

基于质量标志物(Q-marker)的桂枝助眠方在食蟹猴体内药动学研究

韦 玮¹, 郝二伟^{1#}, 郭振旺¹, 徐炜杰¹, 秦健峰¹, 张 萌², 谢安然², 王爱玲², 陆海兰², 杜正彩¹, 侯小涛^{1,2*}, 邓家刚^{1*}

1. 广西中医药大学 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200

2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 基于中药质量标志物(Q-marker)概念, 研究肉桂、栀子及两者配伍后的复方桂枝助眠方中主要成分在食蟹猴体内的药动学变化, 为桂枝助眠方的 Q-marker 确定提供科学依据。方法 建立 UPLC-MS/MS 方法, 对桂枝助眠方配伍前后 7 个主要成分肉桂酸、4-甲氧基肉桂酸、香豆素、栀子苷、京尼平、京尼平苷酸、绿原酸在食蟹猴中的药动学行为进行比较研究。结果 与肉桂、栀子单味药组相比, 桂枝助眠方组食蟹猴血浆中肉桂酸、香豆素、京尼平苷酸、绿原酸的药时曲线下面积(AUC)、达峰浓度(C_{max})均显著增加; 肉桂酸、4-甲氧基肉桂酸、香豆素消除半衰期($t_{1/2}$)明显降低; 4-甲氧基肉桂酸、栀子苷的血药浓度达峰时间(t_{max})延长。结论 配伍后桂枝助眠方能够显著改变复方中主要成分的体内暴露状态, 7 个主要成分可作为桂枝助眠方的 Q-markers。

关键词: 桂枝助眠方; 中药; 质量标志物(Q-marker); 食蟹猴; 配伍; 药动学; UPLC-MS/MS; 肉桂酸; 4-甲氧基肉桂酸; 香豆素; 栀子苷; 京尼平; 京尼平苷酸; 绿原酸; 肉桂; 栀子; 消除半衰期

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)15-3996-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.019

Study on effect of compatibility on pharmacokinetics of Guizhi Zhumian prescription in cynomolgus monkeys based on Q-marker

WEI Wei¹, HAO Er-wei¹, GUO Zhen-wang¹, XU Wei-jie¹, QIN Jian-feng¹, ZHANG Meng², XIE An-ran², WANG Ai-ling², LU Hai-lan², DU Zheng-cai¹, HOU Xiao-tao^{1,2}, DENG Jia-gang¹

1. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Faculty of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To study the effect of compatibility on pharmacokinetics of the main components of Guizhi Zhumian prescription (GZP) based on the concept of Q-marker and to provide evidences for the determination of the Q-markers of this prescription. **Methods** UPLC-MS/MS method was established for the study of the pharmacokinetics behaviors of seven main components, including cinnamic acid, 4-methoxycinnamic acid, coumarin, gardenoside, genipin, geniposidic acid, and chlorogenic acid, before and after the compatibility of GZP in plasma of cynomolgus monkeys. **Results** Compared with the pharmacokinetics parameters of *Cinnamomum cassia* and *Gardenia jasminoides*, the AUC and C_{max} of cinnamic acid, coumarin, geniposidic acid, and chlorogenic acid in GZP were increased obviously; The $t_{1/2}$ of cinnamic acid, 4-methoxycinnamic acid, and coumarin were decreased; And the t_{max} of 4-methoxycinnamic acid, and geniposide were prolonged. **Conclusion** Compatibility of GZP could significantly change the *in vivo* exposure status of the main components, and the seven main compounds were determined to be the Q-markers of GZP.

收稿日期: 2019-11-13

基金项目: 2017 年广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(2017BS044); 2017 年广西壮族自治区瑶药材质量标准项目(第二卷)——黄红钻(17-259-20); 钻类瑶药抗肿瘤活性筛选与应用技术研究(桂科 AB17195019); 广西科技计划项目(AB17195019); 广西科技计划项目(AD17129010); 广西科技计划项目(17-259-20); 广西科技计划项目(AD17195025)

作者简介: 韦 玮(1985—), 男, 助理研究员, 研究方向为中药药效筛选与药动学。Tel: 18169646139 E-mail: 1976793492@qq.com

