

3 味中药经不同比例甘草炮制后对氨苯砜在大鼠体内药代动力学的影响

程再兴¹, 蔡真真², 林丽虹³, 郑宝玉¹, 陈红^{1*}

- (1. 福建中医药大学药学院, 福州 350122;
2. 海沧区嵩屿街道社区卫生服务中心, 福建 厦门 361026;
3. 广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广州 510515)

[摘要] 目的: 研究巴戟天、吴茱萸和远志3味中药采用不同比例甘草炮制后对细胞色素P450酶(CYP)中CYP3A探针氨苯砜在大鼠体内药代动力学的影响, 进而探究中药采用甘草炮制的目的。方法: 采用HPLC检测CYP3A体内探针氨苯砜的含量, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~5 min, 10%~25% A; 5~20 min, 25% A), 检测波长292 nm。采用PK Solution 2.0软件模拟药代动力学参数。结果: 氨苯砜给药后300 min内, 与空白组比较, 巴戟天生品可使其在大鼠体内的消除减慢、血药浓度升高, 随着炮制用甘草比例的增加氨苯砜的消除加快、药峰浓度降低; 吴茱萸生品可使氨苯砜在大鼠体内的消除减慢, 血药浓度升高, 达峰时间延后, 采用不同比例甘草炮制后均可改变氨苯砜的药峰浓度和达峰时间, 进而改变氨苯砜的消除过程; 远志生品可使氨苯砜在大鼠体内的消除减慢, 血药浓度增加, 采用不同比例甘草炮制后均可使氨苯砜的消除加快, 血药浓度明显降低。结论: 巴戟天、吴茱萸和远志3味中药生品均可减慢氨苯砜在大鼠体内的消除过程, 采用不同比例甘草炮制后可使氨苯砜的消除加快, 其中采用生品与甘草饮片比例为100:6的甘草炮制后对氨苯砜的药代动力学过程影响均不明显。

[关键词] 巴戟天; 吴茱萸; 远志; 甘草; 炮制; 细胞色素P450酶; 氨苯砜

[中图分类号] R22; R969.1; R28; C37; R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)08-0148-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200651

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191210.1117.001.html>

[网络出版时间] 2019-12-11 07:45

Effect of Three Chinese Herbs Processed with Different Proportions of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on Pharmacokinetics of Dapsone in Rats

CHENG Zai-xing¹, CAI Zhen-zhen², LIN Li-hong³, ZHENG Bao-yu¹, CHEN Hong^{1*}

(1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

2. Community Healthcare Center of Songyu Street in Haicang District, Xiamen 361026, China;

3. Hutchison Whampoa Guangzhou Baiyunshan Chinese Medicine Co. Ltd., Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the processing purpose of Morindae Officinalis Radix (MO), Euodiae Fructus (EF) and Polygalae Radix (PR) processed by Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (Gly). **Method:** The content of dapsone in rat plasma was determined by high performance liquid chromatography (HPLC), the mobile phase was acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-5 min, 10%-25% A; 5-20 min, 25% A) and detection wavelength was set at 292 nm. PK Solution 2.0 software was used to simulate pharmacokinetic parameters. **Result:** Within 300 min after dapsone was administrated, compared with the control (CTL) group, the elimination of dapsone was slowed down and its plasma concentration was increased in the unprocessed product

[收稿日期] 20190718(004)

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2016J01774, 2017J01836); 福建省教育厅创新人才项目

[第一作者] 程再兴, 博士, 讲师, 从事中药药理及中药炮制原理研究, Tel: 0591-22861135, E-mail: 15300882@qq.com

[通信作者] * 陈红, 教授, 硕士生导师, 从事中药质量标准及炮制原理研究, Tel: 0591-22861132, E-mail: chen hong2911@163.com

of MO (UMO) group. The elimination of dapsone was accelerated and its peak concentration (C_{max}) was decreased in the processed products of MO with Gly (GMO) groups, and they had positive correlation with proportion of Gly in GMO. Compared with the CTL group, the elimination of dapsone was slowed down, and its plasma concentration was increased and its peak time (T_{max}) was postponed in the unprocessed product of EF (UEF) group, while their C_{max} and T_{max} were changed in the processed products of EF with Gly (GEF) groups. Compared with the CTL group, the elimination of dapsone was slowed down and its plasma concentration was increased in the unprocessed product of PR (UPR) group, while the elimination was accelerated and its plasma concentration was decreased in the processed products of PR with Gly (GPR) groups. **Conclusion:** The elimination of dapsone is slowed down in rats administered with UMO, UEF and UPR, while its elimination is accelerated in rats administered with the processed products of these three herbs with different proportions of Gly. Among the proportions, effect of processed products of these three herbs with 100:6 (ratio of unprocessed product-Gly) on pharmacokinetics of dapsone is not significant.

