

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.01.010

独活凝胶贴膏穴位贴敷治疗类风湿关节炎模型家兔的药动学与药效学研究*

王 锐,杨若依,卓雪群,王金锐,于春峰,杨 婧[△]

(黑龙江中医药大学药学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 研究独活凝胶贴膏穴位贴敷治疗类风湿关节炎(RA)模型家兔的药物代谢动力学(PK)与药物效应动力学(PD)。方法 取10只健康新西兰雌性家兔,2只作为正常对照组;其余8只家兔肩胛区注射卵清蛋白佐剂构建RA模型,随机分为模型组(空白凝胶贴膏)和穴位给药组(独活凝胶贴膏),各4只。采用微透析取样技术对模型家兔的关节腔液取样,采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定关节腔液中独活有效成分二氢欧山芹醇当归酸酯和蛇床子素的含量,并建立PK参数;采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定血清中白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平,并计算抑制率,作为PD指标;采用WinNonlin Examples Guide 5.2.1软件拟合PK-PD模型。结果 穴位给药组家兔关节腔液中蛇床子素一级吸收速率常数(k_{01})为0.22 h⁻¹,一级消除速率常数(k_{10})为0.10 h⁻¹,0~14 h的血药浓度-时间曲线下面积(AUC_{0-14h})为6 584.18 (ng·h)/mL,吸收相半衰期(k_{01} -LH)为2.54 h,消除相半衰期(k_{10} -LH)为5.89 h,达峰时间(t_{max})为5.70 h,达峰浓度(C_{max})为454.31 ng/mL;关节腔液中二氢欧山芹醇当归酸酯 k_{01} 为0.20 h⁻¹, k_{10} 为0.12 h⁻¹, AUC_{0-14h} 为2 185.67 (ng·h)/mL, k_{01} -HL 为2.69 h, k_{10} -HL 为5.94 h, t_{max} 为6.52 h, C_{max} 为150.53 ng/mL。穴位给药组家兔血清中IL-1 β 和TNF- α 水平建立的抑制百分数(E_{IR})与药效中效应室浓度(C_e)的PK-PD模型方程分别为 $E_{IR}=91.72C_e/598.35+C_e$, $E_{IR}=95.72C_e/568.08+C_e$ 。结论 蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯在RA模型家兔体内的PK行为与药效紧密联系,独活凝胶贴膏经穴位给药可达到预期疗效。

关键词:独活;穴位贴敷法;类风湿关节炎;家兔;药物代谢动力学;药物效应动力学;微透析技术;蛇床子素;二氢欧山芹醇当归酸酯

中图分类号:R932;R285.5

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)01-0035-05

Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Study of Acupoint Application with Duhuo Gel Plaster in the Treatment of Rheumatoid Arthritis in Model Rabbits

WANG Rui, YANG Ruoyi, ZHUO Xuequn, WANG Jinrui, YU Chunfeng, YANG Jing

(School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, China 150040)

Abstract: Objective To study the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of acupoint application with Duhuo Gel Plaster in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) in model rabbits. **Methods** Ten healthy New Zealand female rabbits were selected, two were taken as the normal control group, the other eight rabbits were injected with ovalbumin adjuvant into the scapular area to construct RA model and they were randomly divided into the model group (blank gel patch) and acupoint administration group (Duhuo Gel Plaster), with four rabbits in each group. Microdialysis sampling technology was used to sample the articular cavity fluid of model rabbits. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was used to determine the content of active ingredients columbianadin and osthole in Angelicae Pubescentis Radix in the articular cavity fluid, and PK parameters were established. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the levels of serum interleukin 1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), and the inhibition rate was calculated as a PD index. WinNonlin Examples Guide 5.2.1 software was used to fit the PK-PD model. **Results** The first-order absorption rate constant (k_{01}) of osthole in the articular cavity fluid of rabbits in the acupoint administration group was 0.22 h⁻¹, and the first-order elimination rate constant (k_{10}) was 0.10 h⁻¹. The area under the plasma concentration-time curve from 0 to 14 h (AUC_{0-14h}) was 6 584.18 (ng·h)/mL, the half-life of the absorption phase (k_{01} -LH) was 2.54 h, the half-life of the elimination phase (k_{10} -LH) was 5.89 h, the peak time (t_{max}) was 5.70 h, and the peak concentration (C_{max}) was 454.31 ng/mL. Columbianadin k_{01} in articular cavity fluid was 0.20 h⁻¹, k_{10} was 0.12 h⁻¹, AUC_{0-14h} was 2 185.67 (ng·h)/mL, k_{01} -HL was 2.69 h, k_{10} -HL was 5.94 h, t_{max} was 6.52 h, and C_{max} was 150.53 ng/mL. The PK-PD model equations of the inhibitory percentage (E_{IR}) established by the levels of serum IL-1 β and TNF- α in the acupoint administration group and the concentration-effect (C_e) relationship in PD were $E_{IR}=91.72C_e/598.35+C_e$, $E_{IR}=95.72C_e/568.08+C_e$, respectively. **Conclusion** The PK behaviors of osthole and columbianadin in RA model rabbits are closely related to the PD. Duhuo Gel Plaster can achieve the expected efficacy by acupoint administration.

