

透骨消痛胶囊单次与多次给药对大鼠体内药代动力学行为的影响

范哲贤, 胡悦, 赖宏强, 李孝栋*
(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

[摘要] **目的:**开展透骨消痛胶囊单次和多次给药后大鼠体内药代动力学研究,探讨不同给药方式时血药浓度与药理学相关参数的关联性,为中药复方的临床合理用药提供参考。**方法:**将 120 只 SD 大鼠随机分为单次给药组和多次给药组,灌胃透骨消痛胶囊后,根据吸光度与波长曲线下面积(吸波面积)和总固体整体成分的总浓度成正比的特点,采用吸波面积法测定该胶囊中整体药物成分的含量。血药浓度数据用 DAS 2.0 药理学软件处理,按房室模型拟合并求算单次给药组的药理学参数和多次给药组的稳态血药浓度。**结果:**透骨消痛胶囊单次给药后,药峰浓度(C_{max}) (10.200 ± 0.586) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,达峰时间(t_{max}) (0.515 ± 0.054) h,消除半衰期($t_{1/2}$) (1.318 ± 0.049) h,药时曲线下面积($AUC_{0-24\text{h}}$) (13.054 ± 0.422) $\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$;多次给药 6 d 后血药浓度达稳态,稳态血药浓度(C_{av}),波动度(DF),稳态药-时曲线下面积(AUC_{ss})分别为 (4.073 ± 0.282) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 1.166 ± 0.175 , (48.878 ± 1.931) $\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。**结论:**透骨消痛胶囊多次给药后整体药物成分的血药浓度变化处于较好的稳态过程,与单次给药的体内行为较一致,说明该制剂临床剂量的确定较为合理。

[关键词] 中药复方;透骨消痛胶囊;吸波面积法;药代动力学;整体药物;单次给药

[中图分类号] R969.1;R284.1;R945;O657.32 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)15-0092-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016150092

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1148.042.html>

[网络出版时间] 2016-06-03 11:48

Comparison of Pharmacokinetic Behavior by Single and Multiple Oral Administration of Tougu Xiaotong Capsules in Rats

FAN Zhe-xian, HU Yue, LAI Hong-qiang, LI Xiao-dong*

(College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the study on pharmacokinetics of Tougu Xiaotong capsules after single and multiple oral administration in rats, to discuss relevance between plasma concentration and pharmacokinetic parameters in different ways of administration, which provides basis for the clinical rational use of traditional Chinese medicine compound. **Method:** SD rats were randomly divided into 2 groups, including single and multiple administration group, respectively. After intragastrical administration of Tougu Xiaotong capsules, according to the area under absorbance-wavelength curve (AUAWC) being proportional to the total concentration of total solid overall composition, AUAWC was used to measure overall composition content of the capsules. The blood drug concentration data were processed in DAS 2.0 pharmacokinetic software; after single and multiple oral administration, pharmacokinetic parameter and the steady-state plasma concentration were calculated by compartment model. **Result:** After single oral administration, C_{max} was (10.200 ± 0.586) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, t_{max} was

[收稿日期] 20151012(013)

[基金项目] 福建省科技厅重点项目(2012Y4006);福建中医药大学重点学科专项(X2014099-学科)

[第一作者] 范哲贤,在读硕士,从事中药制剂及质量控制研究,Tel:18059140124,E-mail:1104275731@qq.com

[通讯作者] *李孝栋,教授,硕士生导师,从事中药物质基础和药物制剂等研究,Tel:0591-22861135,E-mail:lxdtcm@163.com

(0.515 ± 0.054) h, $t_{1/2}$ was (1.318 ± 0.049) h and $AUC_{0-24\text{h}}$ was (13.054 ± 0.422) $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Steady-state plasma concentration was achieved after 6 d in the multiple oral administration group, C_{av} was (4.073 ± 0.282) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, DF was 1.166 ± 0.175 and AUC_{ss} was (48.878 ± 1.931) $\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively.