***通信作者** 侯小涛(1969—), 女, 教授, 研究方向为药物分析。E-mail: xthou@126.com

邓家刚, 男, 广西终身教授。E-mail: dengjg53@126.com

#并列第一作者, 郝二伟(1980—), 男, 研究员, 研究方向为中药药效筛选与中药基础理论研究。Tel: 13407725749 E-mail: ewhao@163.com

Key words: Guizhi Zhumian prescription; traditional Chinese medicine; Q-marker; cynomolgus monkey; compatibility; pharmacokinetics; UPLC-MS/MS; cinnamic acid; 4-methoxycinnamic acid; coumarin; gardenoside; genipin; geniposidic acid; chlorogenic acid; *Gardeniae Fructus*; *Cinnamon cassia* Presl; $t_{1/2}$

中药质量是制约中药现代化发展的瓶颈问题, 中药质量关系中药临床疗效及中药的可持续发展。针对中药质量控制问题, 刘昌孝院士团队^[1-2]于 2016 年提出了中药质量标志物 (Q-marker) 的新概念, 引起了学术界及产业界的广泛共鸣, 极大推进了中药质量研究的发展^[3]。目前, 中药 Q-marker 的概念、科学内涵、理论框架和研究方法已基本成型^[4], 为建立中药全程质量控制及质量溯源体系提供了方向。

根据中药 Q-marker 的概念和“有效性”“特异性”“传递与溯源”“配伍环境”以及“可测性”5 个方面的科学内涵, 药物的动力学研究是阐明药效学-药动学 (PD-PK) 及确定 Q-marker 的重要方法。药动学研究是揭示不同药性的药物传输特点、作用趋势、组织靶向及其不同药味之间的交互作用及其动力学规律的可行方法和必由路径^[4]。中药单味药或者复方中的成分经一定的传输途径, 入血、代谢、分布并产生特异性的生物效应。从这个角度, 入血成分才是中药单味药或者复方最终的“效应成分”。本研究遵循 Q-marker 的研究方法, 研究肉桂栀子配伍前后主要成分的药动学变化, 旨在从体内药效成分动态变化角度探索该药对配伍的科学内涵, 为桂枝助眠方的 Q-marker 的确定提供科学依据。

桂枝助眠方 (Guizhi Zhumian prescription, GZP) 是第 6 批全国老中医药专家学术继承指导老师邓家刚教授根据长期从事临床和中药研究的实践, 结合经典名方“交泰丸”的立意, 选用肉桂、栀子 2 味药食两用药材, 用于辅助治疗心肾不交、心火偏亢所致的失眠症^[5]。前期本课题组确定了桂枝助眠方的最佳成型工艺, 并证明该方具有显著的辅助睡眠作用^[5-6]。桂枝助眠方水提取物能延长戊巴比妥钠小鼠睡眠时间且能增加戊巴比妥钠阈下剂量小鼠入睡率, 有望将桂枝助眠方开发成具有改善睡眠功效的中药保健食品。

栀子为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥果实, 性味苦寒, 具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒的功效, 主治热病心烦、湿热黄疸、淋证涩痛、血热吐衄、目赤肿痛、火毒疮疡和外伤扭挫伤^[7]; 肉桂为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮, 性味辛、甘,

大热; 归肾、脾、心、肝经; 具有补火助阳、引火归元、散寒止痛、温通经脉之功效, 用于阳痿宫冷、腰膝冷痛、肾虚作喘、虚阳上浮、眩晕目赤、心腹冷痛、虚寒吐泻、寒疝腹痛、痛经经闭等病症^[8]。传统认为肉桂醛是肉桂的主要成分, 《中国药典》2015 年版规定肉桂醛为肉桂的指标性成分^[7]。前期本课题组关于肉桂 Q-marker 预测分析表明肉桂中多酚类成分可作为肉桂 Q-marker 之一^[8], 且预试验结果表明肉桂中肉桂醛以肉桂酸的形式在血液中出现, 基于此, 选择桂枝助眠方中肉桂酸、4-甲氧基肉桂酸、香豆素作为药动学研究对象。栀子的 Q-marker 预测分析表明, 环烯醚萜、单萜苷、二萜、三萜及有机酸酯等类成分是栀子 Q-marker 的重要选择^[9]。基于此, 栀子中选择栀子苷、京尼平、京尼平苷酸、绿原酸为研究对象。本研究旨在比较分析桂枝助眠方 7 个主要成分配伍前后在食蟹猴血液中的药动学参数变化, 阐释该复方配伍的科学性, 为桂枝助眠方的 Q-marker 的确定提供进一步的实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent1290-QQQ 6470 液质联用仪、Mass Hunter B.09.00 工作站, 美国安捷伦公司; Milli-Q 超纯水制备系统, 美国 Millipore 公司; Mettler Toledo ME204 型万分之一电子分析天平, 瑞士 Mettler Toledo 公司; MEGAFUGE 1.0R 型离心机, 美国 Thermo Fisher 公司。

