

大黄治疗阳虚便秘模型大鼠的整合 PK/PD 研究

龚小红, 周忆梦, 郑立, 汤韵秋, 龚莉虹, 余琳媛, 李芸霞*, 彭成*

(成都中医药大学, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室,
培育基地/中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137)

摘要: 基于中药系统研究原则建立大黄治疗阳虚便秘大鼠的整合药动学/药效学 (pharmacokinetics/pharmacodynamics, PK/PD) 模型。采用食醋和冰水活性炭建立大鼠阳虚便秘模型, 大黄水煎液按相当于生药 $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量灌胃给药后于 0、5、10、15、30、60、120、240、480、720 和 1440 min 时间点眼眶取血 0.5 mL, HPLC 测定芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚的血药浓度, ELISA 法测定大鼠血浆中胃动素 (motilin, MTL)、胃泌素 (gastrin, GT)、内皮素 (endothelin, ET) 以及血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 的活性。采用 SPSS 21.0 软件进行成分相关性分析以及主成分分析, 采用 WinNonlin 6.30 软件进行整合 PK/PD 模型拟合。与正常大鼠的药动学参数比较, 大黄素在模型大鼠体内表现出吸收好、消除慢的特点; MTL 在模型大鼠体内含量明显低于正常大鼠。主成分分析得到浓度和效应的综合值以有滞后时间的 Sigmoid- E_{\max} 模型连接。建立了大黄治疗阳虚便秘的整合 PK/PD 模型, 为大黄治疗阳虚便秘的物质基础和作用机制提供新的研究方向。

关键词: 大黄; 药动学; 药效学; 主成分分析; 整合药动学/药效学

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 04-0561-06

Study on integrated PK/PD of rhubarb in the treatment of yang-deficiency constipation model rats

GONG Xiao-hong, ZHOU Yi-meng, ZHENG Li, TANG Yun-qiu, GONG Li-hong,
YU Lin-yuan, LI Yun-xia*, PENG Cheng*

(State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources Co-founded by Sichuan Province and MOST / The Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

Abstract: Study on the integrated pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) model of rhubarb in rats with yang-deficiency constipation based on the principle of traditional Chinese medicine system. The rat model of yang-deficiency constipation was established using vinegar and ice water containing activated carbon. The blood samples with 0.5 mL were collected from orbital venous plexus at 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 720, 1440 min time points after oral administration of rhubarb decoction, and the dosage is equivalent to crude drug $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The concentration of aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol in rat plasma were determined by HPLC, and ELISA method was used to detect the activities of motilin (MTL), gastrin (GT), endothelin (ET) and vasoactive intestinal peptide (VIP) at different time points in serum. SPSS 21.0 software was used for analysis of component correlation and principal component, and WinNonlin 6.30 software was used to fit PK/PD model. Compared with the pharmacokinetic parameters of normal rats, in addition to emodin in the model

收稿日期: 2017-10-31; 修回日期: 2017-12-28.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81630101); 国家自然科学基金面上项目 (81373943); 四川省科技厅省青年科技创新研究团队专项计划项目 (2017TD0001).

*通讯作者 Tel: 86-28-87716140, E-mail: lyxcdutcm@126.com; pengchengsub@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-1075

rats showed characteristics of good absorption and slow to elimination; the content of MTL in model rats was significantly lower than that in normal rats. The composite values of the concentration and effect obtained by principal component analysis were connected by Sigmoid- E_{\max} model. We established the integrated PK/PD model of rhubarb in treating yang-deficiency constipation to provide a new research direction for the material basis and mechanism of rhubarb treatment of yang deficiency constipation.

