逍遥散在肝损伤模型大鼠体内的药效学和药动学研究

张 宁[1]，夏 珂[1]，王业秋[1]，陈 曦[2*]，李秋红[1]

1. 黑龙江中医药大学，黑龙江 哈尔滨 150040
2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所，北京 100193

摘 要：目的 研究逍遥散降酶的药效学、药动学过程，为合理用药提供参考。**方法** 大鼠 sc 含 40% CCl_4 的橄榄油溶液 2 mL/kg，每 2 天 1 次，首次给药 4 mL/kg，连续 12 d。以天冬氨酸转氨酶（AST）降低量为药效学指标，进行逍遥散的药效学研究；通过 PKSolver 2.0 统计距分析求算相关药动学和药效学参数。**结果** 逍遥散的降酶时-效曲线具有显著的双峰特性，其 t_d、$t_{1/2\,(ED)}$、AUC、MRT 分别为 17.79 h、3.73 h、657.07 U·L^{-1}·h、6.23 h。**结论** 逍遥散在肝损伤大鼠体内具有吸收快，消除慢，作用维持时间较长的特点。

关键词：逍遥散；药效学；药动学；肝损伤；药理效应法

中图分类号：R285.5 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2011)08 - 1576 - 04

Pharmacodynamic and pharmacokinetic study on reducing enzyme by Xiaoyao Powder used for liver-injured rats *in vivo*

ZHANG Ning[1], XIA Ke[1], WANG Ye-qiu[1], CHEN Xi[2], LI Qiu-hong[1]

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective To carry out the pharmacodynamic and pharmacokinetic study on the reducing enzyme of Xiaoyao Powder and provide reference for the rational using drug. **Methods** The liver-injured rat model was developed by sc injection of 2 mL/kg olive oil solution with 40% CCl_4 every two days for 12 d by frist administration of 4 mL/kg. With the decrease in aspartate amino transferase (AST) as the parameter, the pharmacodynamics of Xiaoyao Powder was studied. The apparent parameters of pharmacodynamics and pharmacokinetics were estimated based on the time-effect curve by PKSolver 2.0. **Results** The time-effect curve of reducing enzyme by Xiaoyao Powder was characterized by double peaks and could be described by statistical moment. The main pharmacodynamic parameters were as follows: t_d = 17.79 h, $t_{1/2\,(ED)}$ = 3.73 h, AUC = 657.07 U·L^{-1}·h, MRT = 6.23 h, respectively. **Conclusion** Xiaoyao Powder used for liver-injured rats shows a rapid absorption, slow elimination process, and longer duration.

Key words: Xiaoyao Powder; pharmacodynamics; pharmacokinetics; liver injury; pharmacological effect method

逍遥散出自《太平惠民和剂局方》，具有疏肝解郁、健脾和营的功效，是调和肝脾的经典方，临床上广泛用于肝病的治疗。但由于逍遥散成分复杂，给药后血药浓度低，常规的分析手段不能监测其体内过程，且不能通过监测一种或几种成分而对整个复方的体内作用规律进行概括，从而导致其临床合理用药缺乏指导[1]。病理状态与正常状态的体内药动学过程存在差异，而目前有关中药复方药动学的文献报道多以健康动物或健康人体为研究对象[2]，有关疾病模型动物体内的药动学研究较为少见。因此，有必要研究病理状态下的药动学[3-4]。

目前，以药理效应法测定药动学参数主要应用在中药复方解热[5]、发汗[6]、抗炎[7]、镇痛等方面，未见其在保肝、降酶方面的报道。本实验在完成大鼠肝损伤模型和逍遥散对其干预作用研究的基础上，采用以天冬氨酸转氨酶（AST）为测定指标的

收稿日期：2010-11-06

基金项目：中国博士后科学基金（20100471122）；黑龙江省博士后资助项目(LRB 09-335)；黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目（115514655）

