

脾气虚、肝郁脾虚及胃实热证患者 阿魏酸药代动力学特征比较

任平¹, 黄熙², 李双庆¹, 许树耘³, 万美华², 周亚雄³, 周毅武³, 唐文富²

(1. 四川大学华西医院全科病房, 成都 610041; 2. 四川大学华西医院中西医结合科, 成都 610041; 3. 四川大学华西医院急诊科, 成都 610041)

[摘要] 目的:应用药代动力学(pharmacokinetics, PK)方法研究中医证本质,探讨脾气虚、肝郁脾虚及胃实热证患者体内阿魏酸(ferulic acid, FA)的 PK 特征。方法:选择 21 例健康自愿者、20 例肝郁脾虚证患者、22 例脾气虚证患者和 19 例胃实热证患者,予以口服自拟加味道遥散后,采用高效液相色谱法观察血清 FA 的 PK 参数。结果:与健康自愿者比较,脾虚证患者的吸收速度常数和消除速度常数均下降,表观一级吸收速率常数升高;肝郁脾虚证患者的吸收速度常数、消除速度常数和表观一级吸收速率常数均下降;胃实热证患者的消除速度常数和表观一级吸收速率常数均升高;差异有统计学意义。结论:脾气虚证患者 PK 特征表现为吸收速度加快,分布和排泄减慢;肝郁脾虚证患者 PK 特征表现为吸收、分布和排泄均减慢;胃实热证患者 PK 特征表现为吸收和排泄加快。提示三种中医证型患者的 PK 特征存在差异。

[关键词] 脾虚证;肝郁脾虚证;胃实热证;阿魏酸;药代动力学

[中图分类号] R285.6 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2006)-02-0147-05

Pharmacokinetic characteristics of ferulic acid in patients with different syndromes of deficiency of spleen qi, stagnation of liver qi and spleen deficiency, and excess of stomach heat

Ping REN¹, Xi HUANG², Shuang-Qing LI¹, Shu-Yun XU³, Mei-Hua WAN², Ya-Xiong ZHOU³, Yi-Wu ZHOU³, Wen-Fu TANG²

(1. Department of General Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province 610041, China; 2. Department of Integrated Chinese and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province 610041, China; 3. Department of Emergency, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province 610041, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the nature of syndrome of traditional Chinese medicine by means of pharmacokinetic (PK) method. Methods: Twenty-one healthy volunteers, 20 patients with syndrome of stagnation of liver qi and spleen deficiency, 22 patients with syndrome of deficiency of spleen qi and 19 patients with syndrome of excess of stomach heat were included and administered to take Jiawei Xiaoyaosan Recipe (JWXYSR). The serum PK parameters of ferulic acid (FA) were examined by high performance liquid chromatography (HPLC) method. Results: The absorption rate constant () and the elimination rate constant () were both decreased while the apparent first-order absorption constant (K_a) was enhanced significantly in the patients with syndrome of deficiency of spleen qi; the , and K_a were all reduced in the patients with syndrome of stagnation of liver qi and spleen deficiency; the and K_a were increased in the patients with syndrome of excess of stomach heat, as compared with the corresponding PK parameters in the healthy volunteers ($P < 0.01$). Conclusion: The PK analysis of FA in the patients with syndrome of deficiency of spleen

[基金项目] 国家自然科学基金杰出青年基金资助项目(No. 30325045); 国家自然科学基金面上项目(No. 30271648)

Correspondence to: Ping REN. E-mail: renping3@163.com

qi shows that the absorption rate is accelerated, and both the distribution and elimination rates are slowed down. The absorption, distribution and elimination rates of FA are all slowed down in the patients with syndrome of stagnation of liver-qi and spleen deficiency, while the absorption and elimination rates of FA are both accelerated in the patients with syndrome of excess of stomach heat. There are obvious differences in the PK characteristics among these three syndromes.