Key words: rhubarb; pharmacokinetics; pharmacodynamics; principal component analysis; integration of pharmacokinetics/pharmacodynamics

药代动力学 (pharmacokinetic, PK) 和药效动力学 (pharmacodynamic, PD) 分别研究药物在体内动态变化过程和体内效应动力学的过程, 在相当长的一段时间内对 PK 和 PD 的研究是分别进行的, 忽视了两者之间的内在联系, 造成了研究结果在理论和实际意义上的局限性^[1, 2]。Sheiner 等^[3]于 1979 年提出作用于效应室的药代动力学/药效动力学结合模型 (PK/PD model), 揭示了“血药浓度-时间-效应”三者之间的内在关系, 更明确地阐述药物效应随血药浓度及时间的变化规律。目前中药多组分 PK/PD 研究大多局限于“点-系统”的研究^[4], 中药的多成分、多靶点、多途径的作用特点使其药效同样具有多样性。因此, 建立与中药活性成分群及其血药浓度与中药多组分网络药理中特定途径、环节或靶点的效应之间的 Σ PK- Σ PD 结合模型, 即“系统-系统”的研究方法才能较好地把握中药多组分作用的整体特征^[5]。

大黄作为临床治疗便秘的常用中药, 具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒等功效^[6]。大黄成分较多, 而蒽醌类化合物作为其发挥泻下的主要成分, 药理研究表明, 大黄可通过多成分、多靶点、多途径发挥泻下作用^[7]。因此本部分实验基于大黄泻下的理论, 同时结合前期建立的大黄成分分析的 HPLC 方法^[8], 以正常和阳虚便秘大鼠作为实验研究对象, 探讨大黄灌胃给药后各时间点的药效成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素和大黄酚对治疗阳虚便秘体内效应成分胃动素 (motilin, MTL)、胃泌素 (gastrin, GT)、内皮素 (endothelin, ET) 以及血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 的影响, 建立大黄活性成分群与药效指标群之间的整合 PK/PD 模型, 为更明确阐述大黄在治疗阳虚便秘的物质基础和作用机制之间的联系提供实验依据。

材料与方法

仪器 岛津高效液相色谱仪 LC-20AT (日本岛津公司); BP-211D 型十万分之一电子分析天平 (德国

Sartorius 公司); KQ-5200E 型超声清洗波器 (昆山市超声仪器有限公司); Vortex-Genie 2 涡旋振荡器 (美国 Scientific Industries 公司); TG16-WS 型台式高速离心机 (湘仪离心机有限公司); Multiskan MK3 酶标仪 (美国 ThermoFisher 公司)。

药品与试剂 对照品大黄酸 (rhein, 批号: MUST-11032801)、大黄素 (emodin, 批号: MUST-12022715)、芦荟大黄素 (aloe-emodin, 批号: MUST-10112301)、大黄酚 (chrysophanol, 批号: MUST-11122472) 均购置于成都曼斯特生物科技有限公司; 1,8-二羟基蒽醌 (中国食品药品检定研究院, 批号: 0829-9702); 大鼠 MTL 试剂盒、GT 试剂盒、ET 试剂盒以及 VIP 试剂盒均购置于美国 R&D 公司; 肝素钠 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20091029); 甲醇和甲酸均为色谱级 (美国 Fisher 公司), 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。大黄药材均购自四川荷花池药材市场, 经成都中医药大学大学生药鉴定室严铸云教授鉴定为正品大黄。

实验动物 SD 大鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体重 200~220 g, 由四川省中药研究所实验动物研究中心提供, 合格证号: SCXK (川) 2013-15, 经检疫后合格备用。饲料为成都中医药大学实验动物中心配制提供, 自由饮用无菌水, 环境室温约 20~25 °C 左右, 12 h 昼夜交替饲养。

样品制备 称取大黄粗粉 50 g, 加 10 倍量的水浸泡 30 min, 煮沸后煎煮 15 min, 过滤, 滤渣加 8 倍量水再煎煮 15 min, 过滤, 合并两次滤液, 旋转蒸发器减压浓缩成每毫升 0.5 g 生药, 4 °C 保存备用。

造模与分组 SD 大鼠雌雄各半, 分成空白正常组、空白模型组、大黄正常组以及大黄模型组, 每组 6 只。空白模型组以及大黄模型组的阳虚便秘大鼠模型的建立均参照文献^[9, 10]造模方法进行。待模型建立后, 大黄正常组及模型组均按照 2.5 g·kg⁻¹ 的剂量灌胃给药大黄水煎液, 各空白组均给以等量的生理盐水。