1.2 材料与试药

栀子, 批号 20180117, 南宁市京昌中药饮片有限公司; 肉桂, 批号 20180101, 南宁生源中药饮片有限责任公司; 经广西中医药大学药学院韦松基教授鉴定栀子为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实, 肉桂为樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。

对照品肉桂酸 (批号 A3050, 质量分数 $\geq 98\%$)、4-甲氧基肉桂酸 (批号 A3050, 质量分数 $\geq 98\%$)、香豆素 (批号 A0142, 质量分数 $\geq 98\%$)、栀子苷 (批号 A0178, 质量分数 $\geq 98\%$)、京尼平 (批号 A0516, 质量分数 $\geq 98\%$)、京尼平苷酸 (批号 A0526, 质量分数 $\geq 98\%$)、绿原酸 (批号 A0022, 质量分数 $\geq$

98%),以上对照品购于成都曼思特生物科技有限公司;乙腈、甲酸为质谱级,德国 Merck 公司;超纯水来源于 Integral 3 型超纯水系统,美国 Millipore 公司;其他试剂为分析纯。

1.3 实验动物

成年雄性食蟹猴,体质量(7.0 ± 0.5) kg,15只,广西壮族自治区防城港常春生物技术开发有限公司。实验动物使用许可证编号:SYXK(桂)2018-0004。饲养温度为23℃左右;湿度40%~60%;自由饮食饮水,并辅以清洁水果。实验方案经广西中医药大学伦理委员会批准。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters C₁₈ 柱 Acquity HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱:0~1 min,5%乙腈;1~10 min,5%~40%乙腈;10~13 min,40%~95%乙腈;13~17 min,95%乙腈;体积流量0.3 mL/min;柱温35℃;进样量2 μL。

2.2 质谱条件

采用电喷雾电离源(ESI),正、负离子切换,以多反应监测(MRM)方式同时测定。正离子模式下雾化器压力为241.317 kPa(35 psi),干燥气温度为150℃,干燥气体积流量为12 L/min,毛细管电压为3 500 V,鞘气温度为350℃,鞘气体积流量为12 L/min。负离子模式下雾化器压力为241.317 kPa(35 psi),干燥气温度为150℃,干燥气体积流量为12 L/min,毛细管电压为3 000 V,鞘气温度为350℃,鞘气体积流量为12 L/min。定量分析所用离子对:肉桂酸 m/z 146.9→102.9 [M-H]⁻(碰撞能量5 eV);4-甲氧基肉桂酸 m/z 179.0→161.1 [M+H]⁺(碰撞能量5 eV);香豆素 m/z 147.0→91.1 [M+H]⁺(碰撞能量7 eV);槲皮素(IS) m/z 301.0→150.8 [M-H]⁻(碰撞能量15 eV);槲子苷 m/z 406.1→149.0 [M+H]⁺(碰撞能量30 eV);京尼平 m/z 244.9→122.8 [M-H]⁻(碰撞能量5 eV);京尼平苷酸 m/z 373.1→122.9 [M-H]⁻(碰撞能量15 eV);绿原酸 m/z 353.1→190.9 [M-H]⁻(碰撞能量10 eV)。

2.3 对照品溶液配制

精密称取肉桂酸、4-甲氧基肉桂酸、香豆素、槲子苷、京尼平苷酸、京尼平、绿原酸对照品适量至10 mL量瓶中,加入色谱甲醇溶解至刻度线,摇匀,制成0.5 mg/mL的对照品混合溶液。精密称取