KEY WORDS syndrome of deficiency of spleen qi; syndrome of stagnation of liver qi and spleen deficiency; syndrome of excess of stomach heat; ferulic acid; pharmacokinetics

Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao/ J Chin Integr Med, 2006, 4(2):147-151 www.jcimjournal.com

1986 年田中茂^[1]发现不同中医证型患者其大黄酸的血药浓度存在一定差异。1999 年在黄熙^[2]证治药代动力学(pharmacokinetics, PK)“假说”的基础上,我们提出了“脾主药动学”假说——“脾”之运化主管药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄,即药物的 PK 过程^[3]。近几年来,我们在这方面进行了系列研究,初步发现脾虚证大鼠模型其川芎嗪、阿魏酸、甘草甜素和甘草次酸的 PK 特征均表现为吸收快、消除慢,导致曲线下面积明显增加^[4~9]。在此基础上,我们比较了脾气虚、肝郁脾虚及胃实热证患者在服用自拟加味道遥散方后血清中阿魏酸(ferulic acid, FA)的 PK 特征,试图在临床上验证“脾主药动学”假说。

1 材料与方法

1.1 主要仪器 美国 Waters 公司液相色谱系统,包括:600 泵、7725 手动进样器、996 二级管阵列检测器、Millennium 32 色谱数据处理系统。

1.2 药品与试剂 自拟加味道遥散方由当归 25 g、芍药 25 g、柴胡 25 g、茯苓 25 g、白术 15 g、薄荷 15 g、牡丹皮 25 g、栀子 25 g、厚朴 30 g、葛根 25 g 等 13 味中药组成。药材均购自陕西省药材公司,经西北大学植物解剖学研究室胡正海教授鉴定为正品。该方在原逍遥散功效的基础上,加强行气、降气之功,经 10 余年的临床应用观察,发现其对肝郁脾虚证功能性消化不良患者的疗效颇佳^[10]。加味道遥散水煎液的制备:按生药 5 g/kg 标准,将称取的药材置于砂锅内,加入 6 倍体积的水浸泡 30 min。在电炉上用武火(3200W)煎沸后以文火(1200W)慢煎 60 min。用不锈钢筛过滤后取出药液,再加 4 倍的水进行第 2 次煎煮。将两次滤得的药液混合后浓缩至 400 ml,浓度相当于含生药 0.825 g/ml,冷却后置于高温消毒的玻璃瓶中,置于 4℃ 冰箱内冷藏。用时充分摇匀,温服。

阿魏酸,购自中国药品生物制品检定所,批号 773-9203,经高效液相色谱(high-performance liquid

chromatography, HPLC)检测为单一色谱峰(归一化法测定纯度均为 99.3%)。

1.3 受试者纳入及排除标准 健康志愿者来自四川大学华西医院和第四军医大学西京医院的学生及工作人员,共 21 名,其中男 11 名,女 10 名;平均年龄(40.2±6.9)岁。另选择西京医院 2003 年 3 月~2004 年 11 月的住院患者 61 例,其中男 28 例,女 33 例;平均年龄(43.7±7.7)岁;参照文献^[11],中医辨证为肝郁脾虚证 20 例,脾气虚证 22 例、胃实热证 19 例;西医诊断为慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠球炎、十二指肠溃疡、冠心病、高血压及动脉粥样硬化等。排除标准:排除体重减轻、胃肠道出血性疾病、反流性胃炎、肠激惹综合征、机械性肠梗阻、有胃肠手术史、心肺功能不全、心律失常、恶性疾病,以及肝、肾、造血系统等原发性疾病及其他严重的系统性疾病。

健康人空白混合血清由西京医院输血中心提供。

1.4 试验方法 试验方案经两所医院伦理委员会批准通过,试验前所有受试者均签署知情同意书。

1.4.1 药效学研究 为随机开放临床研究。受试者洗脱期为 3 d,停用一切影响胃动力及分泌功能的药物(抗胆碱能药物、解痉药、止吐药、止痛药、H₂受体拮抗剂等);同时确认患者未服用避孕药、抗抑郁药及安眠药,未饮用酒精类饮料、茶和咖啡。治疗期间,患者单纯服用加味道遥散水煎液 150 ml,2 次/d,共 10 d。

1.4.2 口服加味道遥散水煎液后血清中阿魏酸测定的色谱条件 固定相:Kromasil C18 柱(250×4.6 mm, 5 μm, No. C18B 011220);流动相:甲醇-水-冰醋酸(体积比)=40:59.6:0.4, pH 3.8;流速 1.0 ml/min;检测波长 322 nm;内标:对-羟基苯甲醛。FA 保留时间=(10.28±0.16)min,对-羟基苯甲醛保留时间=(7.33±0.13)min。

