

## 基于生理药动学模型预测乌头碱在人体的药动学行为

李晓萌<sup>1</sup>, 苏布达<sup>1</sup>, 黄志伟<sup>2</sup>, 宁莉<sup>3\*</sup>, 李遇伯<sup>1\*</sup>

1. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617

2. 复旦大学附属华山医院 I 期临床研究中心, 上海 200040

3. 天津医科大学第二医院 检验科, 天津 300211

**摘要:** **目的** 建立乌头碱大鼠生理药动学模型, 并外推至中国健康成年男性, 预测乌头碱在人体内的药动学行为。方法 查阅文献获取乌头碱理化、生化参数以及药动学数据, 采用 GastroPlus 软件构建并验证大鼠生理药动学模型, 比较预测与观测的药时曲线及主要药动学参数, 并进一步外推至中国健康成年男性。**结果** 构建的大鼠生理药动学模型其主要药动学参数达峰浓度 ( $C_{max}$ )、达峰时间 ( $T_{max}$ )、药时曲线下面积 ( $AUC_{0-t}$ )、 $AUC_{0-inf}$  预测值与观测值之比均在 0.5~2 倍误差范围内, 且预测值与实验值的平均折叠误差以及绝对平均折叠误差均可接受范围内, 并利用已构建成功的大鼠生理药动学模型外推至中国健康成年男性预测其药动学行为。**结论** 成功构建大鼠生理药动学模型, 并且在此基础上外推至人, 预测人体药动学行为, 为临床上高效安全使用乌头碱提供依据, 同时为含乌头碱类中药的风险评估提供思路。

**关键词:** 乌头碱; 生理药动学模型; 种属外推; 药动学行为; 安全评估

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)02-0425-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.02.09

## Predicting pharmacokinetic behavior of aconitine in humans based on physiological pharmacokinetic model

LI Xiao-meng<sup>1</sup>, SU Bu-da<sup>1</sup>, HUANG Zhi-wei<sup>2</sup>, NING Li<sup>3</sup>, LI Yu-bo<sup>1</sup>

1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Phase I Clinical Research Center, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

3. Department of Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

**Abstract: Objective** To establish a physiological pharmacokinetic model of aconitine in rats and extrapolate it to healthy Chinese adult males to predict the pharmacokinetic behavior of aconitine in humans. **Methods** The literature was reviewed to obtain physicochemical and biochemical parameters as well as pharmacokinetic data of aconitine, and GastroPlus software was used to construct and validate a physiologically based pharmacokinetic model in rats. The predicted and observation pharmacokinetic curves and major pharmacokinetic parameters were compared. And further extrapolate to healthy Chinese adult males. **Results** The main pharmacokinetic parameters of the constructed rat physiological pharmacokinetic model,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  and  $AUC_{0-inf}$  were within 0.5–2 times the error range of the predicted and observation values, and the mean collapse error and absolute mean collapse error of the predicted and experimental values were within acceptable limits. The pharmacokinetic behaviors were extrapolated to healthy Chinese adult males. **Conclusion** The physiological pharmacokinetic model of rats was successfully constructed and extrapolated to humans to predict the pharmacokinetic behavior in humans, which provides a basis for the efficient and safe use of aconitine in clinical practice, as well as an idea for the risk assessment of aconitine-containing Chinese medicines.

**Key words:** aconitine; physiological pharmacokinetic model; species extrapolation; pharmacokinetic behavior; safety assessment

乌头碱是具有很高药用价值的生物活性物质, 乌头属植物中<sup>[1]</sup>。作为传统中药材, 该属植物多具  
多存在于川乌、草乌、附子、雪上一支蒿等毛茛科 有祛风除湿、温经止痛的功效, 可用于治疗风寒湿

收稿日期: 2022-08-24

基金项目: 国家中医药管理局青年岐黄学者支持计划

作者简介: 李晓萌 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药毒性研究。E-mail: lixiaomeng199803@163.com

\*通信作者: 宁莉 (1979—), 副主任医师, 硕士, 研究方向为检验医学及用药安全。E-mail: n\_l\_ren@126.com

李遇伯 (1978—), 博士生导师, 教授, 主要从事中药安全性评价研究。E-mail: yuboli1@163.com

痹、关节疼痛等疾病<sup>[2]</sup>，现代药理学研究表明乌头碱成分在抗病毒、抗炎镇痛<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、抗风湿<sup>[5]</sup>等方面具有显著的活性。含乌头碱类成分的中药已广泛应用于临床。但乌头碱分子结构在乙酰化和芳酰化情况下具有强烈的毒性，这也是乌头属植物多为有毒中药的主要原因<sup>[6]</sup>。乌头碱成分存在多种毒性作用，如心脏毒性、神经毒性以及肝毒性等<sup>[7]</sup>，而且由于乌头碱的治疗剂量和中毒剂量极为接近，很容易引起中毒甚至死亡，服用 0.2 mg 可引发中毒，2~5 mg 会导致死亡事件的发生<sup>[8]</sup>。目前乌头属中药使用过程中中毒事件时有发生。但因其治疗窗极窄，目前在临床上几乎没有关于乌头碱的临床研究数据。