[Key words] Morindae Officinalis Radix; Euodiae Fructus; Polygalae Radix; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; processing; cytochrome P450 enzyme; dapsone

细胞色素 P450 酶(CYP)是介导药物发生代谢性相互作用的主要靶点,采用探针研究药物对酶活性影响的模式既符合中药多成分、多靶点、整合调节的中医药基本思想,又能以现代技术进行有效的科学表征,进而阐述中药配伍、组方等的科学内涵^[1]。在药物代谢酶参与下形成的具有普遍性中药间相互作用,可能就是某些配伍规律或配伍禁忌在机体的真实反映和客观存在^[2-3],也可能是某些中药炮制的主要目的和原理。CYP3A 是人体参与药物代谢的肝药酶主要亚型之一,其被诱导或抑制是引起药物相互作用的主要原因。研究表明甘草对人体 CYP3A 有较明显的影响^[4],用其炮制中药可能会改变这些中药原本对 CYP3A 的诱导或抑制作用,减弱配伍组方时药物间的相互作用,从而利于临床遣方用药。

巴戟天、吴茱萸和远志是 2015 年版《中国药典》中仍有收录的采用甘草炮制的少数几味药材,虽已从化学变化、毒性和药性改变等方面对这 3 味中药采用甘草炮制的目的进行了较多研究^[5],但仍未完全揭示其炮制内涵。本实验拟研究上述 3 味中药的不同比例甘草炮制品对 CYP3A 探针氨苯砜在大鼠体内药代动力学的影响,以期能从中分析这 3 味中药采用甘草炮制的共性规律,探明“甘草汁”制法的目的,为深入阐明其炮制原理奠定基础,为继承和发展“甘草汁”制法提供理论依据。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),MSA225S 型精密电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],TG16-W 型医用离心机(长沙维尔康

湘鹰离心机有限公司),A10 型超纯水仪(美国密理博公司)。氨苯砜、安替比林(中国食品药品检定研究院,批号分别为 100114-199101,100506-200301,纯度均 $\geq 98\%$),普罗地芬盐酸盐(加拿大 TRC 公司,批号 1-YSW-42-2,纯度 $\geq 98\%$),苯巴比妥(美国西格玛公司,批号 FE07171506,纯度 $\geq 98\%$),水为纯净水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。巴戟天(MO,广东省肇庆市药材种植基地,统货,批号 161107411),吴茱萸(EF,安徽省本草国药饮片有限公司,批号 20140916),远志(PR,福建省尤溪仙锦药业有限公司,批号 20140305)和甘草(Gly,福州回春中药饮片厂有限公司,批号 12030506)饮片经福建中医药大学中药鉴定教研室杨成梓教授鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的相关项下要求。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 180 ~ 220 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号 SCXK(沪)2014-0002,饲养于福建中医药大学实验动物中心。所有动物实验均按照福建中医药大学动物实验指导原则进行并得到福建中医药大学动物伦理委员会的批准。

2 方法与结果

2.1 药物的制备

2.1.1 甘草汁 称取一定量甘草饮片,加 10 倍量水浸泡 30 min,煎煮 30 min,过滤,取滤液;残渣加 5 倍量水煎煮 30 min,过滤,取滤液;合并滤液,水浴浓缩,得甘草汁浓缩液,备用。

2.1.2 炮制品 取巴戟天、吴茱萸及远志生品,按比例加入上述制备的甘草汁(同一味中药炮制时

所用的甘草汁体积相同,但浓度不同),浸泡,待闷润吸尽,炒至微干,取出置烘箱烘干,即得生品与甘草饮片比例分别为 100:3,100:6,100:12,100:24 的相应炮制品。以上炮制品均按 2015 年版《中国药典》中制巴戟天、制吴茱萸和制远志的操作方法进行炮制。

2.1.3 水煎液 取各生品或炮制品适量,加 10 倍量水浸泡 30 min 后煎煮 30 min,过滤后再加 8 倍量水煎煮 30 min,过滤,合并滤液,60 °C 减压浓缩,4 000 r·min⁻¹离心 15 min,去沉淀,得生药质量浓度为 0.10 g·mL⁻¹(巴戟天和远志)或 0.05 g·mL⁻¹(吴茱萸)的药液,-20 °C 保存备用。

2.2 动物分组与给药 90 只大鼠在温度 20 ~ 22 °C,12 h 光照循环及自由饮水饮食环境下适应性饲养 3 d,于第 4 天禁食不禁水 12 h 后进行称重,随机分 18 组,每组 5 只,组别分别为空白(CTL)组,诱导剂(苯巴比妥,100 mg·kg⁻¹)组,抑制剂(普罗地芬盐酸盐,400 mg·kg⁻¹)组,巴戟天生品(UMO)组,吴茱萸生品(UEF)组,远志生品(UPR)组以及 3 味中药不同比例(100:3,100:6,100:12,100:24)的甘草制品(GMO,GEF 和 GPR)各 1 组,分别给予相应的水煎液,给药体积均为 20 mL·kg⁻¹,连续给药 7 d。

2.3 血浆样品的制备 大鼠第 8 天进行称重(禁食不禁水 12 h),取空白血后按 15 mg·kg⁻¹腹腔注射氨苯砜,并分别于注射后 2,7,15,30,60,90,120,180,300,480,720,1 440 min 眼眶静脉丛取血 300 ~ 500 μL,8 000 r·min⁻¹离心 8 min,分离血浆。取血浆 100 μL,加入乙腈和内标安替比林溶液(255.75 g·L⁻¹)各 10 μL,涡旋混匀,加入乙腈 300 μL,涡旋混匀,离心(16 000 r·min⁻¹,30 min,下同),取上清液真空干燥,-80 °C 保存备用。