1.4.3 阿魏酸标准溶液的配制 精确称取阿魏酸标准品 3.91 mg,置于 50 ml 棕色容量瓶中,加甲醇

稀释至刻度线得母液 1(78.2 μg/ml),再稀释 20 倍得母液 2(3.91 μg/ml)。将配制好的标准溶液密封后置于 4℃ 冰箱内避光备用。

1.4.4 给药与采血 受试者禁食 15 h 后,于次日晨 8~9 时按 2 ml/kg 1 次口服加味道遥散水煎液。分别于给药前及给药后 5、10、15、30、60、90、120 min 共 8 个时间点采取静脉血各 1.5 ml,置于塑料离心管中, -20℃ 冰箱内冻存备用。

1.4.5 血清样品预处理 取待测血清 1 ml 置于 5 ml 塑料高速离心管中,加入对-羟基苯甲醛 10 μl (剂量为 239.4 ng),用电动混匀器混匀 45 s,加入 3.5 ml 乙腈后再次电动混匀 5 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液移至 5 ml 塑料试管中,57℃ 水浴,氮气流下吹干,用 100 μl 流动相复溶,10 000 r/min 离心 10 min,取上清 50 μl 进样。

1.4.6 制作标准曲线 取健康人空白混合血清各 1 ml 置于 5 ml 塑料高速离心管中,加入不同体积的阿魏酸标准液,使所含阿魏酸剂量分别为 7.82、19.55、39.13、78.25、97.75、117.30、156.42、

195.54 ng,分别加入 10 μl 对-羟基苯甲醛充分混匀,加入一定体积的乙腈使每管总体积均为 4 560 μl。按上述血清样品预处理方法进行处理,HPLC 测样,共测定 8 组。以测定液中阿魏酸与内标峰面积之比(Y)对测定液中阿魏酸的量(X)作线性回归,得到标准曲线方程及相关系数 *r*。确定最低检测限,计算最低检测限浓度。

1.4.7 药代动力学参数计算 采用中国药理学学会数学药理专业委员会开发的 3P97 软件,将测得的血药浓度进行 PK 拟合。以拟和优度和赤池信息判据判定曲线拟和程度, *F* 检验选择房室模型。

2 结果

2.1 FA 分离情况 FA 峰与内标峰、血清内源性物质及加味道遥散吸收入血的其他成分峰均能很好地实现基线分离,无杂峰干扰;与 FA 标准品在相同条件下进行对照,保留时间均为 10.5 min;对其紫外吸收峰予以定性分析,样品的最大紫外扫描波长在 321.3 nm 处,与 FA 标准品一致。见图 1、2。