血样采集与处理 大鼠灌胃给药后, 分别于 0、

5、10、15、30、60、120、240、480、720 和 1440 min 眼眶取血 0.5 mL 于含有肝素钠的抗凝管中, 3 500 r·min⁻¹ 4 °C 离心 10 min, 取上清液血浆备用。取含药血浆 100 μL 加入 5 mL 离心管中, 加内标液 (质量浓度为 200 ng·mL⁻¹) 10 μL, 涡旋 30 s 后加 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸 50 μL 和乙酸盐缓冲液 (pH 5) 50 μL, 涡旋 30 s, 加乙酸乙酯 4 mL, 涡旋 5 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 转移上清液至新的离心管中, 氮气吹干, 用流动相 100 μL 进行复溶, 进样测定血浆中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚的含量。

色谱条件 岛津高效液相色谱仪 LC-20AT (日本岛津公司), 色谱柱为依利特 (SB-C18 200 mm × 4.6 mm, 1.8 μm, 柱号 E2214054), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-甲醇 (20 : 80) 以 1.0 mL·min⁻¹ 流速进行洗脱, 柱温 25 °C, 检测波长 254 nm, 进样量 20 μL, 分析时间 30 min。

药效学指标的检测 将每组的各个时间点血浆 50 μL 加入到 96 孔酶标板中, 分别按照 MTL、ET、VIP 以及 GT 试剂盒说明书进行操作, 在检测波长 450 nm 下测定吸光度 A, 采用标准曲线法计算血浆中 MTL、ET、VIP 以及 GT 的活性。

相关性分析 采用 SPSS 21.0 软件进行相关性分析, 以 Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 检验值 ≥ 0.7 和球形 Bartlett 检验值 $P < 0.05$ 为标准, 判断变量间是否存在较小的偏相关以及其相关阵是否是单位矩阵, 验证各成分之间的相关性。

主成分分析 采用 SPSS 21.0 软件将药理学分析成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚进行降维处理, 以累计贡献率 > 90% 为标准提取主成分 $\lambda_1, \lambda_2 \dots \lambda_i (i \leq n, n = 4, \text{即成分个数})$, 通过计算各成分占主成分的比例得到初始因子载荷矩阵 $C_n (n = 1, 2, 3, 4)$; 根据公式 $B_n = \sqrt{C_n / I_i} (i \leq n, n = 1, 2, 3, 4)$ 得到主成分中每个成分所对应的系数, 然后利用公式 $A_n = \frac{B_n}{\text{SQR}(I_i)} (i \leq n, n = 1, 2, 3, 4)$ 计算每个成分的特征向量, 再根据公式 $F_n = \sum_{n=1}^4 Z_n X_n (n = 1, 2, 3, 4)$;

Z_n 为各成分经标准化的数据, X_n 为各成分在特征向量 A_n 中的对应的相关系数值) 计算得到每个主成分所对应的特征值 $F_n (n = 1, 2, 3, 4)$ 。各主成分所对应的特征值与相对应的贡献率乘积计算主成分综合模型, 根据计算公式 $F_{PK} = F_1 \times M_1\% + F_2 \times M_2\% + F_3 \times M_3\% + F_4 \times M_4\%$ (M 为对应的主成分的贡献率), 从而计算得

到整合 F_{PK} ; 同样, 药效学指标 MTL、GT、ET 和 VIP 亦按上述方法进行分析, 得到整合 F_{PD} 。

PK/PD 模型建立 采用固定 PK 的参数建立整合 PK/PD 模型。以赤池信息判据最小原则 (Akaike's information criterion, AIC) 为主要拟合优度参数, 采用 WinNonlin 6.30 软件选择最佳药效动力学模型; 以整合后的血药浓度综合值 F_{PK} 为 X 轴, 以效应指标整合后的变化综合值 F_{PD} 为 Y 轴进行药效-浓度曲线的拟合, 判定药物浓度与药效之间是否存在滞后现象, 以 Sigmoid- E_{max} 模型建立血药浓度和效应室之间的关系式 $E = (E_{max} \times C^S) / (EC_{50}^S + C^S)$ (其中 E 为任意时刻药物效应值, C 为整合后在效应室内任意时刻的浓度, E_{max} 为药物产生的最大效应值, EC_{50} 是最大药效 50% 时所对应的整合浓度值, S 为形状因子)。

