

中药多成分药代动力学的新方法和策略研究

王嘉璐

辽源职业技术学院

[摘要]中药药代动力学是借助于动力学原理,研究中草药活性成分、组分、复方在体内吸收、分布、代谢和排泄的动态变化规律及其体内时量——时效关系,评价中药的安全性、有效性。中药药代动力学研究困难,存在着药效成分不明确、成分检测困难等问题,针对这些问题,国内学者开展了许多研究,提出并建立了适合中药特点的多成分药代动力学研究新模式,发展了一批新的研究技术和方法。鉴于此,本文主要分析探讨了中药多成分药代动力学的新方法和策略,以供参阅。

[关键词]中药;多成分;药代动力学

[DOI] 10.12252/j.issn.2096-6261.2021.12.1984

引言

中药及其复方是我国历代医家经过长期实践积累的宝贵财富,其作为一种重要的药用资源用于疾病的预防和治疗已有几千年的历史。近来也吸引西方国家对其进行越来越多的研究和应用。但是,中药中效应成分从体外如何吸收进入体内,效应成分如何在体内分布、代谢和排泄,对于这些动力学过程人们却知之甚少,中药药代动力学研究正是阐明这些问题的根本途径。近年来,中药效应成分药代动力学得到极大关注。通过对中药药代动力学的研究,可以更科学更系统地阐明中药作用的物质基础及作用机制,为探索中药组方原理提供科学依据;为设计及优选中药给药方案提供基础和依据;为研究古方、筛选新方、开发新药提供科学依据和方法;推动中药的现代化和国际化。

1 药物浓度法

该法通过测定给药后不同时间的血药浓度,得到血药浓度-时间数据,然后通过房室分析或非房室分析方法学或生理药理学模型,计算药理学参数,从而阐明效应成分在体内的动态变化规律。此法适用于效应成分明确的中药或中药制剂的药理学研究,也是评价药代动力学特征最常用最准确的一种方法。该法对于新药开发、中药作用机制的阐明及临床合理用药具有重要的意义。有学者认为被选用于药理学研究的指标性成分应该具备以下特征:能代表复方的主要药效成分;是药物的质控指标;在靶器官内有较高的分布;其体内浓度与复方药效在时间上具有密切联系;能被吸收入血;具有可检测性等。

2 生物效应法

(1) 药理效应法:药理效应法是以量效关系、时效关系为基础研究药代动力学的方法,近年来广泛用于中草药及其复方,尤其是有效成分未知的中草药及其复方的药理学研究。崔氏等以超氧化物歧化酶(SOD)升高量为药理效应指标,研究淫羊藿不同炮制品提取物的药理学参数。杜氏等以血压值为效应指标,用时效和量效曲线求得时间-生物体存量曲线,从而分析参附注射液的药理学参数。(2) 药物积累法:药物积累法亦称LD50补量法或急性死亡率法。是将药代动力学中多点动态与动物急性死亡率测定积蓄性方法相结合计算药理学参数。邹氏等在测定斑蝥素药理学参数时,用小鼠半数致死量(LD50)及生化指标表征斑蝥素毒性,结果显示斑蝥素对小鼠肝、肾均有明显毒性,该药在小鼠体内动态变化符合一级动力学。药物积累法的测定指标是药物的毒性作用,只要使动物急性死亡的中药都可用该法测定药理学参数,缺点是毒理效应与药理效应不平行,且致死量和给药

途径与临床用药有一定差别,故所得参数仅具有表现性质。

(3) 微生物指标法:微生物法主要用于有抗菌活性的中药,药物在含有实验菌株的琼脂板上形成菌环,在一定浓度范围内,抗菌药产生的抑菌环直径大小与药物浓度对数呈线性关系。该法简单易行,所测定的药理学指标可直接反应药效。潘氏等以抑菌效应为指标,测定川芎挥发油的药理学参数,结果其药理学过程符合一室开放模型。