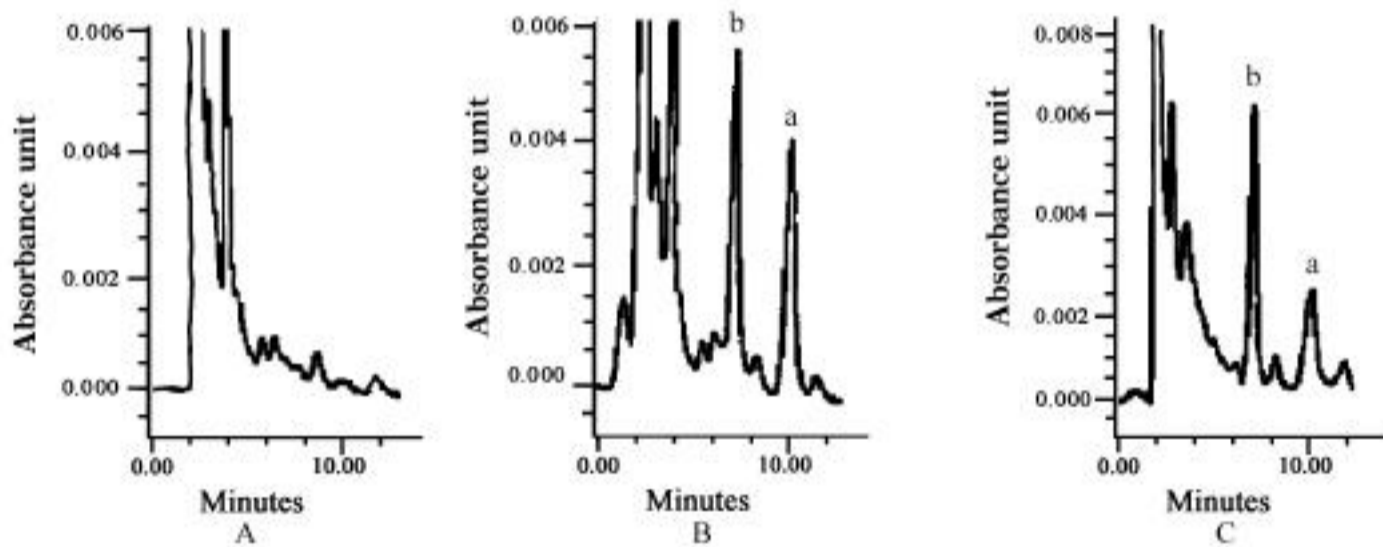


图 1 不同血清样品中阿魏酸的高效液相色谱图

Figure 1 HPLC results of ferulic acid (FA) in different serum samples

A: Blank control serum sample from healthy person; B: FA and *p*-hydroxybenzaldehyde-treated serum sample from healthy person; C: Jiawei Xiaoyao San Recipe (JWXYSR)-treated serum sample from patient; a: FA; b: *p*-hydroxybenzaldehyde.

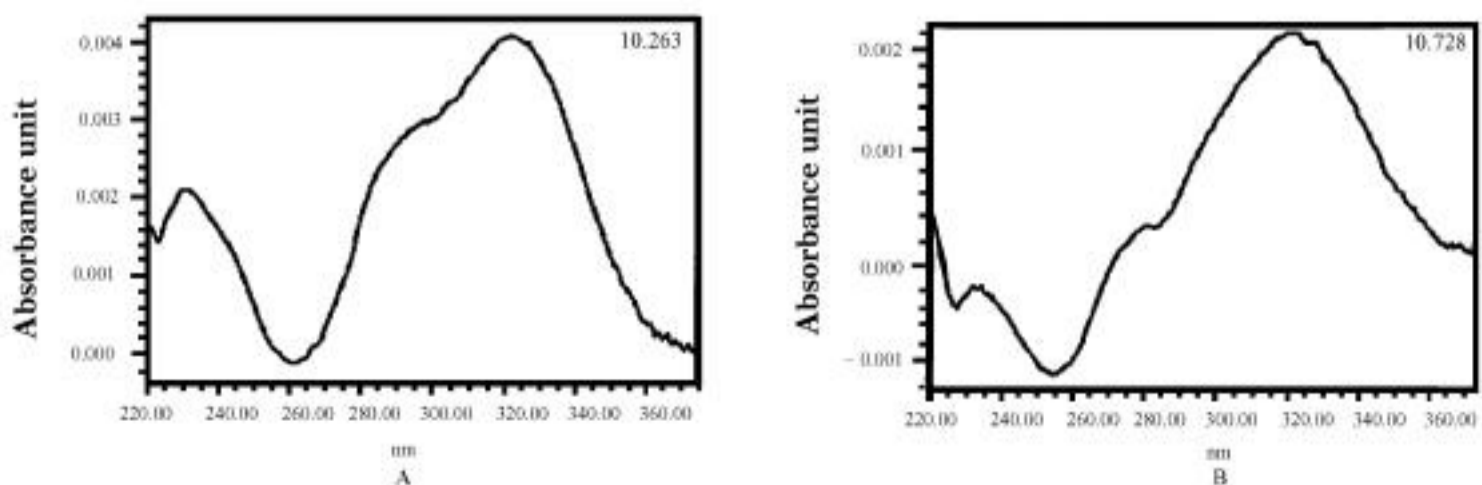


图 2 不同血清样品中阿魏酸的紫外光谱图

Figure 2 Ultraviolet spectrograms of FA in different serum samples

A: FA and *p*-hydroxybenzaldehyde-treated serum sample from healthy person; B: JWXYSR-treated serum sample from patient.

2.2 FA 线性范围与标准曲线 血清 FA 浓度为 7.82 ~ 195.5 ng/ml, 线性关系良好。标准曲线方程为 $Y = 0.002418 + 0.013905X$, $r = 0.99713$, 满足生物实验定量分析要求。

2.3 健康志愿者和不同中医证型患者服用加味逍遥散后不同时间点血清中 FA 的血药浓度 健康人和患者血清中 FA 的血药浓度均可在服药 5 min 后测出, 且个体差异明显。见表 1。

2.4 健康志愿者和不同中医证型患者服用加味逍遥散后不同时间点血清中 FA 药代动力学参数 不同中医证型患者口服加味逍遥散后, FA 在体内的药物代谢过程呈开放性二室模型。脾气虚证患者的 PK 特征: 吸收速度加快, 分布和排泄减慢; 肝郁脾虚证患者的 PK 特征: 吸收、分布和排泄均减慢; 胃实热证患者的 PK 特征: 吸收速度和排泄均加快。见表 2。

