

· 药物代谢 ·

牡丹皮药效组分的整合药代动力学考察及其与药效的相关性分析

路咪咪¹, 庞璐², 程沛¹, 孟江^{1*}, 王淑美¹

(1. 广东药科大学 中药学院, 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广州 510006; 2. 南阳职业学院, 河南 南阳 474500)

[摘要] 目的:研究牡丹皮中 5 个药效成分(氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、没食子酸、丹皮酚)的整合药代动力学及其与药效作用之间的相关性。方法:将大鼠分为空白组、模型组(血热瘀血症)和给药组,采用 UPLC-MS 测定大鼠给药后不同时间点血清中 5 个药效成分的血药浓度,根据自定义权重系数计算得到相应的整合血药浓度。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定不同时间点血清中血栓素 B₂(TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α})的质量浓度,并考察整合药代动力学与药效之间的相关性。结果:牡丹皮中 5 个药效成分在不同时间点(0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h)的整合血药浓度(158.65, 174.60, 220.13, 227.23, 244.31, 251.51, 404.28, 654.39, 472.62, 355.04, 231.56, 199.40 mg·L⁻¹)与 TXB₂ 质量浓度(264.44, 261.03, 284.93, 273.30, 264.04, 278.90, 274.83, 303.58, 260.03, 264.78, 264.40, 256.62 μ g·L⁻¹)和 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} (4.50, 4.47, 3.66, 3.37, 3.29, 3.66, 3.71, 4.30, 3.63, 3.65, 3.75, 3.66)的相关性良好。结论:牡丹皮药效组分在体内的动态变化与活血药效之间存在良好的相关性。

[关键词] 牡丹皮; 整合药代动力学; 药效学; 相关性分析; 酶联免疫吸附测定法; 药代动力学-药效动力学; 血热瘀血症

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)15-0148-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190646

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181130.1353.001.html>

[网络出版时间] 2018-12-04 09:20

Investigation of Integrated Pharmacokinetics of Active Components in Moutan Cortex and Its Correlation with Pharmacodynamics

LU Mi-mi¹, PANG Lu², CHENG Pei¹, MENG Jiang^{1*}, WANG Shu-mei¹

(1. Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities in Guangdong Province, Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine (TCM), School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Nanyang Vocational College, Nanyang 474500, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the correlation between integrated pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of five active components (oxidized paeoniflorin, paeoniflorin, quercetin, gallic acid, paeonol) in Moutan Cortex. **Method:** Rats were divided into blank group, model group (syndrome of blood-heat and blood stasis) and drug-administered group. The concentration of five active components in serum were detected with UPLC-MS at different time points after being administrated ethanol extract of Moutan Cortex. The integrated

[收稿日期] 20180906(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473352);广东省大学生创新创业训练项目(201610573040);广州市科技计划项目(201707010170)

[第一作者] 路咪咪,在读硕士,从事生药活性成分与质量评价研究,E-mail:1121606163@qq.com

[通信作者] *孟江,博士,教授,从事中药炮制与饮片质量标准研究,Tel:020-39352169,E-mail:jiangmeng666@126.com

concentrations were calculated according to area under the curve (AUC) self-defined weighting coefficient. At the same time, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the contents of thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) in serum at different time points, and then correlation between pharmacodynamics and integrated pharmacokinetics of these five active ingredients was analyzed. **Result:** At different time points (0.083, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h), the integrated plasma concentrations of these five active ingredients in Moutan Cortex (158.65, 174.60, 220.13, 227.23, 244.31, 251.51, 404.28, 654.39, 472.62, 355.04, 231.56, 199.40 mg · L⁻¹) had a good correlation with concentration of TXB₂ (264.44, 261.03, 284.93, 273.30, 264.04, 278.90, 274.83, 303.58, 260.03, 264.78, 264.40, 256.62 μg · L⁻¹) and value of TXB₂/6-keto-PGF_{1α} (4.50, 4.47, 3.66, 3.37, 3.29, 3.66, 3.71, 4.30, 3.63, 3.65, 3.75, 3.66). **Conclusion:** There is a good correlation between the dynamic changes *in vivo* of active components from Moutan Cortex and pharmacodynamic effects of activating blood circulation of this herb.

