

地塞米松对注射用双黄连中绿原酸在大鼠体内的药动学影响

曾凡林, 崔红花, 沈志滨*, 尹永芹, 陈超

(广东药学院中药学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 探讨与地塞米松磷酸钠注射液合用时注射用双黄连中绿原酸在大鼠体内血药浓度及相关药动学参数的影响。方法 24只SD大鼠,雌雄各半,随机分成2组,尾静脉给药后采用反相高效液相色谱法,测定单独给予注射用双黄连及与地塞米松合用后不同时间点的大鼠体内绿原酸血药浓度,并对所得数据用DAS 2.0软件进行分析,求出其主要药动学参数。结果 静脉给药后,绿原酸在大鼠体内符合二室开放模型,在单用和复合给药时的分布半衰期($t_{1/2\alpha}$)、总消除率(CI)和药-时曲线下面积(AUC)等主要药动学参数均有显著性差异。结论 在给药剂量下,单用和合用的血药浓度变化有较大差异;两者合用时,地塞米松对绿原酸的药动学有显著影响,促进大鼠体内绿原酸的消除,从而加速双黄连的代谢。

关键词:注射用双黄连;地塞米松磷酸钠注射液;绿原酸;血药浓度;药动学

中图分类号:R969.1

文献标识码:A

文章编号:1674-5515(2010)01-0045-04

Effect of dexamethasone on pharmacokinetics of chlorogenic acid in Shuanghuanglian in rats

ZENG Fan-lin, CUI Hong-hua, SHEN Zhi-bin, YIN Yong-qin, CHEN Chao

(School of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: **Objective** To study the concentration and pharmacokinetics parameters of chlorogenic acid in rats after intravenous injection of Shuanghuanglian only or Shuanghuanglian combined with Dexamethasone Sodium Phosphate Injection. **Methods** A total of 24 SD rats were randomly divided into two groups: single injection group and combination injection group. RP-HPLC method was used to determine the concentrations of chlorogenic acid in rats plasma at different time after intravenous injection of Shuanghuanglian only or Shuanghuanglian combined with Dexamethasone. Pharmacokinetic model and parameters were analyzed by Drug and Statistics (DAS 2.0). **Results** It was two-compartment model in rats. There were significant differences in the main pharmacokinetics parameters such as $t_{1/2\alpha}$, CI and AUC between the single injection group and the combination injection group. **Conclusion** Dexamethasone may change remarkably plasma concentration of chlorogenic acid. There is evidence of pharmacokinetic interaction between Dexamethasone and chlorogenic acid after the intravenous injection in rats. Dexamethasone can enhance the metabolism of Shuanghuanglian.

Key words: Shuanghuanglian; Dexamethasone Sodium Phosphate Injection; chlorogenic acid; plasma drug concentration; pharmacokinetics

注射用双黄连(冻干)是由连翘、金银花、黄芩3味中药提取物精制而成的中药注射剂,用于外感风

基金项目 国家自然科学基金资助项目(20905015);广东省自然科学基金资助项目(9451022401003240);广东省科技计划资助项目(2008B030301035);广东省中医药局资助项目(2009248)

作者简介 曾凡林(1979—),男,广东省南雄市人,硕士研究生,研究方向:中药药效物质基础及药物代谢动力学研究。
Tel:13538827010, E-mail: zengfanlinhonglan@126.com

*** 通讯作者** 沈志滨(1964—),女,硕士生导师,研究方向:中药药效物质基础研究及中药新药的研究与开发。
Tel:13724866019, E-mail: szb8113@yahoo.com.cn

热、咳嗽气促、急性上呼吸道感染、急性支气管炎等^[1,2]。地塞米松具有抗炎、免疫抑制作用,多用于结缔组织病、严重支气管哮喘等^[3];治疗上呼吸道感染时注射用双黄连经常与地塞米松联合应用,临床疗效较好。但随着临床应用日益广泛,中药注射剂的不良反应亦趋增多^[4]。关于双黄连粉针与地塞米松药动学方面的相互影响尚未见相关报道。本研究以大鼠为实验对象,考察单独及联合用药后注射用双黄连中的绿原酸在大鼠体内的血药浓度及药代动力学参数的变化,以探讨地塞米松对注射用双黄连代谢的影响,为临床联合用药提供参考。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