Key words: Angelicae Pubescentis Radix; acupoint application; rheumatoid arthritis; rabbits; pharmacokinetics; pharmacodynamics; microdialysis technology; osthole; columbianadin

*基金项目:国家自然科学基金[82074271];黑龙江省自然科学基金[H201472];2020年黑龙江中医药大学研究生创新科研项目[2020jycx055]。

第一作者:王锐,男,博士,教授,研究方向为中药新药及新技术、新方法,(电话)0451-87266893(电子信箱)wrxd@sina.com。

[△]通信作者:杨婧,女,博士,教授,研究方向为中药新药及病理生理学,(电话)0451-82196893(电子信箱)yangjingdx@sina.com。

类风湿关节炎(RA)为慢性自身免疫性疾病^[1-2],若不及时治疗,患者将承受巨大痛苦^[3-4]。目前尚无治疗RA的特效药物,临床主要以非甾体抗炎药、糖皮质激素和免疫抑制剂为主,但易产生胃肠道刺激等不良反应^[5-7]。穴位贴敷疗法是将药物贴敷在腧穴上,产生刺激作用,可避免肝首过效应,减少不良反应,提高患处的局部药物浓度,适合长期用药^[8-9]。中药独活味苦、辛,性微温,主要用于治疗风寒湿痹、腰脚酸痛、感冒风寒夹湿、头痛牙痛等症^[10]。蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯在独活中含量最高^[11]。药物代谢动力学(PK)-药物效应动力学(PD)模型是将PK和PD过程整合为一体进行综合评价,可使药量与效应之间得到相互转化^[12]。微透析技术(MD)是一种可在体内进行连续取样的生物学采样技术,可在线实时检测,在PK-PD模型研究中极具优势且已被广泛使用^[13]。因此,本研究中将独活凝胶贴膏通过穴位贴敷法对RA模型家兔进行给药,建立了测定独活主要成分蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法,获得病理状态下独活的PK参数,并以家兔血清中白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量变化为PD指标,建立PK-PD模型,分析独活药物主要成分在RA模型家兔体内的动态变化规律,进而探讨独活凝胶贴膏穴位贴敷给药的作用机制。现报道如下。

1 仪器、试药与动物

1.1 仪器

AB265-S型电子分析天平(拓赫机电科技上海有限公司,精度为万分之一);LC-20AT型高效液相色谱(HPLC)仪,Waters UPLC-TQD型质谱仪(沃特世科技<上海>有限公司);VM-300型涡旋振荡器(南京稼竣生物科技有限公司);CMA 20型关节微透析探针,CMA 402型双通道微量注射泵,CMA 470型冷却微量自动收集器,均购于瑞典CMA公司;RH-30型恒温箱(东莞市泓进检测仪器有限公司)。

1.2 试药

独活饮片(哈尔滨市润禾中药饮片加工厂,批号为20190410);卵清蛋白(批号为20190304),无水乙醇(批号为20190227),生理盐水灌流液(批号为20190318),聚丙烯酸钠NP700(批号为20181221),氮酮(批号为20181115),酒石酸(批号为20181228),均购于山西锦洋药用辅料有限公司;弗氏完全佐剂(FCA,美国Sigma公司,批号为20190108);聚乙烯吡咯烷酮(PVP)K90(天津博迪化工股份有限公司,批号为20190210);丙三醇(天津市富宇精细化工有限公司,批号为20190105);肝素钠(批号为20190311),脱毛膏(批号为20180524),

