

• 综述 •

中药复方药动学研究进展

殷文光, 李曼玲*, 刘淑芝

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 中药复方药动学研究不同于传统的药动学的研究, 由于复方中含有多味药, 多种化学成分, 故对研究方法提出了更高的要求。根据近年的国内外研究文献, 对中药复方药物药动学中的样品前处理、研究方法和仪器分析方法进行了综述。

[关键词] 中药复方药物; 药动学; 分析方法

[中图分类号] R284.1, R945 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2006)12-0060-05

Progress in Pharmacokinetics of Traditional Chinese Compound Medicine

YIN Wen-guang, LI Man-ling*, LIU Shu-zhi

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China)

[Abstract] The Pharmacokinetics study of traditional Chinese compound medicine is very different from the normal Pharmacokinetics study, because the compound contains many drugs and chemical compositions, so the request of the study method is more high. According to the domestic and overseas literatures of recent years, this article summarized the pre-treatment of the sample, study methods and the analysis methods of instruments in pharmacokinetics of traditional Chinese compound medicine.

[Key words] Traditional Chinese Compound Medicine; Pharmacokinetics; Analysis method

中药复方药动学是借助于动力学原理, 研究中药复方中的有效成分在体内的吸收、分布、代谢和排泄的动态变化规律及其体内时量-时效关系, 并用数学函数加以定量描述的一门边缘学科。由于中药复方成分复杂, 有效单体不明确, 血药浓度低, 检测方法欠缺, 单体成分的药动学参数难以完整地表达中药复方药物的体内作用规律, 中药复方药物药动学研究受到一定限制, 但中医药理论提倡整体观念, 临床用药以复方为主, 中药复方药物能体现中药配伍的整体性, 发挥综合性作用, 临床疗效好; 因此, 探讨中药复方药物的药动学规律已成为研究的热点。

1 样品的前处理

1.1 液-液提取(LLE)法 LLE法是经典的提取方法之一, 它基于被测组分在不相混溶的两种溶剂中

的分配。此方法一般是用沉淀剂(多为甲醇、乙醇和乙腈)沉淀蛋白后, 用跟被测物极性相近的溶剂将被测物组分萃取出来。杨祖贻^[1]等用甲醇提取口服赤芍吴茱萸复方小鼠血浆中的芍药苷, 结果显示小鼠灌胃给药赤芍提取物(igPE)后血浆中芍药苷浓度为 $42.28 \pm 4.43 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ($n=10$), 小鼠灌胃给药赤芍吴茱萸复方提取物(igPEE)后血浆中芍药苷浓度为 $63.89 \pm 6.02 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。此方法的优点是成本低, 经济实用, 但是容易发生乳化现象及被测组分的丢失, 而且操作麻烦, 浪费时间。但是无论是单味药制成的注射液还是多味药组成的复方, 药动学研究中血样预处理大多使用此方法, 其仍为现在样品前处理的主要手段。

1.2 固相萃取(SPE)法 SPE法是近几年来迅速发展起来的一种样品预处理技术, 它是以液相色谱分离机制为基础建立起来的分离和纯化方法。此方法不用除蛋白, 可以直接将生物样品通过预先处理过

[收稿日期] 2005-12-13

[通讯作者] * 李曼玲, Tel: (010) 64014411-2939

的小柱,用适当溶剂淋洗后,洗脱液洗脱后可直接进样^[2]。较之 LLE 法生物样品用量少、速度快、无乳化现象,提取率一般较高,可对中药多成分同时进行提取,但这一方法费用远高于 LLE 法,但也有研究表明固相萃取中使用的 SPE 小柱可以重复多次使用。黄志海^[3]等用 SPE 法测定人血浆中的川芎嗪的含量,结果表明灵敏度高、重现性好,可满足人体口服川芎嗪后血药浓度的测定要求,且固相萃取小柱再生后可重复使用 3~5 次,在一定程度上降低了此方法的成本。

