

· 药物代谢 ·

基于临床用药实际的不同状态下仙茅多次给药后 血药浓度变化

薛春苗¹, 张冰^{2*}, 金锐²

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

[摘要] **目的:**观察仙茅作用于正常、虚寒两种不同状态大鼠后,其入血成分苔黑酚葡萄糖苷的血药浓度变化差异,探讨仙茅在正常与虚寒状态下体内药代与生物学效应的相关性。**方法:**SD 雄性大鼠随机分为两组,即正常组和虚寒组。连续 14 d 肌注氢化可的松粉针剂 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 塑造虚寒大鼠模型。模型成功后,正常/虚寒大鼠连续 7 d 给予仙茅水提液 $30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 最后 1 次给药后,分别于多点动物交叉眼眶取血,采用高效液相法检测苔黑酚葡萄糖苷血药浓度,并计算药物代谢参数。**结果:**虚寒组大鼠在给药后 20 min,其血药浓度高于正常组大鼠,直到 120 min 达最大血药浓度,其高水平状态一直维持到 300 min;且虚寒组大鼠达峰时间 (T_{\max})、血药浓度-时间曲线下面积 (AUC) 明显升高 ($P < 0.05$)。**结论:**虚寒组大鼠体内苔黑酚葡萄糖苷浓度始终处于高水平状态,可能为其生物学效应的更好发挥提供了物质基础。

[关键词] 仙茅; 临床; 不同状态; 血药浓度

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0162-05

[doi] 10.11653/syfy2013210162

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130823.0921.001.html>

[网络出版时间] 2013-08-23 9:21

Plasma Concentration of Curculiginis Rhizoma on Different States of Clinical Practice

XUE Chun-miao¹, ZHANG Bing^{2*}, JIN Rui²

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the plasma concentration of orcinol glucoside of Curculiginis Rhizoma in blood on normal and deficiency cold state in rats, to explore that the correlation of Curculigini Rhizoma metabolize and and biological effects. **Method:** Male SD rats were randomly divided into two groups, namely the normal group and the deficiency cold group. The deficiency cold rats were given hydrocortisone sodium succinate injection ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) by intramuscular for 14 days. From the 15th day Curculigini Rhizoma ($30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) water extracts was given ig to two groups rats for 7 days. After the last time, blood was collected for detecting plasma concentration of orcinol glucoside at multiple time points by HPLC, and calculate metabolic parameters. **Result:** The plasma concentration was increased in deficiency cold rats at 20 min, plasma concentration reached the maximum at 120 min, high level was maintained to 300 min; time to maximum plasma concentration (T_{\max}) and area under the curve (AUC) were increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** The plasma concentration is high level in deficiency cold rats, that may provide the material basis for biological effect of Curculiginis

[收稿日期] 20130315(023)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)课题(2007CB512605);北京中医药大学科研创新团队项目(2011-CXTD-14)

[第一作者] 薛春苗,博士,讲师,主管药师,从事临床药学工作, Tel:010-84013382, E-mail: xuechunmiao9501@163.com

[通讯作者] *张冰,博士,教授,主任医师,博士生导师,从事中药学教学、科研及临床工作, Tel:010-64286335, E-mail: zhangbing6@263.net

Rhizoma.

[Key words] Curculiginis Rhizoma; clinic; different states; plasma concentration

仙茅始载于《海药本草》,是一味传统的补肾壮阳中药。具有补肾阳,强筋骨,祛寒湿等功效。主要用于阳痿精冷,筋骨痿软,腰膝冷痹,阳虚冷泻等。现代临床多用于不育症、阳痿、更年期综合征、骨质疏松、再生障碍性贫血、乳腺增生、乙型肝炎等的治疗,但辨证应属阳虚者为宜。根据仙茅临床用药实际情况,仙茅在正常、虚寒两种状态下的生物学效应存在差异,而大多数药物在血液中的浓度与其药物效应相关^[1]。本研究遵循临床用药实际,对仙茅连续给药后,在正常、虚寒不同状态下的代谢差异进行了深入探讨。

1 材料

1.1 动物 雄性SD大鼠,体质量(240±10)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2007-0001。