作者简介：张 宁（1974—），男，辽宁锦州人，副教授，博士，研究方向为中药药效物质基础及体内代谢研究。

Tel: 13258601795 E-mail: zhang-ning2006@hotmail.com

*通讯作者 陈 曦 Tel: (010)62799771 E-mail: 91chenxi12@163.com

药理效应法，建立剂量-效应关系和时间-效应关系，并转换为时间-剂量关系，从而得出药动学和药效学参数，为临床合理应用逍遥散治疗肝病提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

逍遥散处方饮片均购自北京同仁堂制药集团哈尔滨药店，经黑龙江中医药大学佳木斯学院陈孝忠副教授鉴定。按照《太平惠民和剂局方》方法制备逍遥散：准确称取柴胡 15 g、当归 15 g、白芍 15 g、白术 15 g、茯苓 15 g、甘草 7.5 g，粉碎成粗粉，加水 1 500 mL 煮沸，保持沸腾 20 min，加入 5 g 煨姜和 5 g 薄荷，再保持沸腾煎煮 10 min，煎煮液过 5 层纱布，滤液浓缩至 2 g/mL（按生药量计），经冷冻干燥制成粉末（含芍药苷 7.5 mg/g），用前以蒸馏水配制成混悬液。按动物和人体表面积比例换算出相当于人用的临床等效剂量，根据实验需要确定给药量。CCl_4 为分析纯（沈阳化学试剂厂）；AST 试剂盒（南京建成生物工程研究所产品）；其他试剂均为市售分析纯。

1.2 动物

清洁级 Wistar 大鼠，体质量 180～220 g，雄性，6～8 周龄，购自黑龙江中医药大学 GLP 实验室，合格证号：SYXK（黑）2008-004。

1.3 肝损伤模型的制备

大鼠 sc 含 40% CCl_4 的橄榄油溶液 2 mL/kg，每 2 天给药 1 次，首次 sc 4 mL/kg，连续 12 d。

1.4 逍遥散降酶峰时的确定

取 3 只模型大鼠于末次 sc CCl_4 24 h 后眼眶取血 0.2 mL，同时 ig 给予逍遥散 8.26 g/kg，每隔 30 min 取血，按试剂盒说明测定 AST 值，确定逍遥散降酶作用最大值的相应时间点，在这个时间点的周围进一步选取时间点并进行优化，作为最大效应时间点。

1.5 逍遥散剂量-效应关系的确定

30 只模型大鼠随机分成 5 组，每组 6 只，于末次注射 CCl_4 24 h 后单次 ig 逍遥散 2.07、4.13、8.26（临床等效剂量）、16.52、33.04 g/kg，分别于给药前、效应测定时间点于眼眶取血 0.2 mL，常规分离血清，按试剂盒说明书测定 AST 值。以 AST 值降低量（数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示）为纵坐标，剂量的自然对数为横坐标，得出剂量自然对数-效应方程。

1.6 逍遥散时间-效应关系的确定

6 只模型大鼠于末次注射 CCl_4 24 h 后 ig 逍遥散 8.26 g/kg（临床等效剂量），于给药后 0、0.17、0.33、0.5、0.75、1、1.17、1.33、1.5、1.67、2、2.25、2.5、2.83、3.33、4、6、8.5、12 h 眼眶取血 0.2 mL，常规分离血清，按试剂盒说明书测定 AST 值。以 AST 值降低量（数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示）的自然对数为纵坐标，以时间为横坐标，得出时间-效应方程。对时效关系数据用 PKSolver 2.0 软件分析其药效学参数。

1.7 时间-体存生物相当药量曲线的绘制

将时效关系实验中各时间点的降酶效应（AST 降低量）带入剂量效应方程，求出相应的剂量值作为体存生物相当药量，绘制时间-体存生物相当药量曲线。对时间-体存生物相当药量数据用 PKSolver 2.0 软件分析其药动学参数。