1.3 水浴法 复方水煎液中的化学成分能耐受长时间的沸水高温和水解作用,水浴法提取时,这些成分在体内和体外所处环境基本一致,且血清中源自复方的成分以水溶性成分为主,兼有双溶性成分或部分脂溶性成分,但能溶于热水。该方法的优点是:费用低廉;实验条件简单,易于控制;无毒,不使用有机溶剂。黄熙^[4]将乙腈提取法和水浴法提取川芎煎剂和赤芍汤,分别灌胃大鼠后测定血清中阿魏酸并进行了对比,实验表明用水浴法取得良好效果。另外,黄熙用水浴法测定了川芎嗪、原儿茶醛、芍药苷和丹参素等。作为一种新方法,其主要提取水溶性成分,对于脂溶性成分的提取尚有缺欠,有待于进一步开发。

1.4 快速流动馏分技术(RFF) 该法所用装置由 3 个连接的玻璃柱组成,内装硅藻土,不同的 pH 洗提液流过,得到不同的馏分后进行测定。该方法是一种目前应用不很广泛的处理技术,国内尚未见有此方面的报道。

2 中药复方药动学一般研究方法

2.1 体内药物分析检测法 体内药物浓度法是药动学研究的经典方法。其原理是利用药物在血、尿或其它体液、组织中的浓度与其药理效应大体呈平行关系,测定给药后体内的血(尿)药浓度,建立药动学模型,计算药动学参数,了解药物在体内的变化规律^[5]。黄熙^[6]研究了川芎丹参煎剂灌胃后大鼠体内川芎嗪的药代动力学,结果表明川芎丹参煎剂给大鼠灌胃后,川芎嗪吸收快($t_{1/2a} = 0.6 \text{ h}$),分布快($t_{1/2\beta} = 0.3 \text{ h}$),消除亦快($t_{1/2k} = 1.4 \text{ h}$)。王雪峰^[7]等研究小柴胡汤(柴胡、黄芩、人参、半夏等)中黄芩苷在大鼠体内药动学参数,结果证实灌胃给药后,黄芩苷在大鼠体内的代谢符合二室模型,并发现黄芩苷在心、

肝中含量较高。夏东亚^[8]等用 HPLC 法测定心舒口服液血浆中阿魏酸的血浆浓度,并对其在大鼠体内的药动学进行了研究,结果表明,心舒口服液中阿魏酸在大鼠体内的药-时曲线符合二房室模型。该方法简便、快速、准确、重现性好,适用于阿魏酸血药浓度测定及药动学研究。

迄今,采用血药浓度法已对几十种以上的中药复方中的活性成分进行了药动学研究。该法操作简单,对于新药开发、中药作用机理的阐明及临床合理用药具有重要的意义,但此法对于中药复方的研究尚有一定的局限性。

2.2 体外培养法 体外研究方法主要有:器官灌注、亚细胞组分析法、温孵法、匀浆法和游离细胞法等。温孵法的在体外培养中应用较多,用以研究药物在体内的代谢过程。

2.3 生物效应法 中药复方由于化学成分复杂、有效成分不明确以及体内作用机制不清等特点,不能用理化分析方法测定体液浓度以了解其在体内的变化过程和规律,所以在中药药动学研究的早期,多采用生物效应法,即以复方的总体生物活性效应来估算该方在体内的大致过程,具有一定的临床指导价值。

2.3.1 药物累积法 药物累积法是将药动学中血药浓度多点动态测定原理与用动物急性死亡率测定药物蓄积性的方法结合起来,以估测药动学参数。即按不同时间间隔对多组动物重复给药,求出不同时间的体存百分率,以时间对体存百分率的变化进行数据拟合计算药动学参数。王尧先^[9]等用此法估测了胃福冲剂、健脑抗栓胶囊、补肾抗栓片和生脉饮 4 种复方制剂的药动学参数,结果皆按一级动力学消除,胃福冲剂和补肾抗栓片呈一室模型分布,健脑抗栓胶囊和生脉饮按二室模型分布。刘延福^[10]等用此法研究发现附子理中丸在小鼠体内按一级动力学消除,呈二室开放模型分布。周莉玲^[11]等用药物累积法与血药浓度法对青藤碱制剂进行相关比较,结果两种方法的测定数据存在较好的线性相关,药动学参数 AUC 基本一致。任天池^[12]等用此法测定九分散和疏风定痛丸的体内过程均符合一房室模型。用药物累积法研究体内药物的动态变化,能体现中药复方配伍的整体性,符合中医的基本理论,测算出的参数能比较真实地反映复方药物的体内动态

