

戊己丸不同配伍组方体内对 CYP1A2 酶活性的影响研究及其临床意义*

□翁小刚 李玉洁 杨 庆 梁日欣 王怡薇
刘晓霓 韩 晓 隋 峰 陈 颖 朱晓新**
(中国中医科学院中药研究所 北京 100700)

摘 要:目的:研究戊己丸不同配比方对大鼠体内 CYP1A2 酶活性的影响,从药动学角度探讨戊己丸配伍机理,为临床优化给药提供借鉴。方法:以非那西丁为 CYP1A2 酶活性研究探针药,HPLC 测定大鼠体内非那西丁及代谢产物——对乙酰氨基酚的血药浓度变化,间接反映 CYP1A2 酶活性的大小;以正交法设计戊己丸 3 因素 3 水平交互的 9 个实验点,考察所选取实验点对应的 9 种戊己丸配比方对 CYP1A2 酶活性的不同影响。结果:9 种戊己丸配比方,组成戊己丸的黄连、吴茱萸、白芍 3 单味药及对照组动物中,CYP1A2 酶活性从高到低依次为:8[#]方、白芍、9[#]方、7[#]方、6[#]方、1[#]方、2[#]方、4[#]方、对照组、3[#]方、黄连、吴茱萸、5[#]方;随着复方中黄连剂量水平的增大,酶活性呈增高趋势,复方中引入小、中剂量水平的吴茱萸或白芍可以增高 CYP1A2 酶活性,但高剂量吴茱萸或白芍对 CYP1A2 酶活性有抑制作用。结论:戊己丸各因素水平变化均可能对 CYP1A2 酶活性造成影响,此种影响有可能是戊己丸药效学差异的原因之一;根据本实验结果可以优化戊己丸的临床应用。

关键词:戊己丸 中药配伍 CYP1A2 中药药动学 临床应用

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.01.038

戊己丸最早见于宋代《幼幼新书》,组成为:黄连、吴茱萸、白芍各 5 两,《医方考》将方中药物用量改为黄连 10 两、吴茱萸 2 两、白芍 2 两,《中国药典》收载本方,其药物组成为:黄连 300g,吴茱萸(制)50g,白芍(炒)300g。戊己丸有疏泻肝之郁火,调和脾胃之功

效。主治腹痛泻痢,口苦嘈杂,呕吐吞酸等症,是临床治疗肠易激综合征(IBS)常用有效方剂。宫海民等^[1]比较了戊己丸中黄连、吴茱萸、白芍 1:1:1 和 5:1:1 两种配比的药效,其中 1:1:1 配伍组长于镇痛,而 5:1:1 配伍组长于抗炎,提示戊己丸不同配比方在共同药效的基础上各有所侧重。本课题组前期药理研究也表明,戊己丸不同配比方有不同的药效特点和优势^[2]。

收稿日期:2010-11-19

修回日期:2011-01-31

* 国家自然科学基金重点课题基金资助项目(30930114):基于药物相互作用的中药方剂配伍机理示范性研究,负责人:朱晓新;“重大新药创制”中药新药研发综合性大平台(2009ZX09301-005-009):中药药代动力学平台建设,负责人:朱晓新;科学技术部国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI08B04-4):中医药诊疗与评价技术研究:中药复方作用和配伍评价研究——戊己丸示范性研究,负责人:朱晓新;国家中医药管理局中医药行业科研专项项目(2008070036):基于药代动力学的金铃子散等两种中药复方配伍与效用关联性示范研究,负责人:梁日欣;中国中医科学院自主选题(ZZ20090212):以微透析-膜片钳建立 PK-PD 模型研究戊己丸药效的细胞机制,负责人:翁小刚。

** 通讯作者:朱晓新,本刊编委,研究员,主要研究方向:中药药理及药代研究, Tel:010-64056154, E-mail:zhuxiaoxin@mail.cintcm.ac.cn。

通过中药配伍的变化可以产生不同的治疗效果,中药复方配伍变化体现不同疗效与其进入机体内的化学成分代谢特征存在关联,本文以戊己丸为范例,应用 HPLC 检测戊己丸不同配比方给药大鼠体内 CYP450 同工酶 CYP1A2 探针药及其代谢产物的血药含量变化,研究戊己丸不同配比方体内对大鼠 CYP1A2 酶活性的不同影响,从“中药配伍-代谢”关系探讨戊己丸配伍机理。

转化医学^[3-5]是新近提出来的一种医学模式,简言之,转化医学是基础研究与临床应用之间的联系纽带,起桥梁作用。转化医学可以从临床发现和提出问题,转而经过基础和实验研究,将研究成果迅速转向临床,以解决临床之难题;或可将医药学基础研究成果深化及验证,使之推广至临床实际应用,以提高临床整体的诊疗水平。

药物代谢动力学研究转化为临床应用,应该说绩效颇丰,很多化学药物的临床给药方案都源自于该药物的代谢动力学研究;但是中药(复方)代谢动力学研究一来起步较晚,二来由于中药成分复杂及活性物质难以界定等原因,使得中药药动学研究远比化学药物药动学研究复杂艰难,目前尚不足以以为中药临床优化应用提供确切的给药方案^[6]。

