

从药代参数 AUC 值探讨中药复方双参通冠的配伍

林 力, 刘建勋*, 张 颖, 段昌令, 林成仁, 付建华

(中国中医科学院西苑医院, 北京 100091)

摘要: 应用 LC-MS/MS 方法对复方双参通冠中 7 种成分脱氢紫堇碱、延胡索乙素、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 和 Rd 在不同配伍方式下的血药浓度进行了测定, 应用 WinNonlin 软件进行数据处理, 通过 AUC 值探讨不同配伍对这 7 种成分的影响。结果显示配伍后延胡索乙素的 AUC 值显著提高, 丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rd 的 AUC 值显著降低, 人参皂苷 Rb₁ 在两两配伍下 AUC 值升高, 但复方配伍给药下 AUC 值降低, 脱氢紫堇碱血药浓度低于检测限而无法判定配伍对其影响。

关键词: 中药复方; 药代动力学; 双参通冠方; 配伍

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 09-1029-05

Evaluation of different combinations of components of Chinese formulation Shuangshentongguan by using AUC values

LIN Li, LIU Jian-xun*, ZHANG Ying, DUAN Chang-ling, LIN Cheng-ren, Fu Jian-hua

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

Abstract: A sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) method was applied for the quantification of each component: tetrahydropalmatine (THP), dehydrocorydaline (DHC), salviolic acid B (SAB), ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁ and Rd in the Chinese herbal component SSTG (Shuangshentongguan) with different combinations. The pharmacokinetic data were analyzed with WinNonlin 5.2 software. The results showed that combination can increase the THP AUC value while the AUC values of SAB, ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁ and Rd were reduced. These results showed significant differences. The AUC value of ginsenoside Rb₁ was increased when combined with Danshen or Yanhusuo, but reduced when combined with Danshen and Yanhusuo. The DHC concentration in serum was too low to be determined.

Key words: Chinese herbal compound; pharmacokinetics; Shuangshentongguan; combination

方剂是中医治疗疾病的主要手段, 是中医临床用药的主要形式。方剂配伍后, 发挥药效作用的物质基础的量和药代动力学参数必然会发生变化, 且这种变化与药效具有一定的相关性, 因此定量的分析配伍后化学成分在机体内的变化规律, 了解其体内的生物药剂学特征, 目前已成为中医配伍理论研究的重点和热点。许多学者已经开始进行这方面的初步

探讨, 如任平等^[1]开展的方剂配伍的临床药动学研究, 马传香等^[2]探讨了川芎郁金不同配伍比例对阿魏酸在家兔体内的药代动力学影响, 杨祖贻等^[3]进行了与不同温里药配伍的赤芍中效应成分芍药苷的药代动力学研究, 上述研究得到了一些积极的结果, 在一定程度上阐释了方剂配伍的合理性, 但是这些研究多局限于单个化学成分, 而中药复方是一个复杂体系, 不同配伍中单个化学成分的药代特征难以体现整个复方的配伍规律, 因此本文以有效成分明确、药理作用清楚的中药复方双参通冠方为研究对象, 应用液质联用对该方中 7 种主要有效成分 (脱氢紫堇碱、延胡索乙素、丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、

收稿日期: 2009-04-01.

基金项目: 国家自然科学基金重大资助项目 (30830118); 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAI08B04-08); 国家中医药管理局课题资助项目 (06-07ZP49).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-62874049, E-mail: liujx0324@sina.com

人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rd) 在不同配伍方式下的血药浓度进行了定量测定, 并计算其药代参数, 结合各成分药时曲线下面积 (AUC 值) 探讨不同配伍对其影响的变化规律。

材料与方法

药品和试剂 人参皂苷 Rg₁ 对照品 (110810-200424), 人参皂苷 Re 对照品 (110754-200421), 人参皂苷 Rb₁ 对照品 (110704-200420), 丹酚酸 B (salvianolic acid B, SAB, 111562-200403) 对照品, 延胡索乙素对照品 (tetrahydropalmatine, THP, 110726-200409), 均购于中国药品生物制品检定所; 人参皂苷 Rd 对照品, 南京青泽医药, 纯度大于 98%。脱氢紫堇碱 (dehydrocorydaline, DHC) 对照品, 自制, 纯度大于 98%; 人参总皂苷、丹参总酚酸和延胡索总生物碱均由中国中医科学院西苑医院药学室提供, 批号依次为 040801、050816 和 060927。

