

UPLC-MS/MS 分析注射用清开灵(冻干)中 5 种成分在正常大鼠和脑缺血大鼠体内的药代动力学行为

刘学¹, 苏菊¹, 杜鹏², 姚文丽¹, 杨青波³, 陆煜玫³, 吴林菁¹, 姜丰¹,
沈祥春¹, 许乾丽^{1,4}, 陶玲^{1*}, 茅向军^{1,4*}

(1. 贵州医科大学 贵州省天然药物资源高效利用工程中心, 贵州省普通高等学校天然药物
药理与成药性评价特色重点实验室, 贵州医科大学-贵阳市联合重点实验室, 天然药物资源优效利用
重点实验室, 药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵阳 550004;
3. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵阳 550008; 4. 贵州省食品药品检验所, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:建立超高效液相色谱-质谱联用技术(UPLC-MS/MS)测定注射用清开灵(冻干)中黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸和猪去氧胆酸在大鼠血浆中含量的方法,研究该制剂在正常和脑缺血模型大鼠体内的药代动力学行为。方法:大鼠随机分为正常组和脑缺血模型组。采用线栓法制备大鼠脑缺血模型,以生理盐水为溶媒,腹腔注射给药,分别在相应时间点取血,经处理后使用 UPLC-MS/MS 测定血药浓度,主要检测条件为流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙睛(B)梯度洗脱(0~0.25 min, 90% A;0.25~1 min, 90%~75% A;1~2 min, 75%~50% A;2~2.6 min, 50%~45% A;2.6~2.65 min, 45%~90% A;2.65~4.0 min, 90% A),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 40℃,电喷雾离子源,负离子方式扫描。拟合药动学参数和计算生物利用度,分析注射用清开灵(冻干)中 5 种成分在正常和脑缺血模型大鼠体内处置过程的差异。结果:大鼠腹腔注射给予注射用清开灵(冻干)后,与正常组比较,栀子苷在脑缺血模型组大鼠体内的药-时曲线下面积(AUC_{0-t})显著降低($P < 0.05$),脑缺血模型组大鼠体内绿原酸的达峰时间(T_{max})显著提前($P < 0.01$);黄芩苷、胆酸和猪去氧胆酸在 2 组大鼠体内的药代动力学参数均无显著性差异。结论:注射用清开灵(冻干)在正常和脑缺血大鼠体内的处置过程存在一定差异,对该制剂临床治疗脑缺血疾病具有一定的指导意义。

[关键词] 注射用清开灵(冻干);脑缺血模型;药代动力学;芦丁;异鼠李素;内源性胆汁酸;腹腔注射

[中图分类号] R22;R24;R28;R969.1;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)22-0086-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191452

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190401.1448.006.html>

[网络出版时间] 2019-04-03 7:02

Analysis of Pharmacokinetic Behavior of Five Components in Qingkailing (Lyophilized) for Injection in Normal Rats and Cerebral Ischemia Rats by UPLC-MS/MS

LIU Xue¹, SU Ju¹, DU Peng², YAO Wen-li¹, YANG Qing-bo³, LU Yu-mei³, WU Lin-jing¹,
JIANG Feng¹, SHEN Xiang-chun¹, XU Qian-li^{1,4}, TAO Ling^{1*}, MAO Xiang-jun^{1,4*}

(1. Guizhou Provincial Engineering Center of Efficient Utilization of Natural Medicinal Resources, High Educational Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Druggability of Guizhou Province, Joint Key Laboratory of Guizhou Medical University-Guiyang City, Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicinal Resources, School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

[收稿日期] 20190121(011)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药字[2013]5026);贵州省科技创新团队项目(黔科合人才团队[2015]4025号);贵州省高层次创新型人才百层次人才项目(贵州省科技厅黔科合人才[2015]4029号);贵州医科大学药学院国际科技合作基地(黔科合平台人才[2017]5802)

[第一作者] 刘学,在读硕士,从事药物分析学研究, Tel:0851-86808857, E-mail:1217190211@qq.com

[通信作者] *茅向军,博士,主任药师,从事药物质量控制技术研究, Tel:0851-86808857, E-mail:1074459931@qq.com;

*陶玲,硕士,教授,从事药物新剂型与新技术研究, Tel:0851-8416160, E-mail:649511230@qq.com

2. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;
3. Guizhou Yibai Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang 550008, China;
4. Guizhou Institute for Food and Drug Control, Guiyang 550004, China)