本课题组致力于戊己丸配伍机理的研究,而中药复方的配伍机理无外乎体外和体内过程机理两方面。体外机理乃是药物伍用后的炮制或煎煮,与药物单用炮制或煎煮相比,有可能产生了一致(数与量)的药效物质;体内机理乃是药物配伍后进入机体,与药物单用进入机体相比,有可能产生不一致的活性物质,或者各有效物质相互影响不一致,或有效物质体内处置过程不一致等等,进而产生了一样的“七情和合”临床效应。

本实验旨在以戊己丸为范例,从药动学角度探讨中药复方配伍机理,如能对戊己丸配伍机理进行科学阐述,可提升中医药临床应用的广度、深度及效用性。

一、材料与方法

1. 实验动物

80 只健康成年 Wistar 大鼠,SPF 级,雄性,重量 200~220g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2007-0001。

2. 戊己丸受试药

黄连(盐酸小檗碱含量 7.88%)、制吴茱萸(吴茱

萸碱含量 0.34%)、炒白芍(芍药苷含量 2.69%)饮片均购自北京卫仁饮片厂,黄连醇提取物、制吴茱萸醇提取物、炒白芍混合提取物(醇提加水提)由中日友好医院剂型室按优选工艺分别进行提取,得率分别为 23.75%,28.33%,4%,真空干燥至固体粉末备用。

3. CYP1A2 体内探针药研究药物对 CYP1A2 酶活性影响方法

本实验测定戊己丸给药对大鼠 CYP450 同工酶 CYP1A2 活性影响,采用 CYP1A2 专属性底物——非那西丁作为 CYP1A2 酶活性检测的探针药,非那西丁大鼠灌胃后,测定大鼠血循环中不同时间点的非那西丁/对乙酰氨基酚(非那西丁经 CYP1A2 代谢后的产物)浓度变化,以探针药/代谢产物药对在给受试药物(本实验为戊己丸提取物不同配伍组方)前后药动学信息参数的变化推导受试药在体内对动物 CYP1A2 酶活性的影响。

4. 戊己丸受试药制备

以黄连、制吴茱萸及炒白芍先制成黄连醇提取物、制吴茱萸醇提取物及炒白芍混合提取物(醇提取物及水提取物混合),再将单味药提取物按 $L_9(3^4)$ 正交表(黄连、吴茱萸、白芍各有 3 个剂量水平交互配比成 9 个戊己丸复方)设计混合配制 9 个戊己丸提取物不同配伍 1~9[#]方,1~9[#]方中黄连、吴茱萸及白芍的比例分别为:3:1:3、3:2:6、3:6:12、6:1:6(药典收录方)、6:2:12、6:6:3、12:1:12、12:2:3、12:6:6,3 个单味药提取物也列为戊己丸受试药。

5. 动物给药

大鼠随机分为对照组、黄连组、吴茱萸组、白芍组及戊己丸 1~9[#]方组,每组 5 只,每组动物连续给戊己丸受试药 7 次,每天 1 次,动物末次给药前 16h 禁食不禁水,末次给戊己丸受试药 1h 后,再次灌胃给予 $1g \cdot kg^{-1}$ 剂量的非那西丁,给药容积为 $10mL \cdot kg^{-1}$;动物给探针药后 15min、30min、1h、2h、5h、10h、16h 时间点,应用毛细玻璃管眼眶取血 0.2~0.22mL,转入事先用 3.8%枸橼酸钠抗凝处理的 1.5mL 具盖离心管中,血样采用全血萃取待测成分方法处理,HPLC 进样测定探针药及代谢产物含量。戊己丸受试药给药剂量:黄连、吴茱萸、白芍单味药剂量均为 $1g(生药)/kg$,1~9[#]方黄连+吴茱萸+白芍的总剂量为 $1g(生药)/kg$,黄连、吴茱萸、白芍的相应剂量按各自方中比例设置。

6. 血样处理

不同时间点大鼠抗凝血样,移液枪吸取 0.2mL

加入混合有机溶剂(50%乙腈:50%甲醇)中,振荡混匀,4℃,1000rpm离心3min,上清液再次以4℃,18000rpm离心15min,取上清液30μL,HPLC进样测定非那西丁、对乙酰氨基酚含量。

7. HPLC 检测方法

(1)HPLC 条件。

Kromasil-C₁₈ 色谱柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相 A:5%乙腈、15%甲醇、80%水;流动相 B:10%乙腈、60%甲醇、30%水;梯度洗脱程序:0min(100%A),8min(80%A,20%B),12min(60%A,40%B),20min(100%A);运行时间:40min;流速:1mL·min⁻¹;柱温:30℃;检测波长:245nm;进样量:30μL。不同时间点血药测定 HPLC 图谱见图 1。

(2)对照品储备液配制。

精密称取非那西丁、对乙酰氨基酚适量,配制0.5mg·mL⁻¹非那西丁10mL和0.31mg·mL⁻¹对乙酰氨基酚10mL储备液。

(3)血药标准曲线测定。

正常空白大鼠眼眶取血足量,3.8%枸橼酸钠抗凝,备用。

准备7个1.5mL具盖离心管,每个离心管加入0.2mL抗凝血,再每管分别加入一定含量的非那西丁、对乙酰氨基酚混合对照品溶液(采用对照品储备液稀释混合至所需浓度),使每个离心管内空白血中