[Key words] Moutan Cortex; integrated pharmacokinetics; pharmacodynamics; correlation analysis; enzyme-linked immunosorbent assay; pharmacokinetics-pharmacodynamics; syndrome of blood-heat and blood stasis

牡丹皮具有清热凉血、活血化瘀的功效,临床用于治疗热入营血、温毒发斑、吐血衄血、夜热早凉、无汗骨蒸、经闭痛经、跌扑伤痛、痈肿疮毒^[1]。其主要化学成分有酚及酚苷类、单萜及其苷类、三萜类等^[2]。郭齐等^[3]研究发现丹皮酚和芍药苷配伍能显著抑制胶原、二磷酸腺苷二钠盐及花生四烯酸诱导的家兔血小板聚集;王乃利等^[4]研究发现没食子酸具有抑制二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集的作用;据报道,槲皮素能剂量依赖性地抑制凝血酶引起的血小板胞浆游离钙升高,进而使血小板活化聚集受到抑制^[5]。但目前国内外对牡丹皮活血成分的药代动力学研究甚少,仅有的相关研究也只是针对牡丹皮单一成分(如丹皮酚或芍药苷)进行体内药代动力学分析^[6-7],但中药产生的效应具有多组分、多靶点的特点,通过单一成分的体内药代动力学特征来说明中药的药代动力学过程具有很大的片面性^[8]。如何比较全面地反映牡丹皮在机体内的整体药代动力学特征及其和药效的相关性,是亟待解决的问题。

多成分整体药代动力学是在药代动力学的研究过程中引入“整体观”思想,根据各成分对整体药物代谢的权重贡献,选择合适的建模方法,对各成分药代动力学参数进行模型整合,以获得能够最大程度表征中药在生物体内的整体处置动力学特征,反映整体效应物质在生物体内的存留特性^[9]。陶野等^[10]采用基于各成分药时曲线下面积(AUC_{0-∞})自定义权重系数的方法,建立苍术挥发油多效应成分整合药代动力学,其综合血药浓度-时间曲线反映了

苍术挥发油在体内的吸收、分布、代谢和排泄(ADME)过程。张启云等^[11]采用自定义权重系数方法,计算葛根苓连汤总黄酮与总生物碱化合物在大鼠体内的综合血药浓度,建立的分类整合药动力学研究模型符合经典药理学模型特征,所获参数能够最大程度表征中药复方同类成分整体的体内处置规律。王静等^[12]采用权重系数,建立胆黄连中3种生物碱类成分整合药代动力学,并与药效体温数据结果相结合,相关性分析结果显示胆黄连中生物碱类成分整体药动力学浓度的动态变化过程与解热药效作用之间的相关性良好。本实验拟采用AUC_{0-∞}自定义权重系数法对牡丹皮中的5个活血药效成分进行整合药代动力学研究,并结合相关药效学实验,进行药物代谢动力学-药物效应动力学(PK-PD)相关性分析,旨在为牡丹皮药效成分体内作用过程及其作用机制研究提供实验依据。

1 材料

UPLC-Q-Exactive 型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo 公司), UltiMate 3000 型超高效液相色谱系统(美国 Dionex 公司), 2-16K 型高速台式冷冻离心机(德国 Sigma 公司), DW-86L626 型超低温冰箱(青岛海尔特种电器有限公司), NDK200-1 型氮吹仪(杭州米欧仪器有限公司), BSA124S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

牡丹皮饮片购自广州至信中药饮片有限公司,批号 160501,经广东药科大学中药学院刘基柱副教授鉴定为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* 的干燥根皮;没食子酸、芍药苷、氧化芍药苷、槲皮素对照

品和 3-羟基-4-甲氧基苯乙酮(4-甲氧基-3-羟基苯乙酮,内标物)(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 140801,140425,150609,150822,160904,纯度均 $\geq 98\%$),丹皮酚对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110708-200505,纯度 $\geq 98\%$),血栓素 B₂(TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α})酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(上海抚生实业有限公司,批号分别为 A002774,A0021984),水为屈臣氏蒸馏水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