表 1 健康志愿者和不同中医证型患者服用加味逍遥散后不同时间点血清中 FA 的血药浓度

Table 1 Serum concentrations of FA at different time in healthy persons and the patients with different syndromes after taking JWXYSR

Time after taking JWXYSR (min)	Serum concentration			
	Healthy group (n = 21)	DSQ group (n = 22)	SLQSD group (n = 20)	ESH group (n = 19)
5	104.38 ± 23.91	26.77 ± 6.61	10.64 ± 1.48	116.38 ± 58.23
10	140.12 ± 30.33	49.70 ± 7.03	22.81 ± 4.86	130.47 ± 63.59
15	152.94 ± 36.11	62.39 ± 6.91	38.49 ± 5.39	109.34 ± 41.67
30	131.76 ± 27.26	76.95 ± 10.39	52.30 ± 8.93	86.39 ± 24.18
60	100.19 ± 22.87	38.00 ± 9.98	33.76 ± 3.28	53.27 ± 16.36
90	95.73 ± 47.39	27.65 ± 6.50	21.58 ± 3.55	29.12 ± 8.41
120	87.29 ± 18.47	16.57 ± 3.29	18.45 ± 5.17	17.78 ± 3.66

DSQ: Syndrome of deficiency of spleen qi; SLQSD: Syndrome of stagnation of liver qi and spleen deficiency; ESH: Syndrome of excess of stomach heat.

表 2 健康志愿者和不同中医证型患者服用加味逍遥散后血清 FA 药代动力学参数

Table 2 Pharmacokinetics parameters of serum FA in healthy persons and the patients with different syndromes after taking JWXYSR

Pharmacokinetics parameter	Value			
	Healthy group (n = 21)	DSQ group (n = 22)	SLQSD group (n = 20)	ESH group (n = 19)
(min ⁻¹)	0.093 ± 0.022	0.041 ± 0.014**	0.058 ± 0.021**	0.095 ± 0.0610
(min ⁻¹)	0.0054 ± 0.0031	0.0027 ± 0.0012**	0.0031 ± 0.0102**	0.0110 ± 0.0081**
K _a (min ⁻¹)	0.38 ± 0.12	0.82 ± 0.12**	0.19 ± 0.01**	0.71 ± 0.02**
t _{1/2} (min)	7.63 ± 1.45	19.48 ± 0.78**	13.54 ± 1.95**	7.95 ± 0.88**
t _{1/2Ka} (min)	19.40 ± 6.80	29.58 ± 8.76**	3.61 ± 1.77**	0.77 ± 6.96**
K ₂₁ (min ⁻¹)	0.037 ± 0.001	0.013 ± 0.023**	0.018 ± 0.030**	0.038 ± 0.052
K ₁₀ (min ⁻¹)	0.019 ± 0.100	0.0094 ± 0.001**	0.0081 ± 0.010**	0.021 ± 0.020
K ₁₂ (min ⁻¹)	0.044 ± 0.001	0.022 ± 0.001**	0.032 ± 0.001	0.039 ± 0.001
AUC [(μg · L ⁻¹) · min]	20201.31 ± 1900.09	16741.72 ± 7000.51**	15570.11 ± 6350.60**	19086.31 ± 7490.81
t _p (min)	12.35 ± 10.40	26.04 ± 0.72**	37.29 ± 14.78**	10.74 ± 20.10
C _{max} (μg · L ⁻¹)	160.98 ± 6.30	78.25 ± 9.45**	57.47 ± 8.59**	136.73 ± 5.83

: Absorption rate constant; : Elimination rate constant; K_a: Apparent first-order absorption constant; t_{1/2}: Half-life of distribution phase; t_{1/2Ka}: Absorption half-life; K₂₁ and K₁₂: Apparent first-order intercompartmental transfer rate constants; K₁₀: Apparent first-order elimination rate constant from the central compartment; AUC: Area under the plasma drug concentration-time curve; t_p: time of peak plasma concentration; C_{max}: Maximum drug concentration in plasma; ** P < 0.01, vs normal control group.