3 高效液相色谱法

高效液相色谱是目前中药药代动力学应用最广泛的分离技术,能够分离极性、离子化、不易挥发和热不稳定的化合物,具有分离效率高、适用范围广、选择性好的特点。为进一步缩短高效液相色谱的分析时间、提高分离效率,超高效液相色谱逐渐得到发展,其基于HPLC原理,采用小颗粒填料色谱柱(粒径小于2 μm)和超高压系统(压力大于105kPa),具有分离效率更高、分析速度更快、重现性更好等优点,在中药及中药生物样本的分析中发挥了巨大的优势。Wei等采用超高效液相色谱三重四极杆质谱技术(UPLC-MS/MS)同时测定比格犬灌胃给药补骨脂提取物后血浆中的10种活性成分,研究补骨脂提取物中多成分药代动力学特征,在保证待测的2对同分异构体达到基线分离的同时,每个样本的分析时间仅需8.5min,该方法适用于药理学研究大样本量的分析。

4 高质量响应的离子源法

为了增加ESI源内的去溶剂化效率,电喷雾离子源结构设计经过了一系列改变,主要是通过加热的毛细管 and 高温雾化喷雾,加速ESI液滴表面溶剂的蒸发速率,从而增加目标化合物的质谱响应。Wang等在进行大鼠血浆中6个晶体皂苷的药代动力学测定时,发现利用该技术,仪器的最低定量限可低至0.06ng/mL。ESI源内离子化效率的提高也有助于提高质谱响应。例如,NanoESI可以通过缩小源内液滴的大小加速离子化效率,从而与传统ESI相比具有更好的质谱响应。另外,流体动力漏斗型入口毛细管也有助于增加离子化效率。离子漏斗技术能有效捕集和聚焦毛细管后端离散的离子,而后将其导入质量分析器。该技术不仅可以提高离子传输速率,还可以降低仪器的背景噪音,从而提高质谱响应。

5 二维色谱法

传统一维色谱由于峰容量低和峰重叠的问题,难以实现中药及其代谢物全组分的准确定性和定量^[46],而二维液相或气相色谱在理论上可以提高系统峰容量和分辨率。二维液相色谱按操作模式,可以分为在线和离线二维液相色谱。在线二维液相色谱按组分是否全收集又可以分为在线“中心切割”二维色谱和在线全二维液相色谱。在线二维色谱系统

通过色谱柱切换阀可以将两根不同分离模式的色谱柱进行联用,比如Ren等利用在线中心切割二维高效液相色谱技术,建立了苦荞麦中12个化学成分的定量分析方法,将亲水相互作用色谱用于第一维分离,混合型色谱柱用于第二维分离,两根色谱柱通过两个切换阀以并联方式连接,该法显著提高了分离的选择性,实现结构类型相似的多个成分的定量分析。二维液相色谱除了提高系统分离效率,也可以作为在线固相萃取装置用于临床前药代动力学研究中不同生物样本的快速前处理,包括血浆、组织分布、尿液排泄和Caco-2细胞透过率研究。除了分离的优势,二维液相色谱法仍存在许多问题,限制了其在中药药代动力学的广泛应用,比如二维流动相的不相容、阀切换过程中的样品丢失和多维数据处理困难等。近年来,二维气相色谱也被开发并用于中药生物样本的分析,比如代谢产物的鉴定和药代参数的测定。

6 微萃取法

微萃取技术具有高通量、样本量小和消耗溶剂量小等特点,主要包括固相微萃取技术、搅拌棒吸附萃取技术、填充吸附剂微萃取技术和单滴微萃取技术等。微萃取技术最大的优势在于集生物样本分离、富集、浓缩于一体,还可与分析仪器直接联用,极大地提高了样品的前处理效率。与液相色谱相比,微萃取部件更容易直接与气相色谱进样口端嵌和连接。例如,Deng等通过优化纤维涂层种类、样品温度、萃取时间、搅拌速度等关键参数,建立了适用于兔血浆中细辛醚提取和富集的顶空固相微萃取-气相色谱联用技术,整个样品前处理时间仅需20min,且不需要使用有机溶剂,高效快速地实现了兔口服石菖蒲挥发油后血浆中细辛醚的药代动力学表征。但与常规的前处理技术相比,建立微萃取技术需要实验前期繁复的条件摸索和优化,对操作人员的要求较高,限制了其广泛应用。