槲皮素适量,加色谱甲醇制成质量浓度为0.3 mg/mL的内标溶液。保存于4℃冰箱中备用。

2.4 供试药液制备

肉桂、槲子单味药及桂槲助眠方的配制按照文献方法^[6]进行。制成生药2.5 g/mL的混悬液。

肉桂:称取500 g肉桂粗粉,加8倍水浸泡1 h,蒸馏5 h,收集挥发油,蒸馏后的水溶液滤过,另器收集;药渣加10倍量水,提取3次,每次0.5 h,合并蒸馏后的水溶液与3次煎煮液;常压浓缩至1 mL药液相当于原药材1 g,60℃水浴蒸发水分,常压60℃干燥至恒定质量,置干燥器冷却1 h。干膏研成粉末状,使用前将肉桂挥发油混入药粉,置4℃冰箱,备用。

槲子:称取300 g槲子,加10倍量的水提取3次,每次0.5 h,第1次需先浸泡1 h。滤过,合并滤液,常压浓缩至1 mL药液相当于原药材1 g,60℃水浴蒸发水分,常压60℃干燥至恒定质量,置干燥器冷却1 h。干膏研成粉末状,置4℃冰箱,备用。

桂槲助眠方:取肉桂粗粉50 g,加8倍水浸泡1 h,蒸馏5 h,收集挥发油,蒸馏后的水溶液滤过,另器收集;取槲子粗粉300 g,用10倍量的水浸泡1 h,再加入肉桂残渣煎煮3次,每次0.5 h。滤过,合并滤液与上述蒸馏水溶液,常压浓缩至1 mL药液相当于原药材1 g,60℃水浴蒸发水分,常压60℃干燥至恒定质量,置干燥器冷却1 h。干膏研成粉末状,使用前将肉桂挥发油混入药粉,置4℃冰箱,备用。

2.5 分组及给药方案

成年雄性食蟹猴,15只,随机分为3组,分别为肉桂组、槲子组、桂槲助眠方组,实验前12 h禁食不禁水,各组均按生药2.5 g/kg的剂量ig给药。ig给药后于0.17、0.33、0.5、0.75、1、2、3、4、5、6、7、9、11 h,手臂静脉取血0.5 mL,置于加有肝素钠的EP管中,4℃下3 000 r/min离心5 min,取血浆于-80℃保存,待测。

2.6 血浆样品的处理

精密吸取300 μL血浆样品至1.5 mL的EP管中,加入10 μL内标溶液,然后加入3倍体积的甲醇-乙腈(1:1)溶液沉淀蛋白,涡旋震荡2 min,4℃下15 000 r/min离心10 min,吸取上清液,用N₂吹干,残渣加100 μL色谱甲醇复溶,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取滤液2 μL进样分析。

2.7 方法学考察及血药浓度的测定

2.7.1 专属性考察 分别取食蟹猴空白血浆、空白血浆加混标和内标、食蟹猴给药桂栀助眠方 2 h 后的血浆样品,按照“2.6”项下的处理方法进行操作。按照“2.1”及“2.2”项下的色谱条件及质谱条件进行检测分析,由图 1 可知,待测成分与内标物完全分离,内源性物质对目标化合物及内标没有干扰,说明建立的方法专属性良好。

2.7.2 线性范围及定量限 分别取 7 个主要成分肉桂酸、4-甲氧基肉桂酸、香豆素、栀子苷、京尼平、京尼平苷酸、绿原酸的对照品溶液及内标槲皮素适量,加甲醇稀释为 150 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液并

依次稀释。取食蟹猴空白血浆 200 μL , 分别加入 20 μL 的混合对照品溶液和内标溶液。按照“2.6”项下处理方法进行处理,按照“2.1”及“2.2”项下条件进样分析。以质量浓度为横坐标 (X),以待测物与内标的峰面积比值为纵坐标 (Y),进行最小二乘法(权重系数为 $1/X$) 回归运算。以信噪比 3:1 为检测限 (LOD),信噪比 10:1 为定量限 (LOQ)。得到 7 种成分的 LOQ 及 LOD、线性范围、回归方程及相关系数,见表 1。结果表明各成分在各自的线性范围内线性关系良好。

