

· 综述 ·

中药复方药动学研究方法概述

彭成成¹, 金慧子¹, 柳润辉² (1. 上海交通大学药学院, 上海 200240; 2. 第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 概述中药复方药动学研究的几种方法, 包括生物效应法、血药浓度法、中药复方多效应成分整合药动学及中药复方药动学-药效学结合模型, 阐明各自的特征及优缺点, 并对中药复方药动学研究方法的发展进行总结和展望。

[关键词] 中药复方; 药动学; 研究方法

[中图分类号] R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)01-0005-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.01.002

Summary of the pharmacokinetic methods of traditional Chinese medicine prescription

PENG Chengcheng¹, JIN Huizi¹, LIU Runhui² (1. School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; 2. Department of Phytochemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] This review made a brief summary of several pharmacokinetic methods of traditional Chinese medicine (TCM) prescription including the methods of biological effects, plasma concentration, integrated Pharmacokinetics of multiple effective components of TCM prescription and integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic of TCM prescription. The corresponding characteristics, advantages and disadvantages of each of these methods were analyzed. And the progresses of the pharmacokinetic methods of TCM prescription were concluded and prospected.

[Key words] traditional Chinese medicine (TCM) prescription; pharmacokinetics; research methods

中药复方是中医用药的一种主要形式。它基于辨证的思想观点, 按照君臣佐使的组方原则, “相须、相使、相恶”的作用规律, 选择恰当的药物定量配伍而成, 是中医辨证论治理论的具体体现^[1]。然而中药复方化学成分复杂, 有效成分及作用方式不甚清楚, 成分与成分之间的相互作用也依然未知, 这一系列的问题不仅是制约中药复方现代化, 阻碍其与国际医药市场接轨的瓶颈, 而且是创新中药复方研发的关键环节。药动学是应用动力学原理与数学处理方法, 定量地描述药物通过各种途径进入体内的吸收、分布、代谢、排泄(即 ADME)过程的“量时”变化或“血药浓度经时”变化动态规律的一门科学^[2]。中药复方药动学则是利用药动学原理研究中药复方的体内过程及动力学过程。中药复方药动学的发展, 对于阐明上述问题和揭示复方科学内涵、新药研制、剂型改进、质量控制、给药方案设计优化、推动中医

中药走向世界具有重大的意义, 因此它成为复方创新研发链中不可或缺的一个环节。

中药复方通常是由数种单味药材组成, 每种单味药材又含多个有效成分, 其化学成分之复杂、干扰因素之多是西药所没有的, 因此如何科学、准确地研究中药复方多成分的药动学, 一直是学者们探索的目标。

1 生物效应法

生物效应法是一种以中药复方的药效为指标进行药动学研究的理论和方法, 包括药理效应法、药物累积法和微生物指标法。

1.1 药理效应法 20世纪70年代 Smolen 提出以药理效应为指标测定药动学参数的方法, 先建立时效关系和量效关系曲线, 换算成血药浓度与时间曲线, 据此推算药动学参数^[3]。如采用小鼠热板致痛模型, 以镇痛效应为指标, 测定黄芩苷与清热合剂的药动学参数, 发现它们口服给药后体存药量的表现动力学过程符合一室开放模型^[4]。此外还有效量半衰期法和效应半衰期法。药理效应法体现中药复方的整体性, 符合中医药的基础理论。但中药复方发

[作者简介] 彭成成, 硕士研究生。Tel: 15821951425; E-mail: pypengchengcheng@126.com

[通讯作者] 金慧子, 博士, 副教授, 研究方向: 天然活性化合物的研究。Tel: (021)34205989; E-mail: kimhz@sytu.edu.cn

挥多方面的作用,仅一种作用并不能代表复方整体的药动学特征。而对同一复方采用不同的药效指标得到的药动学参数有可能有较大差异,因此此法的关键是如何选择具有代表性的药效指标,理论上复方的主要作用应与临床适应证一致,且灵敏、可靠、重复性好。

