

方剂化学成分药代动力学的研究进展[△]

第四军医大学西京医院(西安710032) 黄熙* 蒋永培 臧益民 牛国保

摘要 方剂在体内化学成分的定性、定量四谱(UV、IR、MS和NMR)法、2维和3维HPLC法,经不同途径给药后,方剂在体内化学成分的动力学特征与“证”、临床疗效、中药配伍、制剂与给药时间有明显关系。现从定量构效关系、药动学-药效学结合模型、代谢产物动力学、生物活性物质、中医辨证施治药动学与临床药动学等方面进行综述。

不少学者一方面认为不太可能测定方剂在体内的化学成分,更不用说研究其药代动力学(药动学)^[1~4],其依据认为方剂的化学成分复杂或者低微或化学成分不明,另一方面还认为植物来源的单体不能代表母体植物的生物活性,因而不能被用于药动学研究^[1,3]。然而近10年来的实验证实:方剂在体内化学成分动力学研究不但可行,而且很有必要^[5~9]。

1985年,寺泽捷年首先用酶标免疫和高效液相色谱(HPLC)法测定甘草芍药汤体内化学成分浓度,成功证明芍药配伍甘草可明显提高甘草次酸(GA)血药浓度^[10];1986年,田中茂首先用HPLC和气相色谱-质谱(GC-MS)法对三黄泻心汤体内化学成分进行定性定量^[5],证明大黄酸血药浓度在不同证者体内有差异,以此为启迪,我们于1991年首先提出了“证治药动学”新假说^[11],随后的报道为该假说提供了证据^[12~14]。

1 中药配伍对方剂药动学的影响

甘草自古以来便是重要的中药之一,广泛地伍用于他药以组成方剂。寺泽捷年以GA为测定标准,大鼠口饲甘草酸、GA、甘草汤和甘草芍药汤后,血中GA含量因伍用芍药而明显提高。这可能是因为合用时,甘草酸增加或促进了甘草酸在体内被代谢为GA的过程,也可能是GA排泄延迟的结果,伍用芍药时尿中排泄GA量明显比单用甘草高,这与伍用时引起GA血药浓度增高的结果一致。但尿中排泄量仅占投入量的3%~4%,而粪便中服用甘草汤时GA的排出量多,高于服用甘草芍药汤,因此推论伍用芍药后血中GA浓度增高可能是由于某种因素使粪便中排出量降低,而在体内停留时间延长^[10]。GA血药浓度因伍用芍药而明显提高这一特性提示我们需注意GA的药理作用和毒副作用。GA被普遍认为具有抗炎、抗过敏和抗胆固醇血的作用,近年还认为具有抗病毒作用,然而给予甘草或GL(甘草酸,GA的前体)后会产生假性醛固酮增多所致高血压、低血钾、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的抑制的副作用^[15]。以这一实验结果为依据,我们于1991年提出的“复方药动学”假说,指的是方剂君臣佐使配伍变化可明显影响彼此的药动学参数并与疗效与毒副作用密切相关^[11]。之后常明向等研究发现^[12]当归伍用芍药后,明显影响该方剂在家兔体内阿魏酸药动学参数。他们得出有意义的结论是:动物服用当归汤或当归芍药汤后体内阿魏酸的动力学明显不同于服用阿魏酸单体或单味当归汤剂。因此不能用单体药动学参数代替母体中草药。1994年,我们分别比较研究了川芎汤、川芎丹参汤给大鼠口饲后磷酸川芎嗪(TMPP)动力学,伍用丹参后可明显减少TMPP的吸收、分布和生物利用度^[13]。

2 方剂药动学与“证”的关系

*Address: Huang Xi, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi-an

△国家自然科学基金资助项目(39100139)资助文献收集费用

田中茂等^[5]认为由于“证”的不同,肠内菌群簇存在差别,经口给予的方剂成分在消化道、肝脏的代谢以及在消化道的吸收就会有所不同,从而导致血中浓度的差异。基于此种设想,他们给予不同程度实证便秘患者口服三黄泻心汤,并测定血清中大黄酸浓度,发现严重实证便秘患者血中大黄酸峰值浓度较轻型实证便秘患者为高。推理:把番泻叶甙转变成真正活性成分的活性大黄酸的反应来源于肠内常在菌群,这种活性很高的菌株多见于实证患者。所以给实证患者服用三黄泻心汤就会在消化道内产生大量的活性大黄酸,由于这种物质不稳定,氧化后又转变成大黄酸,但严重便秘者在肠内长时间停积使大黄酸的吸收量增加,故血清大黄酸浓度增高。在以上实验基础上可进一步研究大黄酸的量与疗效、“证”的关系,或者说为什么与便秘程度有关。

