

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110303. 1351. 012

· 药物代谢 ·

两种方法测定麻黄汤体内过程的比较

潘伟, 马张庆, 许金红, 宋建国*

(皖南医学院药理学教研室, 安徽 芜湖 241002)

[摘要] 目的:以毒理效应法和药理效应法分别测定麻黄汤的体内过程,比较两法的异同。方法:毒理效应法以小鼠死亡率为指标,不同时间先后 2 次 ip 麻黄汤 $19.69 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 测定其表观药动学参数;药理效应法采用大鼠酵母致热模型,以解热效应为指标,ig 给予麻黄汤 $11.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 测定表观药动学参数。DAS 2.1.1 程序拟合表观药动学数据并计算参数。结果:毒理效应法测得麻黄汤体内呈二室开放模型,主要药动学参数 $t_{1/2\beta} = 9.36 \text{ h}$, $\text{AUC} = 46.80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = 0.32 (\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})/(\text{h}\cdot\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ 。药理效应法测得麻黄汤体内呈一室模型,主要药动学参数 $t_{1/2} = 4.15 \text{ h}$, $\text{AUC} = 55.01 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = 0.27 (\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})/(\text{h}\cdot\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ 。结论:2 法测得参数存在一定差异,毒理半衰期长于效应半衰期。生物效应法可用于探讨中药方剂体内过程,但所得参数意义及数值均与经典药动学有差异。

[关键词] 麻黄汤;毒理效应法;药理效应法;表观药动学参数

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0234-04

Comparison of Mahuang Tang Dispositions in Rodents by Two Methods

PAN Wei, MA Zhang-qing, XU Jing-hong, SONG Jian-guo*

(Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the dispositions of Mahuang Tang in rodents by the drug cumulative method and pharmacological effect method and to make a comparison. **Method:** Taking mortality as the index, mice were injected ip with $19.69 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Mahuang Tang twice at different time points, and the disposition of Mahuang Tang was determined by the drug cumulative method. Taking antipyretic effects as the index, rats with yeast-induced fever were administered $11.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ig of Mahuang Tang, the disposition was determined by the pharmacological effect method. Pharmacokinetic parameters were determined using DAS software version 2.1.1. **Result:** The drug cumulative method showed a two-compartment model to describe the disposition, the apparent pharmacokinetic parameters were $t_{1/2\beta} = 9.36 \text{ h}$, $\text{AUC} = 46.80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = 0.32 (\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})/(\text{h}\cdot\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$. The pharmacological effect method applied a one-compartment model to describe the disposition, the apparent pharmacokinetic parameters were $t_{1/2} = 4.15 \text{ h}$, $\text{AUC} = 55.01 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = 0.27 (\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})/(\text{h}\cdot\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$. **Conclusion:** The pharmacokinetic parameters from two methods are quite different. The drug cumulative method results in a longer elimination half-hour than that of the pharmacological effect method. The biological effect method can be applied to investigate the disposition of traditional medical formulae, predicting pharmacokinetic parameters with different values and meaning apart from the classic pharmacokinetic method.

[收稿日期] 20101221(016)

[第一作者] 潘伟, 硕士研究生, 从事数学药理学研究, Tel:15056461568, E-mail:huaxia78dragon@163.com

[通讯作者] * 宋建国, 博士, 教授, 硕导, 从事时间药理学与数学药理学研究, Tel:13905535771, E-mail:983532509@qq.com

[网络出版时间] 2011-03-03 13:51

[**Key words**] Mahuang Tang; drug cumulative method; pharmacological effect method; apparent pharmacokinetic parameters

中药及其方剂成分复杂,有效成分往往未完全阐明,通过血药浓度监测其体内过程难度很大。因此以生物效应法研究中药方剂体内过程有特殊的意义。经典名方麻黄汤源于《伤寒论》,具有发汗解表,宣肺平喘的功效。药理学研究证实,本方具有良好的解热作用,但过量服用会产生毒性反应。本文应用毒理效应法和药理效应法分别测定麻黄汤体内过程,比较两法测得参数的异同。