2.7.3 准确度和精密度考察 根据标准曲线的线性范围,选择各个化合物高、中、低 3 个质量浓度,

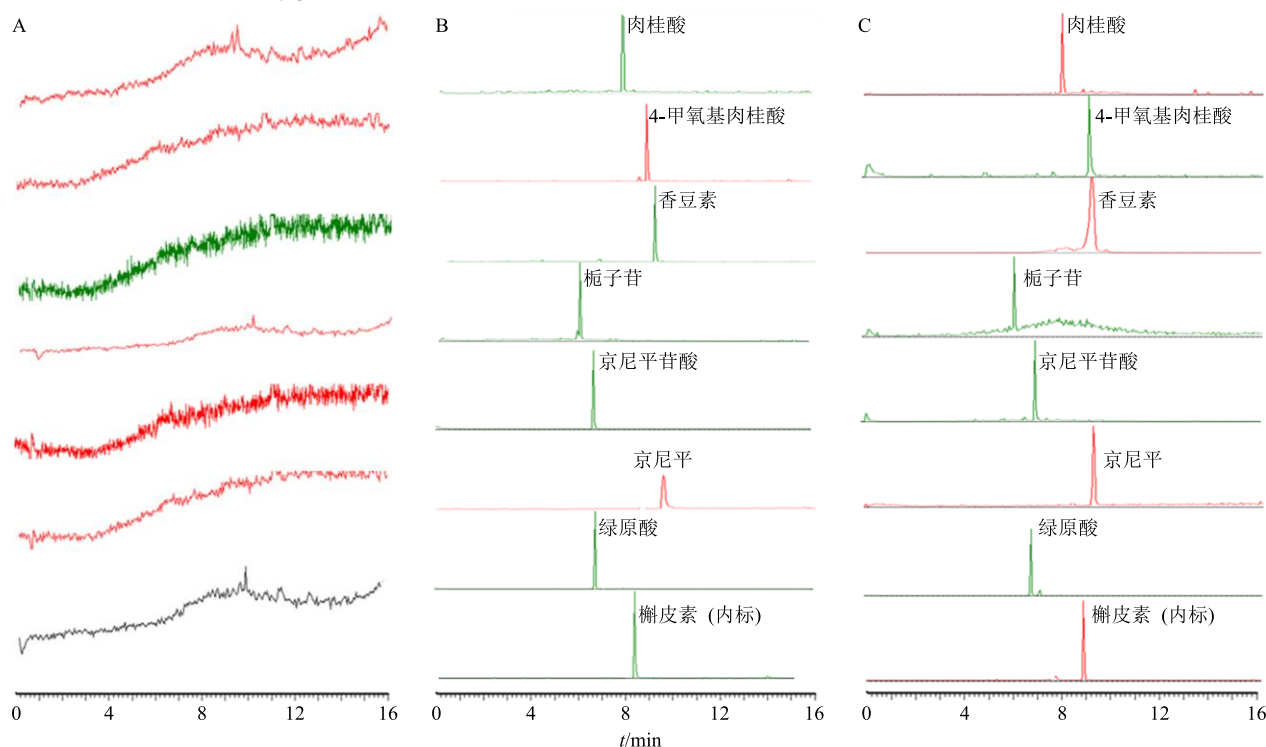


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆+对照品 (B) 和给药后 2 h 的血浆样品 (C) 的提取离子色谱图

Fig. 1 EIC of blank plasma (A), blank plasma + standard compounds (B), and plasma sample at 2 h after oral administration (C)

表 1 桂栀助眠方中 7 个主要成分的标准曲线、LOD 及 LOQ

Table 1 Calibration curves, LOD, and LOQ of seven main compounds of GZP

化合物	线性方程	r	线性范围/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOD/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
肉桂酸	$Y=3.425\ 4\ X+208.893\ 0$	0.998\ 5	20~5\ 000	6.7	22.2
4-甲氧基肉桂酸	$Y=5.998\ 1\ X-199.708\ 3$	0.999\ 0	25~300	8.9	29.8
香豆素	$Y=14.732\ 2\ X+243.661\ 3$	0.997\ 3	5~300	2.6	8.6
栀子苷	$Y=147.721\ 7\ X-7\ 195.520\ 1$	0.999\ 1	5~900	0.1	8.9
京尼平苷酸	$Y=2.233\ 6\ X-77.621\ 7$	0.999\ 1	5~100	2.1	7.1
京尼平	$Y=7.873\ 2\ X-333.496\ 7$	0.999\ 3	10~300	4.0	13.4
绿原酸	$Y=33.440\ 2\ X-1\ 924.838\ 7$	0.999\ 1	10~1\ 000	0.4	11.2

加入空白血浆制成相应质量浓度的血浆样品, 每个浓度 6 份。按照“2.6”项下的处理方法进行, 同一质量浓度每隔 1 h 测 1 次, 测定 3 次, 进行日内精密度计算; 每隔 1 天测定 1 次, 连续测定 3 d, 进行日间精密度计算。测得日内精密度 RSD 小于 10%, 日间精密度 RSD 小于 13%, 准确度在 86.9%~108.6%, 符合生物样品分析要求。