在毒性测试和风险评估过程中，动物常代替人类进行相关实验，在大多数情况下，由动物实验获得的人类可接触限值是可接受的，但动物与人类之间存在很多不确定性。目前生理药动学 (physiologically based pharmacokinetic, PBPK) 模型已被越来越多地应用于减少风险评估和毒性测试的不确定性，同时可以减少动物使用和避免人类接触<sup>[9-10]</sup>。世界卫生组织已提出了风险评估 PBPK 模型应用指南 (WHO2010)<sup>[11]</sup>。目前已有学者利用 PBPK 模型构建了有毒化合物不同给药方式<sup>[12]</sup>、不同性别<sup>[13]</sup>的动物模型用于评估人类健康风险。PBPK 模型的概念是在 1937 年由 Teorell 提出的<sup>[14]</sup>，但由于当时计算机技术等方面限制，PBPK 近年来才形成初步的模型。PBPK 模型主要输入物种生理参数、化合物生化参数以及相应的理化参数、药动学数据等，基于质量守恒规律，将各个组织器官作为不同房室通过血液流向串联成为整体的循环系统的机制驱动模型<sup>[15]</sup>。PBPK 模型可以描述药物吸收、代谢、分布、排泄等过程，并以此预测药物在体内的药动学曲线<sup>[16]</sup>。相比传统的房室模型，PBPK 模型涵盖更多的信息，可以进行深入了解化合物的特性，同时允许药物在动物和人类进行药动学特征的种间外推。此外 PBPK 模型还可以预测不同年龄阶段、不同疾病状态人群的药动学曲线<sup>[17-18]</sup>，这对新药研究及有毒药物的首次人体临床实验具有重要的指导意义。

本研究拟建立并验证大鼠 iv 及 ig 乌头碱的 PBPK 模型，模拟大鼠给药后的药时曲线及组织分布，并外推至中国健康成年男性，为临床上如何安全并快速有效地使用含乌头碱类药物提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 软件

GastroPlus<sup>TM</sup> (版本 9.8, Simulations Plus, Inc.); Web Plot Digitizer (version 4.5, 2021, <https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>)。

### 1.2 乌头碱的理化特征参数和药动学参数的收集

乌头碱的理化参数、生化参数和药动学数据通过“中国知网”“万方医学网”“维普数据库”“Web of Science”“PubMed”数据库，以“乌头碱”“生化参数”“理化参数”以及“药动学”为主题词进行检索，收集理化、生化参数以及物种体质量、给药剂量、给药途径及对应药时曲线数据。当文献中没有出示不同时间点的浓度值时，利用 WebPlotDigitizer (<https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>) 对图形进行数据提取 (所有的数据均提取平均值)。并根据每个独立数据的用途将其分为“建模集”和“验证集”。理化参数见表 1。

表 1 乌头碱 PBPK 模型的主要参数

Table 1 Main parameters of aconitine PBPK model

参数	单位	大鼠	成人
体质量	kg	0.2	60
解离常数 (pKa)	—	7.58 <sup>a</sup>	7.58 <sup>a</sup>
pH 9.32 的溶解度	mg·mL <sup>-1</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>
pH 7 的油水分配系数 (logD)	—	1.61 <sup>a</sup>	1.61 <sup>a</sup>
表观渗透率 ( $P_{app}$ )	cm·s <sup>-1</sup>	7×10 <sup>-7</sup> b <sup>[19]</sup>	7×10 <sup>-7</sup> b <sup>[19]</sup>
血浆游离分数 (fup)	%	76.1 b <sup>[20]</sup>	34.56 <sup>a</sup>
全血血浆浓度比 (Rbp)	—	0.77 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>
肾清除率 (CL <sub>kidney</sub> )	L·h <sup>-1</sup>	0.216 <sup>c1</sup>	14.760 <sup>c2</sup>
肝清除率 (CL <sub>liver</sub> )	L·h <sup>-1</sup>	0.328 <sup>a</sup>	22.537 <sup>c2</sup>

a-ADME 预测及优化后的值；b-由查阅文献得到；c1-采用  $CL_{total} = CL_{kidney} + CL_{liver}$  计算；c2-采用  $CL_{t human} = CL_{t animal} \times (BW_{human}/BW_{animal})^{0.75}$  计算

a-ADME predicted and optimized values; b-obtained from literature review; c1-calculated by  $CL_{total} = CL_{kidney} + CL_{liver}$ ; c2-calculated by  $CL_{t human} = CL_{t animal} \times (BW_{human}/BW_{animal})^{0.75}$

药物组织-血液分配系数 (tissue to blood partition coefficients,  $K_p$ ) 是组织中药物浓度与血浆中药物浓度的比值，是药物分布重要的参数。 $K_p$  采用公式 (1) 计算<sup>[21]</sup>。

$$K_p = AUC_{tissue(0-t)} / AUC_{plasma(0-t)} \quad (1)$$

$AUC_{tissue(0-t)}$  是 0~t 时间段内组织药物浓度曲线下面积； $AUC_{plasma(0-t)}$  是 0~t 时间段内血浆药物浓度曲线下面积

假设大鼠与人类具有相同  $K_p$  数据值<sup>[22]</sup>。根据文献数据<sup>[23]</sup>和公式 (1) 设置心、肝、肾、脑等组织

的  $K_p$  值。其他组织  $K_p$  值采用软件内置 Lukacova (Lukacova with Lysosomes) 公式计算。不同组织的  $K_p$  值见表 2。

表 2 雄性大鼠不同组织的  $K_p$  数据

Table 2  $K_p$  data of different tissues of male rats

组织	$K_p$
肺	2.09
脂肪	0.93
肌肉	1.42
肝	14.29
高级房室吸收和转运模型	0
脾	1.63
心	1.46
脑	0.56
肾	6.13
皮肤	1.30
再生组织	1.99
红骨髓	1.07
黄骨髓	0.94
其他组织	1.63

