

积雪草有效成分 ADME 的特性概述

赖俞瑾^{1,2}, 王胜浩^{1*}, 曾苏²(1.浙江省医学科学院药物所, 杭州 310013; 2.浙江大学药学院, 杭州 310031)

摘要: 积雪草酸及其衍生物是传统药用植物积雪草中含量较高并主要发挥活性的五环三萜类化合物, 具有治疗皮肤损伤、抗癌、抗抑郁等多种药理活性, 但口服生物利用度差。本研究通过查阅国内外相关文献, 系统分析积雪草有效成分的吸收、分布、代谢和排泄(ADME)等药动学特点, 探讨其口服生物利用度低的原因, 并提出改善方法。

关键词: 积雪草有效成分; 药动学; ADME; 生物利用度

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)07-0805-04

Review on the ADME Characterization of Bioactive Constituents in *Centella Asiatica*

LAI Yujin^{1,2}, WANG Shenghao^{1*}, ZENG Su²(1.Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; 2.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

ABSTRACT: Asiatic acid and its derivatives are the most common triterpenoids in traditional popular medicinal herb *Centella asiatica*, and have been reported to possess various pharmacological activities such as anti-inflammatory, anticancer and antidepressant. However, their oral bioavailability is low. This article reviews recent advances in pharmacokinetics from the absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME), to figure out the possible causes for their low oral bioavailability, and further to investigate the strategy for bioavailability improvement.

KEY WORDS: bioactive constituents of *Centella asiatica*; pharmacokinetics; ADME; bioavailability

积雪草为伞形科积雪草属植物积雪草(*Centella asiatica* L. Urban)的干燥全草, 广泛分布于南北半球热带和亚热带地区, 在中国资源也十分丰富^[1]。具有抗纤维化、抗炎、抗癌、抗抑郁、抗氧化、保护神经、保护静脉系统等多种药理活性, 临床上多用于治疗皮肤类疾病^[2-4]。积雪草的主要有效成分包括三萜类化合物、多炔烯类、黄酮类和挥发油等, 其中三萜类是含量最多也是最重要的活性成分, 也是质量控制的标志性成分^[5-7]。大量的研究发现, 其药用价值主要归因于积雪草酸、羟基积雪草酸、积雪草苷和羟基积雪草苷等三萜化合物, 近来还从积雪草植物中分离到羟基积雪草苷的同分异构体即为积雪草苷-B, 分子结构见图 1^[8-10]。积雪草有效成分的药理活性已经得到了国内外大量临床和实验的证实, 但是有关药动学研究文献则较少, 缺乏可靠的体内分析方法以及中药成分的复杂性可能是阻碍相关研究的重要因素^[11-14]。

药物的吸收、分布、代谢、排泄(ADME)研究

已被引入到现代新药的研发中, 但是对于大多数中草药来说, 它们在生物体内的 ADME 性质的数据比较匮乏。笔者系统查阅了国内外文献, 重点分析了积雪草有效成分 ADME 等药动学特性, 系统阐述了导致口服生物利用度低的原因。

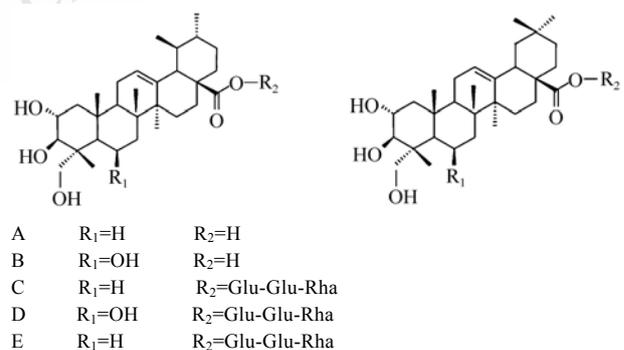


图 1 化学结构图

A-积雪草酸; B-羟基积雪草酸; C-积雪草苷; D-羟基积雪草苷; E-积雪草苷-B

Fig 1 Chemical structures

A-asiatic acid; B-madecassic acid; C-asiaticoside; D-madecassoside; E-asiaticoside-B

