



川芎嗪、阿魏酸及其配伍药代动力学比较研究

冯彬彬¹, 张建海¹, 张继芬¹, 陈刚², 徐晓玉^{1*}

(1. 西南大学, 重庆 400716; 2. 重庆工商大学 药物研究中心, 重庆 400067)

[摘要] 目的: 探讨川芎嗪与阿魏酸及其配伍在大鼠体内的药代动力学规律。方法: 24 只 SD 大鼠, 分为川芎嗪 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组、阿魏酸 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组、川芎嗪 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + 阿魏酸 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组, 灌胃给药, 采用 HPLC 测定血浆中的药物浓度, DAS2.0 程序计算药代动力学参数。结果: 川芎嗪单独给药时 $t_{\max}$ 0.5 h, $t_{1/2}$ 0.856 h, MRT 1.321 h, AUC $5.112 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, $C_{\max}$ $2.834 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 合并给药时 $t_{\max}$ 0.583 h, $t_{1/2}$ 37.901 h, MRT 3.798 h, AUC $4.097 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, $C_{\max}$ $1.571 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。阿魏酸单给药时 $t_{\max}$ 0.083 h, $t_{1/2}$ 1.024 h, MRT 1.324 h, AUC $1.581 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, $C_{\max}$ $1.492 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 合并给药时为 $t_{\max}$ 0.6 h, $t_{1/2}$ 7.860 h, MRT 2.894 h, AUC $1.984 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, $C_{\max}$ $1.03 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论: 川芎嗪和阿魏酸合并用药, 2 种组分在药动力学方面可相互影响, 2 种组分的半衰期与平均驻留时间均延长, 具有缓释的效果。

[关键词] 川芎嗪; 阿魏酸; 复方药代动力学; 高效液相色谱

川芎嗪 (TMPz, 又名四甲基吡嗪) 是一种生物碱, 为中药川芎的有效成分之一, 具有广泛的药理作用, 它具有抑制血小板聚集, 抗血栓形成, 抗自由基作用, 并且对肾血管有扩张作用, 还可增加冠脉流量, 降低心肌含水量, 起到保护心脏的功能^[1]。阿魏酸 (ferulic acid) 是川芎、当归等中药的主要有效成分, 具有明显的抗动脉粥样硬化, 抗血小板凝集和血栓, 清除亚硝酸盐、氧自由基、过氧化亚硝基, 抗菌消炎, 抗肿瘤, 抗突变, 增加免疫功能等^[2]。近年来, 有关盐酸川芎嗪、磷酸川芎嗪及阿魏酸钠的药代动力学曾有报道^[3-6], 但二者原药及其配伍的药动力学研究还未见报道。本文结合中药辨证药动学的研究^[7], 分别对阿魏酸和川芎嗪单独给药及二者配伍给药的药动力学进行比较研究。有益于揭示以当归、川芎配伍的众多活血化瘀、补血、调经著名方剂的药代动力学规律。

1 材料

1.1 仪器和试剂 岛津 LC-20AB; CTO-10ASVP 柱温箱; SPD-20A 紫外检测器; H1650-W 台式微量高速离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司); EL-204

电子天平 (梅特勒 托利多仪器有限公司); WH-2 微型涡旋混合仪 (上海沪西分析仪器厂); Millipore 纯水系统。甲醇为色谱纯 (迪马公司); 冰醋酸为分析纯; 水为去离子水; 阿魏酸对照品 (批号 110773-200611)、川芎嗪对照品 (批号 110817-200305) 均购自中国药品生物制品检定所; 香豆素 (内标, Sigma 公司); 阿魏酸、川芎嗪 (原料药, >98%, 南京泽朗有限责任公司)。

1.2 动物 SD 大鼠 24 只, 清洁级, 雌性, 体重 $(220 \pm 20) \text{ g}$, 由重庆医科大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(渝) 2007-0001。

2 方法

2.1 色谱条件^[8-9] 迪马 Platisil ODS 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), 流动相甲醇-0.5% 冰醋酸 (58:42), 流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 280 nm, 温度 30°C 。