含有成一定量的非那西丁和对乙酰氨基酚,7个非那西丁+对乙酰氨基酚血药梯度浓度分别为:13.34+5.86、25.29+10.31、49.07+17.82、92.60+38.39、140.89+74.93、231.51+106.02、271.69+171.83μg·mL⁻¹;每1梯度浓度溶液进样30μL,按上述HPLC法测定,重复1次,取平均值,以组分的峰面积(y)为纵坐标,组分浓度(x,μg·mL⁻¹)为横坐标,进行线性回归。

(4)方法回收率。

取适量非那西丁、对乙酰氨基酚对照品储备液,以大鼠空白抗凝血分别配制高、中、低3个浓度的非那西丁、对乙酰氨基酚混合溶液,3个浓度溶液分别进样30μL,HPLC测定相应成分含量,以含量测定值比实际值计算方法回收率。

(5)最低检测限。

根据S/N(信噪比)≥3计算。

(6)分析方法稳定性及精密度测定。

分别取高、中、低浓度非那西丁、对乙酰氨基酚混合血溶液,测定日内、日间RSD,非那西丁日内、日间不同浓度平均RSD分别为5.04%、7.19%,对乙酰氨基酚日内、日间不同浓度平均RSD分别为6.25%、8.71%;取血样对照品溶液一份样品,分别于0、2、4、6、8、10h、24h重复测定,考察样品稳定性,两成分日内稳定性RSD在10%以内。

8. 数据处理

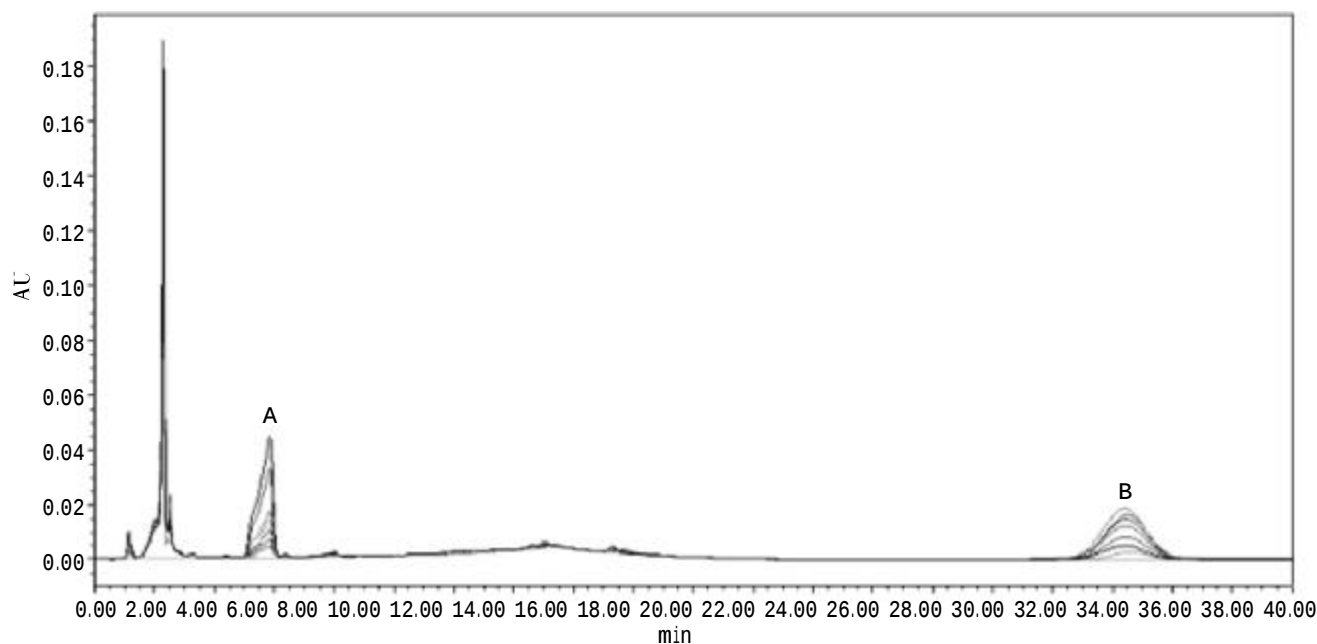


图1 非那西丁给药后大鼠不同时间点血药 HPLC 色谱图

注:A为不同时间点对乙酰氨基酚检测重叠峰,t=5.56min;B不同时间点非那西丁检测重叠峰,t=34.89min。

数据主要采用 SPSS11.5 及药动学专业软件 Kinetica4.4 统计分析。

二、结 果

1. CYP1A2 底物及代谢产物检测标准曲线

本实验测得的非那西丁及对乙酰氨基酚血药标准曲线见图 2~3, 回归方程及相关系数 R^2 均在图示中标注, y 为测定峰面积, $x(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为对照品浓度。非那西丁血药在 $13.34\sim 271.69\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性相关良好, 对乙酰氨基酚血药在 $5.86\sim 171.83\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性相关良好。