统计方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行单因素方差分析比较组间差异, 数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 以及 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

结果

1 大黄给药正常和模型大鼠的药动学研究

采用 HPLC 方法测定不同时间点芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚的血药浓度^[8]。利用 WinNonlin 6.30 软件对各成分的血药浓度进行非房室模型的药动学分析, 得到芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚的平均药时曲线, 结果见图 1; 各成分在正常和模型大鼠体内的药动学参数结果见表 1。结果显示, 大黄素在阳虚便秘模型大鼠的药动学参数最大血药浓度 (C_{max}) 和药时曲线下面积 ($AUC_{0-\infty}$) 值较正常大鼠大 ($P < 0.05$), 大黄酸在阳虚便秘模型大鼠的 C_{max} 和 $AUC_{0-\infty}$ 值较正常大鼠小 ($P < 0.05$); 大黄素在模型大鼠体内的平均滞留时间 (MRT) 和半衰期 ($t_{1/2}$) 均明显长于正常大鼠 ($P < 0.05$)。

2 大黄给药正常和模型大鼠的药效学研究

大黄给药正常和阳虚便秘模型大鼠后 24 h 内, 不同时间点血浆中 MTL、GT、ET 以及 VIP 的水平变化, 结果显示, 模型大鼠给药前后血浆中 MTL 的含量均较正常大鼠低 ($P < 0.01$), 模型大鼠的 GT、ET 以及 VIP 的含量也较正常组低, 但无显著性差异。见表 2。

3 整合 PK/PD 模型建立

3.1 相关性分析 将芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚血药浓度-时间数据导入 SPSS 21.0 中进行相

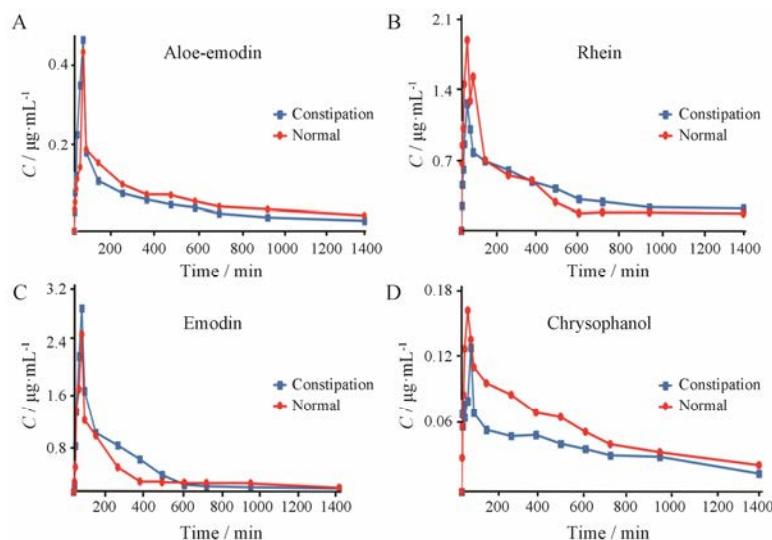


Figure 1 Mean plasma concentration-time curves of aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol respectively in normal and constipation rats after intragastric administration rhubarb decoction at dose of 0.5 g·kg⁻¹. n = 6

Table 1 Pharmacokinetic parameters rhubarb of aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol in normal and constipation rats after intragastric administration rhubarb decoction. n = 6, $\bar{x} \pm s$. *P < 0.05 vs normal group