水合氯醛(批号为20190113),均购于汉唐生物公司;蛇床子素标准品(批号为wkq190020104,纯度 $\geq 98.556\%$),二氢欧山芹醇当归酸酯标准品(批号为wkq18042305,纯度 $\geq 98.447\%$),均购于四川维克奇生物科技有限公司;IL-1 β 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(批号为20190318),TNF- α ELISA试剂盒(批号为20190314),均购于武汉云克隆科技股份有限公司;无水乙腈、甲醇为色谱纯,氯仿为分析纯。

1.3 动物

新西兰雌性家兔10只,体质量(2.0 ± 0.5)kg,购于黑龙江中医药大学实验动物中心,动物生产许可证号为SCXK(黑)2019-0510。饲养于室内通风良好,温度为22~25℃,相对湿度为45%~60%,在明暗交替(12 h/12 h)的环境中适应性饲养7 d,实验前12~24 h禁食不禁饮。

2 方法与结果

2.1 蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量测定

2.1.1 色谱条件与质谱条件

色谱条件:色谱柱为Acquityuplc®hsst3柱(75 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m);流动相为乙腈-甲醇溶液(48:52, V/V);流速为0.2 mL/min;柱温为30℃;进样量为5 μ L。

质谱条件:离子源为电喷雾离子源(ESI),离子化模式为正离子检测(+);毛细管电压为2.8 kV,锥孔电压为65 V;去溶剂气温度为350℃;氮气流速为0.3 m/s;碰撞能量为40 V;定量分析的离子对包括蛇床子素质荷比(m/z)245 $\rightarrow$ 189,二氢欧山芹醇当归酸酯母离子 m/z 329 $\rightarrow$ 229。

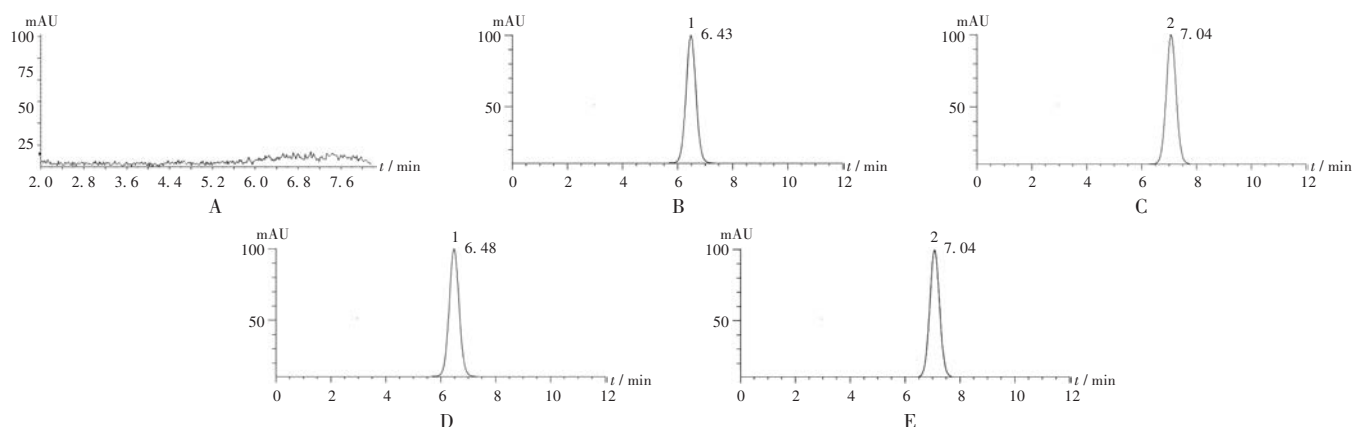
2.1.2 溶液制备

取蛇床子素标准品2.7 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加入生理盐水溶解并定容,即得质量浓度为27 μ g/mL的蛇床子素对照品溶液。另取二氢欧山芹醇当归酸酯标准品0.9 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加入生理盐水溶解并定容,即得质量浓度为9 μ g/mL的二氢欧山芹醇当归酸酯对照品溶液。精密量取微透析样品50 μ L,置2 mL离心管中,加入氯仿溶液100 μ L,涡旋1 min,以4 000 r/min的速率离心10 min,静置2 min,精密吸取下层溶液120 μ L,于通风橱中蒸干氯仿,剩余固体残渣用50 μ L甲醇复溶,涡旋3 min,即得供试品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验:吸取2.1.2项下对照品溶液、供试品溶液及空白微透析样品溶液,按2.1.1项下色谱与质谱条件进样测定,记录色谱图。结果蛇床子素、二氢欧山芹在其出峰位置处无杂质峰干扰。色谱图见图1。