1.2 药物累积法 又称毒理效应法,是 20 世纪 80 年代初由我国学者赫梅生等^[5]提出的以动物急性累积死亡率来估算药动学参数的方法。该法是将血药浓度多点测定与急性死亡率测定蓄积性的方法相结合,以估算药动学参数。实际也是体存量、时间和毒效进行三维转换而测定时效关系^[6]。该法具有非特异性,只要能使动物急性致死的药物,不论药物的性质如何,都能求算其药动学参数。主要适用于药理效应和毒理效应为同一组分(单体或有效部分)产生的中药复方^[7]。黄衍民等^[8]研究乌头注射液在小鼠体内的毒效动力学,发现药物符合一室开放模型。药物累积法也体现中药复方配伍的整体性,符合中医的基本理论。但此法以动物死亡率为指标,体内药动学过程不一定与药效平行,用药剂量也远大于临床实际用量。而且第 1 次用药可引起组织器官损伤,第 2 次用药时,这种损伤可能还未恢复至正常,使动物对药物的耐受性降低而引起药动学参数的变化,因此用该法求得的药动学参数可能与通常情况下药物的实际药动学过程不相符合^[9]。

1.3 微生物指标法 也称琼脂扩散法,针对具有抗菌活性的中药复方。通过测定体液中抗菌药物的浓度来推算药动学参数。根据抗菌药物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,由此可根据回归方程求出未知的样品浓度^[10]。该法虽然简单、指标明确、重复性好,但由于中药复方干扰因素多,同时血清有效成分很难达到抑菌浓度,因此该法在中药复方药动学研究中很少用到。

总之,生物效应法在一定程度上体现了中药复方药动学的整体性,符合中医药的整体观。对于有效成分不明确的传统复方具有参考价值,可指导临床用药。但由于药效与血药浓度间常存在滞后效应及生物效应可能受到反馈抑制等因素导致生物效应法误差大,且目前尚无方法学评价的标准,药动学参数也具有片面性,观测的指标是效应或毒性-时间过程,不是体内药量的经时过程,各项参数反映的是复方的综合疗效和协同效应,因此不能阐明体内有效成分的动态变化。

2 血药浓度法

血药浓度法是目前中药复方药动学研究的经典方法,主要适用于有效成分或指标成分明确的中药复方。通过测定一种或几种已知成分在体液中的浓度,以中药复方的有效成分血药浓度为指标,使用相关软件计算各种药动学参数,拟合血药浓度-时间曲线,确定药动学模型,以此来反映中药复方药动学规律的一种方法。此法最早源于 1985 年日本学者用现代分析手段测定方剂给药后体内药物浓度,由此开创了我国及日本学者用血药浓度法研究中药复方药动学的先河。如五酯胶囊^[11]、香附四物汤^[12]、滋肾丸^[13]等复方均采用此法进行药动学研究。该法通过颈静脉、颈动脉、尾静脉、股动脉、腹主动脉及眼静脉丛等取血方式采集动物给药后的血样,经过液-液萃取、固相萃取或蛋白沉淀法等前处理方式将血浆样本进行处理,利用紫外分光光度法、气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)、高效液相色谱-紫外检测法(HPLC-UV)、高效液相色谱-电化学检测法(HPLC-ECD)、高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS)、高效液相色谱-串联质谱联用法(HPLC-MS/MS)等现代分析手段对体内药物浓度进行测定,用 WinNonlin 5. 2、DAS 2. 0 等软件计算药动学参数。

近 10 年来,由于仪器分析技术的发展,使直接测定生物样本中有效成分或指标成分变为现实,因此这一时期中药复方药动学研究以血药浓度法为主。有报道称,大鼠口服黄芩汤后用 HPLC 法测定血浆中的多种成分并计算药动学参数^[14],用 HPLC-UV 法研究小鼠口服六味地黄汤后马钱子素的药动学^[15],用 GC 法研究麝香滴眼液在家兔眼内组织中的分布及药动学^[16],贺丰等^[17]建立同时测定麻黄汤中麻黄碱、伪麻黄碱的 GC-MS 法并探讨二者在人体内的药动学过程, Lu 等^[18]和 Xia 等^[19]用 HPLC-MS 法研究大鼠灌服黄连解毒汤后小檗碱和巴马汀的药动学和注射生脉注射液后多种成分的药动学参数^[18,19], Cai 等^[13]建立 HPLC-MS/MS 法研究大鼠口服滋肾丸后多种成分的药动学, Zan 等^[20]用 LC-MS/MS 法研究泻心汤在大鼠体内的多成分药动学。

