

基于柴胡皂苷抗溃疡药效成分的药动药效相关性

何凌冰¹, 包永睿², 王帅², 李天娇², 韩凌³, 孟宪生^{2*}

(1. 深圳国家高技术产业创新中心, 广东 深圳 518057;

2. 辽宁中医药大学 药学院, 辽宁 大连 116600;

3. 国家中成药工程技术研究中心, 辽宁 本溪 117004)

[摘要] 目的:明确柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用的化学成分,开展柴胡皂苷治疗胃溃疡药动药效相关性研究,为探讨其药效物质及作用机制提供前期实验基础。方法:采用高分辨质谱,一、二级质谱解析方式解析柴胡皂苷化学成分,同时取 SD 大鼠灌胃柴胡皂苷提取液(300 mg·kg⁻¹)后不同时间点采血,采用高效液相色谱法对其入血成分柴胡皂苷 B₂,柴胡皂苷 D 进行血药浓度测定;分别对柴胡皂苷 B₂,柴胡皂苷 D 血药浓度与人体胃黏膜上皮细胞体外增殖率,超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)进行时效相关性分析,评价柴胡皂苷作用特点及可能机制。结果:柴胡皂苷抗溃疡化学成分主要为柴胡皂苷 A, D, B₂, I, E, prosaikogenin D, F, G;柴胡皂苷含药血浆与损伤的人体胃黏膜上皮细胞增殖率具有良好的相关性,其吸收也与血中 MDA, SOD 水平呈一定的时效关系。结论:该研究明确了柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用的化学成分,探讨了入血成分与药效相关性,其作用机制可能与 MDA, SOD 蛋白调控有关。

[关键词] 柴胡皂苷; 人体胃黏膜上皮(GES-1)细胞; 药效成分; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0073-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100073

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0952.040.html>

[网络出版时间] 2017-03-08 9:52

Explore Pharmacokinetic-pharmacodynamic Correlation Based on Anti-ulcer Efficacy Compositions of Bupleurum Saponin

HE Ling-bing¹, BAO Yong-rui², WANG Shuai², LI Tian-jiao²,

HAN Ling³, MENG Xian-sheng^{2*}

(1. State High-Tech Industrial Innovation Center, Shenzhen 518057, China;

2. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Dalian 116600, China;

3. NERC for the Pharmaceuticals of TCM, Benxi 117004, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify the anti-ulcer chemical compositions of bupleurum saponins and explore the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship of bupleurum saponins for curing gastric ulcer, which could lay an experimental basis for exploring its effective substance and mechanism action. **Method:** High resolution mass spectrometry, first and secondary mass spectrometry method were used to explore the chemical compositions of bupleurum saponins, and at the same time, the blood of SD rats on different time points after orally administration of bupleurum saponins extract (300 mg·kg⁻¹) was taken. HPLC method was used to determinate the blood drug concentration of bupleurum saponins B₂ and bupleurum saponins D; the time-effectiveness correlation between bupleurum saponins B₂ and D concentrations and the proliferation rate of human gastric epithelial cells *in vitro*,

[收稿日期] 20161209(012)

[基金项目] 辽宁省高等学校优秀人才支持计划项目(LR2013044)

[第一作者] 何凌冰, 硕士, 工程师, 从事生物制药、生物农业、生物环保等生物产业研究, Tel: 13510077819, E-mail: 1963104684@qq.com

[通讯作者] * 孟宪生, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药组分配伍、代谢组学及药品质量分析研究, Tel: 0411-85890185, E-mail: mxsvvv@126.com

superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels was analyzed; and the characteristics of effect and the possible mechanism of bupleurum saponins were evaluated. **Result:** The main anti-ulcer chemical compositions of bupleurum saponins were saikosaponin A, D, B₂, I, E, prosaikogenin D, F, and G. Bupleurum saponins drug-containing plasma and the proliferation rate of human gastric mucosa epithelial cells presented a good correlation, showing a certain time-effect relationship with MDA and SOD levels in blood. **Conclusion:** This study has clarified the anti-ulcer chemical compositions of bupleurum saponins, explored the correlation between the components absorbed in blood and the efficacy, and its mechanism may be associated with MDA, SOD protein regulation.