变化规律。但有一定的局限性, 给药剂量、给药途径及观察指标都与临床给药稍有差别, 且毒理效应可能与药效不平行。此法比较适用于毒性较大的中药及其复方药物的药动学研究, 测得的表观药动学参数有助于了解其毒效衰减规律, 对指导临床合理用药有很大的参考价值^[5]。

2.3.2 药理效应法 药理效应法是假定药物在体内呈线性配置, 药物在作用部位的药量与给药量成正比, 而作用部位的药量与药效强度有对应的函数关系。测定出的药效 $T_{1/2}$ 反映了中药复方药物在体内药效成分与效应及时间的关系, 也直接反映了药物在作用部位的浓度动态变化规律。赵智强^[13] 等运用镇痛药理指标研究天麻钩藤饮、镇肝熄风汤和建瓴汤的体内药动学过程, 分别测定时-效、量-效关系, 结果表明 3 方对醋酸所致小鼠扭体反应均具有一定的抑制作用, 并呈相应的量效关系, 3 方的作用持续期以天麻钩藤饮最短; 且 3 方的效量半衰期均不足 1 h, 易于排泄, 故临床给药时应缩短给药间隔。卢贺起^[14] 等以血小板聚集抑制率作为药理效应指标, 研究了四物汤的药动学参数, 结果表明家兔口服四物汤后的体内过程符合一室模型, 药物吸收、消除半衰期分别为 0.37 h, 0.47 h, 效应维持时间为 1.9 h。金若敏^[15] 等以抗实验性心率减慢为指标, 测得附子、四逆汤在小鼠体内的变化均属二室模型, 消除半衰期分别为 9.98 h, 6.67 h。此方法比较符合中医药的整体思想, 但是, 中药复方的作用是多方面的, 选用不同的指标, 其药动学参数的差异也较大, 所以, 选择指标时, 应根据中药复方药物的主要功能主治, 选择合适的药效指标。

2.3.3 微生物法 又称为琼脂扩散法, 主要针对一些具有抗菌活性的中药复方, 根据抗菌药在含有试验菌株的琼脂平板中扩散, 产生抑菌环, 在一定浓度范围内, 其抑菌环直径大小与浓度对数呈线性关系, 测定生物样品的浓度, 然后拟合模型计算药动学参数。潘嘉等^[16] 采用微生物法, 选用白色葡萄球菌为试验菌株, 对川芎挥发油在家兔体内的药动学进行了研究, 得出川芎挥发油的药动学过程符合一室开放模型的结论。微生物指标法简单易行, 测定指标直接反映药效, 但由于中药复方干扰因素较多, 体内有效成分浓度低, 抑菌效果不明显, 且易产生交叉感染, 故此法在中药药动学研究中应用较少^[17]。

2.4 药动学和药效学结合模型(PK-PD 模型) 由于药物在体内的吸收、分布和代谢等过程的影响, 使得药物剂量与药物效应的相关性比较低, 直接调整药物剂量往往不能及时有效地控制药物的效应。但是, 药物的浓度和药物效应相关性良好, 建立药物剂量与血药浓度对时间变化关系(药动学, PK), 通过解析药代动力学微分方程, 可以设计出比较精确地控制药物效应的给药方案。但是, 药物直接作用的部位通常不是血液, 同时, 由于药物从血液转运到效应部位需要一段时间, 因此, 大多数药物效应的变化滞后于血药浓度的变化。于是, 为更精确地描述药物剂量与药物效应之间的关系, 在经典隔室药动学模型中加入了效应室, 建立了 PK-PD 模型。王晓红^[18] 等采用 PK-PD 模型对苦参碱及氧化苦参碱进行药动学研究, 发现其药效不与血药浓度直接相关, 但药效与效应室浓度之间符合 S 型最大效应模型(S 型 E_{max} 模型)。PK-PD 模型将药物浓度、效应和时间结合起来, 更加准确地评价药物在体内的动力学过程和产生药理效应的动态变化, 正逐渐成为中药药动学研究的热点方法。

