

# 花红片中槲皮素的药动学-药效学相关性初步研究

齐娜, 黄凤香, 廖迎, 徐勤, 罗朝辉, 李胜联\*  
(桂林医学院药剂药动教研室, 广西 桂林 541004)

**[摘要]** **目的:**研究花红片的药效学与其主要成分槲皮素的药动学,探讨其药动学与药效学相关性。**方法:**采用醋酸扭体法和热板法观察花红片对小鼠的镇痛作用,高效液相色谱法测定花红片中有效成分槲皮素在小鼠体内的血药浓度,以效应-时间、效应-血药浓度曲线进行相关分析;采用 WinNonlin 软件对药物效应-血药浓度进行 PK-PD 模型拟合。**结果:**花红片在 1~3 h 发挥较强的镇痛作用,与槲皮素血药浓度-时间曲线的达峰时间相比其具有一定的滞后性。痛阈提高百分率和血药浓度之间的关系符合简单的最大效应模型;镇痛抑制率和血药浓度之间的关系符合效应抑制模型。**结论:**花红片有明显的镇痛作用,其药效学与槲皮素药动学是相关的。

**[关键词]** 花红片; 槲皮素; 药动学; 药效学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)01-0110-05

**[doi]** 10.11653/syfyj2014010110

## Studies on Correlation Between Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Characteristics of Quercetin from Huahong Tablets

QI Na, HUANG Feng-xiang, LIAO Ying, XU Qin, LUO Chao-hui, LI Sheng-lian\*

(Department of Pharmaceutics and Pharmacokinetics of Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study pharmacodynamic of Huahong tablets and its main component--quercetin's pharmacokinetics *in vivo* in order to investigate the preliminary correlation of pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK-PD). **Method:** Analgesic effect of Huahong tablets was studied by the writhing test induced by acetic acid and hot plate method in mice, the serum concentration of quercetin as Huahong tablets

**[收稿日期]** 20130627(021)

**[基金项目]** 广西教育厅项目(2008.10LX456)

**[第一作者]** 齐娜,博士,讲师,从事药物新剂型及药物动力学研究, Tel:13768435402, E-mail:qina1012@163.com

**[通讯作者]** \*李胜联,硕士生导师,教授,从事医学科研设计与药理毒理学研究, Tel:13768747739, E-mail:lishenglian@glmc.edu.cn

[2] 潘洪平. 葛根总黄酮和葛根素的药理作用和临床应用研究进展[J]. 广西药学, 2003, 25(10):1941.

[3] Gao L, Ji X, Song J, et al. Puerarin protects against ischemic brain injury in a rat model of transient focal ischemia[J]. Neurol Res, 2009, 31:402.

[4] Zhang S, Chen S, Shen Y, et al. Puerarin induces angiogenesis in myocardium of rat with myocardial infarction[J]. Bio Pharm Bull, 2006, 29, 945.

[5] Hsu F L, Liu I M, Kuo D H, et al. Antihyperglycemic effect of puerarin in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. J Nat Prod, 2003, 66:788.

[6] Yan L P, Chan S W, Chan A S C, Puerarin decreases serum total cholesterol and enhances thoracic aorta

endothelial nitric oxide synthase expression in diet-induced hypercholesterolemic rats[J]. Life Sci, 2006, 79:324.

[7] 张好琳, 梁敬钰. 葛根素的研究进展[J]. 海峡药学, 2005, 17(1):2.

[8] 高远, 吕邵娃, 孙爽, 等. 提高葛根素生物利用度的研究进展[J]. 中医药学报, 2012, 40(6):127.

[9] 项瑞. 重要分散片的研究进展[J]. 首都医药, 2012, 16(4):21.

[10] 李国栋, 魏华, 仲明远. 分散片发展现状[J]. 解放军药学学报, 1999, 12(15):24.

[责任编辑 邹晓翠]

active ingredient was determined by HPLC assay, and correlation analysis on effect-time curve and effect-blood concentration curve; PK-PD model were fitted on drug effect-plasma concentrations with WinNonlin software.