18 只雄性 SD 大鼠,体质量(300 \pm 20)g,SPF 级,购于广东省医学实验动物中心,合格证号 SCXK(粤)2013-0002。本实验所有动物均饲养于广东药科大学实验动物中心 SPF 级动物房内(温度 22 $^{\circ}$ C,相对湿度 75%),实验动物试验前适应性饲养 7 d,自由饮食、饮水。经广东药科大学实验动物伦理委员会批准,批准号 gdpulac2017089。

2 方法

2.1 检测条件 采用 Water BEH Shield RP18 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm,1.7 μ m),检测波长 254 nm,流速 0.2 mL \cdot min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,流动相 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)(0~10 min,5%~15% B;10~20 min,15%~35% B;20~30 min,35%~95% B)。电喷雾离子源(ESI),扫描方式为正离子扫描,扫描类型为全扫描(full scan),扫描范围 m/z 100~1 000,分辨率 7 万,喷雾电压 3.5 kV,毛细管温度 320 $^{\circ}$ C,辅助气加热温度 310 $^{\circ}$ C,鞘气流速 45 L \cdot min⁻¹,辅助气流速 20 L \cdot min⁻¹。

2.2 对照品及内标溶液的配制 分别精密称取没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、槲皮素、丹皮酚适量,加甲醇稀释成质量浓度分别为 1.69,1.22,0.79,2.48,0.71 g \cdot L⁻¹的混合对照品溶液。精密称取 3-羟基-4-甲氧基苯乙酮对照品,加甲醇稀释成质量浓度为 0.496 g \cdot L⁻¹的内标溶液,密封保存于 4 $^{\circ}$ C 备用。

2.3 牡丹皮溶液的制备 称取牡丹皮饮片适量,加 8 倍量 95%乙醇浸泡 2 h,回流提取 2 次,提取时间分别为 2,1.5 h,过滤,合并滤液,减压浓缩至无醇味,浸膏加水溶解成生药质量浓度为 6 g \cdot mL⁻¹的药液,备用。灌胃前超声使其混合均匀。

2.4 给药方案及血清样品处理 将 18 只 SD 大鼠以黑箱法分成 3 组,分别为空白组、模型组、给药组。给药组大鼠按剂量 10 mL \cdot kg⁻¹灌胃给予牡丹皮溶液,每天 1 次,连续给药 7 d,空白组和模型组大鼠分别灌胃等剂量生理盐水;第 6 天给药 1 h 后模型组

和给药组大鼠在背部皮下注射 10%干酵母混悬液(给药剂量 10 mL \cdot kg⁻¹);5 h 后体温较高,再次皮下注射 0.1 g \cdot L⁻¹盐酸肾上腺素溶液 2 次(给药剂量 0.8 mL \cdot kg⁻¹),间隔 4 h;在 2 次皮下注射盐酸肾上腺素溶液之间将大鼠浸入冰水中 5 min;空白组皮下注射等剂量生理盐水。第 7 天灌胃给药后 0.083,0.25,0.5,0.75,1,2,3,4,6,8,10,12 h 于内眦静脉丛分别取血 0.5 mL(取血前 12 h 禁食不禁水),收集于 1.5 mL 离心管中,离心(4 $^{\circ}$ C,12 000 r \cdot min⁻¹,10 min,下同),移取全部上清液,于 -80 $^{\circ}$ C 密封保存备用。检测前精密量取上述所得大鼠血清 200 μ L,加入 6 倍量甲醇和内标溶液 10 μ L,涡旋 30 s,离心,移取上清液,过 0.22 μ m 微孔滤膜,滤液置于 40 $^{\circ}$ C 水浴下氮气吹干,加甲醇 100 μ L 复溶,取上清液进样测定。

2.5 标准曲线制备及方法学考察

2.5.1 专属性试验 取空白血清、空白血清+对照品+内标、牡丹皮给药血清+内标,按 2.4 项下方法处理后进行 UPLC 分析,考察其专属性。

2.5.2 标准曲线的绘制 精密吸取大鼠空白血清 200 μ L,分别精密加入不同质量浓度的系列混合对照品溶液,按 2.4 项下方法处理后进行检测。以各对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,利用加权最小二乘法进行线性回归。

