

复方丹参制剂多组分口服吸收及其相互影响研究的思考

恽 菲, 狄留庆*, 李俊松, 单进军, 陈乐天, 毕肖林, 赵晓莉

南京中医药大学, 江苏 南京 210046

摘 要: 在系统分析复方丹参制剂主要活性组分群口服吸收及其相互影响研究进展的基础上, 总结复方多成分体系中主要活性成分口服吸收特征及相互影响的研究思路与方法, 提出开展研究中药复方制剂多成分体系口服吸收及相互影响, 对阐明中药复方配伍合理性、合理设计中药复方剂型显得尤为重要。

关键词: 丹参; 复方丹参制剂; 吸收; 相互影响; 研究思路

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)10-2135-04

Research ideas on oral absorption of multi-component in Compound Danshen Preparation and their interaction

YUN Fei, DI Liu-qing, LI Jun-song, SHAN Jin-jun, CHEN Le-tian, BI Xiao-lin, ZHAO Xiao-li

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Key words: *Salvia miltiorriza* Bunge; Compound Danshen Preparation; absorption; interaction; research ideas

复方丹参方由丹参、三七、冰片组方, 可活血化瘀、理气止痛, 是临床治疗冠心病、心绞痛的常用方剂^[1]。该方以丹参活血定痛, 三七活血补气, 冰片引药入经为配伍特点, 相辅相成, 充分体现了中药复方多成分、多靶点的作用特点^[2], 目前已收录于《国家基本药物目录》, 其疗效确切, 不良反应少, 是防治心脑血管疾病不可缺少的有效药物之一^[3]。

本文在复方丹参制剂主要活性成分口服吸收特征及其相互影响研究的基础上, 提出中药复方多组分口服吸收特征的综合表征方法, 为合理评价中药复方多组分制剂的口服吸收特征及其生物利用度, 合理设计剂型奠定基础。

1 复方丹参制剂主要活性成分口服吸收特征

复方丹参制剂目前常用的剂型有片剂、滴丸、颗粒剂、口服液、胶囊剂和气雾剂等 10 余种^[4], 其中片剂、颗粒剂和滴丸已被《中国药典》2010 年版收载^[5], 口服给药是复方丹参制剂临床最常用的给药途径。近年来, 大量文献研究报道了复方丹参制剂中主要活性成分口服吸收特征及其相互影响。

1.1 丹参主要活性成分口服吸收特征

丹参的主要活性成分^[6-7]分为两大类, 即脂溶性

的二萜醌类化合物丹参酮 I、丹参酮 II_A、隐丹参酮等和水溶性的酚酸类成分丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹参素、原儿茶醛等。

1.1.1 丹参水溶性成分口服吸收特征 Zhou 等^[8]建立人结肠癌细胞系 (Caco-2) 细胞模型和大鼠在体单向肠灌流模型研究丹参素和丹酚酸 B 的吸收机制, 通过测定肠黏膜表观渗透系数 (P_{app}), 发现两者肠黏膜透过性低, 与文献报道一致^[9-10]。经测定油水分配系数发现丹参素和丹酚酸 B 都属于强亲水性化合物, 肠黏膜透过性差, 口服生物利用度低 (丹参素为 11.09%, 丹酚酸 B 为 3.90%)。同时研究发现, 丹参素和丹酚酸 B 的吸收主要是经由细胞旁路途径, 而非主动转运, 细胞旁路仅占小肠上皮细胞总面积的 0.1%, 甚至更少, 加上上皮细胞间的紧密连接作用, 使得亲水性的丹参素和丹酚酸 B 吸收极少。张向荣等^[11]采用大鼠在体小肠回流实验, 测得丹酚酸 A 在大鼠小肠的吸收率较低, 平均吸收率为 20.5%; 在低、中、高 3 种不同浓度下, 丹酚酸 A 的吸收速率常数 (K_a) 未见显著性差异 ($P > 0.05$), 其在小肠的吸收机制为被动扩散。

1.1.2 丹参脂溶性成分口服吸收特征 袁媛等^[12]

收稿日期: 2011-03-23

基金项目: 江苏省“青蓝工程”科技创新团队支持计划[苏教师(2008)30号]; 江苏省优势学科支持计划(2011-2015)