我们受田中茂研究思路的鼓舞,进一步于1991年提出了“辨证药动学”新假说^[11],该假说意指不同证的药动学参数有显著差别并与疗效和毒副作用相关。也就是证状态可明显改变药动学参数。比较研究TMPP在健康和脾虚大鼠的动力学差异表明脾虚状态可明显增加TMPP的吸收^[14]:脾虚证大鼠口服TMPP后, TMPP血清浓度在不同时间点上分别是健康鼠的1.5至9倍。AUC是健康鼠的4倍。Ka值表明脾虚可明显加快TMPP的吸收速率和减慢TMPP的消除($t_{1/2\beta}$ 和 $t_{1/2\alpha}$ 值),推测脾虚而气滞血瘀、脾虚消瘦可能是脾虚证大鼠TMPP药动学特征的机理之一,但如判断为脾虚,尚需用健脾补气方药进行反证或活血化药方剂反证。

3 方剂化学成分药动学、生物利用度与疗效的关系

当归四逆加吴茱萸生姜汤体内的动态研究结果表明:经辨证施治6个月获显著疗效,患者血中甘草甜素浓度在6~12h明显上升呈峰值,而未显一定经时变化的病例未见临床效果^[16],疗效选用热像图观察四肢皮肤温度的变化,皮肤温度的变化与血中甘草甜素的推移相关,以上规律在6个月疗程前后的重复性良好。这种方剂药动学研究,其动力学参数可用于指导中医辨证施治,提高疗效及疗效的重复性。

本间真人等^[17]鉴定出哮喘患者服柴朴汤后尿中3种化合物分别为厚朴酚(M)、甘草素(L)、二羟基二氢厚朴酚(DM),另1种待鉴定。他们研究了M和L在尿中排泄动态变化与临床疗效的关系,结果表明:DM的排泄速度在服用后1~3h达到最大,L的排泄速度显示服用后1~3h及9~12h具有双相吸收峰,后者的峰来自生药中L配糖体的肠内水解后产物。有效病例M与L尿中平均排泄量增加。与临床疗效进行对比,从速度论角度研究这些化合物的尿中排泄成分的体内动态,不但有助于掌握方剂化学成分与疗效的关系,而且有助于阐明柴朴汤的作用机制。

以银花、黄芩中2种主要有效成分黄芩甙、绿原酸为指标,测定银黄口服液和片剂血药浓度并比较生物利用度^[18],结果表明:口服液中2成分的血药浓度均比片剂高,生物利用度也优于片剂。所以治疗时宜选用口服液为宜。天麻口服液、注射剂给家兔分别口服、肌注和静注后的研究表明:体内天麻素在肌注时生物利用度最好^[19],可供临床参考。复方当归注射液给家兔静注和川芎滴丸给兔口服后血浆中阿魏酸峰值浓度为 $0.87\mu\text{g/ml}$ 和 $0.62\mu\text{g/ml}$,达峰时间分别为2min和1h^[20]。这种差异可能会对疗效快慢和作用强度产生一定影响。

4 方剂在体内化学成分的定性、生理活性物质

无论方剂的化学成分多么复杂。其在体内起作用的还是结构清楚的化合物,这些化学成分可源于原有植物,亦可能是原有植物中化学成分在体内的代谢产物,甚至有可能是与机体相互作用时形成的新的生理活性物质。如柴朴汤在支气管哮喘患者体内的化合物有如前所述

的4种：M、L和DM等。柴朴汤对支气管哮喘的疗效与这几种化合物有关^[17]。

甘草附子汤的甘草、肉桂、苍术和附子组成，从植物化学角度分析，其共存化学成分十分复杂，相互间的物理的、化学的与生物活性的相互作用的复杂程度难以想象，但Kano^[6]等的研究表明：大鼠口服甘草附子汤水煎剂后，血中有紫外吸收的物质仅检测到2种化合物：桂皮酸和6E，12E-十四碳二烯-8，10-二烯-1，3-二醇。甘草中的黄酮类、甘草次酸、附子成分均未在血中检测到。由此推论上述2个化合物可能是甘草附子汤中的活性化合物^[6]。

