

白芍总苷在佐剂性关节炎大鼠与正常大鼠体内的药动学差异

袁秀泽, 邹盛勤, 王晓刚, 易剑峰*

(宜春学院 化学与生物工程学院, 江西 宜春 336000)

[摘要] **目的:**比较白芍总苷在佐剂性关节炎大鼠与正常大鼠体内药动学参数的差异,为临床合理用药提供参考。**方法:**采用大鼠右后足垫皮下注射完全弗氏佐剂建立大鼠佐剂性关节炎模型,应用 RP-HPLC 测定模型大鼠和正常大鼠灌胃给予白芍总苷后不同时间点的芍药苷的血药浓度,运用 PKSolver V2.0 软件计算药动学参数。**结果:**高、中、低剂量(1.80, 0.90, 0.47 g·kg⁻¹)给药时,模型组大鼠体内芍药苷的药峰浓度(C_{max})分别为(7.93 ± 1.09), (4.81 ± 1.06), (1.02 ± 0.82) mg·L⁻¹, 达峰时间(T_{max})均为 180 min;在正常大鼠体内,芍药苷的半衰期($t_{1/2}$)分别为(215.63 ± 5.26), (213.16 ± 4.18), (208.55 ± 4.94) min; C_{max} 分别为(52.39 ± 2.49), (24.52 ± 1.69), (5.79 ± 0.52) mg·L⁻¹, AUC_{0-t} 分别为(12 564.08 ± 467.37), (5 839.10 ± 380.86), (1 439.95 ± 144.39) mg·L⁻¹·min; T_{max} 均为 150 min。**结论:**在类风湿性关节炎状态下芍药苷的吸收速率减缓, C_{max} , AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 均显著减小;类风湿性关节炎能影响白芍总苷在大鼠体内的药动学行为。

[关键词] 白芍总苷; 佐剂性关节炎; 芍药苷; 完全弗氏佐剂; 药代动力学; 类风湿性关节炎

[中图分类号] R969.1; R284.1; R945; R593.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0086-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200086

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160829.1654.012.html>

[网络出版时间] 2016-08-29 16:54

Pharmacokinetic Differences of Total Glucosides from Paeoniae Radix Alba in Rats with Adjuvant Arthritis and Normal Rats

YUAN Xiu-ze, ZOU Sheng-qin, WANG Xiao-gang, YI Jian-feng*

(College of Chemical and Biological Engineering, Yichun University, Yichun 336000, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the pharmacokinetics of total glucosides from Paeoniae Radix Alba in rats with adjuvant arthritis and normal rats. **Method:** Adjuvant arthritis rat model was established by a single intradermal injection of complete Freund's adjuvant (CFA) into the rat right footpad. The plasma concentrations of paeoniflorin at different time after intragastric administration of total glucosides from Paeoniae Radix Alba were determined by RP-HPLC. The pharmacokinetic parameters were estimated by PKSolverV2.0 software. **Result:** when administration of high, medium and low dose (1.80, 0.90, 0.47 g·kg⁻¹), C_{max} of paeoniflorin in model group rats were (7.93 ± 1.09), (4.81 ± 1.06), (1.02 ± 0.82) mg·L⁻¹, respectively; T_{max} were 180 min. In the normal group, $t_{1/2}$ of paeoniflorin were (215.63 ± 5.26), (213.16 ± 4.18), (208.55 ± 4.94) min; C_{max} were (52.39 ± 2.49), (24.52 ± 1.69), (5.79 ± 0.52) mg·L⁻¹; AUC_{0-t} were (12 564.08 ± 467.37), (5 839.10 ± 380.86), (1 439.95 ± 144.39) mg·L⁻¹·min, respectively; T_{max} were 150 min. **Conclusion:** Absorption of paeoniflorin is slow under the state of rheumatoid arthritis, C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ are significantly decreased. Rheumatoid arthritis can affect the pharmacokinetic behaviour of total glucosides from Paeoniae Radix Alba *in vivo*.