作者简介: 恽 菲 (1987—), 女, 2011 级博士研究生。

*通讯作者 狄留庆 Tel: (025)85811071 E-mail: diliuqing@njutcm.edu.cn

建立大鼠在体肠吸收模型,采用 HPLC 测定丹参酮 II_A 的量,并研究其吸收机制,发现给予不同剂量的丹参酮 II_A,其 K_a 随浓度的增加而呈微小下降,提示丹参酮 II_A 在大鼠胃肠道的吸收存在饱和现象,表明其在机体内的转运机制类似于主动转运或易化扩散。进一步以 Caco-2 细胞作为吸收研究模型进行研究^[13],发现其吸收无细胞旁路途径,无外排泵参与,但其在 Caco-2 细胞模型中的转运机制(类似载体介导转运兼有被动扩散)与最初结果部分一致,并分析可能的原因:①Caco-2 细胞与大鼠小肠的异源性;②两种实验丹参酮 II_A 浓度存在差异。毕惠嫦等先后采用大鼠在体肠灌流模型和 Caco-2 细胞模型研究隐丹参酮吸收机制,共同揭示其吸收机制主要是主动转运;肠灌流模型还探讨了 P-糖蛋白(P-gp)对隐丹参酮吸收的影响,发现隐丹参酮可能是 P-gp 底物,使其吸收减少^[14-15]。

1.2 三七主要活性成分口服吸收特征

三七总皂苷是三七的活性部位,其中量最多的有效成分是人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rg₁,但二者口服生物利用度较低(人参皂苷 Rg₁ 为 3.29%,Rb₁ 为 0.71%)。韩旻等^[16]采用 Caco-2 细胞和动物模型研究探讨了三七总皂苷中人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁ 的口服吸收机制及其口服生物利用度和药效低的原因。结果表明,人参皂苷 Rb₁ 和 Rg₁ 肠壁吸收机制为单纯被动扩散,吸收过程不受细胞膜内 P-gp 和多药耐药相关蛋白(MRP)等外排载体的作用。但吸收过程中,胃液酸性环境的破坏、大肠菌丛中酶的降解及肝的首关效应均对其口服生物利用度产生影响,而肠道黏膜的透过性低是其口服吸收差的主要影响因素。

2 丹参、三七提取物中辅助成分对活性成分口服吸收的影响

单味中药提取物含有多种化学成分,且这些成分会发生相互作用^[17],通过对单体成分和提取物吸收特征的研究,有利于分析提取物中其他共存成分对单体有效成分可能产生的协同、拮抗及转化作用等。

2.1 丹参提取物中辅助成分对隐丹参酮、丹参酮 II_A 口服吸收的影响

宋敏等^[18]对大鼠口服隐丹参酮单体和丹参提取物中隐丹参酮的药动学行为进行了比较研究,采用 LC-MS-MS 测定大鼠血浆隐丹参酮的浓度,考察隐丹参酮的体内过程及共存成分的协同影响。结果表明,丹参提取物中其他成分可促进隐丹参酮的吸收和/或转化,提高隐丹参酮的生物利用度。另外研究

表明,丹参脂溶性提取物中的其他成分促进丹参酮 II_A 和隐丹参酮的吸收,使隐丹参酮在大鼠体内的吸收速度加快,同时使其从中央室向周边室分布,也促进隐丹参酮向丹参酮 II_A 的转化。闫红波等^[19]研究丹参酮类单体成分及丹参脂溶性提取物在大鼠小肠内的吸收机制,发现有效部位中其他成分对 3 种测定成分的吸收过程有明显作用,其中对丹参酮 II_A、隐丹参酮的吸收起促进作用,但对丹参酮 I 则有抑制作用。因此,丹参药材中共存的成分对其药效成分在大鼠小肠段的吸收起到不同的影响。

2.2 丹参提取物中辅助成分对原儿茶醛和丹酚酸 B 口服吸收的影响

袁媛等^[12]发现药材的混合提取液中,丹参酮 II_A 的 K_a 值比单独给予丹参酮 II_A 的大,吸收半衰期小,说明药材的混合提取液中的共存成分对丹参酮 II_A 的吸收有促进作用。宋敏^[20]通过 ig 大鼠丹参水溶性成分原儿茶醛和丹酚酸 B 的单体以及含等剂量水溶性有效成分的丹参水溶性提取物,测定其药动学过程,并进行比较,分析丹参水溶性提取物中的其他共存成分对原儿茶醛和丹酚酸 B 在大鼠体内过程的影响。结果表明,丹参水溶性提取物中的其他成分使原儿茶醛在大鼠体内吸收减少、消除变快,却促进丹酚酸 B 的吸收,并使其在体内的消除减缓。

