

川芎对豆腐果苷的促吸收与增效作用研究

苏柘僮¹, 徐佳丽¹, 刘英¹, 杨胜², 杨明^{1,3*}

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 成都医学院, 成都 610083;
3. 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] **目的:**对川芎对豆腐果苷的增效进行探索性研究。**方法:**采用大鼠离体外翻小肠吸收试验,于37℃恒温水浴中实验,以台试液为接收液,以累积渗透量为评价指标,考察川芎对豆腐果苷吸收情况的影响;采用硝酸甘油致大鼠偏头痛模型,以一次性sc硝酸甘油10 mg·kg⁻¹造模,以5-羟色胺(5-HT)、降钙素基因相关肽(CGRP)为评价指标,考察川芎对豆腐果苷药效的影响。**结果:**川芎可将豆腐果苷累积渗透量从53.72 μg提高至335.48 μg,可显著增加豆腐果苷的药效($P < 0.05$)。**结论:**川芎不仅对豆腐果苷起到吸收促进作用,还兼有增效的作用,显示了中药的“药辅合一”作用。

[关键词] 豆腐果苷;川芎;药辅合一

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0176-03

The Study on Promotion of Absorption and Synergistic Effect of Chuanxiong Rhizoma with Helicid

SU Zhe-tong¹, XU Jia-li¹, LIU Ying¹, YANG Sheng², YANG Ming^{1,3*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, (TCM), Chengdu 610075, China;

2. Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China; 3. Key Lab of Modern

Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study synergistic effect of Chuanxiong Rhizoma with helicid. **Method:** Using *in vitro* absorption model of rat, effects of Chuanxiong Rhizoma on absorption of helicid were observed and accumulation absorptive amount (Q) was calculated. Rat migraine model was induced by nitroglycerin, level of 5-HT and CGRP were measured. **Result:** Q value of helicid with rhizoma chuanxiong was enhanced from 53.72 μg to 335.48 μg, increased pharmacodynamic action ($P < 0.05$). **Conclusion:** Chuanxiong Rhizoma not only promote absorption of helicid, but increase pharmacodynamic action. Thus, the research result demonstrates the function of ‘unification of drug and adjuvant’.

[Key words] helicid; Chuanxiong Rhizoma; unification of drug and adjuvant

豆腐渣果的主要有效成分豆腐果苷作为安全有效的天然镇静催眠成分,在治疗偏头痛、失眠等方面疗效突出^[1]。但是,因豆腐果苷脂溶性差导致其口服生物利用度较低。查阅古今文献,豆腐果苷结构

和药理作用与天麻素类似^[2-3]。在古代,天麻常与川芎组成药对如大川芎方,以治疗偏头痛等疾病。川芎为血中之气药,上行头目,中开郁结,下行血海,乃治头痛及头风之要药。因此,利用川芎能“引药上达巅顶”的药性特点,依据大川芎方组成,拟以“豆腐渣果-川芎”为药对,对川芎对豆腐渣果的促进吸收、增效的作用进行探索性研究。

1 材料

1.1 仪器 日本岛津高效液相色谱仪(LC-10ATvp)输液泵,SPD-10Avp紫外检测器,CT-10ASvp柱温箱);酶标定量测定仪(VarioskanTM,购于美国

[收稿日期] 20110531(006)

[第一作者] 苏柘僮,博士,从事中药生产新技术和新剂型研究, Tel: 028-61800127, E-mail: 175415299@qq.com

[通讯作者] *杨明,教授,博士生导师,从事中药生产新技术和新剂型研究, Tel: 028-61800127

ThermoFisher 公司);高速冷冻离心机(Legend RT + 230V,购于美国 ThermoFisher 公司);电子分析天平(BP211D,购于德国赛多利斯公司);恒温磁力搅拌器(79HW-1,购于江苏金坛市金城国胜实验仪器厂)。

1.2 动物 SD 大鼠,雄性,180~220 g,清洁级,合格证号 SCXK(川)2004-15,购于四川省医学科学院实验动物研究所)。

1.3 药品与试剂 豆腐渣果、川芎(购于成都市荷花池药材市场);豆腐果苷对照品(批号 100385-200401,购于中国药品生物制品检定所)。大鼠降钙素基因相关肽(CGRP)试剂盒(购于南京建成生物工程研究所);大鼠 5-羟色胺(5-HT)试剂盒(购于南京建成生物工程研究所);考马斯亮蓝试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)乙腈(色谱纯,购于 Fisher 公司);水(重蒸水,自制);微孔滤头(0.45 μm ,购于 Millipore 公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 豆腐果苷含量测定方法建立

2.1.1 色谱条件^[4] 菲罗门 Luna-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-水-冰醋酸(8:91:1);流速 1.0 mL·min⁻¹;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长 270 nm;进样量 10 μL ;理论塔板数按照豆腐果苷计算不应低于 8000。