[Abstract] Objective: To establish a UPLC-MS/MS analysis method for determination of baicalin, geniposide, chlorogenic acid, cholic acid and hyodeoxycholic acid in Qingkailing (lyophilized) for injection in rat plasma, and to investigate the pharmacokinetic behavior of this preparation in normal and cerebral ischemic rats. **Method:** Rats were randomly divided into normal group and cerebral ischemia model group. The rat model of cerebral ischemia was established by suture embolization. The rats were given by intraperitoneal injection, and normal saline was used as the solvent. Blood samples were taken at the corresponding time points. After treatment, UPLC-MS/MS was used to determine the blood concentration of five components. The main detection conditions were mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution-acetonitrile for gradient elution (0-0.25 min, 90% A; 0.25-1 min, 90%-75% A; 1-2 min, 75%-50% A; 2-2.6 min, 50%-45% A; 2.6-2.65 min, 45%-90% A; 2.65-4.0 min, 90% A), the flow rate of 0.4 mL·min⁻¹, the column temperature at 40 °C, electrospray ionization under negative ion mode. The pharmacokinetic parameters were fitted and the bioavailability was calculated, the differences of treatment process of five components from Qingkailing (lyophilized) for injection in normal and cerebral ischemic rats were analyzed. **Result:** Compared with the normal group, the area under the curve (AUC_{0-t}) of geniposide in rats from cerebral ischemia model group decreased significantly after intraperitoneal injection of Qingkailing (lyophilized) for injection ($P < 0.05$), and the time to peak (T_{max}) of chlorogenic acid in rats from cerebral ischemia model group was significantly earlier than that in the normal group ($P < 0.01$). Pharmacokinetic parameters of baicalin, cholic acid and hyodeoxycholic acid had no significant difference between these 2 groups. **Conclusion:** Qingkailing (lyophilized) for injection has a certain difference in the treatment process between normal and cerebral ischemic rats, which has certain guiding significance for the clinical treatment of cerebral ischemic diseases with this preparation.

[Key words] Qingkailing (lyophilized) for injection; cerebral ischemia model; pharmacokinetics; rutin; isorhamnetin; endogenous bile acids; intraperitoneal injection

传统中药药动学研究多基于健康实验动物展开,忽视了疾病状态下生理和病理变化可能会引起相关药动学参数的显著改变^[1]。现代研究表明,病理状态的药动学研究在解释和预测传统中药药效方面具有重要作用,可运用于中药复方中有效成分的阐释,还可通过病理状态的药动学结果协助阐述其配伍机制,并综合推测病理状态改变药动学特征的原因^[2]。脑缺血时,疾病状态可能会导致药物的药动学参数发生改变,因此,研究脑血管疾病状态下药物的药代动力学行为^[3-6]对指导临床合理用药具有重要意义。

注射用清开灵(冻干)是以安宫牛黄丸为基础研制所得的现代中药复方冻干粉针剂,由黄芩苷、栀子、胆酸、猪去氧胆酸、金银花、板蓝根、水牛角和珍珠母组成,具有清热解毒、化痰通络、醒神开窍之功效,临床主要用于治疗热病、神昏、中风偏瘫、神志不清、上呼吸道感染、肺炎、脑出血等疾病^[7]。目前,关于清开灵制剂的药动学研究主要是考察单个成分

或基于正常状态下的药动学特征,尚无关于其在脑缺血病理状态下的多成分药动学研究^[8-12]。本实验采用线栓法制备大鼠永久性脑缺血模型,利用 UPLC-MS/MS 测定正常大鼠和脑缺血模型大鼠经腹腔注射给予注射用清开灵(冻干)后血浆中栀子苷、黄芩苷等有效成分的质量浓度,比较该制剂中 5 种有效成分在正常大鼠和模型大鼠体内的药动学行为差异,为临床合理应用注射用清开灵(冻干)治疗缺血性脑卒中提供参考。

1 材料

ACQUITY UPLC Xevo TQ 型质谱系统(美国 Waters 公司),TGL-16 型低温离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司),XW-80A 型漩涡混合器(上海驰唐电子有限公司),ME104/02 型分析电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),UPW-UP-10 型纯水仪(成都天萃宁科技有限公司)。