[Key words] bupleurum saponin; GES-1; efficacy composition; malondialdehyde; superoxide dismutase

胃溃疡是消化系统疾病当中最常见的疾病,也是我国常见病、多发病之一,其地理分布大致由北方方向南方升高的趋势,临床上男性发病概率明显要高于女性。柴胡具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气等功效^[1-3]。柴胡中主要含有柴胡皂苷、甾醇、挥发油、脂肪酸、多糖等成分,在前期文献调研及实验的基础上,表明柴胡皂苷为其抗胃溃疡的主要药效成分^[4-7]。

近年来,对于柴胡皂苷体内吸收、代谢方面的研究取得了一定进展^[8],但将其药动学与抗胃溃疡药效学相关联,结合柴胡皂苷的生物活性及动力学规律,从而阐明柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用物质基础的研究未见报道。本实验采用高分辨质谱技术,在明确柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用化学成分的基础上,开展柴胡皂苷对人体胃黏膜上皮细胞作用药动药效相关性研究,探讨其体内物质作用的规律及特点,在揭示其药效物质基础与初步作用机制的同时,为该药材的临床合理应用及药物研制提供实验基础。

1 材料

人胃黏膜上皮细胞 GES-1,由上海艾研生物科技有限公司提供;健康 SD 大鼠,10 只,体重(200 ± 20)g,雌性,由大连医科大学实验动物中心提供,合格证号为 SCXK(辽)2008-0002。动物饲养于空调室内,室温(20 ± 2)℃,相对湿度 50% ~ 60%,颗粒饲料喂养,自由饮水。动物实验操作严格按照辽宁中医药大学动物实验伦理审查委员会标准执行。

柴胡药材(辽宁华润本溪三药有限公司,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* 的干燥根)。柴胡皂苷(本实验室制备^[9],总皂苷含量 > 70%);柴胡皂苷 B₂ 对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 110928,纯度 > 98%),柴胡皂苷 D 对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 090114,纯度 > 98%);大鼠超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(上海源叶生物科技

有限公司,批号 130485),大鼠丙二醛(MDA)试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号 130887)。甲醇色谱纯。

1290 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,美国 Agilent 公司),6550 Q-TOF 型质谱(ESI 电离源接口,美国 Agilent 公司),Agilent-1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),US Auto Flow 型 CO₂ 培养箱(德国 Nuair 公司),AE31 型倒置相差显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司),Sunrise 型酶标仪(奥地利 Tecan 公司)。

2 方法与结果

2.1 柴胡皂苷成分解析研究

2.1.1 色谱条件 Poroshell 120 SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 100 mm, 2.7 μm),流速 0.6 mL·min⁻¹,柱温 30℃,流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 7.5 min, 50% ~ 75% B)。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(Dual AJS ESI),负离子模式检测,干燥气体流速 11 L·min⁻¹,干燥气温度 250℃,雾化器压力 275.8 kPa,鞘气温度 350℃,鞘气流速 11 L·min⁻¹,毛细管电压(VCap)3 500 V,碎裂电压为 125 V,射频电压为 750 V;二级碰撞电压为 -20, -40 V;质量扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500。

2.1.3 柴胡皂苷成分鉴别分析 将柴胡皂苷成分一、二级质谱信息经对照品比对、数据库查询、相关文献查询^[10-11]与解析,推测鉴定的主要化合物见表 1,图 1。

