

## 川续断皂苷VI的研究进展

田欢<sup>1</sup>, 赵锋<sup>2\*</sup>, 李晔<sup>3</sup>, 张红<sup>3</sup>, 丁腾<sup>1</sup>, 孙婷婷<sup>3</sup>, 王春柳<sup>3</sup>, 刘洋<sup>3</sup>

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 西安市中医医院, 西安 710021;  
3. 陕西省中医药研究院, 西安 710003)

**[摘要]** 川续断皂苷VI(asperosaponin VI)又称木通皂苷D(Akebia saponin D),简称ASD,是中国传统中药川续断的主要活性成分,研究表明ASD具有神经保护、心肌保护、抗骨质疏松、抗细胞凋亡、保肝降脂等药理作用,应用前景广泛。近年来,随着研究的深入,一些新的药理活性相继被发现。ASD可多靶点发挥药效,其神经保护、心肌保护、保肝降脂作用均与抑制细胞凋亡有关,同时还可促进肿瘤细胞的凋亡。虽然ASD的药理作用应用前景广泛,但生物利用度不佳极大地限制了其发展与推广,建议可通过纳米给药系统、缓控释给药系统等制剂技术进一步改善。本文以近年来国内外研究报道的ASD的文献为基础,对ASD的提取分离、含量测定、药理作用、非临床药代动力学等方面的研究内容进行总结,以为后续ASD的临床应用提供参考。

**[关键词]** 川续断皂苷VI; 木通皂苷D; 提取分离; 含量测定; 药理作用; 非临床药代动力学; 续断

**[中图分类号]** G353.11; R24; R284; R285; R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0226-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050226

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171213.0911.022.html>

**[网络出版时间]** 2017-12-13 10:48

### Research Progress of Asperosaponin VI

TIAN Huan<sup>1</sup>, ZHAO Feng<sup>2\*</sup>, LI Ye<sup>3</sup>, ZHANG Hong<sup>3</sup>, DING Teng<sup>1</sup>,  
SUN Ting-ting<sup>3</sup>, WANG Chun-liu<sup>3</sup>, LIU Yang<sup>3</sup>

(1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China;  
2. Xi'an Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Xi'an 710021, China;  
3. Shaanxi Academy of TCM, Xi'an 710003, China)

**[Abstract]** Asperosaponin VI also known as Akebia saponin D (ASD), it is the main active ingredient of Dipsaci Radix. Studies have shown that ASD has a wide range of pharmacological effects, such as neuroprotection, myocardial protection, prevention of osteoporosis, anti-apoptotic, hepatoprotective effect and lipid-lowering, and has broad prospects for developing. In recent years, with the development of science and technology and the deepening of research, some new pharmacological activities have been discovered. ASD can play its pharmacological effects with multiple targets, its neuroprotection, myocardial protection, hepatoprotective effect and lipid-lowering are related to suppress cell apoptosis, and it can promote tumor cell apoptosis. Although the application of pharmacological effects of ASD has a wide range of prospects, poor bioavailability limits its development, the following study can through the nano-drug delivery system, sustained and controlled release drug delivery system to further improve. Based on the literatures of ASD reported in recent years, this paper summarizes the extraction, determination, pharmacological action and non-clinical pharmacokinetics of ASD, it can provide

**[收稿日期]** 20170817(001)

**[基金项目]** 陕西省科技厅统筹创新工程计划项目(2016KTCL03-14)

**[第一作者]** 田欢,在读硕士,从事中药新制剂与新剂型研究,E-mail:18149412681@163.com

**[通信作者]** \*赵锋,主任中药师,硕士生导师,从事中药新制剂与新剂型研究,E-mail:zlf6369@126.com

the basis for the follow-up clinical application of ASD.

[ **Key words** ] Asperosaponin VI; Akebia saponin D; extraction and separation; determination; pharmacological action; non-clinical pharmacokinetics; Dipsaci Radix

川续断始载于《神农本草经》，为川续断科植物川续断 *Dipsacus asper* 的干燥根，在我国有着悠久的药用历史，因能“续折接骨”而得名，具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏、安胎等功效，临床上主要用于治疗腰膝酸软、骨折、跌打损伤、崩漏、胎漏、胎动不安等证<sup>[1]</sup>。川续断皂苷 VI (ASD) 是川续断中一种极具药用价值的三萜皂苷类化合物，前期研究表明其具有神经保护、心肌保护、抗骨质疏松、保肝降脂等药理作用<sup>[2]</sup>，尤其是抗骨质疏松作用较好，与功效中的补肝肾、强筋骨、续折伤相吻合。

近年来研究发现，ASD 可以激活原代蜕膜细胞和海拉细胞 (HeLa) 中的孕激素受体 (PR) 启动子，增加孕激素受体的表达，激活下游 Notch 信号通路，从而预防流产，为川续断治疗胎漏和胎动不安提供了实验依据<sup>[3]</sup>；同时，ASD 能够依赖于丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)，骨形态发生蛋白-2 (BMP-2)，Smad, Runt 相关转录因子 2 (RUNX2)、磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 等多种信号通路保护骨组织<sup>[4]</sup>，通过线粒体自噬调节保护肝脏<sup>[5]</sup>，通过下调 ECE2 基因和  $\alpha 2$ -巨球蛋白基因 (A2M) (A2M) 基因的相对表达量来发挥神经保护作用<sup>[6]</sup>。本文在查阅前期研究文献的基础上，进一步总结 ASD 的提取分离技术、含量测定及非临床药代动力学等方面内容，为 ASD 的深入开发与应用提供参考。

### 1 ASD 的理化性质

ASD 又称木通皂苷 D，属于齐墩果烷型五环三萜皂苷，常温下为白色结晶，溶于甲醇，熔点 210 ~ 213 °C，分子式  $C_{47}H_{76}O_{18}$ ，相对分子质量 929.107，结构式见图 1<sup>[7]</sup>。

