokinetics study of three anthraquinones in rat plasma after oral administration of *Radix et Rhei Rhizoma* extract and *Dahuang Fuzi Tang* by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, **76**: 215–218.
- [13] Krumbiegel G, Schulz HU. Rhein and aloe-Emodin kinetics from senna laxatives in man [J]. *Pharmacology*, 1993, **47**(1): 120–124.
- [14] Xie H, Ma YM, Wang TM, et al. Pharmacokinetics of rhein in *Taohe Chengqi Decoction* and rhubarb in rabbits [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2005, **21**(2): 1–3.
- [15] Xin Y, Geng HC, Zhang S, et al. Pharmacokinetic study of Rhein from *Sanhuang Xiexin Decoction* and *Radix et Rhizoma Rhei* in rats [J]. *Chin J Exp Trad Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2009, **3**(15): 56–59.