注射用双黄连(冻干)(哈药集团中药二厂,批号0805103),每支1.2 g(含绿原酸17~23 mg)。绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号110753-200806),地塞米松磷酸钠注射液(广州白云山天心制药股份有限公司,批号090209),氯化钠注射液(武汉滨湖双鹤药业有限责任公司,批号081225301),甲醇、三氟乙酸(TFA)均为色谱纯(Tedia公司),水为二次蒸馏水。

1.2 动物

SPF级SD大鼠,雌雄各半,体质量200~250 g,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号:SCXX(粤)2008-0002。置于室温、自然光条件下饲养。

1.3 仪器

Agilent 1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司),包括:G1322A在线脱气、G1311A四元泵、G1316A柱温箱、G1314A DAD二极管阵列检测器、手动进样器以及色谱工作站;JA5002型电子天秤(上海电子天秤厂);XW-80A涡旋混合器(上海医科大学仪器厂);LD 5-10型离心机(北京医用离心机厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:水-甲醇(70:30);柱温:25℃;检测波长:326 nm;体积流量:1.0 mL/min;进样量:20 μL。绿原酸血浆样品的色谱图见图1。图1表明,血浆中的内源性物质不干扰药物中绿原酸的测定。

2.2 血浆样品的处理与测定

精密量取血浆样品0.2 mL置于2 mL具塞离

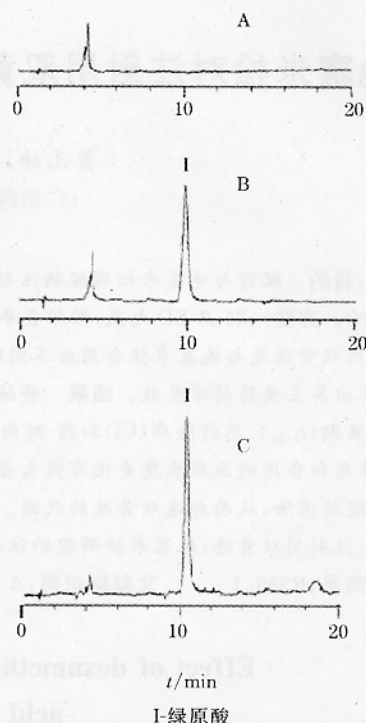


图1 血浆中空白血浆(A)、绿原酸对照品(B)和血浆样品(C)绿原酸测定的HPLC图

心管中,依次精密加入流动相0.2 mL,6%三氟乙酸0.2 mL,旋涡混合5 min,10 000 r/min离心10 min,取上清液20 μL进样。

2.3 标准曲线的绘制

精密称取绿原酸对照品10 mg,置于100 mL棕色量瓶中,用甲醇定容,得质量浓度为100 mg/L的对照品贮备液。精密量取大鼠空白血浆0.2 mL于7支2 mL具塞离心管中,依次分别精密加入不同质量浓度的绿原酸溶液,配成质量浓度为0.5、1.0、3.0、6.0、12.0、24.0、48.0 mg/L的绿原酸血浆样品。按“2.2”项下操作,建立标准曲线。以绿原酸质量浓度为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程 $Y=152.96 X-118.32$ ($r=0.9996$)。结果表明,大鼠血浆中绿原酸质量浓度在0.5~48.0 mg/L与峰面积有良好的线性关系。

2.4 回收率试验

分别于0.2 mL的空白血浆中加入低、中、高3种不同浓度的绿原酸溶液,混匀,得到1.0、10.0、40.0 mg/L 3种不同质量浓度的绿原酸血浆样品,按“2.2”项下操作,测定绿原酸的量,并计算回收率。低、中、高3种浓度的平均回收率结果见表1。

2.5 精密度试验

分别于0.2 mL的空白血浆中加入高、中、低3

种不同质量浓度的绿原酸溶液,混匀,得到1.0、

表1 血浆中绿原酸的回收率($\bar{x} \pm s, n=6$)

绿原酸/(mg·L ⁻¹)	实测值/(mg·L ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
1.0	0.99±0.03	99.92±3.17	3.18
10.0	9.63±0.57	96.37±5.78	6.00
40.0	39.68±1.84	99.20±4.60	4.64

10.0、40.0 mg/L 3种不同浓度的绿原酸血浆样品,按“2.2”项下操作,测定日内与日间(5 d内)精密度的结果见表2。

2.6 稳定性试验

分别配制绿原酸浓度为1.0、10.0、40.0 mg/L

表3 血浆中绿原酸的稳定性($\bar{x} \pm s, n=6$)