2. CYP1A2 底物及代谢产物检测方法回收率

本法测得非那西丁、对乙酰氨基酚的平均回收率分别为 100.93%、99.35%, 两者 RSD 分别为 1.84%、2.08%, 均符合 HPLC 定量要求。

3. CYP1A2 底物及代谢产物最低检测限

本法非那西丁血药、对乙酰氨基酚血药最低检测浓度分别为 $1.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.75\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

4. 不同时间点各组动物 CYP1A2 探针药及代谢产物血药浓度(见表 1)

5. 各组动物非那西丁的主要药动学参数

将各组动物非那西丁不同时间点(给药后 0.25h、0.5h、1h、2h、5h、10h、16h)血药浓度值应用 Kinetica4.4 软件, 选择 Macro Extravascular 计算模式, 设定 1 房室无时滞拟合方式, 权重选择为 1, 计算每只动物药动学参数, 并且应用 SPSS11.5 对每组动物个体药动学参数进行组间比较, 见表 2。

由表 2 可知, 除黄连、5[#] 方、8[#] 方极少数参数与对照组比较有显著性差异外, 其余各组及各参数与对照组比较无统计学差异。

6. 各组动物 CYP1A2 酶活性差异

探针药物法研究药物体内对 CYP450 同工酶的活性影响, 采用探针药的代谢产物相对生成量变化反映专属代谢该探针药的同工酶活性大小, 所谓相对生成量是指代谢产物在体内的生成量一方面受探针药给药后在体内的吸收量变影响(一定浓度范围内, 探

针药吸收量与被代谢量直接相关), 另一方面与同工酶本身活性直接相关, 所以在以代谢产物生成量估算酶活性时, 需要考虑剔除探针药在体内吸收情况差异的影响, 此处采用矫正的代谢产物生成量, 称为相对生成量。

由“各组动物非那西丁的主要药动学参数”项结果可知, 各组动物探针药自身药动学过程组间差异性不显著, 故本处采用对乙酰氨基酚浓度值除以非那西丁浓度值(对乙酰氨基酚/非那西丁比值)作为代谢产物相对生成量。图 4 是将各组对乙酰氨基酚/非那西丁比值折线集合作图, 从中可见组间对乙酰氨基酚的相对生成量具有较大差异。进一步将各组不同时间点对乙酰氨基酚/非那西丁比值数据直线拟合回归, 采用 SPSS11.5 对多组直线拟合回归的直线斜率(斜率越大表明 CYP1A2 酶活性越高)进行协方差分析, 统计各组斜率是否具有统计学差异, 各组斜率结果见表 3。

从受试各组动物对乙酰氨基酚/非那西丁比值的斜率来看, CYP1A2 酶活性从高到低依次为: 8[#] 方、白芍、9[#] 方、7[#] 方、6[#] 方、1[#] 方、2[#] 方、4[#] 方、对照组、3[#]

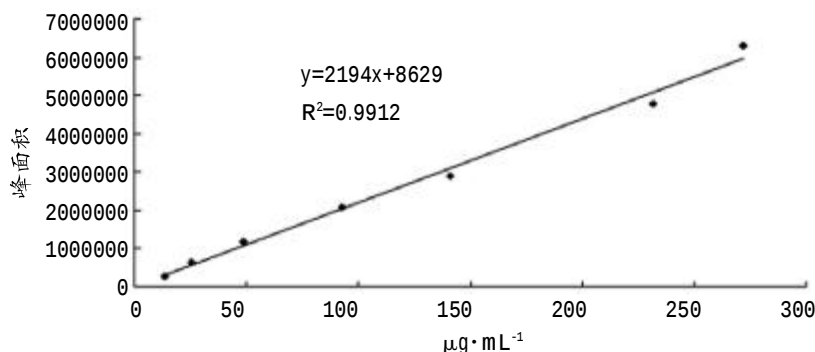


图 2 非那西丁血药标准曲线

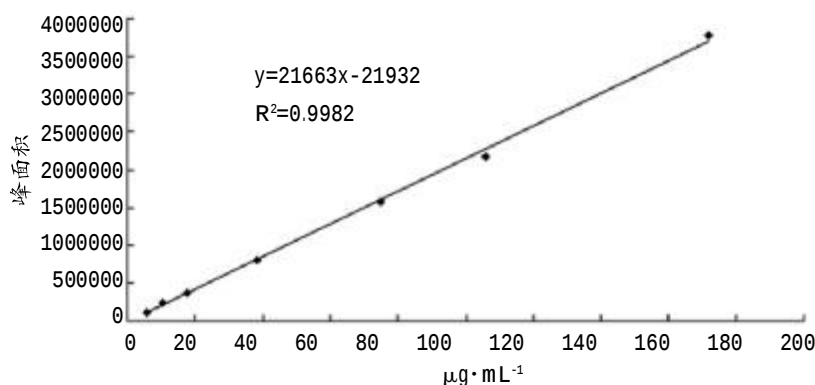


图 3 对乙酰氨基酚血药标准曲线

表 1 受试动物给非那西丁后不同时间点非那西丁/对乙酰氨基酚血药浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, n=5)