基金项目: 浙江省科技计划项目(2011F10048); 浙江省新世纪 151 人才工程(第二层次); 浙江省卫生高层次创新人才培养工程(2008); 浙江省医学重点学科群建设项目(XKQ-010-001)

作者简介: 赖俞瑾, 女, 硕士 Tel: (0571)88206761 E-mail: laiyujin1020@yahoo.com.cn *通信作者: 王胜浩, 男, 博士, 研究员 Tel: (0571)88215622 E-mail: wshenghao@yahoo.com

1 积雪草有效成分的药动学特性

虽然积雪草的使用已经具有几千年的历史,但是用现代研究技术分离分析这种传统植物药的活性成分还是近几十年的事情,对其体内的药动学研究则涉足很少,相关文献屈指可数。生物样品分析技术的限制和成分复杂可能是中药药动学评价研究较少的原因之一。下面主要就积雪草的体内 ADME 特点进行介绍。

1.1 吸收

Grimaldi 等^[15]考察了人体单次多剂量(30 mg 或 60 mg)和 7 d 连续多剂量(30 mg 或 60 mg, 2 次·d⁻¹)口服积雪草提取物(积雪草酸和羟基积雪草酸约占 60%, 积雪草苷为 40%), 发现单次给药高低剂量的 T_{max} 没有显著差异, 而 C_{max} 分别为 0.70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 1.36 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ 为 4.16 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 9.39 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, 呈现剂量相关性。且连续多次给药后, T_{max} 无明显变化, 而 C_{max} 和 $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$ 均较单次给药显著升高。Rush 等^[16]比较研究了人口服等摩尔积雪草酸(12 mg)和积雪草苷(24 mg)后的相对稳态生物利用度(2 次·d⁻¹, 连续 10 d), 达稳态后积雪草酸组的血药浓度曲线呈现典型的锯齿状, C_{max} 相对更高(0.098 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ vs 0.065 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), T_{max} 略短(4.0 h vs 5.4 h), 血药浓度初始值和 12 h 值均较积雪草苷给药组略低, 而积雪草苷组的血药浓度则保持在一个较平稳的水平。但 2 者的稳态 $\text{AUC}_{0-12\text{h}}$ 较为接近[(0.61 ± 0.25) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ vs (0.61 ± 0.32) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$], 表明 2 种成分在人体内具有相近的生物利用度。

从 C_{max} 和 AUC 数据看, 人体口服积雪草酸及积雪草苷的吸收较差, 在实验动物中也存在这种现象。大鼠静注积雪草苷 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后, C_{max} 为(3.35 ± 0.79) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, AUC_{0-t} 为(1.36 ± 0.95) $\mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{mL}^{-1}$, 而灌胃组由于积雪草苷的血药浓度太低, 无法进行药动学计算^[17]。大鼠灌胃积雪草苷 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后, 积雪草苷本身的血药峰浓度仅为 6 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 左右^[18]。采用同样的给药方式(100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)检测积雪草酸的血药浓度, C_{max} 也仅约为 14 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[19]。Chasseaud 等^[20]用同位素标记法考察了大鼠口服积雪草酸并与静注给药进行了比较, 结果灌胃组的血药峰浓度均 < 0.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 远低于静注的初始浓度(约 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

近来, 有人采用在体肠灌流和细胞模型等体外实验, 考察了胃肠道的吸收情况, 并探讨了积雪草苷和羟基积雪草苷的口服吸收差、生物利用度低的机制。采用大鼠在体肠灌流模型^[21-22], 发现积雪草苷在十二指肠、空肠、回肠及结肠段的吸收比较差。但研究同时表明, 苷元积雪草酸的吸收比积雪草苷有所提高, 在结肠段的 P_{eff} 达到了 $34.5 \times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ 。在 MDCK 细胞的透过实验中, 积雪草酸的 P_{app} 值也明显高于积雪草苷(最高 P_{app} 为 $5.9 \times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ vs $2.5 \times 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$)。可见, 积雪草酸的胃肠道吸收要优于积雪草苷。