Parameter	Aloe-emodin		Rhein		Emodin		Chrysophanol	
	Normal	Constipation	Normal	Constipation	Normal	Constipation	Normal	Constipation
C _{max} /µg·mL ⁻¹	0.41 ± 0.09	0.44 ± 0.19	0.18 ± 0.034	0.13 ± 0.03*	2.42 ± 1.40	3.16 ± 1.34*	0.17 ± 0.02	0.12 ± 0.03
AUC _{0-∞} /min·µg·mL ⁻¹	107.63 ± 29.04	84.90 ± 28.16	68.68 ± 8.28	42.77 ± 21.57*	354.62 ± 165.80	410.81 ± 158.10*	65.51 ± 31.88	54.62 ± 13.54
MRT/min	320.51 ± 54.31	369.66 ± 178.73	496.34 ± 35.44	429.97 ± 210.97	363.96 ± 106.22	452.38 ± 113.07*	417.51 ± 202.00	452.32 ± 76.71
t _{1/2} /min	443.68 ± 172.40	416.50 ± 202.78	576.41 ± 111.12	543.92 ± 272.12	382.37 ± 124.75	491.07 ± 39.55*	491.51 ± 233.32	550.22 ± 101.51
t _{max} /min	40.00 ± 5.18	39.00 ± 8.22	36.00 ± 13.42	41.00 ± 9.12	33.00 ± 10.43	36.00 ± 13.42	30.00 ± 10.61	38.00 ± 8.91

Table 2 Pharmacodynamics indicators content of vasoactive intestinal peptide (VIP), motilin (MTL), gastrin (GT) and endothelin (ET) in normal and constipation rats plasma at different time points after intragastric administration of rhubarb decoction. n = 6, $\bar{x} \pm s$. **P < 0.01 vs normal group

t/min	MTL/pg·mL ⁻¹		GT/ng·L ⁻¹		ET/µg·L ⁻¹		VIP/ng·L ⁻¹	
	Normal	Constipation	Normal	Constipation	Normal	Constipation	Normal	Constipation
0	31.13 ± 0.65	19.82 ± 1.32**	3.65 ± 0.54	2.92 ± 0.36	7.69 ± 0.19	7.00 ± 0.24	4.20 ± 0.29	3.45 ± 0.19
5	30.31 ± 0.78	21.33 ± 1.77**	4.21 ± 0.76	3.25 ± 0.39	7.72 ± 0.34	7.54 ± 0.51	4.65 ± 0.39	3.68 ± 0.15
10	31.30 ± 1.20	22.05 ± 0.74**	4.42 ± 1.06	3.44 ± 0.34	7.66 ± 0.32	7.87 ± 0.52	4.82 ± 0.47	3.92 ± 0.29
15	31.19 ± 1.17	21.56 ± 1.59**	4.65 ± 0.74	3.22 ± 0.41	8.11 ± 0.86	8.07 ± 0.44	5.14 ± 0.69	4.14 ± 0.38
30	31.75 ± 1.25	21.51 ± 1.81**	4.22 ± 0.56	3.25 ± 0.37	7.69 ± 0.45	7.86 ± 0.52	5.24 ± 0.42	3.82 ± 0.29
60	31.26 ± 0.40	19.74 ± 1.33**	4.13 ± 0.60	3.37 ± 0.37	7.96 ± 0.90	7.28 ± 0.19	4.50 ± 0.63	3.58 ± 0.11
120	31.28 ± 1.23	20.23 ± 1.21**	3.93 ± 0.69	3.24 ± 0.37	7.83 ± 0.43	7.14 ± 0.35	4.51 ± 0.52	3.45 ± 0.15
240	31.54 ± 0.88	19.46 ± 1.14**	3.57 ± 0.53	3.17 ± 0.41	8.00 ± 0.78	6.92 ± 0.33	4.30 ± 0.47	3.37 ± 0.25
480	31.03 ± 0.87	17.65 ± 0.61**	3.01 ± 0.29	3.02 ± 0.35	8.04 ± 0.71	6.85 ± 0.18	4.22 ± 0.45	3.24 ± 0.34
720	30.97 ± 1.40	17.06 ± 0.72**	3.07 ± 0.41	3.21 ± 0.40	7.62 ± 0.56	6.76 ± 0.22	4.05 ± 0.29	3.41 ± 0.36
1 440	29.30 ± 3.01	16.40 ± 0.86**	2.77 ± 0.18	2.77 ± 0.25	7.69 ± 0.60	6.74 ± 0.14	3.94 ± 0.19	3.26 ± 0.34