Conclusion: Change of plasma concentration after multiple oral administration of Tougu Xiaotong capsules is in a good steady-state process, it is consistent with *in vivo* behaviour of the single oral administration group, which shows rationality in the clinical dosage of Tougu Xiaotong capsules.

[Key words] traditional Chinese medicine compound; Tougu Xiaotong capsules; the area under absorbance-wavelength curve; pharmacokinetics; overall drug; single administration

膝骨性关节炎(knee osteoarthritis, KOA)又称退行性骨性关节炎,是一种以关节软骨的变性、破坏及骨质增生为特征的慢性关节病。随着我国进入老龄化社会, KOA 发病率有增加的趋势。透骨消痛胶囊为福建中医药大学刘献祥教授的经验方,由巴戟天、白芍、川芎和肿节风 4 味药材组成,为福建省第二人民医院的院内制剂(Z20100006),具有补肾柔肝、活血祛风的作用。前期研究发现该胶囊用于 KOA 治疗的效果良好^[1-5]。在前期研究基础上^[6-12],本实验将吸波面积法应用于透骨消痛胶囊的研究,根据吸光度-波长曲线下面积和浓度成线性的关系,测定整体药物在体内的血药浓度,考察大鼠多次给予透骨消痛胶囊后的药动学情况,对比单次给药的实验结果,进一步探讨透骨消痛胶囊的药动学特点,为其临床用药安全提供实验依据,并验证吸波面积法用于中药整体药物体内研究的可行性,为临床中药学的发展提供研究思路。

1 材料

TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), AR-2140 型 1/10 万电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], VXH-3 型微型旋涡混合器(上海跃进医疗器械厂), TDL-4 型低速台式离心机和 TDL80-2B 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。透骨消痛胶囊(自制,批号 20141017),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

清洁级健康雄性 SD 大鼠,体重(250 ± 10) g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证号 SCXK(沪)2012-0002。

2 方法学验证

2.1 对照品储备液的配制 精密称取透骨消痛胶囊内容物 5.2 mg 置于 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声 30 min,加甲醇定容至刻度,摇匀,得储备液。

2.2 专属性试验 取大鼠空白血浆 0.4 mL,加入甲醇 3.6 mL,涡旋 2 min,于 $3\ 800\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10

min,按紫外-可见分光光度法,以甲醇溶剂作为参比,在 200 ~ 500 nm 进行全波长扫描。分别将一定质量浓度的对照品溶液加入空白血浆中,同法操作。取受试大鼠给药后收集的的血浆样品,同法操作。取一定质量浓度的对照品溶液,同法操作。结果显示在 200 ~ 320 nm,样品血浆比空白血浆的吸光度 A 要大,故通过差值可去除空白血浆的干扰。

2.3 线性关系考察 取大鼠空白血浆 0.4 mL,按 2.2 项下方法操作,配制质量浓度分别为 93.60, 74.88, 56.16, 37.44, 18.72, 9.36, 1.87 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的梯度血浆样品。按照紫外-可见分光光度法,以甲醇溶剂作为参比,于 200 ~ 500 nm 全波长扫描, Origin 8.0 软件计算吸波面积 $AUAWC_1$ 。同时,取大鼠空白血浆 0.4 mL,加入甲醇 3.6 mL,测得 $AUAWC_2$,按 $AUAWC_1 - AUAWC_2$ 计算药物的吸波面积 ($\Delta AUAWC$),以混合药物总质量浓度 (C) 为横坐标, $\Delta AUAWC$ 为纵坐标,得回归方程 $\Delta AUAWC = 0.691C + 1.729$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围 1.87 ~ 93.60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4 精密度试验 制备低、中、高 3 种质量浓度 (1.87, 18.72, 74.88 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的样品 ($n = 5$),按 2.2 项下方法操作,测定每个样品中药物的 $AUAWC$,于 1 d 内完成,计算日内精密度的 RSD 分别为 1.3%, 1.1% 和 0.8%,说明仪器精密度良好,符合生物样品测定要求。