### 2 ASD 的提取与分离

川续断主要含有三萜皂苷类、环烯醚萜类、生物碱类、挥发油及其他类化合物<sup>[8]</sup>。其中三萜皂苷类是川续断中的主要化学成分，且 ASD 为三萜皂苷类中含量最高的成分<sup>[9]</sup>。张永文等<sup>[10]</sup>从川续断根中分离出了 6 个化合物，其中 ASD 是首次被发现，并依据光谱分析和化学方法确定了其结构。

ASD 的提取方法通常有回流法和超声法<sup>[11]</sup>。常用的提取溶剂为甲醇、乙醇、水和正丁醇，其中 70% 乙醇回流提取较为常见<sup>[12]</sup>。分离纯化常用大

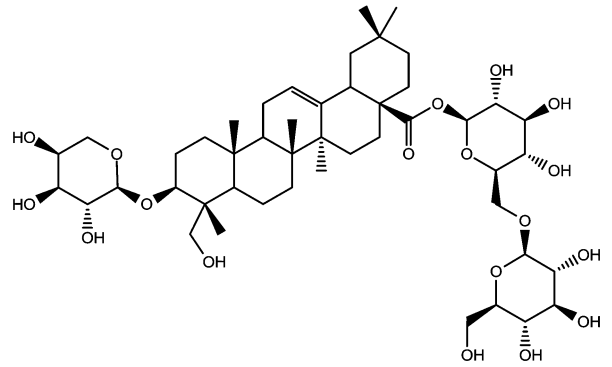


图 1 川续断皂苷 VI 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of asperosaponin VI

孔吸附树脂、硅胶柱色谱和反相硅胶色谱等方法。吴帅等<sup>[13]</sup>取川续断粗粉 7.0 kg，加 70% 乙醇提取，乙酸乙酯萃取，水溶液经 D101 型大孔树脂柱，用不同体积分数乙醇梯度洗脱，80% 乙醇洗脱部位经硅胶柱色谱分离，以二氯甲烷-甲醇 (20:1 ~ 0:100) 梯度洗脱收集 63 个馏分，将其中某部分馏分再经反相硅胶色谱分离，以甲醇和水梯度洗脱得到 ASD 质量 204 mg；刘京晶<sup>[14]</sup>用类似方法从 4.2 kg 川续断药材中提取出 ASD 6 mg。WU 等<sup>[15]</sup>则开发了一种简单有效的 ASD 纯化方法，分别采用 HPD-722 型和 ADS-7 型大孔吸附树脂纯化，使 ASD 的纯度从 6.27% 提高至 59.41%，再至 95.05%。

### 3 ASD 的含量测定

2015 年版《中国药典》规定，采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定续断中 ASD 含量不得低于 2.0%；川续断产于四川、湖北、云南、贵州等地，不同主产地川续断中 ASD 含量差别明显，卫莹芳等<sup>[16]</sup>采用 HPLC 测定中国 9 省 14 个不同产地川续断中 ASD 的质量分数处于 0.51% ~ 10.14%，其中以云南鹤庆县样品中为最高，四川、湖北样品中较高；刘京晶等<sup>[17]</sup>采用亲水柱-高效液相色谱法 (HILIC-HPLC) 测定中国 4 省 11 个不同产地续断中 ASD 的质量分数处于 0.77% ~ 14.31%，其中云南最高，其次为四川、湖北、贵州含量最低；王玲等<sup>[18]</sup>采用 RP-HPLC 测定中国 4 省 13 个产地续断中 ASD 质量分数处于 0.46% ~ 14.48%，其中主要测定了贵州、四川药材中 ASD 的含量，结果发现贵州遵义样品中 ASD 质量分数达 14.48%，四川盐源县样品中 ASD 质量分数较高，达 12.48%。

续断传统多采用“发汗”的加工方式,杜伟锋等<sup>[19]</sup>采用 HPLC-ESI-MS 比较了续断发汗前后各成分含量的变化,发现“发汗”后 ASD 含量增加,与传统炮制理论相符。续断临床上多采用酒炙和盐炙,酒炙能够增强通血脉之功,盐炙能够增强入肾之功,有研究表明 2 种炮制方法均能提高 ASD 的含量,且酒炙较盐炙提高更多<sup>[20]</sup>,证明了传统炮制方法的合理性。谭伯森等<sup>[21]</sup>研究了不同灭菌法对续断中 ASD 含量的影响,发现传统的水洗方法对续断中 ASD 含量影响最大,损失量 8.2%,而<sup>60</sup>Co- $\gamma$  辐射后 ASD 含量损失最小,仅 2.1%,但并无显著差异,相比较而言,辐照灭菌法更好。徐国防等<sup>[22]</sup>研究了 ASD 在不同 pH 和温度下的稳定性,发现其中性和弱酸性条件下稳定,但稳定性随温度的升高而降低。

#### 4 ASD 的药理作用

**4.1 促进孕酮受体的表达作用** 川续断作为治疗妇女复发性自然流产(RSA)的首选药物,与其促进孕酮受体的表达作用密切相关。复发性自然流产是一种常见的临床症状,其发病机制复杂,怀孕早期蜕膜坏死的血液中孕酮水平下降是导致流产的原因之一。正常情况下,孕激素(P)通过激活其受体(PR)在妊娠维持中起关键作用,Notch 信号又在蜕膜、妊娠期胎盘发育中起关键作用,在小鼠中,Notch 信号传导是雌激素受体(ER)和 PR 诱导子宫功能所必需的。GAO 等<sup>[3]</sup>首先用噻唑蓝法(MTT)测定蜕膜细胞和海拉细胞系中 ASD 的安全质量浓度为 0.5 ~ 20 mg·L<sup>-1</sup>,然后通过双荧光素酶报告基因和蛋白质印迹法发现,ASD 可以激活原代蜕膜细胞和海拉细胞中的 PR 启动子,增加 PR 表达,激活下游 Notch 信号通路,并诱导蜕膜化使受精卵更好地植入,从而有助于维持怀孕。