3 中药复方药物动力学研究中的现代分析方法

3.1 光谱法

3.1.1 紫外分光光度法(UV) 紫外分光光度法仪器简单, 操作方便, 但灵敏度低。吴坚东^[19] 等用板蓝根注射液对健康家兔进行耳缘静脉注射, 在给药后不同时间用分光光度法测定兔血浆靛蓝的浓度, 结果表明: 板蓝根注射体内动力学模型为一室模型。由于灵敏度低, 检测限高, 专一性差, 因此该法在体内药物浓度的检测上的应用越来越少。

3.1.2 荧光分光光度法 荧光法的灵敏度很高, 可测定 10^{-9} g/mL, 对某些物质甚至可达到 10^{-12} g/mL。现在发展起来的胶束荧光法灵敏度更高、选择性更强, 适用于测定微量和痕量荧光物质, 它是利用表面活性物质在水溶液中能聚集形成胶束的特点, 达到增溶、增敏, 提高检测灵敏度的目的, 使最低检测限达到 2.5×10^{-11} g/mL。如庞志功^[20] 等采用胶束荧光法使延胡索乙素的荧光强度增大 5.5 倍, 结果表明: 延胡索乙素在兔血浆中的处置过程符合二房室模型, 其达峰时间为 2 h, 最大峰浓度为 1.83 μ g/mL。

3.2 色谱法

3.2.1 薄层色谱(TLC)法 TLC 法为色谱法的经典

技术,是中药及其制剂早期检测血药浓度的常用方法。该法具有操作方便、速度快、应用范围广的特点,但其灵敏度低、重现性差,结果不能令人满意。近年来出现的高效薄层色谱法(HPTLC)由于减小了测定误差,使薄层色谱的分离达到或接近了高效液相色谱水平,而被广泛地应用于生物样品的分析中。如陈春林^[21]等用 HPTLC 法测定粉防己碱的血浆浓度,最低检出限为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2.2 高效液相色谱(HPLC) HPLC 法不受药物的热不稳定性及挥发性限制,具有样品适用范围广、预处理简单等优点,为快速、灵敏、专一的体内药物分析方法。文爱东等^[22]用 HPLC 测定血瘀证大鼠血清中川芎嗪浓度;张志荣^[23]等用 HPLC 研究口服单剂量银黄冲剂后家兔体内黄芩甙的药动学过程;结果都表明:该方法简便、易行,分离度较好。川芎煎汤剂中阿魏酸、穿心莲胶囊中的穿心莲内酯、复方丹参滴丸中的丹参素、双黄连粉针中的黄芩苷、四君子汤中的甘草甜素等检测都采用了 HPLC 法^[24]。

3.2.3 气相色谱(GC) 气相色谱是最先兴起的具有分离和分析两种功能的测定技术,与光谱法相比,无论在灵敏度方面,还是在选择性方面都具有显著优点,只要选择适当的层析条件,母体药物、代谢物及其它结构相似的药物都能得到很好分离,因而同 HPLC 一样,GC 也常作为体内药物浓度的测定方法之一。但 GC 法有一个主要的缺点就是要求样品可以气化,从而限制了气相色谱的广泛应用。

3.3 高效毛细管电泳(GPCE) 高效毛细管电泳是近十几年来发展起来的一种新的分离技术,它是电泳技术和层析技术结合的产物,兼有高压电泳的高速、高分辨率及 HPLC 的高效率等优点,其选择性与高效液相色谱层析有很大的互补性。而且高效毛细管电泳由于电渗流的作用,不能分离的物质可随缓冲溶液流出,不会对毛细管柱构成污染,这一特点非常适合于中药的成分分析。王健^[25]等用该法研究中药复方药代动力学。

3.4 超临界流体萃取技术(SFE)和超临界流体色谱技术(SFC) SFE 集萃取分离于一体,具有低温萃取,溶质与溶剂易于分离,可选择性地萃取非挥发性组分,无环境污染等优点。在中药成分研究中有重要价值。某些物质用气相色谱和液相色谱法无法分析时,可采用超临界流体色谱分析法。SFC 分为开