线性关系考察:分别吸取2.1.2项下蛇床子素对照品溶液和二氢欧山芹醇当归酸酯对照品溶液适量,分别加入生理盐水,制成蛇床子素质量浓度分别为1.08,



1. 蛇床子素 2. 二氢欧山芹醇当归酸酯

A. 空白微透析样品溶液 B - C. 对照品溶液 D - E. 供试品溶液

图1 超高效液相色谱-串联质谱图

1. Osthole 2. Columbianadin

A. Blank microdialysis sample solution B - C. Reference solution D - E. Test solution

Fig. 1 UPLC - MS / MS chromatograms

2. 70, 5. 40, 16. 20, 32. 40, 54. 00, 160. 96, 270. 00 ng / mL和二氢欧山芹醇当归酸酯质量浓度分别为0. 36, 0. 90, 1. 80, 5. 40, 10. 80, 180. 00, 53. 65, 90. 00 ng / mL的系列对照品溶液, 经0. 22 μ m微孔滤膜滤过, 取续滤液, 按2. 1. 1项下色谱与质谱条件进样测定, 记录峰面积。以待测成分质量浓度(X , ng / mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的回归方程分别为 $Y_{\text{蛇}} = 568. 64X_{\text{蛇}} + 453. 51$ ($r = 0. 999\ 8, n = 8$), $Y_{\text{二}} = 454. 22X_{\text{二}} + 376. 81$ ($r = 0. 999\ 8, n = 8$)。结果表明, 蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的质量浓度分别在1. 08 ~ 270. 00 ng / mL和0. 36 ~ 90. 00 ng / mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度与准确度试验: 分别吸取2. 1. 2项下蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯对照品溶液适量, 加入生理盐水, 制成蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯低、中、高质量浓度分别为1. 08, 32. 40, 160. 96 ng / mL和0. 36, 10. 80, 53. 65 ng / mL的待测溶液, 按2. 1. 1项下色谱与质谱条件进样测定, 记录峰面积。同日内连续测定6次, 考察日内精密度; 每日测定1次, 连续测定3 d, 考察日间精密度; 以实测质量浓度与理论质量浓度的百分比考察准确度。结果蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯日内、日间精密度的 RSD 均小于5. 00%, 准确度均大于99. 00%, 表明仪器的精密度与准确度均良好。

稳定性试验: 吸取精密度与准确度试验项下蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯低、中、高质量浓度分别为1. 08, 32. 40, 160. 96 ng / mL和0. 36, 10. 80, 53. 65 ng / mL的待测溶液, 分别在室温下放置14 d, 反复冻融($-20 \sim 20\ ^{\circ}\text{C}$)6次后, 按2. 1. 1项下色谱与质谱条件进样测定6次, 记录峰面积。结果蛇床子素和二氢欧山芹醇当归

酸酯的 RSD 均小于10. 00% ($n = 6$), 表明上述放置条件下供试品溶液稳定性良好。

2. 2 PK - PD 模型研究

2. 2. 1 独活凝胶贴膏制备

取独活饮片50 g, 精密称定, 置1 000 mL圆底烧瓶中, 加9倍量80%乙醇回流提取2次, 每次提取2 h, 以纱布过滤3次, 取滤液, 置旋转蒸发仪中至无醇味且呈稠膏状, 置60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱中干燥48 h, 得独活浸膏, 总得率为85%。取甘油30 g, 加入聚丙烯酸钠NP700 5. 5 g, 搅拌均匀, 加入独活浸膏9 g, PVPK90 - 氮酮 - 酒石酸混合溶液0. 75 g (取酒石酸0. 2 g, 加入溶胀的PVPK90 0. 45 g, 混匀, 缓慢加入2%氮酮溶液中, 即得), 再加入2%氮酮0. 06 g, 充分混合, 均匀涂于无纺布上, 覆盖聚乙烯薄膜, 密封包装, 即得独活凝胶贴膏。另制备不含独活的空白凝胶贴膏。