2.5.3 精密性、准确度、稳定性试验 精密吸取大鼠空白血清配制低、中、高 3 个质量浓度的混合对照品溶液($n=6$),按 2.4 项下方法处理后进行检测,连续测定 3 d,考察日内和日间的精密性、准确度。同时考察 3 个不同储存条件下[①室温放置 24 h;②血清样品冷冻放置 2 周;③冷冻-溶解 3 个循环(-80 $^{\circ}$ C 下冷冻 24 h 后室温下溶解并放置 1 h)]样品的稳定性。

2.5.4 提取回收率试验 精密吸取大鼠空白血清配制低、中、高 3 个质量浓度的混合对照品溶液,按 2.4 项下进行处理后测定,计算指标成分的质量浓度(A);另取大鼠空白血清,按 2.4 项下方法处理,经蛋白沉淀处理后加入上述相应质量浓度的混合对照品溶液,测定,计算指标成分的质量浓度(B),按公式提取回收率=(A/B) \times 100%计算。

2.6 基于药时曲线下面积自定义权重系数(W_i)的牡丹皮整合药代动力学模型的建立 采用 UPLC-MS 测定不同时间点血液中牡丹皮药效组分(没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、丹皮酚、槲皮素)含量,根据血药浓度-时间数据,采用 PKSolver 2.0

软件计算药动学参数,得到 5 个成分的药时曲线下面积(AUC_{0-∞}),根据各成分的 AUC_{0-∞} 在总 AUC_{0-∞} 中所占比值自定义各成分浓度在综合浓度中的权重系数(W_i),将每个时间点下的 5 个成分的血药浓度乘以各自的权重系数,求算牡丹皮的整合浓度。

$$W_i = AUC_{0-\infty i} / \sum_{i=1}^n AUC_{0-\infty i} (n = 5) \quad (1)$$

$$C_T = W_1 \times C_1 + W_2 \times C_2 + \dots + W_n \times C_n (n = 5) \quad (2)$$

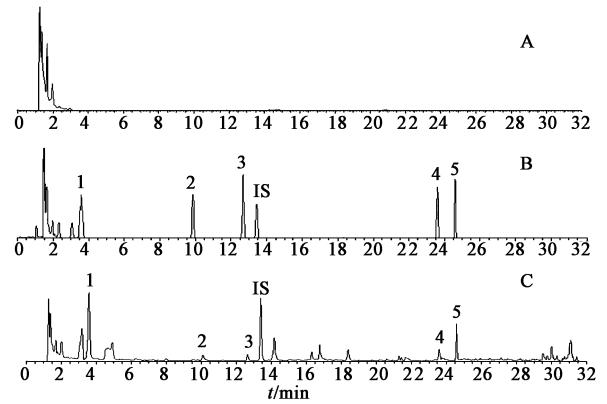
式中 *i* 代表检测的 5 个指标成分的编号(1. 没食子酸;2. 氧化芍药苷;3. 芍药苷;4. 丹皮酚;5. 槲皮素),W_i 表示相应成分 AUC_{0-∞} 在 5 种成分总 AUC_{0-∞} 中的占比;C_T 为自定义权重系数校正后牡丹皮在大鼠体内的综合浓度。

2.7 止血药效学研究 取 2.4 项下不同时间点的血清,按试剂盒的要求采用 ELISA 测定 6-keto-PGF_{1α} 和 TXB₂ 的含量,计算二者的比值,用于评价牡丹皮的药效作用。药物的治疗效果是指给药后病理状态下的异常变化回调到正常状态的程度,用药效强度来表示,计算公式为药效强度 = (给药组药效值 - 模型组药效值) / (空白组药效值 - 模型组药效值) × 100%。

3 结果

3.1 标准曲线绘制及方法学考察 没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、丹皮酚、槲皮素的线性方程分别为 $Y = 0.0006X + 0.0031 (r = 0.9979)$, $Y = 0.0153X - 0.0062 (r = 0.9994)$, $Y = 0.0004X +$

$0.0075 (r = 0.9971)$, $Y = 0.0018X + 0.0022 (r = 0.9989)$, $Y = 0.0005X + 0.0011 (r = 0.9969)$ 。空白血清、空白血清 + 对照品 + 内标、牡丹皮给药血清 + 内标的 UPLC 色谱图见图 1,对照品及内标质谱信息见表 1。结果发现空白血清中内源性物质不干扰各对照品在血清中的测定,说明该方法专属性较好。按照生物样品分析方法的测定要求得出,5 个成分的准确度处于 91% ~ 103%,日内精密度 RSD 0.2% ~ 11.8%,日间精密度 RSD 1.0% ~ 5.9%,稳定性 RSD 0.4% ~ 7.3%,提取回收率 61.1% ~ 79.6%,均符合相关要求。