小松健一^[21]等给大鼠口服吴茱萸粉末及甲醇提取物后，把收集到的尿与正常尿比较，结果发现给药组的尿中出现了新的成分，停药后这种成分消失。进一步将各组依次分离提纯后给大鼠口服，结果明确了使尿变化的主要物质存在于噻诺酮生物碱部分，进一步对数种噻诺酮生物碱进行分离，证实吴茱萸卡品碱为主要成分，该成分不同于其它脂肪链的生物碱，而且与吴茱萸中新出现的成分也不一致，故认为是吴茱萸成分的代谢物或是基于吴茱萸成分和的活性基2次排泄的大鼠机体的成分——新的生理活性物质。

将川芎、川芎丹参汤给大鼠口服后，将血清中化学成分对标准品对照后进行分离、纯化富集，其中1种化学成分被鉴定为TMPP^[13]。

5 方剂体内化学成分的结构—活性关系

在明确鉴定了柴朴汤在体内的化学成分后，本间真人等^[22]继续研究了其构—效关系。柴朴汤治疗支气管哮喘的机理之一是阻碍11 β -羟类固醇脱氢酶（11-HSD）。已知该方中甘草甜素服用40mg方能阻碍11-HSD，而柴朴汤每次服用量7.5g中仅含10mg甘草甜素，难以单纯用方中甘草甜素来解释其抑制11-HSD作用。体外实验观察比较对11-HSD阻碍作用时用方中所含几种化合物单体（M、GA和甘草甜素），剂量等同于他们在该方中的含量，结果仅见M对11-HSD的阻碍作用^[22]。以上构效关系研究得出结论：柴朴汤对糖皮质激素代谢的抑制作用，除甘草中的甘草甜素和GA外，还有厚朴中的M参与。这种方剂独特的构效关系研究方法为首先鉴定方剂在体内的化学成分的结构。然后解析这些结构、化合物与活性的关系。

6 饮食对方剂体内化学成分动力学的影响

Nishioka^[23]等比较观察了早饭前及饭后30min给予健康受试者口服7.5g小柴胡汤提取剂，后体内甘草甜素、GA和黄芩素等的动力学变化，饭前和饭后给药后血浆中甘草甜素浓度随时间变化图表明，饭前给药后0.5和2h有2个峰，分别为1.18和1.05 $\mu\text{g/ml}$ 。浓度缓慢下降，8h后可检限下。而饭前和饭后给药血浆中GA的浓度随时间变化图表明，给药后8h出现峰，饭前和饭后的峰值分别为1.11 $\mu\text{g/ml}$ 和0.52 $\mu\text{g/ml}$ （ $P<0.01$ ）。黄芩素在2种给药时间的血浆中浓度随时间变化图表明，饭前给药，2峰分别在2和12h出现（0.62和0.49 $\mu\text{g/ml}$ ），饭后给药2峰分别在4h和12h出现（0.49和0.52 $\mu\text{g/ml}$ ）。结果提示：食物对小柴胡汤中甘草甜素、黄芩素和GA的吸收有明显影响，因此饮食有可能影响方剂体内动力学及其疗效。

7 方剂化学成分群体药动学研究

矢船明史^[7]等测定了小青龙汤提取剂经口一次给药后8名健康成人男性志愿者血中麻黄碱浓度，通过引入个体间变差，以群体药动学观点作动态分析。根据推拟的数学模型和各模型推算的平均值为基础，可模拟方剂化学成分在血中的经时变化，还可进行2次/d或3次/d给药后血中麻黄碱浓度的模拟实验。模拟结果表明：应用任何给药方法，第2天以后血中浓度的变化几乎相同，但2次/d和3次/d给药方式血中麻黄碱浓度有明显差异。2次/d给药时，第1、2次给药之间血药浓度很低，而3次/d给药时，在同一期间内增加1次给药时，显示出相当高的血药