时间 点/h	对照组		黄连组		吴茱萸组		白芍组		1 [#] 方组		2 [#] 方组		3 [#] 方组	
	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚
0.25	67.81	8.65	50.21	7.23	50.72	5.74	42.82	5.56	78.25	8.57	61.12	7.88	51.28	6.06
0.5	82.54	13.27	64.31	11.41	56.00	8.10	62.97	7.98	79.64	13.08	75.03	12.81	67.88	10.75
1	109.53	20.68	75.90	17.29	80.63	13.56	79.02	13.51	88.00	19.56	87.12	18.89	73.03	15.77
2	94.34	24.07	63.61	21.66	83.30	18.44	75.62	17.03	98.51	27.87	111.25	31.28	74.45	21.27
5	63.05	28.67	37.96	22.13	45.50	20.11	54.29	23.10	50.50	34.50	50.92	30.85	24.96	13.52
10	31.67	38.04	16.28	21.03	23.50	22.01	20.99	27.57	23.47	34.30	17.41	29.95	17.10	23.67
16	20.96	28.78	28.31	33.03	25.22	29.83	8.78	34.97	20.99	33.78	22.60	33.12	30.94	35.38

表 1(续) 受试动物给非那西丁后不同时间点非那西丁/对乙酰氨基酚血药浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, n=5)

时间 点/h	4 [#] 方组		5 [#] 方组		6 [#] 方组		7 [#] 方组		8 [#] 方组		9 [#] 方组	
	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚	非那 西丁	对乙 酰氨 基酚
0.25	76.30	6.83	53.40	5.97	57.90	7.25	57.29	7.70	47.61	7.81	43.96	6.18
0.5	99.61	11.47	69.06	9.42	82.20	11.70	93.19	12.48	74.09	14.23	67.04	10.00
1	111.80	17.01	88.92	14.30	92.85	17.39	110.62	18.52	89.94	20.88	77.07	14.38
2	105.10	19.52	99.47	19.91	99.64	25.01	118.28	28.16	77.50	29.62	74.64	20.51
5	70.77	31.17	82.69	25.27	47.06	30.37	68.19	34.97	33.09	40.03	33.53	23.77
10	33.28	35.35	59.81	37.81	20.38	31.97	25.42	40.55	14.41	56.14	21.06	46.08
16	20.29	32.80	61.09	35.48	19.51	34.60	14.90	52.82	9.40	42.96	14.78	48.96

表 2 主要药动学参数($\bar{x}\pm\text{SD}$, n=5, 其中对照组 n=10, 非那西丁剂量 $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 血药浓度单位 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

组别	主要药动学参数									
	Ka	A	AUC	MRT	Lz	Cmax calc	Tmax calc	Kel	T1/T2 Ka	
对照	4.33±3.24	125.03±41.52	922.61±839.77	6.55±3.57	0.17±0.06	104.70±34.60	1.18±0.58	0.17±0.06	0.27±0.32	
黄连	7.07±5.82	87.82±13.82*	574.37±413.36	6.11±3.81	0.21±0.12	75.87±15.35	0.90±0.23	0.21±0.12	0.17±0.12	
茱萸	3.99±2.32	99.78±45.81	805.26±215.15	8.95±4.42	0.13±0.05	83.14±27.03	1.23±0.44	0.13±0.05	0.25±0.20	
白芍	4.79±7.59	160.54±116.50	715.39±195.12	9.78±12.66	0.22±0.13	90.05±40.75	1.52±0.90	0.22±0.13	0.70±0.80	
1 [#]	3.96±2.47	111.15±18.61	788.08±166.12	7.06±0.60	0.14±0.01	96.06±13.48	1.00±0.32	0.19±0.05	0.22±0.09	
2 [#]	3.32±2.82	140.72±17.60	762.94±198.05	5.51±1.69	0.20±0.07	108.31±9.53	1.30±0.20	0.21±0.06	0.30±0.15	
3 [#]	3.53±2.86	168.63±112.82	853.40±16.44	6.56±4.49	0.20±0.14	109.31±41.42	1.50±0.68	0.19±0.08	0.34±0.31	
4 [#]	3.42±0.39	131.19±41.09	992.33±463.54	7.31±1.55	0.14±0.03	114.54±37.33	0.98±0.08	0.14±0.03	0.20±0.02	
5 [#]	2.50±1.48	115.27±34.77	1149.82±462.67	11.27±5.19	0.08±0.06*	102.95±30.81	4.98±8.25	0.08±0.06*	0.37±0.23	
6 [#]	2.64±1.33	126.84±25.96	701.77±151.71	5.76±1.80	0.19±0.06	100.28±12.78	1.16±0.24	0.19±0.06	0.30±0.10	
7 [#]	1.92±1.09	862.45±434.67	862.45±434.67	5.18±3.19	0.28±0.21	121.21±14.66	1.35±0.26	0.28±0.21	0.50±0.36	
8 [#]	1.50±0.90	499.99±235.68	499.99±235.68	2.36±1.56*	1.12±1.63	90.74±33.16	1.11±0.31	1.12±1.63	1.92±3.40	
9 [#]	3.10±2.16	648.00±261.42	648.00±261.42	7.94±7.86	0.44±0.63	78.66±34.58	1.06±0.24	0.44±0.63	0.73±1.12	