1 材料

1.1 药物及药液制备 实验用药材饮片购自皖南医学院附属弋矶山医院药房。按《伤寒论》载麻黄汤处方麻黄 9 g,桂枝 6 g,杏仁 6 g,炙甘草 3 g,每剂加水 120 mL,浸泡 30 min,麻黄先煎 20 min,再和余药共煎 30 min,8 层纱布过滤。药渣加水 120 mL,煎煮 2 次,合并水煎液。按容量 1:1 加入 95% 乙醇,冷藏过夜,过滤。60 ℃ 加热回收乙醇至无醇味,继续浓缩至 8 mL,得质量浓度 3 g 生药/mL 药液。实验时稀释至所需浓度。

1.2 动物 昆明小鼠,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半;SD 大鼠,体重 150 ~ 200 g,雌雄各半。购自南京青龙山实验动物中心,合格证 SCXK(苏)2008-0031。动物饲养条件:室温 20 ℃ ~ 25 ℃。实验前 12 h 禁食,自由饮水。

1.3 试剂和仪器 干酵母 广东丹宝利酵母有限公司(批号 P20100412)。欧姆龙电子体温计 MC-145。

2 方法

2.1 毒理效应法^[1]

2.1.1 麻黄汤 LD₅₀ 及对数剂量-死亡机率(D-P)方程测定 小鼠 120 只,随机分为 6 组,每组 20 只。麻黄汤浓缩液稀释为 6 个剂量组,组间距 1:0.8。小鼠 ip 给药(0.02 mL·g⁻¹ 体重)。记录 48 h 各组小鼠死亡率,Bliss 法计算 LD₅₀。

2.1.2 麻黄汤体存经时曲线测定 小鼠 160 只,随机分为 8 组,每组 20 只。以麻黄汤 19.69 g·kg⁻¹ (相当于 1/2 LD₉₀ 量) ip 给药(0.02 mL·g⁻¹ 体重)。各组动物于首次给药后的 0.25,0.5,0.75,1,2,4,6,8 h 分别重复给药 1 次。记录第 2 次用药后 48 h 小鼠死亡率,由 D-P 方程查得死亡率的相应等效量,减去第 2 次用药量,即为该时间点首次给药的体存量。

2.2 药理效应法^[2]

2.2.1 模型的制备^[3-4] 大鼠于实验前 3 d,每天测体温 2 次。选取体温在 36.6 ~ 38.3 ℃,且体温变化不超过 0.3 ℃ 的大鼠制备发热模型。大鼠 sc 新鲜配制的 15% 干酵母混悬液(10 mL·kg⁻¹),5 h 后测量体温,体温上升超过 0.8 ℃ 者供实验用。注射酵母前测量大鼠体温 2 次,间隔时间 1 h 以上,取 2 次平均值作为致热前体温值。

2.2.2 量效关系的确定 大鼠 36 只,随机分为 6 组,于致热后 6 h 分别 ig 给予麻黄汤 2.8, 5.6, 11.2, 22.4 g·kg⁻¹ 及生理盐水(20 mL·kg⁻¹ 体重)。用药后 1.5 h 测定大鼠肛温,按下式计算升温率:

$$\text{升温率} = \frac{\text{实测体温} - \text{致热前体温}}{\text{致热前体温}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{降温率} = \text{模型组升温率} - \text{给药组升温率} \quad (2)$$

以降温率作为纵坐标,对数剂量为横坐标,回归得对数剂量-解热效应曲线方程。

2.2.3 麻黄汤体内经时过程测定 大鼠 12 只随机分为 2 组,每组 6 只。于酵母致热后 6 h 分别 ig 给予麻黄汤 11.2 g·kg⁻¹ 及生理盐水(20 mL·kg⁻¹ 体重),给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 h 测定大鼠肛温,按公式(1)(2)计算各时间点降温率。并由对数剂量-解热效应曲线方程查得相应的体内药量。