关性分析, 结果得到大黄正常组和大黄模型组的 KMO 分别为 0.788 和 0.746; Barlett 检验值分别为 0.034 和 0.012。药效指标 MTL、GT、ET 以及 VIP 的相关性分析结果得到大黄正常组和大黄模型组的 KMO 值分别为 0.785 和 0.843, Barlett 检验值分别为

0.011 和 0.022。

3.2 数据的降维 采用 SPSS 21.0 软件将具有一定相关性的药动学成分大黄素、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素通过主成分降维处理, 以主成分累积贡献率 > 90% 提取 2 个主成分 λ_{PK1} 和 λ_{PK2}, 初始特征值 F_{PK1}

和 F_{PK2} 分别 3.53 和 0.36, 贡献率 M_{PK1} 和 M_{PK2} 分别为 88.18% 和 8.95%, 累积贡献率 $F_{PK} = 97.13%$ 。药效学指标 VIP、MTL、GT、ET 经过主成分降维处理, 同样得到 2 个主成分 λ_{PD1} 和 λ_{PD2} , 初始特征值 F_{PD1} 和 F_{PD2} 分别为 2.02 和 1.51, 贡献率 M_{PK1} 和 M_{PK2} 分别为 60.52% 和 37.84%, 累积贡献率 $F_{PD} = 98.36%$ 。

3.3 整合后 PK 将整合后的血药浓度经 WinNonlin 6.30 软件中的非房室模型分析方法 (non-compartmental model analysis, NCA) 进行分析。得到大黄水煎液给药正常和阳虚便秘模型大鼠的整合 PK 参数, 见表 3。

Table 3 Integrate pharmacokinetic parameters in normal and constipation rats after principal component analysis. $n=6, \bar{x} \pm s$

Parameter	Normal	Constipation
$C_{max}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.43 ± 0.13	0.41 ± 0.49
$AUC_{0-\infty}/\text{min}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	136.10 ± 8.10	102.71 ± 73.99
MRT/min	616.69 ± 88.78	680.23 ± 293.74
$t_{1/2}/\text{min}$	559.24 ± 67.36	528.62 ± 169.82
t_{max}/min	26.25 ± 14.36	30.00 ± 12.24

3.4 整合后 PD 将 VIP、MTL、GT、ET 浓度值与零时所得到的对应成分的浓度值相减, 得到净值, 即表示给药后由于药物的原因所导致 VIP、MTL、GT、ET 的含量变化结果, 见表 4。

Table 4 Integrate pharmacodynamic values in normal and constipation rats at different time points after principal component analysis. $n=6, \bar{x} \pm s$

t/min	Constipation	Normal	t/min	Constipation	Normal
5	0.07 ± 0.37	0.17 ± 0.20	120	0.26 ± 0.73	0.22 ± 0.74
10	0.17 ± 0.56	0.20 ± 0.37	240	0.15 ± 0.59	-0.10 ± 0.42
15	0.18 ± 0.71	0.33 ± 0.52	480	-0.13 ± 0.20	-0.08 ± 0.40
30	0.38 ± 0.85	0.36 ± 0.45	720	-0.16 ± 0.30	-0.17 ± 0.46
60	0.56 ± 0.60	0.42 ± 0.43	1440	-0.40 ± 0.32	-0.23 ± 0.71

3.5 整合 PK/PD 模型建立 采用 WinNonlin 6.30 软件处理, 根据 AIC 值越小则模型拟合越好的判断原则, 建立了以有滞后时间的 Sigmoid- E_{max} 的 PK/PD 模型。整合血药浓度的达峰时间为给药后 30 min 左右, 药物效应的达峰时间为给药后 60 min 左右, 存在滞后现象, 即效应与血药浓度不直接相关浓度曲线, 结果见图 2。拟合结果显示, 蒽醌成分整合后, 房室 PK 模型以有滞后时间的一房室模型较优, 体内 PD 模型以 Sigmoid- E_{max} 拟合, 因此选择 Sigmoid- E_{max} 模型与一房室 PK 模型进行效应室间接联结, 并得到药效动力学模型参数结果, 见表 5。