2.3 三七提取物中辅助成分对人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rg₁ 口服吸收的影响

韩旻等^[16]采用 Caco-2 模型研究三七总皂苷对其中人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Rg₁ 口服吸收的影响。通过考察人参皂苷 Rb₁、Rg₁ 与三七总皂苷在 Caco-2 细胞上摄取与时间的关系,以及通过研究环孢菌素 A 对人参皂苷 Rb₁、Rg₁ 及三七总皂苷在 Caco-2 细胞上摄取的影响,表明三七总皂苷中其他成分对人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的吸收特性无明显影响。

3 复方丹参制剂组方配伍对主要活性成分口服吸收的影响

经复方配伍,有效成分间相互作用更显复杂。研究配伍后,其他药材对单味药材中已经明确药效作用的单体成分在吸收过程中的影响,有利于建立中药生药药剂学基础研究方法,揭示中药作用特点及组方理论的科学内涵,充分发挥复方配伍后的有益影响。

3.1 复方丹参制剂中冰片对丹参主要成分口服吸收的影响

3.1.1 冰片对丹参水溶性成分口服吸收的影响 赖筱娟等^[21]应用大鼠在体单向肠灌流法,研究丹酚酸

提取物中迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹酚酸 A 配伍不同浓度冰片后的吸收情况,随着冰片浓度的增加,三者的吸收明显增加,但当冰片达到一定量时,促吸收作用减弱,中浓度冰片的促吸收效果最好。郑晓辉等^[22]选择复方丹参方中使药冰片和君药丹参为研究对象,采用 HPLC-MS-MS 研究丹参与冰片配伍前后,丹参中有效成分丹参素在兔体内的药动学变化,发现冰片可提高丹参素的生物利用度,减慢代谢,促进丹参素对血脑屏障的通透性。

3.1.2 冰片对丹参脂溶性成分口服吸收的影响 李莉等^[13]采用 Caco-2 细胞模型,研究了冰片对丹参脂溶性成分转运的影响,结果显示冰片对丹参脂溶性成分有明显的促吸收作用,随着冰片浓度增加,丹参脂溶性成分通透性显著增加,但当冰片与丹参酮 II_A 浓度比大于 4:1 时,冰片促吸收作用变弱,提高冰片浓度,丹参脂溶性成分通透性只略微增加。

3.2 丹参提取物对冰片口服吸收的影响

胡珊珊等^[23]以天然冰片中龙脑为指标成分,采用 GC 测定其血药浓度,研究方中丹参对冰片在家兔体内药动学的影响,结果显示配伍后丹参可提高冰片的吸收和分布速率,使冰片消除速度降低,药-时曲线下面积(AUC)增加,表观清除率降低,提示丹参可提高冰片的生物利用度,使冰片由血液向组织转化的速度降低。

3.3 丹参和冰片对三七总皂苷成分吸收影响

针对三七总皂苷口服吸收差的特点,曾昭征等^[24]着重考察复方配伍对三七总皂苷的主要活性成分人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的胃肠道稳定性、膜渗透性和脂溶性等性质的影响,阐明复方丹参配伍合理性。

采用大鼠在体单向灌流模型,测定三七总皂苷单方、三七总皂苷+冰片、三七总皂苷+丹参醇提物和三七总皂苷+丹参醇提物+冰片中人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的肠黏膜 P_{app},并测定各方中两成分的油水分配系数,结果表明三七总皂苷与冰片或丹参配伍后,人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的膜渗透性均有提高,其中三七总皂苷+冰片较为显著,P_{app} 值分别为单方的 2.56 和 1.58 倍;三七总皂苷+丹参醇提物+冰片中人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的膜渗透性提高最为显著,P_{app} 值分别为单方的 4.87 和 2.33 倍。说明冰片和丹参醇提物均具有改善人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 膜渗透性的作用。与单方相比,三七总皂苷的任何配伍复方中两成分的油水分分配系数均有所提高,但无显著性差异。复方配伍可提高三七总皂苷的膜渗透性和