[收稿日期] 20151128(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060355)

[第一作者] 袁秀泽,在读硕士,从事临床药学研究, Tel:18178945895, E-mai:yuanxiuze@163.com

[通讯作者] *易剑峰,博士,教授,从事药理学研究及天然药物研发, Tel:0795-3201986, E-mail:rainbowyjf@126.com

[Key words] total glucosides from *Paeoniae Radix Alba*; adjuvant-induced arthritis; paeoniflorin; complete Freund's adjuvant; pharmacokinetics; rheumatoid arthritis

白芍总苷是从芍药根部提取的有效成分,主要包括芍药苷、羟基芍药苷、芍药内酯苷等,其中芍药苷占比 >90%^[1]。白芍总苷具有良好的抗炎、镇痛和免疫调节作用^[2],是临床上治疗类风湿性关节炎常用的抗炎免疫调节药。临床用药研究表明白芍总苷胶囊能明显缓解病人关节疼痛、改善关节功能,而且长期用药不良反应较少、耐受性较好^[3-8]。目前关于白芍总苷或者芍药苷的药动学研究多在生理状态下的动物体内进行^[9-12],尚无在类风湿性关节炎病理状态下的药动学研究。王利娜等^[13]认为在病理状态下,机体组织器官会发生不同程度的病变,这可能会导致药物的在机体内药动学行为发生显著改变。故本实验采用 RP-HPLC,以芍药苷为检测指标,研究佐剂性关节炎大鼠口服灌胃白芍总苷后体内芍药苷的药动学参数变化,并与正常大鼠比较,探讨佐剂性关节炎病理状态下白芍总苷在大鼠体内的药动学变化规律,为该有效部位临床治疗类风湿性关节炎的合理用药提供参考。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),FC204 型电子天平(上海精科天平仪器厂),5415R 型高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司),XW-80A 型旋涡混合器(上海青浦沪西仪器厂),UPWS 系列超纯水器(杭州永洁净化科技有限公司),L500 型低速自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

完全弗氏佐剂(CFA,美国 Sigma 公司),白芍总苷胶囊(宁波立华制药有限公司,批号 141220),芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,纯度 96.4%,批号 110736-201438),水为自制超纯水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均分析纯。

雄性 SD 大鼠,SPF 级,体重(200 ± 20) g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2011-0003。室温环境中饲养 1 周后实验。

2 方法与结果

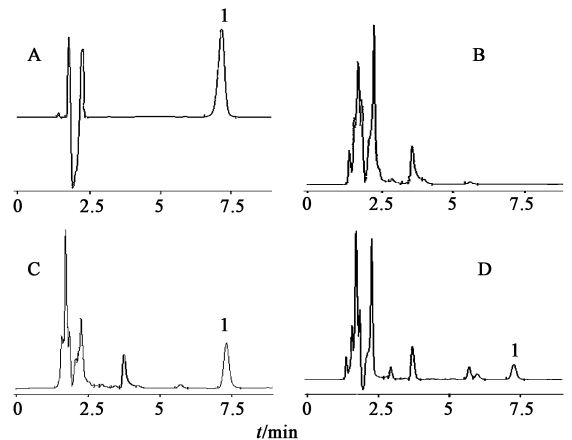
2.1 溶液的制备 将白芍总苷胶囊去外壳,精密称取适量白芍总苷粉末置于 50 mL 烧杯中,加生理盐水溶解稀释,得白芍总苷药液。精密称取芍药苷对照品 10 mg 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,得 1 g·L⁻¹芍药苷对照品储备液。

2.2 色谱条件 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 甲酸水溶液(16:84),流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 20 °C,检测波长 232 nm,进样量 20 μL。

2.3 血浆样品的处理^[10] 精密量取血浆 200 μL 置于 1.5 mL 塑料离心管中,精密加入新鲜配置的 30% 高氯酸 30 μL,涡旋 2 min,于 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液进样分析。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取空白血浆、空白血浆 + 芍药苷对照品溶液、灌胃大鼠血浆样品均按 2.3 项下方法处理,按 2.2 项下条件测定,见图 1。结果显示芍药苷峰形良好、分离度好、无杂质峰干扰,表明该方法专属性良好。