实验动物 雄性 SPF 级 Wistar 大鼠, 体重为 (220 ± 20) g, 中国医学科学院动物实验研究中心提供, 许可证号 SCXY (京) 2004-0001。

实验仪器 API 4000 Q-TRAP 型三重四极杆串联质谱仪, 配有离子喷雾离子源以及 Analysis 1.4 数据处理系统, 美国 Applied Biosystem 公司; Agilent 1200 高效液相色谱输液泵、自动进样器和柱温箱, 美国 Agilent 公司; 色谱柱为 ZORBAX SB-C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm ID, 5 μm), 美国 Agilent 公司。

给药与样品采集 健康 Wistar 大鼠, 随机分成 7 组, 每组 24 只, 分别为丹参总酚酸组 (100 mg·kg⁻¹)、人参总皂苷组 (100 mg·kg⁻¹)、延胡索总生物碱组 (250 mg·kg⁻¹)、丹参总酚酸加人参总皂苷组、丹参总酚酸加延胡索总生物碱组、人参总皂苷组加延胡索总生物碱组和复方组 (即双参通冠给药), 每组中含有的有效组分的量相同。实验前 12 h 禁食不禁水, 实验期间自由饮水, 实验 12 h 后进食。大鼠灌胃给药 (给药体积为 10 mL·kg⁻¹), 分别于给药后 0.25、0.50、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10、12、24、36 和 48 h 经大鼠眼球后静脉丛采血约 0.5 mL, 置肝素化试管中, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 待测。

血浆样品的处理 取大鼠血浆样品 200 μL, 加入丙酮 400 μL, 涡流混合 1 min, 离心 (15 000 r·min⁻¹) 10 min, 分离上清液 400 μL 于 40 °C 氮气流下吹干, 残留物用流动相 100 μL 溶解, 涡流 1 min, 15 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液待测。

生物样品分析 实验采用 LC-MS/MS 方法进行定量测定, 人参总皂苷、丹参总酚酸和延胡索总生物碱由于化学性质差别很大, 难以用同一个检测条件进行定量分析, 因此分别针对这 3 类成分的测定进行了色谱条件和质谱条件的优化, 相应的检测方法参考文献[4-6]。

数据处理 实验数据采用 WinNonlin (Version 5.2) 药动力学软件处理, 非房室方法计算大鼠给药后药动力学参数, 由于实验采用非连续取样, 因此 AUC 的方差按文献^[7, 8]方法由软件计算而得, 参数的比较采用 *t* 检验。

结果

1 LC-MS/MS 方法学确证

实验结果^[4-6]显示血浆内源性杂质不干扰样品的测定, 7 种对照品线性关系的相关系数均超过了 0.991, 人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的最低定量限为 2 ng·mL⁻¹, 人参皂苷 Re、延胡索乙素和脱氢紫堇碱为 1 ng·mL⁻¹, 人参皂苷 Rd 为 1.62 ng·mL⁻¹, 丹酚酸 B 为 0.5 ng·mL⁻¹, 7 种成分的精密度、准确度和稳定性也符合相关要求。

2 药代动力学研究

2.1 不同配伍对人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁ 和 Rd 药代参数的影响 分别以人参总皂苷单一组分给药、人参总皂苷与延胡索总生物碱配伍给药、人参总皂苷与丹参总酚酸配伍给药和复方配伍给药 4 种方式下比较 4 种人参皂苷类成分在大鼠体内的药动力学参数变化情况。