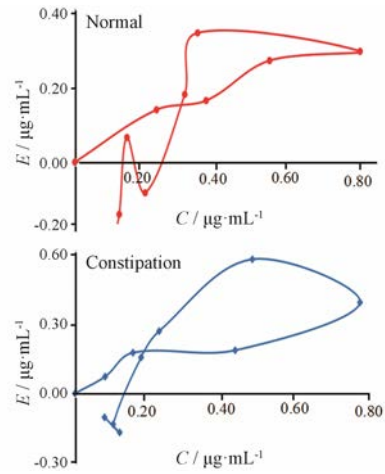


Figure 2 Integrate concentration and effect profiles after oral administration of rhubarb decoction in yang-deficiency constipation model rats. $n=6$

Table 5 Integrate PK-PD model parameters in normal and constipation rats. CI: Confidence interval. $n=6, \bar{x} \pm s$

Group	Parameter	Estimate	CV%	Lower limit of CI	Upper limit of CI
Normal	$E_{max}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	0.42	2 168.35	-17.42	18.27
	$EC_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.23	586.55	-2.42	2.87
	K_{eo}/h^{-1}	4.02	19.64	-2.47	5.58
	S	0.86	24.33	-0.45	1.29
Constipation	$E_{max}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	0.39	1 534.60	-11.33	12.14
	$EC_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.21	892.25	-3.45	3.87
	K_{eo}/h^{-1}	4.73	75.71	-2.29	11.75
	S	0.46	61.58	-0.095	1.02

讨论

大黄蒽醌作为大黄泻下的主要成分, 包括结合蒽醌和游离蒽醌, 研究发现, 结合蒽醌进入体内后, 经过肠道菌群代谢为游离蒽醌进而发挥作用^[11], 因此, 本实验以游离蒽醌中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚为药动学指标。大黄煎液分别灌胃给药正常和便秘大鼠后, 比较单个成分在正常和模型大鼠的药动学参数 C_{max} 和 $AUC_{0-\infty}$, 结果显示正常和模型大鼠对成分的吸收无显著性差异, 同时反映出机体对大黄素的吸收程度较其他成分高; 比较单个成分在正常和模型大鼠的半衰期, 结果显示大黄素和大黄酚在模型大鼠体内消除速率较正常大鼠慢, 而大黄酸和芦荟大黄素在模型大鼠体内消除反而较快。大黄游离蒽醌各成分在体内的药动学特征不一样, 其整体特征才是作为发挥泻下作用的药效物质基础。

便秘作为一个多因素的胃肠道疾病, 其病因以及发病机制较为复杂。本实验采用多效应指标整合方法, 结合前期实验结果, 选用 MTL、GT、ET 和 VIP

作为与阳虚便秘相关的药效指标,其中VIP作为一种主要的抑制性神经递质,舒张肠平滑肌和血管平滑肌的同时增强胃肠道黏膜的分泌活动^[12];MTL能加速胃排空,促进消化道运动^[13];GT对整个胃肠道均有作用,包括抑制胃底和胃体运动,达到降低胃内压,延缓液体胃排空,同时还能促进胃窦收缩^[14];ET对血管具有强烈的收缩作用,能增强胃肠道平滑肌收缩^[15]。结果发现,给药前后,正常大鼠和模型大鼠之间MTL的含量均存在显著差异,其他指标的含量无明显差异。