羟基积雪草苷虽然在结构上比积雪草苷多了一个羟基, 但也存在吸收较差的问题。杨玉琴^[23]采用大鼠在体单向肠灌流法, 发现羟基积雪草苷在十二指肠、空肠、回肠、结肠的吸收速率常数较低, 最佳吸收部位为十二指肠, 药物浓度和灌流液 pH 值对羟基积雪草苷在大鼠全肠道的吸收没有显著性影响。胆管结扎与否也不影响药物在小肠的吸收速率, 提示羟基积雪草苷可能没有参与肝肠循环。

许多药物的低吸收可能与 P-糖蛋白的外泵作用有关^[24]。但抑制 P-糖蛋白不能使积雪草苷的吸收明显增加, 推测积雪草苷不是 P-gp 底物^[22]。肠灌流液中加入 P-gp 抑制剂维拉帕米后羟基积雪草苷的 K_a 值没有显著增大, 推出羟基积雪草苷不是 P-gp 底物^[23]。

1.2 分布

朱丽莎^[25]研究发现, 积雪草苷静注后在大鼠体内分布广泛, 其心脏中心浓度最高, 其次是肝、脑、肺、脾、肾, 其他组织胃、肠、肌肉相对较低, 生殖腺中浓度未测出, 而脂肪组织因较难获取未检测。脑中的积雪草苷达到一定浓度, 甚至高于肺、脾和肾组织, 说明积雪草苷能通过血脑屏障, 进入中枢神经系统。5 min 时各组织中药物浓度最高, 30 min 时降低近一半, 80 min 时降低至 1/4。大鼠静注羟基积雪草苷后, 与积雪草苷有类似的分布, 但脑中浓度较低。

1.3 代谢

早期的药动学研究发现, 口服积雪草苷后, 在血浆中能检测到积雪草酸, 推测可能是积雪草苷在体内水解为积雪草酸后发挥药理活性^[16]。肠

道内存在大量的菌群，能分泌许多水解苷键的药物代谢酶^[26]，积雪草苷很有可能在肠道内被菌酶所水解，释放出其苷元再被吸收的。这个推理已经得到了体外实验的验证。翁俊等^[27]将积雪草苷加入到大鼠肠内细菌的菌酶溶液中分离检测到了3个积雪草苷的代谢产物，依次是积雪草苷脱去1个、2个、3个糖键后得到的产物。羟基积雪草苷也存在同样的代谢^[23]。在口服积雪草苷后，在血浆和尿样中同时检测到了原型药物和各个水解代谢物，而在粪便中积雪草苷几乎全部转化为苷元，可见代谢物和原型药物同时被吸收入血^[22]。积雪草苷口服后大部分在体内经肠道细菌转化为其苷元积雪草酸，少量原药和代谢产物可吸收入血，经尿液、胆汁等排出。

积雪草酸经肠道吸收后在肝脏中发生二相代谢，生成它的葡醛酸苷和硫酸酯结合物。Chasseaud等^[20]采用同位素标记法，发现积雪草酸通过胆汁排泄的药物中，约80%为积雪草酸葡醛酸苷结合物，20%为硫酸酯结合物，而羟基积雪草酸相应为70%和30%，2者均未检测到原型药物。同时，在静脉注射以上2种药物时，注射初期胆汁显示为无色，却检测到大量的药物结合物，推测积雪草酸属五环三萜类化合物，结构上与胆红素十分相似，竞争性葡醛酸结合的结果。由于积雪草苷元和羟基积雪草酸的结构中存在多个羟基，其二相代谢具体发生反应的位点尚未明确。从空间位阻上分析，推测3 β -和2 α -OH的可能性较大。

积雪草苷和羟基积雪草苷在大鼠肝微粒体和原代肝细胞中的代谢稳定性很高，不被细胞色素P450酶代谢，也没有其他代谢物生成，推测几乎无首过代谢作用^[22-23]。静脉注射羟基积雪草苷后，在尿液和胆汁中也未发现其他代谢产物^[28]，这个结果不同于积雪草酸的体内二相代谢。有研究发现，积雪草酸及其代谢物对P450酶存在抑制作用，可能影响其代谢的发生，也可能是引起药物相互作用的机制之一^[29]。它们对酶的抑制看似是非特异性的，主要基于其与酶的疏水区域之间的疏水相互作用^[30]。