结果显示: ① 对于人参皂苷 Rg₁ 和 Re, 单一组分给药时可以测到其血药浓度并能计算其药代参数, 配伍给药后 (无论是两两配伍还是复方配伍给药) Rg₁ 和 Re 在血浆中的浓度明显降低, 大部分数据点的含量低于检测限而无法完整描绘其药动力学曲线。单一组分给药的主要药代动力学参数参见前期实验结果^[4], 药时曲线如图 1A 和图 1B 所示; ② 对于人参皂苷 Rb₁, 结果显示两两配伍给药可显著增加 Rb₁ 的 AUC 值, 但复方配伍给药与单一给药下 Rb₁ 的 AUC 值统计学上无差异。不同配伍人参皂苷 Rb₁ 的体内血浆药物浓度变化曲线见图 1C, 药代参数见表 1; ③ 对于人参皂苷 Rd, 单一组分给药的 AUC 值要远大于其他配伍给药, 且这种差异具有统计学意义。从药代参数上分析其原因可能在于配伍增加了 Rd 在体内的分布, 并提高了其清除率, 从而使其体内的 AUC 值降低。人参皂苷 Rd 体内血浆药物浓度变化曲线见图 1D, 药代参数见表 2。

Table 1 Pharmacokinetic parameters of Rb₁ in rat

Parameter	Ginseng	Ginseng & Danshen	Ginseng & Yanhusuo	SSTG
k_e/h^{-1}	0.032 4	0.016 4	0.047 0	0.045 3
$t_{1/2}/h$	21.383	42.165	14.760	15.316
t_{max}/h	6	12	8	6
$C_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	34.307	38.292	29.073	27.603
SE $C_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	7.439	4.446	7.579	3.159
$AUC_{0-t}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	565.197	864.858**	695.139**	540.458
SE $AUC_{0-t}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	25.639	48.690	39.770	26.430
$AUC_{0-inf}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	717.337	1 374.625	775.843	616.838
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.875	0.902	0.558	0.728
$CL/F/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.028 4	0.014 8	0.026 2	0.033 0
MRT_{0-t}/h	17.803	17.228	17.089	17.324
MRT_{0-inf}/h	30.750	51.198	22.520	23.858

** $P < 0.01$ vs Ginseng AUC. SSTG: Shuangshentongguan**Table 2** Pharmacokinetic parameters of Rd in rat

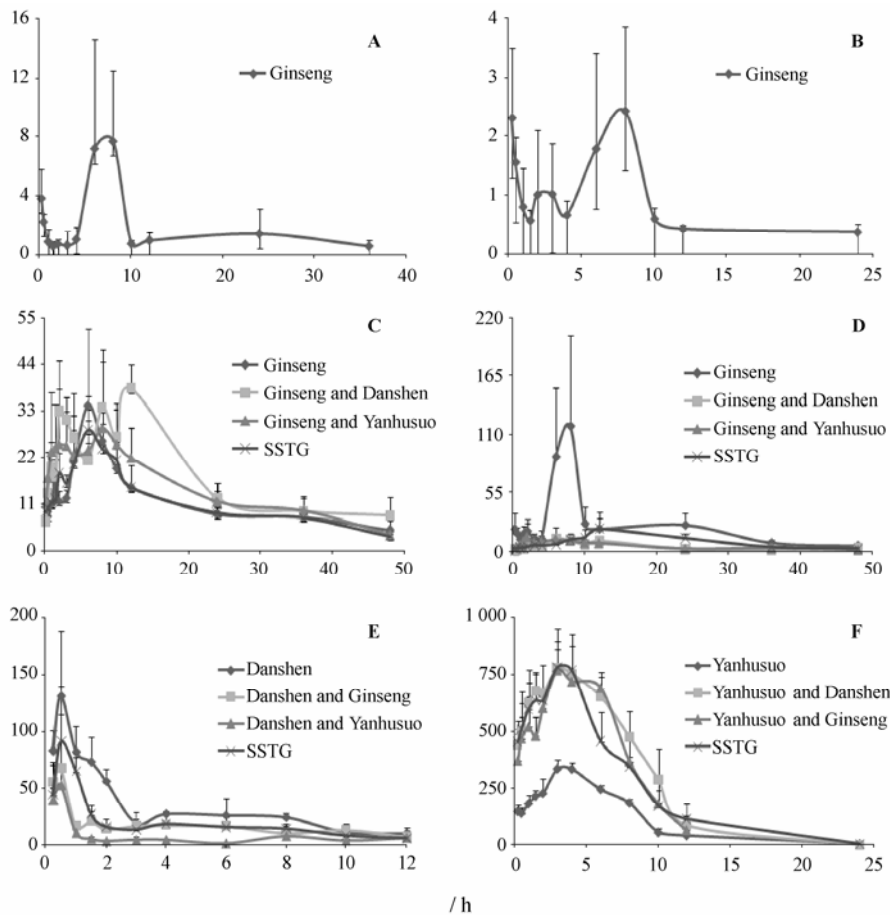
Parameter	Ginseng	Ginseng & Danshen	Ginseng & Yanhusuo	SSTG
k_e/h^{-1}	0.064 8	0.038 9	0.041 2	0.057 3
$t_{1/2}/h$	10.698	17.824	16.824	12.103
t_{max}/h	8	6	2	12
$C_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	118.312	11.900	13.812	20.515
SE $C_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	34.612	4.574	5.075	6.184
$AUC_{0-t}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	1 109.103	225.736**	248.510**	461.933**
SE $AUC_{0-t}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	109.813	24.472	21.027	50.049
$AUC_{0-inf}/h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	1 189.850	307.201	294.204	512.335
$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.058 0	0.374	0.369	0.152
$CL/F/L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.003 76	0.014 6	0.015 2	0.008 73
MRT_{0-t}/h	15.801	17.217	16.577	19.620
MRT_{0-inf}/h	19.033	32.200	25.227	24.130