A. 空白血清;B. 空白血清 + 对照品 + 内标;C. 供试品 + 内标;1. 没食子酸;2. 氧化芍药苷;3. 芍药苷;4. 丹皮酚;5. 槲皮素;IS. 3-羟基-4-甲氧基苯乙酮

图 1 大鼠灌胃给予牡丹皮溶液 1 h 后血清的 UPLC
Fig. 1 UPLC chromatograms of serum of rats after oral administration of ethanol extract of Moutan Cortex for 1 h

表 1 各对照品及内标的质谱信息

Table 1 Mass spectrometry information of each reference substance and internal standard

编号	成分	t _R /min	分子式	分子离子峰
1	没食子酸	3.62	C ₇ H ₆ O ₅	169.0143 [M - H] ⁻
2	氧化芍药苷	9.87	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	495.1505 [M - H] ⁻
3	芍药苷	12.68	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	525.1610 [M + COOH] ⁻
4	丹皮酚	23.60	C ₉ H ₁₀ O ₃	165.0559 [M - H] ⁻
5	槲皮素	24.59	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0355 [M - H] ⁻
IS	3-羟基-4-甲氧基苯乙酮	13.44	C ₉ H ₁₀ O ₃	165.0558 [M - H] ⁻

3.2 牡丹皮药效组分在大鼠体内的 AUC_{0-∞} 及自定义权重系数 采用 UPLC-MS 测定给药组不同时间点血清中没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、丹皮酚和槲皮素的质量浓度,见表 2。结果各成分的 AUC_{0-∞} 分别为 1 067.98, 24.16, 298.12, 45.54, 10 036.30 mg·h·L⁻¹, 权重系数分别为 0.093, 0.002, 0.026, 0.004, 0.875。

3.3 牡丹皮各成分整合血药浓度-时间曲线及整合药动学参数 将表 2 牡丹皮中 5 个成分的自定义权重系数以及给药后不同时间点各成分的血药浓度代入公式(2),分别计算牡丹皮中各成分在不同时间点的整合血药浓度,整合血药浓度-时间曲线见图 2。

表 2 给药组大鼠不同时间点血清中各成分的质量浓度 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Concentrations of five components in serum of rats from drug-administered group at different time points ($\bar{x} \pm s, n=6$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

t/h	没食子酸	氧化芍药苷	芍药苷	丹皮酚	槲皮素
0.083	26.84 ± 3.53	0.89 ± 0.03	50.64 ± 2.49	5.55 ± 0.23	177.20 ± 2.62
0.25	102.93 ± 11.57	1.01 ± 0.07	58.99 ± 3.32	6.51 ± 0.09	186.77 ± 2.18
0.5	139.80 ± 8.48	2.09 ± 0.04	73.87 ± 1.41	8.64 ± 0.18	233.84 ± 2.84
0.75	135.70 ± 12.57	1.61 ± 0.03	84.23 ± 1.99	10.37 ± 0.23	243.14 ± 3.08
1	180.13 ± 11.06	1.03 ± 0.06	45.13 ± 2.37	9.26 ± 0.27	258.05 ± 2.70
2	123.02 ± 5.14	0.96 ± 0.02	35.35 ± 1.96	8.43 ± 0.37	273.65 ± 3.98
3	92.41 ± 13.52	0.97 ± 0.02	30.34 ± 0.52	8.21 ± 0.31	453.23 ± 4.71
4	69.73 ± 7.06	0.92 ± 0.04	27.07 ± 2.76	2.40 ± 0.05	739.85 ± 4.17
6	36.65 ± 8.13	0.83 ± 0.01	13.67 ± 0.47	1.70 ± 0.10	534.73 ± 4.68
8	26.24 ± 2.92	-	12.38 ± 0.95	1.27 ± 0.02	403.11 ± 3.88
10	9.68 ± 1.18	-	8.56 ± 0.38	-	263.54 ± 4.10
12	25.53 ± 2.17	-	5.84 ± 0.39	-	224.37 ± 3.62

