

基于大鼠类风湿性关节炎模型建立黑骨藤的 PK-PD 模型

潘洁¹, 王昌权^{1,3}, 李奎³, 袁涛³, 覃小丽³, 王爱民², 巩仔鹏¹, 郑林^{1*}

1. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室 药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550004

2. 贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004

3. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550004

摘要:目的 建立黑骨藤的药动学(PK)-药效学(PD)模型。方法 大鼠右后足足垫皮内注射 0.1 mL 完全弗氏佐剂(CFA), 建立大鼠佐剂型关节炎(AA)模型, 大鼠 ig 黑骨藤提取物(87 g/kg), 2 次/d, 连续 14 d。于末次给药后 5、15、30、45 min, 1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 经尾静脉取血, 采用液质联用法(HPLC-MS/MS)检测血浆样本中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的质量浓度, 获得药时曲线; 采用试剂盒测定血浆样本中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、类风湿因子(RF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, 获得时效曲线; 采用 WinNonLin 软件房室模型分析方法拟合黑骨藤的 PK 参数; 固定 PK 参数, 对时效关系进行拟合, 得到 PD 参数; 根据 PD 参数建立黑骨藤的 PK-PD 模型。结果 根据 WinNonLin 软件拟合黑骨藤的 PK-PD 模型符合 Inhibitory Effect Sigmoid E0 模型, 在该 PK-PD 模型下可以通过 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的血药浓度计算相应的药效值, 也可以根据药效值计算相应的血药浓度。结论 IL-1 β 、RF、TNF- α 的质量浓度与 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的血药浓度存在一定相关性。黑骨藤中的 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸可通过抑制 IL-1 β 、RF、TNF- α 分泌从而治疗类风湿性关节炎。

关键词: 类风湿性关节炎; 黑骨藤提取物; 3-O-咖啡酰基奎宁酸; 4-O-咖啡酰基奎宁酸; 5-O-咖啡酰基奎宁酸; PK-PD 模型
中图分类号: R285.5; R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)20-5194-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.20.11

Pharmacokinetic-pharmacodynamic link model of *Periploca forrestii* based on rheumatoid arthritis rat model

PAN Jie¹, WANG Chang-quan^{1,3}, LI Kui³, YUAN Tao³, QIN Xiao-li³, WANG Ai-min², GONG Zi-peng¹, ZHENG Lin¹

1. Guizhou Key Laboratory of Pharmaceutics, State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

2. Engineering Research Center for Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

Abstract: Objective To establish a pharmacokinetic (PK)-pharmacodynamic (PD) model of *Periploca forrestii*. **Methods** The right hindfoot footpad of rats were 0.1 mL complete Freund's Adjuvant (CFA) to establish adjuvant arthritis (AA) rat model. Rats were ig *P. forrestii* extract (87 g/kg, twice a day for 14 d) and blood were collected via tail vein at 5, 15, 30, 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h after the last administration. The concentrations of 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid, 5-O-caffeoylquinic acid in plasma samples were detected by HPLC-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) to obtain the drug concentration-time curve. The level of interleukin-1 β (IL-1 β), rheumatoid factor (RF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) in plasma samples were determined by kit to obtain the time-effect curve. WinNonLin software was used to fit the PK parameters of *P. forrestii*, and the time-effect relationship

收稿日期: 2020-02-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81660691, U1812403); 中央引导地方科技专项项目(黔科中引地^[2018]4006); 贵州省科技计划项目(黔科合平台人才^[2019]5660, ^[2017]5601); 贵阳市科研创新团队项目(筑科合同^[2017]30-29号); 贵州省大学生创新创业训练计划项目(2018520335)

作者简介: 潘洁(1992—), 硕士, 讲师, 主要从事中药药效物质与药代动力学研究。Tel: (0851)86908468 E-mail: 1103644970@qq.com

***通信作者** 郑林, 女, 博士, 教授, 主要从事中药药效物质基础及质量控制研究。Tel: (0851)86908468 E-mail: mailofzl@126.com

was fitted to obtain the PD parameters. According to the PD parameters, the PK-PD model of *P. forrestii* was established. **Results** The PK-PD model of *P. forrestii* according to the WinNonLin software was fitted in accordance with the Inhibitory Effect Sigmoid E0 model, in which the blood concentrations of 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid, 5-O-caffeoylquinic acid could be calculated based on the potency values, and the potency values could be calculated based on the blood concentrations. **Conclusion** There was a correlation between the concentrations of IL-1 β , RF, TNF- α and 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid and 5-O-caffeoylquinic acid. These three components in *P. forrestii* extract could inhibit the secretion of IL-1 β , RF and TNF- α to treat rheumatoid arthritis.

