

甘草剂量变化对芍药甘草复方移行入血成分的药动学影响

胡蓉婉^{1,2}, 沈 岚^{1,2*}, 冯 怡^{1,2}, 徐德生³, 阮克锋¹, 林 晓^{1,2}, 洪燕龙¹

(上海中医药大学 1. 中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 2. 中药学院, 上海 201203;
3. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 200021)

摘要: 探讨不同甘草剂量配伍对芍药甘草复方移行入血成分的药动学影响, 从剂量角度阐明芍药甘草复方配伍的合理性。在建立芍药甘草体内成分特征图谱分析方法的基础上, 将芍药、甘草不同剂量配比组于灌胃给药后不同时间的大鼠血浆中各特征移行入血成分含量的药动学参数进行比较分析, 并以各移行入血成分药动学参数与甘草剂量进行回归, 寻找相关性。结果显示, 芍药甘草复方用药以芍药: 甘草 = 4: 4 为最佳, 与古方常用剂量相符, 且各移行入血成分的吸收在一定的范围内与甘草剂量符合二项式拟合, 各移行入血成分间也具有相关性。从药动学角度证明了芍药甘草药对剂量配伍的合理性。

关键词: 芍药甘草复方; 剂量配比; 药动学

中图分类号: R969

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0329-04

Pharmacokinetics study on characteristic ingredients of different-dose herbs of Shaoyao-Gancao decoction

HU Rong-wan^{1,2}, SHEN Lan^{1,2*}, FENG Yi^{1,2}, XU De-sheng³, RUAN Ke-feng¹,
LIN Xiao^{1,2}, HONG Yan-long¹

(1. Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;
2. College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;
3. Affiliated Shuguang Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China)

Abstract: The paper is to report the observation of pharmacokinetic changes of the characteristic ingredients in the combinations of different-dose herbs of Shaoyao-Gancao decoction. After the establishment of HPLC analytical method of plasma effective constituents, rats were orally administered with different-dose herbs of Shaoyao-Gancao decoction. Blood samples at different times after administering these decoctions were collected, and then were analyzed by HPLC fingerprints technology. Pharmacokinetic parameters of characteristic peaks were analyzed by SPSS 15.0 software and DAS 2.0. At last, we looked for the correlation of those pharmacokinetic parameters and the dosage of Gancao. The best dose of Shaoyao-Gancao decoction was at the ratio of 4 to 4, which was consistent with the dose commonly used in ancient times. The absorption of characteristic peaks from Shaoyao-Gancao decoction was related with the dosage of Gancao, and there existed interaction between each characteristic ingredients. There existed the right dose-ratio of Shaoyao and Gancao to get the best effect. The absorptions of effective constituents were mutual waxing and waning in order to increase biological effects together. It's demonstrated the compatibility connotation at a right dose-ratio of

收稿日期: 2010-09-20.

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09502-009); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (30801548); 上海市青年科技启明星计划 A 类 (08QA14060); 上海市教委重点学科资助项目 (J50302); 上海市自然科学基金资助项目 (09ZR1429600); 上海市科委研发平台专项 (09DZ2292000); 上海市科委前沿技术研究发展计划 (09DZ1973000); 上海市教委科研创新项目 (10YZ57).

*通讯作者 Tel: 86-21-51322211, Fax: 86-21-51322491, E-mail: alansusu@sina.com

Shaoyao-Gancao decoction through the angle of pharmacokinetics.

Key words: Shaoyao-Gancao decoction; dose-ratio; pharmacokinetics

中药复方是中医治疗疾病的主要手段,是中医临床用药的主要形式。配伍是中药复方用药的特色和优势所在。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^[1]。临床常以“药对”的形式用药,其药味相对固定,组成简单且具备中药配伍基本特点。药对发挥治疗作用,一方面固然是中药基本性能决定,而另一方面其剂量配伍亦有举足轻重的作用^[2]。