**4.2 骨组织的保护作用** 骨质疏松症(OP)的发病机制复杂,其病理特征在于骨量低,骨强度受损<sup>[23]</sup>,骨重建速率高,具有比骨形成更高的骨吸收速率。在老化人群中,骨髓基质干细胞的成骨分化减少,导致骨形成显著减少。KE 等<sup>[4]</sup>采用卵巢切除大鼠的骨髓间充质干细胞(OVX rBMSC),使用 CCK-8 试剂盒测定 ASD 浓度,结果发现当其浓度处于 5 ~ 10 mol·L<sup>-1</sup>时,能够增强 OVX rBMSCs 的碱性磷酸酶(ALP)活性,促进成骨基因 ALP,骨钙素(OCN), I 型胶原蛋白(COL1)和 RUNX2 的表达,其作用依赖于 PI3K/Akt 信号通路。研究还发现,ASD 在体外促进大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)向成骨细胞

分化,此作用与 MAPK 途径的 p38 MAPK 和细胞外信号调节激酶(ERK)蛋白有关<sup>[24-25]</sup>。ASD 可促进小鼠胚胎成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1)和原代成骨细胞的增殖、分化,通过增强成骨细胞 ALP 活性,增加骨形态发生蛋白-2(BMP-2)的合成,激活 p38 和 ERK1/2 以增加骨形成<sup>[26-27]</sup>。王媛<sup>[28]</sup>对大鼠正畸牙齿腭侧黏骨膜下局部注射 ASD 发现,其能增加牙周组织破骨细胞的数量,加快骨改建速度,从而增加牙齿移动距离,且能增强牙周组织中破骨细胞分化因子(ODF)的表达,加快了正畸牙齿的移动速度。王长梅等<sup>[29]</sup>采用泼尼松龙诱导的斑马鱼幼鱼骨质疏松模型,发现当 ASD 浓度为 0.008, 0.04, 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,矿化面积和累积光密度(IOD)均显著增加,且呈剂量依赖性,表明 ASD 可防止并阻止斑马鱼骨量的丢失。大量研究表明 ASD 可以通过多靶点发挥抗 OP 的作用,为临床治疗 OP 提供新思路。

**4.3 肝脏的保护作用** 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的病因、病机复杂,目前广为接受的是二次打击说。李超等<sup>[30]</sup>发现 ASD 对四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导的小鼠急性肝损伤有保护作用。另有研究发现 ASD 可改善线粒体呼吸功能障碍,增加抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)的表达,抑制促凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)表达,进而抑制鱼藤酮诱导的大鼠肝细胞(BRL)凋亡,表明 ASD 可能通过线粒体发挥肝保护作用;研究还发现在瘦素缺乏的 ob/ob 小鼠中,ASD 通过降低自噬体的微管相关蛋白 1 轻链 3-II(LC3-II)表达和 p62 蛋白积累来激活自噬通量,显著降低 ob/ob 小鼠肝脏脂肪变性和肝细胞凋亡,表明 ASD 可能通过自噬调节来保护肝脏<sup>[31-33]</sup>。陈小宇等<sup>[34]</sup>和路敏<sup>[35]</sup>研究发现 ASD 能够促进小鼠胚胎成纤维细胞(3T3-L1)的增殖,且可通过下调过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )和 CCAAT 增强子结合蛋白(C/EBP) $\alpha$  基因来抑制 3T3-L1 细胞成脂分化。以上相关研究为 NAFLD 的治疗提供了新策略。

**4.4 神经的保护作用** 阿尔茨海默病(AD)是一种老年痴呆,其主要存在 2 种标志性病变,一是神经原纤维缠结的形成,二是老年或神经炎斑块的存在。 $\beta$  淀粉样蛋白(A $\beta$ )在脑内过量沉积可导致神经纤维缠结,引起 AD<sup>[36]</sup>。ZHOU 等<sup>[37]</sup>采用  $\beta$ <sup>25-35</sup> 诱导的 PC12 细胞损伤评估其细胞保护作用,当 ASD 质量浓度为 100 mg·L<sup>-1</sup> 时,细胞存活率增加 30%,其主要通过抑制 Ca<sup>2+</sup> 过量流入、乳酸脱氢酶(LDH)额

外释放来防止细胞活力丧失和细胞凋亡。还有研究表明 ASD 通过下调 ECE2 基因和 A2M 基因的相对表达量来修复  $A\beta^{25-35}$  诱导的 PC12 细胞损伤<sup>[6]</sup>。YU 等<sup>[38]</sup>对  $A\beta^{1-42}$  诱导的学习和记忆障碍大鼠分别按剂量 30, 90, 270  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  给予 ASD, 连续 4 周, 其认知障碍有明显改善, 其通过抑制  $A\beta$  诱导的星形胶质细胞和小胶质细胞的激活, 减少胶质细胞释放细胞因子和炎症因子, 抑制炎症反应的发生, 从而有效降低了 AD 的发病。在 AD 中, 胆碱能缺乏是最重要的症状之一, YU 等<sup>[39]</sup>使用鹅膏蕈氨酸 (IBO) 损害模型, 发现口服 ASD ( $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 可对胆碱能功能产生补救作用, 显著提高胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 活性及学习、记忆能力, 而且其神经保护作用可能通过 MAPK 信号通路来调节。

