

川芎嗪、阿魏酸对延胡索乙素大鼠体内药动学的影响

冯彬彬^{1,2}, 张建海¹, 徐晓玉^{2*}

1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404120

2. 西南大学, 重庆 400716

摘要: 目的 探讨川芎嗪、阿魏酸对延胡索乙素大鼠体内的药动学规律的影响。方法 32只SD大鼠, 分为延胡索乙素(20 mg/kg)组、延胡索乙素(20 mg/kg)+阿魏酸(50 mg/kg)组、延胡索乙素(20 mg/kg)+川芎嗪(30 mg/kg)组、延胡索乙素(20 mg/kg)+川芎嗪(30 mg/kg)+阿魏酸(50 mg/kg)组, 各组单剂量ig给药, 采用RP-HPLC法分别测定各组大鼠血浆中延胡索乙素的浓度, DAS2.0程序计算药动学参数。结果 延胡索乙素与阿魏酸或者川芎嗪联合给药时, AUC_{0-t} 、 C_{max} 与延胡索乙素单独给药相比显著增加, t_{max} 、 $t_{1/2}$ 和 MRT_{0-t} 比延胡索乙素单独给药时显著延长($P<0.05$); 延胡索乙素同时与阿魏酸、川芎嗪二者联合给药时 AUC_{0-t} 、 MRT_{0-t} 、 $t_{1/2}$ 和 t_{max} 与延胡索乙素单独给药相比显著增大($P<0.05$), 而 C_{max} 与延胡索乙素单独给药时相比无显著差异。结论 阿魏酸、川芎嗪可以显著增加延胡索乙素在大鼠体内的吸收, 并显著延长延胡索乙素在大鼠体内的作用时间。

关键词: 延胡索乙素; 川芎嗪; 阿魏酸; 药动学; 联合用药

中图分类号: R285.51

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)18-2664-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.18.017

Effects of tetramethylpyrazine and ferulic acid on pharmacokinetics of tetrahydropalmatine in rats

FENG Bin-bin^{1,2}, ZHANG Jian-hai¹, XU Xiao-yu²

1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China

2. Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of tetramethylpyrazine (TMP) and ferulic acid (FA) on pharmacokinetics of tetrahydropalmatine (THP) in rats. **Methods** Thirty-two Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups such as THP 20 mg·kg⁻¹, THP 20 mg·kg⁻¹ + FA 50 mg·kg⁻¹, THP 20 mg·kg⁻¹ + TMP 30 mg·kg⁻¹, and THP 20 mg·kg⁻¹ + FA 50 mg·kg⁻¹ + TMP 30 mg·kg⁻¹ groups. All the rats were ig administered and then blood samples were obtained from fossa orbitalis at several time points. All the plasma concentration was analyzed by RP-HPLC method and the data were treated by DAS 2.0 program. **Results** Compared with THP alone, THP combined with TMP or FA could increase the AUC_{0-t} , t_{max} , and C_{max} , and prolong the $t_{1/2}$ and MRT_{0-t} ($P<0.05$). Compared with THP alone, THP combined with TMP and FA could increase the AUC_{0-t} , MRT_{0-t} , $t_{1/2}$, and t_{max} , but had no influence on the C_{max} . **Conclusion** FA and TMP can prolong the action time of THP in rats, and increase of THP absorption in rats *in vivo*.

Key words: tetrahydropalmatine; tetramethylpyrazine; ferulic acid; pharmacokinetics; drug combination

内异消是本课题组研制开发的用于治疗子宫内膜异位症的中药新药, 由川芎、延胡索等药材组成, 该方根据中医辨证原则主要以活血化瘀为主, 其中含有多重有效成分如川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)、阿魏酸(ferulic acid, FA)、延胡索乙素(tetrahydropalmatine, THP)等。实验证明, 该药可

显著抑制模型大鼠异位组织的增生和血管内皮细胞增殖^[1], 且不良反应轻, 对子宫内膜异位症显示出良好的治疗前景。延胡索乙素是罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的主要活性成分^[2], 具有镇痛、催眠、降低冠脉阻力及增加血流量等作用, 临床上应用较为广泛, 对胃痛、头痛、肋

收稿日期: 2013-12-08

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(CSTC2012jjA10012); 重庆市重大科技攻关项目(CSTC2008AA5004)