管柱和填充柱。前者采用气相色谱型检测器,适用于挥发性低,热不稳定物质的分离,缺点是柱的负荷能力低。后者使用液相色谱型检测器,负荷能力强,分析时间短,缺点是易发生柱压过高,有拖尾现象^[26]。Bhoir^[27]等用该法测定人血中卡马西平的血药浓度,结果良好。

3.5 色谱-质谱联用法 目前应用较多的色谱技术有气相色谱-质谱联用(GC-MS 法)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)法、质谱-质谱联用技术(MS-MS)。如杨丽莉^[28]等建立了用 GC-MS 同时测定服用速效救心丸后动物和健康人体内冰片的药动学参数;杨赴云^[29]等使用气相-质谱联用法测定银杏内酯 A 和银杏内酯 B 在健康人体内的血药浓度;杜月^[30]等建立了测定大鼠血浆中汉黄芩素浓度的液相色谱-串联质谱法,且均取得了良好的结果。

3.6 微生物法 具有抗菌活性的中药复方制剂,如黄连解毒汤、清瘟败毒饮、大黄牡丹皮汤等,可选择适宜试剂、菌株,利用微生物法测定体液样品的浓度,然后拟合模型计算药物动力学参数。微生物法存在检测灵敏度不够高,且易受血清中抑菌物质的干扰等缺点^[24]。

3.7 免疫法(immunoassay) 免疫法是基于待测物质的抗原性,用针对某种待测物质的特异性抗体来定量的定性检测的实验方法。免疫测定方法主要有三种类型:放射免疫测定(RIA)、免疫放射测定(IRMA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)。时间分辨荧光免疫测定法也是一种可用的方法。刘曙光^[31]等用 RIA 测定口服黄夹次苷甲、乙的血药浓度。免疫法灵敏、特异和方便,给我们提供了很多好处,但是免疫法也存在测量总抗原反应时解释、交叉反应、隐患和不正确性等缺点。

4 结语

样品前处理、研究方法和仪器分析方法是药动学研究的基础,它的发展必将使中药复方药动学向更深层次发展。目前,中药证治药动学、中药时辰药动学、中药胃肠药动学、中药血清药理学、临床药动学、相伴毒代动力学、中药指纹图谱药动学、手性药代动力学、群体药物动力学的提出极大的推动了中药复方药动学的发展^[32]。但是,中药复方由于其成分复杂,相互干扰因素多等特点,其药动学的研究较通常的化学药物的药动学更为困难,所以,采用何种

方法才能更好的揭示复方药物与人体的作用,尚有待于进一步的探讨。

[参考文献]