**Result:** Huahong tablets have a significant analgesic effect between 1 and 3 hours, compared with the peak time of the concentration-time curve of quercetin, analgesic effect was lag certainly. **Conclusion:** Huahong tablets have a significant analgesic effect, pharmacodynamics of Huahong tablets and its main component-quercetin's pharmacokinetics are relevant. The relationship between increment percentage of analgesic threshold and plasma concentrations can meet the simple maximum effect PK-PD model; the relationship between inhibition rate of analgesia and plasma concentrations meet the simple maximum effect PK-PD model.

[**Key words**] Huahong tablets; quercetin; pharmacokinetics; pharmacodynamics

花红片由一点红、白花蛇舌草、地桃花、白背桐、桃金娘、鸡血藤等组成,用于湿热型的妇女月经不调、痛经及各种妇科炎症<sup>[1]</sup>。随着中药复方研究的深入,除了复方成分的药理学及临床疗效观察以外,其中有效成分药动学及药物效应动力学的研究为中药复方的研究与开发提供实验依据。槲皮素(quercetin)是花红片的主要成分之一<sup>[2]</sup>,具有明显的镇痛作用<sup>[3-4]</sup>。本文通过测定花红片对小鼠的镇痛作用及花红片中槲皮素在小鼠体内的血药浓度,初步评价花红片体内镇痛作用与槲皮素药动学的相关性。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠,体重 18~24 g;雌雄兼用,由桂林医学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(桂)2007-0001。

**1.2 药物** 花红片(批号 20110602,广西花红药业股份有限公司),阿司匹林(湖南新汇制药有限公司),槲皮素(含量 98%,西安小草植物科技有限公司),甲醇(色谱纯,山东禹王实业有限公司禹城化工厂),乙腈(色谱纯,天津市四友生物医学技术有限公司出品),乙酸(化学纯,广东西陇化工厂)。

**1.3 仪器** 高效液相色谱仪(安捷伦 1100,美国),可变波长扫描紫外检测器(VWD 安捷伦 1100,美国),BT224S 电子天平(德国赛多利斯),SHA-B 恒温振荡器(常州国华有限公司),微量移液器,混合纤维素膜微孔滤膜(0.22 μm,上海市新亚净化器件厂),XW-80A 涡旋混合器(苏州江东精密仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 药动学实验

**2.1.1 血浆样品的采集** 将小鼠禁食 12 h 并自由饮水,花红片溶解浓缩液按相当于槲皮素的量为 10 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃给药,分别于第 10,20,30,45,60,90,120,150,180,240,360 min 摘除眼球取血,每个

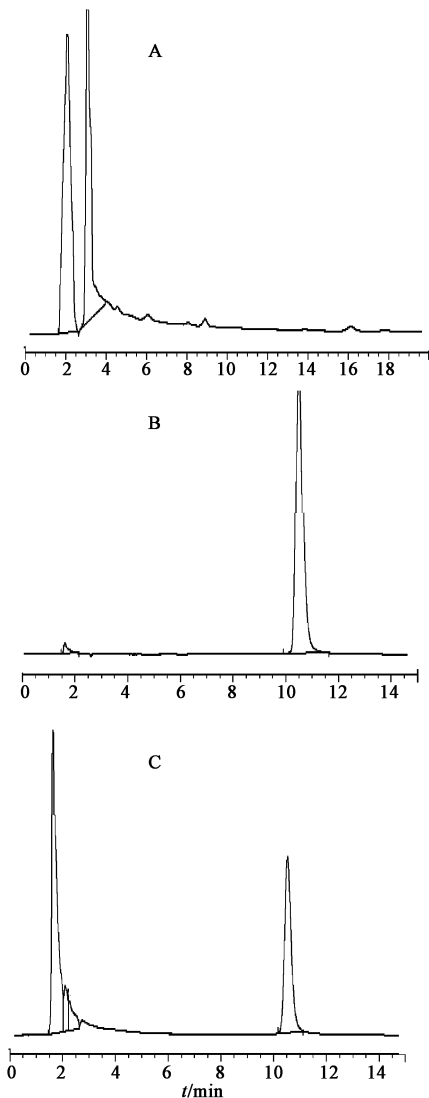
时间点取 6 只小鼠,将血液置于涂有肝素钠的离心试管中,静置 5 min 后,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,收集上层血浆,保存于 -20 ℃ 冰箱中备用。