7 蛋白沉淀法

蛋白沉淀法适用于含药浓度较高的生物样本,具有操作简单、设备要求不高等特点,主要用于血浆和组织样本的前处理,常用的有机溶剂包括乙腈、甲醇和乙醇等,将不同有机溶剂按不同比例混合能够影响生物样本中蛋白的变性和沉淀过程,从而影响化合物的提取回收率。例如,Chen等使用含不同比例乙醇的乙腈蛋白沉淀法比较了大鼠血浆和组织样本中没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸等15种中药炭母成分的提取效率,发现当乙醇与乙腈体积比为1:1时,各成分的提取回收率最佳,均大于80%,实现了大鼠给药炭母提取物后多成分血浆药代动力学和组织分布研究。

8 毛细管电泳法

毛细管电泳法是新型微分离技术,目标化合物在电场中按离子淌度进行分离,具有分离效率高、操作简便快速、样品用量少、易微型化等优点。毛细管电泳法的分离模式主要有毛细管区带电泳、毛细管凝胶电泳、毛细管等速电泳、毛细管等电聚焦电泳和毛细管电色谱等。毛细管电泳法可以通过改变操作模式和缓冲液成分,分离极性非常广泛的物质,大多数都应用于中药生物样本的分析,比如采用新型的毛细管电泳法结合飞行时间质谱技术对人血浆和尿液中来源于马钱子和洋金花的6个毒性生物碱进行分析;采用毛细管电泳和质谱联用技术分析了当归芍药散给药后生物样本中的代谢

物。

9 液相质谱联用技术

三重四级杆质谱灵敏度高、专属性好,多用于中药多成分的分析定量。大鼠注射脉络宁后,利用三重四级杆质谱可以同时检测到大鼠血浆中二咖啡酰奎宁酸的三个同分异构体,3个成分的回收率均大于85%。飞行时间杂质谱可以用于研究药物的结构及体内代谢物,灵敏度、分离度也大大增加,通过保留时间、碎片离子信息以及其他的特征进行识别,可推断化合物的类型与结构。例如利用LC-IT-TOF/MS技术,建立各类成分快速检出与结构推断分析策略,鉴定了参麦注射液30种人参皂苷类成分及20种木脂素类成分,以及脉络宁注射液中87种成分。

10 微透析法

中药药代动力学研究常用的取样方法主要是在不同时间点取动物全血或处死动物取组织进行匀浆。这些方法采集的生物样本通常要经过分层、离心、萃取、过滤等繁琐的前处理操作。微透析技术作为一种生物活体取样技术,其原理是基于扩散的分离原理,将带有半透膜装置的探针植入生物体内,在非平衡条件下只有游离的小分子药物能沿浓度梯度扩散到探针,并被灌流液不断带出,得到含有药物的透析液。由于该技术使用的半透膜只允许小分子物质透过,大分子蛋白和脂类物质则被截留,因此透析液可以不经过前处理直接进行测定。除此之外,微透析技术可以实现单个或多个部位的连续实时采样,提高实验效率,降低动物使用数量以及减少个体差异对结果的干扰。

结束语

总而言之,中药多成分药代动力学研究为中药物质基础和药效机制的深入诠释提供了宝贵的数据支持和参考,分析技术的进步有力地推动了中药多成分的药代动力学研究,为中药物质基础和机制研究拓展了可行手段,但依然需要突破一些关键的瓶颈。例如,如何建立中药体内多成分药代动力学数据与中药药效的关联分析策略,识别中药药效物质;如何以药代动力学数据为指导开展后续的中药药效成分验证实验,以及开展更深入的中药药效成分作用机制研究。我们相信,前处理技术和分析技术的不断创新对中药药代动力学的深入发展不可或缺,仍将为中药多成分药代动力学研究提供更多的技术支撑,为中药物质基础和药效机制更全面、更清晰地阐明奠定基础。

参考文献

- [1]王彩虹.中药多成分药代动力学的新方法和策略研究[D].北京协和医学院.2017(18)
- [2]柏冬.近十年中药药代动力学新技术新方法概述[J].环球中医药.2016(07):78
- [3]丁黎,刘瑞娟.中药药代动力学研究的思与行[J].世界科学技术-中医药现代化.2017(07):36
- [4]傅春燕,刘永辉,曾立,封芬.中药(复方)药代动力学研究进展[J].邵阳学院学报(自然科学版).2021(18):29-35
- [5]柴士伟.中药药代动力学参数拟合的研究进展[J].天津药学.2018(04):108