2.1.2 对照品溶液制备 取对照品适量,置 250 mL 量瓶中,加水约 250 mL,超声处理 5 min,取出,放冷至室温,加水至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 中含豆腐果苷 120.8 μg)。

2.1.3 线性与范围 取精密配制浓度为 120.8 mg·L⁻¹的对照品溶液,以上述色谱条件进样测定,以进样量(μg)为 X ,峰面积为 Y ,做线性回归,回归方程为: $Y = 3 \times 10^6 X + 15\ 283$,豆腐果苷在 0.003 1~1.208 0 μg 内线性关系良好($r = 0.999\ 8$)。

2.2 大鼠离体外翻小肠吸收试验

2.2.1 方法 实验前将大鼠禁食过夜(可自由饮水),断颈椎处死后,沿腹中线打开腹腔后,取出空肠,置于冰浴的台氏液中,通入氧气,去除肠系膜。用冰冷的台氏液清洗后,用小玻璃棒将肠段轻柔翻转,使肠黏膜面向外,浆膜侧向内,结扎肠肛侧端,将肠上端固定于取样口。用注射器从取样口处向肠内注满空白台氏液作为接收液,然后将其垂直放入供试液中,在试管中通入氧气,整个装置放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中进行实验。分别于 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 min, 从肠囊内取样 0.5 mL, 0.45 μm 的微孔滤膜过

滤,滤液冰浴保存,照上述方法进样测定,同时补充 0.5 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 空白台氏液于肠囊中。

2.2.2 评价指标 以累积渗透量、倍数为指标对各药物的吸收情况进行评价。

2.2.3 数据处理 $Q = V \cdot C_n + V_i \cdot \sum_{i=1}^{n-1} C_i$ 累积渗透量(Q)、倍数(R)采用以下公式计算:

$$Q = V \cdot C_n + V_i \cdot \sum_{i=1}^{n-1} C_i$$

(Q :时间 t 的累积渗透量; C_n : t 时间接收池中豆腐果苷浓度; V :接收池中溶液体积; V_i :取样体积; C_i : t 时间以前接收池中豆腐果苷浓度)

2.2.4 结果分析 由图 1 可知,在含豆腐果苷浓度相近条件下(8.54 mg·L⁻¹),豆腐果苷+川芎后大鼠离体外翻小肠吸收试验 60 min 的豆腐果苷累积渗透量由 53.72 μg 提高至 335.48 μg ,川芎可提高豆腐果苷累积渗透量 6.44 倍,说明豆腐果苷与川芎配伍后,其吸收显著提高。

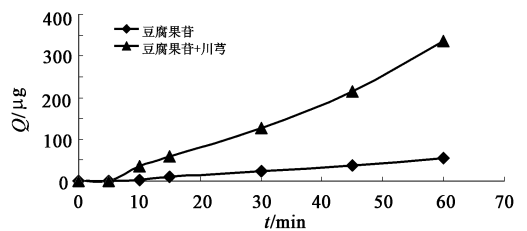


图 1 在含豆腐果苷 8.54 mg·L⁻¹条件下各药物组的累积渗透曲线

2.3 硝酸甘油致大鼠偏头痛试验

2.3.1 方法 本实验动物饲养于成都中医药大学药理实验动物观察室,于实验开始前适应环境 3 d,正常给予饮食和水。取雄性 SD 大鼠 50 只,分为空白组、模型组、豆腐果苷组、川芎组、豆腐果苷+川芎组,每组 10 只。空白组和模型组均给予等体积蒸馏水,豆腐果苷组给予豆腐果苷 60 mg·kg⁻¹,川芎组给予川芎提取液 14.3 g·kg⁻¹,豆腐果苷+川芎组给予豆腐果苷 60 mg·kg⁻¹和川芎提取液 14.3 g·kg⁻¹。于造模前预防 ig 给药 3 d,第 4 天除空白组 sc 等体积生理盐水外,其余各组按大鼠当日体重 sc 硝酸甘油注射剂 10 mg·kg⁻¹造模 1 次,sc 定位于右肩部皮下。造模后 3 min 左右,动物出现双耳发红、前肢频繁挠头、爬笼次数增多、烦躁不安等现象,此现象持续约 3 h,继而出现蜷卧,活动减少状态,表明偏头痛动物模型复制成功。造模 4 h 后,10% 的水合氯醛(3.5 mL·kg⁻¹) ip 麻醉,取出脑组织,操作时须在冰

台上进行,1 min 内取出全脑组织(剔除小脑),用冰冷的生理盐水冲洗,除去血迹,滤纸拭干,切取含中缝核、蓝斑的脑干及下丘脑部分,立即投入液氮中固化,备用;测定时制备脑组织匀浆,测定脑组织 5-羟色胺(5-HT)、降钙素基因相关肽(CGRP)的含量。