A. 对照品; B. 空白血浆; C. 空白血浆 + 对照品; D. 供试品; 1. 芍药苷
图 1 大鼠给予白芍总苷胶囊后血浆样品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of plasma samples after administration of total glucosides from *Paeoniae Radix Alba* capsules

2.4.2 标准曲线的制备 精密量取芍药苷对照品溶液适量,加入空白血浆 200 μL,涡旋 2 min,制成质量浓度分别为 0.375, 0.7, 1.4, 2.8, 5.6, 11.2, 22.4, 44.8, 89.6 mg·L⁻¹ 的系列溶液,按 2.3 项下方法处理,以待测物质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 23.54X + 62.903$ ($R^2 = 0.9967$),线性范围 0.375 ~ 89.6 mg·L⁻¹。

2.4.3 精密度试验 按 2.4.2 项下方法用空白血浆配制低、中、高(0.7, 2.8, 44.8 mg·L⁻¹, 下同)质量浓度的芍药苷血浆样品($n = 5$),计算日内精密度 RSD 分别为 3.9%, 0.7%, 2.4%;连续测定 3 d,计算日间精密度 RSD 分别为 7.0%, 0.3%, 3.0%,均

符合生物样品分析方法的要求。

2.4.4 提取回收率试验 取空白血浆 200 μL 按 2.3 项下方法操作,取上清液,取低、中、高质量浓度的芍药苷对照品溶液,加入上清液中,涡旋混匀,进样;按 2.4.2 项下方法用空白血浆配置低、中、高质量浓度的血浆样品 ($n = 5$),进样,计算提取回收率分别为 76.93%, 83.16%, 70.23%, 符合生物样本分析要求。

2.4.5 稳定性试验 以空白血浆配置低、中、高质量浓度的血浆样品,预处理后室温放置 0, 12, 24 h 及经 3 次冷冻解冻循环后测定芍药苷含量,计算 RSD 分别为 3.2%, 7.4%, 0.6%, 表明白芍总苷在 24 h 内放置及冻融条件下稳定性良好。

2.5 药代动力学试验 SPF 级雄性 SD 大鼠 38 只,随机分为正常组、模型组和空白血浆组,正常组和模型组各 18 只,空白血浆组 2 只。模型组大鼠采用 CFA 于大鼠右后足跖肉垫皮内注射 0.1 mL,于造模 14 d 后参照关节炎指数评分标准^[14]对模型复制效果进行评估,评分 >6 分的大鼠用于实验,成功建立了佐剂性关节炎大鼠模型。随机将佐剂性关节炎组大鼠和正常组大鼠分别分为高、中、低 3 个剂量组 (1.80, 0.90, 0.47 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),实验前禁食 12 ~ 14 h,自由饮水。分别按体重口服灌胃给予白芍总苷药液,分别于给药后 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 360 min 眼底静脉层取血 0.5 mL,置于一次性使用真空采血管中,室温静置 1 h,于 3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分取血浆, -80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。取各时间点冻存的血浆样品室温复溶后,精密量取 200 μL 置于空白离心管中,按 2.3 项下方法处

理,按 2.2 项下方法测定各时间点的血药浓度,见图 2。

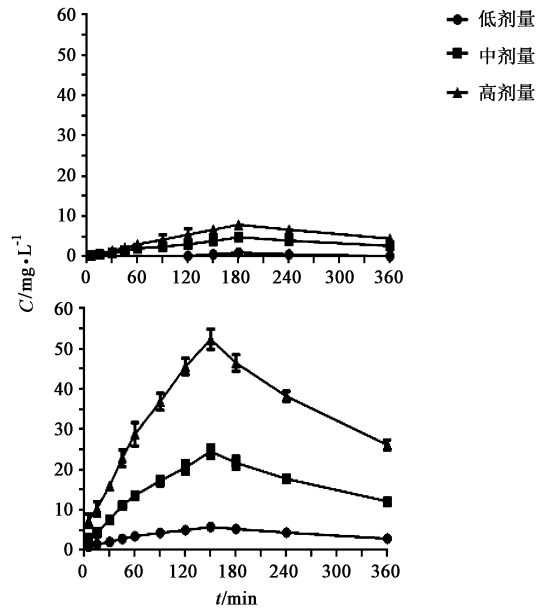


图 2 大鼠给予白芍总苷胶囊后芍药苷的药-时曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time curves of paeoniflorin after administration of total glucosides from Paeoniae Radix Alba capsules