综上所述，积雪草苷和羟基积雪草苷经口服后，在肠道内菌酶分泌的苷键水解酶作用下，发生阶梯式的代谢，糖基逐个被水解，直至全部转

化为苷元。体内实验显示，积雪草酸和羟基积雪草酸在肝脏内可发生二相代谢，生成葡醛酸和硫酸酯结合物。体外肝微粒体和原代肝细胞代谢实验显示，积雪草苷和羟基积雪草苷基本不发生一、二相代谢，无首过代谢作用。

1.4 排泄

Chasseaud等^[20]采用同位素标记法，对积雪草酸和羟基积雪草酸在大鼠体内的排泄情况做了较全面的考察。发现大鼠分别灌胃[G-3H]积雪草酸和[G-3H]羟基积雪草酸后，放射物主要的排泄方式是粪便，48 h内80%以上经粪便排泄，2%~3%经尿排泄。其中24 h内30%左右通过胆汁排泄，而且都以二相代谢产物的形式存在(葡醛酸苷结合物和硫酸酯结合物)。静脉注射给药后，[G-3H]积雪草酸，8 h就经胆汁排泄了89.1%，[G-3H]羟基积雪草酸排泄了71.6%。综上所述，胆汁是积雪草酸和羟基积雪草酸的主要排泄方式。

胆汁也同样是积雪草苷的主要排泄途径。文献报道，大鼠静注10 mg·kg⁻¹积雪草苷后，24 h胆汁排泄量为给药量的(81.4 \pm 1.6)%^[9]。但大鼠静脉注射羟基积雪草苷后，24 h通过胆汁排泄只占1.5%，而通过尿液和粪便排泄的羟基积雪草苷分别为82.9%和7.0%^[28]。可见，尿液是其羟基积雪草苷主要的排泄形式，而且24 h原型药物的排泄量占给药量的90%以上。积雪草苷和羟基积雪草苷排泄途径的差异，可能是后者结构中多了一个羟基导致极性增加所致。

综上所述，静注给药，积雪草酸和羟基积雪草酸在体内主要以葡醛酸和硫酸酯结合物的形式通过胆汁排泄，24 h基本排泄完全。口服后，未被吸收的药物合并经胆汁排出的药物主要通过粪便排泄，少量通过尿样排泄。而积雪草苷和羟基积雪草苷的主要排泄途径并不相同，前者主要通过胆汁排泄，而后者主要以原型药物形式通过尿液排泄。

2 结语

积雪草酸及其衍生物作为积雪草中的主要活性成分，其药理药效已经得到了大量研究和临床的证实，但初步药动学研究发现其生物利用度很低，笔者系统查阅了国内外文献，重点分析了积雪草有效成分ADME等药动学特性，指出了口服