1.2 药品与试剂 仙茅药材(Curculiginis Rhizoma)购自云南保山市腾冲县,由北京中医药大学中药鉴定系的闫永红教授鉴定为正品;苔黑酚葡萄糖苷对照品由北京中医药大学中药分析系的黄建梅教授提供,(苔黑酚葡萄糖苷对照品纯度>95%);注射用氢化可的松琥珀酸钠(批号20100102,天津生物化学制药有限公司);0.9%氯化钠注射液(批号1007157091,山东鲁抗辰欣药业有限公司);乙醚(北京化工厂生产);氮气(生产许可证号XK13-209-01109北京泰龙电子科技有限公司);甲醇(Burdick & Jackson,色谱纯);哇哈哈饮用纯净水。

1.3 仪器 低温高速离心机(日本HITACHI公司);EB-280-22电子精密天平(日本CORPORATION公司);CBM-20A高效液相色谱仪(LC-20AT)(日本岛津公司);BF-2000A氮气吹干仪(BFC八方世纪公司);OM-12水浴氮吹仪(北京成萌伟业科技有限公司);GL-88B旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);SHZ88-1台式水浴恒温振荡器(太仓市光明实验分析仪器厂);京制00000249型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);LXJ-II型离心沉淀机(上海医用分析仪器

厂);AFE400制冰机(美国斯科茨曼公司);SHB-循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

2 方法

2.1 分组与处理 SD雄性大鼠24只,按体重随机分为2组,即正常组和虚寒组,每组12只。虚寒组每天肌注氢化可的松粉针剂20 mg·kg⁻¹(用生理盐水溶解),正常组肌注等体积生理盐水,连续20 d。于第15天开始,两组大鼠均灌胃仙茅水提液30 g·kg⁻¹。连续灌胃7 d。末次灌胃后,每组大鼠分成两部分交替眼眶取血,分别于0,20,40,60,80,100,120,150,180,240,300,360 min共12个时间点乙醚麻醉后眼眶取血0.7 mL(每只大鼠取血6个时间点),并分离血浆(EDTA-Na₂抗凝),备测血药浓度。

2.2 方法学考察 回收率、精密性、稳定性等考查方法见文献[2-3]。

2.3 指标检测

2.3.1 血浆样品制备 全血5 000 r·min⁻¹,离心15 min,取血浆250 μL,加入500 μL甲醇,涡旋混匀30 s,8 000 r·min⁻¹,离心15 min,吸上清液600 μL,50℃水浴N₂吹干,加600 μL 6%甲醇水溶液流动相复溶,涡旋混匀30 s,4℃5 000 r·min⁻¹,离心20 min,过0.22 μm滤器,待测。

2.3.2 色谱条件 分析柱:Agilent ZORBAXSB-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);保护柱Phenomenex C₁₈,4 mm×3.0 mm;流动相6%甲醇水溶液;检测波长216 nm;流速1 mL·min⁻¹;进样量20 μL;柱温25℃。

2.3.3 对照品溶液的制备 精密称取0.002 40 g苔黑酚葡萄糖苷对照品,甲醇溶解并定容至100 mL,4℃冷藏,备用。

2.3.4 标准曲线制备 将不同浓度苔黑酚葡萄糖苷对照品溶液,配制成空白血浆样品,然后按血浆样品制备方法制备,按色谱条件测定,记峰面积,以峰面积为横坐标、对照品浓度为纵坐标作图,得到回归方程为 $Y = 7E^{-05} X + 0.457$, $R^2 = 0.998$ 。所设浓度与峰面积见表1。

表1 苔黑酚葡萄糖苷质量浓度与峰面积

样品序号	1	2	3	4	5	6	7	8
质量浓度/mg·L ⁻¹	1.056	1.200	1.824	3.072	5.280	8.928	15.264	27.456
峰面积/mAu·s	12 585	14 439	23 310	29 883	67 759	125 825	211 729	396 261

2.3.5 药时曲线 根据所测血药浓度,以取血时间点 t (min) 为横坐标,以苔黑酚葡萄糖苷血药浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 为纵坐标做药-时拟合曲线。

2.3.6 药代参数计算 采用药代动力学 Kinetic 4.4 软件(美国热电公司生产)处理所测血药浓度数据,按照非房室模型计算药代参数。

2.4 统计学处理 实验数据采用 SAS8.2 统计软件分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 正常/虚寒大鼠不同时间点苔黑酚葡萄糖苷血药浓度 在给药后 0 min,血浆中未检测到苔黑酚葡萄糖苷。与正常组大鼠相比较,虚寒组大鼠苔黑酚葡萄糖苷血药浓度在 80, 120 min 时明显升高 ($P < 0.05$),而在 300 min 时,虚寒组大鼠苔黑酚葡萄糖苷血药浓度明显降低 ($P < 0.05$);除 20 min 时,其他时间点虚寒组大鼠苔黑酚葡萄糖苷血药浓度均高于正常组,但未出现统计学差异。见表 2,图 1~2。