注射用清开灵(冻干)(贵州益佰制药股份有限公司,批号 20151201-05),黄芩苷、栀子苷、绿原酸

和异鼠李素对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 CHB17070, CHB160504, CHB160418, CHB160712, 纯度依次为 93.3%, 97.6%, 96.4%, 99.9%),胆酸和猪去氧胆酸对照品(成都普思生物科技股份有限公司,批号分别为 PS160926-03, PS160926-04, 纯度依次为 98.9%, 97.3%),芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100080-200707,纯度 98.0%),水合氯醛(天津市大茂化学试剂厂,批号 20150526),肝素钠(北京索莱宝科技有限公司,批号 425C0219),生理盐水(辰欣药业股份有限公司,批号 D16021004),2838-A4 型栓线(北京西浓科技有限公司),水为超纯水,乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量(300 ± 20) g,由贵州医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(黔)2012-0001。本实验所涉及动物的相关操作均在贵州医科大学实验动物伦理委员会的批准下进行,并严格遵循相关准则,无虐待动物行为。

2 方法与结果

2.1 检测条件

2.1.1 色谱条件 ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), ACQUITY BEH C₁₈ 保护柱(2.1 mm × 5 mm, 1.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 0.25 min, 90% A; 0.25 ~ 1 min, 90% ~ 75% A; 1 ~ 2 min, 75% ~ 50% A; 2 ~ 2.6 min, 50% ~ 45% A; 2.6 ~ 2.65 min, 45% ~ 90% A; 2.65 ~ 4.0 min, 90% A),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,进样器温度 4 °C,进样量 2 μL。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),负离子方式扫描,多反应监测(MRM)模式,毛细管电压 3 kV,锥孔电压 26 V,去溶剂气温度 400 °C;氮气作为去溶剂气和锥孔气,其流速分别为 800, 150 L·h⁻¹;碰撞气为氩气,各成分离子通道分别为黄芩苷 *m/z* 445.16 ~ 269.11, 栀子苷 *m/z* 387.29 ~ 225.12, 绿原酸 *m/z* 353.16 ~ 191.09, 胆酸 *m/z* 407.35 ~ 343.40, 猪去氧胆酸 *m/z* 391.39 ~ 391.39, 异鼠李素 *m/z* 315.10 ~ 300.09, 芦丁 *m/z* 609.29 ~ 300.25。优化的各化合物(黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸、猪去氧胆酸、异鼠李素、芦丁)碰撞能量分别为 16, 6, 18, 32, 4, 22, 34 eV, 锥孔电压依次为 30, 26, 22, 70, 72, 40, 60 V。

2.2 溶液的配制 分别精密称取黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸和猪去氧胆酸 5 种对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇超声使溶解并定容,得混合对照品储备液,4 °C 保存,备用。分别精密称取内标物

芦丁、异鼠李素对照品 2, 4 mg, 置于同一个 10 mL 量瓶中,加甲醇超声使溶解并定容,得混合内标储备液。精密吸取混合内标储备液 0.1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇超声使溶解并定容,得芦丁、异鼠李素质量浓度分别为 2, 4 mg·L⁻¹ 的混合内标工作液,4 °C 保存,备用。