生物利用度低是困扰积雪草主要有效成分广泛临床应用的原因之一，并为今后高口服生物利用度药物新制剂的研究提供了理论依据。

REFERENCES

- [1] CHEN Y, QIN L P, ZHENG H C, et al. Resources distribution and pharmacognostic identification of *Centella asiatica* (L.) Urban produced in China [J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 2000, 25(4): 199-202.
- [2] BRINKHAUS B, LINDNER M, SCHUPPAN D, et al. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica* [J]. *Phytomedicine*, 2000, 7(5): 427-448.
- [3] ZHENG C J, QIN L P. Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities [J]. *J Chin Integr Med*(中西医结合学报), 2007, 5(3): 348-351.
- [4] FENG X, ZHANG Y W, LIANG Z H, et al. Study on the intestinal absorption kinetics of asiatic acid in rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2013, 30(6): 628-632.
- [5] LIU Y, ZHAO Y Q. Chemical studies on the saponin compounds of *Centella asiatica* [J]. *Mod Chin Med*(中国现代中药), 2008, 10(3): 7-9.
- [6] JAMES J T, DUBERY I A. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban [J]. *Molecules*, 2009, 14(10): 3922-3941.
- [7] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 200.
- [8] HASHIM P, SIDEK H, HELAN M H, et al. Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica* [J]. *Molecules*, 2011, 16(2): 1310-1322.
- [9] YU Q L, DUAN H Q, GAO W Y, et al. A new triterpene and a saponin from *Centella asiatica* [J]. *Chin Chem Lett* (中国化学快报), 2007, 18(1): 62-64.
- [10] XING H B, SU B G, WANG Y Y, et al. Separation and determination of asiaticoside, asiaticoside-B and madecassoside in *Centella asiatica* total triterpenoid saponins by HPLC [J]. *J Liq Chromatogr Related Technol*, 2009, 32(13): 1891-1900.
- [11] JAMES J T, DUBERY I A. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb *Centella asiatica* (L.) Urban [J]. *Molecules*, 2009, 14(10): 3922-3941.
- [12] SHAKIR J S, QUDSIA N, MEHBOOBUS S. *Centella asiatica*. (Linn.) Urban-a review [J]. *Nat Prod Radiance*, 2007, 6(2): 158-170.
- [13] YANG L. Progress of study on pharmaceutical activities and mechanisms of asiaticoside [J]. *Chin Arch Trad Chin Med* (中华中医药学刊), 2008, 26(1): 215-217.
- [14] BAEK M, RHO Y S, KIM D H. Column-switching high-performance liquid chromatographic assay for determination of asiaticoside in rat plasma and bile with ultraviolet absorbance detection [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1999, 728(2): 357-363.
- [15] GRIMALDI R, DE PONTI F, D'ANGELO L, et al. Pharmacokinetics of the total triterpene fraction of *Centella asiatica* after single and multiple administrations to healthy volunteers. A new assay for asiatic acid [J]. *J Ethnopharmacol*, 1990, 28(2): 235-241.
- [16] RUSH W R, MURRAY G R, GRAHAM D J. The comparative steady-state bioavailability of the active ingredients of Madecassol [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 1993, 18(4): 283-286.
- [17] LIU Z X, LIU S J, JU W Z. Pharmacokinetic study of asiaticoside in rat plasma by UPLC-MS [J]. *Chin Pharm Bull*(中国药理学通报), 2010, 26(4): 543-546.
- [18] SHEN C Y, GU X C, WANG G G, et al. Determination of asiatic acid in rat plasma by GC/MS [J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*(质谱学报), 2006, 27(3): 155-159.
- [19] GU X C, WANG G Q, JIN Y E, et al. Determination of asiaticoside in rat plasma by HPLC/MS/MS [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2006, 37(4): 256-257.
- [20] CHASSEAUD L F, FRY B J, HAWKINS D R, et al. Metabolism of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside in rat [J]. *Arzneim-Forsch*, 1971, 21(9): 179-184.
- [21] HUANG H P, LIU C X. Studies on the intestinal absorption kinetics of asiaticoside in rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2008, 39(7): 1056-1058.
- [22] WENG J. Characterization of absorption and metabolism of asiaticoside and its analogs [D]. Beijing: Academy of Military Medical Science of the CPLA, 2006.
- [23] YANG Y Q. Characterization of absorption and metabolism of madecassoside [D]. Gansu: Lanzhou University, 2010.
- [24] BARRAND M A, BAGRIJ T, NEO S Y. Multidrug resistance-associated protein: a protein distinct from P-glycoprotein involved in cytotoxic drug expulsion [J]. *Gen Pharmacol*, 1997, 28(5): 639-645.
- [25] ZHU L S. Pharmacokinetics of asiaticoside in SD rats [D]. Chongqing: Pharmacy College of Chongqing Medical University, 2010.
- [26] OMURA T, STATO R. The carbon monoxidebinding pigment of liver microsomes, evidence for its hemoprotein nature [J]. *J Biol Chem*, 1964, 239: 2370-2378.
- [27] WENG J, LU Q J, TIAN Y, et al. Metabolism and transformation of asiaticoside by in testinal flora [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37(7): 1008-1011.
- [28] TAN X W. Pharmacokinetics study of madecassoside in SD rats [D]. Chongqing: Pharmacy College of Chongqing Medical University, 2010.
- [29] PAN Y, ABD RASHID B A, ISMAIL Z, et al. *In vitro* modulatory effects on three major human cytochrome P450 enzymes by multiple active constituents and extracts of *Centella asiatica* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(2): 275-283.
- [30] GLINSKI J, BRANLY K L. Pentacyclic triterpenes: United States, 6433010 [P]. 2002-08-13.

收稿日期: 2013-02-06