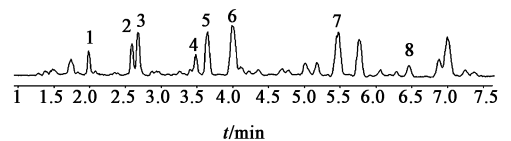


图 1 负离子模式下柴胡皂苷总离子流
Fig. 1 TIC diagram of bupleurum saponin in negative ion mode

2.2 柴胡皂苷药代动力学研究

2.2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×

表 1 柴胡皂苷成分鉴别分析

Table 1 Differential analysis results of constituents in bupleurum saponin

No.	t_R /min	准分子离子	碎片离子	相对分子质量	分子式	化合物
1	1.990	925 [M - H] ⁻ , 961 [M + Cl] ⁻ , 971 [M + HCOO] ⁻ , 988.512 9 [M + HCOO + OH] ⁻	779, 763, 617	926.523 9	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	柴胡皂苷 I
2	2.584	779 [M - H] ⁻ , 815 [M + Cl] ⁻ , 825 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	617	780.466 0	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 A
3	2.675	779 [M - H] ⁻ , 815 [M + Cl] ⁻ , 825 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	617	780.466 0	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 B ₂
4	3.477	617 [M - H] ⁻ , 653 [M + Cl] ⁻ , 663 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	471, 439	618.413 2	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	prosaikogenin F
5	3.642	617 [M - H] ⁻ , 653 [M + Cl] ⁻ , 663 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	471, 439	618.413 2	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	prosaikogenin D
6	3.997	779 [M - H] ⁻ , 815 [M + Cl] ⁻ , 825 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	617	780.466 0	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	柴胡皂苷 D
7	5.468	617 [M - H] ⁻ , 653 [M + Cl] ⁻ , 663 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	471, 439	618.413 2	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	prosaikogenin G
8	6.468	763 [M - H] ⁻ , 799 [M + Cl] ⁻ , 809 [M + HCOO] ⁻ , [M + HCOO + OH] ⁻	601	764.471 1	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	柴胡皂苷 E

250 mm, 5 μm), 流动相 0.02% 甲酸水 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 30 min, 30% ~ 42% B), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测器波长 210, 254 nm, 进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取柴胡皂苷 B₂, 柴胡皂苷 D 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成柴胡皂苷 B₂ 为 336 mg·L⁻¹, 柴胡皂苷 D 为 226 mg·L⁻¹ 的混合对照品贮备液。

2.2.3 质控样品制备 精密吸取空白血浆 200 μL, 分别加入各对照品溶液 20 μL 和内标溶液 20 μL 制备成柴胡皂苷 B₂ 2.01, 4.69, 8.71 mg·L⁻¹, 柴胡皂苷 D 0.376 7, 0.678 1, 1.132 3 mg·L⁻¹ 的质控样品溶液于 4 °C 冰箱保存, 备用。

2.2.4 血浆样品的制备 取大鼠 10 只, 禁食 12 h, 按 0.144 g·kg⁻¹ 灌胃柴胡皂苷^[9], 分别于 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h 眼眶取血, 肝素抗凝, 取一部分血浆 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 分离血浆, 用于药代动力学研究。另取一部分血浆离心后无菌分离血浆, 合并同组血浆, 经 56 °C, 30 min 灭活处理后, 0.22 μm 微孔滤膜滤过除菌, 用于体外药效学实验。

2.2.5 血浆样品的处理 分别取给药前后所得血浆 0.2 mL, 加入甲醇 0.8 mL, 涡旋振荡 3 min, 13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 吸取上清液, 氮气吹干, 加入甲醇 0.2 mL 溶解, 涡旋振荡 3 min, 吸取溶液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 分别作为空白血浆及含药血浆供试品溶液。

