

高剂量双黄连粉针中绿原酸的药动学 及其在唾液中的分布

李秋红*, 冯宇飞, 刘佩莉, 崔明宇

(黑龙江中医药大学药学院临床药学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 明确双黄连粉针剂高剂量给药时有效成分绿原酸在大鼠体内的动态变化规律及其在唾液中的分布情况。方法: 大鼠 $740 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 静脉注射双黄连粉针后, 反相高效液相色谱法测定绿原酸在血液、唾液中的浓度, 采用 Multi97 进行处理, 确定药动学参数。结果: 绿原酸在大鼠体内符合二室模型分布, 其主要药动学参数如下: $t_{1/2} = 0.63 \text{ h}$, $\text{AUC} = 62.40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$, $V_c = 3.58 \text{ L}$, $\text{CL} = 4.03 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。绿原酸的唾液浓度范围为: $(0.42 \sim 9.88) \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结论: 双黄连粉针高剂量给药时绿原酸呈非线性药动学消除过程, 在唾液中的分布浓度较低。

[关键词] 绿原酸; 药动学; 唾液分布; 双黄连粉针

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0047-03

Pharmacokinetics and Salivary Distribution of Chlorogenic acid for Shuanghuanglian Injection at High-dose

LI Qiu-hong*, FENG Yu-fei, LIU Pei-li, CUI Ming-yu

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Faculty of Pharmacy,

Department of Clinical Pharmacy, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To identify pharmacokinetics and salivary distribution of Chlorogenic acid after high-dose administration of Shuanghuanglian Injection in rats. **Methods:** Each rat was given a $740 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dose of Shuanghuanglian Injection via the vein. RP-HPLC method was used to determine the concentrations of Chlorogenic acid in plasma and saliva. Pharmacokinetic model and parameters were analyzed by program Multi97. **Results:** Chlorogenic acid showed two compartment model in rats and the main parameters of pharmacokinetics were as follows: $t_{1/2} = 0.63 \text{ h}$, $\text{AUC} = 62.40 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $V_c = 3.58 \text{ L}$, $\text{CL} = 4.03 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$. The salivary level of Chlorogenic acid was within $(0.42 \sim 9.88) \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. **Conclusion:** These results suggested that Chlorogenic acid would present nonlinear pharmacokinetics, and Chlorogenic acid was excreted lowly into saliva.

[Key words] chlorogenic acid; pharmacokinetics; salivary distribution; Shuanghuanglian Injection

双黄连粉针常用于治疗急性上呼吸道感染等病症, 高剂量用药治疗小儿麻疹、急性胃肠炎^[1], 绿原酸是主要有效成分之一。随之广泛的临床应用, 双

黄连粉针剂不良反应报道逐年增多且居于中药注射剂首位^[2], 尤其在高剂量应用时, 不良反应程度及数量明显增加^[3,4], 甚至有死亡的报道^[5]。而不良反应的产生与体内的血药浓度直接相关, 为保证临床安全用药, 掌握双黄连有效成分在体内的动态变化规律十分重要。低、中剂量双黄连药动学研究已有明确结果^[6], 因此有必要对高剂量给药时产生的与药动学相关的不良反应的原因进行探讨。双黄连粉针

[收稿日期] 2007-10-18

[基金项目] 黑龙江省自然科学基金项目资助(D2007-22)

[通讯作者] * 李秋红, Tel: (0451) 82196183; E-mail: liqiu hong64@163.com

有效成分在唾液的分布情况尚未见报道。

口腔是上呼吸道感染的第一道关口之一,分布在唾液中的药物将可能产生一定的药效。据报道,绿原酸有利胆、降压、抗菌、消炎及升高白细胞、显著增加胃肠蠕动和促进胃液分泌等多种药理作用^[7],另外,绿原酸具有致敏原作用,可引起变态反应,是引起双黄连粉针过敏反应的主要原因之一^[8]。

本实验将对双黄连粉针高剂量给药时绿原酸的体内药动学展开研究,并进一步考察其在唾液中的分布,为双黄连粉针安全用药、更好发挥药效,制定合理给药方案提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂 绿原酸标准品(中国药品生物制品检定所);双黄连粉针剂(哈药集团中药二厂生产,批号:0609229);水杨酸(中国药品生物制品检定所);其它试剂均为市售色谱纯、分析纯,水为超纯水。

1.2 仪器 高效液相色谱仪(LC-2010,日本岛津),UV 检测器,Class-VP 色谱工作站;氮吹仪(KL512 型,北京);旋涡混合器(XW-80A,上海);自动平衡离心机(TDL-60B,上海);超声波清洗器(SK8200H,上海);高速冷冻离心机(TGL16M,长沙);恒速给药泵(D-34209,德国)。