作者简介: 冯彬彬, 女, 博士, 副教授, 主要从事中药药理与新药开发。E-mail: fbb200596@126.com

*通信作者 徐晓玉, 女, 教授, 博士生导师。E-mail: xxy0618@sina.com

痛、痛经、气滞和血瘀^[3]等具有良好的治疗作用。延胡索在临床上配伍应用较多,本研究与川芎等中药配伍可治疗血瘀证。近年来,国内外有关延胡索乙素的研究报道主要集中在对含延胡索乙素中药材及中成药的研究^[4-10],而川芎嗪、阿魏酸单体对延胡索乙素及配伍药动学影响研究未见报道。本实验主要考察内异消中主要活性成分川芎嗪、阿魏酸对延胡索乙素在雌性大鼠体内药动学的影响,结合中药辨证药动学的研究,对延胡索乙素及其不同配伍药动学进行比较研究。本研究有益于揭示以川芎、延胡索配伍的众多活血化瘀、补血、调经著名方剂的药动学规律,为中药配伍临床应用提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent1200 高效液相色谱仪、智能柱温箱、MWD 紫外检测器(美国安捷伦公司);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(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

甲醇为色谱纯(购自迪马公司);冰醋酸为分析纯;水为去离子水;延胡索乙素对照品(批号110726-201213)购自中国食品药品检定研究院;香豆素对照品购自 Sigma 公司;川芎嗪、阿魏酸、延胡索乙素原料药(质量分数均在98%以上)购自南京泽朗有限责任公司。

1.3 动物

SD 大鼠,清洁级,雌性,体质量为(220±20)g,由重庆医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(渝)2007-0001,动物饲养于 SPF 级实验动物中心,实验环境合格证号 SYXK(渝)2009-0002。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱 Agilent SB-C₁₈ ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.3%冰醋酸(42:58);体积流量 1.0 mL/min;检测波长 280 nm;柱温 30 ℃。

2.2 标准曲线的绘制

取延胡索乙素对照品 6.6 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并定容至刻度,得 0.66 mg/mL 储备液,将延胡索乙素储备液分别稀释为 7 个不同质量浓度(0.021 9、0.042 9、0.660 0、1.320 0、6.600 0、13.200 0、21.999 0)的对照品溶液;同样

方法配制香豆素 0.73 mg/mL 储备液,将香豆素储备液稀释至质量浓度为 7.3 μg/mL。

精密吸取大鼠空白血浆 8 份各 100 μL,分别加入 100 μL 不同质量浓度的延胡索乙素对照品溶液和 100 μL 香豆素溶液(内标),配制成含延胡索乙素 0.007 3、0.014 3、0.220 0、0.440 0、2.200 0、4.400 0、7.333 0 μg/mL 系列溶液;涡旋 2 min,10 000 r/min 离心 5 min,上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,取 10 μL 进样,以延胡索乙素和内标的峰面积比值与延胡索乙素质量浓度进行线性回归,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,加入不同质量浓度的延胡索乙素对照品溶液 100 μL,再加内标溶液 100 μL,配成低、中、高不同质量浓度(0.220、4.400、6.600 μg/mL)的样品,按照“2.2”项下处理方法进行处理。

2.4 精密度试验

按“2.3”项下方法配制成高、中、低 3 种质量浓度(0.220、4.400、6.600 μg/mL)的延胡索乙素血浆样品各 3 份,用同一标准曲线测定精密度。

2.5 血浆样品制备

将 SD 大鼠分为延胡索乙素组、延胡索乙素+阿魏酸组、延胡索乙素+川芎嗪组、延胡索乙素+川芎嗪+阿魏酸组,每组 8 只,受试大鼠禁食不禁水 12 h 后,根据前期工作以及相关预试验较为理想的结果^[11-12],分别按 20 mg/kg、20 mg/kg+50 mg/kg、20 mg/kg+30 mg/kg 和 20 mg/kg+30 mg/kg+50 mg/kg 剂量单次 ig 给药,延胡索乙素组于给药后 0、30、60、90、120、180、240、300、480、720、1 440、2 160 min 眼眶静脉取血 0.5 mL;延胡索乙素+阿魏酸组于给药后 0、5、10、20、30、60、90、150、240、480、720、1 440、2 160 min 眼眶静脉取血 0.5 mL;延胡索乙素+川芎嗪组于给药后 0、5、15、30、60、90、180、300、480、720、1 440、2 160 min 眼眶静脉取血 0.5 mL;延胡索乙素+川芎嗪+阿魏酸组于给药后 0、5、10、20、30、45、60、90、120、180、300、480、720、1 440、2 160 min 眼眶静脉取血 0.5 mL;所采血液均放入装有肝素钠的 EP 管中,10 000 r/min 离心 5 min,取血浆放-20 ℃冰箱保存,用于延胡索乙素血药浓度的检测。