2.2 标准曲线的制备 取阿魏酸对照品 5 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并定容至刻度, 得母液为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同样方法配制川芎嗪母液质量浓度为 $0.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 香豆素母液质量浓度为 $0.73 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。精密吸取大鼠空白血浆 8 份各 100 μL , 分别加入 100 μL 不同浓度的阿魏酸对照品和 100 μL 相同浓度的内标, 制成含阿魏酸 0.025 4, 0.253 5, 0.507 1, 1.014 2, 2.041 7, 4.083 3, 8.333 3, 11.111 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列浓度, 涡旋 2 min, 1 万 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 上清液过 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤

[收稿日期] 2009-10-09

[基金项目] 重庆市重大科技攻关项目 (CSTC, 2008AA5004)

[通信作者] * 徐晓玉, 教授, 博士生导师, E-mail: xxy0618@sinacn.com

[作者简介] 冯彬彬, 博士, 研究方向为中药药理与新药开发, Tel: 13667656184, E-mail: fbb200596@126.com



膜,取 10 μL 进样,以阿魏酸和内标的峰面积之比与阿魏酸浓度作回归方程,绘制标准曲线。川芎嗪配制成 0.007 5, 0.015 0, 0.250 0, 0.50 0, 1.500 0, 2.500 0, 5.000 0, 8.761 9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,按阿魏酸方法作回归方程,绘制标准曲线。二者配伍的标准曲线制作,其中川芎嗪配制成 0.014 0, 0.028 1, 0.281 3, 0.562 5, 2.812 5, 5.625, 11.25, 16.875 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列;阿魏酸配制成 0.026, 0.26, 0.520 8, 1.041 7, 2.083 3, 4.166 7, 8.333 3, 14.583 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列,按照阿魏酸的标准曲线方法绘制标准曲线。

2.3 回收率试验 精密吸取大鼠空白血浆 9 份各 100 μL ,加入不同浓度的阿魏酸标准溶液 100 μL ,再加相同浓度的内标 100 μL ,配成低、中、高不同浓度的样品,按照 2.2 项下的样品处理方法进行处理,川芎嗪和二者配伍的回收率试验方法同阿魏酸。

2.4 精密度试验 按 2.3 项下配制成高、中、低 3 种浓度的阿魏酸血浆样品各 3 份,用同一标准曲线测定得精密度。川芎嗪及二者配伍的精密度试验方法同阿魏酸。

2.5 血浆样品制备 将 SD 大鼠分为阿魏酸组、川芎嗪组和配伍组,每组 8 只,受试大鼠禁食不禁水 12 h 后,分别按 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给予阿魏酸、川芎嗪和配伍药。阿魏酸组分别于灌胃后 0, 2, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;川芎嗪组分别于灌胃后 0, 2, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240, 360, 480 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;配伍组分别于灌胃后 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 150, 210, 300, 480, 720 min 眼眶取静脉血 0.5 mL;采的所有血液均放入有肝素钠的 EP 管中,1 万 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min;取血浆放 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,用于血药浓度的检测。

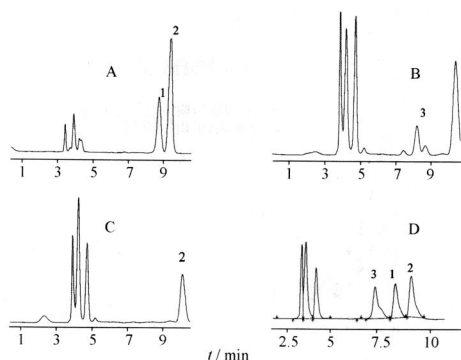
2.6 血样处理 精密吸取大鼠血浆样品 100 μL ,加 100 μL 内标和 100 μL 甲醇,按 2.2 项下的处理方法处理检测。

2.7 数据处理 根据所测血药浓度-时间曲线,利用 DAS 2.0 药代动力学程序,计算主要药动学参数。

3 结果与分析

3.1 方法专属性考察 在本色谱条件下测得的色谱图见图 1。川芎嗪、阿魏酸和内标(香豆素)得到较好分离,无明显干扰峰出现,血浆中阿魏酸、川芎嗪及内标的保留时间分别为 7.3, 8.3, 9.2 min。