**2.1.2 血浆样品的预处理和分析** 色谱条件: EclipseXDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相乙腈:水:乙酸(57:115:1.2);检测波长 360 nm<sup>[5]</sup>;流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,外标法定量分析。

血浆样品的预处理:精密量取 0.5 mL 血浆样品,加入甲醇 1.5 mL 沉淀蛋白<sup>[6]</sup>,涡旋混匀 1 min,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,移取上清液,在 37 ℃ 水浴中氮气吹干,残渣用 100 μL 的甲醇溶解后再离心除不溶物。取 20 μL 进样 HPLC 法测定。

方法学评价:精密量取槲皮素对照品溶液,分别用甲醇稀释制成浓度为 0.52, 2.08, 5.20, 10.40, 20.80 mg·L<sup>-1</sup> 的系列溶液,备用。以血浆中杂质峰不干扰样品的检测为前提,取 0.5 mL 空白血浆于离心管中,加入上述槲皮素标准溶液 20 μL,依照血浆样品预处理后,HPLC 法测定,以质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)对峰面积进行线性回归,得槲皮素标准曲线回归方程为  $Y = 71.023X - 42.762$ ,  $R^2 = 0.9991$ ,线性范围为 0.52~20.8 mg·L<sup>-1</sup>。取质量浓度为 5.20 mg·L<sup>-1</sup> 的槲皮素标准溶液 20 μL,加入 0.5 mL 空白血浆,依照血浆样品预处理项下操作测定。重复测定 5 次,并连续测定 5 d,结果日内、日间精密标准差 RSD 分别为 0.083%,0.147%。取 0.5 mL 空白血浆 3 份,加入槲皮素标准溶液,分别配制成低、中、高 3 个浓度的血浆样品,依照血浆样品预处理项下操作测定并计算回收率,方法回收率为 101.4%,RSD 0.854%;另取相同浓度的槲皮素标准溶液,不经提取,过滤后直接进样测定,经计算提取回收率为 77.3%~82.6%,最低检测限为 5 ng。专属性实验图谱见图 1。

**2.1.3 药动学曲线的拟合及参数的求算** 用



A. 空白血浆; B. 槲皮素对照品; C. 血浆中槲皮素  
图 1 槲皮素的高效液相色谱

HPLC 法测定不同时间小鼠血浆中槲皮素的含量, 以标准曲线计算槲皮素浓度, 其槲皮素浓度-时间数据用 DAS2.0 软件计算。小鼠口服花红片浓缩液后的体内槲皮素药物浓度-时间曲线见图 2, 采用统计矩分析方法计算小鼠体内槲皮素药动学参数见表 1。

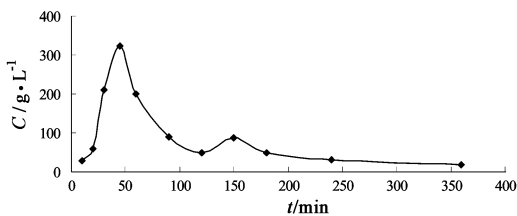


图 2 小鼠口服花红片后血浆中槲皮素药物浓度-时间曲线

## 2.2 镇痛实验

### 2.2.1 醋酸扭体法

取昆明种小鼠 30 只, 雌雄各

表 1 小鼠口服花红片后体内槲皮素药动学参数

房室参数	单位	参数值
$T_{max}$	min	45
$C_{max}$	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	323.78
$t_{1/2}$	min	139.95
$MRT_{(0-t)}$	min	109.88
$MRT_{(0-\infty)}$	min	169.29
$AUC_{(0-t)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$	25 584.58
$AUC_{(0-\infty)}$	$\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$	29 459.02
CL/F	$\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.35
V/F	$\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$	67.66

半, 随机分为 3 组, 实验前禁食并自由饮水 12 h, 采用灌胃给药, 阳性对照组给予阿司匹林  $50\text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ , 花红片组采用花红片溶解浓缩液 ig 给药, 相当于槲皮素的量为  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 空白对照组给相同体积的生理盐水。于给药后 0.5, 1.5, 3, 4, 6 h 小鼠 ip 0.6% 冰醋酸 0.2 mL, 记录给药后不同时间每只小鼠在 15 min 内的扭体反应次数<sup>[5]</sup>, 见表 2。与空白对照组相比, 在灌胃给药后的不同时间, 花红片组均能明显减少小鼠的扭体次数, 稍弱于阿司匹林组。