血药浓度数据运用 PKSolver V2.0 软件以非房室模型分别计算模型组与正常组大鼠的药动学参数,运用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。结果发现与正常组比较,模型组的药峰浓度 (C_{\max}) 和药时曲线下面积 AUC_{0-t} , $\text{AUC}_{0-\infty}$ 均显著减小,达峰时间 (T_{\max}) 显著延长,半衰期 ($t_{1/2}$) 和末端消除速率 (K_e) 不存在差异;模型组和正常组的 T_{\max} , $t_{1/2}$ 和 K_e 均不受白芍总苷剂量影响,但 C_{\max} , AUC_{0-t} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 与剂量具有一定的相关性,见表 1。

表 1 大鼠给予白芍总苷胶囊后的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of paeoniflorin after administration of total glucosides from Paeoniae Radix Alba capsules ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数/单位	组别	低剂量	中剂量	高剂量
$C_{\max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	正常	5.79 \pm 0.52	24.52 \pm 1.69	52.39 \pm 2.49
	模型	1.02 \pm 0.82	4.81 \pm 1.06	7.93 \pm 1.09
$t_{1/2}/\text{min}$	正常	208.55 \pm 4.94	213.16 \pm 4.18	215.63 \pm 5.26
	模型	-	211.28 \pm 4.59	216.01 \pm 5.88
T_{\max}/min	正常	150 \pm 0	150 \pm 0	150 \pm 0
	模型	180 \pm 0	180 \pm 0	180 \pm 0
$\text{AUC}_{0-t}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$	正常	1 439.95 \pm 144.39	5 839.10 \pm 380.86	12 564.08 \pm 467.37
	模型	-	1 109.22 \pm 289.92	1 850.97 \pm 308.80
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$	正常	2 291.99 \pm 190.88	9 558.82 \pm 673.92	20 723.04 \pm 1 041.73
	模型	-	1 922.81 \pm 473.01	3 246.08 \pm 532.19
K_e/min^{-1}	正常	(3.31 \pm 0.07) $\times 10^{-3}$	(3.25 \pm 0.06) $\times 10^{-3}$	(3.21 \pm 0.08) $\times 10^{-3}$
	模型	-	(3.28 \pm 0.77) $\times 10^{-3}$	(3.21 \pm 0.86) $\times 10^{-3}$

3 讨论

药动学参数反映了机体对药物处置过程的变化

规律,可作为临床医生给病人制定个体化用药方案的参考依据。本实验参考文献 [15-16],采用 CFA

成功诱导了与类风湿性关节炎在临床表现、病理学、免疫学改变和病理机制等方面有相似特征的大鼠佐剂性关节炎模型。药动学结果显示,与正常大鼠相比,佐剂性关节炎模型组的 C_{max} , AUC_{0-4} 和 $AUC_{0-\infty}$ 均显著减小,其中低剂量组较多时间点的血药浓度不在线性范围内,无法估算药动学参数; T_{max} 显著延长,说明白芍总苷在模型大鼠体内吸收速度减缓,血药浓度显著降低,与正常组的药动学行为相比存在明显差异。其原因可能是^[17]炎症能够调节细胞膜上有关转运体的表达、细胞膜的通透性,从而可能使药物的药代动力学行为发生变化,但具体机制尚待探究。

黄熙等^[18]提出的证治药动学近年来取得了一些进展,越来越多的临床用药研究表明药物的药动学行为会随着机体的病理状态改变而改变^[19-24]。本研究发现白芍总苷在佐剂性关节炎模型大鼠与正常大鼠体内的药动学行为存在显著差异。说明白芍总苷的主要有效成分芍药苷的药动学行为与类风湿性关节炎病理状态具有相关性,但不同等级的类风湿性关节炎对白芍总苷的药动学的影响程度尚需进一步研究确认。提示临床上要针对不同病理状态的个体制定合理给药方案,这既可有效提高用药的安全性和有效性,还可降低不良反应发生的概率。

[参考文献]

[1] 吴曙光. 抗炎免疫药理学进展[M]. 上海:第二军医大学出版社,1997:162-167.