2 结果

2.1 逍遥散降酶作用的剂量-效应曲线

逍遥散降酶作用的最大效应在 1、2.5 h，进一步优化效应最大时间点为 1、2.83 h。分别对两个效应最大时间建立量效关系（图 1），曲线上升斜率从 6.52 g/kg 到 8.26 g/kg 比此前斜率减小，33.04 g/kg 出现了剂量抑制，且峰 2（2.83 h）的这种抑制更为明显。两峰的量效方程分别为 $Y=25.55X+25.42$，$Y=32.85X+20.01$，最低起效剂量为 0.496 g/kg。

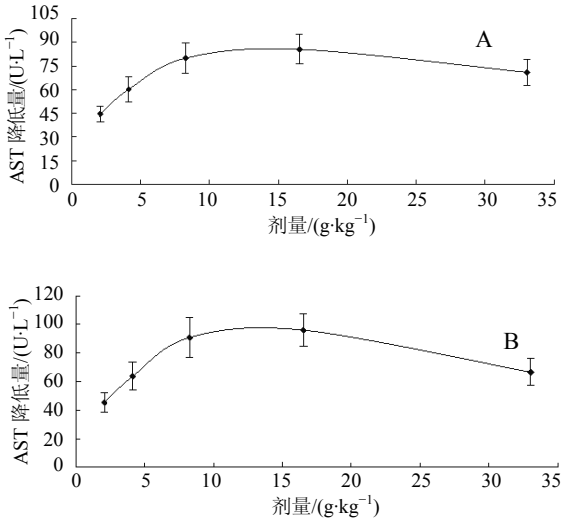

图 1 逍遥散给药后 1 h（A）、2.83 h（B）降酶作用的剂量-效应曲线

Fig. 1 Dose-effect curve of reducing enzyme after 1 h (A) and 2.83 h (B) of Xiaoyao Powder administration

2.2 逍遥散降酶作用的时间-效应曲线

逍遥散降酶作用时间效应曲线见图 2。时间-效应方程两峰分别为 $Y=-0.676X+5.123$，$Y=-0.188X+5.005$，作用时间为 17.79 h，效应半衰期为 3.68 h。经

PKSolver 2.0 软件处理的各参数见表 1。

2.3 逍遥散降酶作用的时间-体存生物相当药量曲线

逍遥散降酶作用的时间-体存生物相当药量曲线见图 3，其消除方程分别为 $Y=-1.891\ X+4.220$，$Y=-0.241\ X+2.552$，效量半衰期为 2.88 h。经 PKSolver 2.0 软件处理的各参数见表 2。

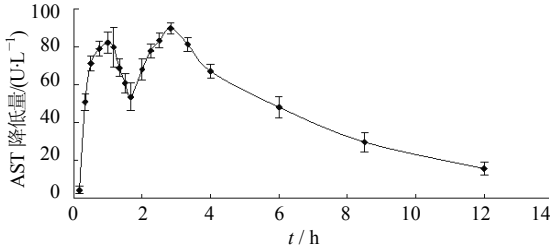

图 2 逍遥散（8.26 g/kg）降酶作用的时间-效应曲线

Fig. 2 Time-effect curve of reducing enzyme by Xiaoyao Powder (8.26 g/kg)

表 1 逍遥散降酶效应的非房室模型分析结果

Table 1 Statistics of non-compartment model of reducing enzyme by Xiaoyao Powder

参 数	单位	逍遥散
Lambda_z	h^{-1}	0.186
$t_{1/2}$	h	3.733
t_{max}	h	2.833
C_{max}	$U\cdot L^{-1}$	89.773
t_{lag}	h	0
C_{last_obs}/C_{max}	—	0.176
AUC $_{0\sim t}$	$U\cdot L^{-1}\cdot h$	572.182
AUC $_{0\sim inf_obs}$	$U\cdot L^{-1}\cdot h$	657.073
$AUC_{0\sim t}/AUC_{0\sim inf_obs}$	—	0.871
$AUMC_{0\sim inf_obs}$	$U\cdot L\cdot h^2$	4 091.289
$MRT_{0\sim inf_obs}$	h	6.227
Vz/F_obs	$g\cdot kg^{-1}\cdot U^{-1}\cdot L$	0.013 3
CL/F_obs	$g\cdot kg^{-1}\cdot U^{-1}\cdot L\cdot h^{-1}$	0.002 5