2.5 提取回收率和方法回收率试验 制备低、中、高 3 种质量浓度 (1.87, 18.72, 74.88 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的样品,按 2.2 项下方法操作,测定样品的 $AUAWC$,并与相应质量浓度对照品溶液直接测定的 $AUAWC$ 比较,计算样品的提取回收率 ($n = 5$),结果提取回收率分别为 99.52%, 81.18% 和 80.45%, RSD 依次为 5.4%, 3.0% 和 1.3%。将以上各个样品测得的药物 $AUAWC$ 代入回归方程计算质量浓度,所得浓度与实际浓度的比值即为相对回收率,结果相对回收率分别为 100.64%, 104.45% 和 107.34%, RSD 依

次为 7.1%、3.5% 和 1.9%，表明该方法的回收率能够满足样品测定要求，方法可行。

3 动物实验方案

3.1 透骨消痛胶囊灌胃溶液配制^[5] 称取透骨消痛胶囊内容物 3.7 g 置于 100 mL 量瓶中，加水超声，使内容物形成均匀的混悬状态，加水定容，摇匀，得相当于成人每日临床剂量 2 倍的药物溶液。

3.2 给药与血样的采集和检测 取大鼠 120 只，大鼠按体重随机分为单次给药组与多次给药组，每组 60 只，于给药前 12 h 内禁食。单次给药组每只大鼠按 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药 1 次；多次给药组每日上午 9:00 按 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药，并于给药 6 h 后再次给药，连续 7 d。多次给药组大鼠在连续给药后第 5~7 天早上于给药前各取 6 只动物采血 2.5 mL 用于测定整体药物浓度。2 组大鼠在最后 1 次给药后 0, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h 各取 6 只动物通过眼眶采血 2.5 mL，置于含乙二胺四乙酸的采血管中，立即于 $3\,800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min，吸取上清液血浆， $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。精密吸取含药血浆样品 400 μL ，按 2.2 项下方法操作。

3.3 数据分析

3.3.1 血药浓度-时间曲线 将全波长扫描的 A 导入 Origin 8.0 软件，通过软件拟合并计算透骨消痛胶囊给药组不同时间段的 AUAWC 均值，再分别减去空白血浆的 AUAWC 均值，得不同时间点大鼠血浆中总药物的 AUAWC，代入标准曲线的线性方程中，得各时间点大鼠血浆中总药物的浓度，以药物总浓度为纵坐标，时间为横坐标，绘制平均血药浓度-时间曲线，见图 1, 2。

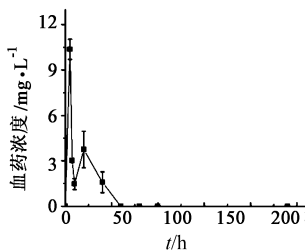


图 1 单次口服透骨消痛胶囊后的平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 1 Mean plasma concentration-time curve after single oral administration of Tougu Xiaotong capsules ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

由图 2 可知，第 6 天清晨服药前与第 7 天清晨末次服药前血药浓度接近，表明在连续给药第 6 天血药浓度已达稳态，之后保持较好的血药浓度稳态。另外，单次给药组和多次给药组均发现大鼠灌胃透骨消痛胶囊后呈双峰吸收，前者与大多数药物在体

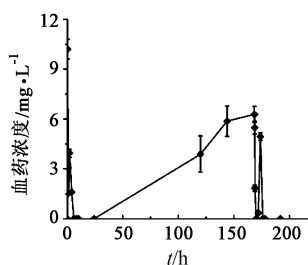


图 2 多次口服透骨消痛胶囊后的平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curve after multiple oral administration of Tougu Xiaotong capsules ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