注: *与对照组比, $P<0.05$; Ka: 吸收速率常数, A: 混杂参数 1, AUC: 曲线下面积, MRT: 平均滞留时间, Lz: 最小(慢)消除速率常数, Cmax calc: 最高浓度计算值, Tmax calc: Cmax calc 对应的时间, Kel: 中央室消除速率常数, T1/2 Ka: 吸收相半衰期。

方、黄连、吴茱萸、5[#]方。

本实验除对对乙酰氨基酚相对生成量斜率进行进一步的组间协方差分析外,还对正交设计的戊己丸9个复方各剂量水平(黄连、吴茱萸、白芍各自的大、中、小3个剂量水平)间、各因素(分别为黄连、吴茱萸、白芍3个因素)间进行多因素方差分析,统计结果表明,黄连零水平(对照组或吴茱萸、白芍单味药组)与大剂量水平比较,对CYP1A2酶活性影响具有显著性差异,且随着黄连剂量水平的增大,酶活性呈增高趋势;吴茱萸大剂量水平与小、中剂量两水平比较,对CYP1A2酶活性影响具有显著性差异,也即戊己丸复方中引入小、中剂量水平的吴茱萸可以增高CYP1A2酶活性,但高剂量吴茱萸对CYP1A2酶活性有抑制作用;白芍零剂量与小剂量水平间、中剂量与大剂量水平间比较,对CYP1A2酶活性影响具有显著性差异,也即戊己丸复方中引入小、中剂量水平的白芍可以增高CYP1A2酶活性,但高剂量白芍对CYP1A2酶活性有抑制作用。

综上,戊己丸各因素、水平均可能对CYP1A2酶活性造成影响,各因素水平交互作用造成了上述戊己丸提取物不同配伍组方对CYP1A2酶活性的影响结果。

三、讨 论

CYP1A2是CYP450的重要同工酶之一,主要在肝脏表达,人类CYP1A2的含量约占肝脏CYP450总量的13%,参与咖啡因(90%以上的咖啡因清除由该酶介导)、非那西丁、醋氨酚等20多种药物的代谢,并且在10多种前致癌物的激活或灭活中发挥重要作用^[7-9]。

中药成分复杂,并有可能在体内对CYP450酶活性造成影响,进而导致多药合用产生的代谢性药物相互作用,另一方面如能探明不同中药(或成分)对CYP450酶的不同影响作用,可指导临床合理用药,增加疗效,避免毒副作用的发生。

中药应用多为复方,这也是中医治病的主要形式,中药配伍使用也是中医辨证论治理论的精髓。但迄今为止,中医药的科学应

用、中医药的创新发展和全球推广也还处在初级阶段,中医药的现代化研究任重道远。

1. 中药(复方)的现代化研究,终极目标是优化中药的临床应用

(1)复方甄选及优化。

古今浩瀚医书记载的诸多方剂,及现代临床医生之经验用方,如此万千之多的中药复方,可归为3类:A类,妙方(该类复方配伍的数、量比堪称绝妙,对比单方具有治疗效果质的飞跃,也即将“七情和