系统清除率普遍认为是肾清除率、肝清除率以及胆汁清除率之和。根据以往的研究报道乌头碱的胆汁排泄较低<sup>[24]</sup>，因此忽略胆汁清除的影响。对文献中静脉给药的药动学数据<sup>[24]</sup>进行非房室分析得到系统总清除率，肝清除率为优化后的清除率，肾清除率为系统总清除率与肝清除率之差，见公式 (2)。

$$CL_{total} = CL_{kidney} + CL_{liver} \quad (2)$$

$CL_{total}$  为系统总清除率， $CL_{kidney}$ 、 $CL_{liver}$  分别为肾清除率和肝清除率

因此，0.2 kg 雄性大鼠的系统总清除率为 0.547 L/h，肝清除率为 0.328 L/h，肾清除率为 0.216 L/h。

人体清除率由生长异速方程<sup>[25]</sup>公式 (3) 换算：

$$CL_{t\ human} = CL_{t\ animal} \times (BW_{human}/BW_{animal})^{0.75} \quad (3)$$

$CL_{t\ human}$ 、 $CL_{t\ animal}$  分别为人体总清除率、动物清除率； $BW_{human}$ 、 $BW_{animal}$  分别是人和动物体质量

以上参数作为搭建乌头碱 PBPK 模型的基本参数。

### 1.3 模型的建立与评价

**1.3.1 大鼠 PBPK 模型的建立及验证** 将收集与预测的参数整合输入 GastroPlus 软件中，按照以下步骤展开模型构建。

(1) 建立 iv 给药 PBPK 模型：选择 0.200 kg 雄性大鼠 iv 0.05 mg/kg 的数据为建模数据，确定大鼠

系统总清除率以及肝、肾清除率。

(2) 建立 ig 给药 PBPK 模型：在 iv 给药模型基础上进一步建立 ig 给药 PBPK 模型。选择 0.275 kg 雄性大鼠 ig 0.5 mg/kg 的数据为 ig 给药模型数据。

(3) 模型评估标准：主要药动学参数的预测值与观测值之比在 0.5~2 之内<sup>[26]</sup>；根据平均折叠误差值 (average fold error, AFE) 和绝对平均折叠误差值 (absolute average fold error, AAFE) 评价 PBPK 模型的准确度和可靠性，见公式 (4) 和 (5)。当  $AFE < 2$ 、 $AAFE < 3$  说明模型拟合良好<sup>[27]</sup>。

$$AFE = 10^{\frac{1}{n} \sum \log \left( \frac{Predicted_i}{Observed_i} \right)} \quad (4)$$

$$AAFE = 10^{\frac{1}{n} \sum \left| \log \left( \frac{Predicted_i}{Observed_i} \right) \right|} \quad (5)$$

$n$  是浓度时间点的数量； $Predicted_i$  和  $Observed_i$  是给定时间点的预测与观测浓度

(4) 模型验证：选用验证集数据对上述 PBPK 模型进行验证。

**1.3.2 外推至成人 PBPK 模型的建立** 将大鼠 PBPK 模型进行种属外推建立人体 PBPK 模型。构建中国健康成年男性 (平均年龄为 30 岁、体质量为 60 kg) 空腹状态下的 PBPK 模型。由于乌头碱的剧毒性，选择构建成人口服给药 PBPK 模型，其剂量按照正常成人最小中毒剂量 0.005 1 mg/kg<sup>[28]</sup>。

此外，根据公式 (3) 可得： $CL_{t\ human}$  为 37.297 L/h， $CL_{liver}$  为 22.537 L/h， $CL_{kidney}$  为 14.760 L/h。

**1.3.3 PBPK 模型预测乌头碱体内组织分布** 建模数据集、验证数据集大鼠给药后大鼠主要组织器官的浓度-时间曲线以及预测中国成年男性单次给药 0.005 1 mg/kg 后乌头碱在主要组织器官浓度-时间曲线。

### 1.4 参数敏感性分析

小肠膜有效渗透率 ( $P_{eff}$ )、 $\log D$ 、 $f_{up}$ 、 $R_{bp}$ 、肝清除率、肾清除率分别是参与药物的吸收、分布、代谢、排泄等过程的重要参数。在 PBPK 模型中这些参数对于模拟药时曲线的吸收相、分布相、消除相具有重要的意义。因此，选择  $\log D$ 、 $P_{eff}$ 、 $f_{up}$ 、 $R_{bp}$ 、肝清除率、肾清除率等参数进行敏感性分析。归一化灵敏度系数 (NSC) 使用公式 (6) 计算<sup>[29]</sup>。

$$NSC = \Delta r / r \times p / \Delta p \quad (6)$$

$r$  是模型输出值； $\Delta r$  是参数变化 1% 时模型输出的变化量； $p$  是目标参数； $\Delta p$  代表参数变化 1% 的变化量

NSC 的相对影响大小分类标准为低影响： $|NSC| < 20\%$ ；中影响： $20\% \leq |NSC| < 50\%$ ；高影响：

|NSC|≥50%。

## 2 结果

### 2.1 大鼠 PBPK 模型

**2.1.1 模型建立** 首先建立 0.200 kg 雄性大鼠空腹生理状态下 iv 给药的 PBPK 模型, 该 PBPK 模型每个隔室代表 1 个组织, 分别是心脏、肝脏、肾脏、肺、脑、脂肪、皮肤、肌肉等组织。药物的吸收模型选择 GastroPlus 软件内设的高级房室吸收和转运

(advanced compartmental absorption and transit, ACAT) 模型, 肠道的生理参数均为空腹状态下软件默认参数。其组织分布模型设置为血液灌注型模型。按“1.3.1”项下方法构建 PBPK 模型。建模的主要药动学参数以及评估模型误差值见表 3。建模集大鼠乌头碱血浆浓度-时间曲线见图 1。