精密吸取混合对照品溶液 20 μL, 常温下减压

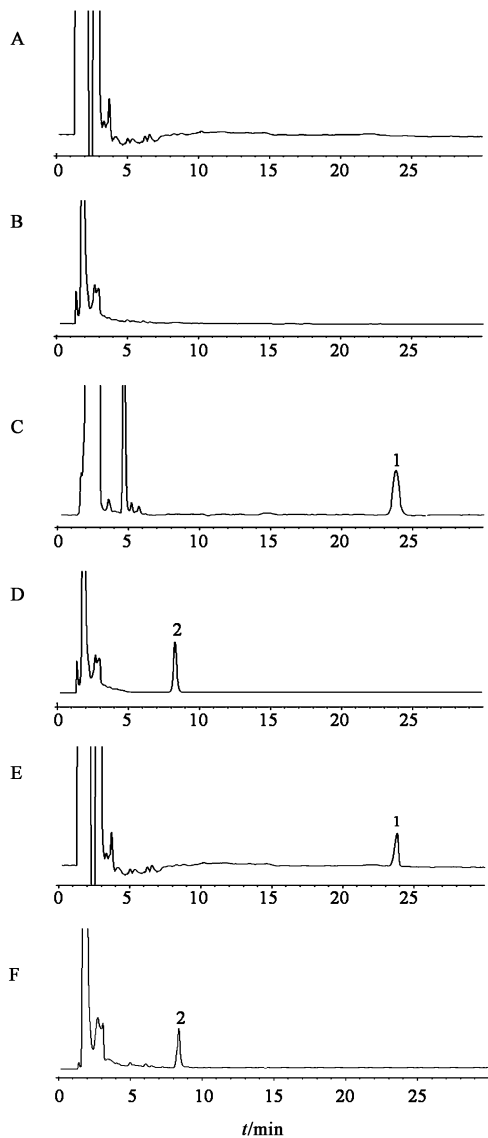
蒸干, 精密加入空白血浆 0.1 mL, 漩涡振荡 3 min。加入甲醇沉淀 0.3 mL。13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 吸取上清液, 氮气吹干, 加入色谱甲醇 0.2 mL 溶解, 涡旋振荡 3 min, 吸取溶液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 作为空白血浆加对照品溶液。

2.2.6 专属性试验 在上述条件下分别精密吸取混合对照品溶液、空白血浆、空白血浆加对照品及含药血浆供试品溶液 10 μL, 进样, 结果表明在对照品溶液和含药血浆供试品溶液色谱图相应位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 且空白血浆样品无干扰。结果见图 2。

2.2.7 标准曲线制备及最低检测限测定 按 2.2.5 项下方法制备 6 个含不同浓度对照品的空白血浆溶液, 各 6 份, 10 μL 进样分析。以各对照品色谱峰峰面积为纵坐标, 对照品浓度为横坐标, 绘制标准曲线并进行线性回归, 柴胡皂苷 B₂ 回归方程 $Y = 70.307X - 34.912$ ($r = 0.997$), 柴胡皂苷 D 回归方程 $Y = 398.71X - 38.215$ ($r = 0.998$)。线性范围分别为 2.01 ~ 8.71, 0.376 7 ~ 1.13 mg·L⁻¹。

2.2.8 精密度考察 按 2.2.5 项下方法操作, 取质控样品溶液, 每个质量浓度 6 份, 用当日随行标准曲线测定质控样品溶液的质量浓度, 计算各对照品的血浆质量浓度及 RSD, 结果表明日内精密度良好, 连续进行 5 d, 同法计算各对照品的血浆质量浓度及 RSD, 结果表明日间精密度良好, 见表 2。

2.2.9 稳定性考察 取 2.2.3 项下质控样品溶液, 每个浓度 2 份, 1 份室温放置, 另一份于 -20 °C 条件



A. 空白血浆 (210 nm); B. 空白血浆 (254 nm); C. 对照品加空白血浆溶液 (210 nm); D. 对照品加空白血浆溶液 (254 nm); E. 含药血浆供试品溶液 (210 nm); F. 含药血浆供试品溶液 (254 nm); 1. 柴胡皂苷 D; 2. 柴胡皂苷 B₂

图 2 给药后大鼠血浆 HPLC

Fig. 2 HPLC figure of rat plasma after taking drug

表 2 质控样品日内及日间精密度试验 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Precision test of reference substance blank plasma ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	日内精密度		日间精密度	
		血浆/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD/%	血浆/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD/%
柴胡皂苷 B ₂	2.01	2.27 ± 0.16	1.3	2.36 ± 0.28	1.5
	4.69	4.82 ± 0.35	2.0	4.98 ± 0.57	2.3
	8.71	8.95 ± 0.58	2.6	9.14 ± 0.92	2.9
柴胡皂苷 D	0.376 7	0.382 1 ± 0.001 2	1.9	0.387 6 ± 0.004 5	2.2
	0.678 1	0.681 5 ± 0.005 6	2.5	0.689 7 ± 0.009 8	3.0
	1.132 3	1.144 5 ± 0.009 5	3.0	1.147 6 ± 0.013 4	3.0