**4.5 心肌的保护作用** LI 等<sup>[40]</sup>研究发现, 经 ASD 治疗后可显著减弱 LDH 和肌酸磷酸激酶 (CK) 活性, 并以剂量依赖的方式增强缺氧诱导心肌细胞的活力, 且证明 ASD 可能通过激活 PI3K/Akt 和环磷酸腺苷反应结合蛋白 (CREB) 通路对缺氧诱导的心肌细胞凋亡起保护作用。LI 等<sup>[41]</sup>采用冠状动脉闭塞诱发的心肌缺血 (MI) 损伤动物模型, 尾静脉注射 ASD ( $10, 20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 后能够显著降低血清中肌钙蛋白 T (cTnT) 水平; 体外培养的新生大鼠心肌细胞用 ASD ( $30, 60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 进行预处理后可增加细胞活力, 同时研究发现 ASD 可增强心肌细胞中过氧化氢酶, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性, 降低心肌细胞丙二醛 (MDA) 水平, 以发挥心肌保护作用。LI 等<sup>[42]</sup>研究发现, 长期口服 ASD ( $80, 160\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 可明显改善 MI 损伤和心肌纤维化的发展, 其机制与减少氧化应激和调节炎症介质有关。

**4.6 其他药理作用** 路敏<sup>[35]</sup>发现 ASD 可减轻致炎症因子的分泌, 降低炎症反应的发生, Suh 等<sup>[43]</sup>发现 ASD 有明显的镇痛作用。相关文献表明 ASD 对人白血病细胞 U937 和人早幼粒白血病细胞 (HL-60) 具有增殖抑制和诱导凋亡的作用<sup>[44-45]</sup>。还有研究表明 ASD 可能有抗皮肤衰老的作用, 其机制与抗氧化损伤有关<sup>[46]</sup>。

## 5 ASD 的非临床药代动力学研究

**5.1 样品预处理方法** 目前, 生物样品预处理方法主要包括蛋白沉淀法、液-液萃取法和固相萃取法, 蛋白沉淀法较其他二者具有简便、省时、成本低的优势, ASD 的生物样品多采用该方法处理。LI 等<sup>[47]</sup>采用甲醇沉淀蛋白, 从血浆中提取 ASD, 质控样品

的提取回收率分别达到 92.3%, 90.7%, 93.0%, 92.5%; 徐国防等<sup>[22]</sup>和宫灿仪等<sup>[48]</sup>经稳定性试验考察发现 ASD 在弱酸性溶液中较稳定, 实验中在沉淀蛋白时加入了少量甲酸, 峰形比未加甲酸的好。LIU 等<sup>[49]</sup>采用蛋白沉淀法, 同时对甲醇、乙醇、乙腈以及加入甲酸、乙酸和高氯酸的沉淀效果进行比较, 发现甲醇中加入一定量乙酸后回收率较高。

**5.2 分析检测方法** ASD 是典型的具有生物活性的三萜皂苷类成分, 其生物利用度不佳, 口服后在血浆、组织中含量特别低。LC-MS 技术以其检测灵敏度高、特异性强、分析速度快, 且能够提供结构碎片信息等优势, 成为 ASD 生物样品的主要检测手段。LI 等<sup>[47]</sup>以氯沙坦为内标, 利用 HPLC-ESI-MS 测定 ASD 血药浓度, 采用正离子扫描模式, 结果 ASD 在  $3\sim 1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  线性关系良好, 定量下限 (LLOQ) 为  $3\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 方法学考察符合要求; ZHANG 等<sup>[50]</sup>则以甘草次酸为内标, 采用 LC-MS/MS 测定 ASD 在主要组织脏器中的浓度, 以多反应离子监测 (MRM) 模式进行扫描, 负离子检测, 得到 ASD 的 LLOQ 处于  $2\sim 6\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 极大地提高了检测灵敏度。

**5.3 药动学参数** 目前, 关于 ASD 的药动学研究主要是通过 SD 大鼠、比格犬等。LI 等<sup>[47]</sup>按剂量  $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  给 SD 大鼠灌胃 ASD, 结果 ASD 的达峰时间 ( $T_{\text{max}}$ ) 1.2 h, 药峰浓度 ( $C_{\text{max}}$ )  $306.5\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 药时曲线下面积  $AUC_{0\sim t}$  和  $AUC_{0\sim\infty}$  分别为  $(52.2\pm 27.4)$ ,  $(53.1\pm 27.8)\text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Shakya 等<sup>[51]</sup>主要研究了 ASD 在比格犬中的药动学参数, 按  $0.03\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  剂量灌胃给药, ASD 在比格犬血浆中的  $T_{\text{max}}$  和  $C_{\text{max}}$  分别计算为  $(4.0\pm 1.4)\text{ h}$ ,  $(96.88\pm 44.42)\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 半衰期 ( $t_{1/2}$ )  $(3.0\pm 0.9)\text{ h}$ ,  $AUC_{0\sim 24\text{ h}}$  和  $AUC_{0\sim\infty}$  分别计算为  $(737.4\pm 371.8)$ ,  $(747.9\pm 363.3)\ \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 。药物在 2 种动物血浆中均存在明显的双峰现象, 提示药物的吸收可能存在肠肝循环, 同时 pH, 胆汁浓度的区域特异性, 以及胃排空和药物与药物之间的相互作用也会造成影响; 刘瑞娟等<sup>[52]</sup>则建立了 LC-MS/MS, 以 3 个剂量 ( $0.03, 0.09, 0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 单次灌胃给予 ASD, 计算其药动学参数, 发现 ASD 在大鼠体内的药动学特征不存在性别差异; 按剂量  $0.09\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  连续灌胃给药 7 d, 发现多次灌胃 ASD 后, 其在大鼠体内无蓄积产生, 没有影响其在大鼠体内的药动学特征; 通过血浆蛋白结合率实验, 结果 ASD 的平均血浆蛋白结合率 92.9%, 结合率较高, 而游离药物较少。

**5.4 吸收** ASD 的口服生物利用度非常低, 限制

了其在临床上的应用;ZHOU 等<sup>[53]</sup>通过体外翻转肠囊模型和原位肠道灌注模型研究 ASD 的口服吸收特性,结果表明小肠是其吸收的主要部位;并且发现吸收促进剂冰片能够显著增加 ASD 在小肠的吸收,多重耐药蛋白(MRPs)抑制剂丙磺舒能够显著增加药物在小肠的吸收,表明 ASD 可能是 MRPs 的底物;因此,其口服生物利用度不佳不仅仅是药物的膜透过性差,同时与 MRPs 转运蛋白的外排作用有关。

