

·代谢·

当归芍药散配伍对主要成分体内吸收影响的研究

陈林霖, 戚进, 寇俊萍, 余伯阳, 朱丹妮*
(中国药科大学中药复方研究室, 南京 211198)

[摘要] **目的:**探讨当归芍药散配伍对主要入血成分药动学的影响规律。**方法:**将当归芍药散分为白芍组(S)、归-芍组(DC)、芍-归-芍组(SDC)和全方组(DSS)。大鼠分别灌胃各组提取物,采用 HPLC 测定血浆中芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸和藁本内酯的含量,计算并比较各组药动学参数。**结果:**归-芍组与白芍配伍后使芍药苷和芍药内酯苷出现了多重吸收的过程,全方组中多重吸收现象消失, T_{max} 和 MRT 缩短,AUC 降低。白芍与归-芍组配伍降低了阿魏酸的 C_{max} , T_{max} , MRT 和 AUC,全方组较芍-归-芍组除 AUC 提高外无明显区别。白芍降低了归-芍组藁本内酯 C_{max} 和 AUC,与芍-归-芍组相比,全方组的 MRT 缩短,AUC 增加。**结论:**方中臣药归-芍对君药白芍成分的影响体现在多重吸收的现象,君药对臣药成分的影响为显著降低血药浓度水平和生物利用度。佐使药对芍-归-芍组中君药成分影响较大,使其消除速度加快,生物利用度降低。

[关键词] 当归芍药散;配伍;药代动力学

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0121-04

Effects of Compatibility of Danggui-Shaoyao-San on Pharmacokinetics of Major Components in Rats

CHEN Lin-lin, QI Jin, KOU Jun-ping, YU Bo-yang, ZHU Dan-ni*
(Department of Complex Prescription of Traditional Chinese Medicines,
China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of compatibility of Danggui-Shaoyao-San (DSS) on the pharmacokinetics of its major components in rats. **Method:** The entire formula is divided into four groups: Paeoniae Radix Alba (S), Angelica Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma (DC), Paeoniae Radix Alba-Angelica Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma (SDC) and entire formula. The extract of each group was given to rats orally, and albiflorin, paeoniflorin, ferulic acid and ligustilide in rat plasma were determined by HPLC. **Result:** Combination of S and DC lead a multi-absorption process to albiflorin and paeoniflorin. In DSS their multi-absorption disappeared, with T_{max} , MRT and AUC decreased. Compatibility of S with DC reduced the C_{max} , T_{max} , MRT, and AUC of ferulic acid, while there was no significant differences in DSS expect an increased C_{max} as compared with SDC. Combination of S and DC sharply decreased C_{max} and AUC of ligustilide, while its MRT and AUC were increased in DSS. **Conclusion:** The main effect of DC to S was leading to a multi-absorption of albiflorin and paeoniflorin, which maintained a relatively high plasma level in longer time. Combination of S with DC greatly decreased plasma level and bioavailability of ferulic acid and ligustilide. Assistant and guide drugs mainly affect albiflorin and paeoniflorin in SDC, which accelerated their absorption and elimination rates, and lower their bioavailability.

[Key words] Danggui-Shaoyao-San; compatibility; pharmacokinetics

[收稿日期] 20111013(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873322);江苏高校优势学科建设工程项目

[通讯作者] *朱丹妮,教授,从事中药复方药效物质基础研究,Tel: 025-86185158,E-mail: danizhu@163.com

当归芍药散(DSS)出自《金匱要略》,由当归、芍药、川芎、茯苓、白术和泽泻 6 味中药组成,具有活血化瘀、健脾利湿的功效,在临床上主要用于治疗痛经和老年性痴呆。近年来对当归芍药散的药理作用进行了比较充分的研究,发现其具有调节内分泌、神经保护、改善微循环、免疫增强、镇痛和抗氧化等多种药理作用^[1]。在方剂学研究中,当归芍药散按功效可分为活血化瘀组(芍-归-芎,SDC)和健脾利湿组(苓-术-泽,FBZ),其中活血化瘀组又可分为君药白芍组(S)和臣药归-芎组(DC)。本课题组在对该方的药效学研究发现配伍组间存在显著的协同增效效应^[2-3]。为了探索复方配伍对成分吸收的协同作用,我们对该方的药效物质基础进行了深入研究^[4-5],结果表明来自芍药的芍药内酯苷(AF)和芍药苷(PF),以及当归和川芎中的阿魏酸(FA)和藁本内酯(LL)是其主要活性成分,与该方的活血化瘀功效有密切关系^[6-7]。这些成分在药材和复方中的药动学已有研究^[8-10],但配伍对它们的体内过程的作用少有报道。本文采用 HPLC 考察当归芍药散功能组配伍对 4 种成分在大鼠体内的药代动力学影响,为深入研究当归芍药散的配伍规律提供有价值的参考。