2. 2. 2 造模^[14]、分组与给药

取10只家兔, 随机选取2只作为正常对照组, 其余8只用于造模。取造模组家兔, 用脱毛膏脱去双后肢膝关节及背部肩胛骨处的毛, 将1 mL乳剂 (取卵蛋白100 mg, 溶于5 mL生理盐水中, 制成卵蛋白生理盐水溶液, 再与5 mL弗氏完全佐剂混合制成乳剂) 分5个点于家兔肩胛区皮下注射, 第14天以相同方法加强致敏。第2次致敏后6 d, 将1 mL卵原蛋白生理盐水溶液注射于家兔双侧后膝关节腔内。正常对照组家兔予生理盐水同法注射。当造模组家兔表现出精神萎靡、活动减少且缓慢、关节变形; 表面皮肤温度明显升高, 随后逐渐恢复至稳定水平, 但仍高于正常对照组; 体重随时间推移而升高, 但增长速率较健康状态家兔的速率逐渐放缓; 致敏当日饮食量下降, 随后逐渐恢复; 致敏当日关节肿胀明

显,约为正常对照组的 3 倍,随后逐渐恢复至正常对照组的 2 倍,即为造模成功。将造模成功的家兔随机分为穴位给药组[于足三里穴位给予独活凝胶贴膏 0.40 mg / g (按独活生药量计)]和模型组(空白凝胶贴膏,直接贴敷于造模家兔膝盖正上方),各 4 只。注射卵原蛋白生理盐水治疗 3 d 后(此时家兔膝关节肿胀最严重),微透析探针植入膝关节中平衡 1 h,贴敷药物,连续取样 14 h。

2. 2. 3 PK 参数分析

穴位给药组家兔给药后,采用微透析技术连续 14 h 收集关节腔液,按 2. 1. 2 项下方法处理,按 2. 1. 1 项下色谱与质谱条件进样测定,记录峰面积,代入线性关系考察项下回归方程,计算各时间点家兔关节腔液中蛇床子和二氢欧山芹醇当归酸酯的质量浓度。采用 Win-Nonlin Examples Guide 5. 2. 1 软件计算赤池信息量准则(AIC)值和许瓦兹贝叶斯信息准则(SBC)值(见表 1),拟合得 PK 参数(见表 2),绘制药物浓度 - 时间曲线图(见图 2)。其中, k_{01} 为一级吸收速率常数, k_{10} 为一级消除速率常数, $AUC_{0\sim 14h}$ 为 0~14 h 的血药浓度 - 时间曲线下面积, k_{01_HL} 为吸收相半衰期, k_{10_HL} 为消除相半衰期, t_{lag} 为保留滞后时间, t_{max} 为达峰时间, C_{max} 为达峰浓度。

表 1 穴位给药组家兔房室模型 AIC 值和 SBC 值

Tab. 1 AIC and SBC values of rabbit compartment model in acupoint administration group

房室模型	AIC 值		SBC 值	
	A	B	A	B
一室模型	177. 85	145. 78	180. 41	148. 34
二室模型	178. 58	147. 01	181. 14	149. 57

注:A 为蛇床子素,B 为二氢欧山芹醇当归酸酯。表 2 同。

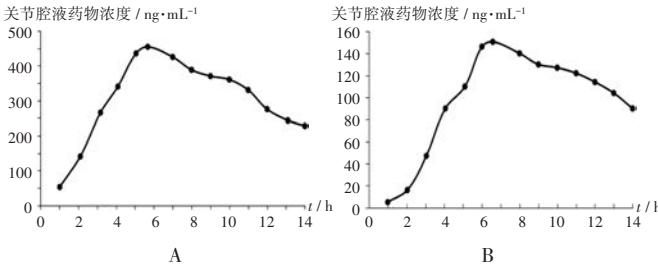
Note:A is osthol,and B is columbianadine(for Tab. 1 and Tab. 2).

表 2 穴位给药组家兔蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯的 PK 参数

Tab. 2 PK parameters of osthole and columbianadin in the acupoint administration group

参数	A	B
$k_{01}(h^{-1})$	0. 22	0. 20
$k_{10}(h^{-1})$	0. 10	0. 12
$AUC_{0\sim 14h}(ng\cdot h / mL)$	6 584. 18	2 185. 67
$k_{01_HL}(h)$	2. 54	2. 69
$k_{10_HL}(h)$	5. 89	5. 94
$t_{lag}(h)$	0. 12	0. 13
$t_{max}(h)$	5. 70	6. 52
$C_{max}(ng / mL)$	454. 31	150. 53

AIC 值和 SBC 值的数值越小,与某一模型的拟合度越好。由表 1 可知,穴位给药组家兔一室模型的 AIC 值和 SBC 值均低于二室模型;由表 2 和图 2 可知,穴位给药 1 h 后关节腔液中可检测到蛇床子素和二氢欧山