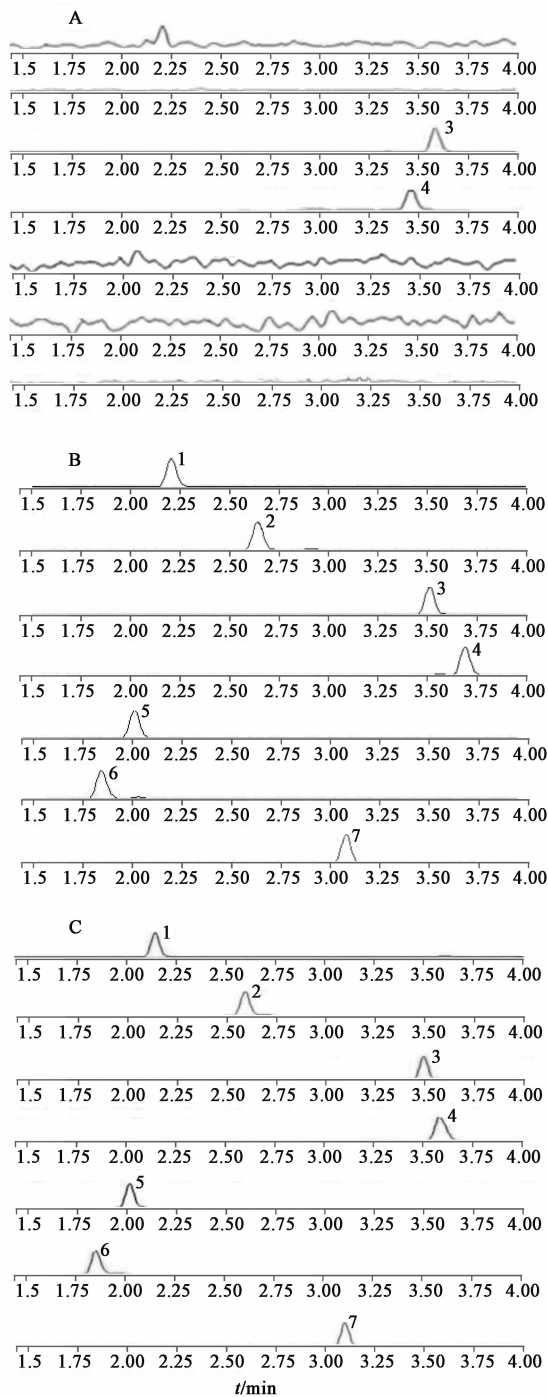
2.3 受试大鼠给药方案 健康 SD 大鼠,随机分为正常组和模型组,每组 6 只。按 360 mg·kg⁻¹ 剂量(相当于黄芩苷 26.8 mg·kg⁻¹, 栀子苷 1.7 mg·kg⁻¹, 绿原酸 1.0 mg·kg⁻¹, 胆酸 24.0 mg·kg⁻¹, 猪去氧胆酸 18.0 mg·kg⁻¹)腹腔注射给予生理盐水溶解的注射用清开灵(冻干)溶液。给药前 12 h 禁食,自由饮水。分别于给药前和给药后 2, 4, 6, 10, 15, 20, 30, 45 min 和 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 h 颈静脉采血约 300 μL,置于肝素钠处理后的离心管中,离心(4 °C, 4 000 r·min⁻¹, 10 min)后取上清液,于 -20 °C 冰箱中保存,备用。

2.4 样品的处理 室温下融化血浆,涡旋 1 min,精密吸取大鼠血浆 100 μL,置于 1.5 mL 离心管中,加入内标工作液 20 μL,涡旋 1 min,加甲醇 200 μL 沉淀蛋白,涡旋 2 min,离心(4 °C, 12 000 r·min⁻¹, 10 min,下同)取上清液,40 °C 氮气吹干,加入甲醇 100 μL 复溶,涡旋 2 min,离心,取上清液进样分析。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 分别对大鼠空白血浆、空白血浆 + 混合对照品溶液 + 内标液、大鼠给药后 30 min 的血浆样品,按 2.4 项下方法处理后进行 UPLC-MS/MS 分析。由于胆酸和猪去氧胆酸为内源性化合物,在空白血浆中能检测到,因此,选择了多份空白血浆混合均匀,作为方法学考察过程的基质,将胆酸和猪去氧胆酸的最低定量限(LLOQ)定为其在空白血浆中质量浓度的 2 倍,则可忽略内源性胆汁酸对准确定量的干扰^[13]。结果发现除胆酸和猪去氧胆酸外,其他内源性成分均不干扰待测物及内标的测定,说明该方法专属性良好。见图 1。

2.5.2 线性关系考察 采集多只大鼠空白血浆,混合,进行标准曲线的建立。测定混合空白血浆中胆酸和猪去氧胆酸的质量浓度,作为基质降低内源性胆汁酸类含量对药源性胆汁酸成分的干扰。根据测定结果,将胆酸和猪去氧胆酸的 LLOQ 定为空白血浆中含量的 2 倍以上,其数值分别为 0.23, 0.14 mg·L⁻¹。取大鼠空白血浆 100 μL,分别加入 6 个质量浓度的混合对照品溶液,按 2.4 项下方法操作,得系列质量浓度的血浆样品,按 2.1 项下条件



