

酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷的含量。结果 4 种成分的平均含量分别为 4.14 mg/g、3.66 mg/g、2.18 mg/g、33.47 mg/g。

表 2 含量测定结果 mg/g

批号	绿原酸	栀子苷	金丝桃苷	黄芩苷
00914055	4.25	3.47	2.32	30.2
00914056	4.03	3.88	2.19	35.5
00914057	4.14	3.64	2.03	34.7

3 讨论

茵栀黄颗粒含有 4 种提取物：茵陈提取物、栀子提取物、黄芩提取物、金银花提取物，原质量标准测定黄芩苷和栀子苷，仅对黄芩提取物和栀子提取物进行质量控制，本试验在此基础上，又选取了绿原酸和金丝桃苷，对金银花提取物和茵陈提取物进行质量控制，力求更全面评价制剂的质量。

为提高分析效率，本试验对 4 种成分进行了同时测定，鉴于 4 种成分的最大吸收波长不同，为提高检测的准确性和灵敏度，本试验采用可变波长程序，实现了在最大波长处对 4 种成分进行检测。因此本试验所建立的含量测定方法具有准确高效，简便快速的特点。

[参考文献]

- [1] 朱明锦, 夏伟, 徐之也, 等. 茵栀黄颗粒治疗新生儿病理性黄疸系统评价[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(1): 125-127.
- [2] 胡晓红, 朱慧华, 应佳佳, 等. 茵栀黄颗粒对新生儿病理性黄疸应用效果回顾性分析[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(3): 673-674.
- [3] 何雅君, 苏娟, 杨茜, 等. HPLC 同时测定山楂提取物中绿原酸和牡荆素鼠李糖苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 829-831.
- [4] 卞婷婷, 安益强, 汤道权, 等. HPLC 法同时测定双黄连冻干粉中 11 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 52-56.
- [5] 师永清, 师永花. HPLC 同时测定牛黄清胃丸中栀子苷和黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 86-88.
- [6] 席文胜, 张艳玲. 二元梯度洗脱反相高效液相色谱法测定茵栀黄颗粒中栀子苷的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(2): 148-149.

(责任编辑: 刘淑婷)

采用 Caco-2 细胞培养模型及大鼠在体肠灌流模型研究分析淫羊藿炮制的意义

谢斌

绍兴市柯桥区中医医院药剂科, 浙江 绍兴 312030

[摘要] 目的: 采用 Caco-2 细胞培养模型及大鼠在体肠灌流模型研究分析淫羊藿炮制的意义。方法: 建立 Caco-2 模型及大鼠在体肠灌流模型, 分别统计淫羊藿中含有的 5 种黄酮化合物的吸收转运情况及在肠道代谢中的吸收情况。结果: 分别观察淫羊藿炮制品中的 5 种黄酮化合物在 Caco-2 模型中的吸收转运情况, 其中宝藿苷 吸收渗透参数>淫羊藿苷>朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C。建立大鼠在体肠灌流模型, 分别观察淫羊藿炮制品中的 5 种黄酮化合物在大鼠在体肠灌流模型中各肠段吸收转运情况。在十二指肠段和空肠段, 淫羊藿苷渗透参数明显高于其他黄酮化合物; 在回肠段和结肠段, 宝藿苷渗透参数最高。结论: 适当的炮制可脱去淫羊藿黄酮的糖基, 有助于淫羊藿的吸收。

[关键词] 淫羊藿; 炮制; Caco-2 细胞; 大鼠在体肠灌流模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 09-0208-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.09.097