虽然现代仪器及分析技术的迅猛发展,特别是 HPLC-MS/MS 的大力推广,大大提高了生物样品检测的灵敏度和专属性,使得痕量分析甚至直接分析未知的有效成分成为可能,奠定了血药浓度法在中药复方药动学研究中的主导地位,但是此法依然

不可避免地存在一定的局限性。对于化学成分复杂的中药复方来讲,用一个或几个指标成分得出的药动学参数可能与复方实际的药动学过程存在一定的偏差,且有效成分的确定,仅是根据单体成分的药效加以判断,并未结合复方整体的药效进行分析。复方的多成分、多靶点之间存在相互作用,缺乏具体方法学的指导,使多成分药动学仍处于起步阶段。

3 中药复方多效应成分整合药动学

中药多组分整合药动学这一概念是近年由王广基等首次提出,此研究思路包括确定标志性成分、多组分药动学研究和模型整合。根据 AUC 自定义各成分血药浓度的权重系数(W_j),运用数学模型进行多组分整合,从整合血药浓度-时间曲线估算整合药动学参数,从而最大限度地呈现中药复方整体药动学行为^[21]。随着这一新思路的提出,学者们对多种中药复方进行了整合药动学研究。如张启云等^[22]研究复方葛根芩连汤多效应成分分类整合药动学,大鼠灌胃葛根芩连汤后检测 11 个有效成分的血药浓度,并将这些成分归为黄酮类和生物碱类两类化合物,自定义权重系数,计算葛根芩连汤这两类化合物在大鼠体内综合血药浓度,建立分类整合药动学研究模型,并用统计矩法得到这两类化合物在大鼠体内整合药动学参数,发现分类整合的总黄酮类、总生物碱类的药-时曲线都符合灌胃给药的药物处置规律。也有文献报道了黄连解毒汤在大鼠中动脉闭塞(MCAO)大鼠体内的多效应成分整合药动学^[23]。中药复方多效应成分整合药动学在一定程度上体现了复方的整体性,使复方药动学研究迈向了一个新的高度。但依然有许多问题悬而未解,如 W_j 的确定、标志性成分的选择、模型的选择等问题。

4 中药复方药动学-药效学(PK-PD)结合模型

基于药理效应法和血药浓度法各自的优缺点,有研究者提出药理效应法和血药浓度法相结合的模式,即 PK-PD 结合模型,用于研究药物按照时间、浓度和效应三相同步进行的动力学方法。它不仅可以阐明药物在体内动态变化的规律性——临床药动力学,而且可以揭示药物在效应部位作用的特性——临床药效动力学。将 PK-PD 结合模型用于中药复方研究,可以阐明和完善其作用机制及复方组方原理,为提高中药复方制剂的质量和优化给药方案提供科学依据,同时也为发现活性代谢产物、开发新药奠定理论基础。

目前已有不少文献报道中药复方的 PK-PD 研

究结果,李锐等^[24]建立 PK-PD 模型,探讨四逆汤的药动学与药效学关系。表明二者的相关性良好,并指出四逆汤有效部位中乌头类生物碱在整个复方制剂的药效中发挥重要作用,其动力学特征在一定程度上可以反映四逆汤回阳救逆药效的变化。吕莉等^[21]报道由王广基开展血塞通在脑中风患者的 PK-PD 研究,表明血塞通注射液整合血药浓度与整体药效具有良好的相关性,并提出临床优化给药方案。