- [1] 杨祖贻, 裴瑾, 刘荣敏, 等. RP-HPLC 测定小鼠口服赤芍吴茱萸复方后血浆中芍药苷的浓度[J]. 中草药, 2005, 20(2): 129-131.
- [2] 张莉, 黄熙, 王骊丽. 中药药动学血样预处理方法回顾与展望[J]. 中草药, 2000, 31(3): 792-794.
- [3] 翁伟宇, 沈腾, 徐惠南, 等. SPE-高效液相色谱法测定人血浆中的川芎嗪[J]. 色谱, 2005, 23(3): 226-228.
- [4] 黄熙, 夏天, 任平, 等. 川芎配伍用丹参煎剂对芍药苷药动力学的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(5): 288.
- [5] 刘华钢, 梁秋云. 中药复方药物动力学方法学的国内研究进展[J]. 广西中医学院院报, 2005, 8(2): 70-72.
- [6] 黄熙, 蒋水培, 臧益民, 等. 川芎丹参煎剂灌胃大鼠后体内川芎嗪的药动力学研究[J]. 中药药理与临床, 1993, 9(4): 37.
- [7] 王雪峰, 刘芳, 王永梅, 等. 小柴胡汤中黄芩苷在大鼠体内的代谢动力学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(2): 84.
- [8] 夏东亚, 郭涛, 潘文灏, 等. HPLC 法测定心舒口服液中阿魏酸血浆浓度及其在大鼠体内的药动力学研究[J]. 中草药, 2004, 35(1): 36-38.
- [9] 王尧先, 赫梅先. 用动物急性死亡法估测 4 种中成药的药动力学参数[J]. 中成药, 1991, 13(5): 24.
- [10] 刘延福, 周毅生, 叶纓, 等. 附子理中丸方药的药动力学研究[J]. 中成药, 1992, 14(8): 6.
- [11] 周莉玲, 李锐, 周华, 等. 青藤碱制剂药动力学试验中药物累积法与血药浓度法相关性研究[J]. 中成药, 1996, 18(9): 1.
- [12] 任天池, 王玉蓉, 曾立品, 等. 用药物累积法考察九分散和疏风定痛丸的药物动力学参数[J]. 中成药, 1991, 13(7): 2.
- [13] 赵智强, 俞晶华, 陆跃鸣, 等. 天麻钩藤饮等三方对小鼠镇痛作用的药动力学研究[J]. 中国药理与临床, 1999, 15(3): 13.
- [14] 卢贺起, 张智, 魏雅川, 等. 以药效法测定四物汤药动力学参数的研究[J]. 中药药理与临床, 1995, (1): 11-13.
- [15] 金若敏, 陈长勋, 曹培康, 等. 附子、四逆汤抗实验性心率减慢药效动力学研究[J]. 中成药, 1992, 14(5): 29.
- [16] 潘嘉, 王家葵, 邹文俊, 等. 抑菌效应法测定川芎挥发油药动力学参数[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(4): 18-19.
- [17] 洪战英, 罗国安, 王义明, 等. 中药药动学的研究方法及其相关理论[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(9): 649-652.
- [18] 王晓红, 黄圣凯. 苦参碱及氧化苦参碱的药动力学与药效动力学[J]. 药学学报, 1992, 27(8): 572.
- [19] 吴坚东. 板蓝根注射液在家兔体内药代动力学的评价[J]. 中成药, 1993, 5-6.
- [20] 庞志功, 汪宝琪, 汪从莹, 等. 兔血浆中延胡索乙素药动力学研究[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(3): 13-15.
- [21] 陈春林, 张才丽. 高效薄层色谱法测定粉防己碱血浆浓度[J]. 中国医药学杂志, 1991, 11(11): 40-42.
- [22] 文爱东, 黄熙, 宋岭, 等. 高效液相色谱法测定血瘀证大鼠血清中川芎嗪浓度[J]. 药物分析杂志, 1994, 14(4): 11.
- [23] 张志荣, 胡晓颖, 蒋大义, 等. 银黄冲剂中黄芩甙在家兔体内的代谢动力学研究[J]. 中成药, 1996, 18(6): 1.
- [24] 伍小波. 现代仪器分析方法在中药药动力学研究中的应用[J]. 现代中医药, 2004, 6: 51-54.
- [25] 王健, 赵岚峰, 王杰, 等. 高效毛细管电泳简介及其在中药分析中的应用[J]. 中成药, 1996, 18(10): 45.
- [26] 乔成栋. 中药复方药物动力学研究现状与进展[J]. 兰州大学学报(医学版), 2005, 31(1): 58-60.
- [27] Bhoir IC, Patil ST, Sundaresan M. Performance comparison for the assay of carbamazepine in human blood plasma using HPLC and packed column supercritical fluid chromatography [J]. Indian Drugs, 1999, 36(4): 231.
- [28] 杨丽莉, 袁倚盛, 佟永岭, 等. 冰片和川芎嗪血药浓度 GS-MSD 测定法[J]. 药学学报, 1994, 29(9): 697-701.
- [29] 杨赴云, 王景田, 赵志刚, 等. 银杏内酯 A 和银杏内酯 B 在健康人体内的药动力学的实验研究[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(9): 616-618.
- [30] 杜月, 陈笑艳, 杨汉煜, 等. 液相色谱-串联质谱法测定大鼠血浆中的汉黄芩素[J]. 药学学报, 2002, 37(5): 362-366.
- [31] 刘曙光, 曾贵云, 赵凯存, 等. 黄夹次甙甲和甙乙的放射免疫法测定及药代动力学[J]. 药学学报, 1987, 22(10): 730.
- [32] 颜敏, 刘建平. 中药药物动力学研究进展[J]. 现代中医药, 2005, 29(6): 260-266.