1 材料

1.1 仪器 Shimadzu LC-2010C 型高效液相色谱仪(包括在线脱气、四元泵、全自动进样器、柱温箱、SPD-M20A 型二极管阵列检测器及 LC-Solution 色谱工作站)1/10 万天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,上海,AE-240),Z323K 型高速冷冻离心机(Hermle, Germany),DC-12 型氮吹仪(上海安普仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂 对照品:芍药苷、阿魏酸、山柰酚(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110736-200629,110773-200912,110861-200808),芍药内酯苷和藁本内酯为本实验室分离制备,经 HPLC 检测纯度均 >98%。色谱纯乙腈(ROE, USA),超纯水(乐百氏),其他试剂均为分析纯。药材:当归、白芍、川芎、茯苓、白术和泽泻购自安徽丰源铜陵药材公司。

1.3 动物 清洁级 Sprague-Dawley 成年大鼠(220~250 g),24 只购自扬州大学比较医学中心,合格证号 SCXK(苏)2008-0001。

2 方法与结果

2.1 给药样品制备 按《金匱要略》比例称取当归、白芍、川芎、茯苓、白术和泽泻(0.75:4:2:1:1:2)加入 5 倍量 70% 乙醇热回流提取 2 次,每次 1 h,

合并提取液减压浓缩至无醇味,加水(含 1% 聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯)稀释配成混悬液(5 g 生药/mL),定容后密封,置 4 ℃ 冰箱中保存备用,给药时使其保持在 37 ℃。另按比例同法制备白芍、归-芎和芍-归-芎组提取物。依据文献[4]方法,测得 DSS 提取物中芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸和藁本内酯的含量分别为 9.96, 14.8, 1.26, 13.17 g·L⁻¹。

2.2 给药与血样采集 取 SD 大鼠 24 只,随机分为 4 组,每组 6 只。给药前禁食 12 h,自由饮水。给药组分别灌以各配伍组提取物,给药体积为 20 mL·kg⁻¹,折算芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸和藁本内酯给药剂量分别为 202,300,25.7,263 mg·kg⁻¹。大鼠给药后于 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480 min 采血约 0.4 mL。3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,分离血浆 0.2 mL 置于 -70 ℃ 冰箱保存。

2.3 样品处理方法 精密吸取 200 μL 血浆,加入山柰酚(内标)甲醇溶液 10 μL 混匀,再加入 800 μL 乙酸乙酯涡旋振荡 1 min,3 500 r·min⁻¹ 离心 5 min,吸取乙酸乙酯层置 10 mL 玻璃离心管中,重复萃取 3 次后,血浆层加入 800 μL 乙腈(含 0.5% 甲酸),涡旋 30 s,3 500 r·min⁻¹ 离心 5 min,吸取上清液置玻璃并入离心管中的乙酸乙酯部分,37 ℃ 氮气流吹干。残渣以 100 μL 甲醇溶解,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后按 2.4 项下条件测定。

2.4 色谱条件 以本实验室前期建立的 HPLC 测定大鼠血浆中的芍药内酯苷、芍药苷、阿魏酸和藁本内酯的含量^[5]。色谱柱 Alltima C₁₈ 分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, Alltech, USA)。流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min, 10%~35% A, 20~40 min, 35%~87% A)。检测波长 231,320 nm,柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。