在中医药整体观思想指导下,整合PK/PD模型将中药体内药效成分作为整体,将体内效应作为一个整体,进而药物与效应两种不同形式的研究过程整合成一体,作为现代药物研究评价中药作用的一个重要手段^[16]。大黄治疗阳虚便秘的整合PK/PD研究,比较正常和模型大鼠整合后药物与受体之间的亲和力 E_{max} 值和 EC_{50} 值以及效应室和中央室之间平衡速度 K_{eo} 值可以看出,机体对大黄的吸收和分布与生理、病理状态无明显关系;正常和模型的S曲线值反映在有效浓度范围内药物的选择性以及对效应的灵敏度,当 $S > 1$ 时,成为S形曲线,中间部分较陡,当 $S < 1$ 时,低浓度时曲线较陡,但离开 EC_{50} 后,其曲线较平坦,效应接近 E_{max} 很慢,由此表明,正常大鼠对大黄效应灵敏度强于模型大鼠,推测机体对药物的灵敏度是大黄在正常和疾病状态下泻下作用表现出差异的潜在因素。

本实验以大黄成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素以及大黄酚为PK分析成分,以MTL、GT、ET以及VIP为PD分析指标,在“系统-系统”的研究方法指导下建立与中药多组分特点相适应的大黄活性成分群与药效学之间的 Σ PK- Σ PD结合模型,更好解释大黄蒽醌类成分作用的整体特征和体内作用规律,进而能更好地体现出中药多组分、多靶点、多效应、多途径的作用特点,也为大黄治疗阳虚便秘的研究提供新的思路和方法。

References

- [1] Sun MJ, Xu Y. Recent advances and application of pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2010, 27: 1084–1089.
- [2] Zhang ZL, Li Q, Du SM, et al. Research status of pharmacokinetic-pharmacodynamic model and its challenges facing to application in traditional Chinese medicine field [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2013, 44: 121–127.
- [3] Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S, et al. Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics application to *d*-tubocurarine [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1979, 25: 358–371.
- [4] Yu DH, Liu D, Jia XB, et al. Construction of evaluation systems for traditional Chinese medicine multiple drug delivery system on basis of component level [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, 37: 2667–2671.
- [5] Tian L. Based on the Correlation Study Between PK-PD to Research PK Makers in Shuanghuanglian Oral Liquid (基于PK-PD相关性研究双黄连口服液PK markers) [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2012.
- [6] Fu XS, Chen F, Liu XH, et al. Progress in research of chemical constituents and pharmacological actions of rhubarb [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2011, 20: 1534–1538.
- [7] Liu LJ, Zhou C, Song FC, et al. Molecular docking study on the molecular mechanism of rhaponticin for treatment of chronic myelocytic leukemia [J]. *Tradit Med Res*, 2016, 1: 122–127.
- [8] Zhao MJ, Gong XH, Li Y, et al. Influence of dosage on pharmacokinetics characteristics of dahuang in rats [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2017, 6: 1268–1271.
- [9] Peng C, Wang L, Zhao XM. Establishment and evaluation on SD rats model with yang-deficiency and constipation [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2007, 23: 407–409.
- [10] Yan SQ. The actions of rhubarb and other Chinese drugs and compound prescriptions in animals models [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1988, 13: 43–45.
- [11] Men W, Chen Y, Li YJ, et al. Research progress of biotransformation on effective ingredients of Chinese medicine via intestinal bacteria [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2015, 21: 229–234.
- [12] Xiu ZC, Chen Q, Shang WF. Discussion on VIP/NO signal transduction mechanisms of abnormal small intestine function of spleen-deficiency syndrome [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med* (上海中医药杂志), 2006, 40: 55–56.
- [13] Zhao P, Dong L, Lan K, et al. Effects of multiple gut hormones on human interdigestive migrating motor complex [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2005, 25: 95–97.
- [14] Pan JT, Wu P. Advancement of research on the role and signal transduction pathway of gastrin in gastroenteric tumor [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2008, 13: 822–827.
- [15] Chen AD, Li J, Xie HT. Recent research progress in cardiovascular effects of endothelin [J]. *J Traum Surg* (创伤外科杂志), 2011, 16: 937–944.
- [16] Li P, Qi LW, Wen XD, et al. Methods for the elucidation of bioactive components and quality control of traditional Chinese medicines [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2007, 5: 1–9.