芍药、甘草为中医常用药对,芍药与甘草的剂量配比有 1:1、3:2 和 2:1 等,临床常用的为芍药甘草汤,原方剂量为白芍 4 两、甘草 (炙) 4 两,现常将其作为缓急止痛的基础方^[3]。前期研究^[4]经谱效相关性分析,确定了芍药甘草复方特征图谱中与镇痛效应相关的特征峰,并确认了血中移行成分和代谢成分的归属,其中保留时间为 4.7、5.2、11.0 和 12.0 min 处特征移行入血成分移行自芍药,保留时间为 14.6、17.1 和 18.1 min 处特征移行入血成分移行自甘草;研究^[5]发现,臣药甘草对芍药甘草复方中移行自芍药的特征入血成分的吸收有促进作用,其促君药吸收作用可能是通过抑制自身某些药效相关特征成分的吸收来达到的,药效特征成分间“此消彼长”,共同促使生物效应增强,并非传统意义上的成分吸收越多、药效越好的一般规律。

目前,对于芍药甘草剂量配比的研究,仅有关于药效相关性的分析^[6],未见从药动学角度来探讨的文献报道。本文试图对临床常用及古籍中出现的芍药甘草剂量比对移行自芍药和甘草的 7 个特征移行入血成分 (保留时间为 4.7、5.2、11.0、12.0、14.6、17.1 和 18.1 min) 的药动学影响进行比较,并进行剂量与药动学参数的相关性分析,从药动学角度提供芍药甘草复方剂量配比合理性的科学阐释。

材料与方法

仪器 Agilent1200 高效液相色谱仪,美国安捷伦科技公司;数据处理采用 SPSS 15.0 和 DAS 2.0 统计软件。

药品与试剂 生白芍经鉴定为毛茛科植物芍药

(*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根 (批号 090616),炙甘草经鉴定为豆科植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisc.) 的干燥根及根茎 (批号: 090801),上述药材均购自上海康桥中药饮片有限公司,符合中国药典 2005 年版要求。

实验动物 雄性 6 周龄 SD 大鼠,体重 (200±20) g,上海中医药大学实验动物中心提供,合格证号为 SYXK (沪) 2008-0016。

色谱条件 色谱柱: kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 带保护柱); 流动相: 乙腈 (A)-0.05% 三氟乙酸水溶液 (B)。梯度洗脱,洗脱程序为 15% A–85% B (0~3 min), 20% A–80% B (5~12 min), 25% A–75% B (20~32 min), 40% A–60% B (36~50 min), 50% A–50% B (51~65 min), 82% A–18% B (66~72 min); 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长: 232 nm; 柱温: 25 °C; 进样量 20 μL。

芍药甘草复方煎煮液的制备 取芍药 106 g、甘草 159 g,加 8 倍量水煎煮两次 (每次 45 min),合并两次煎煮液,滤过,浓缩至 50 mL (每 mL 含芍药生药 2.12 g, 含甘草生药 3.18 g),为芍药甘草复方合煎液 1 (S : G = 4 : 6, SG1)。

取芍药、甘草药材各 106 g,同法煎煮,浓缩至 50 mL (每 mL 含芍药生药 2.12 g, 含甘草生药 2.12 g),为芍药甘草复方合煎液 2 (S : G = 4 : 4, SG2)。

取芍药 106 g、甘草 53 g,同法煎煮,浓缩至 50 mL (每 mL 含芍药生药 2.12 g, 含甘草生药 1.06 g),为芍药甘草复方合煎液 3 (S : G = 4 : 2, SG3)。

取芍药 106 g、甘草 26.5 g,同法煎煮,浓缩至 50 mL (每 mL 含芍药生药 2.12 g, 含甘草生药 0.53 g),为芍药甘草复方合煎液 4 (S : G = 4 : 1, SG4)。

取芍药 106 g、甘草 13.25 g,同法煎煮,浓缩至 50 mL (每 mL 含芍药生药 2.12 g, 含甘草生药 0.265 g),为芍药甘草复方合煎液 5 (S : G = 4 : 0.5, SG5)。

取芍药、甘草各 106 g,同法单独煎煮,浓缩至 50 mL (每 mL 含生药 2.12 g),分别为芍药单煎液、甘草单煎液 (分别用 S、G 表示)。

给药方案和血样采集及处理 取 SD 大鼠,禁食 12 h (自由饮水),按照每 200 g 体重 4 mL 的剂量,分别灌胃给予各煎煮液,于给药后 5、15、30、45、60、90、120、180、240、360、480 和 720 min 眼眶取血