A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 混合对照品 + 内标; C. 供试品; 1. 芦丁; 2. 黄芩苷; 3. 胆酸; 4. 猪去氧胆酸; 5. 栀子苷; 6. 绿原酸; 7. 异鼠李素
图 1 给予注射用清开灵(冻干)30 min 后血浆样品的 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of plasma sample after administration of Qingkailing (lyophilized) for injection for 30 min

测定,分别以各待测化合物质量浓度为横坐标,各待测化合物与内标物的峰面积比值为纵坐标,进行线性回归分析,得黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸及猪去氧胆酸的线性回归方程分别为 $Y = 1.411 1X + 0.693 5 (R^2 = 0.998 4)$, $Y = 0.772 5X + 0.110 8$

$(R^2 = 0.996 3)$, $Y = 1.947 4X - 0.050 4 (R^2 = 0.999 6)$, $Y = 0.092 2X + 0.062 5 (R^2 = 0.997 7)$, $Y = 2.305X + 2.258 8 (R^2 = 0.998 5)$, 线性范围分别为 0.008 1 ~ 60.00, 0.053 2 ~ 10.00, 0.229 4 ~ 2.50, 0.039 9 ~ 32.00, 0.132 7 ~ 28.40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 根据信噪比 $S/N \geq 10$, 确定最低定量限分别为 0.008 1, 0.053 2, 0.229 4, 0.229 4, 0.132 7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.5.3 精密度与准确度 按 2.5.2 项下方法分别配制大鼠血浆含黄芩苷等 5 种成分低、中、高 3 个质量浓度的质控(QC)样品,每个质量浓度样品 6 份,连续测定 3 d。以当日标准曲线计算 QC 样品质量浓度,分别计算日内与日间的精密度与准确度,结果黄芩苷等 5 种成分日内精密度的 RSD 处于 2.2% ~ 9.3%, 日间精密度的 RSD 处于 0.2% ~ 11.2%, 日内准确度 RE 处于 -2% ~ 4.3%, 日间准确度 RE 处于 -4.6% ~ 4.7%, 符合生物样品的检测要求。

2.5.4 提取回收率与基质效应 取大鼠空白血浆 100 μL , 按 2.5.2 项下方法分别配制大鼠血浆含黄芩苷等 5 种成分低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品,每种质量浓度平行 6 样本分析,记录峰面积(A)。另取空白血浆 100 μL , 按 2.4 项下方法操作,向获得的上清液中加入低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液,记录峰面积(B);取上述低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液,记录峰面积(C)。以每种质量浓度的 3 种不同处理方法分析得到的峰面积比值计算,其中提取回收率 = $A/B \times 100\%$, 基质效应 = $B/C \times 100\%$, 内标同上。结果黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸及猪去氧胆酸的回收率分别为 96.8% ~ 102.3%, 89.3% ~ 101.8%, 90.5% ~ 98.4%, 94.1% ~ 101.2%, 91.2% ~ 101.7%, 基质效应处于 80% ~ 120%。内标芦丁和异鼠李素的基质效应分别为 97.4% 和 98.1%。

2.5.5 稳定性试验 按 2.5.2 项下方法分别配制含黄芩苷等 5 种成分低、中、高 3 个质量浓度的 QC 样品,按 2.4 项下方法操作,考察不同储存条件下样品的稳定性(室温放置 4 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下冷藏 12 h, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冻融循环 3 次, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 1 个月)。结果显示血浆中 5 种成分在上述 4 种不同储藏条件下均稳定,各待测化合物与内标物的峰面积比值的 RSD 均 < 15.0%。

2.6 药代动力学研究

2.6.1 脑缺血模型大鼠的建立 大鼠用 10% 水合氯醛(剂量 4 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉。仰卧位固定,颈部剪毛并消毒,沿颈正中切口约 2 cm,沿胸锁乳突肌内缘钝性分离肌肉和筋膜,分离右侧颈总

动脉(CCA),颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),在 CCA 远心端和近心端及 ECA 处挂线备用。用微动脉夹暂时夹闭 ICA,然后近心端结扎 CCA 和 ECA。然后在距 CCA 分叉部 0.3 cm 处剪一小口,将拴线插入到 ICA,用绕在 CCA 远心端的细线轻轻系牢拴线。用眼科镊轻推拴线,直到遇到轻微阻力停止插线,紧紧系牢 CCA 远心端的细线,剪去多余的拴线和缝合线,缝合伤口,将大鼠放置在宠物电热毯上,直至苏醒放回饲养笼中正常饲养^[14-16]。