下保存。取室温放置样品,分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样分析,结果质控样品中柴胡皂苷 B₂ RSD 分别为 8.0%, 5.1%, 3.2%, 柴胡皂苷 D RSD 分别为 4.6%, 3.2%, 6.0%。表明血浆样品室温放置 10 h 稳定性良好,取冷冻血浆样品,解冻后进样分析,再冷却,20 d 内依法测定 4 次,柴胡皂苷 B₂ RSD 分别为 9.3%, 3.9%, 8.7%, 柴胡皂苷 D RSD 分别为 6.4%, 4.6%, 7.0%。表明血浆样品冻融稳定性良好。

2.2.10 提取回收率考察^[10-11] 取 2.2.3 项下质控样品溶液,每个质量浓度 6 份,进样分析所得浓度与实际浓度的比值即为方法回收率;另取空白血浆 0.1 mL,按 2.2.5 项下操作,得到与空白血浆加对照品溶液,进样分析,计算对照品峰面积与质控样品溶液峰面积的比值,即为提取回收率。结果柴胡皂苷 B₂ 的方法回收率分别为 99.45%, 98.57%, 104.31%, 柴胡皂苷 D 的方法回收率分别为 102.64%, 103.42%, 98.70%。柴胡皂苷 B₂ 的提取回收率分别为 98.95%, 102.37%, 96.05%, 柴胡皂苷 D 的提取回收率分别为 89.09%, 101.15%, 93.43%。见表 3。

2.2.11 药代动力学参数数据处理 以峰面积按照标准曲线方程计算,求得有效化学成分的不同时间点的血浆浓度,根据上述测定结果得到的各个入血成分不同采血点的血药浓度,将个时间点的血药浓度与时间点作图,得血药浓度-时间曲线,见图 3。将给药后不同时间血药浓度和时间数据用 DAS 2.1.1 药代动力学软件处理,以统计矩方法计算各项药代动力学参数^[12-13],实验结果及其主要药物动力学参数见表 4。

2.3 柴胡皂苷药动、药效相关性研究

2.3.1 含药血浆对人体胃黏膜上皮 (GES-1) 细胞的作用 分别取处于对数的生长期的人体胃黏膜上

表 3 方法回收率与提取回收率对质控样品及血浆加对照品的考察 (n = 6)

Table 3 Results of method and extraction recovery rates (n = 6)

成分	质量浓度 /mg·L ⁻¹	质控样品			空白血浆加对照品		
		血浆 ($\bar{x} \pm s$) /%	方法回收率 /%	RSD /%	血浆 ($\bar{x} \pm s$) /%	提取回收率 /%	RSD /%
柴胡皂苷 B ₂	2.01	2.00 ± 0.04	99.42	1.7	1.99 ± 0.04	98.95	1.8
	4.69	4.62 ± 0.04	98.57	0.9	4.80 ± 0.07	102.37	1.5
	8.71	9.09 ± 0.05	104.31	0.6	8.37 ± 0.08	96.05	1.0
柴胡皂苷 D	0.376 7	0.386 7 ± 0.003 8	102.64	1.0	0.335 6 ± 0.006 1	89.09	1.8
	0.678 1	0.701 3 ± 0.009 1	103.42	1.3	0.685 9 ± 0.014 9	101.15	2.2
	1.132 3	1.117 6 ± 0.015 6	98.70	1.4	1.057 9 ± 0.022 1	93.43	2.1

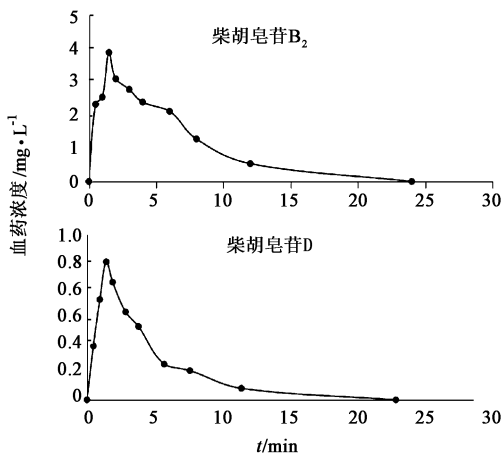


图 3 大鼠灌胃柴胡醇提取液后血浆药物浓度-时间曲线

Fig. 3 Drug concentration-time curve of rats plasma after taking bupleurum alcohol extraction liquid