**2.1.2 模型的验证** 选择验证数据对 PBPK 模型进行预测性评价。结果见表 4 和图 2。

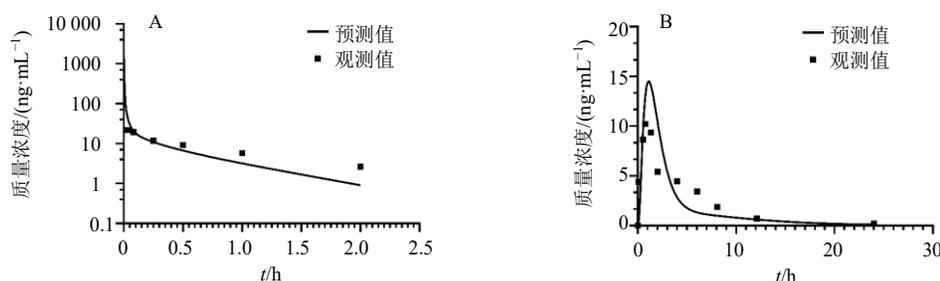
表 3 建模集大鼠 iv 和 ig 给药后主要药动学参数预测值与观测值的比较

Table 3 Comparison of predicted and observed values of main pharmacokinetic parameters after iv and ig administration in model set rats

编号	$C_{max}/(ng \cdot mL^{-1})$		误差/%	$T_{max}/h$		误差/%	$AUC_{0 \sim inf}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$		误差/%	$AUC_{0 \sim t}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$		误差/%	AFE	AAFE
	观测值	预测值		观测值	预测值		观测值	预测值		观测值	预测值			
A <sup>[24]</sup>	—	—	—	—	—	—	18.28	17.83	0.98	14.94	17.09	1.14	0.81	1.59
B <sup>[30]</sup>	10.20	14.50	1.42	0.76	1.12	1.48	52.18	46.14	0.88	50.14	45.55	0.91	0.61	2.17

A-iv 0.05 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 (体质量 0.2 kg) B-ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 (体质量 0.275 kg)

A-iv 0.05 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine (body weight is 0.2 kg) B-ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine (body weight is 0.275 kg)



A-平均体质量 0.2 kg 雄性大鼠 iv 0.05 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 B-平均体质量 0.275 kg 雄性大鼠 ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱

A-mean body weight 0.2 kg male rats were iv 0.05 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine B-mean weight 0.275 kg male rats were ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine

图 1 建模集大鼠乌头碱血浆浓度-时间曲线

Fig. 1 Modeling dataset rat aconitine plasma concentration-time curve

表 4 验证数据集 0.275 kg 雄性大鼠 ig 给药后主要药动学参数预测值与观测值的比较

Table 4 Comparison of predicted and observed values of main pharmacokinetic parameters after ig administration of 0.275 kg male rats with validated data set

编号	$C_{max}/(ng \cdot mL^{-1})$		误差/%	$T_{max}/h$		误差/%	$AUC_{0 \sim inf}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$		误差/%	$AUC_{0 \sim t}/(ng \cdot h \cdot mL^{-1})$		误差/%	AFE	AAFE
	观测值	预测值		观测值	预测值		观测值	预测值		观测值	预测值			
A <sup>[31]</sup>	9.96	14.62	1.47	0.83	1.12	1.34	63.34	46.51	0.73	53.67	45.92	0.86	0.54	2.39
B <sup>[32]</sup>	5.09	5.81	1.14	0.99	1.12	1.13	31.31	18.46	0.59	24.70	18.22	0.74	0.41	2.83
C <sup>[33]</sup>	7.75	14.50	1.87	1.00	1.12	1.12	26.68	46.14	1.73	26.03	45.55	1.75	1.10	2.09

A-ig 0.504 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 B-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 C-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱

A-ig 0.504 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine B-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine C-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine

### 2.2 人体 PBPK 模型

根据生长异速方程计算人体肝清除率和肾清除率, 将大鼠 PBPK 模型进行种属外推至中国健康成年男性, 预测乌头碱在人体的药动学特征。成人 po 0.0051 mg/kg 乌头碱的 PBPK 模型预测的主要药动学参数见表 5, 预测的血浆药物浓度-时间曲线如图

3 所示。

### 2.3 乌头碱在大鼠和中国健康成年男性体内的组织分布

本研究利用定量药理学新技术即 PBPK 模型, 预测乌头碱在器官的组织分布特征, 大鼠组织分布的结果 (图 4) 显示乌头碱存在广泛分布的特征,

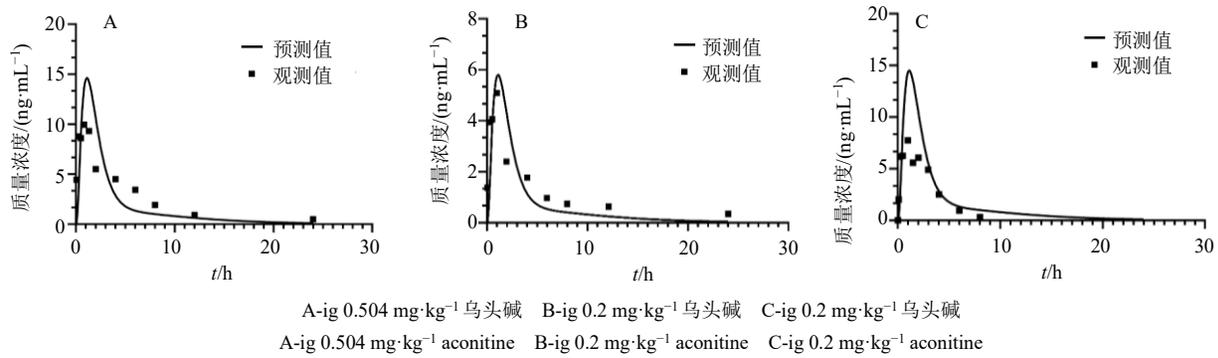


图2 验证数据集平均体重 0.275 kg 雄性大鼠 ig 乌头碱的血浆浓度-时间曲线

Fig. 2 Verification of plasma concentration-time curve of aconitine given by ig administration in male rats with an average body weight of 0.275 kg