绿原酸/(mg·L ⁻¹)	1周		3周		3周后12h	
	实测值	RSD/%	实测值	RSD/%	实测值	RSD/%
1.0	1.03±0.06	5.87	0.99±0.06	6.02	1.03±0.05	5.04
10.0	9.87±0.20	1.98	9.62±0.49	5.12	9.59±0.55	5.80
40.0	39.86±2.21	5.56	38.08±2.96	7.78	39.86±3.12	6.35

2.7 大鼠体内药动学实验

取SD大鼠24只,雌雄各半,体质量200~250 g,随机分为2组,每组12只。实验前禁食12 h,自由饮水。一组大鼠尾iv双黄连溶液200 mg/kg(取注射用双黄连1.0 g,用生理盐水配成质量浓度为20 mg/mL的溶液。大鼠以双黄连溶液10 mL/kg给药)、另一组尾iv双黄连溶液200 mg/kg与地塞米松注射液0.1 mg/kg混合溶液;给药后于0.083、0.167、0.333、0.50、0.75、1.0、1.5、2.0、3、4、6 h分别从眼眶取血,肝素抗凝,10 000 r/min离心2 min,分离血浆,-20℃保存。精密量取血浆样品0.2 mL,按“2.2”项下方法操作,测定各血浆样品中绿原酸浓度。大鼠单独用药与联合用药后的经时平均血药浓度曲线见图2。将不同时间绿原酸的血药浓度用DAS 2.0(Drug and Statistics, version 2.0)药代动力学计算软件进行处理,根据药动学房室模型的判断方法,确定iv后绿原酸在体内的代谢过程符合

表2 血浆中绿原酸的精密度($\bar{x} \pm s, n=6$)

绿原酸/(mg·L ⁻¹)	日内		日间	
	实测值	RSD/%	实测值	RSD/%
1.0	1.03±0.07	7.20	0.98±0.06	6.01
10.0	9.64±0.41	4.26	9.62±0.46	4.82
40.0	38.48±2.31	6.01	39.46±2.71	6.87

的血浆样品6份。样品冻融3周,按血浆样品的处理与测定方法操作,测定样品冻融1周、3周及3周后血浆样品经处理在室温避光放置12 h绿原酸的量,考察其稳定性,结果见表3。

二室模型,按二室模型处理的药动学参数见表4。统计学分析采用SPSS 13.0软件包,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较用 t 检验。

表4 单用注射用双黄连及合用地塞米松后绿原酸的主要药动学参数($\bar{x} \pm s, n=12$)

药动学参数	单位	单用组	合用组
A	mg·L ⁻¹	43.90±5.68	35.41±4.64*
α	h ⁻¹	1.57±0.24	2.20±0.28**
B	mg·L ⁻¹	5.66±1.74	5.64±1.44
β	h ⁻¹	0.10±0.04	0.12±0.04
K_{10}	h ⁻¹	0.72±0.06	0.69±0.07
K_{12}	h ⁻¹	0.75±0.24	1.36±0.36*
K_{21}	h ⁻¹	0.27±0.10	0.41±0.11
$t_{1/2\alpha}$	h	0.45±0.07	0.32±0.04**
$t_{1/2\beta}$	h	7.88±3.57	6.22±1.63
V_1	L·kg ⁻¹	0.07±0.01	0.08±0.01*
Cl	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	0.05±0.01	0.06±0.01*
AUC _(0-t)	mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹	53.85±5.64	40.33±3.06**
AUC _(0-∞)	mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹	68.50±5.87	59.32±4.60*

与单用双黄连组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

3 讨论

3.1 检测条件考察

绿原酸是注射用双黄连中金银花的主要有效成分,具有抗菌、抗氧化等作用;通常被作为定性、定量的指标^[5-6]。笔者采用反相高效液相色谱法测定大鼠体内绿原酸的血药浓度时,对大鼠空白血浆和绿原酸对照品溶液,在190~400 nm波长进行考察分析,结果在326 nm处绿原酸有最大紫外吸收,而大鼠空白血浆在此波长下不干扰测定;对血浆样品,考察了10%及6%三氟乙酸蛋白沉淀效果,最后选定了6%三氟乙酸作蛋白沉淀剂;此法处理简单、快速