表 4 柴胡皂苷 B₂ 和柴胡皂苷 D 的药代动力学参数

Table 4 Pharmacokinetic parameters of saikosaponin B₂ and saikosaponin D

药代动力学参数	柴胡皂苷 B ₂	柴胡皂苷 D
房室模型	一室模型	一室模型
t _{1/2α} (h)	1.067	1.967
t _{1/2β} (h)	1.187	2.064
k ₁₀ (1/h)	10.735	0.344
AUC _{0-t} (mg·L ⁻¹ ·h)	13.838	2.912
AUC _{0-∞} (mg·L ⁻¹ ·h)	15.726	3.696
T _{max} (h)	1.500	1.500
C _{max} (mg·L ⁻¹)	3.873	0.835
CL/F (L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	1.272	5.414
拟合度 R ²	0.922	0.904

皮 (GES-1) 细胞, 加培养基稀释至密度为 5 × 10⁴ 个/mL, 接种于 96 孔培养板, 每孔 100 μL, 设空白调零孔 (只加培养基, 酶标仪调零用), 空白对照孔 (只加细胞), 模型孔 (加入 8% 无水乙醇作用于人胃黏膜上皮细胞的时间为 2 h 造模) 和给药孔 (经 8% 无水乙醇造模损伤后再加入浓度为 10% 不同时间点

大鼠灌胃给药得到的含药血浆), 每个设 5 个复孔, 置于 37 °C 5% CO₂ 的培养箱中培养约 12 h 待细胞贴壁完全, 每孔加噻唑蓝 (MTT) 20 μL, 继续培养 4 h 后吸净孔内上清液, 每孔加入 DMSO 150 μL。微量振荡器上振摇 10 min 使紫色结晶充分溶解。用酶标仪在 492 nm 处扫描, 测定吸光度。

2.3.2 细胞上清液中 SOD 和 MDA 含量检测
SOD, MDA 含量测定, 严格按照试剂盒说明书项下操作。

2.3.3 含药血浆的时效曲线 大鼠灌胃给予柴胡皂苷后不同时间点的含药血浆的体外药效学测定结果见表 5, 以 2 种化学成分对无水乙醇损伤的 GES-1 细胞的保护作用的药效指标值为纵坐标, 以不同采血时间点为横坐标作图得到时效曲线, 不同时间点的含药血浆的时效曲线见图 4。

3 结论与讨论

采用高分辨质谱技术, 对本实验所用柴胡皂苷所含主要成分进行解析, 经对照品比对, 相关数据库查询, 质谱裂解规律分析等, 可基本确定本品主要含柴胡皂苷 A, D, 及其相关代谢产物柴胡皂苷 B₂, I, E, prosaikogenin D, F, G, 但对其入血成分进行检测, 发现主要入血成分为柴胡皂苷 B₂, 柴胡皂苷 D, 本研究为柴胡皂苷体内化学成分转化及生物活性的发现提供前期基础。

柴胡皂苷中柴胡皂苷 B₂, 柴胡皂苷 D 虽然药动参数存在一定的差异性, 但通过药时曲线发现其变化趋势呈高度相关性, 结果初步证明柴胡皂苷作用与生物体内主要可能与其母核相关, 该研究为探讨其作用的物质基础提供前期工作。

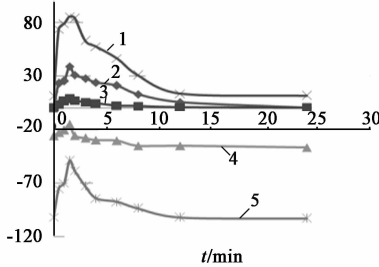
柴胡皂苷含药血浆与损伤的人体胃黏膜上皮 (GES-1) 细胞增殖之间具有良好的相关性, 随着柴胡含药血浆有效组分浓度的增加, 柴胡含药血浆对损伤的人体胃黏膜上皮细胞增殖作用也呈现出增加

表 5 不同时间点含药血浆对损伤 GES-1 细胞的增殖作用

Table 5 Proliferative effect of different time points' serum to damaged GES-1 cell