3.2 标准曲线及线性范围 根据 2.2 项下的方法



A. 川芎嗪 + 内标; B. 阿魏酸 + 内标; C. 空白血浆 + 内标;
D. 川芎嗪 + 阿魏酸 + 内标; 1. 川芎嗪; 2. 内标; 3. 阿魏酸

图 1 川芎嗪、阿魏酸专属性色谱图

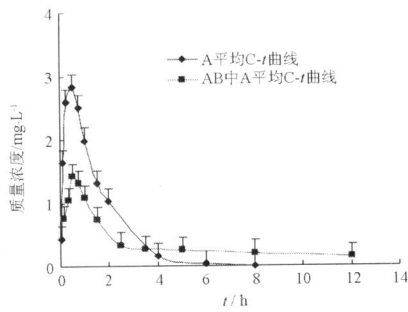
绘制标准曲线。以阿魏酸浓度为横坐标,以阿魏酸和内标的峰面积之比为纵坐标绘制标准曲线,得其回归方程 $Y = 0.127 6X - 0.003 2$, $r = 0.999 6$,在 0.025 4~11.111 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。同样方法得到配伍中阿魏酸回归方程 $Y = 0.215 5X - 0.002 7$, $r = 0.999 4$,说明配伍中阿魏酸在 0.026 0~14.583 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。同理,川芎嗪回归方程为 $Y = 0.140 7X + 0.003 1$, $r = 0.999 8$,在 0.007 5~8.761 86 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。配伍中川芎嗪回归方程 $Y = 0.153 7X - 0.028 2$, $r = 0.999 4$,表明配伍中川芎嗪在 0.014~16.875 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

3.3 回收率试验 单独川芎嗪、阿魏酸及配伍中的川芎嗪和阿魏酸平均回收率均在 80%~120%, RSD 均小于 10%,表明该方法回收率符合要求。

3.4 精密度试验 单独川芎嗪和阿魏酸及配伍中的川芎嗪和阿魏酸低浓度精密度 RSD 均小于 20%,中、高浓度精密度 RSD 均小于 15%,表明精密度良好,符合生物样品精密度要求。

3.5 药代动力学 以 DAS 2.0 药代动力学程序进行曲线拟合,川芎嗪单独给药和配伍给药后,川芎嗪各时间点血药浓度与时间的关系见图 2,其药代动力学参数见表 1。阿魏酸单独给药和配伍给药后,阿魏酸各时间点血药浓度-时间的关系见图 3,其药代动力学参数见表 1。由川芎嗪药代动力学参数的变化可看出,合并用药后川芎嗪的达峰时间 t_{max} 变化不大;半衰期 $t_{1/2}$ 显著增大 ($P < 0.01$);平均驻留时间 MRT 明显延长;药-时曲线下面积 (AUC) 单独给药与合并给药差别不大;达峰浓度 C_{max} 单独给药

与合并用药没有显著性差异。



A. 川芎嗪; B. 阿魏酸(图 3 同)。
图 2 川芎嗪药-时曲线

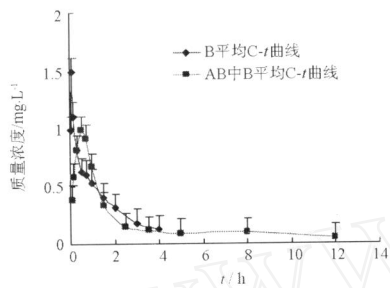


图 3 阿魏酸药-时曲线

表 1 川芎嗪、阿魏酸单独给药和配伍药代动力学参数

参数	川芎嗪		阿魏酸	
	单独	配伍	单独	配伍
$AUC_{0\sim t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$	5.112	4.097	1.581	1.984
$AUMC_{0\sim t}/\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$	6.754	15.562 ¹⁾	2.094	5.762 ¹⁾
$MR_{t_0\sim t}/\text{h}$	1.321	3.798	1.324	2.894
$t_{1/2\alpha}/\text{h}$	0.856	37.901 ²⁾	1.024	7.860 ¹⁾
t_{max}/h	0.500	0.583	0.083	0.600 ¹⁾
$CL_z/F/L\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	3.880	3.426	11.753	7.639
$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	2.834	1.571	1.492	1.030

注:与相应单独给药比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.001$ 。

由阿魏酸药代动力学参数的变化可看出,合并用药后阿魏酸的达峰时间 t_{max} 与单独给药相比显著延长 ($P < 0.05$); 半衰期 $t_{1/2}$ 显著延长

($P < 0.05$); 平均驻留时间 MRT 明显延长; 药时曲线下面积 (AUC) 单独给药与合并给药差别不大; 达峰浓度 C_{max} 单独给药与合并给药没有显著性差异。