尽管中药复方 PK-PD 研究已取得了一定进展,但 PK-PD 模型仍然面临许多问题和挑战。基于中药复方具有多成分、多靶点、整体调节的特性,如何寻找和选择合适的药效指标、确定药效物质基础、建立模型等都是复方 PK-PD 研究的难题。有人认为可采用多组分化学物质组学、代谢组学、药动学标记物能全面确定中药复方药效物质基础,引入网络药理学理论和方法,综合分析在体效应指标和离体效应指标,并结合中医症候指标进行分析,以建立多靶点的网络生物效应指标体系,利用智能计算方法进行 PK-PD 相关性分析,建立起中药多组分动态网络靶点效应 PK-PD 研究模式,对于中药复方 PK-PD 研究具有重大意义^[25]。向铮等^[26]也提出应用代谢组学和复杂网络方法来研究多组分药动学即网络药动学的设想,以期揭示中药复方作用机制。这也是目前中药复方药动学研究的一大趋势。

综上所述,中药复方药动学研究的两种经典方法,即生物效应法和血药浓度法都存在不同程度的缺陷,学者们也一直在探索新的中药复方药动学研究方法,期间涌现出一系列的新型理论假说,从不同层次、不同角度论述中药复方药动学的研究思路和方法,推动复方药动学的发展。如包括“辨证药动学”和“复方效应成分药动学”两部分的“证治药动学”、“中药胃肠药动学”、“中药血清药理学”^[9]。然而上述新理论假说大多数应用某一个或几个药效成分来表明整个中药复方的药动学特征,并不能完整地刻画整个体系的特征。此后学者们又提出了一些从中药复方整体出发的理论,如复方多效应成分整合药动学、中药指纹药动学、复方药动学-药效学(PK-PD)结合模型等,虽然这些思路还存在一定的局限性,在中药复方药动学研究中的应用也较少,但不可否认他们使中药复方药动学研究进入一个崭新的阶段,更能体现中药复方的整体性。这也是我们一直追求的目标。

随着中药复方的研究深入,特别是血清药物化学、系统生物学、代谢组学、网络药理学等理论的发

展与成熟,复方多效应成分整合药动学及 PK-PD 结合模型等将会取得重大突破,建立起具有中医药特色、完整规范的复方药动学研究体系指日可待。

【参考文献】

- [1] 郝福,蒋晔,李艳荣,等. 复方中药化学成分的研究进展[J]. 中成药,2007,29(2):258-262.
- [2] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2007:169-171.
- [3] Smolen VF, Barile RG, Theophanous TG. Relationship between dose, effect, time and biophasic drug levels[J]. J Pharm Sci, 1972, 61 (3):467-470.
- [4] 肇丽梅,何晓静,邱枫. 药理效应法测定黄芩苷及清热合剂的药动学参数[J]. 广东药学院学报,2006,22(1):22-24.
- [5] 赫梅生,詹丽芬,郭景阳,等. 用动物急性死亡率估计药物体存率与表观半衰期[J]. 中国药理学报,1985,6(3):213-216.
- [6] 马昕. 浅谈中药复方的药代动力学[J]. 北方药学,2011,8(11):18-19.
- [7] 刘萍,黄颖. 中药复方的药代动力学研究方法和存在的若干问题[J]. 湖北中医学院学报,2010,12(6):64-66.
- [8] 黄衍民,潘留华,吴晓放,等. 乌头注射液对小鼠的毒效动力学研究[J]. 中国药学,1998,33(7):421-423.
- [9] 周丽娟,许利平,陈慧娟,等. 中药复方药代动力学常用研究方法评价[J]. 中华中医药学刊,2007,25(5):1041-1043.
- [10] 向大雄,李焕德,胥新元. 中药复方药代动力学研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2002,8(1):61-63.
- [11] Wei H, Xu W, Cai F, *et al.* Simultaneous determination of five lignin constituents of Wuzhi capsule in rat plasma by LC-MS/MS: application to pharmacokinetic study[J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 52 (5):741-746.
- [12] Liu P, Li ZH, Qian DW, *et al.* Simultaneous determination of bioactive components in essential oil of Xiang-Fu-Si-Wu formula in Beagle dog plasma by UPLC-MS/MS and its application to pharmacokinetics[J]. J Chromatogr B, 2013, 929:63-69.
- [13] Cai F, Xu W, Wei H, *et al.* Simultaneous determination of active xanthone glycosides, timosaponins and alkaloids in rat plasma after oral administration of Zi-Shen Pill extract for the pharmacokinetic study by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 2010, 878 (21):1845-1854.
- [14] Zuo F, Zhou ZM, Zhang Q, *et al.* Pharmacokinetic study on the multi-constituents of Huang Qin-Tang decoction in rats

[J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26 (7):911-919.