2.7.4 回收率与基质效应 配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品, 各质量浓度水平均为 6 样本, 按“2.6”项下处理后测定计算峰面积为 A ; 取空白血浆 100 μL , 按照“2.6”项下方法处理后用含低、中、高质量浓度混合对照品的甲醇溶液复溶进行检测, 计算峰面积为 B ; 用含低、中、高质量浓度混合对照品的甲醇溶液直接进样进行测定, 计算相应的峰面积为 C 。 A 和 C 的比值即绝对回收率, B 和 C 的比值为基质效应。结果表明回收率为 86%~98%, 基质效应为 88%~99%。

2.7.5 稳定性试验 配制低、中、高 3 个质量浓度的质控样品, 各质量浓度水平均为 6 样本, 按“2.6”项下处理后, 分别考察短期稳定性 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 24 h, 长期稳定性 -80 $^{\circ}\text{C}$ 放置 21 d, 冻融稳定性 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻, 反复冻融 3 次, 测定目标成分的质量浓度。经测定, 各个条件下目标成分的峰面积与零时间点的偏差在 15% 以内, 提示实验条件下血浆样品稳定性良好。

2.7.6 药动学研究 将给药后的血浆样品按照“2.6”项下进行处理后进行分析, 以随行校正曲线计算血浆药物质量浓度后将血药浓度时间数据带入 DAS 2.0 药代统计学软件求算 7 个主要成分在大鼠体内的各项药动学参数。药时曲线见图 2。主要药动学参数见表 2。

3 讨论

“药有个性之特长, 方有合群之妙用”, 中药复方是中华民族瑰宝, 经几千年来发展, 其理论体系逐步完善。中药复方强调整体理念, 遵循君臣佐使的原则, 具有多组分多靶点等优势^[10]。将药材进行配伍之后, 组成复方的各个单味药之间会出现相互作用, 药效作用较单味药有显著的提高并能够降低毒副作用。改变复方的药物生物利用度是复方发挥疗效的关键。中药复方药动学的研究是阐明复方组方原理、配伍机制^[11]及 Q-marker 确定的重要途径^[12]。