表 2 正常/虚寒大鼠不同时间点
苔黑酚葡萄糖苷血药浓度 ($\bar{x} \pm s$) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

取血时间/min	正常组(n)	虚寒组(n)
20	6.19 ± 0.97 (6)	6.16 ± 0.38 (6)
40	4.89 ± 2.89 (6)	7.18 ± 1.41 (5)
60	6.93 ± 1.54 (6)	7.27 ± 1.19 (5)
80	6.39 ± 1.45 (5)	8.23 ± 0.77 (6) ¹⁾
100	5.47 ± 1.97 (6)	6.91 ± 1.68 (5)
120	5.61 ± 1.79 (6)	8.82 ± 2.26 (6) ¹⁾
150	4.56 ± 1.78 (6)	6.10 ± 1.48 (5)
180	4.86 ± 1.64 (6)	6.26 ± 1.79 (6)
240	3.44 ± 1.37 (5)	5.02 ± 1.50 (5)
300	3.57 ± 1.59 (5)	1.60 ± 0.63 (5) ¹⁾
360	1.99 ± 1.05 (5)	2.30 ± 0.52 (3)

注:与正常组相比¹⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

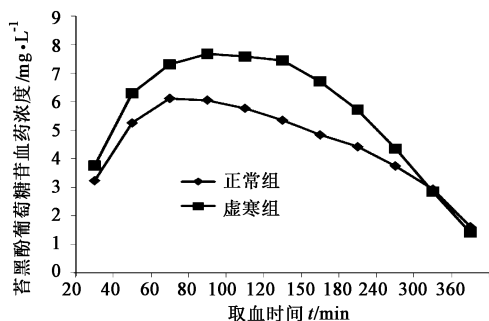
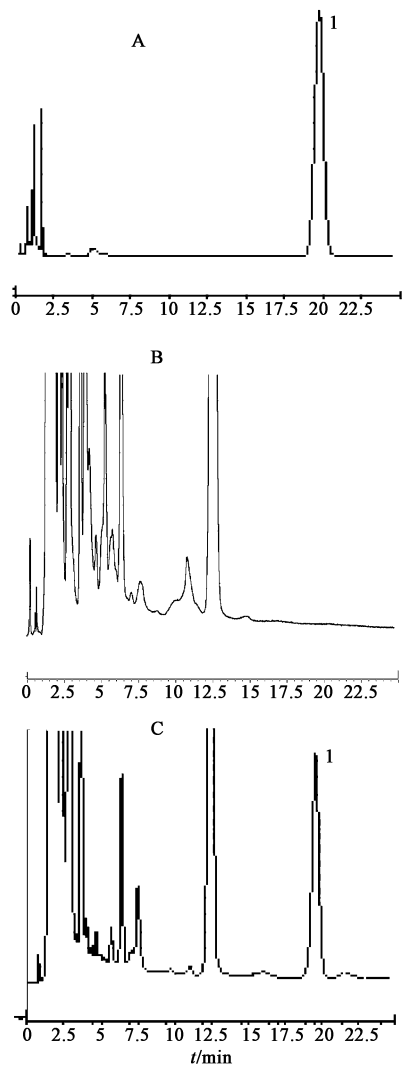


图 1 苔黑酚葡萄糖苷血药浓度药-时拟合曲线

3.2 正常/虚寒大鼠药代动力学主要参数 与正常



A. 苔黑酚葡萄糖苷对照组; B. 空白血浆组;

C. 仙茅水提液 $30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药血浆组; 峰 1 为苔黑酚葡萄糖苷

图 2 苔黑酚葡萄糖苷的 HPLC

组大鼠相比,虚寒组大鼠达峰时间 (T_{\max})、血药浓度-时间曲线下面积 (AUC) 均明显升高 ($P < 0.05$),其他如峰浓度 (C_{\max}) 也有升高趋势,但无统计学差异;而虚寒组大鼠平均驻留时间 (MRT) 有降低趋势,但无统计学意义。见表 3。

4 讨论

中药体内代谢研究有近 50 年的历史,随着研究手段越来越先进及检测技术越来越精确,中药体内代谢研究从单一活性成分,有效部位,单味药材,到复方中药的代谢研究均取得了不少突破。由于中药成分复杂,多数药物有效成分不明确等给中药体内代谢研究带来了极大的困难。但是,因为中药体内代谢过程直接影响药效和毒性,并影响联合用药的相互作用,故对保证临床疗效,指导合理用药意义重大。