0.5 mL, 离心 15 min ($3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液 0.1 mL, 加入 5 倍量甲醇, 涡旋混匀 30 s, 离心 15 min ($6\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液, 即得。

方法学考察 取大鼠灌胃给予芍药甘草复方水煎液后 30 min 血浆样品, 处理后测定批内及批间精密度。结果显示, 测得的共有峰保留时间 RSD 小于 5%, 峰面积的 RSD 小于 15%, 表示进样的精密度良好。另取 5 只大鼠灌胃给予芍药甘草复方水煎液后 30 min 血浆样品, 处理后测定方法重复性。结果显示, 各共有峰保留时间 RSD 小于 10%, 峰面积 RSD 小于 20%, 表明其重复性良好。

数据分析 用 DAS 2.0 软件计算各移行成分色谱峰的药动力学参数, 利用 SPSS 15.0 统计软件进行相关性分析。

结果

1 芍药甘草复方移行入血成分的分析

比较芍药甘草复方合煎液、芍药单煎液、甘草单煎液、蒸馏水给药后血浆 HPLC 图, 经成分归属得出芍药甘草复方移行入血成分。其中保留时间为 4.7、5.2、11.0 和 12.0 min 处的入血特征峰移行自芍药, 保留时间为 14.6、17.1 和 18.1 min 处的入血特征峰移行自甘草, 结果见图 1。

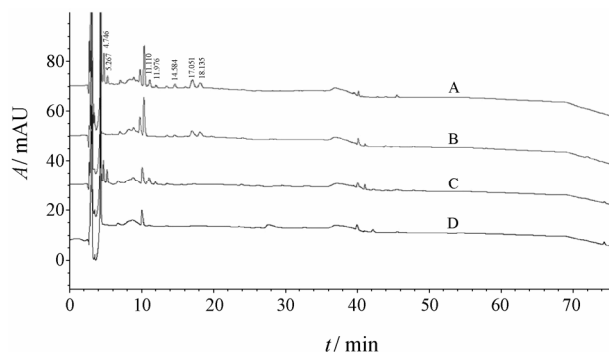


Figure 1 Plasma HPLC fingerprint in rat after oral administration of Shaoyao-Gancao decoction (A), Gancao decoction (B), Shaoyao decoction (C) and distilled water (D)

2 甘草不同剂量对比芍药甘草复方移行入血成分的比较

以芍药甘草复方移行入血 7 个成分为研究对象, 分析比较甘草不同剂量配比组大鼠给药后血浆 HPLC 特征图谱。用 DAS 2.0 软件计算各移行色谱峰的药动力学参数, 通过对各移行入血成分吸收情况进行比较分析发现, SG1 组规律性不明确, 故除去 SG1 组再次进行比较分析, 结果见图 2。

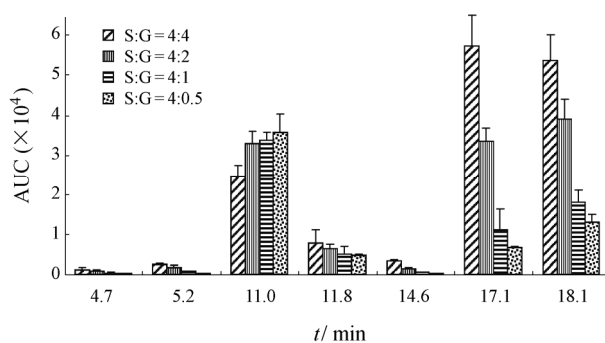


Figure 2 The absorption trends of characteristic peaks in rat plasma after oral administration of different doses of Gancao in Shaoyao-Gancao decoction (except SG 1)

结果表明, 除保留时间为 11.0 min 移行入血特征峰外, 其余 6 个特征峰通过比较 AUC 得其吸收趋势为 $\text{SG2} > \text{SG3} > \text{SG4} > \text{SG5}$; 保留时间 11.0 min 吸收趋势为 $\text{SG5} > \text{SG4} > \text{SG3} > \text{SG2}$ 。