表5 预测中国健康成年男子 PBPK 模型主要药动力学参数  
 Table 5 Predicting main PK parameters of PBPK model for healthy adult Chinese male

药动力学参数	单位	数值
$C_{max}$	ng·mL <sup>-1</sup>	0.81
$T_{max}$	h	1.52
$AUC_{0-t}$	ng·h·mL <sup>-1</sup>	4.20
$AUC_{0-inf}$	ng·h·mL <sup>-1</sup>	4.22

在肝、肾组织中浓度较高，高于血浆中的药物浓度，其分布趋势与血浆分布趋势一致，这与文献报道的基本符合<sup>[7,34-35]</sup>。乌头碱在人体中器官的分布趋势与在大鼠中的基本一致。由此可见，PBPK 模型可预

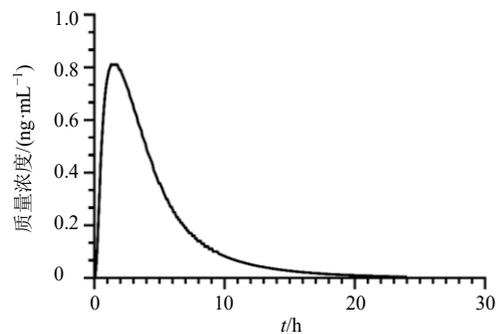
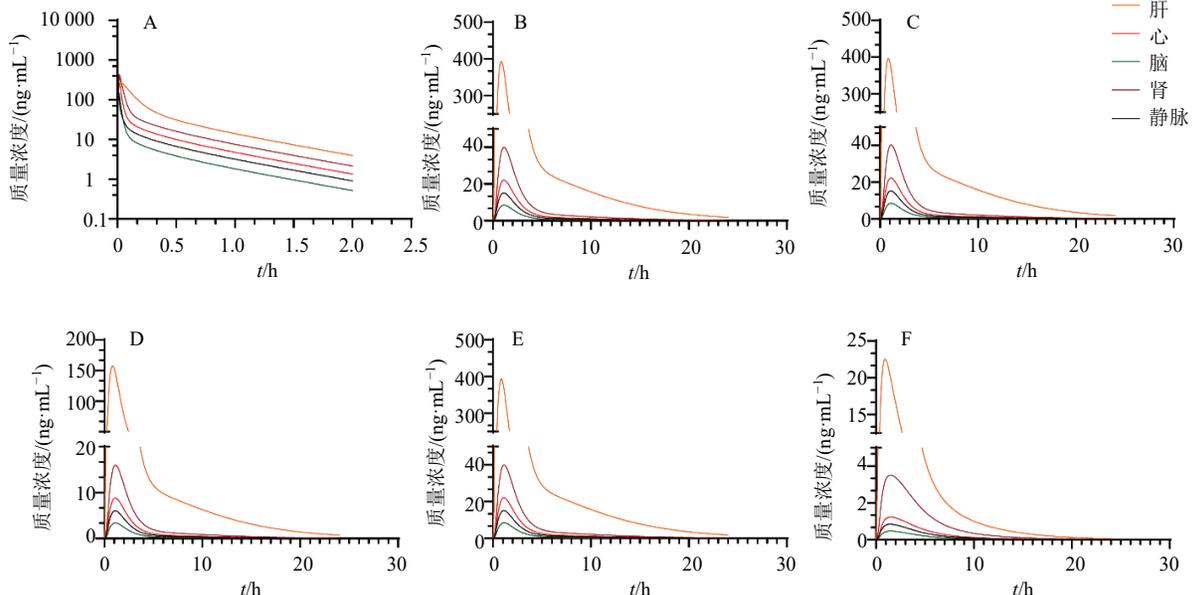


图3 预测中国健康成年男子乌头碱血浆药物时间-浓度曲线  
 Fig. 3 Predicted aconitine plasma drug time-concentration profiles in healthy adult Chinese male



A-iv 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 B-ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 C-ig 0.504 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 D-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 E-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱 (A~E 为平均体重 0.275 kg 雄性大鼠) F-中国健康成年男子 po 0.0051 mg·kg<sup>-1</sup> 乌头碱  
 A-iv 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine B-ig 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine C-ig 0.504 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine D-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine E-ig 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine (A~E was male rats with an average body weight of 0.275 kg) F-0.0051 mg·kg<sup>-1</sup> aconitine for Chinese healthy adult men

图4 给予乌头碱后雄性大鼠及中国健康成年男子组织分布  
 Fig. 4 Tissue distribution of male rats and Chinese healthy adult male after administration of aconitine