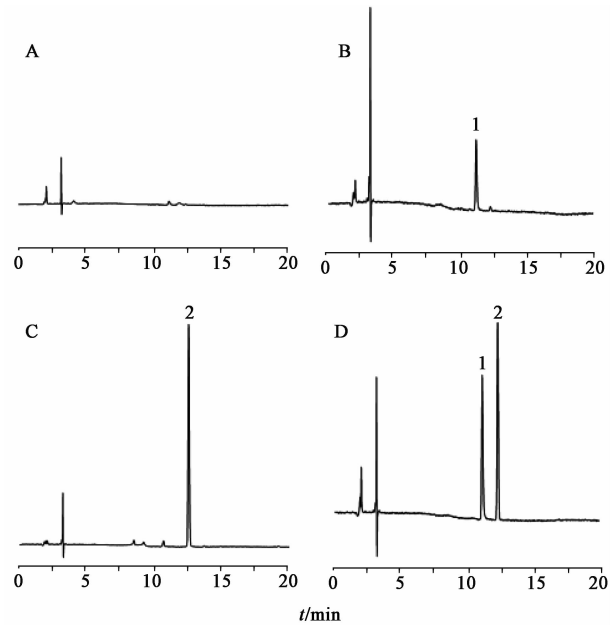
2.4 血浆样品的检测 取上述备用血浆样品用乙腈 100 μL 涡旋 5 min,离心,取上清液 10 μL 进样。色谱条件为 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),柱温 30 °C,进样量 10 μL,流速 1 mL·min⁻¹,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min,10% ~ 25% A;5 ~ 20 min,25% A),检测波长 292 nm。

2.5 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SSPS 16.0 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。药动学参数采用 PK Solution 2.0 软件进行非房室模型模拟。

2.6 方法学验证

2.6.1 专属性 在上述样品处理方法和色谱条件

下,氨苯砜(12.21 min)和内标安替比林(11.21 min)在大鼠血浆中的峰形良好,分离度好,无杂质峰干扰,表明该方法的专属性良好。见图 1。



A. 空白血浆;B. 空白血浆 + 内标;C. 空白血浆 + 氨苯砜;D. 含药血浆 + 内标;1. 安替比林(内标);2. 氨苯砜

图 1 空白组大鼠腹腔注射氨苯砜 60 min 后血浆样品的 HPLC
Fig. 1 HPLC chromatograms of dapsone in rat plasma after intraperitoneal injection of dapsone for 60 min

2.6.2 线性范围 精密吸取不同质量浓度氨苯砜溶液 10 μL,按 2.3 和 2.4 项下方法进行样品处理和检测,使氨苯砜质量浓度分别为 0.02,0.05,0.09,0.19,0.37,0.74,1.49,2.98,5.95 mg·L⁻¹,以氨苯砜质量浓度为横坐标轴,氨苯砜与安替比林的峰面积比值为纵坐标轴,得回归方程 $Y = 0.086X - 0.0053$ ($r = 0.9995$),线性范围 0.02 ~ 5.95 mg·L⁻¹。

2.6.3 精密度和准确度 用大鼠空白血浆分别配制氨苯砜高(4.76 mg·L⁻¹),中(0.37 mg·L⁻¹),低(0.07 mg·L⁻¹)质量浓度的样品各 6 份,按 2.3 和 2.4 项下方法进行处理和检测,连续测定 3 d,考察日内和日间的精密度和准确度。结果日内准确度分别为(97.50 ± 1.99)%,(103.61 ± 4.89)%和(112.49 ± 10.00)%,精密度的 RSD 分别为 2.0%,4.7%和 8.9%;日间准确度分别为(106.55 ± 8.31)%,(119.29 ± 13.78)%和(141.69 ± 25.93)%,精密度的 RSD 分别为 7.8%,11.5%和 18.3%。

2.6.4 提取回收率 利用大鼠空白血浆分别配制

氨苯砒高 ($4.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 中 ($0.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 低 ($0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 质量浓度样品各 6 份, 按 2.3 项下方法进行处理, 同样制备不含氨苯砒和内标的血浆样品 18 份, 然后按比例加入氨苯砒和内标溶液进行复溶。按 2.4 项下方法进行分析, 并用前后 2 次氨苯砒与内标峰面积的比值计算回收率。结果高、中、低质量浓度样品的回收率分别为 (82.86 ± 5.76)%, (86.64 ± 5.58)%, (89.75 ± 8.61)%, RSD 依次为 7.0%, 6.4%, 9.6%。

2.6.5 稳定性 分别考察含氨苯砒高 ($4.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 中 ($0.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 低 ($0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 个质量浓度的血浆样品在室温存放 6 h 及 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 存放 8 h, 制备干燥样品 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 存放 2 周, 复溶样品室温存放 12 h 的稳定性。结果室温存放 6 h 条件下高、中、低质量浓度样品的准确度分别为 (86.85 ± 7.67)%, (97.65 ± 6.66)%, (82.78 ± 3.79)%, RSD 依次为 8.8%, 6.5%, 4.6%; $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 存放 8 h 条件下高、中、低质量浓度样品的准确度分别为 (99.91 ± 4.12)%, (97.65 ± 6.66)%, (101.31 ± 5.93)%, RSD 依次为 4.1%, 6.8%, 5.8%; 制备干燥样品 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 存放 2 周条件下高、中、低浓度样品的准确度分别为 (82.19 ± 3.36)%, (91.06 ± 6.05)%, (86.54 ± 7.48)%, RSD 依次为 2.7%, 4.1%, 2.0%; 复溶样品室温存放 12 h 条件下高、中、低质量浓度样品的准确度分别为 (86.54 ± 7.48)%, (91.06 ± 6.09)%, (82.19 ± 3.25)%, RSD 依次为 8.6%, 6.7%, 4.4%。