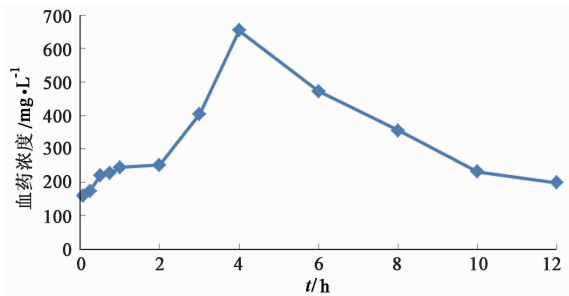


图 2 牡丹皮中 5 个药效成分在血热瘀血大鼠体内的整合血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Integrated concentration-time curve of five active components from Moutan Cortex in rats with syndrome of blood-heat and blood stasis

将各时间点各成分血药浓度及整合血药浓度

表 3 牡丹皮在血热瘀血大鼠体内 5 个药效成分及其整合后的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Pharmacokinetic parameters of five components from Moutan Cortex and their integrated parameters in rats with syndrome of blood-heat and blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数/单位	氧化芍药苷	芍药苷	槲皮素	丹皮酚	没食子酸	整合后数值
$t_{1/2}/\text{h}$	15.13 ± 2.25	3.60 ± 0.31	15.49 ± 0.54	4.37 ± 0.15	6.33 ± 0.45	15.25 ± 0.06
T_{max}/h	0.50 ± 0	0.75 ± 0	4.00 ± 0	0.75 ± 0	1.00 ± 0	4.00 ± 0
$C_{\text{max}}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2.09 ± 0.04	84.23 ± 1.99	739.85 ± 4.17	10.37 ± 0.23	180.13 ± 11.06	654.39 ± 4.17
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$	24.16 ± 3.09	298.12 ± 7.60	10 036.30 ± 171.62	45.54 ± 0.83	1 067.98 ± 72.88	8 907.64 ± 167.43
MRT/h	21.59 ± 3.42	5.06 ± 0.22	20.45 ± 0.66	4.63 ± 0.12	10.02 ± 0.96	20.40 ± 0.73
$\text{CL}/F/\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	2 519.95 ± 343.95	201.37 ± 5.16	5.98 ± 0.10	12 450.58 ± 8 613.42	56.40 ± 3.79	0.09 ± 0.01

3.5 相关性分析^[13] 给药组大鼠血清的整合血药浓度与不同药效指标的药效值进行 PK-PD 模型拟合,量效曲线见图 3。

分别导入 PKSolver 2.0 软件进行分析,按照非房室模型进行拟合,各成分的药动学参数及整合药动学参数见表 3。

3.4 牡丹皮对血热瘀血模型组大鼠的活血作用 见表 4。结果发现模型组大鼠各个时间点血清中的 TXB_2 质量浓度和 $\text{TXB}_2/6\text{-keto-PGF}_{1\alpha}$ 大部分高于空白组,且大部分具有显著性差异 ($P < 0.05$),说明血热瘀血大鼠模型造模成功。给药组大鼠各个时间点血清中的 TXB_2 质量浓度和 $\text{TXB}_2/6\text{-keto-PGF}_{1\alpha}$ 与空白组较为接近,与模型组比较,大部分具有显著性差异 ($P < 0.05$),说明牡丹皮对血热瘀血证具有较好的治疗作用,能够矫正病理状态趋近于正常状态,即具有活血作用。

结果发现模型组整合血药浓度在 4 h 时达最大值,而 TXB_2 与 $\text{TXB}_2/6\text{-keto-PGF}_{1\alpha}$ 药效强度均在 6 h 时达最大值,即药效作用峰值滞后于血药浓度峰值,

