

脾虚大鼠的川芎嗪药物动力学特征 与血液流变学研究*

第四军医大学西京医院(西安 710032)

黄 熙 任 平 文爱东 夏 天 臧益民** 宋 岭 牛国保** 王跃民** 蒋永培

内容提要 从机体对药物作用特征的角度, 探索中医证本质。同步研究了健康与利血平致脾虚大鼠的血液流变学及磷酸川芎嗪(TMPP)灌胃后的药物动力学(药动学)。在本实验条件下与健康组相比, 脾虚组的药动学特征为: TMPP 在体内的空间处置状态由双室变为单室模型; 药物浓度值增加($P < 0.05$ 、 0.01); 血药浓度-时间曲线下面积(AUC)增强($P < 0.01$)。7 项血液流变学指标($P < 0.05 \sim 0.01$)示脾虚大鼠处于典型的“浓、粘、聚、凝”的血瘀状态。结论: 脾主运化、四肢、肌肉与脾之气虚血瘀可能是脾虚大鼠特征性药物动力学的机制之一; 为“辨证药动学”假说提供了初步依据。

关键词 脾虚 动物模型 川芎嗪 药物动力学 血液流变学 高效液相色谱法

“证治药动学”新假说分为辨证药动学与复方药动学两部分⁽¹⁾。用高效液相色谱法(HPLC)测定不同证者大黄酸血药物浓度有一定差异⁽²⁾。我们在进行利血平致大鼠脾虚模型的实验中, 发现该模型为一脾虚血瘀模型⁽³⁾。所以, 该模型被我们选为验证这一假说。本实验同步研究了磷酸川芎嗪(TMPP)在健康和该模型大鼠中的药物动力学(药动学)与血液流变学指标, 现报告如下。

材料与方法

一、材料

1. 药品与试剂 TMPP 对照品购自广东利民制药厂(含量: 101.0%)。内标安眠酮对照品由北京医科大学中国药物依赖性研究所赠送。三氯甲烷、甲醇、乙醇为西安化学试剂厂产品。利血平(1 mg/ml)为上海医科大学红旗制药厂产品(批号: 90101)。TMPP 用作灌胃时, 制成 2 mg/ml 浓度水溶液备用。

2. 仪器 NXE-1 型锥板粘度计: 成都仪器厂产品; 毛细管粘度计、红细胞电泳计时器: 上海医科大学生物物理教研室提供; 血细胞压积测定: 将混匀抗凝血置毛细玻璃管内, 5000 rpm 离心 5 min 后用特

定测量尺测得。岛津 LC-6 A HPLC 系统: SPD-6 A 紫外检测器, 两台 LC-6 A 高效输液泵, 7125 型手动试样注射器, CR-3 A 色谱数据处理系统。PKBP-N 1 药物动力学和生物制剂学程序包(南京军区总医院), IBM 计算机。

3. 动物 Wistar 大鼠 120 只, 雄性, 体重 230 ± 40 g, 月龄 5 个月, 由我校动物实验中心供给。随机分成健康组 60 只和脾虚血瘀组 60 只。

二、方法

1. 脾虚模型组(简称模型组) 动物经利血平每日 1 mg/kg 股四头肌肌肉注射。14 天中, 第 1 天用利血平 1/2 量, 其余每天用全量注射。隔日称重及测体温, 造模后第 4 天动物出现的症状与文献类似⁽³⁾。

2. 健康组 动物以生理盐水每日 1 ml 肌肉注射, 连续 14 天。

3. TMPP 血药浓度测定的 HPLC 法⁽⁴⁾ 色谱条件: Shim-Pack CLC-ODS 柱, 150×4.6 mm, 粒度 $5 \mu\text{m}$ 。流速 1 ml/min, 纸速 3 mm/min, 量程 0.04 AUFs, 柱温 38°C , 检测波长为 280 nm。流动相: 甲醇: 水(72: 28)。

4. 样品预处理方法 按文献法加以改进⁽⁵⁾: 5 ml 尖底标准具塞试管内加无水乙醇 100 μl , 加内标安眠酮 428 ng, 在氮气流下 48°C 水浴蒸干, 置空白血清 0.2 ml 及不同浓度的 TMPP 对照品和 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 0.2 ml, 摇匀; 加三氯甲烷 2 ml, 液体混匀器上旋涡震振 50 s, 3000 rpm 离心 10