[2] Zheng Y Q, Wei W. Total glucosides of paeony suppresses adjuvant arthritis in rats and intervenes cytokine2 signaling between different types of synoviocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(10): 1560-1573.

[3] 闵伟琪,魏琴,李洪毓,等. 白芍总苷治疗类风湿关节炎的多中心临床研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2005, 9(8):487-491.

[4] 张源潮,孙红胜,潘正论,等. 论白芍总苷在风湿免疫病中的研究进展[J]. *世界临床药物*, 2010, 31(8): 449-453.

[5] 万琦兵,杨惠琴. 白芍总苷治疗类风湿关节炎 31 例[J]. *安徽中医学院学报*, 2012, 31(6): 25-26.

[6] 白富梁,赵波. 白芍总苷治疗类风湿关节炎临床研究[J]. *黑龙江医学*, 2014, 38(7): 835-835.

[7] 王好,李军霞,李小峰. 白芍总苷联合甲氨蝶呤与来氟米特治疗类风湿关节炎疗效及安全性的研究[J]. *中国医疗前沿*, 2011, 6(19): 16-17.

[8] 史丽璞,和雅,邹稳,等. 联合用药对类风湿关节炎促

炎症细胞因子与急性相反应物的影响及疗效分析[J]. *实用医院临床杂志*, 2013, 10(3): 78-80.

[9] 刘斌,杨昭毅,魏伟. LC-MS/MS 测定大鼠血浆中芍药苷及其药物动力学特征[J]. *安徽医科大学学报*, 2009, 44(6): 707-711.

[10] 陈俊萍,王嵘,李向阳. 大鼠血浆中芍药苷的 HPLC 法检测[J]. *青海医药杂志*, 2006, 36(7): 72-73.

[11] 王巧. 芍药质量控制方法与白芍总苷药物动力学研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005.

[12] He X H, Xing D M, Ding Y, et al. Effects of cerebral ischemia reperfusion on pharmacokinetic fate of paeoniflorin after intravenous administration of Paeoniae Radix extract in rats[J]. *J Ethno Pharmacol*, 2004, 94(2/3): 339-344.

[13] 王利娜,林晓,沈岚,等. 临床常见疾病对中药药代动力学的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(18): 206-210.

[14] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1991:723-724.

[15] Abd El-Rahman R S, Suddek G M, Gameil N M, et al. Protective potential of MMR vaccine against complete Freund's adjuvant-induced Inflammation in rats[J]. *Inflammopharmacology*, 2011, 19(6): 343-348.

[16] 宋珊珊,张玲玲,魏伟. 实验性关节炎动物模型建立及病理机制研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(12): 1648-1653.

[17] Cressman A M, Petrovic V, Piquette M M. Inflammation-mediated changes in drug transporter expression/activity: implications for therapeutic drug response[J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2012, 5(1): 68-69.

[18] 黄熙,任平. 后证治药动学的医药创新——整体导向还原论研究[J]. *中医杂志*, 2013, 54(5): 365-368.

[19] 黄熙. 方剂研究策略:从方剂药动学探索组方原理[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2002, 8(2): 55-58.

[20] 孟华,黄熙,郭军. 冠心病患者含速效救心丸后体内冰片药动学变化[J]. *中成药*, 2003, 25(5): 379-382.

[21] 文爱东,黄熙,蒋永培. 充血性心力衰竭血瘀证对地高辛临床药代动力学的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2001, 22(7): 631-634.

[22] 任平,黄熙,李双庆,等. 脾气虚、肝郁脾虚及胃实热证患者阿魏酸药代动力学特征比较[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(2): 147-151.

[23] 朱南平,梁高林,李树华. 高效液相色谱法测定肾功能不全病人那格列奈的血药浓度及药动学[J]. *中国新药与临床杂志*, 2006, 25(5): 343-345.

[24] Viriyayudhakorn S, Thitiarchakul S, Nachaisit S, et al. Pharmacokinetics of quinine in obesity[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000, 94(4): 425-428.

[责任编辑 刘德文]