A. 蛇床子素 B. 二氢欧山芹醇当归酸酯
A. Osthol B. Columbianadine

图 2 穴位给药组家兔关节腔液中药物浓度 - 时间曲线

Fig. 2 Concentration - time curve of drug in the joint cavity fluid of rabbits in the acupoint administration group

芹醇当归酸酯,说明穴位给药初始吸收较缓慢,但 2 h 后关节腔液中药物浓度迅速升高,蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯药物质量浓度分别于 5. 70 h 和 6. 52 h 时达到峰值,且保持平稳状态并维持较长时间。表明穴位贴敷疗法药效持久且疗效稳定。

2. 2. 4 PD 参数分析

给药后,各组家兔连续 14 h 通过耳缘静脉采血,室温下静置 10~20 min,以 3 000 r / min 的速率离心 20 min,取上清液,于 - 20 ℃ 下冷冻保存。按 ELISA 试剂盒说明书方法操作,采用酶标仪于 450 nm 波长下测定家兔血清中 IL - 1 β 和 TNF - α 的细胞因子水平,抑制率(IR)作为效应值(E)进行计算。 $IR(\%) = [(模型组细胞因子水平 - 给药组细胞因子水平) / 模型组细胞因子水平] \times 100\%$ 。

模型组家兔关节腔液中 IL - 1 β 和 TNF - α 的 14 h 平均抑制率分别为 (- 4. 23 $\pm$ 4. 04)% 和 (- 4. 03 $\pm$ 3. 24)%,表明模型组 14 h 内抑制率无变化。将穴位给药组与模型组家兔的 IL - 1 β 和 TNF - α 水平数据进行独立样本双侧 t 检验,结果两组间比较差异显著 ($P < 0. 05$),表明穴位给药组可通过降低 IL - 1 β 和 TNF - α 水平以抑制 RA 炎症。

2. 3 关节腔局部 PK - PD 的模型拟合

应用 WinNonlin Examples Guide 5. 2. 1 软件对数据进行智能化分析,以 AIC 值和 SBC 值确定最佳房室模型,以穴位给药组家兔关节腔液药物浓度为 PK 指标,家兔血清中 IL - 1 β 和 TNF - α 抑制率为 PD 指标,构建 PK - PD 模型,拟合参数见表 3。其中, E_{max} 为最大效应值, $E_{C_{50}}$ 为可预知达到 1 / 2 药效所需的药物浓度, k_{eo} 为效应室药物消除速率常数。结果显示,穴位给药途径适用于简单最大效应模型;绘制穴位给药组家兔血清中免疫指标抑制百分数(E_{IR})与关节腔液中药物浓度(C)的效应曲线图,详见图 3。

3 讨论

RA 是一种慢性自身免疫性疾病,临床表现为关节

表3 穴位给药组家兔血清中IL-1 β 和TNF- α 的PK-PD拟合参数

Tab. 3 PK-PD fitting parameters of serum IL-1 β and TNF- α in the acupoint administration group

指标	$E_{\max}(\%)$	$E_{C_{50}}(\text{ng/mL})$	k_{co}
IL-1 β	92.68	346.39	0.70
TNF- α	89.20	342.37	0.20

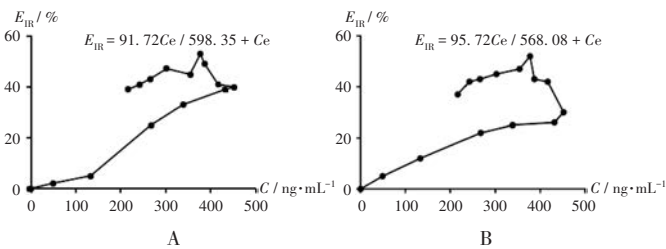


图3 穴位给药组家兔关节腔液中药物浓度-效应曲线
A. IL-1 β B. TNF- α

Fig. 3 Concentration-effect curve of drug in the articular cavity fluid of rabbits in the acupoint administration group

肿胀、僵硬、畸形,严重影响患者的身心健康,其主要病理变化为人体关节滑膜的慢性炎症,由关节滑膜细胞分泌多种细胞因子导致。研究发现,IL-1 β 和TNF- α 均可导致关节滑膜组织炎症,且有助于滑膜细胞增殖^[15-17]。独活治疗RA疗效显著,本研究中建立了测定其指标性成分蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯含量的UPLC-MS/MS法,方法操作简便,结果准确,重复性好,可用于PK研究。