- [15] 谢跃生,张振清,阮金秀. 六味地黄汤中马钱子素小鼠体内药代动力学研究[J]. 中草药,2002,33(9):817-819.
- [16] 汤成泳,李卿,周远大,等. 麝香滴眼液在家兔眼内组织中的分布及药代动力学研究[J]. 中成药,2010,32(4):581-585.
- [17] 贺丰,罗佳波,陈飞龙,等. GC-MS法研究麻黄汤中麻黄碱、伪麻黄碱的人体内过程[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(5):336-347.
- [18] Lu T, Liang Y, Song J, *et al.* Simultaneous determination of berberine and palmatine in rat plasma by HPLC-ESI-MS after oral administration of traditional Chinese medicinal preparation Huang-Lian-Jie-Du decoction and the pharmacokinetic application of the method[J]. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40 (5):1218-1224.
- [19] Xia CH, Wang GJ, Sun JG, *et al.* Simultaneous determination of ginsenoside Rg1, Re, Rd, Rb1 and ophiopogonin D in rat plasma by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometric method and its application to pharmacokinetic study of SHENMAI' injection[J]. J Chromatogr B, 2008, 862 (1-2):72-78.
- [20] Zan B, Shi R, Wang TM, *et al.* Simultaneous quantification of multiple active components from Xiexin decoction in rat plasma by LC-ESI-MS/MS: application in pharmacokinetics[J]. Biomed Chromatogr, 2011, 25 (7):816-826.
- [21] 吕莉,孙慧君,韩国柱. 中药药代动力学的研究进展[J]. 药学报,2013,48(3):824-833.
- [22] 张启云,徐良辉,李冰涛,等. 复方葛根芩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.
- [23] Zhu HX, Qian ZL, Li H, *et al.* Integrated pharmacokinetics of major bioactive components in MCAO rats after oral administration of Huang-Lian-Jie-Du-Tang [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141 (1):158-169.
- [24] 李锐,晏亦林,周莉玲,等. 四逆汤的药动学研究[J]. 中成药,2002,24(10):777-780.
- [25] 田乐,狄留庆,周伟,等. 中药多组分网络靶点效应 PK-PD 结合模型应用研究与思考[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2012,14(4):1824-1830.
- [26] 向铮,蔡小军,曾苏. 基于复杂网络与代谢组学的中药药代动力学研究思考与探索[J]. 药学报,2012,47(5):558-564.

[收稿日期] 2013-12-06 [修回日期] 2014-03-24

[本文编辑] 陈静

(上接第4页)

- [30] Wright JS, Carpenter DJ, McKay DJ, *et al.* Theoretical calculation of substituent effects on the O-H bond strength of phenolic antioxidants related to vitamin E[J]. J Am Chem Soc, 1997, 119:4245-4252.
- [31] Schiller PW, Nguyen TM, Berezowska I, *et al.* Synthesis and in vitro opioid activity profiles of DALDA analogues[J]. Eur J Med Chem, 2000, 35:895-901.
- [32] 赵善民,何显教,晋玲,等. 急性低氧对家兔血压心率微血管

反应性及自由基的影响[J]. 中国应用生理学杂志,2003,19:341-344.

- [33] Chen Z, Putt DA, Lash LH. Enrichment and functional reconstruction of glutathione transport activity from rabbit kidney mitochondria: further evidence for the role of the dicarboxylate and 2-oxoglutarate carriers in mitochondrial glutathione transport [J]. Arch Biochem Biophys, 2000, 373:193-202.

[收稿日期] 2013-11-28 [修回日期] 2014-03-26

[本文编辑] 陈静