2.3 数据处理 用 DAS2.1.1 程序拟合动物急性毒性数据,Bliss 法计算 LD₅₀。DAS 程序拟合表观药动学数据并计算参数。

3 结果

3.1 毒理效应法

3.1.1 麻黄汤 LD₅₀ 及 D-P 方程 各组小鼠用药后,死亡率见表 1。

表 1 麻黄汤对小鼠的 LD₅₀

剂量 /g·kg ⁻¹	对数剂量	组动物数	死亡数	死亡率 /%	机率单位 Y
48	1.681	20	20	100	7.24
38.4	1.584	20	17	85	6.04
30.7	1.487	20	12	60	5.25
24.6	1.391	20	6	30	4.48
19.7	1.294	20	2	10	3.72
15.7	1.196	20	0	0	2.76

麻黄汤给药后,各剂量组小鼠均不同程度出现精神萎靡、行动迟缓、少动、流涎、搔抓眼球等症状。动物多数于 0.5~2 h 死亡。麻黄汤的 LD₅₀28.40 g·kg⁻¹,95% 可信区间为 26.26~30.71 g·kg⁻¹,回归方程 Y=9.027X-8.119,LD₉₀39.37 g·kg⁻¹。

3.1.2 麻黄汤体存经时曲线 各组动物分别于不同间隔时间内 2 次 ip 麻黄汤 19.69 g·kg⁻¹ (1/2 LD₉₀)。由第 2 次用药后小鼠死亡率,求得等效量,再以等效量减去第 2 次给药量(19.69 g·kg⁻¹),即为首次用药的体存量。结果见表 2,图 1。麻黄汤 ip 给药后体存量呈二室开放模型,表观药动学参数见表 3。

表 2 麻黄汤体存量(19.69 g·kg⁻¹,间隔 2 次 ip,n=20)

给药间隔/h	死亡数/n	死亡率/%	几率单位	等效量/g·kg ⁻¹	体存量/g·kg ⁻¹
0.25	17	85	6.04	36.99	17.30
0.5	16	80	5.84	35.20	15.52
0.75	14	70	5.52	32.46	12.77
1	11	55	5.13	29.33	9.64
2	6	30	4.48	24.85	5.16
4	5	25	4.33	23.91	4.23
6	4	20	4.16	22.91	3.22
8	3	15	3.96	21.80	2.12

表 3 毒理效应法和药理效应法测定麻黄汤表观药动学参数

毒理效应法		药理效应法	
参数	数值	参数	数值
A/g·kg ⁻¹	17.72	t _{1/2} /h	4.15
B/g·kg ⁻¹	4.55	t _{1/2} (Ka)/h	0.38
t _{1/2α} /h	0.64	V(g·kg ⁻¹)/(g·kg ⁻¹)	1.59
t _{1/2β} /h	9.36	CL(g·kg ⁻¹)/(h·g·kg ⁻¹)	0.27
K ₁₀ /h ⁻¹	0.35	AUC/g·kg ⁻¹ ·h	55.01
K ₁₂ /h ⁻¹	0.53	T _{max} /h	1.5
K _{k21} /h ⁻¹	0.28	C _{max} /g·kg ⁻¹	10.79
Vl(g·kg ⁻¹)/(g·kg ⁻¹)	0.90		
CL(g·kg ⁻¹)/(h·g·kg ⁻¹)	0.32		
AUC/g·kg ⁻¹ ·h	46.80		

3.2 药理效应法

3.2.1 麻黄汤剂量效应关系 大鼠 ig 给予麻黄汤 22.4,11.2,5.6,2.8 g·kg⁻¹,降温率分别为 2.45%,

1.60%,0.85%,0.29%,对数剂量-降温率的量效方程为 Y=2.402X-0.861(r=0.9959)。

3.2.2 麻黄汤体内经时过程 大鼠 ig 给予麻黄汤 11.2 g·kg⁻¹后,各时间点的降温率及相应体内药量见表 4,图 1。麻黄汤 ig 给药体内过程呈一室模型,表观药动学参数见表 3。

表 4 麻黄汤的解热效应与体内药量关系

时间/h	降温率/%	体内药量/g·kg ⁻¹
0.5	0.72	4.55
1	1.04	6.19
1.5	1.62	10.79
2	1.48	9.43
3	1.17	7.01
4	0.95	5.67
6	0.82	5.01
8	0.50	3.69
10	0.23	2.85