2.7 各药味对 CYP3A 探针氨苯砒药动学的影响

2.7.1 巴戟天 由表 1 可知, 给予 UMO 和 GMO 均未使氨苯砒给药后 1 440 min 在大鼠体内的药时曲线下面积 (AUC_{0-41}) 发生明显变化, 其他参数也仅 GMO(100:12) 组和 GMO(100:24) 组的药峰浓度 (C_{max}) 相对于 UMO 组明显降低 ($P < 0.01$), 以及 GMO(100:24) 组的半衰期 ($t_{1/2}$) 和清除率 (CL) 相对于 UMO 组或 CTL 组有统计学差异 ($P < 0.05, P < 0.01$), 但氨苯砒给药后 300 min, UMO 组的药时曲线下面积 (AUC_{0-2}) 较 CTL 组发生了明显变化 ($P < 0.05$), 且 GMO(100:6, 100:12, 100:24) 组的 AUC_{0-2} 较 UMO 组减小 ($P < 0.05$)。由图 2 可知, 巴戟天生品可以使氨苯砒在 60, 90, 120 min 的血药浓度较 CTL 组明显增加 ($P < 0.05$), 而 GMO(100:24) 组的血药浓度在 2, 7, 15, 30 min 明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); GMO(100:3) 组仅在 7 min 和 GMO(100:6) 组仅在 90 min 血药浓度较 UMO 组降低 ($P < 0.05$), 而 GMO(100:12) 组在 7, 15, 30 min 和 GMO(100:24) 组在 2, 7, 15, 30 min 的血药浓度均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 在不同比例甘草制品组间, GMO(100:24) 组在 2, 7, 15 min 的血药浓度比 GMO(100:3) 组和 GMO(100:6) 组相应时间点的血药浓度明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。说明 UMO 可使氨苯砒给药后 300 min 内在大鼠体内的消除减慢、血药浓度升高, 随着炮制用甘草比例的增加使氨苯砒的消除加快、药峰浓度降低, 其中 GMO(100:6) 对氨苯砒在大鼠体内的药动学过程影响最小。

表 1 巴戟天给药 7 d 对氨苯砒在大鼠体内药动学参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

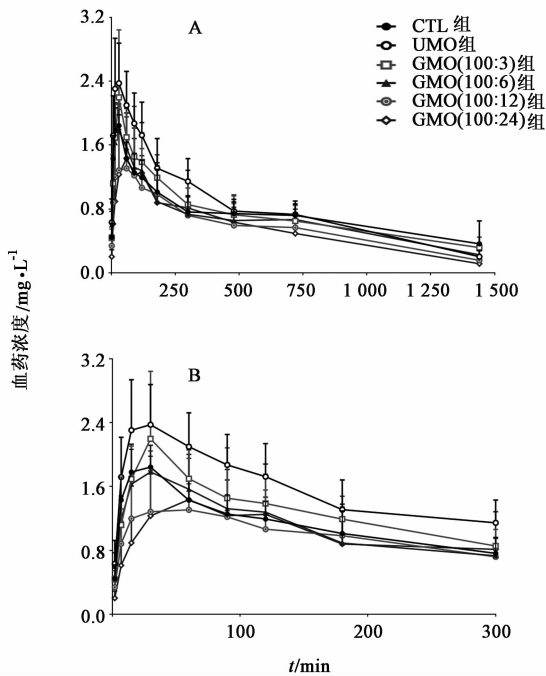
Table 1 Pharmacokinetic parameters of dapsone in rats after administration of Morindae Officinalis Radix for 7 days ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数/单位	空白 (CTL)组	巴戟天生品 (UMO)组	巴戟天甘草制品(GMO)组			
			100:3	100:6	100:12	100:24
$\text{AUC}_{0-41}/\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	1.03 ± 0.22	1.14 ± 0.23	1.05 ± 0.20	0.94 ± 0.20	0.82 ± 0.36	0.79 ± 0.39
$\text{AUC}_{0-2}/\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$	0.34 ± 0.02	$0.48 \pm 0.04^{1)}$	0.39 ± 0.04	$0.34 \pm 0.03^{3)}$	$0.31 \pm 0.06^{3)}$	$0.31 \pm 0.06^{3)}$
$C_{\text{max}}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1.89 ± 0.20	2.50 ± 0.59	2.23 ± 0.80	1.90 ± 0.29	$1.42 \pm 0.66^{4)}$	$1.46 \pm 0.61^{4)}$
$t_{1/2}/\text{h}$	18.16 ± 14.82	8.94 ± 3.42	14.21 ± 7.94	10.92 ± 1.86	9.07 ± 2.79	$6.76 \pm 1.98^{1)}$
$V_d/\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$	12.47 ± 2.48	8.99 ± 5.30	11.02 ± 2.69	12.74 ± 3.47	13.81 ± 6.46	13.42 ± 10.34
$\text{CL}/\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	10.70 ± 4.85	11.21 ± 2.61	9.95 ± 2.42	13.40 ± 2.17	17.30 ± 4.60	$22.54 \pm 14.79^{2,4)}$