* 国家自然科学基金资助项目(No: 39100139); ** 第四军医大学生理教研室

min, 然后将三氯甲烷用 0.45 μm 的有机系微孔滤膜过滤后转移至一尖底具塞离心试管中, 加入 1 mol/L 的盐酸甲醇溶液 100 μl , 混匀, 置水浴中 48~50°C 的氮气流下吹干, 残渣用 100 μl 甲醇重新溶解, 取 10 或 20 μl 进行 HPLC 测定。

5. 血液流变学采血及药物动力学分析方法 模型动物于第 15 天停止造模给药, 上午 8:00 断头取血 5 ml, 置于肝素 (25 $\mu\text{l}/\text{ml}$) 干燥管中, 2 h 内检测。以 10 mg/kg TMPP 给大鼠灌胃, 于灌胃前及灌胃后 0.083、0.25、0.5、1、1.5、3、5、8 和 12 h 断头取血清 0.1 或 0.2 ml, 制成样品待测, 每个时间点 6 只动物。

用残数法、梯形法和非线性最小二乘法 (PKBP-N 1 程序包、IBM 电子计算机) 处理药物浓度-时间数据, 分析判别房室模型及药动学参数。AUC 及各血药物浓度及血流变参数统计学处理采用随机资料 t 检验。

结 果

一、健康与模型组血液流变学指标的比较 见表 1, 结果与文献一致⁽³⁾。

二、试药 TMPP 和内标安眠酮在甲醇、血清样品经处理后及灌胃后血清经萃取后的 TMPP 和内标安眠酮的保留时间均为 3.998、6.231 min, 利血平

表 1 两组大鼠血液流变学指标比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数 (只)	全血粘度 230 s^{-1}	($\text{mPa} \cdot \text{s}$) 5.75 s^{-1}	血浆粘度 ($\text{mpa} \cdot \text{s}$)	纤维蛋白原 (%)	红细胞压积 (%)	血沉方程 k 值	红细胞电泳 时间 (s)
模型	6	6.90 $\pm$ 1.20**	22.99 $\pm$ 4.21*	1.89 $\pm$ 0.12*	0.45 $\pm$ 0.10*	48.99 $\pm$ 0.09*	7.69 $\pm$ 3.98*	20.34 $\pm$ 0.67**
健康	6	5.10 $\pm$ 0.21	18.85 $\pm$ 1.06	1.78 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.10	42.04 $\pm$ 1.84	3.25 $\pm$ 0.76	16.96 $\pm$ 0.98

注: 与健康组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

在此条件下不出现干扰峰, 不干扰 TMPP 峰面积。

三、健康和模型组的 TMPP 灌胃后的药物浓度-时间值 见表 2。其药动学参数见表 3。给药时曲线、PKBP-N 1 程序拟合健康组属双室模型, 而模型组属单室模型。

讨 论

一、目前国内外对脾虚和血瘀研究多采用消化系统、代谢与免疫、脑肠肽激素⁽⁶⁾、肠道菌群⁽⁷⁾、血

液流变学、血流动力学、微循环等⁽⁸⁾指标作为“证”和方剂反证的效应指标。这实质上属药效学范畴。本实验首次从不同“证”的机体处理药物(药动学)的角度研究脾虚证大鼠的 TMPP 药动学特征, 开辟了一条证本质研究的新途径。

二、表 1 表明, 该模型处于典型的“浓、粘、聚、凝”状态, 另有脾气虚表现, 故称“脾虚血瘀证”大鼠。表 2 和表 3 表明两组的药物浓度和 AUC 值有显著差异, 初步验证了笔者提出的“辨证药动学”新概念——

表 2 两组大鼠 TMPP 灌胃后各时间点血药物浓度值比较 ($\mu\text{g}/\text{ml}$, $\bar{x} \pm S$)

组别	0.08 h	0.25 h	0.50 h	1.00 h	1.50 h	3.00 h	5.00 h	8.00 h	12.00 h
健康	1.20 $\pm$ 0.66	1.75 $\pm$ 1.27	2.01 $\pm$ 1.19	0.89 $\pm$ 1.06	0.61 $\pm$ 0.54	0.46 $\pm$ 0.19	0.21 $\pm$ 0.19	0.10 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.02
脾虚	2.09 $\pm$ 0.41*	4.61 $\pm$ 1.76**	3.89 $\pm$ 0.96*	3.48 $\pm$ 0.95*	3.19 $\pm$ 0.59***	2.19 $\pm$ 0.80***	1.51 $\pm$ 0.69**	0.79 $\pm$ 0.36***	0.38 $\pm$ 0.18***