淫羊藿是一种药用植物, 以羊脂油为最常见的炮制方法^[1]。关于淫羊藿炮制机理研究, 主要分为化学成分以及药理作用两

方面, 但是由于未能深入以及全面体现其药物的炮制机理, 导致炮制前后药物的成分以及吸收等研究较少^[2-3]。淫羊藿主要

[收稿日期] 2015-02-27

[作者简介] 谢斌 (1983-), 男, 主管中药师, 研究方向: 中药临床药学。

成分为黄体酮类,这类黄体酮结构特殊,笔者进行Caco-2细胞膜型分析以及研究淫羊藿中的黄体酮活性成分的肠内吸收及其功能代谢机理等研究,结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 大鼠在体肠灌流模型采用健康成年大鼠,性别不限,身长为(1.53±0.32)cm,体重为(212.42±32.53)g。

1.2 实验方法 建立Caco-2细胞培养模型及大鼠在体肠灌流模型,其中Caco-2细胞培养模型建立方法为:培养环境为5%二氧化碳、37℃,采取DMEM培养基,并在培养基中加入10%胎牛血清、1%谷氨酰胺、1%非必需氨基酸、青霉素-链霉素双抗液,于T57培养瓶中进行培养,4~5天后达到融合,再利用胰酶-EDTA液进行消化,然后按照1:3比例传代或者接种到试验所需器皿中^[4]。在体肠灌流模型建立方法为:麻醉试验大鼠后,将其腹腔打开,量取适当长度肠段,在两端插管,等渗生理盐水冲洗肠内容物,换灌流液,利用恒速泵灌流肠腔,同时收集灌流液,对不同时间的灌流液浓度进行测定^[5]。模型建立完成后,采用淫羊藿炮制品对模型进行吸收试验,分别统计淫羊藿中含有的5种黄酮化合物的吸收转运情况及在肠道代谢中的吸收情况,并比较。

1.3 统计学方法 对所得数据进行统计学处理,采用SPSS 15.0软件进行分析,计量资料采用*t*检验,计数资料采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 Caco-2模型淫羊藿各种化合物吸收渗透参数比较 见表1。分别观察淫羊藿炮制品中的5种黄酮化合物在Caco-2模型中的吸收转运情况,其中宝藿苣 吸收渗透参数>淫羊藿苣>朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C。

表1 Caco-2模型淫羊藿各种化合物吸收渗透参数比较 $\times 10^{-6}$ cm/s

黄酮化合物	吸收渗透参数
宝藿苣	0.874
淫羊藿苣	0.572
朝藿定A	0.372
朝藿定B	0.258
朝藿定C	0.465

2.2 大鼠在体肠灌流模型淫羊藿各种化合物吸收渗透参数比较 见表2。建立大鼠在体肠灌流模型,分别观察淫羊藿炮制品中的5种黄酮化合物在大鼠在体肠灌流模型中各肠段吸收转运情况。在十二指肠段和空肠段,淫羊藿苣渗透参数明显高于其他黄酮化合物;在回肠段和结肠段,宝藿苣渗透参数最高。

3 讨论

淫羊藿是小檗科淫羊藿属植物,是我国常用的药物之一,主要治疗肾虚阳痿遗精早泄,腰膝痠软,四肢厥冷,更年期高血压等疾病,可有效缓解患者四肢厥冷,使肌肉逐渐恢复刚强有力状态,能促进性功能亢进,提高机体免疫功能等^[6]。尤其

表2 大鼠在体肠灌流模型淫羊藿各种化合物

黄酮化合物	吸收渗透参数比较($\bar{x} \pm s$) $\times 10^{-6}$ cm/s			
	十二指肠	空肠	回肠	结肠
宝藿苣	2.34±0.42	2.41±0.14	1.53±0.34	1.05±0.14
淫羊藿苣	6.32±0.84	5.24±0.73	0.97±0.17	0.33±0.12
朝藿定A	4.32±0.58	3.84±0.54	0.46±0.13	0.28±0.07
朝藿定B	3.85±0.64	3.25±0.46	0.94±0.21	0.42±0.15
朝藿定C	3.14±0.77	2.74±0.42	0.69±0.23	0.46±0.16