本研究中通过测定家兔关节腔透析液中的药物质量浓度,建立了相应的PK模型。以血液中IL-1 β 和TNF- α 的抑制率为PD端点,拟合了PK-PD模型,定量描述关节腔液中PK指标变化与PD之间的联系。由图3可知,14 h内药物浓度与效应为非线性关系,呈现逆时针曲线趋势,药物效应在关节腔液药物浓度下降期仍保持在较高的水平甚至出现了效应的峰值。即给药后,关节腔液中的药物质量浓度逐渐降低,药效却先升高再降低,说明穴位给药后关节腔液中的药物质量浓度与药物效应可能不同时发生并存在滞后效应。但该方法验证并不完全,也可能与穴位贴敷疗法可以放大药物疗效有关。

综上所述,RA病因及发病机制复杂,本研究中仅观测连续给药后家兔血清中IL-1 β 和TNF- α 的动态变化规律,拟合PK-PD模型,研究还不够全面,以后将研究如何直接、连续地确定体内药物质量浓度和药效,通过数学模型拟合药物变化与疾病状态间的关系和相关性,以进一步探讨独活治疗RA的作用机制。

参考文献

[1] MUELLER SM, AGUAYD D, AEERIL D, et al. Myocellular

characteristics in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients[J]. Arthritis Res Ther, 2018, 20 (1): 51-52.

[2] GAUTAM M, MASOOD MJ, AROOJ S, et al. Rheumatoid Arthritis Related Interstitial Lung Disease: Patterns of High-resolution Computed Tomography [J]. Cureus, 2020, 12 (2): e6875.

[3] 王隆辉,刘圣星,陈 荣,等. 甲氨蝶呤片联合艾拉莫德片治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(3): 231-234.

[4] 段晓梅,余万鑫,刘 衡,等. 胡蜂毒提取物对胶原诱导性类风湿性关节炎大鼠的作用研究[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(1): 26-32.

[5] VERSTEEG GA, STEUNEBRINK LMM, VONKEMAN HE, et al. Longterm disease and patient-reported outcomes of a continuous treat-to-target approach in patients with early rheumatoid arthritis in daily clinical practice [J]. Clin Rheumatol, 2018, 37(5): 1189-1197.

[6] 胡晓敏,宗 英,余珊珊,等. 类风湿关节炎治疗药物的研发进展及趋势[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(1): 36-43.

[7] NAWAZ H, ALI A, REHMAN T, et al. Chronological effects of non-steroidal anti-inflammatory drug therapy on oxidative stress and antioxidant status in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Rheumatol, 2021, 40(5): 1767-1778.

[8] 张仁义,胡雨华,牛 桦. 回药通络定痛散穴位贴敷治疗类风湿关节炎:随机对照研究[J]. 中国针灸, 2016, 36(7): 699-703.

[9] WANG R, YANG J, LIU YX, et al. The Effect of Acupoint Application of Sinomenine for Rheumatoid Arthritis Measured by Microdialysis and UPLC-MS/MS[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 1-10.

[10] 周璐丽,曾建国. 独活化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国现代中药, 2019, 21(12): 1739-1748.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 253.

[12] 潘 洁,王昌权,李 奎,等. 基于大鼠类风湿性关节炎模型建立黑骨藤的PK-PD模型[J]. 中草药, 2020, 51(20): 5194-5200.

[13] 朱黎霞,张英丰. 基于微透析技术结合液质联用的丹酚酸B正常和高脂血症大鼠药动学比较研究[J]. 中草药, 2015, 46(1): 90-95.

[14] 高 远,李永吉,张 弘. 青藤外敷散模型家兔膝关节经穴、非经穴部位皮肤渗透性比较[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1291-1293.

[15] 魏志萍,洪芬芳,杨树龙. 中药治疗类风湿性关节炎的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(12): 5477-5481.

[16] 张 良,白人骁. 细胞因子与类风湿性关节炎治疗新进展[J]. 中国医药导报, 2008, 25(11): 27-29.

[17] 李 沛,王大为,刘晓东. 肿瘤坏死因子- α 及其受体与类风湿关节炎[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(3): 276-283.

(收稿日期: 2021-05-25; 修回日期: 2021-08-05)