测药物到达靶器官的浓度,这使得依据组织分布调整临床给药方案成为可能。

## 2.4 敏感性分析

考察关键性建模参数对  $C_{\max}$  和  $AUC_{0-24}$  2 个输出变量(即  $r$  值)的影响。如图 5 所示,对于  $AUC_{0-24}$  而言,  $\log D$ 、 $CL_{\text{kidney}}$ 、 $P_{\text{eff}}$  的灵敏度系数在 20%~50%,属于中等影响,而  $CL_{\text{liver}}$ 、 $f_{\text{up}}$  的灵敏度系数均大于 50%,且  $CL_{\text{liver}}$  的灵敏度系数为 300.08%;对于  $C_{\max}$  而言,  $\log D$ 、 $R_{\text{bp}}$  的灵敏度系数小于 20%,属于低等程度影响;而  $CL_{\text{kidney}}$ 、 $P_{\text{eff}}$  的灵敏度系数在 20%~50%,属于中等程度影响,而  $CL_{\text{liver}}$ 、 $f_{\text{up}}$  的灵敏度系数均大于 50%,且  $CL_{\text{liver}}$  的灵敏度系数为 273.72%。综上,乌头碱在体内的吸收、分布以及代谢等相关参数均影响了其在静脉血中的浓度以及  $C_{\max}$ 。

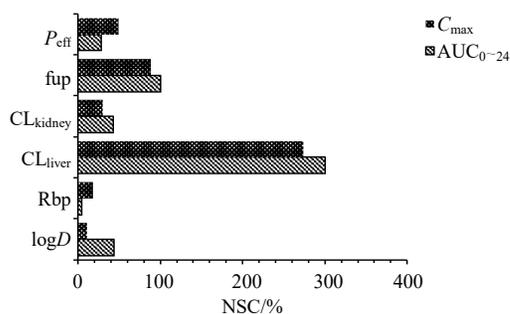


图 5 参数归一化敏感性系数

Fig. 5 Parameter normalized sensitivity coefficients

## 3 讨论

PBPK 模型常被用于预测药物在体内的药动学特征,并且可进行跨物种以及不同给药途径的剂量外推,在临床研究中为首次人体研究的给药方案提供依据<sup>[36]</sup>。目前欧洲药品管理局已认定 PBPK 模型是评估健康志愿者适当起始剂量的有用工具<sup>[37]</sup>。PBPK 模型不仅适用于药物监管,在药物安全性评估领域也存在方法应用<sup>[38]</sup>。

本研究搭建乌头碱 PBPK 模型并进行验证,根据评估标准  $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 、 $AUC_{0-\text{inf}}$ 、 $AUC_{0-t}$  等主要药动学参数预测值与观测值的比值在 0.5~2,这表明乌头碱 PBPK 模型是可以被接受的,并在大鼠 PBPK 模型的基础上外推至人,预测乌头碱在人体的暴露情况以及主要的药动学参数数据,这对在人体的临床试验以及临床上安全有效地使用乌头碱药物提供依据,但人体 PBPK 模型缺乏临床数据的验证,因此在风险评估等方面的应用仍需进一步的验证。

经参数敏感性分析发现影响乌头碱建模的参数主

要是  $CL$ 、 $f_{\text{up}}$ 、 $P_{\text{eff}}$ 。通过乌头碱的代谢、排泄过程确定乌头碱在体内主要清除途径。首先,在乌头碱代谢过程中,乌头碱主要经细胞色素 P450 酶 (cytochrome P450, CYP450)——CYP3A4 和 CYP1A1/2 代谢为毒性更小的衍生物,此外 CYP3A4/5、CYP2D6 也参与乌头碱代谢过程<sup>[35]</sup>,这表明乌头碱存在肝清除。其次,在排泄研究中发现乌头碱的主要排泄途径并不是胆汁,其关键排泄途径为尿液<sup>[39]</sup>,这表明肾脏在乌头碱清除过程中发挥重要作用。对于肾脏清除的化合物,其清除率主要存在以下情况:① $CL_{\text{kidney}} = f_u \times GFR$ ,表明无主动分泌或者重吸收;② $CL_{\text{kidney}} < f_u \times GFR$ ,药物存在重吸收;③ $CL_{\text{kidney}} > f_u \times GFR$ ,药物存在主动分泌,其中  $f_u$  是游离分数,  $GFR$  是肾小球滤过率。研究表明乌头碱存在肾小管主动分泌<sup>[24]</sup>。因此乌头碱主要受肝清除和肾清除的影响。故模型中肾清除以总清除与肝清除之差进行描述更符合乌头碱肾脏排泄的特征。

目前,很多文献报道了乌头碱血浆蛋白结合率,其数据在 30%左右<sup>[20,40-41]</sup>,因此乌头碱属于低蛋白结合化合物。由于只有游离态药物在体内能够被代谢以及到达靶部位发挥疗效,而乌头碱低蛋白结合的特征使体内游离浓度极高,导致即使在低剂量也有可能达到乌头碱的安全阈值,这也是治疗窗狭窄的主要原因。在实验结果中,为使实测值与观测值拟合度更高,选择实验值 76.1%<sup>[20]</sup>为血浆游离分数的输入值。在人体预测中,乌头碱与人的  $f_{\text{up}}$  仅有 34.56%,这与大鼠预测以及观测结果正相反,然而对于人和大鼠而言乌头碱均是剧毒类物质且治疗窗狭窄,乌头碱在不同物种间的蛋白结合率是否存在差异性仍需进一步验证。

研究报道称若口服乌头碱,在食道就有可能被吸收<sup>[41]</sup>。而药物进入肠道后,经肠道上皮细胞吸收进入血液中,在这个过程中肠道上皮包含的代谢酶和转运体也会选择性对化合物进行代谢。Caco-2 细胞因其单细胞及具有成熟肠细胞的形态学和功能等特征,常作为肠道屏障的模型模仿肠道上皮细胞。此外该细胞还可表达转运蛋白、外排蛋白以及其他代谢酶。Caco-2 细胞模型实验以  $P_{\text{app}}$  为指标考察化合物在肠道的吸收能力<sup>[42-43]</sup>。乌头碱在 Caco-2 细胞方面的研究并不少见,结果相差较大<sup>[19,41,44-47]</sup>,但均表明乌头碱具有较好的吸收能力,搭建 PBPK 模型时,乌头碱的  $P_{\text{app}}$  初始参考值为  $(7.63 \pm 1.16) \times 10^{-7}$  cm/s<sup>[19]</sup>,经软件模拟将其优化为  $7 \times 10^{-7}$  cm/s 时,