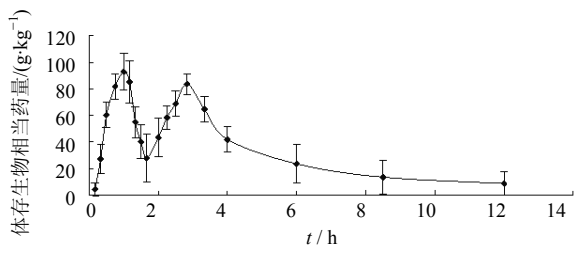

图 3 逍遥散（8.26 g/kg）降酶作用的时间-体存生物相当药量曲线

Fig. 3 Time-dose curve of biological drugs *in vivo* of reducing enzyme by Xiaoyao Powder (8.26 g/kg)

表 2 逍遥散降酶的体存生物相当药量非房室模型分析结果

Table 2 Statistics of considerable dose of biological drugs *in vivo* of reducing enzyme by Xiaoyao Powder

参数	单位	逍遥散
Lambda_z	h^{-1}	0.193
$t_{1/2}$	h	3.598
t_{max}	h	1.00
C_{max}	$g\cdot kg^{-1}$	9.276
t_{lag}	h	0
$C_{last_obs/Cmax}$	—	0.095
AUC $_{0\sim t}$	$g\cdot kg^{-1}\cdot h$	37.932
AUC $_{0\sim inf_obs}$	$g\cdot kg^{-1}\cdot h$	42.512
$AUC_{0\sim t}/AUC_{0\sim inf_obs}$	—	0.892
$AUMC_{0\sim inf_obs}$	$g\cdot kg^{-1}\cdot h^2$	228.366
$MRT_{0\sim inf_obs}$	h	5.372
Vz/F_obs	—	1.009
CL/F_obs	h^{-1}	0.194

3 讨论

本实验所采用的药动学研究方法是生物效应法中的药理效应法，比传统的血药浓度法新颖[8]。它以能定量反映出体内药物动态变化规律的药理效应为指标，不需要考虑复杂的化学成分，所测得的药动学参数能更客观地反映复方中多种药物或多种成分的协同效应及体内动态变化，符合中医药的整体观原则[9-10]，且研究对象是疾病状态，其体内的药动学过程与正常状态的药动学过程存在差异，因而采用此方法研究逍遥散在疾病状态下的体内药动学，对临床应用逍遥散治疗肝损伤更具有指导价值。

药理效应法的适用条件：①其效应与体内药物浓度或药量（对数）应满足线性关系；②药物的体内过程为线性药动学过程。测定指标的要求：①应与临床治疗相关；②应是量反应，能用定量参数描述，且药理效应随着作用部位药物浓度的变化而变化，且在相对窄的浓度范围内对浓度-效应关系有一较全面的反应；③必须在个体间和个体内有良好的重现性；④最好是客观的。与以上要求相对应，AST 能用试剂盒进行测定，且常应用于 CCl_4 严重肝损伤。AST 量的变化与 CCl_4 肝损伤程度相关性好，与逍遥散给药量的对数在一定范围内呈线性关系，且能用不同时间点的动态血样来测定其变化，个体间重现性良好，因此具有研究药动学的可能性。唯一的缺点是不能进行个体内的重复性试验（从造模成功到动态采血完成后大鼠的生理状态难以恢复）。