**2.2.2 热板法** 取雌性昆明种小鼠, 置于  $(55 \pm 0.5)$  °C 的热板上, 记录小鼠自放置于热板上至出现舔后足反应所需的时间, 即为痛阈值, 将跳跃的动物筛选出后, 选择痛阈值在 10 ~ 30 s 的合格小鼠 30 只再测 1 次痛阈值, 取两次平均值作为各鼠给药前痛阈值。按体重与痛阈值随机分为 3 组, 分别为空白对照组、阳性对照阿司匹林组和花红片组, 每组 10 只, 灌胃给药, 剂量同醋酸扭体法, 于给药后 0.5, 1.5, 3, 4, 6 h 分别测定每只小鼠痛觉反应潜伏期<sup>[5]</sup>, 见表 3。与空白对照组相比, 花红片组可明显延长小鼠痛觉反应潜伏期, 稍弱于阿司匹林组, 其中花红片在 0.5 ~ 1.5 h 延长小鼠痛觉反应潜伏期较显著, 且药效可持续至 6 h。

**2.3 药动学与药效学相关性** 根据给药前后的平均痛阈值, 计算花红片的痛阈提高率 (PI)<sup>[7]</sup>。

$$PI = (\text{给药后平均痛阈值} - \text{给药前平均痛阈值}) / \text{给药前平均痛阈值} \times 100\%$$

根据给药组与空白对照组平均扭体次数, 计算花红片的镇痛抑制率 (IR)<sup>[8]</sup>。

$$IR = (\text{空白对照组平均扭体次数} - \text{给药组平均扭体次数}) / \text{空白对照组平均扭体次数} \times 100\%$$

根据花红片药效学中 PI 和 IR 的结果分别对时间和血药浓度进行拟合, 结果 PI 随时间变化的情况如图 3(A) 所示, 给药后 PI 随着时间的延长先增加

表2 花红片对醋酸致小鼠扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	不同时间的扭体数/次				
		0.5 h	1.5 h	3 h	4 h	6 h
空白对照	-	48.8 ± 14.2	47.2 ± 15.3	50.3 ± 13.3	49.1 ± 14.5	51.2 ± 15.4
阿司匹林	50	25.9 ± 7.1 <sup>2)</sup>	28.1 ± 6.1 <sup>2)</sup>	30.8 ± 6.4 <sup>2)</sup>	32.2 ± 5.6 <sup>2)</sup>	28.2 ± 5.5 <sup>2)</sup>
花红片 <sup>3)</sup>	10	31.7 ± 6.8 <sup>2)</sup>	30.1 ± 9.2 <sup>2)</sup>	34.6 ± 7.1 <sup>1)</sup>	33.5 ± 6.7 <sup>1)</sup>	36.2 ± 6.8 <sup>2)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; <sup>3)</sup> 剂量以槲皮素量计(表3同)。

表3 花红片对热板法痛反应潜伏期的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	不同时间的痛阈/s					
		给药前	0.5 h	1.5 h	3 h	4 h	6 h
空白对照	-	19.9 ± 4.6	22.4 ± 4.1	22.6 ± 5.0	21.7 ± 4.7	21.9 ± 6.9	23.7 ± 4.7
阿司匹林	50	22.6 ± 4.2	35.5 ± 7.3 <sup>2)</sup>	45.1 ± 6.2 <sup>2)</sup>	52.2 ± 7.7 <sup>2)</sup>	47.3 ± 6.5 <sup>2)</sup>	39.5 ± 4.5 <sup>2)</sup>
花红片 <sup>3)</sup>	10	21.6 ± 4.7	31.8 ± 7.0 <sup>2)</sup>	42.3 ± 6.1 <sup>2)</sup>	46.2 ± 5.2 <sup>2)</sup>	43.1 ± 8.8 <sup>2)</sup>	33.8 ± 6.6 <sup>2)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