表 4 不同时间点大鼠血清中的 TXB₂ 质量浓度及 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Concentration of TXB₂ and TXB₂/6-keto-PGF_{1α} in serum of rats from each group at different time points ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

t/h	TXB ₂ /μg·L ⁻¹			TXB ₂ /6-keto-PGF _{1α}		
	空白组	模型组	给药组	空白组	模型组	给药组
0.083	277.33 ± 28.29	271.72 ± 25.20	264.44 ± 17.59	4.80 ± 0.09	4.44 ± 0.81 ¹⁾	4.50 ± 0.28
0.25	285.73 ± 22.85	290.63 ± 21.34	261.03 ± 17.45 ²⁾	4.71 ± 0.13	4.39 ± 0.19 ¹⁾	4.47 ± 0.26
0.5	289.33 ± 32.91	358.87 ± 4.45 ¹⁾	284.93 ± 14.10 ²⁾	4.12 ± 0.59	5.16 ± 0.31 ¹⁾	3.66 ± 0.33 ²⁾
0.75	290.54 ± 33.25	315.91 ± 21.74 ¹⁾	273.30 ± 14.82 ²⁾	3.97 ± 0.73	4.47 ± 0.32 ¹⁾	3.37 ± 0.37 ²⁾
1	283.85 ± 15.61	343.84 ± 17.26 ¹⁾	264.04 ± 16.96 ²⁾	3.72 ± 0.20	5.14 ± 0.40 ¹⁾	3.29 ± 0.16 ²⁾
2	285.89 ± 16.52	329.24 ± 18.69 ¹⁾	278.90 ± 14.89 ²⁾	3.81 ± 0.54	4.84 ± 0.10 ¹⁾	3.66 ± 0.55 ²⁾
3	281.13 ± 18.99	341.99 ± 21.37 ¹⁾	274.83 ± 13.15 ²⁾	4.08 ± 0.28	5.23 ± 0.25 ¹⁾	3.71 ± 0.42 ²⁾
4	294.30 ± 23.56	349.03 ± 23.14 ¹⁾	303.58 ± 19.52 ²⁾	4.29 ± 0.88	5.36 ± 0.43 ¹⁾	4.30 ± 0.77 ²⁾
6	305.59 ± 36.24	325.18 ± 35.00 ¹⁾	260.03 ± 14.34 ²⁾	4.37 ± 1.38	4.99 ± 0.66 ¹⁾	3.63 ± 0.55 ²⁾
8	271.30 ± 14.93	307.89 ± 22.73 ¹⁾	264.78 ± 9.63 ²⁾	4.28 ± 0.10	4.97 ± 0.30 ¹⁾	3.65 ± 0.46 ²⁾
10	267.93 ± 14.79	318.81 ± 31.75 ¹⁾	264.40 ± 14.00 ²⁾	4.09 ± 0.47	5.00 ± 1.06 ¹⁾	3.75 ± 0.15 ²⁾
12	271.72 ± 22.50	317.50 ± 17.09 ¹⁾	256.62 ± 10.69 ²⁾	3.86 ± 0.40	4.69 ± 0.70 ¹⁾	3.66 ± 0.77 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.05;与模型组比较²⁾ P < 0.05。

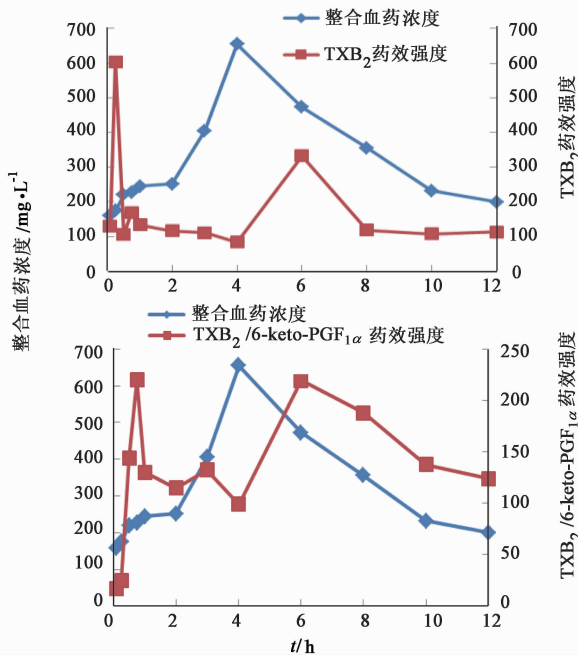


图 3 牡丹皮药效成分整合血药浓度与 TXB₂, TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 药效强度的相关性分析