吴诚等<sup>[54-55]</sup>建立 LC-MS/MS 检测血浆中 ASD 的含量,分别按剂量  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  静脉注射和灌胃给予 ASD 测定其绝对生物利用度,结果显示口服生物利用度约 0.13%;在此基础上,吴诚等<sup>[56]</sup>考察了 3 种碳链长度的中链脂肪酸( $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )对 ASD 口服吸收的影响,前 1.5 h 平均血药浓度均高于空白组,且辛酸钠 > 月桂酸钠 > 癸酸钠,还考察了不同剂量癸酸钠(0, 200, 1 000  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )对 ASD 口服吸收的影响,发现 ASD 血药浓度随癸酸钠剂量的增加明显提高,癸酸钠高剂量组 1.5 h 时血药浓度较中剂量组提高了 15.1 倍。WANG 等<sup>[57]</sup>通过反溶剂沉淀法制备了 ASD 微晶制剂,建立 HPLC-ESI-MS 测定 ASD 微晶制剂( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )的药动学参数,发现其能够明显提高 ASD 的生物利用度;SHEN 等<sup>[58]</sup>采用溶剂蒸发法制备了 ASD 磷脂复合物(APC),在此基础上制备出 APC-自微乳释药系统(APC-SNEDDS),通过 HPLC-MS/MS 技术测定大鼠灌胃给药( $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ASD, APC, APC-SNEDDS 后的药动学参数和相对生物利用度,结果表明与 ASD 组比较,APC-SNEDDS 相对生物利用度达到 431.8%,说明 SNEDDS 能够极大提高 ASD 的口服生物利用度。TAO 等<sup>[59-61]</sup>以 ASD 为指标性成分之一,比较了未经加工和酒制后川续断在大鼠体内的生物利用度,发现与未加工组相比,酒制组大鼠肝脏和肾脏中 ASD 的  $C_{\max}$  和  $AUC_{0-t}$  均显著升高,其在肝脏和肾脏中的积累增加与中药炮制理论相吻合。

**5.5 分布特征** ASD 的组织分布广泛。ZHANG 等<sup>[50]</sup>采用 HPLC-MS/MS,以  $270 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的剂量灌胃给药,测定 ASD 在心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、大肠、小肠、睾丸、卵巢、脂肪、肌肉组织中的浓度,结果表明 ASD 灌胃 20 min 后在胃、小肠、肺、卵巢、肌肉和脾脏中浓度最高;灌胃 8 h 后在大肠、脂肪、肝脏和脑组织中浓度最高;灌胃 15 h 后在心和睾丸组织中浓度最高;ASD 在肾脏中未检测到,提示肾脏不是其主要排泄途径,少部分的 ASD 能够透过血脑屏障,为其治疗 AD 提供了物质依据,双峰现象同样

存在于 ASD 的组织分布中,需进一步深入研究。

**5.6 代谢** ASD 体内代谢部位广泛,在血浆、大肠、胆汁、尿液和粪便中均能检测到,主要通过水解途径代谢。ZHU 等<sup>[62]</sup>在大鼠血浆样品中检测出 ASD 的苷元常春藤皂苷元;LIU 等<sup>[49]</sup>进一步在大鼠血浆中检测出 2 种代谢产物,分别为威灵仙皂苷 A (3-O- $\alpha$ -L-吡喃阿拉伯糖基-常春藤皂苷元)和 HN saponin F (3-O- $\alpha$ -L-吡喃阿拉伯糖基-常春藤皂苷元-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酯苷);王磊等<sup>[63]</sup>也在大鼠的胆汁中检测到上述 3 种代谢产物,并发现 HN saponin F 是大鼠胆汁中的主要代谢产物;ZHANG 等<sup>[50]</sup>通过组织分布研究发现,尽管 ASD 能够在除肾脏外的大多数组织中检测到,但其活性代谢产物常春藤皂苷元仅能在胃、小肠和大肠中检测到,推测 ASD 主要被肠道菌群代谢后吸收进入血液;LI 等<sup>[64]</sup>研究了 ASD 在大鼠粪便中的代谢物,发现并初步鉴定出 5 种主要代谢物,分别为威灵仙皂苷 A, HN saponin F, 常春藤皂苷元-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、常春藤皂苷元-28-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酯苷及常春藤皂苷元;YAN 等<sup>[65]</sup>则进一步采用 UPLC-TQ/MS 技术同时测定了人肠道菌群中 ASD 的代谢产物,测得的 5 种脱糖基代谢产物同上,说明 ASD 在大鼠和人体肠道中的代谢路径一致,并测得 5 种代谢产物的总转化率达 41.21%,表明该反应中还有其他代谢物产生;在人体肠道菌群作用下,ASD 可能与羟基、羟甲基和乙酰基结合,同时,其还可以发生脱羟基、去甲基化以及脱羧甲基反应;此外,5 种代谢产物可能发生次级代谢。

近年来,模式斑马鱼模型被广泛用于药物的代谢研究。韦英杰等<sup>[66]</sup>首次在国内将该模型用于 ASD 的代谢研究,ASD 经斑马鱼作用后产生了 6 种代谢产物,包括与小鼠体内一致的 5 种脱糖基代谢产物(由肠道菌群介导)以及首次在胆汁中检测到的 ASD 羟基化产物(由肝脏的细胞色素 P450 酶系介导),为中药的代谢研究提供了一种新思路。鉴于以上的代谢研究,能够进一步解释 ASD 生物利用度低的原因。ASD 口服吸收入体内后,在肠道菌群和肝脏细胞色素 P450 酶系作用下导致原型药物发生脱糖基和羟基化等反应,产生了多种代谢产物,药物代谢可能是引起生物利用度不佳的原因之一,ASD 的部分代谢路径见图 2。