4 讨论

试验结果显示,川芎嗪和阿魏酸合并用药后,2 种组分的半衰期 ($t_{1/2}$) 与平均驻留时间 (MRT) 均延长,提示二者合并给药后消除减慢,即药物在体内停留和作用的时间延长,具有缓释的效果。合用后二者的达峰浓度 (C_{max}) 都比单独用药有所下降,说明 2 种成分具有药代动力学的相互影响。本试验表明,以不同供试品给药,川芎嗪和阿魏酸体内药动力学特征都存在差异,可能是由于药物配伍后成分的物理性状或药物成分间的相互作用所致,提示二者单独给药进行药动学研究并不能完全反映配伍药对中各单体体内药动力学特征。

[参考文献]

- [1] 李秋怡,干国平,刘焱文. 川芎的化学成分及药理研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17 (7): 1298.
- [2] 欧仕益,包惠燕,蓝志东. 阿魏酸及其衍生物的药理作用研究进展[J]. 中药材, 2001, 24 (3): 220.
- [3] 蔡伟,董善年,楼雅卿. 正常人口服磷酸川芎嗪的药代动力学研究[J]. 药学报, 1989, 24 (12): 881.
- [4] 邓新国,胡世兴,张清炯,等. 盐酸川芎嗪经腹腔注射在兔视网膜组织中的药代动力学[J]. 中国药理学通报, 2004, 20 (10): 1115.
- [5] 黄鹏,李新华,张红,等. 磷酸川芎嗪滴丸在健康人体的药代动力学和生物等效性[J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 21 (6): 445.
- [6] 徐数,胡晋红,李凤前. HPLC 测定 Beagle 犬血浆中阿魏酸钠的浓度及其药代动力学研究[J]. 中成药, 2005, 27 (9): 1062.
- [7] 赵子剑,刘敏,张恩户. 中药证治药动学研究进展[J]. 陕西中医学院学报, 2005, 28 (1): 63.
- [8] 朱顺法. HPLC 测定胃康散中阿魏酸含量[J]. 中国中药杂志, 2008, 33 (14): 1757.
- [9] 张汉杰,吴建兵,邱明丰,等. HPLC 测定舒胸滴丸中阿魏酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (1): 78.

Comparative study on pharmacokinetics of tetramethylpyrazine , ferulic acid and their compatibility

FENG Binbin¹, ZHANG Jianhai¹, ZHANG Jifen¹, CHEN Gang², XU Xiaoyu^{1*}

(1. Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Research Center of Pharmaceutia, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China)

[Abstract] Objective: To study the pharmacokinetics of tetramethylpyrazine (TMP), ferulic acid and their compatibility. **Method:** Twenty-four Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups: TMP 20 mg · kg⁻¹, ferulic acid 20 mg · kg⁻¹ and TMP 20 mg · kg⁻¹ + ferulic acid 20 mg · kg⁻¹. All the rats were given intragastric administration then blood samples were obtained from fossa orbitalis at several time points. All the plasmas concentrations were analyzed by HPLC method and the data were treated by DAS 2.0 program. **Result:** The main pharmacokinetics parameters of TMP 20 mg · kg⁻¹ group, ferulic acid 20 mg · kg⁻¹ and TMP 20 mg · kg⁻¹ + ferulic acid 20 mg · kg⁻¹ were as follows: t_{max} 0.5 h, $t_{1/2}$ 0.856 h, MRT 1.321 h, AUC 5.112 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, C_{max} 2.834 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; t_{max} 0.083 h, $t_{1/2}$ 1.024 h, MRT 1.324 h, AUC 1.581 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, C_{max} 1.492 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; t_{max} 0.583 h, $t_{1/2}$ 37.901 h, MRT 3.798 h, AUC 4.097 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, C_{max} 1.571 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; t_{max} 0.6 h, $t_{1/2}$ 7.860 h, MRT 2.894 h, AUC 1.984 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$, C_{max} 1.03 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** The experiments suggested that the compatibility of TMP and ferulic acid had interaction in pharmacokinetics; all the $t_{1/2}$ and MRT were prolonged and had the effect of lente liberates.

[Key words] tetramethylpyrazine (TMP); ferulic acid; compound pharmacokinetics; HPLC

doi: 10.4268/cjmm20100722

[责任编辑 张宁宁]