模型输出拟合性较好。

当外排比 $>2$ 时,化合物在肠道吸收过程中存在外排转运体的影响<sup>[48]</sup>。不同研究人员检测的乌头碱 Caco-2 细胞转运率和外排比数据相差较大<sup>[19,41,44-47]</sup>,但大多数研究结论提示乌头碱似乎受到 P-糖蛋白转运体 (P-glycoprotein, P-gp) 的外排作用<sup>[23,49-50]</sup>。然而目前 P-gp 对乌头碱影响的研究未有准确定论,因此本研究未纳入 P-gp 转运参数。而本文模拟结果显示,药动学参数  $C_{max}$  的预测值均大于观测值,结合以往报道,推测可能是由于乌头碱受到肠道 P-gp 外排引起的预测偏差。然而关于 P-gp 是否影响乌头碱的吸收存在争议,即虽然大多数文献报道称 P-gp 影响乌头碱的吸收过程<sup>[23,49-51]</sup>,但也有报道称 P-gp 并未影响其吸收<sup>[52]</sup>。因此,仍需要开展乌头碱与 P-gp 酶促动力学等相关研究证实该假设。

本研究首先收集乌头碱的理化参数、生化参数和药动学数据作为基本建模参数,并通过 GastroPlus 软件成功构建乌头碱大鼠 iv 以及 ig 给药的 PBPK 模型,并外推至中国成年男性口服 PBPK 模型。预测得到乌头碱在人体的药时曲线以及主要组织分布情况,这对在临床上为含乌头碱成分的中药及中成药制定安全有效的给药方案具有重要意义,此外为中药安全性评价以及风险评估提供依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 张伟,李芳,刘志文,等. 急性乌头碱中毒致心律失常的治疗方法应用进展 [J]. 山东医药, 2022, 62(12): 91-94.
- [2] 杨发俊. 45 例急性乌头碱中毒的临床表现和救治分析 [J]. 中国医学创新, 2017, 14(36): 94-97.
- [3] Çankal D, Akkol E K, Kılınc Y, et al. An effective phytoconstituent aconitine: A realistic approach for the treatment of trigeminal neuralgia [J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021: 6676063.
- [4] Zhang Y, Zhang T J, Li X Y, et al. 2-((1-Phenyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-2-azabicyclo[3.2.1]octan-3-one derivatives: Simplification and modification of aconitine scaffold for the discovery of novel anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 210: 112988.
- [5] He Y F, Wei Z H, Ci X Y, et al. Effects of liquorice on pharmacokinetics of aconitine in rats [J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(12): 1485-1493.
- [6] 何建忠,黄丽珍. 乌头类生物碱检测方法的研究进展 [J]. 职业与健康, 2021, 37(19): 2723-2726.
- [7] Gao Y B, Fan H, Nie A Z, et al. Aconitine: A review of its pharmacokinetics, pharmacology, toxicology and detoxification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 293: 115270.
- [8] Zhou W, Liu H, Qiu L Z, et al. Cardiac efficacy and toxicity of aconitine: A new frontier for the ancient poison [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(3): 1798-1811.
- [9] Zhang Y, Han X M, Niu Z G. Health risk assessment of haloacetonitriles in drinking water based on internal dose [J]. *Environ Pollut*, 2018, 236: 899-906.
- [10] Lipscomb J C, Haddad S, Poet T, et al. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models in toxicity testing and risk assessment [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 745: 76-95.
- [11] Kim S J, Shin H, Lee Y B, et al. Sex-specific risk assessment of PFHxS using a physiologically based pharmacokinetic model [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(3): 1113-1131.
- [12] Zhang Y, Zhang N, Niu Z G. Health risk assessment of trihalomethanes mixtures from daily water-related activities via multi-pathway exposure based on PBPK model [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 163: 427-435.
- [13] Bagley B D, Smith J N, Teeguarden J G. Risk assessment of predicted serum concentrations of bisphenol A in children and adults following treatment with dental composite restoratives, dental sealants, or orthodontic adhesives using physiologically based pharmacokinetic modeling [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2021, 120: 104839.
- [14] Zhuang X M, Lu C. PBPK modeling and simulation in drug research and development [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6(5): 430-440.
- [15] 苏布达,李晓萌,刘慧,等. 生理药代动力学模型用于中药风险评估的思考及认识 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4593-4603.
- [16] De Buck S S, Sinha V K, Fenu L A, et al. Prediction of human pharmacokinetics using physiologically based modeling: A retrospective analysis of 26 clinically tested drugs [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(10): 1766-1780.
- [17] Espié P, Tytgat D, Sargentini-Maier M L, et al. Physiologically based pharmacokinetics (PBPK) [J]. *Drug Metab Rev*, 2009, 41(3): 391-407.
- [18] Jones H M, Gardner I B, Watson K J. Modelling and PBPK