** $P < 0.01$ vs the Ginseng AUC

2.2 不同配伍对 THP 和 DHC 药代参数的影响 实验以延胡索总生物碱单一组分给药、延胡索总生物碱与丹参总酚酸配伍、延胡索总生物碱与人参总皂苷配伍给药和复方配伍给药 4 种配伍条件下对延胡索乙素和脱氢紫堇碱在大鼠体内的血药浓度进行了测定。

结果显示: ① 对于延胡索乙素, 与单一组分给

药相比配伍给药能够显著增加延胡索乙素的 AUC 值, 延胡索总生物碱与丹参总酚酸配伍、延胡索总生物碱与人参总皂苷配伍给药和复方配伍给药使 THP 的 AUC 值分别增加了 262.63%、222.18%、235.86%, 且这种增加具有统计学意义。不同配伍下延胡索乙素在大鼠体内血药浓度-时间变化曲线见图 1F, 药代参数

**Figure 1** Plasma concentration-time curves of Rg₁ (A), Re (B), Rb₁ (C), Rd (D), SAB (E) and THP (F)

见表 3; ② 对于脱氢紫堇碱, 无论配伍与否其在血浆中的浓度都极低, 大部分的时间点血药浓度低于定量限而无法定量, 因此无法进行不同配伍的药代参数比较。

Table 3 Pharmacokinetic parameters of tetrahydropalmatine (THP) in rat

Parameter	Yanhusuo	Yanhusuo & Danshen	Yanhusuo & Ginseng	SSTG
k_c / h^{-1}	0.207	0.388	0.395	0.277
$t_{1/2} / h$	3.355	1.789	1.753	2.505
t_{max} / h	3	3	3	3
$C_{max} / \mu g \cdot L^{-1}$	336.735	780.412	771.930	785.158
SE $C_{max} / \mu g \cdot L^{-1}$	34.151	69.287	37.001	46.894
$AUC_{0-t} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	2 589.843	6 838.172**	5 628.405**	6 129.921**
SE $AUC_{0-t} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	67.989	246.511	154.077	187.097
$AUC_{0-inf} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	2 605.040	6 840.855	5 787.857	6 144.225
$V_z / F / L \cdot kg^{-1}$	0.028 4	0.005 76	0.006 68	0.008 99
$CL / F / L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.005 86	0.002 23	0.002 64	0.002 49
MRT_{0-t} / h	5.608	5.504	4.779	5.477
MRT_{0-inf} / h	5.743	5.512	5.047	5.528

** $P < 0.01$ vs Yanhusuo AUC

2.3 不同配伍对丹酚酸 B 药代参数的影响 实验结果显示与单一组分给药相比, 其他 3 种配伍均能够降低丹酚酸 B 的药时曲线下面积, 尤其是两两配伍, 且这种差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。不同配伍对丹酚酸 B 在大鼠体内药时曲线如图 1E 所示, 药代参数参见表 4。