表3 虚寒大鼠药代动力学主要参数变化($\bar{x} \pm s$)

参数/单位	正常组	虚寒组
$C_{max}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	7.812 ± 0.649	9.247 ± 1.912
T_{max}/min	53.333 ± 20.656	113.333 ± 41.312 ¹⁾
$\text{AUC}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}$	1 542.197 ± 180.707	1 826.618 ± 185.674 ¹⁾
MRT/min	296.741 ± 124.797	201.005 ± 33.898

4.1 血药浓度与药物效应密切相关 药物进入机体后,多数药物只有到达作用部位或受体部位,并达到一定浓度后,才能产生相应的药理作用。药物的药效学与药动学之间的联系研究是近年来研究的热点问题。自从 Sheiner 等提出作用于效应室的 PK/PD 模型以来,药物效应与药物浓度相关性的研究被广泛应用于抗心律失常药、降压药、镇痛药、降糖药以及抗心绞痛药物等效应的分析。如潘伟^[4]等用不同剂量麻黄汤灌胃发热大鼠,观察剂量-时间-效应,综合分析时间与体内药量的关系。但由于中药成分复杂,且药物效应广泛,甚至不明确。致使中药的血药浓度与药物效应之间的关系研究相对滞后,但随着中药指纹图谱等检测方法的不断完善,中药的药性成分逐渐明确,使中药血药浓度与药物效应相关性的研究受到越来越多学者的重视,并取得了一定的成绩。如郭军等^[5]研究速效救心丸中冰片的血药浓度变化与心肌缺血部分药效指标变化的关系;吴毅彦等^[6]探讨灯盏花素注射液中灯盏乙素血药浓度与其抑制 ADP 诱导的血小板聚集作用的相关性等。大量研究证实,药物血药浓度与效应之间存在直接关系。

4.2 仙茅活性成分与入血成分探讨 仙茅化学成分种类繁多,包括糖类化合物、皂苷类化合物、酚类化合物、苷类化合物、挥发油、脂肪族类、微量元素等^[7]。仙茅水提物和醇提物药理作用研究报道较多,认为其有抗氧化、保肝、调节免疫、抗骨质疏松、增强性功能等作用。这些均与其补肾壮阳的功效密切相关。目前对仙茅有效成分的关注主要集中在酚类、苷类及微量元素等。日本学者^[8]研究证明,仙茅苷(curculigoside)能明显促进巨噬细胞增生并提高其吞噬作用,而增强其免疫功能。Rao Kurma S 等^[9]研究发现,从仙茅中分离出的 curculigol 和 curculigenin A 能对抗肝毒素活性,能对抗半乳糖胺及硫代乙酰胺所致的肝毒性。Wu Q 等^[10]研究发现,仙茅的 20%、40% 乙醇洗脱物具有抗氧化活性,并从中分离得到了 8 个化合物,分别是苔黑酚-1-O- β -D-呋喃芹菜糖基-(1 → 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷

($\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$),仙茅苷 A、仙茅苷 B、仙茅苷 C、苔黑酚苷、2,6-二甲氧基-苯甲酸、丁香酸。Lakshmi 等^[11]研究报道,从仙茅中分离得到的地衣酚糖苷-A 和苔黑酚-3-D- β 葡萄糖苷可促进细胞免疫和迟发型超敏反应,能增强机体免疫。宋芹^[12]对仙茅补肾壮阳功效的物质基础进行了研究,结果显示:有效部位为仙茅 80% 乙醇提取正丁醇萃取部位,并分离得到了 4 个化合物,分别是仙茅苷、仙茅苷乙、仙茅素 A 及 2,6-二甲氧基苯甲酸;进一步药效学研究发现,其中含量较高的仙茅素 A 具有一定的补肾壮阳活性。

综上,虽然对仙茅药效活性成分的已有零散研究报道,但缺少认同。尽管药典^[13]将仙茅苷作为质量控制标准,但由于其药理作用广泛,明确其药理活性成分还有待深入开展研究,根据目前研究现状,其酚类、苷类、酚苷类成分主要的补肾壮阳成分还比较认可。课题组前期^[2-3],以仙茅中两个主要成分(药典规定的指标性成分仙茅苷和含量较大的苔黑酚葡萄糖苷)为对照品,进行入血成分检测;结果在不同时间点给药大鼠的血浆、肝肾组织及粪便中均未检测到仙茅苷成分,只检测到了苔黑酚葡萄糖苷一种成分,提示苔黑酚葡萄糖苷可能是仙茅的一个主要有效成分之一。至于苔黑酚葡萄糖苷是否具有代表性,还有待大量药理实验验证。但其毕竟在药材中含量高,且又是检测到的入血成分,可能是仙茅发挥作用的物质基础。