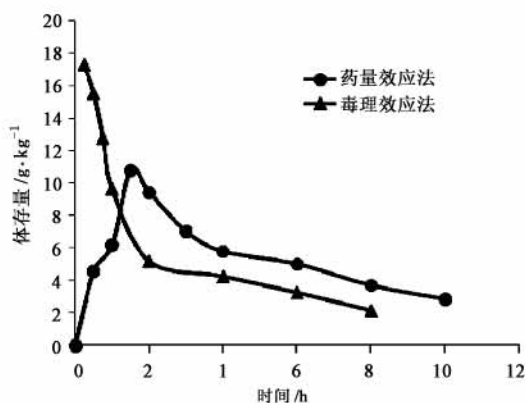


图 1 麻黄汤体内经时过程

4 讨论

中药及中药方剂的活性成分复杂,且多数方剂的有效成分不明,因而,迄今对中药方剂的体内过程所知甚少。有许多方法被试用于解决这一难题,其中生物效应法受到广泛关注^[5]。生物效应法根据药物的效应(药效反应或毒效反应)在一定条件下与体内药量呈对应关系,根据效应的变化推知体内药量的变化,进而描述药物的体内过程。用这种方法所测得的药物动力学可以直接反映药物效应部位的变化规律,这是其优于经典的通过测定药物血药浓度所得到的药物动力学之处。由生物效应法测到的药动学参数,其意义也有别于经典的药动学参数,故在数值上也不一定相同。

毒理效应法采用将 LD_{90} 剂量分 2 次间隔给药,根据观察终点死亡率变化,反推首次剂量在体内留存量,从而分析药物的体内过程,由此所得的参数有可能与临床实际有较大差异。例如,本法测得的毒效半衰期(9.36 h)与药理效应法所测得的解热效应半衰期(4.15 h)差异 1 倍以上。这可能是本法所用剂量偏大,已达中毒剂量,可能引起药物消除(代谢、排泄等)过程饱和之故;也可能是由于方剂产生解热作用和中毒作用分别属于不同的有效成分或不同的靶器官所致。结果提示,麻黄汤毒性效应消除较慢,可能存在蓄积现象^[6],临床应用应当加以注意。

药理效应法实验结果表明,麻黄汤解热作用的吸收半衰期为 0.38 h,达峰时间为 1.5 h,半衰期为 4.15 h,符合解表药吸收快、起效快、消除快的特点。选用解热作用作为本实验的药效指标,直接反映药物的治疗作用。大鼠体温易于测量、精确可靠、重复测量时对动物几乎无损伤。大鼠酵母致热模型发热持续时间持久,可维持 10 h 以上,可以满足药动力学研究的要求。已知麻黄汤中,麻黄、桂枝所含活性成分麻黄碱、桂皮醛、桂皮酸、挥发油、松油醇等均具解热作用,方剂的药效是各种成分的综合效应。常规的血药浓度法测定方法以某一单一的化学成分为指

标进行检测,并以此反映整体方剂的体内过程。这不仅不能反映方剂的实际情况,且被检测成分的药动力学规律也难以完全反映其他成分及整方的药动力学规律。而且,多数方剂的活性成分并未阐明。因此,药理效应法更能反映中药的整体效应,有较大临床意义和实用价值。

[参考文献]

- [1] 赫梅生,王尧先. 用动物急性死亡率法估测中草药的药动力学参数[J]. 中药药理与临床,1988,4(1):5.
- [2] 潘思源. 用药物的量效关系和时效关系计算中药和中药制剂的半衰期[J]. 中药药理与临床,1990,6(3):38.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:934.
- [4] 何燕,李翼鹏,杨威,等. 中药山芝麻有效部位的筛选研究[J]. 海峡药学,2009,21(11):28.
- [5] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:180.
- [6] 周爱香,富杭育,贺玉琢,等. 以药物体内累积法再探麻黄汤、桂枝汤、银翘散、桑菊饮的药物动力学[J]. 中药药理与临床,1993,6(2):1.

[责任编辑 聂淑琴]