注: AUC_{0-41} ·氨苯砒给药后 1 440 min 的药时曲线下面积; AUC_{0-2} ·氨苯砒给药后 300 min 的药时曲线下面积。与 CTL 组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同); 与 UMO 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

2.7.2 吴茱萸 由表 2 可知, 与 CTL 组相比, 只有 GEF(100:6) 组和 GEF(100:12) 组的 AUC_{0-41} 较 UMO 组减小 ($P < 0.05$), 其他组别均未使氨苯砒在大鼠

体内的 AUC_{0-41} 发生明显变化; 其他参数也仅 UMO, GEF(100:3) 组和 GEF(100:24) 组的 $t_{1/2}$ 较 CTL 组缩短 ($P < 0.05$)。GEF(100:12) 组的表观分布容积



A. 氨苯砒在 1 440 min 内的药-时曲线; B. 氨苯砒在 300 min 内的药-时曲线(图 3, 4 同)

图 2 巴戟天给药 7 d 对氨苯砒在大鼠体内血药浓度-时间曲线的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Concentration-time profiles of dapsone in rats after administration of Morindae Officinalis Radix for 7 days($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 2 吴茱萸给药 7 d 对氨苯砒在大鼠体内药动学参数的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Pharmacokinetic parameters of dapsone in rats after administration of Euodiae Fructus for 7 days($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数/单位	空白 (CTL)组	吴茱萸生品 (UEF)组	吴茱萸甘草制品(GEF)组			
			100:3	100:6	100:12	100:24
$AUC_{0-1} / g \cdot \min \cdot L^{-1}$	1.03 ± 0.22	1.26 ± 0.23	1.25 ± 0.22	0.93 ± 0.13 ³⁾	0.92 ± 0.26 ³⁾	1.09 ± 0.18
$AUC_{0-2} / g \cdot \min \cdot L^{-1}$	0.34 ± 0.02	0.50 ± 0.03 ²⁾	0.52 ± 0.06 ¹⁾	0.34 ± 0.02 ⁴⁾	0.36 ± 0.04 ³⁾	0.43 ± 0.03
$C_{max} / mg \cdot L^{-1}$	1.89 ± 0.20	2.26 ± 0.31	2.37 ± 0.74	1.81 ± 0.46	1.98 ± 0.56	2.14 ± 0.46
$t_{1/2} / h$	18.16 ± 14.82	9.40 ± 1.79 ¹⁾	9.21 ± 1.88 ¹⁾	12.09 ± 1.97	10.46 ± 2.79	7.06 ± 1.10 ¹⁾
$V_d / mL \cdot kg^{-1}$	12.47 ± 2.48	8.51 ± 2.44	8.29 ± 2.27	12.84 ± 1.54	13.26 ± 7.13 ³⁾	8.05 ± 2.53
$CL / mL \cdot \min^{-1} \cdot kg^{-1}$	10.70 ± 4.85	10.33 ± 1.28	10.32 ± 1.57	12.49 ± 2.27	14.02 ± 3.48	12.93 ± 2.11

注:与 UEF 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

2.7.3 远志 由表 3 可知,给予 UPR 和 GPR 对氨苯砒在大鼠体内的药动学参数可产生明显的影响,UPR 使氨苯砒的 AUC_{0-1} , AUC_{0-2} 和 C_{max} 均较 CTL 组显著性增加($P < 0.05, P < 0.01$),而远志的不同比例甘草制品组的这 3 个参数均较 UPR 组减小,尤其 GPR(100:12)组和 GPR(100:24)组的 AUC_{0-1} 减小更为显著($P < 0.01$),其他参数大多数也发生了明显的变化($P < 0.05, P < 0.01$)。由图 4 可进一步发现,UPR 组在 7, 30 ~ 300 min 氨苯砒的血药浓度明显高于 CTL 组($P < 0.05, P < 0.01$);而 GPR

(V_d)较 UEF 组增大($P < 0.05$),但 UEF 组和 GEF(100:3)组的 AUC_{0-2} 较 CTL 组增大($P < 0.05, P < 0.01$),且 GEF(100:6)组和 GEF(100:12)组的 AUC_{0-2} 较 UEF 减小($P < 0.05, P < 0.01$)。由图 3 可知,UEF 组在 60 ~ 300 min, GEF(100:3)组在 90 ~ 180 min 和 GEF(100:24)组在 60 ~ 120 min 间氨苯砒的血药浓度明显高于 CTL 组($P < 0.05, P < 0.01$),而 GEF(100:6)组和 GEF(100:12)组氨苯砒的血药浓度与 CTL 组相比没有明显变化; GEF(100:6)组在 60 ~ 300 min 和 GEF(100:12)组在 90 ~ 180 min 的氨苯砒血药浓度均低于 UEF 组($P < 0.05$);在 GEF 组间,仅 GEF(100:6)组在 90 ~ 180 min 及 GEF(100:12)组在 90 min 和 120 min 时氨苯砒的血药浓度低于 GEF(100:3)组对应时间点($P < 0.05$),以及 GEF(100:6)组在 90 min 时的氨苯砒血药浓度低于 GEF(100:24)组($P < 0.05$)。说明 UEF 可使氨苯砒给药后 300 min 内在大鼠体内的消除减慢、血药浓度升高、达峰时间延后,UEF 经不同比例甘草炮制后均可改变氨苯砒的药峰浓度和达峰时间,改变氨苯砒的消除过程,其中 GEF(100:6)和 GEF(100:12)对氨苯砒在大鼠体内药动学过程的影响相对较小。