Fig. 3 Analysis of correlation between integrated plasma concentration of active components from Moutan Cortex and pharmacodynamic intensity of TXB₂ and TXB₂/6-keto-PGF_{1α}

这可能是由于牡丹皮药效成分由血浆到效应室的分布、合成新活性物质以及表达新基因需要一定时间^[14]。其中在 0.25 h 的 TXB₂ 药效强度和 0.75 h 的 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 药效强度出现了较大值有可能是因为机体自身的生理学应激反应(活血作用)

而产生,随着时间的延长,药效强度逐渐降低,到 4 h 开始,各个药效强度与整合血药浓度在不同时间点的变化趋势大体一致,表明 TXB₂ 和 TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 药效强度与整合血药浓度之间具有较好的相关性。

4 讨论

本文基于 AUC_{0-∞} 自定义权重系数法对牡丹皮中 5 个活血药效成分(没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、丹皮酚和槲皮素)进行整合药代动力学研究,结果发现发现这 5 个成分在大鼠体内的药代动力学参数差异极大,说明任何单一成分的药代动力学行为均不能用于表征牡丹皮活血成分的整体药代动力学行为;而拟和后得到的整体药代动力学参数兼顾了各个成分的特性,例如半衰期($t_{1/2}$)拟合后为 15.25 h,整合前 5 个指标成分的 $t_{1/2}$ 处于 3.60 ~ 15.49 h,说明牡丹皮各药效组分整体药代动力学参数能够反应牡丹皮在血热瘀血模型大鼠体内的存留特性和体内药代动力学过程。

牡丹皮活血药效组分的整合 PK-PD 研究结果显示,整合血药浓度与药效随时间的变化趋势基本一致,说明牡丹皮药效组分体内作用过程与药效具有一定的相关性,可为相关中药多组分整合药代动力学与药效作用的相关性研究提供参考。但在 PK-PD 相关性分析中,仅采用单一的药效指标(TXB₂, TXB₂/6-keto-PGF_{1α})尚不能全面反映牡丹皮凉血活血的整体药效作用,因此如何选取合适的整体药效

指标进行中药多效应成分动力学与整体药效动力学的相关性分析,最终建立符合中医药特点的PK-PD方法学体系,还需更加深入的研究进行探索。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:172.

[2] 李方军. 牡丹皮化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽医药,2004,8(1):9-10.

[3] 郭齐,李连达,郝伟,等. 牡丹皮有效组分重组方对家兔血小板聚集及凝血功能的影响[J]. 中国现代应用药学,2010,27(11):967-970.

[4] 王乃利,倪艳,陈英杰,等. 广枣活血有效成分的研究[J]. 沈阳药学院学报,1987,4(3):2-3.

[5] 王艳芳,王新华,朱宇同. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2003,15(2):171-173.

[6] 王瑛兰,李凌军,张微. 天钩降压胶囊中丹皮酚在大鼠体内药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):114-116.

[7] 吴豪. 中药牡丹皮质量控制及其有效成分的药代动力学研究[D]. 上海:第二军医大学,2009.

[8] 李燕,彦培傲,赵梦杰,等. 附子总生物碱在阳虚便秘

模型大鼠体内的整合药动力学分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):79-84.

[9] 郝海平,郑超涌,王广基. 多组分、多靶点中药整体药代动力学研究的思考与探索[J]. 药科学报,2009,44(3):270-275.

[10] 陶野,张贝贝,付梅红,等. 基于色谱指纹图谱的苍术挥发油多成分体内药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(11):156-159.

[11] 张启云,徐良辉,李冰涛,等. 复方葛根答连汤多效应成分分类整合药代动力学研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2011,16(1):51-56.

[12] 王静,陈悦,袁子民. 胆黄连在实热证大鼠体内的整合药代动力学与药效学的相关性[J]. 药科学报,2016,51(1):127-131.

[13] 巩仔鹏,胡建春,李梅,等. 基于大鼠脑缺血再灌注损伤模型建立辛芍组方中灯盏乙素和芍药苷的PK-PD结合模型[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):74-78.

[14] 郭娟,陈长勋,沈云辉. 葶苈子水提液对动物实验性心室重构的影响[J]. 中草药,2007,38(10):1519-1523.

[责任编辑 刘德文]