2.6 血浆样品处理

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”项下方法处理。

2.7 数据处理

所测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 DAS2.0 药动学程序, 计算主要药动学参数, 所有数据均采用 SPSS 11.5 软件进行分析。

3 结果与分析

3.1 方法专属性考察

在本实验色谱条件下测得的色谱图见图 1。延胡索乙素和内标(香豆素)得到较好分离, 无明显干扰峰。

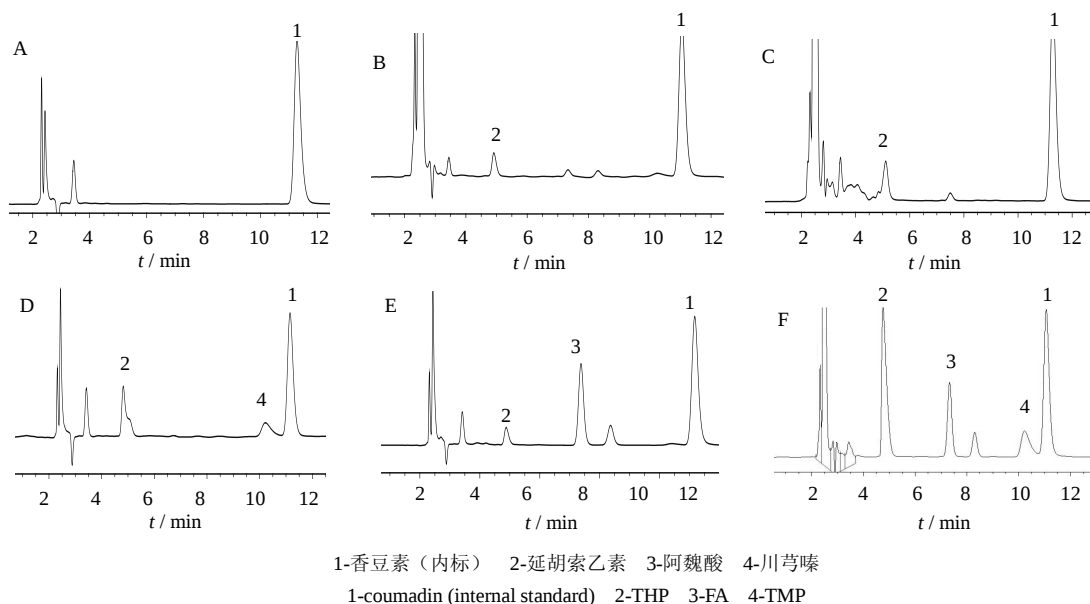


图 1 空白血浆+内标 (A)、空白血浆+延胡索乙素+内标 (B)、延胡索乙素组 (C)、延胡索乙素+川芎嗪组 (D)、延胡索乙素+阿魏酸组 (E) 和延胡索乙素+阿魏酸+川芎嗪组 (F) 血浆样品 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of blank blood plasma + internal standard (A), blank blood plasma + THP + internal standard (B), THP (C), THP + TMP (D), THP + FA (E), and THP + FA + TMP (F) groups

3.2 标准曲线及线性范围

以延胡索乙素质量浓度为横坐标, 以延胡索乙素和内标的峰面积比值为纵坐标绘制标准曲线, 得方程为 $Y=0.1917X+0.05$, $r=0.9992$, 表明延胡索乙素在 $0.0073 \sim 7.3330 \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

3.3 回收率试验

按“2.3”项方法测得低、中、高不同质量浓度 (0.220 、 4.400 、 $6.600 \mu\text{g/mL}$) 样品的平均回收率分别为 $(93.83 \pm 6.11)\%$ 、 $(101.01 \pm 9.45)\%$ 、 $(101.35 \pm 3.77)\%$, RSD 分别为 6.51% 、 9.35% 、 3.72% , 表明延胡索乙素平均回收率均在 $80\% \sim 120\%$, RSD 均小于 10% , 表明该方法回收率符合要求。