1.3 实验动物 雄性 Wistar 大鼠,体重(328 ± 4)g(上海斯莱克实验动物有限责任公司)。大鼠在乌拉坦麻醉下,分别施行颈静脉、气管、股静脉及颌下腺唾液腺插管,以匹罗卡品刺激唾液分泌。

1.4 投药及样品采集 双黄连粉针溶于生理盐水中,经颈静脉插管快速注射(740 mg·kg⁻¹),在给药前和给药后 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105 min 采集血液 200 μL,立即离心分离得血浆。唾液样品收集于给药后(0~ 10), (10~ 30), (30~ 60), (60~ 90), (90~ 120) min 5 个时间段,血浆与唾液样品在 - 30 °C 冷冻保存待分析。

1.5 绿原酸浓度测定 用 HPLC 法测定生物样品中绿原酸含量。色谱条件参考文献方法^[6] 修改为:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相为甲醇:磷酸盐缓冲液(20: 80, pH2.7),流速:1.0 mL·min⁻¹,柱温:55 °C,检测波长:274 nm。改进后的样品处理方法为:取血浆及唾液样均 20 μL,加入内标水杨酸溶液及甲醇 1.0 mL,涡漩混合 1 min 后,离心(3 000 r·min⁻¹, 10 min),取上清液 0.8 mL,在

40 °C 水浴下氮气吹干甲醇,用流动相 200 μL 溶解,20 μL 进样分析。

精密称取绿原酸标准品,溶于甲醇中制成 1.0 mg·mL⁻¹ 储备液,稀释获得绿原酸应用液(100 μg·mL⁻¹),取不同体积的绿原酸应用液,各加空白血浆或唾液 20 μL 及一定体积内标水杨酸溶液,按样品处理步骤操作,进行分析,测定绿原酸及水杨酸峰面积,绘制标准曲线。

1.6 数据分析 最小二乘法进行回归运算得回归方程,绿原酸与水杨酸峰面积比为纵坐标(Y),绿原酸浓度为横坐标(X)。以峰面积比计算绿原酸浓度。测得的绿原酸血药浓度—时间数据以二室模型拟合,用 multi97 v10 程序进行混杂参数和二次参数(A, B, α, β, V_c, K₂₁)的回归分析。各实验结果数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

2 结果

血液和唾液标准曲线的回归方程分别为 $Y = 0.1482X + 0.3934, r = 0.9998$; $Y = 2.2293X + 0.3371, r = 0.9990$, Y 为峰面积比, X 为浓度, r 是相关系数。该方法唾液与血液最小检测限分别为 0.3 μg·mL⁻¹、5 μg·mL⁻¹,血浆和唾液样品中的内源性物质在此检测方法中对绿原酸的测定无干扰。

根据标准曲线方程求得绿原酸血浆和唾液的浓度,绘制药时曲线,静脉注射给药后的绿原酸血药浓度随时间呈二级速度过程下降(图 1),符合二室模型。消除相的血药浓度范围为(13.12~ 9.580) μg·mL⁻¹。药动学参数计算结果见表 1。唾液药物浓度范围为(0.42~ 9.88) μg·mL⁻¹,见图 2。

表 1 双黄连粉针中绿原酸的药动学参数(n = 3)
Tab 1 Pharmacokinetic parameters of Chlorogenic acid in Shuanghuanglian Injection (n = 3)

参数	$\bar{x} \pm s$
α(h ⁻¹)	5.14 ± 1.00
β(h ⁻¹)	0.43 ± 0.30
A(μg·mL ⁻¹)	46.35 ± 10.00
B(μg·mL ⁻¹)	21.01 ± 4.50
K ₂₁ (h ⁻¹)	1.94 ± 0.50
AUC(μg·h ⁻¹ ·mL ⁻¹)	62.40 ± 14.00
V _c (L)	3.58 ± 0.36
CL(L·h ⁻¹)	4.03 ± 0.90
t _{1/2} (h)	0.63 ± 0.08

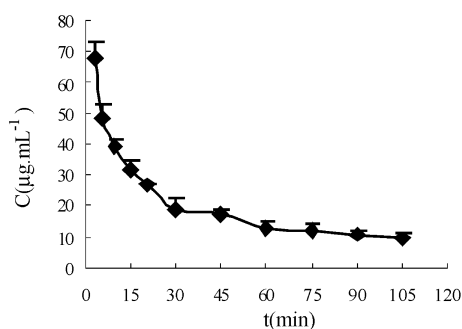


图 1 大鼠静脉注射双黄连粉针剂(740 mg·kg⁻¹)后有效成分绿原酸的血液药时曲线(n=3)
Fig. 1 Plasma levels of Chlorogenic acid after bolus i. v. administration of Shuanghuanglian Injection (740 mg·kg⁻¹) in rats (n=3)