Key word: rheumatoid arthritis; *Periploca forrestii* Schltr. extract; 3-O-caffeoylquinic acid; 4-O-caffeoylquinic acid; 5-O-caffeoylquinic acid; PK-PD model

黑骨藤为萝藦科杠柳属植物黑龙骨 *Periploca forrestii* Schltr. 的干燥根或全株, 具有通经、活血、祛风等功效, 常用于治疗风湿关节痛、跌打损伤等, 被收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》2003年版, 是贵州少数民族常用药材^[1]。临床实践结果表明, 黑骨藤及其复方制剂对风湿病、类风湿病有较好疗效^[2]。基于黑骨藤潜在的应用开发价值, 课题组前期对其化学成分和血清药物化学进行了研究, 发现 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸是黑骨藤抗类风湿关节炎的主要有效成分^[3], 且这 3 种成分为黑骨藤主要原型入血成分^[4], 同时也可能是黑骨藤在体内发挥抗炎作用的药效物质。目前缺乏对黑骨藤药动学(PK)-药效学(PD)结合模型的研究, 因此开展黑骨藤在疾病状态下的 PK-PD 模型研究, 探讨黑骨藤有效成分在体内的动态变化与其药效消长之间的关系, 不仅与临床应用密切相关, 且能更加准确地评价黑骨藤在体内的动力学过程和产生药理效应的动态变化, 对阐明黑骨藤药效作用的物质基础和作用机制具有重要意义。本研究在大鼠佐剂性关节炎(AA)模型的基础上, 建立黑骨藤的 PK-PD 结合模型。

PK 旨在研究治疗剂量下药物在体内的浓度与时间的关系, 即药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄(ADME)及其经时变化过程; PD 旨在研究治疗剂量下药效与药物质量浓度间的关系, 即效应随着时间和质量浓度变化的动力学过程; PK 和 PD 是按时间同步进行密切相关的动力学过程, 具有临床实际意义。临床应用中许多药物的质量浓度与效应间的相关性并不明显, 因此建立 PK 与 PD 结合分析的方法^[5-7], 可从血药浓度-时间曲线和药理效应-时间曲线得到的数据来预测药物的 PD, 阐明药物在体内的过程和药效特性。PK-PD 结合模型研究不仅有助于阐明药物作用机制^[8]、确认作用靶标^[9]、评价药物相互作用^[10-11]、预测药物毒性反应^[12-13], 为药

物临床前研究提供有效的研究方法; 也可模拟临床试验^[14]、优化给药方案^[15]、指导个体化治疗^[16-17], 为新药的临床应用提供重要的理论工具。

1 材料与仪器

1.1 动物

SPF 级 SD 雄性, 大鼠, 体质量(200 $\pm$ 20) g, 购自贵州医科大学实验动物中心, 许可证号 SCXK(黔)2018-0001, 经贵州医科大学动物实验伦理委员会批准(批准号 1603125)。

1.2 药材

黑骨藤购买自贵州万东桥, 经贵州医科大学龙庆德副教授鉴定为萝藦科杠柳属植物黑龙骨 *Periploca forrestii* Schltr. 的干燥根或全株。

1.3 药品与试剂

完全弗氏佐剂(CFA, 批号 SLBW5971)购于 Sigma 公司; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、类风湿因子(RF)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)试剂盒(批号 20190720、20190720、20190428)购自南京建成生物技术有限公司; 3-O-咖啡酰基奎宁酸对照品(批号 110753-201415, 质量分数 $\geq$ 98%)、葛根素内标(批号 110752-201512, 质量分数 $\geq$ 98%)购自中国食品药品检定研究院; 4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸对照品(批号 AB7050442、AB7061002, 质量分数均 $\geq$ 98%)购自四川省维克奇生物科技有限公司。