**5.7 排泄** ZHANG 等<sup>[50]</sup>以  $270 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的剂量灌胃给予 ASD,结果在肾脏中未测到 ASD,表明肾脏不是其主要排泄途径;王磊等<sup>[63]</sup>对 ASD 在大鼠胆

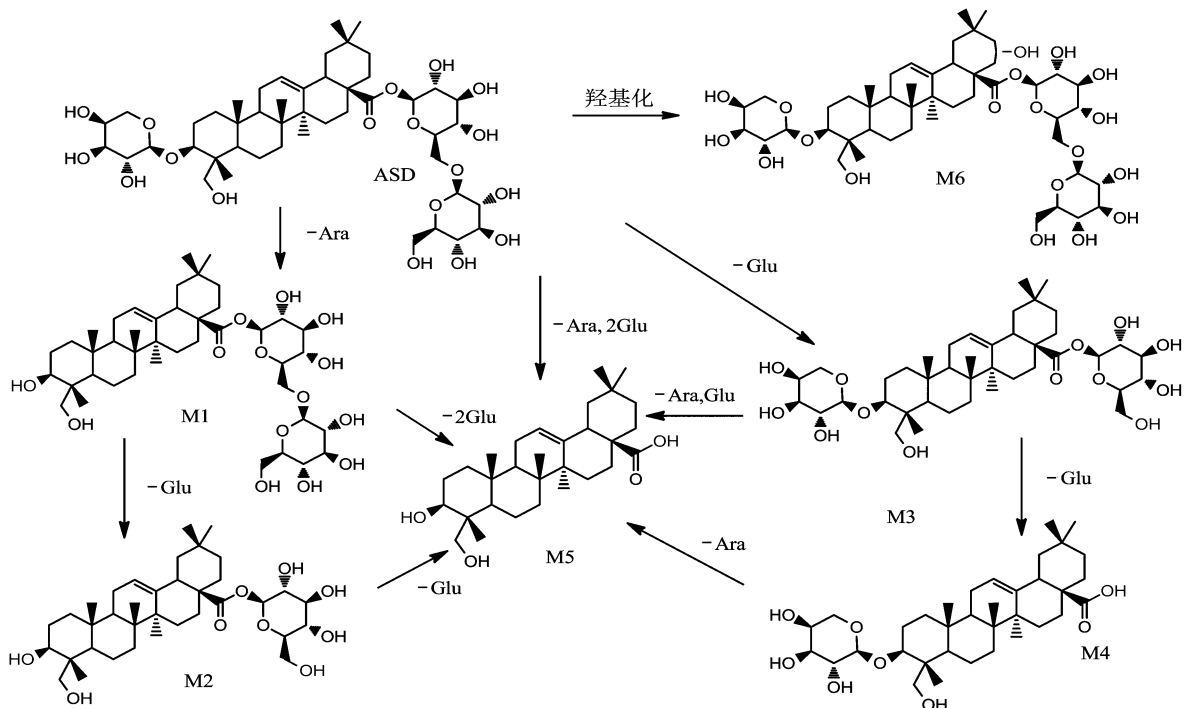


图2 川续断皂苷VI的部分代谢途径

Fig.2 Partial metabolic pathways of asperosaponin VI

汁内的排泄进行了研究,按  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的剂量口服灌胃 ASD,24 h 内 ASD 的累计排泄量  $5.846 \mu\text{g}$ 。

## 6 结语

综上所述,川续断在我国四川、湖北、云南、贵州等地分布广泛,有丰富的药材资源,ASD 作为川续断的主要活性成分之一,其中云南和道地产地四川含量普遍较高,但提取率较低,后期可应用一些新技术如微波萃取技术、组织破碎提取技术等进行优化,以期提高其产率。同时研究发现川续断经“发汗”、酒炙、盐炙后 ASD 含量均有所提高,这与传统的炮制理论相符合,且现代灭菌方法、中性及弱酸性环境以及合适的温度都可以适当减少 ASD 的损失,为川续断现代炮制方法研究提供新思路。现代药理研究表明 ASD 具有促进孕酮受体表达,保护骨组织、肝脏、神经、心肌细胞,抗炎,镇痛,抗肿瘤,抗皮肤衰老等活性,可多靶点发挥药效,ASD 的神经保护、心肌保护、保肝降脂作用均与抑制正常细胞凋亡有关,又可促进肿瘤细胞的凋亡,其促进孕酮受体表达作用机制是近期新的发现,与川续断传统功效止崩漏、安胎作用相吻合,ASD 的药理作用机制已研究到分子、基因水平,但还未完全阐明,需进一步深入探索。虽然 ASD 药理作用广泛,但生物利用度不佳限制了其发展,其口服利用度不佳与膜通透性差,MRPs 转运蛋白的外排作用以及肠道菌群、肝脏细胞色素

P450 酶系导致的药物代谢相关。后续可将其开发为纳米制剂或缓控释制剂,以期更好地发挥疗效,针对 ASD 口服生物利用度不佳,还可通过 Caco-2 细胞模型对其跨膜转运机制、药物相互作用等方面作进一步研究。本文是在前人总结 ASD 药理作用的基础上,进一步对 ASD 提取纯化、含量测定、药理作用以及非临床药代动力学等方面进行整理和归纳,但仍然存在很多不足,如未对含川续断的中药复方及其制剂中 ASD 的含量、代谢情况进行分析。随着 ASD 研究的不断深入,必将为其临床应用提供更好的理论依据。

## [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:329-330.
- [2] 李广润,宫丽丽,吕亚丽,等. 川续断皂苷VI药理作用研究进展[J]. 中国新药与临床杂志,2014,33(7): 477-480.
- [3] GAO J, ZHOU C, LI Y D, et al. Asperosaponin VI promotes progesterone receptor expression in decidual cells via the notch signaling pathway[J]. Fitoterapia, 2016,113:58-63.
- [4] KE K, LI Q, YANG X F, et al. Asperosaponin VI promotes bone marrow stromal cell osteogenic differentiation through the PI3K/AKT signaling pathway