2.5 药动学参数计算和统计分析 大鼠给药 S,DC,SDC 和 DSS 各组的平均血药浓度-时间曲线见图 1,所得实验数据采用 DAS 2.0 药代动力学软件按非房室模型求算药动学参数,并采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计分析。药动学参数的对比分析采用独立样本 *t* 检验。所得药动学相关参数见图 2。

3 讨论

血清化学研究发现该方入血成分基本上都来源于白芍、当归和川芎,即活血化瘀组,该组对整方功效起主导作用,同时辅以健脾利湿组诸药达到血水同治之目的。本实验中的配伍分组设置目的在于考

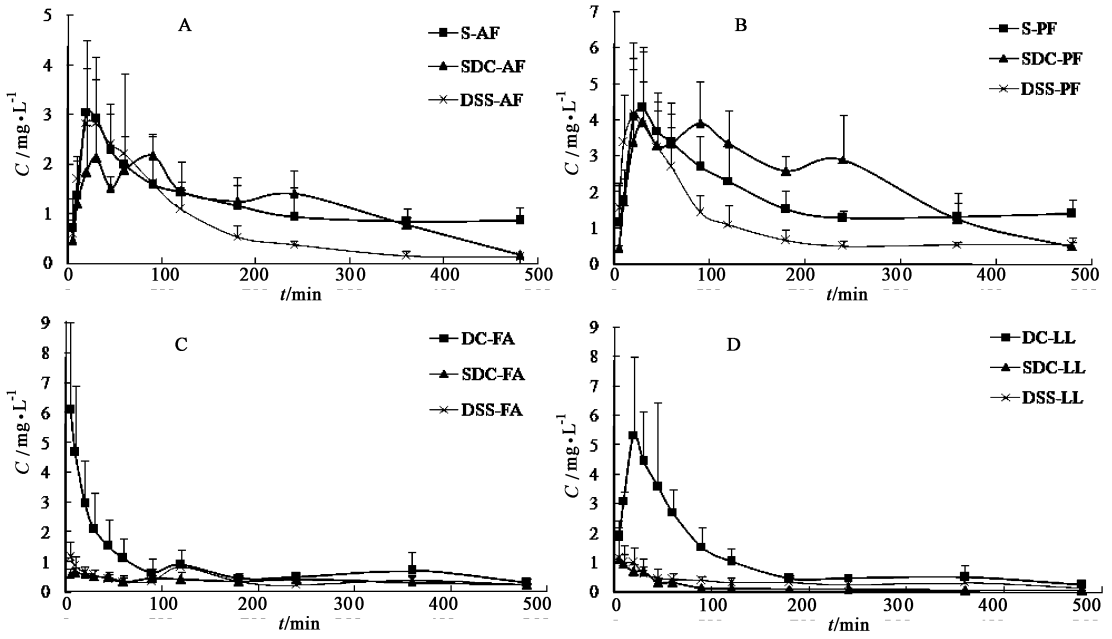


图1 各配伍组(S:白芍组,DC:归-芍组,SDC:芍-归-芍组,DSS:全方组)给药后大鼠血浆中芍药内酯苷(A)、芍药苷(B)、阿魏酸(C)和藁本内酯(D)的药-时曲线($\bar{x} \pm s, n = 6$)