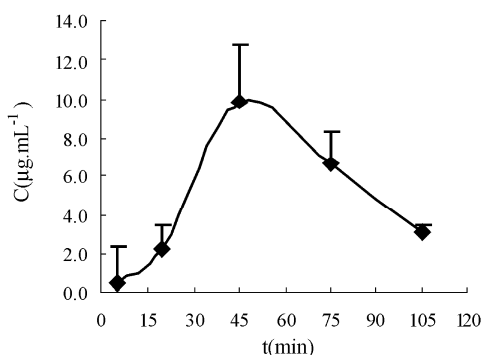


图 2 大鼠静脉注射双黄连粉针剂(740 mg·kg⁻¹)后有效成分绿原酸的唾液药物浓度-时间曲线(n=3)
Fig. 2 Salivary levels of Chlorogenic acid after bolus i. v. administration of Shuanghuanglian Injection (740 mg·kg⁻¹) in rats (n=3)

3 讨论

绿原酸在血浆中的 HPLC 检测方法虽已有报道^[6],但分析用的样品量较大,而本研究提供的是微量样品,因需要从每只大鼠同时采集血液和唾液样品,为保证反复多次在每一时间点和时间段都能采集到供分析用的生物样品以反映完整的体内动态变化过程,血液样品的采集量只能尽量少,在这段时间段收集到的唾液样品又很少(约 30 µL),唾液中绿原酸的含量又较低,故需灵敏度更高的检测方法。经方法学考查表明,本实验改进后建立的适用于绿原酸血液及唾液样品处理 HPLC 检测方法,在较宽浓度范围内线性关系好,分离度较好,血浆和唾液中的内源性物质不干扰样品的测定,专属性强,方法回收率、精密度均符合生物样品检测要求。此方法为

微量血浆、唾液样品中绿原酸含量检测方法的首次建立。

通过与已报道双黄连低剂量下^[6]绿原酸药动学参数进行对比发现,AUC 与剂量不成正比, $t_{1/2}$ 随给药剂量增加而延长,表明双黄连粉针中绿原酸在大鼠体内消除过程呈现非线性动力学特征,在高剂量给药范围内,剂量微小变化,将使血药浓度与之不成比例的升高或下降,所以双黄连在高剂量给药下应密切监测用药过程,及时调整给药剂量、给药时间间隔等治疗方案,避免不良反应发生。

在本实验方法下,双黄连粉针中绿原酸在唾液中已被检测出有一定含量,虽然浓度较低,但说明在唾液中有分布,分泌到唾液中的绿原酸可能对进入口腔引起上呼吸道感染的病菌有一定的抑制作用。绿原酸分子量为 354.30,属小分子药物,1% 水溶液的 pH 值为 5.0~5.6,均符合从血浆向唾液中分布的条件,唾液中的绿原酸浓度低的原因可能是由于绿原酸性质不稳定、易分解^[9]等药物因素所导致。

[参考文献]

- [1] 曹华,孙丙收.双黄连的临床应用[J].滨州医学院学报,2000,23(2):163.
- [2] 王波.中药注射剂不良反应的中文文献分析[J].药物流行病学杂志,2000,9(4):189-191.
- [3] 陈晓玲.双黄连粉针剂临床应用剂量与不良反应的关系[J].四川医学,2000,21(7):652.
- [4] 舒畅.双黄连粉针剂的不良反应[J].湖南中医药导报,2001,7(5):256-257.
- [5] 王德才,张玲,李爱珍.中药注射剂致死亡 39 例文献分析[J].药物流行病学杂志,2004,13(2):77-80.
- [6] 何心,石春伟,张兰平,等.双黄连粉针中绿原酸在大白鼠的药物动力学[J].中国临床药理学杂志,1998,7(3):134-136.
- [7] 高锦明,张鞍灵,张康健,等.绿原酸分布、提取与生物活性研究综述[J].西北林学院学报,1999,14(2):73-82.
- [8] 王勤华,刘彦臣.双黄连注射剂不良反应的原因及其防范[J].黑龙江医药科学,2005,28(3):86-87.
- [9] 邓良,袁华,喻宗沅.绿原酸的研究进展[J].化学与生物工程,2005,(7):4-6.