4.3 不同状态下仙茅药物代谢动力学研究为其药性表达研究奠定了实验基础。邢东明^[14]等研究蛇床子素在发热和正常大鼠体内代谢过程,发现发热组大鼠达峰时间和半衰期远大于正常组,清除率降低,药时曲线下面积增大。说明蛇床子素对发热大鼠的治疗作用可能与其体内高浓度相关。本研究尊重临床用药特点,选择与生物学效应研究相同的时间点,即重点考察仙茅连续 7 d 给药后,仙茅体内血药浓度变化与生物学效应变化的关系。结果显示,仙茅体内药代差异更加显著,虚寒组大鼠在不同时间点的血浆苔黑酚葡萄糖苷浓度均高于正常组大鼠,且药代参数结果提示,虚寒状态下仙茅吸收量

大,在体内维持时间长;而前期生物学效应研究中发现仙茅对虚寒大鼠指标变化有纠正作用,而对正常大鼠影响不明显。说明仙茅在虚寒大鼠体内的高浓度有利于药物发挥对虚寒状态的治疗作用。

本研究从仙茅传统功效出发,以中医证候模型为基础,选择虚寒大鼠模型与正常大鼠比较,研究中药在不同机体状态下的体内代谢不仅符合中医药理论辨证思想。亦符合中医临床用药实际,为中药药效表达研究提供了思路。但是,中药毕竟成分复杂,含量大的成分不一定是主要有效成分,血浆中检测不到的成分不一定没有生物学活性,因为有些成分经过转化后才发挥药效等,中药有效成分确定不仅借助药理研究,入血成分检测也要涉及多种对照品,才能更有说服力。

[参考文献]

[1] 蒋学华. 临床药理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2007:18.

[2] 霍秀颖. 仙茅入血成分的检测及其在不同机体状态大鼠体内药代动力学差异研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2009:55.

[3] 张晓萍. 苕黑酚葡萄糖苷在不同机体状态大鼠体内的药代动力学和组织分布差异研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2011:42.

[4] 潘伟,马张庆,许金红,等. 两种方法测定麻黄汤体内过程的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8):275.

[5] 郭军,孟华,王骊丽,等. 速效救心丸中冰片血药浓度变化对心肌缺血患者的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(18):2387.

[6] 吴毅彦,侯娟,高立勤,等. 灯盏乙素的大鼠药代动力学和血小板聚集抑制率的相关性研究[J]. 天津药学, 2010, 22(6):1.

[7] 杜中海,贾天柱. 仙茅的化学成分研究概述[C]. 北京:中华中医药学会四大怀药与地道药材研究论坛及中药炮制分会第二届第五次学术会议与第三届会员代表大会论文集, 2007:315.

[8] 久保道德. 日本公开特许报, 1983:58.

[9] Rao Kurma S, Mishra S H. Antihepatotoxic principles from the rhizomes of *Curculigo orchioides* Gaertn [J]. Indian Drug, 1997, 34(2):68.

[10] Wu Q, Fu D X, Hou A J, et al. Antioxidative phenols and phenolic glycosides from *Curculigo orchioides* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(8):1065.

[11] Lakshmi V, Pandey K, Anju P, et al. Immunostimulant principles from *Curculigo orchioides* [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 89(2/3):181.

[12] 宋芹. 仙茅补肾壮阳有效部位的化学成分研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2006.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:94.

[14] 邢东明,赵玉男,石钱,等. 解热药 YL2000 中蛇床子素在正常和发热大鼠体内药物代谢动力学比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(2):30.

[责任编辑 聂淑琴]

天津中医药大学期刊编辑部 2014 年征订启事

《天津中医药》月刊,每期 8 元,年定价 96 元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-83 电子邮件:zhongyiyao@vip.126.com, xuebaobj@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道 312 号,邮政编码:300193。

《天津中医药大学学报》双月刊,每期 6 元,年定价 36 元,联系电话:022-59596310,联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-153,电子邮件:xuebaobj@vip.126.com, xuebaotxd@126.com,网址:http://www.tjzhongyiyao.com,地址:天津市南开区鞍山西道 312 号,邮政编码:300193。