注: 与健康组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 各时间点均为 6 只动物,

表 3 两组 TMPP 灌胃后的药动学参数 ($\bar{x} \pm S$)

组别	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$)	β (h^{-1})	Ka (h^{-1})	Vc/F (L/kg)	t 1/2 ka (h)	t 1/2 β (h)
健康	4.09 $\pm$ 1.33	0.25 $\pm$ 0.09	4.15 $\pm$ 3.05	0.46 $\pm$ 0.18	0.17 $\pm$ 0.11	2.73 $\pm$ 0.89
脾虚	18.74 $\pm$ 6.69**	0.20 $\pm$ 0.07 Δ	28.85 $\pm$ 5.20	0.23 $\pm$ 0.10	0.02 $\pm$ 0.01	3.36 $\pm$ 1.01 $\Delta\Delta$

Δ 为 k 值, $\Delta\Delta$ 为 t 1/2 值, 各组均为 6 只动物

不同证者的血药物浓度和药动学参数经统计学处理有显著差异。实验结果表明,在本实验条件下,脾虚证大鼠造成 TMPP 在体内空间处置状态的改变,造成 TMPP 吸收加强和生物利用度增加。

三、TMPP 在脾虚大鼠中的上述药动学特征的可能机理为脾失健运,脾气虚而气滞血瘀,致血液及血管的流动和变形明显异常。这种高粘血症状态,可能致血中 TMPP 的转运速率和吸收发生变化。另外,脾虚大鼠极度消瘦(造模后体重减轻 40%左右),可能造成 TMPP 分布异常而致房室模型改变。

以上仅为初步探索,还需用多种模型和临床的大量实验和观察研究来证实“辨证药动学”。另需延长模型组取血时间间隔以观察 TMPP 房室模型的变化,并将药效与药动学和“证”结合研究。

参 考 文 献

1. 黄 熙,等.“证治药动学”假说的科学依据和前景.见陈可冀主编.迈向 21 世纪的中西医结合.第一版.北京:中

- 国医药科技出版社,1991:207.
2. 田中 茂,他.血中浓度測定にみる为汉方方剂の「志」と有効性の決定法の开发.和汉医药学会志 1986; 3(3):276.
3. 任 平,等.大鼠脾虚模型的血液流变学研究.中医研究 1992; 5(2):15.
4. 黄 熙,等.川芎煎剂灌胃大鼠后血中川芎嗪浓度测定的高效液相色谱法.见陶凯主编.高粘血症.第一版.青岛:青岛海洋大学出版社,1993:202.
5. 蔡 伟,等.正常人口服磷酸川芎嗪的药代动力学研究.药学学报 1989; 24(12):881.
6. 任 平,等.脾虚泄泻与血浆及肠组织中胃动素的关系.第四军医大学学报 1991; 12(5):391.
7. 任 平,等.脾虚腹泻患者肠道菌群的研究.中医杂志 1992; 33(6):33.
8. 陈可冀,等.血瘀证与活血化瘀研究.第一版.上海:上海科学技术出版社,1990:399.

一吹干粉剂治疗渗出性外耳道炎 98 例观察

山西朔州市朔城区医院(山西 038500) 阎 斌

自 1987 年 6 月~1992 年 6 月,笔者采用自制中药粉剂一吹干治疗 98 例渗出性外耳道炎患者(包括外耳道湿疹渗出期及各种理化因素导致外耳道渗出性病变),获得良效。现报道如下。

临床资料

本组 98 例,年龄 6 个月~81 岁,平均 34 岁。性别:男 63 例,女 35 例。病程 1~4 周。单耳发病 86 例,双耳发病 12 例。轻者见外耳道少许渗液,伴瘙痒,共 58 例;重者除有以上症状外,外耳道水肿,皮肤颜色由正常变淡共 31 例;严重者在以上基础上瘙痒加重,渗液增多,耳道狭窄,皮色紫暗,伴有耳门、耳廓湿疹样改变者,共 9 例。个别有纳差、夜不能寐。对重症病例取渗液检查,见中性粒细胞、大量淋巴细胞和上皮细胞。

治疗方法

常规消毒耳门、耳廓皮肤,3%双氧水擦干外耳道分泌物,将一吹干(又名六味散)药粉用硬纸筒吹入耳道。要求药粉分布均匀。隔日或隔 2 日吹药 1 次。一吹干组成:防风 50 g 浮萍 15 g 蜈蚣 10 g 血