2.6.2 数据分析 采用 DAS 2.0 软件对数据进行拟合分析,计算药动力学参数,见表 1,采用 SPSS 11.5 软件处理实验数据,药-时曲线见图 2。

3 讨论

虽然注射用清开灵(冻干)在临床是静脉滴注的方式给药,但是由于实验技术原因,绝大多数滴注给药的药物在以大鼠或小鼠为对象进行试验时,均采用与血管内给药相近的腹腔注射给药方式^[17]。目前,国内外对清开灵注射液中多个成分在病理状态下的药动力学研究较少,大多研究考察成分在正常状态下的动力学特征,例如马丽杰等^[10]报道了清开灵注射液中胆酸和猪去氧胆酸的药动力学研究,杨萍等^[18]报道了清开灵注射液中黄芩苷和栀子苷的药动力学研究;但张占军等^[19]报道了清开灵组分配伍干预局灶性脑缺血大鼠再灌注损伤的实验研究,彭珑^[20]报道了清开灵注射液中黄芩苷等 6 种成分在正常及发热模型大鼠体内药动力学行为,尚未见清开灵注射液在脑缺血病理状态下的多成分整合药动力学研究。

通过部分成分在正常状态下的体内药代动力学特征来说明中药及方剂的药代动力学过程具有一定的片面性^[10,18,21]。为了较全面地反映中药有效部位或方剂在机体内的整体药代动力学特征,本研究考察了注射用清开灵(冻干)中 5 种成分在正常及脑缺血模型大鼠体内的药代动力学差异,结果表明大鼠腹腔注射给予注射用清开灵(冻干)后,黄芩苷、栀子苷、绿原酸、胆酸、猪去氧胆酸的达峰时间(T_{max})均在 4.8~12 min,说明 5 种成分进入模型大鼠体内较快,同时吸收的速度也较快;栀子苷在脑缺血模型组的药-时曲线下面积(AUC_{0-t})明显低于正常组($P < 0.05$);绿原酸在脑缺血模型组的 T_{max} 相较于正常组明显提前($P < 0.01$),造成这种差异的原因可能是脑缺血损伤时,细胞膜受损后通透性发生改变所导致的,也可能与这 2 种成分在病变部位结合较多并产生药效有关,其机制有待于结合组织分布研究进行探讨。本研究仅对该制剂的部分成分在正