2.3.2 评价指标 以脑组织 5-HT、CGRP 的含量为指标,对各药物的药效进行评价。

2.3.3 数据处理 采用 SPSS 17.0 软件,统计检验用成组 *t* 检验和单因素 *F* 检验,检验水平 $\alpha = 0.05$ 。

2.3.4 结果分析 由 5-HT 和 CGRP 指标的各组数据分析可知,①空白组与模型组之间有显著性差异 ($P < 0.05$),说明动物模型造模成功。②豆腐果苷、豆腐果苷 + 川芎均与模型组之间有显著性差异 ($P < 0.05$),说明豆腐果苷、豆腐果苷 + 川芎均对硝酸甘油所致的偏头痛有良好治疗作用。此外,豆腐果苷 + 川芎效果优于单用豆腐果苷 ($P < 0.05$),揭示川芎可增加豆腐果苷的药效,然而单用川芎又无显著作用,说明可能与其促进豆腐果苷吸收有关。见表 1。

表 1 对硝酸甘油致大鼠偏头痛动物脑组织 5-HT、CGRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组名	剂量 /g·kg ⁻¹	5-HT /ng·g ⁻¹	CGRP /pg·g ⁻¹
空白	-	1 073.42 ± 52.31	381.24 ± 29.54
模型	-	678.16 ± 36.77	638.11 ± 39.33
豆腐果苷	0.06	1 042.37 ± 68.01 ¹⁾	483.10 ± 36.78 ¹⁾
川芎	14.3	747.54 ± 49.95	591.37 ± 47.02
豆腐果苷 + 川芎	0.06 + 14.3	1 296.27 ± 77.43 ²⁾	435.66 ± 71.87 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$;与豆腐果苷组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

从中医药角度讲,“药辅合一”是中药制剂辅料使用的特点,系指处方中的药味既发挥治疗作用,又起到药用辅料的作用,这些作用可以是简单的填充剂和崩解剂,也可以是在辅助提高药物疗效方面,如助溶剂、吸收促进剂等。简单“药辅合一”应用的例子,如浓缩丸和半浸膏片,一般不另加辅料,而是利用提取的浸膏作为黏合剂,原生药粉作填充剂和崩解剂^[5]。但是,关于“药辅合一”在辅助提高药物疗效方面的研究较少。

查阅古今文献,从广义上讲,中药制剂的“药辅合一”是由中药“配伍理论”发展而来,其实质符合中药配伍理论核心思想。中药配伍的内容可概括为简单与复杂两部分,所谓简单配伍,即常说的药对,

前人将这种用药规律高度概括于“七情”之中,即相须、相使等;所谓复杂配伍,即常说的药方,前人将这种用药规律高度概括为“君臣佐使”。因此,依据中医药配伍理论,选择具有代表性的药对,对“药辅合一”的科学内涵进行更加广泛的研究,填补中药制剂“药辅合一”研究的空白,具有非常强的理论意义^[6-10]。

由上述研究结果可知,川芎提取物能显著提高豆腐果苷吸收,能显著增加豆腐果苷的药效 ($P < 0.05$),揭示川芎不仅起到药味的治疗作用,分别还兼有辅料吸收促进剂和增效的作用,这一研究结果佐证了中药“药辅合一”的增效作用。

但是,中药配伍理论博大精深,“药辅合一”科学内涵还有待进一步扩展。本研究结果仅仅只揭开了其冰山一角,下一步有必要选择有代表性的经典复方进行相关研究,以丰富“药辅合一”的科学内涵,为中药配伍理论相关研究作出贡献。

[参考文献]

[1] 祝钱莉. 豆腐果苷的结构修饰及其镇静催眠活性研究[D]. 成都:四川大学,2006.

[2] 贾美艳,杨永红,刘君英,等. 豆腐果苷的研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2007,2(1):27.

[3] 刘桂艳,王钢力. 山龙眼属药用植物有效成分研究概况[J]. 中草药,2004,35(5):593.

[4] 刘清飞,叶磊,罗国安,等. HPLC 法测定豆腐果苷片中豆腐果苷的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(10):1392.

[5] 杨明. 中药药理学精编教材[M]. 上海:上海科技出版社,2008.

[6] 吴笛,刘法锦,廖彩震. 中药配伍对化学成分的影响[J]. 中成药,2003,25(2):153.

[7] 曹林林,孙月娥. 从中药化学成分探讨配伍变化在现代研究中的应用[J]. 陕西中医学院学报,2003,26(1):49.

[8] 史芳,李清,陈晓辉,等. 黄芩配伍知母后黄芩中主要黄酮类成分的含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):84.

[9] 尹爱武,高鹏飞,麻黎伟. 厚朴枳实配伍对大鼠胃动力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):175.

[10] 王术玲,姚玉铿,曾建波. 黄连-厚朴配伍比例对和厚朴酚、厚朴酚溶出的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):18.

[责任编辑 聂淑琴]