3 讨论

PK 研究是用数学模型反映药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程, 具有整体、综合、动态和定量的特点。影响 PK 特征的主要因素包括个体差

异、年龄、疾病和生理等方面^[12]。目前对中医“证”本质的研究大多采用以方测证的研究模式, 例如研究某证时, 主要观察某方药对与该证相关的病理生理、分子生物学或生物化学等指标的影响, 属药效学范畴, 是从药物作用机制的角度进行研究。而“脾主

药动学”则是从机体作用于药物的角度研究“证”,即用药代动力学方法研究复杂的脾虚证本质,进而定性、定量地予以“辨证施治”,探索“证”本质研究的新途径。

自拟加味道遥散方具有舒肝行气、健脾补气,兼降气清热之功效,主治肝郁脾虚证,临床疗效确切;从药物性味功效看,该方对脾气虚证和胃实热证亦无不良作用,故将其选为“证”PK 特征临床研究的工具药。

本临床研究结果显示,临床不同“证”血清 FA 的 PK 特征同样存在着明显差异。脾气虚证患者 PK 参数与健康人比较,分布速度常数 k_{12} 和消除速度常数 k_{10} 下降,一级吸收速率常数 K_a 升高,提示脾气虚证患者 PK 特征为吸收速度加快,分布和排泄减慢。对比既往研究中脾虚证大鼠川芎嗪、甘草甜素等 PK 特征的结果^[4,9],我们发现患者 FA 的 PK 特征与脾虚证大鼠的川芎嗪、甘草甜素 PK 特征相似。肝郁脾虚证患者 PK 主要参数变化为 k_{12} 和 k_{10} 均下降,由此推断其 PK 特征为吸收、分布和排泄均减慢。胃实热证患者 k_{12} 和 k_{10} 均下降,表明其 PK 特征为吸收和排泄加快。上述研究结果为临床辨证提供了量化依据。

通过研究脾虚证 PK 特征的机制,我们发现脾虚时胃肠运动功能的减弱与脾虚证 PK 特征密切相关^[8,9]。胃肠道是影响药物体内吸收过程的重要因素之一。胃肠运动功能的减弱,减少了药物与胃肠黏膜(尤其是小肠黏膜)的接触,进而降低药物在吸收方面的量和速度,即生物利用度下降,这与中医学强调的“有胃气则生、无胃气则死”不谋而合。肝郁脾虚证和胃实热证患者 PK 特征的形成机制尚有待进一步研究。

[参考文献]

1 田中茂. 血中浓度测定法对汉方方剂“证”与疗效决定

法的开发. 国外医学·中医中药分册, 1989, 10(8): 58-59.

2 黄熙, 马援, 蒋永培, 等. “证治药动学”假说的科学依据与前景. 见: 陈可冀主编. 迈向 21 世纪的中西医结合. 北京: 中国医药科技出版社, 1991. 207-216.

3 任平, 黄熙. “脾”与药动学的关系: 理论和实验依据. 世界华人消化杂志, 1999, 7(12): 1077-1080.

4 黄熙, 任平, 文爱冬, 等. 脾虚大鼠川芎嗪的药物动力学特征与血液流变学研究. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(3): 134, 159-161.

5 文爱冬, 黄熙, 蒋永培, 等. HPLC 法测定血瘀证兔血清中游离阿魏酸. 药学学报, 1995, 30(10): 762-767.

6 黄熙, 蒋永培, 臧益民, 等. 心血瘀阻犬的川芎嗪药物动力学特征与血流动力学研究. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(6): 352-354.

7 Jian YP, Wen AD, Huang X, *et al*. Pharmacokinetics of tetramethylpyrazine phosphate in healthy and blood stasis dogs in vivo. Chin J Integr Tradit West Med, 1996, 2(2): 132-134.

8 任平, 黄熙, 蒋永培, 等. 四君子汤对脾虚大鼠胃动素及川芎嗪药物动力学特征的影响. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(1): 45-47.

9 任平, 黄熙, 张莉, 等. 不同脾虚时期大鼠甘草甜素药物动力学特征及其机制的探讨. 成都中医药大学学报, 2000, 23(2): 30-32.

10 黄熙, 任平, 杨少文, 等. 胃脘痛证型、胃电图与胃镜结果的关系及其用逍遥散治疗的影响. 陕西中医, 1992, 13(8): 337-339.

11 周仲瑛. 中医内科学. 北京: 中国中医药出版社, 2003.

12 邓树海, 张秀珍, 邹立家. 药物动力学与生物药剂学. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1992. 20-38.

[收稿日期] 2005-03-18