1.4 仪器

API 5500/Q-TRAP 高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪(HPLC-MS/MS, 美国 AB 公司); Allegra 64R 低温高速离心机(美国 Beckman 公司); ZH-2 涡旋混合器(天津药典标准仪器厂); AE240 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); CQ250A-TS 超声波清洗机(上海跃进医用光学器械厂); 680 型酶标仪(上海伯乐生命医学产品有限公司); 微量移液器(德国 Eppendorf 股份公

司); DH6000B II型电热恒温培养箱(天津泰斯特仪器有限公司)。

2 方法

2.1 黑骨藤提取物的制备

取黑骨藤药材 30 kg, 加 10 倍体积的 70%乙醇提取 3 次, 分别提取 1.5、1.0、1.0 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至 1 g/mL (以生药量计), 45 °C 真空干燥, 得到黑骨藤提取物。

2.2 HPLC-MS/MS 分析方法

课题组前期建立了同时测定血浆中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 HPLC-MS/MS 分析方法, 并进行了方法学验证, 结果表明所建立的方法特异、快速、准确、灵敏, 符合生物样品测定要求^[4]。

2.2.1 色谱条件

ACE C₁₈-PFP 色谱柱(150 mm×

4.6 mm, 3 μm), 流动相为 0.1%甲酸乙腈-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~2 min, 20%~40% 0.1%甲酸乙腈; 2~5.5 min, 40%~50% 0.1%甲酸乙腈; 5.5~5.6 min, 50%~90% 0.1%甲酸乙腈; 5.6~7 min, 90%~90% 0.1%甲酸乙腈; 7~7.1 min, 90%~20% 0.1%甲酸乙腈; 体积流量 0.6 mL/min; 柱温 40 °C; 进样器温度 15 °C; 进样量 1 μL。

2.2.2 质谱条件 采用电喷雾电离源(ESI⁺), 毛细管电离电压 4.5 kV, 离子源温度 550 °C; 喷雾气与反吹气为 N₂, 离子源气体压力为 55 psi (1 psi = 6.895×10³ Pa), 扫描方式为选择二级离子监测, 质谱数据采集、处理软件为 Analyst、MultiQuant 工作站。用于定量分析 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸和内标的监测离子如表 1 所示。

表 1 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸和内标的质谱条件

Table 1 Mass spectrometric conditions of 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid, 5-O-caffeoylquinic acid and internal standard

分析物	质谱条件					
	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇能量/eV	入口电压/eV	碰撞能量/eV	出口电压/eV
3-O-咖啡酰基奎宁酸	353.17	191.04	-51	-7	-19	-8
4-O-咖啡酰基奎宁酸	353.21	173.10	-80	-5	-21	-10
5-O-咖啡酰基奎宁酸	353.19	191.03	-70	-7	-24	-7
葛根素	415.10	266.90	-50	-11	-45	-20

2.3 黑骨藤提取物在 AA 模型大鼠体内的 PK 研究

在第 1 天和第 7 天于大鼠右后足足垫皮内注射 0.1 mL CFA, 制备 AA 模型^[18-19]。第 2 天大鼠 ig 黑骨藤提取物(87 g/kg), 2 次/d, 连续 14 d, 于末次给药后 5、15、30、45 min, 1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 经尾静脉取血 0.5 mL 置于含枸橼酸钠的试管中, 离心后取 100 μL 血浆样品, 加甲醇 100 μL, 依次加入 50 μL 葛根素内标溶液(20.2 ng/mL)、50 μL 10%甲酸水溶液, 涡旋混合 1 min; 加甲醇 800 μL, 涡旋混合 5 min, 超声 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min; 取上清液置试管中, 于 37 °C 氮气吹干。溶解于 200 μL 初始流动相中, 涡旋混合 5 min, 超声 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进样。采用已建立的 HPLC-MS/MS 法测定不同时间点血浆中 3 个黑骨藤提取物有效成分的血药浓度, 利用 WinNonLin 软件计算 PK 参数。

2.4 黑骨藤提取物在 AA 模型大鼠体内的 PD 研究

用试剂盒测定不同时间血浆中 IL-1β、RF、TNF-α 水平, 结合血药浓度数据, 分别以 IL-1β、

RF、TNF-α 为药效指标, 绘制有效成分 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的血药浓度-时间和效应时间曲线图。

2.5 黑骨藤提取物中 3 个有效成分在效应室浓度的拟合

将黑骨藤提取物 3 个有效成分的血药浓度-时间数据导入 WinNonLin 软件, 采用 semi-compartmental modeling 对血药浓度-时间进行拟合, 获得 3 个有效成分在效应室的浓度-时间数据, 然后分别以 IL-1β、RF、TNF-α 为药效指标, 绘制 3 个有效成分的效应室浓度-效应曲线。