Table 4 Pharmacokinetic parameters of salvianolic acid B (SAB) in rat

Parameter	Danshen	Yanhusuo & Danshen	Yanhusuo & Ginseng	SSTG
k_c / h^{-1}	0.186	0.056 3	0.081 9	0.215
$t_{1/2} / h$	3.736	12.306	8.468	3.228
t_{max} / h	0.5	0.5	0.5	0.5
$C_{max} / \mu g \cdot L^{-1}$	131.800	68.113	53.513	91.792
SE $C_{max} / \mu g \cdot L^{-1}$	24.918	19.255	8.047	22.022
$AUC_{0-t} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	383.856	195.091**	84.794**	230.808**
SE $AUC_{0-t} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	17.376	15.739	6.362	14.283
$AUC_{0-inf} / h \cdot \mu g \cdot L^{-1}$	437.236	431.595	160.903	259.544
$V_z / F / L \cdot kg^{-1}$	0.493	1.646	3.035	0.718
$CL / F / L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1}$	0.091 5	0.092 7	0.249	0.154
MRT_{0-t} / h	3.842	4.591	4.293	3.992
MRT_{0-inf} / h	5.496	18.379	13.717	5.394

** $P < 0.01$ vs Danshen AUC

2.4 不同配伍对 7 种成分药代参数 AUC 值的影响分析 从药代参数 AUC 值分析不同配伍对 7 种成分在大鼠体内的影响, 由表 5 可以看出不同配伍对方中

各成分的影响不一样, 配伍有利于延胡索总生物碱中延胡索乙素在体内的吸收, 增加其入血成分的量, 而不利于丹酚酸 B 和 4 种人参皂苷类成分的吸收。

Table 5 Effects of different combinations of SSTG preparation on AUC value in rat plasma

	SAB	THP	DHC	Rg ₁ and Re	Rb ₁	Rd
Danshen	-	×	×	×	×	×
Yanhusuo	×	-	ND	×	×	×
Ginseng	×	×	×	-	-	-
Danshen & Yanhusuo	↓**	↑**	ND	×	×	×
Danshen & Ginseng	↓**	×	×	ND	↑**	↓**
Yanhusuo & Ginseng	×	↑**	ND	ND	↑**	↓**
SSTG	↓**	↑**	ND	ND	↓	↓**

** $P < 0.01$ vs the corresponding single fraction administration; ↓: AUC value was lower than that of single fraction administration; ↑: AUC value was higher than that of single fraction administration; ND: Not detected; ×: Not contain this compound

讨论

中药复方是一个复杂体系, 其配伍的药代研究应从多成分多角度来开展, 本文采用 LC-MS/MS 方法对方中 7 种主要有效成分进行了药代测定, 并从 AUC 值对配伍机制进行分析。选用 AUC 值进行分析主要原因: 一是本实验采用了非连续取血法, 这使得个体动物的药代参数无法取得, 只能通过血药浓度平均值计算出群体动物的药代参数值, 但在这种情况下无法求得药代参数的方差, 此时的比较分析缺乏统计学意义。为解决群体动物实验中药代参数的方差问题, 很多学者进行了这方面的研究, 目前 WinNonlin 软件具备了稀疏取样下进行 AUC 值和 C_{max} 标准误的计算, 可以应用该软件进行不同配伍下两项的比较; 二是 AUC 值反映药物进入体循环的相对量, 是评价药物吸收程度的一个重要指标^[9], 在生物利用度和生物等效性的评价中必不可少, 因此本文采用了 AUC 值进行了不同配伍下的比较研究。

中药复方双参通冠方是由人参、延胡索和丹参三味药的有效部位组成的现代方剂, 具有益气活血、祛瘀行气止痛之功效, 临床主要治疗气虚血瘀所致的胸痹心痛。从传统中药复方七情配伍理论来看方中延胡索与丹参均属苦味药, 皆归入心、肝经, 延胡索活血行气止痛, 丹参活血化瘀、消癥散结, 两者合用共奏活血祛瘀止痛之效。方中人参补气养血, 令气旺血行、瘀去络通, 有助于活血祛瘀之功。现代药代动力学的配伍机制研究从大鼠体内的 7 种主要入血成分开展, 实验结果显示双参通冠组分配伍可以显著增