(100:3)组仅在 720 min, GPR(100:6)组仅在 30 min, GPR(100:12)组在 15, 180 ~ 480 min 及 GPR(100:24)组在 480 ~ 1 440 min 的氨苯砒血药浓度与 CTL 组对应时间点相比具有统计学差异($P < 0.05, P < 0.01$)。与 UPR 组相比,氨苯砒的血药浓度在 7 ~ 720 min 内仅 GPR(100:3)组在 30 min 和 480 min, GPR(100:6)组在 480 min 和 720 min, 以及 GPR(100:24)组在 480 min 没有统计学差异,其他对应点比较均显著低于 UPR 组($P < 0.05, P < 0.01$)。在 UPR 的各甘草炮制品组间,仅 GPR

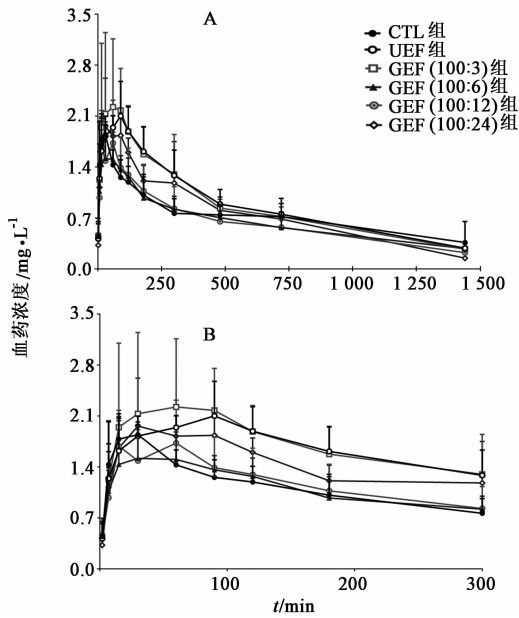


图 3 吴茱萸给药 7 d 对氨苯砜在大鼠体内血药浓度-时间曲线的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Concentration-time profiles of dapsone in rats after administration of Euodiae Fructus for 7 days ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 3 远志给药 7 d 对氨苯砜在大鼠体内药动学参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of dapsone in rats after administration of Polygalae Radix for 7 days ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数/单位	空白组 (CTL)	远志生品 (UPR)组	远志甘草制品(GPR)组			
			100:3	100:6	100:12	100:24
$AUC_{0-12} / g \cdot \min \cdot L^{-1}$	1.03 ± 0.22	$1.35 \pm 0.26^{1)}$	$0.88 \pm 0.15^{4)}$	$0.88 \pm 0.27^{4)}$	$0.53 \pm 0.16^{2,4)}$	$0.58 \pm 0.08^{2,4)}$
$AUC_{0-24} / g \cdot \min \cdot L^{-1}$	0.34 ± 0.02	$0.56 \pm 0.04^{2)}$	$0.36 \pm 0.04^{3)}$	$0.31 \pm 0.02^{4)}$	$0.22 \pm 0.04^{1,4)}$	$0.31 \pm 0.01^{4)}$
$C_{max} / mg \cdot L^{-1}$	1.89 ± 0.20	$2.34 \pm 0.32^{1)}$	$1.85 \pm 0.43^{3)}$	$1.73 \pm 0.33^{4)}$	$1.27 \pm 0.52^{1,4)}$	$1.79 \pm 0.21^{4)}$
$t_{1/2} / h$	18.16 ± 14.82	$6.31 \pm 1.96^{2)}$	$9.05 \pm 1.58^{1)}$	10.03 ± 1.91	9.98 ± 2.26	$5.34 \pm 2.41^{2)}$
$V_d / mL \cdot kg^{-1}$	12.47 ± 2.48	$5.53 \pm 0.93^{1)}$	$14.18 \pm 6.13^{3)}$	$13.08 \pm 3.38^{3)}$	$22.00 \pm 8.58^{2,4)}$	11.24 ± 4.46
$CL / mL \cdot \min^{-1} \cdot kg^{-1}$	10.70 ± 4.85	10.68 ± 2.73	11.99 ± 6.07	15.24 ± 4.59	$25.58 \pm 8.62^{2,4)}$	$24.86 \pm 4.16^{2,4)}$

注:与 UPR 组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

本实验还选择普罗地芬盐酸盐和苯巴比妥分别作为抑制剂和诱导剂^[6-7]观察氨苯砜在大鼠体内的代谢情况,结果发现二者的 AUC_{0-12} 分别为 (1.24 ± 0.27) , $(0.40 \pm 0.03) g \cdot \min \cdot L^{-1}$, C_{max} 分别为 (2.19 ± 0.34) , $(1.58 \pm 0.25) mg \cdot L^{-1}$,表明二者对氨苯砜在大鼠体内的代谢分别产生了抑制和诱导作用,也证明本实验体系能准确反映实验对象对 CYP3A 产生的抑制或诱导作用。