2.6 黑骨藤提取物中 3 个有效成分 PK-PD 结合模型的建立

固定 PK 参数, 分别以 IL-1β、RF、TNF-α 为药效指标, 采用 WinNonLin 软件中的 PK-PD model 对时间-效应关系进行拟合, 得到 PD 参数; 获得黑骨藤提取物中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 结合模型参数, 建立 PK-PD 结合模型。

3 结果

3.1 黑骨藤提取物中 3 个有效成分在 AA 模型大鼠体内的 PK 研究

黑骨藤中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的主要 PK 参数见表 2。AA 模型大鼠血浆中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的血药浓度-时间关系经 PK 房室模型拟合后,符合二室房室模型。

3.2 黑骨藤提取物中 3 个有效成分在 AA 模型大鼠体内的 PD 研究

以 RF、TNF- α 、IL-1 β 为药效指标,黑骨藤提取物中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的血药浓度-时间和效应间的变化如图 1~3 所示,血药浓度达峰时间约为 1 h, TNF- α 、RF、IL-1 β 的药物效应达峰时间较血药浓度达峰时间长。

表 2 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸在大鼠体内的 PK 参数 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 PK parameters of 3-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid and 5-O-caffeoylquinic acid in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

参数	单位	3-O-咖啡酰基奎宁酸		4-O-咖啡酰基奎宁酸		5-O-咖啡酰基奎宁酸	
AUC	ng·h·L ⁻¹	879.00±	213.10	447.93±	65.74	659.88±	112.26
K10_HL	h	3.51±	1.31	3.06±	0.98	5.37±	2.06
CL_F	mL·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	161 833.61±	34 920.65	117 874.64±	15 976.78	78 736.28±	14 134.18
V2_F	mL·kg ⁻¹	764 690.05±	312 179.07	604 577.01±	267 368.40	912 360.38±	650 802.43
t _{max}	h	1.15±	0.29	1.08±	0.09	1.16±	0.29
C _{max}	ng·L ⁻¹	115.02±	18.94	52.40±	2.51	56.86±	11.08

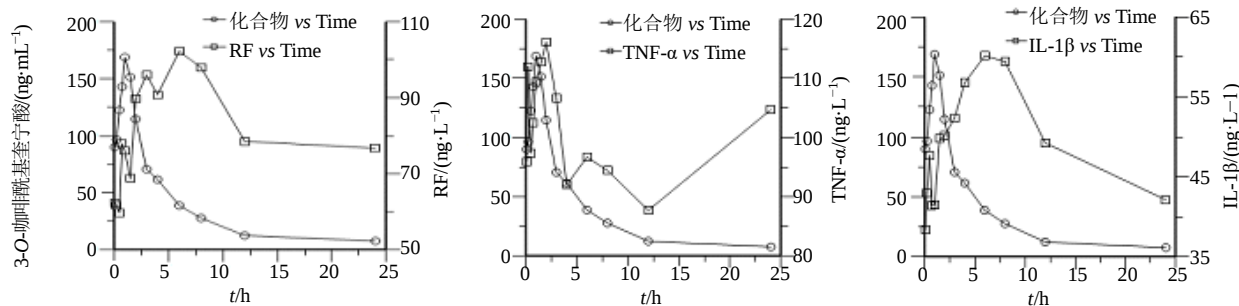


图 1 3-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的血药浓度-时间和效应曲线 ($n=8$)