组别	采血时间点/min	柴胡皂苷 B ₂ /mg·L ⁻¹	柴胡皂苷 D/mg·L ⁻¹	MTT 增殖率/%	SOD 增殖率/%	MDA 抑制率/%
空白	-	-	-	-	-	-
模型	-	-	-	-34.63	6.92	-103.245
含药血浆	0	0	0	-26.02	10.86	-101.78
	0.5	2.318 6	0.325 8	-23.21	73.60	-75.349 7
	1	2.531 7	0.607 2	-20.85	78.81	-70.066
	1.5	3.873 2	0.835 2	-15.59	85.26	-49.284 3
	2	3.083 1	0.711 8	-25.74	84.03	-58.454 8
	3	2.765 4	0.532 1	-28.19	62.65	-72.985 2
	4	2.383 1	0.443 7	-30.01	57.12	-84.278 5
	6	2.105 7	0.215 8	-30.46	46.07	-87.567 6
	8	1.275 6	0.176 4	-35.27	30.55	-93.643 2
	12	0.535 7	0.069 4	-35.21	13.45	-102.135
	24	0	0	-36.81	11.36	-103.149

的趋势。当柴胡血药浓度也达到最大时,柴胡含药血浆对损伤的人体胃黏膜上皮(GES-1)细胞的增殖作用也达到最大,显示具有良好的相关性,但药效维持时间较短。



1. 模型;2. 柴胡皂苷 B₂;3. 柴胡皂苷 D;4. MTT;5. 空白

图 4 不同时间点含药血浆的时效曲线

Fig. 4 Time-effect curve of different time points

另外,当柴胡皂苷 B₂, D 血药浓度较高时,损伤的人体胃黏膜上皮(GES-1)细胞上清液中 SOD 含量也相对较高,MDA 含量相对较少,与药效呈现较好相关性,说明柴胡皂苷治疗胃溃疡作用机制可能与 MDA, SOD 蛋白调控有关。

本实验采用高分辨质谱技术,在明确柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用化学成分的基础上,开展柴胡皂苷对人体胃黏膜上皮细胞作用药动药效相关性研究,结合柴胡皂苷的生物活性及动力学规律,揭示柴胡皂苷发挥治疗胃溃疡作用的药效物质基础,为该药材的临床合理应用提供一定参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:280.

[2] 赵怀康. 中药材柴胡的特征与功效研究[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2014,2(8):164.

[3] 张虹. 柴胡的功效及其临床配伍应用[J]. 中医药临床杂志,2010,22(1):81-82.

[4] 李腾,高展,孙玉侠,等. 柴胡及其制剂中皂苷类成分的研究[J]. 中成药,2011,33(11):1840-1843.

[5] 史青,聂淑琴,黄璐琦,等. 柴胡属植物化学成分及药理研究新进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2002,8(5):53-56.

[6] 谢东浩,蔡宝昌,安益强,等. 柴胡皂苷类化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2007,23(1):63-65.

[7] 王帅,包永睿,孟宪生,等. 柴胡皂苷对无水乙醇致胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):191-194.

[8] 王一飞,郝琨,王广基,等. 柴胡皂苷类物质体内代谢研究进展[J]. 医学综述,2012,18(16):2621-2624.

[9] 王帅,孟宪生,包永睿,等. 树脂联用富集与纯化柴胡总皂苷[J]. 医药导报,2011,30(4):423-426.

[10] 孙健,张立富,范斌,等. 柴胡皂苷类化学成分的 LC-MS 分析[J]. 中国药物警戒,2012,9(12):725-727.

[11] 郭智,彭冰,李宗阳,等. UPLC-QToF-MS 测定不同提取条件下柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的转化规律[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(5):716-720.

[12] 杨阳,李昕,王林,等. 基于 PK/PD 参数的碳青霉烯类药物给药方案设计[J]. 中南药学,2013,11(2):157-160.

[13] 李昕,张明香,刘伟,等. 利用联合定量药敏实验制定个体化给药方案的药学实践[J]. 中南药学,2012,10(7):552-555.

[责任编辑 顾雪竹]