已有研究表明巴戟天低聚糖对 CYP3A 有显著的诱导作用,而巴戟天素对 CYP3A 有抑制作用^[8];吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素、诺米林、昔奈福林 5 种成分对 CYP3A 有不可逆抑制作用^[9-10];远志水提液对 CYP3A 也有抑制作用^[11-12]。本研究结果发

(100:6)组在 60,90,120,300 min 和 GPR(100:24)组在 90,720,1440 min 时血药浓度与 GPR(100:3)组对应时间点相比有统计学差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),GPR(100:24)组在 720,1440 min 时血药浓度与 GPR(100:6)组对应时间点相比有统计学差异 ($P < 0.05$),以及 GPR(100:24)组在 15,60,300,1440 min 时血药浓度与 GPR(100:12)组对应时间点相比有统计学差异 ($P < 0.05$)。说明 UPR 可使氨苯砜在大鼠体内的消除减慢、血药浓度增加,经不同比例甘草炮制后均可使氨苯砜的消除加快、血药浓度明显降低,其中 GPR(100:3)和 GPR(100:6)对氨苯砜在大鼠体内药动学过程的影响相对较小。

3 讨论

探针药物法是研究药物对 CYP 活性影响及药物相互作用的有效手段,氨苯砜是 CYP3A 的专属探针药物之一,已在许多的研究中被应用。本文色谱分析方法的专属性、线性范围、精确度、准确度、提取回收率和稳定性实验数据均表明样品处理方法及色谱检测方法达到了生物样品分析方法的实验要求。

现巴戟天、吴茱萸和远志 3 味中药生品均可减慢氨苯砜给药后 300 min 内在大鼠体内的代谢,呈现出一定的 CYP3A 抑制作用,这与上述部分研究结果一致。采用不同比例甘草炮制后不仅可使 3 味中药对 CYP3A 的抑制作用减弱,甚至转化为诱导作用,其中 3 味中药生品-甘草饮片(100:6)炮制后样品对 CYP3A 的抑制或诱导作用均不明显,说明 3 味中药采用该比例甘草炮制的目的之一是为了减弱生品对 CYP3A 的抑制作用,减少对其他中药成分体内代谢的影响,从而有利于临床组方和用药。

甘草汁作为辅料炮制中药多为降低或消除药物的毒副作用、提高药效。其中巴戟天采用甘草炮制后补益作用增强,偏于补肾助阳和强筋骨,而吴茱萸

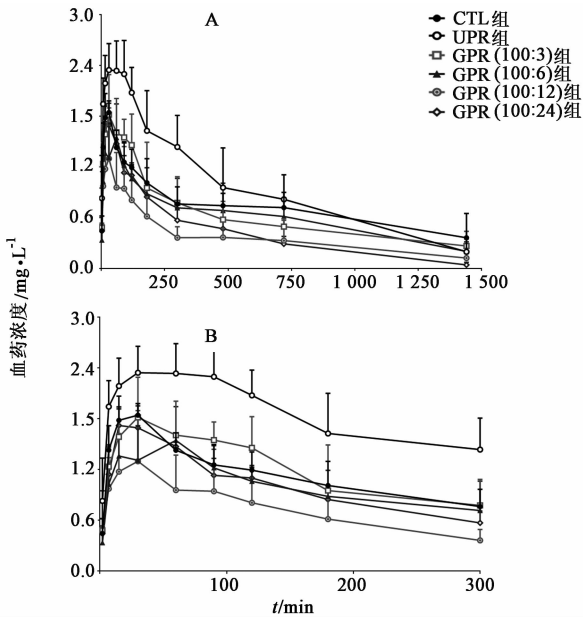


图 4 远志给药 7 d 对氢苯砞在大鼠体内血药浓度-时间曲线的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Concentration-time profiles of dapsone in rats after administration of Polygalae Radix for 7 days ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

和远志炮制后则可降低毒性、缓和燥性。中药炮制后功效和药性的改变来自于其炮制前后化学成分的变化,即体外的化学成分变化和活性成分在体内药动学过程的变化。CYP3A 是 CYP 中最重要的亚酶之一,参与 50% 以上临床用药的代谢,也与药物在肠道的吸收过程密切相关,还是最易被诱导而产生药物相互作用的主要靶点之一^[13-17],其能够被多种药物竞争性抑制或诱导,改变药物的动力学过程,进而导致药物活性的变化。因此,研究中中药炮制前后对 CYP3A 作用的变化可以明确其炮制目的。

有研究表明甘草中的主要化学成分对 CYP3A 有较强的作用^[18-19],如 18 β -甘草酸可浓度依赖性的诱导 CYP3A,18 α -甘草酸可浓度依赖性的抑制 CYP3A,并且二者在不同比例下对 CYP3A 产生的作用不同,甘草苷亦可抑制 CYP3A 的活性。目前,甘草水煎液或提取物对 CYP3A 的作用研究结果并不统一,如缪萍等^[20]发现甘草对 CYP3A 酶活性及 mRNA 表达具有诱导作用,而武洁等^[21]采用体内探针法发现甘草能明显抑制 CYP3A 的活性。当用甘草配伍或炮制中药后可改变中药对 CYP3A 的影响,如附子配伍甘草后通过诱导 CYP3A 酶活性加快乌头碱、新乌头碱和次乌头碱在肝脏中的代谢速率,从而加快附子有毒成分的代谢,达到减毒作用^[22-23]。本实验采用不同比例的甘草炮制巴戟天、吴茱萸和远志 3 味中药,研究炮制前后这 3 味中药对 CYP3A