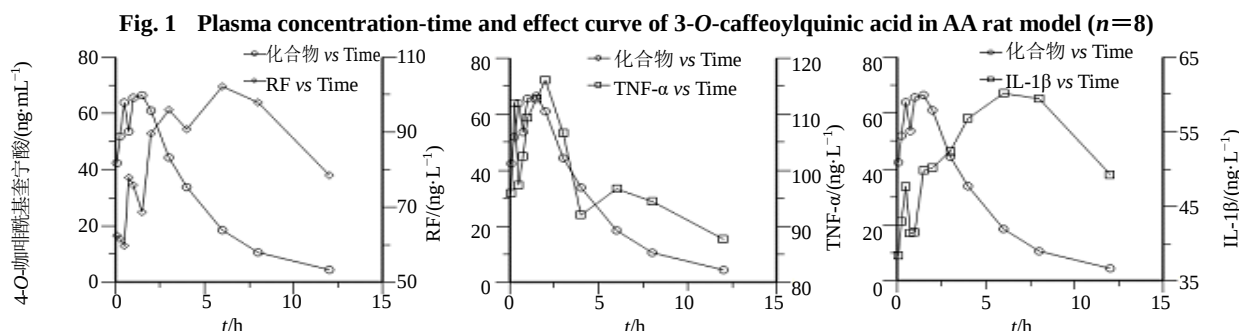


图 2 4-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的血药浓度-时间和效应曲线 ($n=8$)

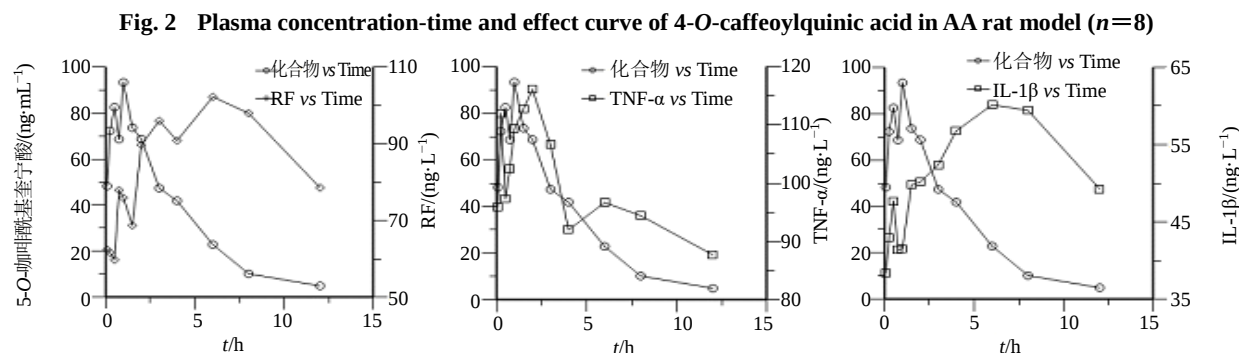


图 3 5-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的血药浓度-时间和效应曲线 ($n=8$)

Fig. 3 Plasma concentration-time and effect curve of 5-O-caffeoylquinic acid in AA rat model ($n=8$)

3.3 黑骨藤提取物中 3 个有效成分在效应室浓度的拟合

分别以 RF、TNF- α 、IL-1 β 为药效指标, 黑骨藤提取物中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸在效应室的浓度-效应变化如图 4~6 所示, 曲线表现为逆时针滞后环。

3.4 黑骨藤中 3 个有效成分的 PK-PD 结合模型的建立

分别以 RF、TNF- α 、IL-1 β 为药效指标, 黑骨藤提取物中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 参数如表 3~5 所示, TNF- α 的 K_{e0} 值比其他指标的值低。

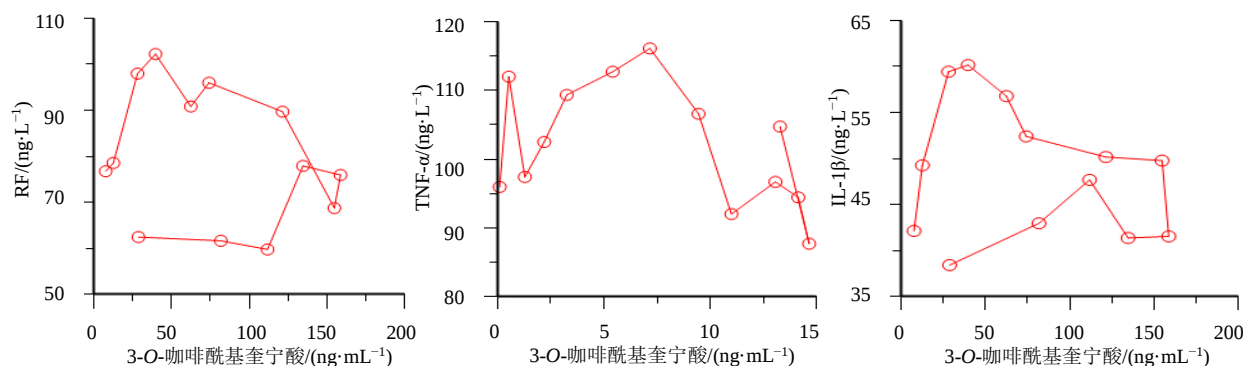


图 4 3-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的效应室浓度-效应曲线 ($n=8$)