脂溶性,促进其口服吸收。但是,通过考察三七总皂苷单方和三七总皂苷+丹参醇提物+冰片在人工胃肠液中孵育后两成分的稳定性,发现配伍后并不能改善其胃肠道稳定性。

4 基于复方丹参制剂口服吸收特征及其相互影响研究的思考

4.1 复方丹参制剂口服吸收特征研究的前提是明确反映复方丹参制剂口服吸收特征的指标性成分群

复方丹参制剂口服吸收特征研究时,选择了丹参酮、隐丹参酮、丹酚酸、丹参素作为丹参的指标性成分,人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 作为三七的指标性成分,将上述成分群与冰片共同组成复方丹参制剂口服吸收特征评价用成分群体系。这一基于药材活性成分研究的指标性成分群评价体系,从研究的角度起到删繁就简的作用,也是当前中药复方制剂口服吸收特征研究的常用方法,但是,指标性成分群确立的依据如何及体内发挥综合效应的有效组分及其血药浓度最适宜的相对比例如何获得等科学问题尚缺乏成熟的研究思路与方法。

4.2 深入开展复方丹参制剂口服吸收指标性成分血药浓度相对比值与生物效应相关性研究

基于特定靶点的复方丹参制剂中各有效成分体内血药浓度同样存在适宜的阈值范围,相互间存在适宜的相对比值,其生物效应是适宜血药浓度的各有效成分在各自靶点上综合效应的表达。

对于复方丹参制剂口服吸收特征的研究,虽然选择了丹参的指标性成分丹参酮、隐丹参酮、丹酚酸、丹参素,三七总皂苷中人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1},与冰片共同组成复方丹参制剂口服吸收特征评价用成分群体系,并对其口服吸收特征及其相互影响进行研究,但是,迄今为止,尚未对复方丹参制剂口服后,指标性成分血药浓度相对比值与制剂生物效应相关性开展研究。

4.3 复方丹参制剂口服吸收特征的研究宜在单体活性成分口服吸收特征研究的基础上,进一步研究提取物辅助成分以及复方中其他药物配伍相互间的影响

通过对复方丹参制剂中主要活性成分口服吸收特征及其相互影响的探讨,从而最终获得复方丹参制剂活性成分群口服吸收特征,为中药复方的配伍研究提供了又一方法,即首先对单体有效成分的口服吸收机制进行研究,可采用离体实验模型(组织流动室法、外翻环法、外翻肠囊法等)、原位实验模型(肠道灌流、肠道的血管灌流技术、肠肝血管灌

流技术等)以及细胞培养模型——Caco-2 细胞系多种模型,揭示限制其吸收的主要因素,随后采用适宜的研究方法,相继分析提取物中其他共存成分和复方配伍后对单体有效成分吸收的影响。从而一方面可有目的、有方向、有重点地针对吸收不良的中药成分或其制剂进行给药途径选择和剂型改造或提出新的口服剂型方案,促进中药口服剂型的发展;另一方面复方肠吸收环节的研究更是阐述中药复方配伍合理性的又一切入点,与前人的研究相结合,能更加客观全面地阐述中药复方配伍的机制,对理解中医药的科学内涵具有重要意义。

5 结语

当前中药复方制剂口服吸收特征研究的方法有待进一步规范,从吸收角度,复方丹参制剂中主要活性成分口服吸收特征及其相互影响仍存在许多问题值得深入探讨。关于丹参方面,国内外对丹参研究较多,但有关丹参水溶性成分丹参素和丹酚酸 B 吸收机制研究结果存在争议,如朱狄峰等^[25]用 Caco-2 细胞模型研究丹参素吸收机制,指出其转运可能主要是由 P-gp 转运蛋白介导的主动转运,而刘睿等^[26]采用在体单向灌流法研究丹酚酸 B 在大鼠小肠的吸收情况,发现丹酚酸 B 的小肠吸收存在高浓度饱和现象,与 Zhou 等^[8]得出的两成分吸收主要是经由细胞旁途径、非主动转运这一结论相矛盾。关于三七方面,曾昭征等^[24]仅采用大鼠在体单向灌流模型研究三七总皂苷单方及其配伍复方中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的肠黏膜 Papp,还可以考虑利用 Caco-2 细胞模型研究上述问题,增强科学严谨性;再者,根据已得出的结论,按复方丹参方配伍后,三七总皂苷稳定性并未得到明显改善,可以考虑采取适宜的制剂学方法避免三七总皂苷在胃内降解,从而提高其胃肠道稳定性。