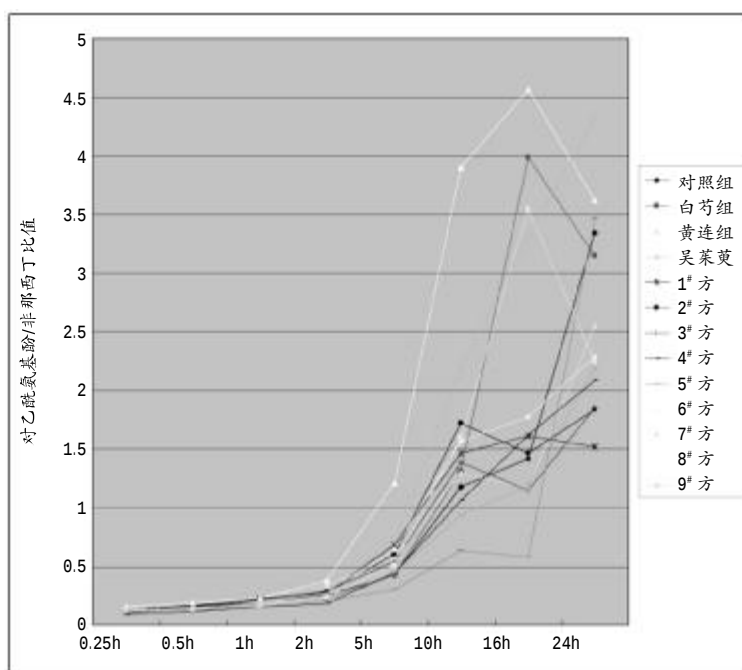


图4 各组不同时间点对乙酰氨基酚/非那西丁比值均值集合折线图

表3 各组不同时间点对乙酰氨基酚/非那西丁比值均值直线拟合方程数据

	R ²	d.f.	F	Sigf	b0(截距)	b1(斜率)
对照组	0.964	5	132.05	0.000	0.1001	0.0877
白芍组	0.895	5	42.41	0.001	-0.2052	0.2247
黄连组	0.868	5	32.94	0.002	0.1897	0.0749
吴茱萸	0.983	5	283.65	0.000	0.1036	0.0715
1 [#] 方	0.948	5	91.51	0.000	0.1326	0.1037
2 [#] 方	0.843	5	26.76	0.004	0.1495	0.1020
3 [#] 方	0.825	5	23.65	0.005	0.1632	0.0778
4 [#] 方	0.993	5	761.31	0.000	0.0328	0.0988
5 [#] 方	0.873	5	34.30	0.002	0.1359	0.0338
6 [#] 方	0.954	5	104.56	0.000	0.0951	0.1159
7 [#] 方	0.950	5	95.70	0.000	-0.1312	0.2085
8 [#] 方	0.955	5	105.82	0.000	-0.0209	0.3106
9 [#] 方	0.985	5	330.72	0.000	-0.0441	0.2092

合”中增效的“相须、相使”,减毒的“相畏、相杀”发挥得淋漓尽致),B类,庸方(为单方的简单相加,并无伍用的妙处,也未导致七情中的“相恶、相反”),C类,伪方(真实疗效无或比单方少,毒副作用却大过单方应用,其之所以能传世或得以应用,完全是医者本身对于患者的心理安慰作用,此类复方作为安慰剂碰巧治好了患者,医者也即把该复方作为有效方记录在案,但此方有可能比安慰剂仅无真实治疗作用危害大,有可能引发不易察觉的慢性肝肾损伤等毒副作用);如何进行中药的现代化研究,科学地将3类复方去伪存妙、变庸为妙是中药临床应用优化的首要目的,也是中医药科研工作者最艰巨的任务。

(2)药材资源及质量控制,GAP、GMP,以及生物技术的应用,如“中药基因组计划”等。

(3)科学炮制。

(4)剂型改进。

(5)新药研制。

(6)可持续发展。

(7)中药产业化。

(8)知识产权保护。

(9)人才培养。

2. 中药药代研究,其最终目的是要与临床应用联系起来,解决临床应用相关难题

(1)指导临床给药。

个体方剂针对特定征候、病症,具有相应治疗效应(特定主效应),主效应的物质基础应是有限多个化学成分,那么,研究得到主效应物质基础的药动学过程参数,可以制定相应的给药剂量、给药途径、用药间隔等优化的给药方案。

(2)揭示方剂配伍理论在药动学方面的科学性,及发挥去伪存妙、变庸为妙的功能。

证实或者优化组方,证明或者促使中药复方中有效物质成分吸收增多加快、排泄代谢减少减慢,或毒性成分吸收减少减慢、排泄代谢增多加快,以及证实或优化组方,令体内中药活性物质的种类、数量的变化变为可知、可控。

目前,中药药代研究尚不能满足上述实际应用需要,本课题组也一直致力于中药药代研究的方法学探索、常见复方的药代创新性研究等工作,并初步建立了中药(复方)药代动力学研究平台。本实验试图从药动学角度阐述戊己丸的配伍机理,以期指导临床上的优化给药。已有文献及本课题有关戊己丸

药效研究皆表明不同配伍(比)戊己丸在药效上各有侧重点,配比不同可导致药效不同,药效离不开药效物质基础,那么以体内药效物质基础(本文前述复方配伍机理存在体外、体内两方面机理,为排除戊己丸配伍可能存在的体外机理,本实验采用先制备单方提取物,再以单方提取物按不同比例制备戊己丸复方)为研究着入点,可以认为:不同配比的戊己丸进入机体,其有效物质成分由于戊己丸配比不同也相应存在量、比的不同,不同量、比的戊己丸有效物质基础(可以是戊己丸原型药物成分,也可以是原型成分的代谢产物或者被机体活化、转化变构的新型活性成分)在体内的吸收、分布、代谢和排泄特征(ADME)也应存在差异。由此,可以推导:正是由于不同量、比的戊己丸有效物质在体内的ADME特征差异,以及不同量、比的各有效成分之间协同、制约等复杂的相互作用差异,造成了戊己丸效应器官所接受的有效物质刺激浓度、交互方式和时间等的不同,从而导致了不同配比戊己丸药效学上的差异。但是,戊己丸本身所含的、可能的有效物质成分情况太过复杂(这也是中药复方药代动力学的研究难点所在),以目前技术手段难以搞清楚各有效成分的ADME特征参数及相互作用规律。由此,我们进行逆向推理:有效物质的ADME过程及要实现相互协同、制约的作用结果,就必须通过机体的吸收、分布、代谢和排泄等器官功能或代谢酶来实现,而中药又存在多靶点、对机体影响关系复杂等特点,其很有可能对处置中药本身的ADME器官功能及代谢酶活性造成影响,受影响的ADME器官或代谢酶则反过来会影响中药有效成分的ADME及相互作用特征,如前所述,这将导致中药在药效学上的差异。那么,如能证明不同配伍中药对ADME器官或药物代谢酶造成了不同的影响作用,则能从药动学角度阐述中药复方在药动学层面的配伍机理。