Fig. 4 Concentration in effect compartment and effect curve of 3-O-caffeoylquinic in AA rat model ($n=8$)

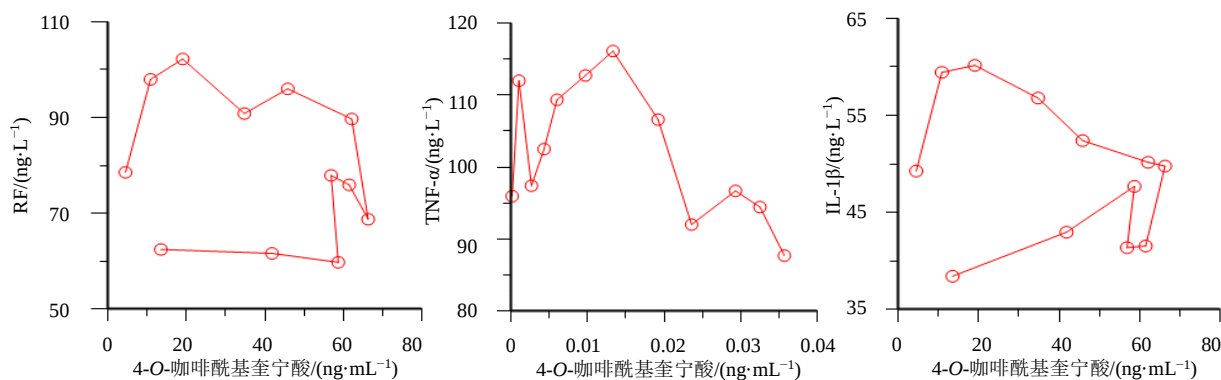


图 5 4-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的效应室浓度-效应曲线 ($n=8$)

Fig. 5 Concentration in effect compartment and effect profiles of 4-O-caffeoylquinic in AA rat model ($n=8$)

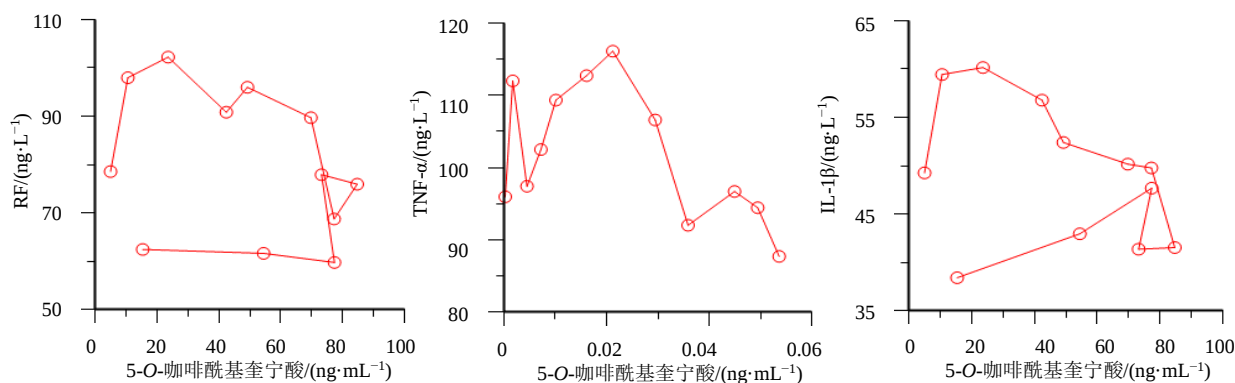


图 6 5-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的效应室浓度-效应曲线 ($n=8$)

Fig. 6 Concentration in effect compartment and effect profiles of 5-O-caffeoylquinic in AA rat model ($n=8$)

表 3 3-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 参数 (n=8)

Table 3 PK-PD parameters of 3-O-caffeoylquinic (n=8)

药效指标	E_0	IC_{50}	K_{e0}	I_{max}	Gamma
TNF- α	106.814 8	1.58×10^{-7}	0.027 7	—	—
RF	84.235 1	8.11×10^{-7}	9.999 3	51.785 6	—
IL-1 β	52.986 5	8.12×10^{-7}	9.999 6	—	—