3.4 精密度试验

按“2.4”项方法同日内测定 5 次, 得日内精密度的 RSD 为 15.40% 、 12.80% 、 6.45% ; 连续测定 5 d, 1 次/d, 得日间精密度的 RSD 为 18.20% 、 9.54% 、 4.58% , 表明精密度良好, 符合生物样品精密度要求。

3.5 药动学参数

以 DAS2.0 药动学程序进行曲线拟合, 各组大

鼠给药后延胡索乙素的药-时曲线见图 2, 药动学参数见表 1。

结果表明, 延胡索乙素与川芎嗪、阿魏酸联合给药后 AUC_{0-t} 、 MRT_{0-t} 、 $t_{\max}$ 、 $t_{1/2}$ 都大于延胡索乙素单独给药, 其中与阿魏酸联合给药对各参数影响最大, 三者合用各个参数反而有所降低, 但高于延胡索乙素单独给药 ($P < 0.05$)。

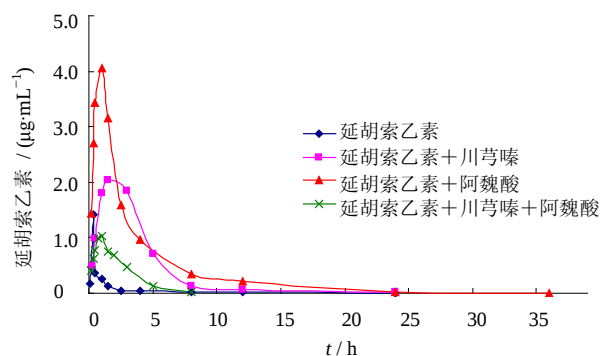


图 2 各组给药后血浆中延胡索乙素的药-时曲线

Fig. 2 Concentration-time curves of THP after administration in each group

表1 各组延胡索乙素药动学参数比较 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Comparison on pharmacokinetic parameters for THP in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

参数	单位	延胡索乙素	延胡索乙素+阿魏酸	延胡索乙素+川芎嗪	延胡索乙素+川芎嗪+阿魏酸
AUC_{0-t}	$mg \cdot h \cdot L^{-1}$	0.689 ± 0.245	$14.043 \pm 4.464^*$	$9.337 \pm 1.192^*$	$2.895 \pm 1.606^*$
MRT_{0-t}	h	0.685 ± 0.190	$3.985 \pm 0.648^*$	$3.407 \pm 0.403^*$	$1.985 \pm 0.346^*$
t_{max}	h	0.333 ± 0.010	$1.000 \pm 0.408^*$	$1.875 \pm 0.750^*$	$0.844 \pm 0.129^*$
C_{max}	$mg \cdot L^{-1}$	1.419 ± 0.648	$4.201 \pm 1.407^*$	$2.090 \pm 0.208^*$	1.165 ± 0.644
$t_{1/2}$	h	0.700 ± 0.674	$4.641 \pm 1.278^*$	$2.893 \pm 1.392^*$	1.179 ± 0.391

与延胡索乙素组比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs THP group

4 讨论

4.1 测定方法的确定

本实验采用 RP-HPLC 法测定各组大鼠血浆中延胡索乙素的浓度,用有机溶剂直接沉淀蛋白,所需设备及样本制备过程简单。本实验采用本课题组较成熟的方法^[11-12]测定延胡索乙素,该测定方法精密度高,回收率好,延胡索乙素和内标峰形良好,无杂质干扰,基线稳定,适用于生物样本的测定。