是淫羊藿药物经过炮制后可以更有效体现其药物作用功能,但是现代科学研究与分析成果并不能有效体现出其药物经过炮制后,有效成分的变化情况。笔者以淫羊藿经过炮制后,其肠吸收情况为切入点,采用Caco-2模型以及大鼠在体肠灌流模型进行其药物炮制机理研究^[6-7]。

其中Caco-2细胞来源于结肠腺癌细胞,由于其功能及渗透特征等方面与小肠十分类似,所以Caco-2细胞经常用于代替小肠表皮细胞作为其吸收、转运药物的体外模型。Caco-2作为小肠的替代品的特点是其结构与生理作用均与小肠上皮细胞十分相似,机体中的小肠上皮细胞相关的酶系在Caco-2细胞中同样存在,其中的酶系与正常成熟小肠上皮细胞呈现出逆向分化不同,Caco-2在培养下,可以生长在多孔的渗透聚酯,以达到自身机体相融合以及产生分化肠上皮细胞,形成不间断的单层细胞组织。在上述试验中,笔者研究分析了淫羊藿炮制品中所含有的5种黄酮化合物成分在Caco-2中的吸收转运情况,通过结果可以看出,作为单糖苷的宝藿苣的渗透参数要高于二糖苷淫羊藿苣,而二糖苷淫羊藿苣的渗透参数又高于三糖苷朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C,从而表明,淫羊藿黄酮的吸收效果与其糖基数目呈反比关系,通过此实验证实,在小肠部位,淫羊藿黄酮的糖基数越低,其越有利于小肠的吸收。

笔者同时建立了大鼠在体肠灌流模型,研究分析了十二指肠、空肠、回肠、结肠对淫羊藿中5种黄酮的在体吸收情况。在体肠灌流模型保证了肠道神经功能以及内分泌的完整没用损伤,同时血液以及其他淋巴液的供应完好,可提高模型的生物活性以及机体内肠道代谢功能。特别通过实验可以看出,5种淫羊藿黄酮在十二指肠、空肠部位渗透系数均明显高于回肠、结肠部位。此外,作为二糖苷和三糖苷的淫羊藿苣和朝藿定A、朝藿定B、朝藿定C,在十二指肠和空肠部位代谢量较多,而在回肠、结肠部位代谢量相对于十二指肠和空肠部位明显减少,从而证明,其主要吸收部位在十二指肠和空肠部位。而宝藿苣是一种单糖苷,其在肠道吸收过程中不需要水解,所以在十二指肠、空肠部位的吸收和在回肠、结肠部位之间的差别并没有其他淫羊藿黄酮明显^[8]。

综上所述淫羊藿黄酮的肠吸收代谢与其糖基数目有关,淫羊藿黄酮的糖基数目越低,其渗透系数越高,肠吸收情况越

好。也就是说,人体的肠道吸收主要以单糖苷为主,其多糖苷必须经过水解等形式后转化为单糖苷才可以进行吸收,而淫羊藿中的 5 种黄酮中有 4 种为多糖苷,提高其有效成分的利用,必须使淫羊藿中的多糖苷转化为单糖。淫羊藿的炮制程序可能有效的使淫羊藿糖基脱去糖苷,从多糖苷转化为次糖苷,促进了淫羊藿黄酮的渗透性和水解性,更加有利于肠道吸收,从而提高淫羊藿的作用。本研究以肠道吸收代谢淫羊藿 5 种黄酮的情况为切入点,讨论研究淫羊藿的炮制机理,揭示了淫羊藿炮制的科学内涵,从而阐述了淫羊藿的炮制价值与意义。

[参考文献]