表 4 4-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 参数 (n=8)

Table 4 PK-PD parameters of 4-O-caffeoylquinic (n=8)

药效指标	E_0	IC_{50}	K_{e0}	I_{max}	Gamma
TNF- α	107.671 6	0.253 2	0.000 1	—	—
RF	88.660 2	369.651 9	9.999 8	—	—
IL-1 β	54.390 1	369.813 0	9.999 5	—	—

表 5 5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 参数 (n=8)

Table 5 PK-PD parameters of 5-O-caffeoylquinic (n=8)

药效指标	E_0	IC_{50}	K_{e0}	I_{max}	Gamma
TNF- α	107.697 1	3.94×10^{-10}	0.000 1	—	—
RF	89.511 7	4.58×10^{-7}	9.998 5	98.531 0	—
IL-1 β	52.280 6	1.19×10^{-7}	9.997 2	—	4.404 6

当 RF 为药效指标时, 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 模型分别为: $E=84.235\ 1-51.785\ 6\ C/(C+8.11 \times 10^{-7})$, $E=88.660\ 26[1-C/(C+369.651\ 9)]$, $E=89.511\ 7-98.531\ 0\ C/(C+4.58 \times 10^{-7})$, 式中 E 为效应值, C 为药物在效应室中的浓度。

当 TNF- α 为药效指标时, 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 模型分别为: $E=106.814\ 8[1-C/(C+1.58 \times 10^{-7})]$, $E=107.671\ 6[1-C/(C+0.253\ 2)]$, $E=107.697\ 1[1-C/(C+3.94 \times 10^{-10})]$ 。

当 IL-1 β 为药效指标时, 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 PK-PD 模型分别为: $E=52.986\ 5[1-C/(C+8.12 \times 10^{-7})]$, $E=54.390\ 1[1-C/(C+369.813\ 0)]$, $E=52.280\ 6[1-4.404\ 6\ C/(C+1.19 \times 10^{-7})]$ 。

基于以上 PK-PD 模型, 可以通过 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的血药浓度计算相应的药效值, 也可以根据药效值计算相应的血药浓度。

4 讨论

中药大多通过多成分、多指标、多靶点发挥药效作用, 而量化药效指标是建立 PK-PD 模型的关键, 通常只有具备明显量效关系的中药才能建立良好的 PK-PD 结合模型。选择与中药各成分有显著量效关系的药效指标, 对代表成分 PK-PD 结合模型的建立有重要作用^[20]。PK 与 PD 并不是完全同步变化

的, 即靶部位药物浓度与血药浓度有时并不一致, 因此, 研究 PK-PD 相互关系、建立两者相关性模型, 对临床合理用药、研究药物体内过程和作用机制具有重要意义^[21]。

本研究以类风湿性关节炎模型中的 AA 模型为研究对象, 通过 WinNonlin 软件将血药浓度-时间数据进行拟合, 获得黑骨藤中 3 个有效成分在效应室的浓度-时间数据, 使黑骨藤中 3 个有效成分与药效指标 (IL-1 β 、RF、TNF- α) 间呈现明显的量效关系, 最终建立黑骨藤中 3 个有效成分的 PK-PD 结合模型。黑骨藤的 PK-PD 模型结果表明, 以 RF、TNF- α 、IL-1 β 为药效指标时, 3-O-咖啡酰基奎宁酸、4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的 IC_{50} 较低, 提示黑骨藤可能通过多种成分相互协同作用发挥抗类风湿关节炎作用, 以黑骨藤中单一成分进行 PK 和 PD 研究并不能完全反映黑骨藤整体的真实情况。3-O-咖啡酰基奎宁酸, 4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸在 AA 模型大鼠体内的血药浓度-时间和效应浓度之间的变化图、效应室的效应-浓度变化图、PK-PD 模型的结果表明, 血药浓度达峰时间为 1 h, TNF- α 、RF、IL-1 β 的药物效应达峰时间较血药浓度达峰时间长, 存在药理效应滞后于血药浓度现象, 因此效应-浓度曲线表现为逆时针滞后环; 实验拟合的 PK-PD 参数中 TNF- α 的 K_{e0} 值比其他指标的值低, 表明 TNF- α 的药物效应滞后于药物浓度的时间。因此, 黑骨藤 PK-PD 结合模型提示黑骨藤可能通过 AA 大鼠中 3-O-咖啡酰基奎宁酸、