后降低,最高点出现在给药后3 h左右,较药动学曲线的最高点明显延后,表明痛阈提高较血药浓度具有一定的滞后性;IR 随时间变化的情况如图3(B)所示,IR 曲线的最高点出现在给药后0.5~1.5 h,该曲线与药动学的曲线的最高点基本一致。而PI和IR随血药浓度变化图3(C,D)所示,效应与血药浓度之间存在逆时针滞后环现象<sup>[9]</sup>,表明该药镇痛作用较血药浓度具有一定的滞后性。这与文献报道<sup>[9-11]</sup>的一些中药成分的药动学-药效学相关性是一致的。采用shienner 效应室模型,通过 WinNonlin 的非线性估计程序分别将PI及IR对血药浓度进行拟合,其中PI和血药浓度之间的关系符合  $E = (E_{max} \times C_e) / (C_e + EC_{e50})$  的简单的最大效应模型,计算药效学参数见表4;IR和血药浓度之间的关系符合  $E = E_{max} \times [1 - C_e / (C_e + EC_{e50})]$  的效应抑制模型,计算药效学参数见表5,其中E为药物效应,  $E_{max}$  为药物的最大效应,  $K_{e0}$  为药物从效应室中消除的最大常数,  $EC_{e50}$  为对应50%最大效应时效应室中的药物浓度。

表4 痛阈提高率与血药浓度变化

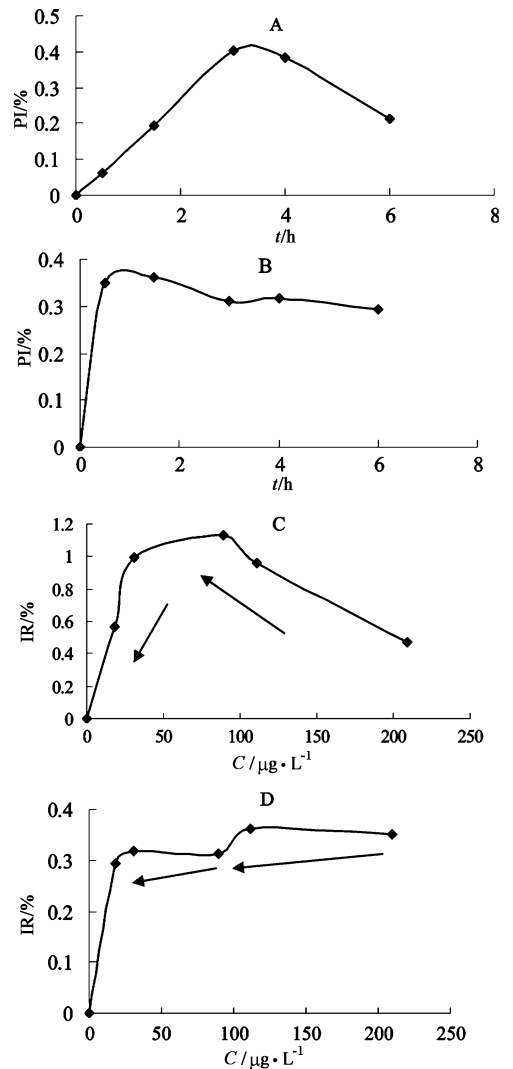
按 PK/PD 模型拟合的药效学参数( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

参数	单位	拟合值
$K_{e0}$	min <sup>-1</sup>	0.982 ± 0.306
$EC_{e50}$	μg·L <sup>-1</sup>	0.005 ± 0.002
$E_{max}$		0.667 ± 0.206

表5 镇痛抑制率随血药浓度变化

按 PK/PD 模型拟合的药效学参数( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

参数	单位	拟合值
$K_{e0}$	min <sup>-1</sup>	9.980 ± 3.259
$EC_{e50}$	μg·L <sup>-1</sup>	0.054 ± 0.017
$E_{max}$		0.336 ± 0.145



A. PI 随时间变化曲线; B. IR 随时间变化曲线; C. PI 随血药浓度变化曲线; D. IR 随血药浓度变化曲线

图3 花红片的镇痛效应与药动学相关性

### 3 讨论

槲皮素具有镇痛作用,本实验以花红片中有效成分槲皮素来研究小鼠体内药动学与花红片的镇痛效应之间的量效、时效关系。药动学实验结果表明,槲皮素在小鼠体内表观消除半衰期为 139.95 min,血药浓度达峰时间为 45 min,达峰浓度为  $323.78 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,血药浓度-时间曲线出现双峰,推测槲皮素在肠道的吸收可能存在肠肝循环现象;且体内平均滞留时间/mean residence time (MRT) 较长,以上两方面是药效持续时间较长的可能原因。药效学实验结果表明,花红片有明显的镇痛作用,且在 1~3 h 达到最大效应,比血药浓度达峰时间有一定的滞后。由于血液中的药物在达峰浓度时,肠黏膜效应室的药物浓度随后迅速达到平衡,因此,扭体法得出的镇痛抑制率的最高点与血药浓度的最大值基本一致;而足趾部的药物浓度的达到平衡需要一段时间,结果热板法测定足部的痛阈提高率具有一定的滞后性。