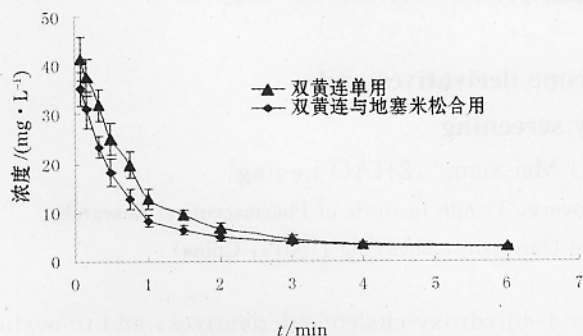


图2 静脉注射药物后大鼠血浆中绿原酸平均浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s, n=12$)

准确。本实验的回收率和精密度均符合目前生物样品分析的有关规范要求^[7]。

3.2 临床用药参考

实验结果显示,注射用双黄连合并地塞米松后,地塞米松作为酶诱导剂^[8],使双黄连中绿原酸分布半衰期和消除半衰期均缩短,消除速率加快,曲线下面积减少;加速了绿原酸的代谢,提示注射用双黄连与地塞米松之间也存在药物的交互反应。在临床治疗中,注射用双黄连与地塞米松联合应用时,应注意调整双黄连的剂量,以达到最好的治疗效果,避免不良反应发生。本实验对注射用双黄连单用和合用在大鼠体内的有效成分变化及药动学规律进行了初步研究,为临床联合用药提供了实验依据。至于注射用双黄连中连翘苷、黄芩苷等有效成分与地塞米松之间是否也存在药动学相互影响,是何种代谢方式和哪个代谢环节影响其药动学过程,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Zhang G M, Chen W Q, Li L, *et al.* Population pharmacokinetic analysis of baicalin after oral administration of different Shuang-Huang-Lian formulations to rats [J]. J Chin Pharm Sci, 2008(17): 46-50.
- [2] 袁洞君,何周康. 双黄连注射剂在临床上的应用 [J]. 中医药导报, 2006, 12(5): 101-102.
- [3] 桂淑玉,王勇生,李永怀,等. 地塞米松对哮喘动物模型支气管平滑肌 MLCK 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21(7): 872-875.
- [4] 国家食品药品监督管理局药品审评中心. 含绿原酸中药注射剂的安全性问题研究总结报告 [R]. 北京: 国家食品药品监督管理局药品审评中心, 2006: 3-5.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2005: 505-506.
- [6] 姚辉,贺星. 高效液相色谱法测定丹毒宁胶囊的绿原酸 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 296-297.
- [7] 张玉奎. 现代生物样品分离分析方法 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 3-16.
- [8] 徐月萍. 细胞色素 P450 酶系与药物代谢的相互作用 [J]. 中国药物与临床, 2003, 3(2): 141-143.

(收稿日期 2009-12-08)

2-羟基查耳酮类衍生物的合成与抗肿瘤活性筛选

石玉¹,李祎亮¹,刘巍¹,邹美香¹,赵乐晶²

(1. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室,天津 300193;

2. 沈阳药科大学,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 设计 2-羟基查耳酮类衍生物的合成路线,并对其进行体外抗肿瘤活性实验。方法 以 2,4-二羟基苯乙酮为原料,经过 4 步反应得到 13 个 5-哌啶基甲基-4-乙氧基-2-羟基-查耳酮类化合物。用 MTT 法检测 13 个目标化合物对对数生长期的人胃癌细胞株 SGC-7901、人结肠癌细胞株 SW-480、人白血病细胞株 L1210、人乳腺癌细胞株 MCF-7 等 4 种癌细胞株增殖的抑制作用,以研究目标化合物体外抗肿瘤活性。结果 合成了 13 个目标化合物,结构均经过 ¹H-NMR 确证。体外抗肿瘤活性筛选表明,这一类化合物具有良好的抗肿瘤活性。结论 该合成路线反应温和、操作简便、对环境友好,目标化合物有较强抗肿瘤活性,可进行深入研究。

关键词: 2-羟基查耳酮衍生物; 化学合成; 药理作用; 抗肿瘤

中图分类号: R914.5; R979.19

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)01-0048-05

Synthesis of 2-hydroxychalcone derivatives and anti-tumor activity screening

SHI Yu¹, LI Yi-liang¹, LIU Wei¹, ZOU Mei-xiang¹, ZHAO Le-jing²

(1. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design & Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To design a synthetic route for 2, 4-dihydroxy-chalcone derivatives, and to evaluate their *in vitro* anti-tumor activities. **Methods** The substance 2, 4-dihydroxyacetophenone was used as starting material. After a series of reactions in four steps, 5-piperidyl-4-ethoxy-2-hydroxy-chalcone deri-