桂枝助眠方由肉桂和栀子两味药食同源的药材

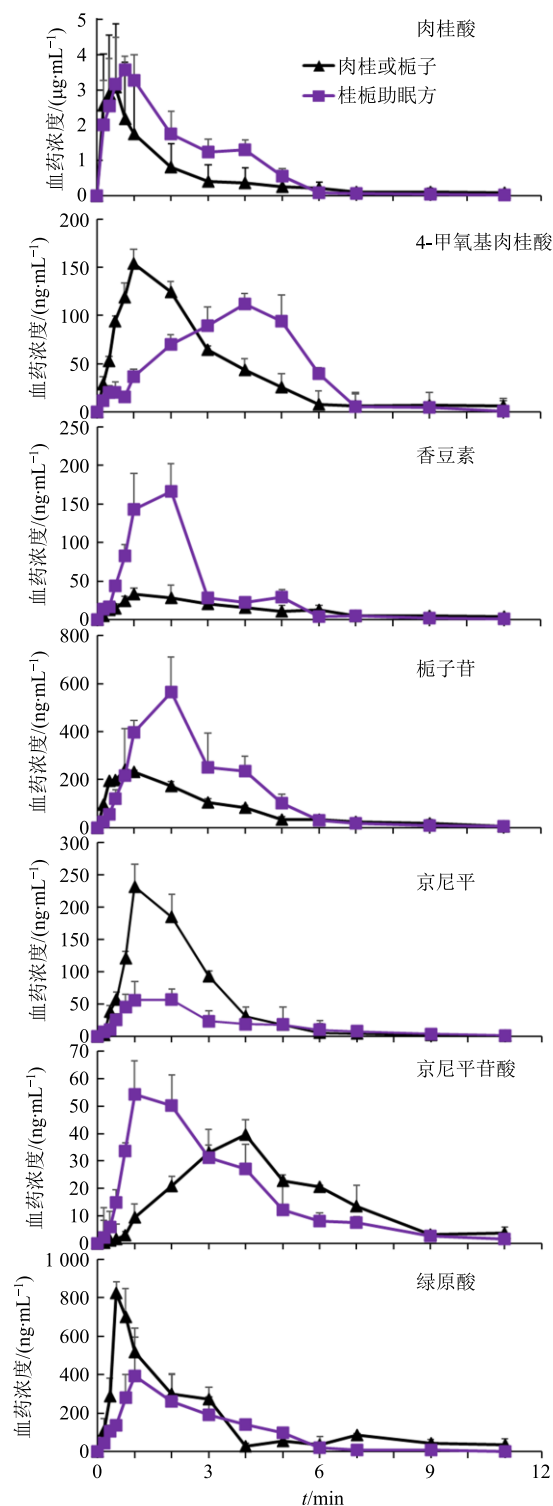


图2 肉桂、栀子、桂枝助眠方各主要成分在食蟹猴体内的药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 2 Mean concentration-time curve of main components in cynomolgus monkey plasma after oral administration of *C. cassia*, *G. jasminoides*, and GZP ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组成, 其中栀子为君药, 肉桂为反佐药。栀子具有清心除烦之功, 其有效成分栀子苷具有改善睡眠的

表 2 肉桂、栀子、桂栀助眠方配伍前后各主要成分的药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Pharmacokinetics parameters of main compounds of *C. cassia*, *G. jasminoides*, and GZP before and after compatibility ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

参数	单位	肉桂						栀子							
		肉桂酸		4-甲氧基肉桂酸		香豆素		栀子苷		京尼平		京尼平苷酸		绿原酸	
AUC _{0~t}	ng·h·L ⁻¹	4 449.24±325.12	453.72±113.26	140.77±13.68	797.36±89.64	534.39±115.47	173.87±45.31	465.81±87.21							
MRT _{0~t}	h	2.54±0.25	2.60±0.32	3.69±0.92	2.80±0.06	2.13±0.47	4.49±0.85	3.76±0.46							
t _{1/2}	h	4.23±0.43	12.67±1.65	17.89±1.34	2.11±0.98	1.08±0.04	2.04±0.08	1.75±0.52							
t _{max}	h	0.50±0.05	1.50±0.59	1.00±0.25	0.75±0.08	1.40±0.21	4.23±0.84	0.75±0.04							
C _{max}	ng·L ⁻¹	1 802.19±153.26	154.29±11.24	33.08±1.78	242.03±54.78	231.93±35.16	39.54±1.29	147.50±11.78							

参数	单位	桂栀助眠方						栀子							
		肉桂酸		4-甲氧基肉桂酸		香豆素		栀子苷		京尼平		京尼平苷酸		绿原酸	
AUC _{0~t}	ng·h·L ⁻¹	9 464.61±554.18	459.59±52.10	385.09±33.74	577.55±225.36	199.92±12.41	193.58±9.65	1 100.36±85.79							
MRT _{0~t}	h	2.15±0.15	3.80±0.21	2.31±0.85	2.70±0.65	3.03±0.04	3.09±0.26	2.52±0.17							
t _{1/2}	h	1.80±0.14	5.94±0.05	3.11±0.69	2.71±0.54	1.62±0.28	1.84±0.09	0.64±0.07							
t _{max}	h	0.75±0.24	4.10±0.96	2.02±0.52	2.60±0.08	2.40±0.14	1.01±0.02	1.04±0.08							
C _{max}	ng·L ⁻¹	3 568.90±841.01	112.04±52.18	166.01±42.14	564.70±25.03	56.57±11.45	54.35±9.54	391.10±44.27							