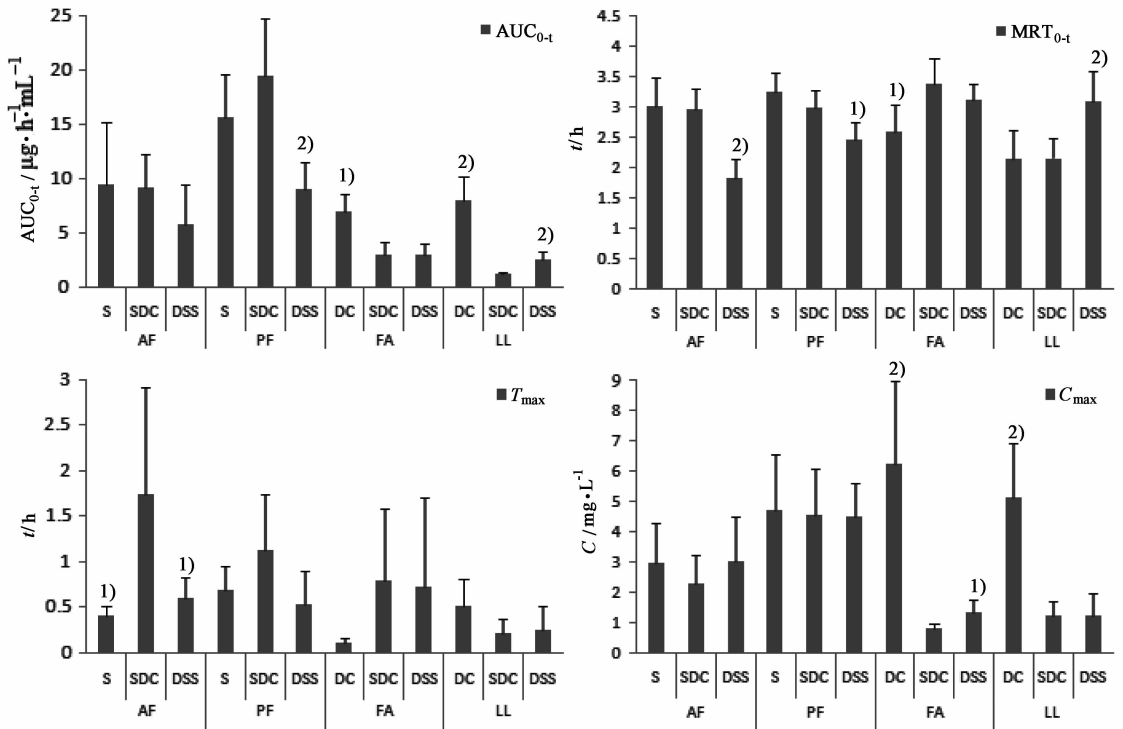


图2 各配伍组(S:白芍组,DC:归-芍组,SDC:芍-归-芍组,DSS:全方组)给药后大鼠血浆中芍药内酯苷(AF)、芍药苷(PF)、阿魏酸(FA)和藁本内酯(LL)的主要药动学特征 T_{max} , $MRT_{(0-t)}$, C_{max} 和 $AUC_{(0-t)}$ ($\bar{x} \pm s, n = 6$) (与该成分 SDC 组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$)

察君药白芍与臣药归-芍药对的相互作用,以及健脾利湿组对活血化瘀组的影响。实验数据显示芍药内酯苷和芍药苷的药动学特征比较接近,以芍药苷为例,在白芍中芍药苷的吸收迅速,消除缓慢;在芍-归-芍组的吸收产生了多峰现象,虽然对 C_{max} ,AUC

和MRT无明显影响,但使 T_{max} 出现延迟。全方与芍-归-芍组相比,无多峰现象, T_{max} 和MRT缩短,AUC也显著降低,不到后者的一半。芍药内酯苷在各配伍组中有类似的变化趋势,但影响程度不同,如 T_{max} 和MRT变化显著,而AUC降低不明显。总体上

来说,归-芍组与白芍配伍后使芍药苷和芍药内酯苷出现了多重吸收-消除的过程,在一段时间内维持了较高的血药浓度。加入苓-术-泽组后又使其多重吸收过程消失,吸收和消除速度加快,生物利用度降低。报道高剂量的白术对胃肠动力有促进作用,促进胃及小肠排空^[12],从而缩短肠内容物的滞留时间,抑制它们的吸收,配伍后多重吸收现象消失,可能与此有关。

阿魏酸的吸收和消除非常快,几乎观察不到吸收相。在归-芍组中的吸收极为迅速,5 min 后血药浓度迅速下降。芍-归-芍组阿魏酸的 T_{max} 和 MRT 比归-芍组延长, C_{max} 仅是后者的 1/8, AUC 也远较归-芍组低。全方的吸收类似芍-归-芍组, C_{max} , MRT 和 AUC 与芍-归-芍组接近,仅 C_{max} 较高。总体配伍作用是白芍与归-芍配伍降低了阿魏酸的吸收、消除速度,血药浓度以及生物利用度。苓-术-泽组又能提高芍-归-芍组达峰浓度,但未显著影响吸收、消除速度和生物利用度。阿魏酸在 2 h 附近有二次吸收峰,但单体给药并未出现^[14],排除了肝肠循环的可能,提示它在小肠中吸收具有不均匀性,或药材中有成分在肠道转化为阿魏酸。