4.2 药动学结果比较

川芎嗪、阿魏酸对延胡索乙素大鼠体内药动学参数的影响存在差异,延胡索乙素分别与阿魏酸、川芎嗪联合给药时其主要药动学参数 AUC_{0-t} 和达峰浓度 C_{max} 与延胡索乙素单独给药相比显著增加 ($P < 0.05$), t_{max} 、 $t_{1/2}$ 和 MRT_{0-t} 比延胡索乙素单独给药时显著延长 ($P < 0.05$),说明阿魏酸、川芎嗪均可以增加延胡索乙素在大鼠体内的吸收,并能延长延胡索乙素在大鼠体内的作用时间;延胡索乙素与阿魏酸、川芎嗪同时给药时其主要药动学参数均大于延胡索乙素单独给药时各主要参数,其中 AUC_{0-t} 、 t_{max} 和 MRT_{0-t} 与延胡索乙素单独给药相比差异显著 ($P < 0.05$),说明阿魏酸、川芎嗪能同时加快并增加延胡索乙素在大鼠体内的吸收,延长延胡索乙素在大鼠体内的作用时间,二者对延胡索乙素有协同增效作用。结果表明,与单独给药相比,联合给药均可以增加延胡索乙素大鼠体内的吸收,并延长延胡索乙素在大鼠体内的作用时间。提示不同组分联合给药在药动学方面存在相互影响。

阿魏酸、川芎嗪对延胡索乙素的药动学的影响应该从多角度考虑。首先,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;其次,不同药物配伍后吸收部位、吸收过程、细胞膜转运过程等因素也可能对延胡索乙素吸收产生影响;第三,不

同药物配伍后可能影响代谢延胡索乙素的 P450 酶,进而影响延胡索乙素的吸收;第四,与血浆蛋白的结合能够维持较平稳的血药浓度,虽然这是一种非特异性结合的可逆性结合,不直接影响疗效,但是影响药代过程,从这个角度可以推测阿魏酸、川芎嗪可能不同程度地影响了延胡索乙素与血浆蛋白的结合,进而影响了其药动学。但阿魏酸、川芎嗪影响延胡索乙素的吸收具体机制还需要进一步探讨。

延胡索乙素+川芎嗪+阿魏酸给药组的 AUC_{0-t} 要显著低于延胡索乙素+川芎嗪给药组和延胡索乙素+阿魏酸给药组,根据前期试验结果^[11],川芎嗪和阿魏酸配伍 AUC 低于两者单独给药,产生的机制还需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 王小翠,杨洋,陈刚,等.加味佛手散抑制大鼠子宫内异位症血管生成及其机制[J].中国药理学通报,2011,27(3):350-354.
- [2] 赵鸣,李丽萍,沈剑,等.延胡索乙素对映体对小鼠 CYP450 酶诱导和抑制作用研究[J].浙江大学学报:医学版,2011,40(1):33-39.
- [3] Wang S P, Hu Y Y, Tan W, et al. Compatibility art of traditional Chinese medicine: From the perspective of herb pairs[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(2): 412-423.
- [4] Tao Y, Xu H Y, Wang S S, et al. Identification of the absorbed constituents after oral administration of Yuanhu Zhitong prescription extract and its pharmacokinetic study by rapid resolution liquid chromatography/quadrupole time-of-flight[J]. *J Chromatogr B*, 2013, 935(15): 1-9.
- [5] Wu C Z, Yan R J, Zhang R J, et al. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of four alkaloids in different formulations from *Corydalis decumbens* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(1): 55-61.
- [6] 林力,刘建勋,张颖,等. LC-MS/MS 法测定大鼠

- 口服延胡索提取物后延胡索乙素和脱氢紫堇碱的药代动力学 [J]. 药学报, 2008, 43(11): 1123-1127.
- [7] 廖正根, 万彦婷, 梁新丽, 等. 延胡索与白芷组分配伍对延胡索乙素在大鼠肝微粒体中酶促反应动力学的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1783-1787.
- [8] Ma H D, Wang Y J, Guo T, *et al.* Simultaneous determination of tetrahydropalmatine, protopine, and palmatine in rat plasma by LC-ESI-MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 440-446.
- [9] Liao Z G, Liang X L, Zhu J Y, *et al.* Correlation between synergistic action of *Radix Angelica dahurica* extracts on analgesic effects of *Corydalis* alkaloid and plasma concentration of dl-THP [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(1): 115-120.
- [10] 陈刚, 马莉, 韩锋, 等. HPLC法测定肾康颗粒中延胡索乙素 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(5): 406-408.
- [11] 冯彬彬, 张建海, 张继芬, 等. 不同配伍对川芎嗪体内药代动力学影响 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(9): 1311-1313.
- [12] 冯彬彬, 张建海, 李金玲, 等. RP-HPLC同时测定内异消大鼠血浆中各成分 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1398-1400.