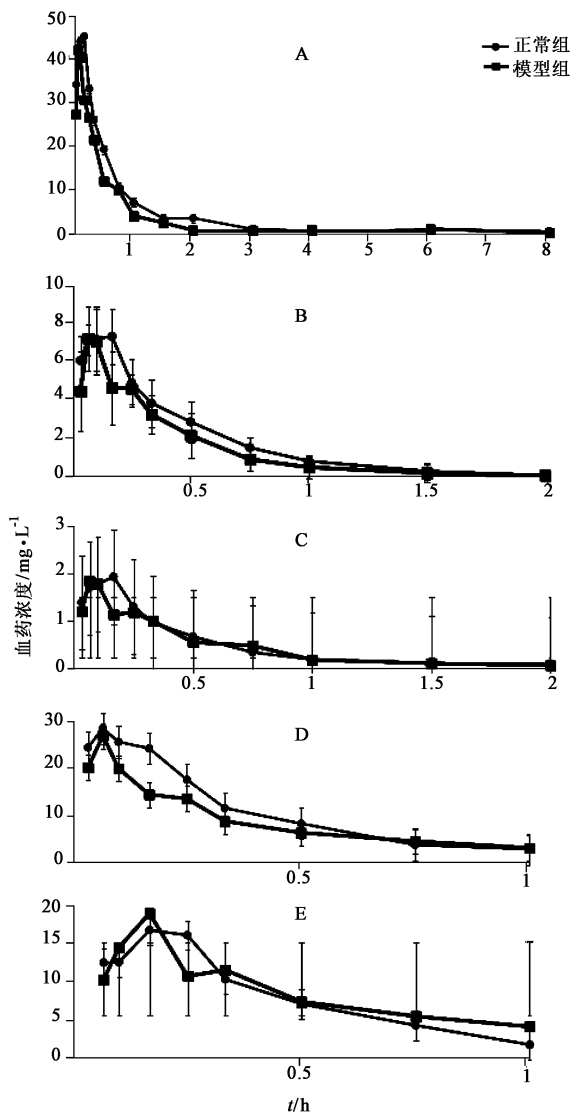
表 1 注射用清开灵(冻干)中不同成分在正常和脑缺血模型大鼠体内的药代动力学参数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Pharmacokinetic parameters of different components from Qingkailing (lyophilized) for injection in normal and cerebral ischemic rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	参数	正常组	模型组
黄芩苷	$AUC_{0-t}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	31.77 ± 7.53	23.99 ± 5.03
	$AUC_{0-\infty}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	34.12 ± 8.51	27.31 ± 6.68
	MRT_{0-t}/h	1.19 ± 0.16	1.29 ± 0.38
	$MRT_{0-\infty}/h$	2.00 ± 0.89	2.21 ± 0.16
	T_{max}/h	0.12 ± 0.05	0.08 ± 0.02
	$CL_z/F/L \cdot h \cdot kg^{-1}$	0.83 ± 0.22	1.04 ± 0.32
	$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	3.17 ± 1.94	4.17 ± 2.77
栀子苷	$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	48.98 ± 7.54	44.29 ± 10.93
	$AUC_{0-t}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	3.42 ± 0.95	2.14 ± 0.87 ¹⁾
	$AUC_{0-\infty}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	3.56 ± 1.13	2.17 ± 0.84 ¹⁾
	MRT_{0-t}/h	0.38 ± 0.07	0.77 ± 1.06
	$MRT_{0-\infty}/h$	0.43 ± 0.19	0.91 ± 1.42
	T_{max}/h	0.12 ± 0.04	0.08 ± 0.02
	$CL_z/F/L \cdot h \cdot kg^{-1}$	0.53 ± 0.16	1.12 ± 1.01
绿原酸	$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.19 ± 0.06	0.32 ± 0.45
	$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	8.37 ± 1.40	7.58 ± 1.29
	$AUC_{0-t}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	0.91 ± 0.26	0.85 ± 0.20
	$AUC_{0-\infty}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	0.94 ± 0.27	0.88 ± 0.24
	MRT_{0-t}/h	0.46 ± 0.10	0.47 ± 0.06
	$MRT_{0-\infty}/h$	0.57 ± 0.17	0.56 ± 0.13
	T_{max}/h	0.15 ± 0.04	0.08 ± 0.02 ²⁾
胆酸	$CL_z/F/L \cdot h \cdot kg^{-1}$	1.13 ± 0.31	1.19 ± 0.30
	$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.65 ± 0.26	0.74 ± 0.24
	$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	2.03 ± 0.56	1.94 ± 0.42
	$AUC_{0-t}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	10.34 ± 2.05	8.37 ± 3.62
	$AUC_{0-\infty}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	11.52 ± 2.87	9.35 ± 4.60
	MRT_{0-t}/h	0.31 ± 0.05	0.33 ± 0.06
	$MRT_{0-\infty}/h$	0.44 ± 0.23	0.48 ± 0.06
猪去氧胆酸	T_{max}/h	0.08 ± 0.04	0.08 ± 0.02
	$CL_z/F/L \cdot h \cdot kg^{-1}$	2.21 ± 0.59	2.96 ± 1.02
	$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.85 ± 0.23	1.12 ± 0.28
	$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	28.86 ± 5.37	27.18 ± 9.71
	$AUC_{0-t}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	7.71 ± 1.87	8.40 ± 3.45
	$AUC_{0-\infty}/mg \cdot L^{-1} \cdot h$	9.36 ± 2.78	10.48 ± 4.82
	MRT_{0-t}/h	0.37 ± 0.06	0.39 ± 0.05
胆酸	$MRT_{0-\infty}/h$	0.60 ± 0.46	0.63 ± 0.21
	T_{max}/h	0.18 ± 0.06	0.20 ± 0.04
	$CL_z/F/L \cdot h \cdot kg^{-1}$	2.11 ± 0.79	2.07 ± 0.95
	$V_z/F/L \cdot kg^{-1}$	0.86 ± 0.61	1.07 ± 0.34
	$C_{max}/mg \cdot L^{-1}$	18.93 ± 6.62	19.54 ± 5.03