与芍药苷不同,藁本内酯的极性很小,易透过肠壁,但由于强烈的肝首过效应导致的其生物利用度很低^[15]。该成分在归-芍组中的吸收和消除均较迅速, T_{max} 和 $MRT_{(0-4)}$ 分别为 0.514, 2.151 h。同阿魏酸一样,与白芍配伍也显著降低了归-芍组中藁本内酯的血药浓度和生物利用度,但对消除速度没有影响。与芍-归-芍组相比全方中藁本内酯的 MRT 明显延长, AUC 提高一倍,但仍远低于归-芍组。该现象表明,白芍降低了归-芍组中藁本内酯的血药浓度和生物利用度,苓-术-泽组则能减缓芍-归-芍组消除速度,增加生物利用度。

从以上的结果可知,配伍对药物成分的体内过程影响显著而且复杂。方中君药白芍成分受臣药归芍的影响出现了多重吸收现象,而臣药成分受君药的影响非常明显,极大降低了血药浓度水平和生物利用度。苓-术-泽组对芍-归-芍组的影响又主要体现在君药成分上,促进消除并降低了生物利用度。与许多复方一样,当归芍药散是一个复杂自适应系统,其中的药材或配伍可因为组合不同而体现出协同或拮抗的关系。然而从药动学角度对中药复方的相互作用研究尚具有许多不足,如只能单次给药以及为便于检测而使用较高剂量等因素使得其结果与真实情况有差异。目前有关其配伍规律及组方的研

究基本处于理论的分析探讨,缺乏客观的实验依据。以单一的分析路线来研究复方只是第一步,但以上的工作能为当归芍药散的深入研究铺平道路,并为其他复方的配伍研究提供方法学上参考。

【参考文献】

- [1] 尚玮玮, 乔善义. 当归芍药散研究概况 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(8): 630.
- [2] 林志宏, 朱丹妮, 严永清, 等. 当归芍药散防治老年痴呆的物质基础与作用机理研究 I-组方作用协同性与选择性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(1): 16.
- [3] 程巧鸳, 李范珠. 近五年经方配伍规律的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(7): 66.
- [4] Chen L L, Qi J, Chang Y X, et al. Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicinal formula Danggui-Shaoyao-San by HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 50(2): 127.
- [5] Chen L L, Wang Y H, Qi J, et al. Identification and determination of absorbed components of Danggui-Shaoyao-San in rat plasma [J]. Chin J Nat Med, 2011, 9(5): 363.
- [6] 王言才, 段金殿, 华永庆, 等. 当归芍药散抑制小鼠离体子宫收缩效应与效应物质分析评价 [J]. 中国天然药物, 2008, 6(3): 196.
- [7] 林乔, 赵爱国, 陈建南, 等. 藁本内酯的镇痛抗炎作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 165.
- [8] 罗焕敏, 李晓光, 肖飞, 等. 当归芍药散中阿魏酸和芍药苷的药代动力学研究 [J]. 中药材, 2003, 26(3): 189.
- [9] Li Y F, Wang M, Wang X Y, et al. Pharmacokinetic properties of albiflorin and paeoniflorin after oral administration of pure compound, Radix Paeoniae alba extract and Dang-gui-Shaoyao-San extract to rats [J]. J Asian Nat Prod Res, 2011, 13(2): 117.
- [10] 王岚, 成龙, 李慧, 等. 川芎和黄芪合用在心肌缺血大鼠体内藁本内酯血药浓度测定及药代动力学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 158.
- [11] 陈镇, 夏泉, 黄赵刚, 等. 白术挥发油对小鼠胃肠功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8): 66.
- [13] 魏凤环, 王永刚, 罗佳波. 药动学多峰现象研究概况 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(23): 1772.
- [14] Yan R, Ko N L, Li S L, et al. Pharmacokinetics and metabolism of ligustilide, a major bioactive component in Rhizoma Chuanxiong, in the rat [J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36(2): 400.

【责任编辑 邹晓翠】