- [1] 陈彦,贾晓斌,丁安伟.淫羊藿炮制机理研究回顾与新思路[J].中华中医药杂志,2010,25(9):1439-1442.
- [2] 陈彦,贾晓斌,范晨怡,等.不同品种淫羊藿生品与炮制品中 5 种黄酮成分的含量比较[J].中华中医药杂志,2010,45(7):516-519.
- [3] 陈彦,贾晓斌,谭晓斌,等.大鼠肠道水解酶对淫羊藿黄酮苷的处置影响[J].中国药学杂志,2010,45(7):516-519.
- [4] 曾宝,王春玲,吴安国,等.Caco-2 细胞模型的建立及其在中药吸收研究中的应用探讨[J].中药新药与临床药理,2010,21(6):570-573.
- [5] 谭晓斌,贾晓斌,陈彦,等.在体肠灌流模型及其在中药研究中的应用[J].中成药,2007,29(11):1665-1668.
- [6] 江永南,莫红缨.淫羊藿苷纳米纤维膜自组装囊泡的制备及表征[J].中国现代应用药学,2012,29(6):509.
- [7] 崔莉,孙娥,樊宏伟,等.药理效应法测定淫羊藿生品及不同炮制品的药学参数[J].中药材,2013,36(3):370.
- [8] Pae A, Kim JW, Kw on KR. Effect of processing on total flavonoids and flavonoid monomer in Epimedium wushanense T.S.Ying [J]. China Medical Herald, 2011, 8(30):74-76.

(责任编辑:骆欢欢)

内病外治新疗法常年招生(教社证字 G03005 号)

一、鼻炎头痛学习班:重点讲解为什么鼻炎、鼻窦炎、过敏性鼻炎不在鼻部肺部治疗能快速神奇治愈。顽固性正偏头痛、头晕、三叉神经痛、牙痛、口腔溃疡,结膜炎,失眠神经衰弱,不在头部治疗的新理论和快速治愈方法。二、颈肩腰腿痛学习班:重点讲解为什么腰痛不治腰,腿疼不治腿,足跟痛不治脚,肩周炎有真假,骨质增生能软化,治股骨头坏死与膝关节炎取穴一样等关节软组织疼痛的新理论和快速治愈方法。三、内科病学习班:讲解 2 型糖尿病,胃病.结肠炎.冠心病.胆囊炎.小儿腹泻.厌食同治一个病根新理论。四、男科妇科病学习班:讲解男女乳腺增生.痛经.前列腺炎.阳痿,早泄,慢性肾炎.同治一个病根的外治新理论。五、皮肤病科:讲解点耳穴,根治青春痘,湿疹,皮炎,各种癣疮等皮肤病的外治方法。六、快速查病诊断班:患者无需开口,看一眼患者的双腿便知道患者的病根在哪里,超前诊断患者现在或将来易患什么病。让患者心服口服,是大夫接诊快速准确诊断不可少的绝招技术。七、特效针法学习班:一秒钟埋线法治疗各种慢性疑难病。泻血法,六针法、X 针法、穿针法一次性治疗肱骨外上髁炎,急性腰扭伤,牙痛,尾骨痛,足跟痛,踝关节扭伤,棘上韧带损伤等症收效神速,大多患者入针即效,拔针即愈。以上各科明确全身慢性疑难病原发病因和继发病症的鉴别诊断治疗,本疗法防治结合治未病,可作为大夫本人即家庭治疗保健康复之首选。本校为学员可代为办理劳动和社会保障部门颁发的全国通用高级按摩师证书,中医康复保健证书,高级针灸师证书,网上可查,凭证可开业。每月 1 号,15 号开班。本疗法把疑难病的诊断治疗简单化。有无医学基础 7~10 天即可学会,学校有实习门诊,患者很多,不熟练可多学几天,学会为止。七个科学费 5000 元。地址:河北省石家庄市健康路省第四人民医院西 200 米,石家庄内病外治新疗法培训学校,联系人:王卫平。手机 13930962015。详情登陆 www.nbwzxlf.com,农行卡号:6228481250018026419,邮政账号:601331001200114327,乘车路线:石家庄火车站乘 131 路省四院下西行 200 米即到或石家庄北站乘 5 路省四院下西行 200 米即到。