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

常和脑缺血状态下进行了药动力学行为比较,还不够全面,后续将开展该制剂的谱效关系等相关研究,为临床合理应用注射用清开灵(冻干)提供参考和指导。



A. 黄芩苷; B. 栀子苷; C. 绿原酸; D. 胆酸; E. 猪去氧胆酸
图 2 注射用清开灵(冻干)中不同成分在正常和脑缺血模型大鼠体内的药-时曲线($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Concentration-time curves of five components from Qingkailing (lyophilized) for injection in normal and cerebral ischemia rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

[参考文献]

[1] 王利娜, 林晓, 沈岚, 等. 临床常见疾病对中药药代动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 206-210.

[2] 王韵, 柴逸峰, 朱臻宇. 基于疾病动物模型的中药药代动力学研究进展[J]. 药学实践杂志, 2017, 35(2): 108-111, 140.

[3] 毕京峰, 阎博华, 段锋, 等. 中药复方新药研发中的药代动力学研究方法学[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(16): 1671-1673, 1691.

[4] 刘国旗, 刘声菊, 王娇, 等. 绿茶中咖啡因在正常和糖尿病认知功能障碍大鼠体内的药代动力学及药效学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(11): 99-104.

[5] 范惠霞, 邓志鹏, 王福文, 等. 刺五加注射液在正常大鼠与脑缺血-再灌注损伤疾病大鼠体内药动学比较[J]. 中成药, 2015, 37(6): 1215-1221.

[6] 艾进超, 周惠芬, 舒明春, 等. 丹参素在局灶性脑缺血大鼠体内药动学-药效学相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2751-2755.

[7] 刘良丽, 张葵, 欧江琴, 等. 清开灵粉针剂雾化吸入治疗慢性支气管炎急性发作临床观察[J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(6): 14-15.

[8] RAN X R, LIANG Q L, LUO G A, et al. Simultaneous determination of geniposide, baicalin, cholic acid and hyodeoxycholic acid in rat serum for the pharmacokinetic investigations by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2006, 842(1): 22-27.

[9] 张靖悦, 江云霞, 刘卉, 等. 清开灵硬胶囊和软胶囊中黄芩苷的大鼠药代动力学比较研究[J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2015, 28(2): 103-107.

[10] 马丽杰, 张述禹, 荀雅书, 等. 清开灵注射液中胆酸和猪去氧胆酸的药理学研究[J]. 内蒙古医学院学报, 2004, 26(3): 175-178.

[11] 周梦颖, 黄小方, 王玉玮, 等. UPLC-MS/MS 分析地榆皂苷 II 在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 86-90.

[12] 戴业佳, 王云, 张雪, 等. 栀子及其相关复方的质控方法及药代动力学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 208-216.

[13] YANG T T, SHU T, LIU G L, et al. Quantitative profiling of 19 bile acids in rat plasma, liver, bile and different intestinal section contents to investigate bile acid homeostasis and the application of temporal variation of endogenous bile acids[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2017, 172: 69-78.

[14] 范瑞娟, 罗亚非, 孙玉凤. 新式线栓法建立大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的建立[J]. 中国民族民间医药, 2014, 23(2): 26-27.

[15] 何芳雁, 韩春妮, 李艳, 等. 制作线栓法大鼠脑缺血再灌注模型的要点及体会[J]. 实验动物科学, 2013, 30(4): 46-48.

[16] 田莹, 余化霖. 线栓法大鼠局灶性脑缺血模型制作要点及进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(2): 256-258.

[17] 黄潇, 齐家磊, 韩艳艳, 等. 羟丁酸钠对缺血-再灌注损伤小鼠小肠功能的影响[J]. 江苏医药, 2015, 41(20): 2370-2372.

[18] 杨萍, 谢云. 清开灵注射液中黄芩苷的药代动力学研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(5): 28-30.

[19] 张占军, 王忠, 李澎涛, 等. 清开灵组分配伍干预局灶性脑缺血大鼠再灌注损伤的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(8): 964-967.

[20] 彭珑. 基于清开灵注射液解热作用的 PK-PD 结合模型研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

[21] 温彬宇, 闫妍, 王维皓, 等. 大鼠口服不同形式茯苓三萜类成分提取物后有效成分的药代动力学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 97-101.

[责任编辑 刘德文]