内的药时曲线模式一致^[13-16]，即经过首过效应后药物的吸收曲线呈双峰现象，可能与该方中多成分的性质有关。

3.3.2 药代动力学参数 单次和多次灌胃透骨消痛胶囊后的主要药代动力学参数见表 1。利用 SPSS 20.0 软件对 2 组大鼠的药代动力学参数进行统计分析，将消除半衰期 ($t_{1/2}$)，达峰时间 (t_{max})，取自然对数后的药峰浓度 (C_{max}) 和药时曲线下面积 ($AUC_{0-24 \text{ h}}$) 用独立样本 t 检验分析，结果这 4 个参数在 2 组大鼠中的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。计算 C_{max} ， AUC_{0-t} 的累积比分别为 0.642 和 1.033，提示连续给药 7 d，每天 2 次，透骨消痛胶囊在大鼠体内未发生蓄积现象^[17]。

表 1 大鼠单次和多次口服透骨消痛胶囊的主要药代动力学参数
Table 1 Main pharmacokinetic parameters of Tougu Xiaotong capsules after single and multiple oral administration

参数/单位	单次给药组	多次给药组
$t_{1/2}/\text{h}$	1.318 ± 0.049	1.548 ± 0.356
t_{max}/h	0.515 ± 0.054	0.575 ± 0.175
$C_{max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	10.200 ± 0.586	6.548 ± 0.404
$AUC_{0-24 \text{ h}}/\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	13.054 ± 0.422	13.488 ± 1.594
$CL/F/\text{L} \cdot \text{kg} \cdot \text{h}^{-1}$	1.153 ± 0.292	1.261 ± 0.312
$V/F/\text{g} \cdot \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	31.317 ± 9.123	27.171 ± 7.872
$C_{av}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	-	4.073 ± 0.282
$AUC_{ss}/\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	-	48.878 ± 1.931
DF	-	1.166 ± 0.175

4 讨论

本文建立的吸波面积法与文献^[18-22]相比，采用该方法血浆中杂质不干扰药物测定，且简单快捷、专属性高，大鼠血浆中药物的日内精密性 $RSD < 3.0\%$ ，提取回收率和方法回收率均在 $80\% \sim 120\%$ ，标准曲线的线性相关系数 $r = 0.9997$ ，而且不受内源性物质的干扰，可用于批量检测血浆样品

含量,这有助于阐明多成分在动物体内的中药整体药代动力学行为,在目前条件下,该方法的应用具有较好的可行性和科学性。

本文比较 SD 大鼠单次和多次给药条件下血浆中整体药物成分的血药浓度,无论单次还是多次口服给予透骨消痛胶囊,药物吸收迅速,血药浓度均在 0.5 h 达最大值, $t_{1/2}$ 均约在 1.3 h,且连续多次给药后,血药浓度在第 6 天达稳态,说明长期给药后该胶囊剂在大鼠体内的吸收、分布、代谢和排泄未显著改变,不存在药物蓄积的风险,能维持较稳定的血药浓度。

由于本研究对象是大鼠,从生物药剂学角度考虑,选择 1 只大鼠只采血样 1 次,为了提高结果的准确性,选用甲醇而不是空白血浆作为空白参比。因此,测得的空白血浆与含药血浆的 AUAWC 虽然不具有显著性差异,但含药血浆与空白血浆的 AUAWC 差值(即药物 AUAWC)经配对 t 检验, $P = 0.011 < 0.05$,显示药物 AUAWC 具有显著性差异。将来以人体为研究对象时,因为可以 1 人不同时间点多次取样,则需以人体空白血浆作为空白参比,不再出现空白血浆的 AUAWC。本研究可为临床上透骨消痛胶囊是否存在蓄积等问题的解决提供参考,同时为中药复方的药动学和临床研究提供较好的启示作用。

[参考文献]

[1] 林木南,刘献祥.透骨消痛方治疗膝骨性关节炎 30 例[J].福建中医药,2005,36(4):15-16.

[2] 李民,陈文列,刘献祥,等.透骨消痛胶囊干预膝骨性关节炎软骨下骨重塑分子机制探讨[J].福建中医学院学报,2009,19(6):35-39.