- simulation in drug discovery [J]. *AAPS J*, 2009, 11(1): 155-166.
- [19] 叶玲. 外排转运蛋白和药物代谢酶在二萜类化合物生物利用度屏障的作用及其机制 [D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- [20] 吕昌. 附子毒动学及乌头碱吸收与代谢特征研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2011.
- [21] Sharma R P, Kumar V, Schuhmacher M, et al. Development and evaluation of a harmonized whole body physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for flutamide in rats and its extrapolation to humans [J]. *Environ Res*, 2020, 182: 108948.
- [22] Kuepfer L, Niederalt C, Wendl T, et al. Applied concepts in PBPK modeling: How to build a PBPK/PD model [J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2016, 5(10): 516-531.
- [23] 赵敏. P-gp、BCRP 外排转运蛋白对乌头碱体内处置调控作用研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [24] 张应蓉. 乌头碱在大鼠肝脏的消除机制研究 [D]. 贵阳: 贵阳中医学院, 2016.
- [25] Naritomi Y, Sanoh S, Ohta S. Utility of chimeric mice with humanized liver for predicting human pharmacokinetics in drug discovery: Comparison with *in vitro-in vivo* extrapolation and allometric scaling [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(3): 327-336.
- [26] 谢潘潘, 施意凝, 胡欣, 等. 用生理药代动力学模型预测抗肺动脉高压新药 sGC-003 在人体中的药代动力学 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(5): 567-569.
- [27] 陶若琳. 联合化疗紫杉醇对阿霉素药动学影响的 PBPK 模型化研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [28] 赖长江生, 邱子栋, 魏旭雅, 等. 基于原位质谱技术的中药质量评价策略的构建 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 279-284.
- [29] Chou W C, Lin Z M. Bayesian evaluation of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for perfluorooctane sulfonate (PFOS) to characterize the inter species uncertainty between mice, rats, monkeys, and humans: Development and performance verification [J]. *Environ Int*, 2019, 129: 408-422.
- [30] Tang L, Gong Y, Lv C, et al. Pharmacokinetics of aconitine as the targeted marker of Fuzi (*Aconitum carmichaeli*) following single and multiple oral administrations of Fuzi extracts in rat by UPLC/MS/MS [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 736-741.
- [31] 唐澜. 黄酮类化合物和乌头碱代谢机理研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [32] Chen L, Yang J, Davey A K, et al. Effects of diammonium glycyrrhizinate on the pharmacokinetics of aconitine in rats and the potential mechanism [J]. *Xenobiotica*, 2009, 39(12): 955-963.
- [33] Fan Y F, Xie Y, Liu L, et al. Paeoniflorin reduced acute toxicity of aconitine in rats is associated with the pharmacokinetic alteration of aconitine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 701-708.
- [34] Zhang Y D, Zong X X, Wu J L, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of eighteen major alkaloids of *Aconitum carmichaelii* in rats by UHPLC-QQQ-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 185: 113226.
- [35] Gao X T, Hu J, Zhang X C, et al. Research progress of aconitine toxicity and forensic analysis of aconitine poisoning [J]. *Forensic Sci Res*, 2018, 5(1): 25-31.
- [36] Miller N A, Reddy M B, Heikkinen A T, et al. Physiologically based pharmacokinetic modelling for first-in-human predictions: An updated model building strategy illustrated with challenging industry case studies [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2019, 58(6): 727-746.
- [37] Shaik A N, Khan A A. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation in drug discovery and development [J]. *ADMET DMPK*, 2019, 7(1): 1-3.
- [38] Deepika D, Sharma R P, Schuhmacher M, et al. Risk assessment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) using dynamic age dependent physiologically based pharmacokinetic model (PBPK) across human lifetime [J]. *Environ Res*, 2021, 199: 111287.
- [39] Li S L, Yu L Q, Shi Q, et al. An insight into current advances on pharmacology, pharmacokinetics, toxicity and detoxification of aconitine [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113115.
- [40] 刘爽, 张晓菲, 苗鑫, 等. 蒙药“诃子解草乌毒”的配伍比例研究 [J]. *中国药房*, 2019, 30(11): 1519-1524.
- [41] 张晓菲. 基于药代动力学研究诃子对草乌“解毒存效”的机理 [D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2019.
- [42] van Breemen R B, Li Y M. Caco-2 cell permeability assays to measure drug absorption [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, 1(2): 175-185.
- [43] Panse N, Gerk P M. The Caco-2 Model: Modifications and enhancements to improve efficiency and predictive performance [J]. *Int J Pharm*, 2022, 624: 122004.
- [44] 刘晓庆. 利用 Caco-2 细胞模型对双酯型生物碱类化合

- 物吸收代谢的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [45] 张晓菲, 苗鑫, 邢海燕, 等. 单宁酸对双酯型乌头碱在 Caco-2 细胞模型上转运行为的影响 [J]. *中国药学杂志*, 2019, 54(14): 1142-1147.
- [46] Xu Y W, Yang L, Liang K, *et al.* Pharmacokinetic effects of ginsenoside Rg1 on aconitine, benzoyleaconine and aconine by UHPLC-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(4): e4793.
- [47] Zhang H, Sun S, Zhang W, *et al.* Biological activities and pharmacokinetics of aconitine, benzoyleaconine, and aconine after oral administration in rats [J]. *Drug Test Anal*, 2016, 8(8): 839-846.
- [48] 董月柳. 多成分环境下 P-gp 对甘草次酸吸收的影响研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [49] 刘运锋. 白芍活性成分调控 P-gp 介导生物碱类成分跨血脑屏障转运机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [50] 李佳怡, 王吉锡, 孙杨婷, 等. 基于药对配伍中甘草减毒功效作用机制的研究进展 [J]. *嘉兴学院学报*, 2021, 33(6): 51-55.
- [51] 李娜. 乌头有效部位中双酯型生物碱吸收转运及机制的体外研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [52] 陶长戈. 附子干姜组分配伍的胃肠吸收动力学研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.

[责任编辑 李亚楠]