竭 10 g 冰片 5 g 枯矾 10 g。药物炮制存性,严格掌握制作火候。研极细末装瓶备用。

结 果

一、疗效标准 (1)临床治愈:局部渗液停止,瘙痒消失,外耳道肤色正常,3 个月不复发。(2)显效:渗液大减,瘙痒基本消失,皮肤颜色由暗转红。(3)有效:渗液减少,瘙痒减轻,水肿消散,痂皮脱落,皮肤颜色转红润。(4)无效:用药 4 周以上,诸症无明显好转。

二、结果 用药 2~4 周后评定疗效。治愈 56 例,显效 25 例,有效 11 例,无效 6 例。总有效率 93.9%。

讨 论

本病病因复杂,中药一吹干为药到病所。防风、浮萍、蜈蚣祛风消肿,活络通痹止痒。恐药力不足,辅以血竭、冰片,再佐以枯矾解毒燥湿,共奏祛风湿,除痹痛,消肿胀,止瘙痒,活血络,通耳窍之功效。

syndrome apparently.

Key words gastroelectricity, gastric motility, experimental spleen deficiency

(Original article on page 156)

Pharmacokinetic Characteristics of Tetramethylpyrazine and Study on Hemorheology in Rat Model of Spleen Deficiency Syndrome

Huang Xi (黄 熙), Ren Ping (任 平), Wen Ai-dong (文爱东), et al

Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an (710032)

In this experiment, the essence of Spleen Deficiency Syndrome (SDS) was explored with the rat model of SDS using tetramethylpyrazine (TMP). 120 Wistar rats were divided into two groups, 60 each for control and test group, they were treated with normal saline and reserpine respectively. The hemorheological parameters were also studied in 6 each of both groups. The pharmacokinetic properties were investigated in the remaining control group and test group. Results: (1) Two-compartment open model of the control group was turned into that of one-compartment in test group; (2) The SDS model significantly affected the absorption and distribution of TMP in rats. AUC was much higher and serum concentration of TMP increased significantly than that of control. Hemorheological parameters (viscosity of whole blood, fibrinogen, etc.) increased significantly ($P < 0.05-0.01$), it demonstrated that the SDS model was in a state of Blood Stasis. It might be one of the pharmacokinetic mechanisms of TMP in the SDS model of rats.

Key words Spleen Deficiency, tetramethylpyrazine, pharmacokinetics, blood hemorheology

(Original article on page 159)

Protection Against Experimental Hepatic Injury by Fengxiang Yigankang Capsule (凤翔乙肝康胶囊)

Cheng Ti-juan (程体娟), Qin Hong (覃 红), Zhang Pei-yan (张培彦)

Lanzhou Medical College, Lanzhou (730000)

Pectective effect of Fengxiang Yigankang (FXYGK) capsule against hepatotoxicity induced by CCl_4 and acetaminophen (AAP) was studied. It was found that the FXYGK capsule inhibited markedly malonic aldehyde (MDA) formation of liver induced by CCl_4 and AAP. It blocked also depletion of reduced form of glutathione (GSH) of damaged liver induced by AAP. In addition, FXYGK could decrease serum alanine aminotransferase levels induced by CCl_4 ($P < 0.05$). The results of histopathological examination showed that the FXYGK capsule (0.45, 0.9 and 1.8 g/kg) could also reduce significantly fatty degeneration of liver ($P < 0.05$).

Key words Fengxiang Yigankang capsule, serum alanine aminotransferase, malonaldehyde, glutathione, fatty degeneration

(Original article on page 162)

Comparison among Five Different Extracting Methods of *Whitmania Pigra* Whitman

Ding Jia-xin (丁家欣), Ou Xing-chang (欧兴长), Zhang Qiu-hai (张秋海), et al

Institute of Basic Theory, China Academy of TCM, Beijing (100700)

Whitmania pigra whitman is one of the traditional Chinese drugs commonly used in clinical practice for Blood circulation promoting and Stasis relieving, its active principle was unknown yet. In this report, five extracting methods have been studied based on its extract's anticoagulant and antithrombotic activity in vitro. The results have revealed that the extracts using different extracting methods showed different anticoagulant and anti-thrombotic activity. Among them, the extracts produced by water-boiling and alcohol-precipitating have shown the strongest anticoagulant activity and good antithrombotic effect.

Key words *Whitmania pigra whitman*, anticoagulant, antithrombosis

(Original article on page 165)