肝脏是药物处置的最重要器官之一,肝脏CYP450酶则是最重要的药物代谢酶,本课题组建立的中药药动学平台技术可以较好研究中药对CYP450酶的6种同工酶(CYP1A2,CYP2A6,CYP2C19,CYP2D6,CYP2E1,CYP3A)的活性影响。本实验所得出的不同配比戊己丸体内对CYP1A2酶活性的影响规律,其临床意义、或者对于优化中药临床应用的意义在于:可以将本法研究模式应用于其他中药复方的配伍机理探讨,科学阐述中药作用机理,

打破中药作用“黑箱子”桎梏,推广、普及中药的临床使用;实验表明,戊己丸体内可以对 CYP1A2 酶活性造成较大影响,如戊己丸与他药合用,需防范不良的代谢性药物相互作用;本实验以正交法设计戊己丸 3 因素 3 水平交互实验点,取代表性(正交的 9 个实验点可以兼顾各因素的各个水平实验)的 9 个实验点阐述不同配比戊己丸对 CYP1A2 酶活性的影响规律,结合戊己丸的临床应用,如药效是偏重于黄连方面的,并且进一步的药效研究能表明此方面药效主要来自于黄连的代谢产物。根据本实验结果,临床应用戊己丸可以加大黄连在复方中的剂量水平,减少吴茱萸、白芍在复方中的剂量比例,可达到良好治疗效果,如药效研究表明来自于黄连原型成分。临床应用可以适当加大黄连的剂量水平,另外增加吴茱萸或白芍在方中的剂量比例,可达到良好治疗效果;如药效是偏重于吴茱萸、白芍方面的,根据本实验结果及结合进一步的吴茱萸、白芍药效研究,可以相应有针对性的调整戊己丸 3 味药之间的比例。

参考文献

- 1 宫海民,王兆淦,段文卓. 戊己丸镇痛、抗炎作用的实验研究. 中国中医药科技, 1998, 5(3):147~148.
- 2 王姬杰,董宇,朱晓新. 戊己丸提取物不同配伍方对豚鼠离体结肠运动影响的实验研究. 中国中药杂志, 2007, 32(20): 2161~2165.
- 3 方福德,程书钧,田玲. 建设研究型医院促进转化医学发展. 中国卫生政策研究, 2009, (7): 16~19.
- 4 徐幻,刘玉秀,杨国斌,等. 转化医学:从理念到实践. 中国全科医学, 2010, (22): 2536~2538.
- 5 王江. 构筑转化医学研究体系, 促进交叉学科蓬勃发展. 科技传播, 2010, (18): 81~83.
- 6 黄新武,肖顺汉. 中药药代动力学研究方法进展. 四川生理科学杂志, 1999, (2): 12~16.
- 7 成碟,徐为人,刘昌孝. 细胞色素 P450(CYP450)遗传多态性研究进展. 中国药理学通报, 2006, (12): 1409~1414.
- 8 扈金萍,陈晖,李燕. 双环醇对大鼠 CYP450 同工酶及 II 相酶的影响. 中国新药杂志, 2009, (4): 340~344.
- 9 呼自顺,王璐,张弋,等. Cocktail 探针药物法评价黄芩对大鼠 CYP450 活性的影响. 中国医院药学杂志, 2010, (2): 108~110.

Effects of Wuji Pills with Different Compatibility on CYP1A2 in Vivo and Its Clinical Significance

Weng Xiaogang, Li Yujie, Yang Qing, Liang Rixin, Wang Yiwei,

Liu Xiaoni, Han Xiao, Sui Feng, Chen Ying, Zhu Xiaoxin

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: Wuji Pills, a prescription of traditional Chinese medicine (TCM), are composed of Rhizoma Coptidis, Fructus Evodia Rutaecarpa and Radix Paeoniae Alba. This study aimed to investigate the effects of Wuji Pills with different compatibility on the levels of enzymatic activity of CYP1A2 in rat in vivo. The compatibility mechanism of Wuji Pills was also studied to confirm the relation between TCM compound prescription and its metabolism. This study also intended to make better scientific administration suggestions to the clinical application of Wuji Pills. Using phenacetin as a probe in vivo, levels of enzymatic activity of CYP1A2 were detected by high-performance liquid chromatography (HPLC). And the investigated drugs were 12 sorts of Wuji Pills, including 3 single herbs of Wuji Pills, 9 compound Wuji Pills with different ratio according to orthogonal design. The investigated drugs were marked from No.1 to No.9. The results showed that the administration of Wuji Pills significantly affected the process of probe and the metabolites in vivo in animals. From the high-level activity of CYP1A2 to the low-level, the sequence of the 12 sorts investigated drugs groups is: No.8, Radix Paeoniae Alba, No.9, No.7, No.6, No.1, No.2, No.4, control group, No.3, Rhizoma Coptidis, Fructus Evodia Rutaecarpa, and No.5. It was concluded that Wuji Pills with different compatibility, which have different pharmacodynamics and pharmacokinetics characteristics, are likely to be due to the different compatibility on CYP1A2. Conclusions made from this study can be used the scientific application of Wuji Pills.

Keywords: Wuji Pills, Compatibility of TCM, CYP1A2, Pharmacokinetics of TCM, Clinical application

(责任编辑:李沙沙 张志华, 责任译审:王 晶)