[3] 李西海.透骨消痛胶囊含药血清对软骨细胞周期与凋亡影响的研究[D].福州:福建中医药大学,2010.

[4] 吴广文,褚剑锋,许惠凤,等.透骨消痛胶囊含药血清对退变关节软骨细胞表达 TNF- α 、IL-1 β 的影响[J].世界中西医结合杂志,2012,7(4):295-298,310.

[5] 吴广文,叶锦霞,许惠凤,等.透骨消痛胶囊对 KOA 大鼠关节软骨 uPA 系统相关调节因子的影响[J].世界中西医结合杂志,2015,10(1):22-26,55.

[6] 李孝栋,李素云,张丽红,等.吸光度-波长曲线下面积和药物浓度的线性关系及其在中药药动学中的应用[J].福建中医药大学学报,2012,22(6):26-31.

[7] 胡悦,赖宏强,范哲贤,等.吸波面积-HPLC 结合法测定白花蛇舌草组分胶囊中整体和个体成分溶出度[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14):4-7.

[8] Zhang L H, Li S Y, Li X D, et al. Pharmacokinetic

studies of mixture composed of sodium ferulate and tetramethylpyrazine hydrochloride in rats [C]. 上海:上海市研究生学术论坛,2012.

[9] Zhang L H, Xiao X J, Yang Z Z, et al. A new method of area under the absorbance-wavelength curve for rats total metabolomic pharmacokinetics from Yangxue injection with multicomponents [J]. J Spectrosc, 2013, doi: 10.1155/2013/919023.

[10] 赖宏强,胡悦,李孝栋.基于吸波面积法对川芎组分片整体成分溶出度的考察及其体内外相关性的研究[J].药学学报,2015,50(6):788-792.

[11] 赖宏强,胡悦,李孝栋.吸波面积法与 HPLC 法同步测定川芎组分制剂大鼠体内绝对生物利用度[J].中草药,2015,46(16):2421-2427.

[12] 胡悦,赖宏强,范哲贤,等.2 种方法分析白花蛇舌草组分胶囊在大鼠体内的药代动力学[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):83-87.

[13] 王艳,阳国平,郭成贤,等.口服给药后药-时曲线双峰现象研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2014,19(3):341-345.

[14] 李晶晶,谈景福,杨杰,等.LC-MS 法研究科罗索酸在正常及糖尿病模型大鼠血浆中的药代动力学[J].中国药科大学学报,2014,45(1):84-87.

[15] 曾金,王猛猛,沈淑娇,等.隐丹参酮单剂量和多剂量给药在大鼠体内药代动力学研究[J].湖南中医药大学学报,2015,35(4):1-5.

[16] 吴伟明,王军,黄成珂,等.氯吡格雷单次和多次给药在大鼠体内的药动学特征[J].中国临床药理学杂志,2013,22(2):77-81.

[17] 沈金芳,孙黎,苏克剑,等.法罗培南钠在健康受试者单剂量及多剂量静脉滴注的药代动力学研究[J].中国药理学通报,2010,26(3):392-396.

[18] 屈艳格,陈军,王冬月,等.马钱子生物碱类成分经口给药后在大鼠体内的药动学研究[J].中草药,2013,44(8):1008-1012.

[19] 刘东,任秀华,张冬林,等.复方罗红霉素片多剂量给药在健康志愿者体内的药动学[C].北京:第十二次全国临床药理学学术会议,2010.

[20] 刘秀美,王凌,张颖,等.马来酸氟吡汀缓释片在 Beagle 犬体内的药动学和生物等效性研究[J].药物分析杂志,2012,32(10):1731-1735.

[21] 张华峰,宋青,戴博,等.尼索地平缓释胶囊的人体药动学及生物等效性研究[J].中国药房,2013,24(38):3607-3609.

[22] 刘荷英,丁黎,于勇,等.替吉奥胶囊在晚期胃癌患者体内的药代动力学研究[J].药学学报,2012,47(10):1363-1369.

[责任编辑 刘德文]