4-O-咖啡酰基奎宁酸、5-O-咖啡酰基奎宁酸的代谢增加,也可能通过AA大鼠中炎症因子RF、TNF- α 、IL-1 β 水平的降低来发挥抗类风湿关节炎作用。本研究通过建立黑骨藤的PK-PD结合模型,揭示了黑骨藤的药效物质基础及其可能的作用机制。

参考文献

- [1] 李晶晶, 代云龙, 杨耀敏, 等. 黑骨头抗炎镇痛作用的实验研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2008, 9(1): 35-36.
- [2] 甘秀海, 周欣, 陈华国, 等. 黑骨藤中极性部位化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3225-3228.
- [3] 王霞, 杨建, 宋菲, 等. 苗药黑骨藤中咖啡酰基奎宁酸类部位对人类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞MH7A增殖及炎症因子分泌的影响 [J]. 中国药房, 2017, 28(28): 3949-3951.
- [4] 覃小丽, 陈浩, 郑林, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS技术的黑骨藤血清药物化学分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(6): 125-129.
- [5] Singh J A, Saag K G, Bridges S L, et al. 2015 American college of rheumatology guideline for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(1): 1-26.
- [6] Maxwell L, Singh J A, Singh, et al. Abatacept for rheumatoid arthritis: A cochrane database of systematic reviews [J]. *J Rheumatol*, 2010, 37(2): 234-245.
- [7] Singh J A, Noorbaloochi S, Singh G, et al. Golimumab for rheumatoid arthritis: The cochrane database of systematic reviews [J]. *J Rheumatol*, 2010, 37(6): 1096-1104.
- [8] Bueno L. Semi-mechanistic modelling of the tumour growth inhibitory effects of LY2157299, a new type I receptor TGF-beta kinase antagonist, in mice [J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(1): 142-150.
- [9] Salphati L. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth inhibition and biomarker modulation by the novel phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor GDC-0941 [J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38(9): 1436-1442.
- [10] Koch G. Modeling of tumor growth and anticancer effects of combination therapy [J]. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*, 2009, 36(2): 179-197.
- [11] Sung J, H A Dhiman, M L Shuler, et al. A combined pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) model for tumor growth in the rat with UFT administration [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(5): 1885-1904.
- [12] Cho H Y, Blum R A, Sunderland T, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of a copper-selective chelator (TETA) in healthy adults [J]. *J Clin Pharmacol*, 2009, 49(8): 916-928.
- [13] Soto E. Predictive ability of a semi-mechanistic model for neutropenia in the development of novel anti-cancer agents: Two case studies [J]. *Invest New Drugs*, 2011, 29(5): 984-995.
- [14] Etterly G J. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling and simulation of neutropenia during phase I development of liposome-entrapped paclitaxel [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(18): 5856-5863.
- [15] Wang S Q, Zhou J, M Gallo, et al. Demonstration of the equivalent pharmacokinetic/pharmacodynamic dosing strategy in a multiple-dose study of gefitinib [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(6): 1438-1447.
- [16] Hamberg A K. A PK-PD model for predicting the impact of age, CYP2C9, and VKORC1 genotype on individualization of warfarin therapy [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2007, 81(4): 529-538.
- [17] Wang S, Guo P, Wang X, et al. Preclinical pharmacokinetic/pharmacodynamic models of gefitinib and the design of equivalent dosing regimens in EGFR wild-type and mutant tumor models [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(2): 407-417.
- [18] Song H P, Li X, Yu R, et al. Phenotypic characterization of type II collagen-induced arthritis in Wistar rats [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(4): 1483-1488.
- [19] Tanwar A, Chawla R, Ansari M M, et al. In vivo anti-arthritis efficacy of *Camellia sinensis* (L.) in collagen induced arthritis model [J]. *Biomed. Pharmacother*, 2017, 87: 92-101.
- [20] 浦仕彪, 王伽伯, 赵艳玲, 等. 中药量效关系研究方向的探讨 [J]. 解放军药学学报, 2013(2): 164-166.
- [21] 马潇苒, 李无阴. 中药治疗类风湿关节炎的研究进展 [J]. 风湿病与关节炎, 2018, 7(10): 66-70.