- in an osteoporosis model [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep35233.
- [5] 李广润. 川续断皂苷VI治疗非酒精性脂肪性肝炎及其机制研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [6] 陈勇德, 章斌, 刘志国, 等. 木通皂苷D对A $\beta$ 诱导损伤的PC12细胞修复作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(16): 1304-1307.
- [7] JI D, LIU Y F, WANG Q H, et al. Isolation, structure characterization and quantification of related impurities in asperosaponin VI [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(4): 419-426.
- [8] 朱净民. 川续断的化学成分和质量标准研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [9] 韦英杰, 彭英, 陈宁, 等. 续断皂苷活性成分的综合评价研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2009, 36(5): 800-802.
- [10] 张永文, 薛智. 川续断的化学成分研究[J]. *药学学报*, 1991, 26(9): 676-681.
- [11] 朱海琳, 程宁波, 孟兆青, 等. 正交试验优选续断的水提工艺[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(17): 31-33.
- [12] 董玉琼, 何晓红, 钟国跃, 等. 正交法优选川续断的提取工艺[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(11): 1107-1109.
- [13] 吴帅, 刘二伟, 张祎, 等. 川续断中化学成分的研究[J]. *天津中医药大学学报*, 2010, 29(3): 147-150.
- [14] 刘京晶. 续断生药学研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2011.
- [15] WU Y, JI D, LIU Y F, et al. Industrial-scale preparation of akebia saponin D by a two-step macroporous resin column separation [J]. *Molecules*, 2012, 17(7): 7798-7809.
- [16] 卫莹芳, 刘永, 谢达温, 等. 不同产地续断的质量比较[J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(2): 173-174.
- [17] 刘京晶, 郭宝林, 黄文华, 等. HILIC-HPLC测续断药材中多种皂苷含量[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(17): 2367-2371.
- [18] 王玲, 曹淼, 常子倩, 等. 高效液相色谱法测定不同产地续断药材中木通皂苷D的含量[J]. *武警后勤学院学报: 医学版*, 2013, 22(11): 985-987.
- [19] 杜伟锋, 贾永强, 姜东京, 等. 基于HPLC-ESI-MS法续断发汗前后的成分分析[J]. *中草药*, 2014, 45(22): 3251-3255.
- [20] 张丹, 曹纬国, 陶燕铎. 不同炮制方法对续断中总皂苷和川续断皂苷VI含量的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(7): 1054-1057.
- [21] 谭伯森, 李惠琴, 黄凤婷. 不同灭菌法对续断中川续断皂苷VI含量的影响[J]. *现代医院*, 2012, 12(4): 72-73.
- [22] 徐国防, 李爽, 刘长纓, 等. 木通皂苷D在不同pH值和温度下的稳定性[J]. *中国医药科学*, 2012, 2(6): 74-75.
- [23] 李媚, 袁婷婷, 何勇静, 等. 中药方剂防治骨质疏松症的研究概况[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(6): 233-238.
- [24] NIU Y B, LI Y H, HUANG H T, et al. Asperosaponin VI, a saponin component from *Dipsacus asper* Wall, induces osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein-2/p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(11): 1700-1706.
- [25] 柯可. 淫羊藿苷、柚皮苷及川续断皂苷VI体外促成骨效应的比较研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [26] 李家, 苏俭生. 川续断皂苷VI的制备及对小鼠骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞的影响[C]//中华口腔医学学会口腔修复学专业委员会. 第八次全国口腔修复学学术年会论文汇编: 2014年卷. 北京: 中国学术期刊(光盘版)电子杂志社, 2014: 1.
- [27] 张云辉, 刘成成, 祝爱珍, 等. 木通皂苷D通过丝裂原活化蛋白激酶信号通路促进大鼠骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(8): 1455-1460.
- [28] 王媛. 局部注射木通皂苷D对大鼠正畸牙周组织改建的影响[D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [29] 王长梅, 景莉君, 韦英杰, 等. 利用斑马鱼模型评价川续断皂苷V和VI的抗骨质疏松活性[J]. *中国药科大学学报*, 2014, 45(1): 88-91.
- [30] 李超, 张晓菲, 吕亚丽, 等. 木通皂苷D对CCl<sub>4</sub>致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. *华西药学杂志*, 2012, 27(3): 257-259.
- [31] GONG L L, WANG Z H, LI G R, et al. Protective effects of Akebia saponin D against rotenone-induced hepatic mitochondria dysfunction [J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 126(3): 243-252.
- [32] 刘星, 李啸红, 陈阳, 等. 续断水提液对小鼠急性毒性和遗传毒性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(5): 160-165.
- [33] GONG L L, LI G R, ZHANG W, et al. Akebia saponin D decreases hepatic steatosis through autophagy modulation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 359(3): 392-400.
- [34] 陈小宇, 祝爱珍, 刘成成, 等. 川续断皂苷VI对3T3-L1细胞的增殖和分化影响[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(8): 1150-1154.
- [35] 路敏. 川续断皂苷VI改善胰岛素抵抗作用与机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [36] Shoji M, Golde T E, Ghiso J. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing [J]. *Science*, 1992, 258(5079): 126-129.
- [37] ZHOU Y Q, YANG Z L, XU L, et al. Akebia saponin D, a saponin component from *Dipsacus asper* Wall, protects