3 甘草不同剂量对比芍药甘草复方移行入血成分 AUC 相关性分析

各配比组中君药芍药的量是固定的, 将甘草对于芍药的剂量比 (X) 作为自变量, 以 4.7、5.2、11.0、12.0、14.6、17.1 和 18.1 min 各移行入血色谱峰的 AUC 的平均值 (Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 、 Y_5 、 Y_6 和 Y_7) 为因变量, 将各移行入血成分 AUC (除去 SG1 组) 输入计算机, 利用 SPSS 15.0 统计软件对因变量进行二项式拟合, 得回归方程为: $Y_1 = -687.080 X^2 + 1\ 784.566 X + 35.812$ ($r = 0.995$), $Y_2 = -2\ 935.561 X^2 + 5\ 916.903 X - 530.725$ ($r = 0.999$), $Y_3 = -9\ 559.634 X^2 - 1\ 201.601 X + 35\ 576.285$ ($r = 0.992$), $Y_4 = -2\ 139.188 X^2 + 6\ 210.695 X + 3\ 725.192$ ($r = 0.992$), $Y_5 = 1\ 569.972 X^2 + 1\ 902.241 X - 55.630$ ($r = 0.999$), $Y_6 = -24\ 292.66 X^2 + 87\ 803.345 X - 5\ 976.783$ ($r = 0.994$), $Y_7 = -42\ 905.87 X^2 + 97\ 024.158 X - 308.722$ ($r = 0.992$)。

根据以上各数学模型显示, 甘草对于芍药的剂量对比芍药甘草复方中 7 个入血成分的 AUC 均存在一定的影响, Y_1 、 Y_2 、 Y_4 、 Y_5 、 Y_6 、 Y_7 与 X 成正相关, 即 4.7、5.2、12.0、14.6、17.1 和 18.1 min 处移行入血特征成分的吸收随甘草剂量的增加而增加; Y_3 与 X 成负相关, 即 11.0 min 处移行入血特征成分的吸收随甘草剂量的增加反而减少。从实验结果及建模分析中可以发现随着 5.2 min (Y_2) 和 12.0 min (Y_4) 移行入血成分吸收的增加, 4.7 min (Y_1) 移行入血成分的吸收也相应增加; 随着 17.1 min (Y_6) 移行入血成分吸收的增加, 4.7 min (Y_1) 和 12.0 min (Y_4) 移行入血成分的吸收也相应增加; 随着 18.1 min (Y_7) 移行入血成分吸收的增加, 4.7 min (Y_1)、5.2 min (Y_2)、12.0 min (Y_4) 和 17.1 min

(Y_6) 移行入血成分的吸收也相应增加; 而随着 14.6 min (Y_5) 移行入血成分吸收的增加, 11.0 min (Y_3) 移行入血成分的吸收反而相应减少, 经直线回归分析, 发现每两者间存在明显的线性关系, 结果见表 1。

Table 1 The regression equations of characteristic peaks in rat plasma

Regression equations	Correlation coefficient	Significant of equations
$Y_1 = 0.383 Y_2 + 158.491$	0.993	$P < 0.01$
$Y_1 = 0.265 Y_4 - 926.279$	0.999	$P < 0.01$
$Y_1 = 0.017 Y_6 + 192.619$	0.998	$P < 0.01$
$Y_4 = 0.063 Y_6 + 4 221.011$	0.999	$P < 0.01$
$Y_1 = 0.021 Y_7 + 6.527$	0.999	$P < 0.01$
$Y_2 = 0.053 Y_7 - 378.827$	0.995	$P < 0.01$
$Y_4 = 0.078 Y_7 + 3 524.733$	0.997	$P < 0.01$
$Y_6 = 1.229 Y_7 - 10 905.99$	0.994	$P < 0.01$
$Y_3 = -3.335 Y_5 + 36 365.263$	0.993	$P < 0.01$

讨论

古方中芍药与甘草的剂量配伍多为 1 : 1。通过本实验的研究发现, 对于以上 7 个吸收入血的成分, 其中 6 个的吸收都是以 S : G = 4 : 4 为最佳, 与古方常用剂量相符, 从药动学角度证明了古方用药的合理性与科学性, 即芍药与甘草之间存在着一个最佳剂量比, 当此剂量比达到时, 两者配伍发挥最佳效用。