影响的变化,分析不同比例甘草炮制对中药作用的影响以及炮制中甘草用量的最佳比例,可为深入探究甘草汁制法的目的与原理、规范炮制工艺及制定炮制品质量标准等提供实验依据。本研究虽发现了这 3 味中药经 100:6 的甘草炮制后对 CYP3A 的影响最不明显,有利于临床配伍用药,但不足以全面反映 3 味中药采用甘草炮制的目的,还需对肝药酶其他亚型受到的影响进行全面的,从而揭示中药采用甘草炮制的目的。

[参考文献]

- [1] 陈西敬. 药物代谢动力学研究进展[M]. 北京:化学工业出版社,2008:107-110.
- [2] 王宇光,马增春,梁乾德,等. 基于药物代谢酶的中药十八反研究[J]. 世界科学技术—中药现代化,2011,13(1):36-40.
- [3] 马增春,王宇光,谭洪玲,等. 中药与肝脏药物代谢酶之间的相互作用[J]. 世界华人消化杂志,2016,24(7):994-1001.
- [4] 王志琪,邹龙. 甘草与其他药物相互作用的研究概况[J]. 中南药学,2011,9(11):857-860.
- [5] 陈红,张清华,陈鸣,等. 中药“甘草汁”制法的研究概况[J]. 海峡药学,2017,29(11):24-26.
- [6] ZHU L J, YANG X S, ZHOU J, et al. The exposure of highly toxic aconitine does not significantly impact the activity and expression of cytochrome P450 3A in rats determined by a novel ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method of a specific probe buspirone[J]. Food Chem Toxicol,2013,51:396-403.
- [7] WU J J, CHENG Z X, ZHU L J, et al. Coadministration of pinellia ternata can significantly reduce aconitum carmichaelii to inhibit CYP3A activity in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, doi: 10.1155/2014/734867.
- [8] 邓少东,卢洪梅,林励,等. 体内探针药物法研究巴戟天低聚糖对大鼠 CYP3A4 的影响[J]. 亚太传统医药,2015,11(17):5-8.
- [9] 怡悦. 吴茱萸中的不可逆性 CYP3A4 抑制成分[J]. 国外医学·中医中药分册,2005,27(5):317.
- [10] 黄凌,邝少轶,张丽. 吴茱萸碱与吴茱萸次碱经 PXR、CAR 核受体通路影响 CYP3A4 表达的研究[J]. 中国药房,2013,24(35):3274-3279.
- [11] 武佰玲,刘萍,高月,等. 酸枣仁、远志和桔梗水提液对大鼠肝 CYP450 酶活性及 mRNA 表达的调控作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):235-239.
- [12] 李照亮,董亮喆,王东晓,等. 远志寡糖酯类化合物及

- 远志吡啶Ⅲ对 CYP450 酶的活性影响研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4459-4463.
- [13] STIBOROVÁ M, RUPERTOVÁ M, FREI E. Cytochrome P450-and peroxidase-mediated oxidation of anticancer alkaloid ellipticine dictates its anti-tumor efficiency[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1814(1): 175-185.
- [14] 程再兴, 吴锦俊, 陈红, 等. 乌头汤加半夏不同炮制品对大鼠 CYP3A 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(20): 90-95.
- [15] 陈红, 程再兴, 吴锦俊, 等. 川乌配伍半夏对大鼠 CYP3A 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 75-80.
- [16] 宋菲, 杨健, 王春, 等. Cocktail 探针药物法评价羊耳菊对大鼠 CYP450 酶活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2): 60-67.
- [17] 张亚蕾, 郑天慧, 刘伟, 等. 扶正化癥方对原代大鼠肝细胞中 CYP450 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 22-28.
- [18] 霍小位, 王士中, 孟祥波, 等. 不同 18 α 和 18 β -甘草酸配比对 P-gp 转运功能和大鼠 CYP3A 酶活性的影响[J]. 现代食品科技, 2018, 34(9): 26-31.
- [19] 王宇光, 杨明会, 马增春, 等. 18 β -甘草酸和 18 α -甘草酸对大鼠原代肝细胞 CYP3A 酶表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 307-311.
- [20] 缪萍, 裘福荣, 曾金, 等. 甘草诱导 CYP3A 促进附子代谢的减毒配伍机制[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(9): 2813-2817.
- [21] 武洁, 钟荣玲, 王大为, 等. HPLC-MS-MS 法测定大鼠血浆中 6 种 CYP450 探针药物及甘草对 CYP450 酶活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(23): 110-116.
- [22] 沈红, 朱玲英, 姚楠, 等. 甘草与附子配伍对乌头碱、新乌头碱、次乌头碱大鼠药动学的影响[J]. 中药材, 2011, 34(6): 937-942.
- [23] 张广平, 朱丽君, 周娟, 等. 附子配伍甘草对 CYP3A4 体内活性的影响研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2206-2209.

[责任编辑 刘德文]