药动学、药效学的双峰现象有很多种解释：肝肠循环、双部位吸收、胃肠循环、肠道菌群代谢、药物代谢、食物、小肠蠕动、口服片剂的不完全崩解、皮肤用药、蛋白竞争。在本实验中，逍遥散降酶作用的时-效曲线的双峰明显排除食物、口服片剂的不完全崩解、皮肤用药等因素；根据第 2 个峰和第 1 个峰的半衰期不一样，肝肠循环、双部位吸收和蛋白竞争的可能性不大；第 2 个峰较高，且出现时间为用药后的 3 h，排除了胃肠循环和肠蠕动；经过了禁食处理，排除食物，因此肠道菌群代谢和药物代谢的可能性大。由于不能确定产生双峰的机制，假设逍遥散有两个成分集合 A 与 B，A 代表所有对时效关系中第 1 个峰有贡献的成分集（包括了原形药和代谢物），B 代表所有对时效关系中第 2 个峰有贡献的成分集（包括原形药和代谢物），用 PKSolver 2.0 软件来进行非房室的分析和数据点的拟合[11]。其中 A 的半衰期在 1 h 左右，属短半衰期成分集，B 的半衰期在 3 h 左右，属中长半衰期成分集。B 的 AUC 大于 A 的 AUC，说明 B 可能是 A 的代谢成分集，属于经过肝代谢后活力升高的情况。由于逍遥散组成复杂，水溶性成分和水不溶性成分种类繁多，其中水溶性成分多由肾消除，而水不溶性成分首先要经过肝代谢转化成水溶性成分再经肾消除。可能由于 CCl_4 造模不仅造成了肝代谢失常（肝消除改变），而且造成了肾排泄功能的损害（肾小球的滤过能力或肾小管的分泌功能减弱），因而导致 B 的半衰期延长，清除率降低[12]。从药效学和药动学参数来看，说明逍遥散具有吸收快、排泄慢、作用维持时间较长的特点。

参考文献

[1] 刘 斌, 杨昭毅, 魏 伟. 近年中药药物动力学研究进展 [J]. 安徽医药, 2009, 13(10): 1162-1164.

[2] 庄露凝, 谷 元, 刘昌孝. 药动学-药效学模型在新药评价中的应用 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 161-166.

[3] 曾明飞, 潘林梅, 朱华旭, 等. 黄连解毒汤中栀子苷在正常及脑缺血大鼠体内药动学研究 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 617-620.

[4] 郭立玮. 中药药物动力学方法与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004.

[5] 富杭育, 贺玉琢, 周爱香, 等. 以解热的药效法初探麻黄汤, 桂枝汤, 银翘散, 桑菊饮的药物动力学 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(1): 1-4.

[6] 富杭育, 贺玉琢, 周爱香, 等. 以发汗的药效法再探麻黄汤、桂枝汤、银翘散、桑菊饮的药物动力学 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(5): 1-4.

[7] 贺玉琢, 富杭育, 周爱香, 等. 以抗炎的药效法再探麻黄汤, 桂枝汤, 银翘散, 桑菊饮的药物动力学 [J]. 中药药理与临床, 1993, 9(1): 1-4.

[8] 余 斌, 吴正红, 李 燕, 等. 六神巴布剂抗炎药效动力学的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 44-46.

[9] Chen L C, Lee M H, Chou M H, *et al*. Pharmacokinetic study of paeoniflorin in mice after oral administration of *Paeoniae Radix* extract [J]. *J Chromatogr B*, 1999, 735: 33-40.

[10] Yang X G, Peng B, Zhang G H, *et al*. Studies of the pharmacokinetics of paeoniflorin in two Jing-Zhi-Guan-Xin formulations after oral administration to Beagle dogs [J]. *J Pharm Biol Anal*, 2006, 41: 320-324.

[11] 张 勇, 周建平, 霍关蓉. 基于 Excel 的药动学数据分析程序—PKSolver 1. 0 的编写和验证 [J]. 数理医药学杂志, 2007, 20(1): 58-61.

[12] 刘昌孝. 实用药物动力学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.