参考文献

[1] 罗晓健,毕开顺,周书余,等. 复方丹参片的研究概况 [J]. 中成药, 2001, 23(5): 371-374.
[2] 范彦俊,石俊英. 近五年复方丹参片的研究进展 [J]. 齐鲁药事, 2009, 28(4): 225-228.
[3] 覃仁安,罗佳波,黄竹英,等. 复方丹参片实验研究及临床应用概况 [J]. 中医杂志, 2004, 45(6): 470-472.
[4] 刘小青,罗宪堂,欧阳小安. 复方丹参剂型研究简况 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(5): 474-475.
[5] 中国药典 [S]. 2010.
[6] 赵娜,郭治昕,赵雪,等. 丹参的化学成分与药理作用 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(4): 155-158.
[7] 陈磊,陆茵,郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 476-479.

[8] Zhou L M, Chow M S S, Zuo Z. Effect of sodium caprate on the oral absorptions of danshensu salvianolic acid B [J]. *Int J Pharm*, 2009, 379: 109-118.
[9] Kim H H, Kim J, Ji H Y, et al. Pharmacokinetics of lithospermic acid B isolated from *Salvia miltiorrhiza* in rats [J]. *Toxicol Environ Health A*, 2005, 68: 2239-2247.
[10] Grès M C, Julian B, Bourrié M, et al. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability in TC-7 cells, a human epithelial intestinal cell line: comparison with the parental Caco-2 cell line [J]. *Pharm Res*, 1998, 15: 726-733.
[11] 张向荣,潘卫三. 丹参酚酸 A 在大鼠小肠的吸收动力学研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(1): 14-16.
[12] 袁媛,蒋学华,周静,等. 丹参酮 II_A 在大鼠体肠的吸收机理 [J]. 华西药学杂志, 2002, 17(4): 246-248.
[13] 李莉,袁媛,蒋学华. 丹参脂溶性成分在 Caco-2 细胞模型中吸收机制研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(2): 108-112.
[14] 毕惠嫦,关溯,陈孝,等. 隐丹参酮在小肠吸收机制的实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 21(2): 107-110.
[15] 关溯,毕惠嫦,陈孝,等. 隐丹参酮在 Caco-2 细胞模型中的吸收机制 [J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 21(4): 268-271.
[16] 韩旻,韩丽妹,王青松,等. 三七皂苷的口服吸收机制 [J]. 药学报, 2006, 41(6): 498-505.
[17] 周斌,张铁军,高文远,等. 中药复方配伍规律及药效物质基础研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1601-1605.
[18] 宋敏,杭太俊,张正行. 隐丹参酮及丹参酮提取物在大鼠体内的药动学比较研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(1): 51-54.
[19] 闫红波,吴清,杜守颖,等. 丹参酮类成分及丹参脂溶性提取物在大鼠小肠内的吸收机制比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2917-2922.
[20] 宋敏,杭太俊,张正行. 丹参提取物有效成分在大鼠体内的药代动力学和相互影响研究 [J]. 药学报, 2007, 42(3): 301-307.
[21] 赖筱娟,刘汉清,李俊松,等. 丹酚酸提取物中 3 种成分的大鼠肠吸收特性及冰片对其吸收的影响 [J]. 药学报, 2010, 45(12): 1576-1581.
[22] 郑晓晖,赵欣,房敏峰,等. 复方丹参方中使药冰片对君药丹参药代动力学的影响 [J]. 西安交通大学学报, 2007, 28(2): 170-173.
[23] 胡珊珊. 丹参君药对使药冰片的药代动力学影响研究 [D]. 西安: 西北大学, 2008.
[24] 曾昭征,刘建平,李素春. 复方配伍对三七总皂苷生物药剂学性质的影响 [J]. 药学进展, 2009, 33(10): 466-472.
[25] 朱狄峰,赵筱萍,程翼宇. 丹参素在 Caco-2 细胞单层模型中的跨膜转运研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18): 1518-1521.
[26] 刘睿,刘志东,张伯礼,等. 丹酚酸 B 大鼠在体肠吸收研究 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(10): 852-860.