浓度。这种模拟实验结果如经证实,能有力地指导方剂在临床的辨证施治。

8 方剂在体液中化学成分的定位与定量方法

方剂化学成分药动学研究论文中运用化学成分检测方法有:酶标免疫法^[10],荧光、紫外分光光度计法^[20,24],HPLC荧光检测法^[21],单纯HPLC紫外检测法^[12,14,16,18,25],其余为综合方法:GC-MS法^[7,26],联合GC-MS和3D-HPLC法^[5],3D-HPLC结合MS和柱切换技术使血清样品直换进样法^[6],LC-MS法^[23],2D-HPLC、3D-HPLC结合四谱(UV、IR、MS和NMR方剂)^[13]。

酶标免疫法利用抗原抗体反应原理测定GA血清浓度,此方法非常灵敏,特异性强,用于甘草芍药汤体内GA浓度测定时已证明成功地测定到常规剂量下体内血液和尿中微量的GA。但方法复杂,制备第2抗体费时,需商品化供应试剂盒,限制了推广运用。荧光、紫外分光光度计法却由于缺乏分离层析手段,不能排除方剂中具有类似紫外吸收和荧光光谱的多组分干扰,特异性不强。HPLC法用于单体化合物(结构清楚的化学药品)体内动力学研究时无疑具有快速、灵敏、专一、方便等特性,该法用于方剂体内化学成分研究无疑较前面三法前进了一大步。但严格说来HPLC并不能用来鉴定化学物质,尤其是方剂在体内化学成分复杂,不能单靠某一组分色谱峰保留时间与标准品一致,并以此定性,而必须依靠MS、IR和NMR进行解析。3D-HPLC能同步检测多组分物质,尤其能区分保留时间相同而UV波长不同的物质,特别适于方剂多组分体内的定性定量。日本学者许多均运用了HPLC结合质谱,包括一次性定性定量的GC-MS和LC-MS法,有些还联合了3D-HPLC^[5]。而最为科学的当推川芎丹参药动学研究综合运用了四谱和2D,3D-HPLC^[13]。

尽管方剂化学成分药动学研究刚刚起步。但研究进展已充分而明确地回答了如下问题:四谱结合色谱方法科学地证明方剂体内化学成分肯定能进行定性定量分析;体内外构-效关系研究表明,方剂化学成分完全能代表“母方”的药效;方剂配伍和证状态对其方中化学成分体内命运的影响及其证效关系研究证实科学组方遣药、辨证而后施治的重要意义。

参 考 文 献

- 1 潘思源.中药药理与临床,1993,9(5):40
- 2 王建华,中药药理与临床,1993,9(1):42
- 3 张明,等.华西药理学杂志,1993,8(1):38
- 4 黄教成.药学学报,1987,22(7):553
- 5 陈士文.国外医学-中医中药分册,1988,10(3):58
- 6 Kano Y, et al. Shoyakugaku Zasshi, 1989,43(3):199
- 7 矢船明史,他.日本东洋医学杂志,1992,43(2):28
- 8 李锐.中药药理与临床,1991,7(1):35
- 9 黄熙,等.国外医学-中医中药分册,1993,15(3):5
- 10 寺泽捷年,他.和汉医药学会志,1985,2(3):536
- 11 陈可冀主编.迈向21世纪的中西医结合.北京:中国医药科技出版社,1991.207
- 12 常明向,等.中药药理与临床,1992,8(4):34
- 13 黄熙,等.中国中西医结合杂志,1994,14(5):288
- 14 黄熙,等.中国中西医结合杂志,1994,14(3):159
- 15 Hiromi K, et al. 和汉医药学会志(英文),1988,5(1):74
- 16 张志军,等.国外医学-中医中药分册,1994,16(1):30
- 17 贺玉琢.国外医学-中医中药分册,1992,14(2):51
- 18 刘汉清,等.中成药,1990,12(6):2
- 19 王西发,等.中成药研究,1987,9(6):2
- 20 任延军,等.中国医院药理学杂志,1992,12(11):188
- 21 贺玉琢,等.国外医学-中医中药分册,1990,12(1):58
- 22 本间真人.和汉医药学会志,1991,8(3):362
- 23 Nishioka Y, et al. Chem pharm Bull, 1992,40(5):1335
- 24 吴坚东.中成药,1993,15(3):5
- 25 周同惠主编.生物医药色谱进展.西安:西北大学出版社,1994.253
- 26 松木容彦.汉方研究,1992,10:340

(1994-12-29收稿)