加延胡索总生物碱中 THP 在大鼠体内的 AUC 值, 体内入血成分量的增加必然有助于疗效的发挥, 增强其在体内的镇痛镇静^[10]作用, 这符合中医“七情配伍”中相须、相使的特点, 其原因可能在于配伍在增加 THP 吸收 (肠吸收实验结果, 具体内容另文发表) 的同时, 也减少了 THP 在体内的清除, 降低了体内的分布, 并且使其消除半衰期延长, 从而提高了 THP 的 AUC 值; 对于丹酚酸 B、人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rd 而言, 配伍使其 AUC 值明显降低, 从这个参数上看配伍将不利于其有效成分疗效的发挥。但如果对人参皂苷 Rd 进一步的分析可以发现, 复方配伍的 AUC 值虽然低于单一组分给药, 但却远大于两两配伍, 且这种差异具有统计学意义, 从这个角度来看复方配伍是优于两两配伍的; 对于 Rb₁ 而言, 两两配伍可显著增加 Rb₁ 的 AUC 值, 但复方配伍使得 Rb₁ 的 AUC 值与单一组分给药无统计学差异。

综上所述, 从药代参数 AUC 值来看中药复方双参通冠的配伍有利于延胡索总生物碱中延胡索乙素在体内的吸收, 增加其入血成分的量, 而不利于丹酚酸 B 和 4 种人参皂苷类成分的吸收。尽管配伍可显著降低丹酚酸 B 和人参皂苷类成分的 AUC 值, 但不能说这两味药的药效也降低了, 因为从药代参数上看其 V_d 和 CL 在数值上也有所增加, 配伍能否增加其在体内靶器官的分布从而提高其疗效, 亦或改变体内代谢产物的量而提高疗效, 这有待于研究的进一步深入。另外由于实验方法所限, 课题只对复方中的 7 种成分的 AUC 值进行了定量检测, 其对于整个复方的代表性有待于进一步的研究。

致谢: 上海康昱盛信息科技公司对药代数据的处理提供帮助。

References

[1] Ren P, Huang X, Zhang L, et al. Studies on the effect of drug combination on the clinical pharmacokinetics of compound Chinese herbal prescriptions I. A comparison between the pharmacokinetics of decoctions of *Ligusticum wallichii* (LW)

alone versus LW in combination with *Paeonia veitchii* (PV) [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2000, 31: 915-917.

[2] Ma CX, Zhang WS, Tian R, et al. Effects of different compatibility proportions of Szechwan Lovage Rhizome and turmeric root tuber on pharmacokinetics of ferulic acid in rabbits [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2006, 29: 474-478.

[3] Yang ZY, Liu RM, Chen J, et al. Study on pharmacokinetics of paeoniflorin, an effective component of blood-activating drug *Radix Paeoniae Rubra*, in compatibility of interior warming drugs exploration of thinking and method of study on pharmacokinetics of effective components of compatible drug in compound prescriptions [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术-中药现代化), 2005, 7: 22-27.

[4] Lin L, Liu JX, Zhang Y, et al. Pharmacokinetic studies of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁ and Rd in rat after oral administration of Ginseng extraction by LC-MS/MS Method [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2009, 44: 373-377.

[5] Lin L, Liu JX, Zhang Y, et al. Pharmacokinetic studies of tetrahydropalmatine and dehydrocorydaline in rat after oral administration of *Yanhusuo* extraction by LC-MS/MS method [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 2008, 43: 1123-1127.

[6] Lin L, Liu JX, Zhang Y, et al. Effect of different combinations on the pharmacokinetic parameters of salvianolic acid B in rat plasma [J]. *China J Chin Mate Med* (中国中药杂志), 2008, 33: 2683-2687.

[7] Nedelman JR, Jia X. An extension of satterth waite's approximation applied to pharmacokinetics [J]. *J Biopharm Stat*, 1998, 8: 317-328.

[8] Holder DJ. Comments on Nedelman and Jia's extension of satterth waite's approximation applied to pharmacokinetics [J]. *J Biopharm Stat*, 2001, 11: 75-79.

[9] Wei MJ, Zhao M. Pharmacokinetics Research and Evaluation on New Drug (创新药物药代动力学研究与评价) [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2008: 22.

[10] Xun T, Jin XL, Cao HM. Research progression the pharmacological action of tetrahydropalmatine [J]. *Chin J Clin Pharm* (中国临床药理学杂志), 2001, 10: 58-60.