- PC 12 cells against amyloid-beta induced cytotoxicity [J]. Cell Biol Int, 2009, 33(10): 1102-1110.
- [38] YU X, WANG L N, DU Q M, et al. Akebia Saponin D attenuates amyloid beta-induced cognitive deficits and inflammatory response in rats; involvement of Akt/NF- $\kappa$ B pathway [J]. Behav Brain Res, 2012, 235 (2): 200-209.
- [39] YU X, WANG L N, MA L, et al. Akebia saponin D attenuates ibotenic acid-induced cognitive deficits and pro-apoptotic response in rats; involvement of MAPK signal pathway [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2012, 101(3): 479-486.
- [40] LI C M, TIAN J W, LI G S, et al. Asperosaponin VI protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis *via* activation of the PI3K/Akt and CREB pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 649 (1/3): 100-107.
- [41] LI C M, LIU Z F, TIAN J W, et al. Protective roles of Asperosaponin VI, a triterpene saponin isolated from *Dipsacus asper* Wall on acute myocardial infarction in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 627(1/3): 235-241.
- [42] LI C M, GAO Y L, TIAN J W, et al. Long-term oral asperosaponin VI attenuates cardiac dysfunction, myocardial fibrosis in a rat model of chronic myocardial infarction [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50 (5): 1432-1438.
- [43] Suh H W, SONG D K, Huh S O, et al. Antinociceptive mechanisms of dipsacus saponin C administered intrathecally in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 71 (1/2): 211-218.
- [44] Jeong S I, ZHOU B, Bae J B, et al. Apoptosis-inducing effect of akebia saponin D from the roots of *Dipsacus asper* Wall in U937 cells [J]. Arch Pharm Res, 2008, 31 (11): 1399-1404.
- [45] 周鹏, 马亮, 周珺, 等. 续断皂苷抗白血病作用的机制探讨 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(1): 84-88.
- [46] 李广润, 宫丽丽, 吕亚丽, 等. 川续断皂苷 VI 药理作用研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2014, 33(7): 477-480.
- [47] LI K, DING L, YANG Z L, et al. Determination of asperosaponin VI in rat plasma by HPLC-ESI-MS and its application to preliminary pharmacokinetic studies [J]. Biomed Chromatogr, 2010, 24(5): 550-555.
- [48] 宫灿仪, 萧伟, 王振中, 等. 木通皂苷 D 在大鼠胃肠道内容物中的稳定性考察 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39 (12): 2311-2313.
- [49] LIU E W, WANG J L, HAN L F, et al. Pharmacokinetics study of asperosaponin VI and its metabolites cauloside A, HN saponin F and hederagenin [J]. J Nat Med, 2014, 68(3): 488-497.
- [50] ZHANG R, ZHU H, DING L, et al. Determination of asperosaponin VI and its active metabolite hederagenin in rat tissues by LC-MS/MS: application to a tissue distribution study [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2014, 959: 22-26.
- [51] Shakya S, ZHU H, DING L, et al. Determination of asperosaponin VI in dog plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to a pilot pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr, 2012, 26(1): 109-114.
- [52] 刘瑞娟, 朱贺, 丁黎, 等. 川续断皂苷 VI 及其活性代谢物在大鼠体内的药代动力学研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2378-2383.
- [53] ZHOU Y, LI W, CHEN L, et al. Enhancement of intestinal absorption of akebia saponin D by borneol and probenecid *in situ* and *in vitro* [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2010, 29(3): 229-234.
- [54] 吴诚, 李鹏飞, 王燕, 等. 液相色谱-质谱联用法测定大鼠血浆中木通皂苷 D 的浓度 [J]. 国际药学研究杂志, 2012, 39(3): 261-264.
- [55] 吴诚, 马萍, 李鹏飞, 等. LC-MS/MS 法测定木通皂苷 D 大鼠灌胃给药的生物利用度 [J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2014, 50(1): 62-65.
- [56] 吴诚, 马萍, 王玲, 等. 中链脂肪酸对木通皂苷 D 大鼠经口吸收的影响 [J]. 国际药学研究杂志, 2013, 40 (5): 630-633.
- [57] WANG Q H, YANG X L, XIAO W, et al. Microcrystalline preparation of akebia saponin D for its bioavailability enhancement in rats [J]. Am J Chin Med, 2015, 43(3): 513-528.
- [58] SHEN J, BI J, TIAN H, et al. Preparation and evaluation of a self-nanoemulsifying drug delivery system loaded with Akebia saponin D-phospholipid complex [J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 4919-4929.
- [59] TAO Y, DU Y S, SU D D, et al. UHPLC-MS/MS quantification combined with chemometrics for the comparative analysis of different batches of raw and wine-processed *Dipsacus asper* [J]. J Sep Sci, 2017, 40 (8): 1686-1693.
- [60] TAO Y, DU Y, LI W D, et al. Integrating UHPLC-MS/MS quantification and DAS analysis to investigate the effects of wine-processing on the tissue distributions of bioactive constituents of herbs in rats; exemplarily shown for *Dipsacus asper* [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, doi: 10.1016/j.jchromb.2017.04.035.
- [61] TAO Y, REN Y C, LI W D, et al. Comparative pharmacokinetic analysis of extracts of crude and wine-

- processed *Dipsacus asper* in rats by a sensitive ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry approach [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2016.09.024.
- [62] ZHU H, DING L, Shakya S, et al. Simultaneous determination of asperosaponin VI and its active metabolite hederagenin in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with positive/negative ion-switching electrospray ionization and its application in pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011, 879 (30): 3407-3414.
- [63] 王磊,刘二伟,韩立峰.续断中有效成分木通皂苷 D 大鼠胆汁内排泄研究 [J]. *天津中医药*, 2013, 30 (11):681-684.
- [64] LI K, YANG X L, ZHANG C F, et al. Metabolites of asperosaponin VI in rats' feces by HPLC-MS<sup>n</sup> [J]. *Chin J Nat Med*, 2009, 7(6):440-443.
- [65] YAN L, YANG X L, MENG Z Q, et al. Simultaneous quantification of Akebia saponin D and its five metabolites in human intestinal bacteria using ultra-performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, doi: 10.1016/j.jchromb.2014.09.013.
- [66] 韦英杰,薛小露,刘炜,等.模式生物斑马鱼对川续断皂苷 VI 的代谢研究 [J]. *药学报*, 2013, 48(2): 281-285.
- [责任编辑 刘德文]