作用；肉桂具有补火助阳、引火归元之功，其挥发油中的桂皮醛具有镇静作用。二者配伍可用于辅助治疗心肾不交、心火偏亢所致的失眠症^[5-6]。

非人灵长类动物由于其生理学和生物进化方面与人类最为相似，所得各项指标优于啮齿类动物模型（如 SD 大鼠等），具有重要参考价值，目前已经成为药物研究常用的动物模型^[13]。本实验选择雄性食蟹猴为动物模型，分别 ig 给药肉桂、栀子、桂栀助眠方，分析比较组方配伍前后各主要成分在血浆中的药动学行为。结果表明：与肉桂、栀子单味给药组相比，桂栀助眠方中肉桂酸的药物最大血药浓度（C_{max}）、曲线下面积（AUC_{0~t}）显著升高；同时半衰期（t_{1/2}）明显减小，表明配伍后促进了肉桂酸的吸收并快速从体内消除。由 4-甲氧基肉桂酸的药时曲线及药动学参数可以看出，配伍后该化合物的半衰期（t_{1/2}）显著降低，而血药浓度达峰时间（t_{max}）明显延长，表明配伍后桂栀助眠方中该化合物的吸收速度减慢，同时促进了该化合物的体内消除，其他参数无明显变化。相比肉桂酸及 4-甲氧基肉桂酸，肉桂中香豆素的变化较大，除了 t_{1/2}、MRT_{0~t} 降低以外，t_{max}、AUC_{0~t}、C_{max} 均升高，表明配伍前后该化合物的变化较大。与桂栀助眠方相比，配伍后栀子中的栀子苷 AUC_{0~t}、C_{max}、t_{max} 均升高，表明配伍后促进了该化合物的吸收，但减缓了该化合物达到最大血药浓度的时间。而对于京尼平，由其药动

学参数可知，配伍后降低了该化合物的吸收，减缓了 t_{max}。配伍后，京尼平苷酸虽然 AUC_{0~t} 及 C_{max} 变化不大，但 t_{max} 显著降低，表明配伍促进了该化合物的快速吸收。对于绿原酸，配伍后促进了该化合物的吸收以及从体内的排泄。以上分析表明桂栀助眠方配伍前后主要成分的药时曲线、药动学参数均发生了改变，阐释了该方配伍的科学内涵。

中药复方主要有效成分的体内暴露，特别是其动力学规律，是阐明其最终“效应成分”及 PK-PD 规律的重要路径。根据 Q-marker 的概念，有效成分在血液中的药动学规律也是确定 Q-marker 的重要依据。本实验的研究结果表明肉桂和栀子配伍后存在明显的体内药动学相互作用。栀子苷为栀子的主要药效成分，有研究报道栀子苷具有改善睡眠的作用^[14]，肉桂与栀子配伍后，栀子苷的吸收显著增加，表明配伍后复方的助眠效果可能会增加，这与前期本课题组研究证明桂栀助眠方具有辅助睡眠作用^[5]的结果相一致。挥发油是肉桂的主要成分，挥发油中以肉桂醛为主，具有镇静安神的作用^[8]。肉桂醛以肉桂酸的形式在血液中体现，本研究中，与单味药相比，配伍后肉桂醛的吸收亦显著增加，从而可能会促进桂栀助眠方的助眠效果。与单味药相比，配伍前后该方主要化学成分的药动学行为均发生改变，同时与药效相关的成分如栀子苷及肉桂醛的药动行为改变显著。结合本课题组前期对肉桂

Q-marker 的预测分析^[8]及文献对栀子的 Q-marker 的预测分析^[9], 该结果可为桂栀助眠方配伍的合理性及 Q-marker 的确定提供实验依据。

参考文献

- [1] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [2] Xiao L C, Yu C Y, An G D, *et al.* A new concept on quality marker for quality assessment and process control of chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(1): 3-13.
- [3] 刘昌孝. 发展中药质量标志物 (Q-Marker) 理论方法和策略, 研究提升中药科学技术水平 [J]. 药学学报, 2019, 54(2): 185-186.
- [4] 张铁军, 白 钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [5] 杜正彩, 齐 彪, 张明哲, 等. 正交设计结合药效学实验优选桂栀助眠胶囊提取工艺研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 618-625.
- [6] 杜正彩, 齐 彪, 张明哲, 等. 桂栀助眠胶囊成型工艺研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(9): 80-84.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [8] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 20-34.
- [9] 史永平, 孔浩天, 李昊楠, 等. 栀子的化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 281-289.
- [10] 姚新生. 中药复方药物现代化、规范化、国际化战略的思考 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(5): 481-483.
- [11] 郭 倩, 田成旺, 任 涛, 等. 中药药效物质基础研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 648-654.
- [12] 张铁军, 白 钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-Marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [13] Buse E. Development of the immune system in the cynomolgus monkey: The appropriate model in human targeted toxicology? [J]. *J Immunotoxicol*, 2005, 2(4): 211-216.
- [14] 李智欣, 肖韦华, 何计国, 等. 栀子中改善睡眠成分的研究 [J]. 农产品加工 (学刊), 2006, 73(8): 79-80.