对于源自芍药的 4 个相关吸收入血移行成分, 其中 3 个移行成分 (保留时间为 4.7、5.2 和 12.0 min) 以芍药与甘草的剂量配比为 4 : 4 时最佳, 然而也存在一个移行成分 (保留时间为 11.0 min) 的吸收随甘草剂量的增加反而减少, 由此说明并非甘草剂量越大其促进芍药整体吸收的能力越强, 其药效特征成分的吸收“此消彼长”, 此“此消彼长”不仅发生在两种药味之间, 如研究^[7]中观察到移行自甘草的 3 个吸收入血移行成分中的两个成分 (保留时间为 17.1 和 18.1 min) 随芍药吸收的增加反而减少; 也可能来自同一药物的成分, 通过降低某些特征成分 (保留时间为 11.0 min) 的吸收来增加其他的特征成分 (保留时间为 4.7、5.2 和 12.0 min) 的吸收, 以达到共同促使生物效应增强的目的, 其机制还有待于进一步的研究。对于源自甘草的 3 个相关吸收入血特征峰 (保留时间为 14.6、17.1 和 18.1 min), 也在配比为 S : G = 4 : 4 时最佳, 由此同样说明并非甘草剂量越大, 其本身吸收的越多, 芍药与甘草剂量配比间存在一个最佳配比值使效应成分达到最佳吸收。

临床对于芍药甘草药对的使用一般以君药芍药

大于或等于臣药甘草为普遍用法^[6, 8]。本文为研究甘草剂量对芍药吸收的影响, 故设置了甘草剂量高于芍药的比例 (S : G = 4 : 6), 旨在寻求甘草相使配伍芍药的剂量依据。在进行剂量与移行入血成分的 AUC 相关性分析时, 由于 S : G = 4 : 6 组对于各移行入血成分吸收趋势的影响各不相同, 规律性不明确, 因此未将其列入统计。

本实验着重探讨的是甘草剂量变化对于芍药甘草复方吸收入血的影响, 因此分析时侧重于 Y_5 、 Y_6 、 Y_7 (14.6、17.1 和 18.1 min 处移行自甘草的特征色谱峰) 分别对于 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 (4.7、5.2、11.0 和 12.0 min 处移行自芍药的特征色谱峰) 的相关性分析, 分析结果显示在一定的范围内随着甘草剂量的增加其对芍药吸收的促进作用存在着“此消彼长”的关系, 与前期实验相符, 进一步证明了甘草的相使作用。

References

- [1] Lin L, Liu JX, Zhang Y, et al. Evaluation of different combinations of components of Chinese formulation Shuangshen-tongguan by using AUC values [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2009, 44: 1029-1033.
- [2] Liu J, Jiang YG, Liu W, et al. Analysis of the data on the dose of combined drugs of traditional Chinese medicine [J]. Shandong J Tradit Chin Med (山东中医杂志), 2006, 25: 340-341.
- [3] Yang SJ, Peng SL. Adventure research on compatibility of ShaoyaoGancao decoction [J]. Int Med Health Guid News (国际医药卫生导报), 2009, 15: 112-114.
- [4] Shen L, Zhang L, Feng Y, et al. Study on fingerprints correlated with pharmacodynamics of *Paeonia lacliflora* and *Glycyrrhiza uralensis* effective compounds [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2008, 33: 2658-2661.
- [5] Shen L, Feng Y, Xu DS, et al. Pharmacokinetics study on characteristic ingredients from Shaoyao before and after compatibility [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2008, 43: 1774-1776.
- [6] Zhong ZY, Gong AD, Han J, et al. Studies on the optimal proportion of ShaoyaoGancao decoction by orthogonal design and linear regression [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2005, 21: 7-10.
- [7] Shen L. Pharmacokinetics research on characteristic ingredients from Gancao before and after compatibility by HPLC fingerprinting [DB/OL]. Sciencepaper Online, 2010[2010-01-05]. <http://www.paper.edu.cn/index.php/default/releasepaper/content/201001-133>.
- [8] Zhao GP, Qian SQ, Li ZQ. Characteristics of prescription and ideas on developed application of ShaoyaoGancao decoction [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2007, 29: 1503-1504.