根据 Shiener 提出的效应室理论<sup>[12]</sup>,即效应与效应室的浓度是成正相关,但是药物从血浆室向效应室转运需要一个过程,因此,产生效应与血药浓度的滞后效应。运用 Sheiner 效应室理论,对效应室的浓度与药物效应分别进行 PK/PD 模型拟合,得出槲皮素在小鼠体内的效应浓度和痛阈提高百分率的关系符合简单的最大效应模型;槲皮素在小鼠体内的效应浓度和镇痛抑制率的关系符合效应抑制模型。药物效应与效应室浓度呈良好的相关性,且效应的预测值和实测值拟合良好。由于扭体法得出的镇痛抑制率随血药浓度变化的药效学参数  $K_{e0}$  较大,即药物从效应室中消除的速度较快,快于热板法测定足部的痛阈提高百分率;而两种方法产生药物效应的  $EC_{50}$  在  $0.005 \sim 0.054 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,较报道<sup>[13]</sup>的受体间相互作用的浓度的高出很多倍,因此,推测槲皮素的镇痛作用不是受体参与的过程。

本实验在小鼠体内建立了花红片其主要成分槲皮素的药动学-药效学(PK-PD)结合模型,建立了药物效应、血药浓度、及时间三者之间的关系,为花红片的临床合理应用提供实验依据。

[致谢] 非常感谢张英丰博士对 PK-PD 模型的拟合。

### [参考文献]

- [1] 林军,何萍,全敏敏,等. 花红胶囊主要药效学研究[J]. 中成药,2006,28(3):383.
- [2] 贾卫茹,邓波,韩铭. 高效液相色谱法测定花红泡腾片中槲皮素含量[J]. 西北药学杂志,2008,2(3):142.
- [3] 龚珊,顾振纶,俞光第,等. 槲皮素镇痛作用的观察[J]. 中草药,1996(10):612.
- [4] 宋必卫,田薇,刘颖雪,等. 槲皮素镇痛作用研究[J]. 安徽医科大学学报,1994,29(3):168.
- [5] 梁洁,柳贤福,孙正伊,等. HPLC 测定白花蛇舌草配方颗粒中槲皮素和山奈素含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):149.
- [6] 曾诚,罗颂平,骆运晖,等. 菟丝子灌胃大鼠槲皮素含量测定及药代动力学研究[J]. 中医药学刊,2004,6(22):1148.
- [7] 陶玲,沈祥春,彭佼,等. 艳山姜挥发油抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中国医院药学杂志. 2010,30(9):722.
- [8] 张文娟,李茂星,张泉龙,等. 栀子苷的快速提取分离及其镇痛抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(21):170.
- [9] 陈琼,冬雪川,师少军,等. 蝙蝠葛苏林碱和蝙蝠葛碱犬体内药动学-药效学结合研究[J]. 中国药学杂志,2004,3(5):366.
- [10] 黄芳,陈渊成,刘晓东. 板蓝根总生物碱中表告依春在发热大鼠体内的药动学-药效学结合模型研究[J]. 中草药,2007,38(10):1514.
- [11] 周静,邱碧菡,潘林梅,等. 黄连解毒汤抗脑缺血有效部位中栀子苷的药动药效学研究[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(7):487.
- [12] Sheiner L B, Stanliski D R, vozeh S, et al. Simultaneous modeling of pharmacokinetic and pharmacodynamics: application to *D*-tubocurarine[J]. Clin Pharmacol Ther, 1979,25(3):358.
- [13] 王秋娟,高凌,刘静涵,等. 关附甲素在犬体内的药动学与药效学结合模型分析[J]. 中国药科大学学报,1996,27(12):748.

[责任编辑 聂淑琴]