

痰热清注射液不同组分配伍对主要活性成分药动学的影响

刘绍勇¹, 张小利¹, 张振华¹, 易月¹, 张基², 刘李^{2*}, 刘晓东²

1. 上海凯宝药业股份有限公司, 上海 201401

2. 中国药科大学 药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009

摘要: **目的** 研究痰热清注射液不同组分配伍给药对3种活性标志物黄芩苷、熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸在大鼠体内药动学的影响, 探讨痰热清注射液配伍的合理性。 **方法** 将36只SD大鼠随机分成6组, 分别尾iv给予黄芩提取物、熊胆粉提取物、黄芩+熊胆粉、黄芩+山羊角提取物、黄芩+熊胆粉+山羊角、黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花提取物1次。LC-UV方法测定黄芩苷的血药浓度, LC-MS方法测定熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的血药浓度, WinNonlin 6.3软件计算药动学参数。 **结果** 痰热清注射液不同配伍给药后, 熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的药动学参数无显著差异, 仅使黄芩苷的AUC发生改变, 且其AUC值呈现黄芩<黄芩+山羊角<黄芩+熊胆粉+山羊角<黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花的变化, 但差异无统计学意义。熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的药动学参数基本未发生改变, 表明不同配伍不改变熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的药动学行为。 **结论** 痰热清注射液不同配伍可影响黄芩苷在大鼠体内的药动学行为, 增加其暴露量, 但不影响熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的药动学行为。

关键词: 痰热清注射液; 黄芩苷; 熊去氧胆酸; 鹅去氧胆酸; 配伍

中图分类号: R289.1; R969.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)21-3030-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.21.016

Effect of Tanreqing Injection in various formula compatibilities on pharmacokinetics of main components

LIU Shao-yong¹, ZHANG Xiao-li¹, ZHANG Zhen-hua¹, YI Yue¹, ZHANG Ji², LIU Li², LIU Xiao-dong²

1. Shanghai Kaibao Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201401, China

2. Key Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract: Objective To study the pharmacokinetic effect of three active markers, baicalin (BC), ursodeoxycholic acid (UDCA), and chenodeoxycholic acid (CDCA) in plasma of rats after iv administration of Tanreqing Injection (TI) in various compatibilities, which contained scutellaria extraction (SE), bear gall powder extraction (BE), Cornu caprae hircus extraction (CE) and *Lonicerae Flos* extraction (FE), including SE, BE, SE-BE (SE and BE), SE-CE (SE and CE), SE-BE-CE (SE, BE and CE), and SE-BE-CE-FE (SE, BE, CE, and FE). To discuss the rationality of TI compatibility, the effects of TI in various compatibilities on the pharmacokinetics of BC, UDCA, and CDCA in plasma of rats were investigated. **Methods** Thirty-six experimental rats were randomly divided into six groups, and treated with SE, BE, SE-BE, SE-CE, SE-BE-CE, and SE-BE-CE-FE. After the simultaneous extraction of the three major bioactive components in plasma of rats, the concentration of BC was determined using LC-UV method, and UDCA as well as CDCA was determined using LC-MS method. The experimental data were analyzed by WinNonlin 6.3 software and the pharmacokinetic parameters of BC, UDCA, and CDCA in these recipes were evaluated. **Results** The pharmacokinetic parameters of UDCA and CDCA did not change after iv administration of TI in various compatibilities. However, the TI in various compatibilities increased the AUC of BC after iv administration. The change degrees were SE < SE-CE < SE-BE-CE < SE-BE-CE-FE but with no statistical significance. The pharmacokinetic parameters of UDCA and CDCA did not obviously change, which indicated that the different compatibilities did not change the pharmacokinetic behavior of UDCA and CDCA. **Conclusion** TI in various compatibilities could increase the exposure of BC following the iv administration, but could not affect the pharmacokinetic behaviors of UDCA and CDCA.

Key words: Tanreqing Injection; baicalin; ursodeoxycholic acid; chenodeoxycholic acid; compatibility

收稿日期: 2013-06-17

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”计划) (2011CB505300, 2011CB505303)

作者简介: 刘绍勇, 男, 上海凯宝药业股份有限公司副总经理。Tel: (025)83271006 Fax: (025)83271060 E-mail: liushaoyong0801@sina.com

*通信作者 刘李 Tel: (025)83271006 E-mail: liulee@yeah.net

痰热清注射液以黄芩为君药、熊胆粉和山羊角合为臣药,金银花为佐药,连翘为使药,5味药相配,共奏清热化痰、解毒利胆之功效,临床上用于风温肺热病属痰热阻肺证,肺炎早期、急性支气管炎、慢性支气管炎急性发作以及上呼吸道感染属上述证候者的治疗^[1-4]。痰热清注射液中主要活性成分是黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸,在制剂中的质量浓度分别为6.1、6.6、1.1 mg/mL。本实验通过比较黄芩提取物、熊胆粉提取物、黄芩+熊胆粉提取物、黄芩+山羊角提取物、黄芩+熊胆粉+山羊角提取物、黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花提取物和痰热清注射液中黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸3种活性标志物在大鼠体内药动学的变化规律,探讨痰热清注射液配伍的合理性,为痰热清注射液临床合理用药提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

痰热清注射液(批号110212),黄芩、熊胆粉、山羊角和金银花提取物(批号110121),均由上海凯宝药业有限公司提供。痰热清注射液中黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的质量浓度分别为6.1、6.6、1.1 mg/mL,黄芩提取物中黄芩苷的质量分数为90.1%,熊胆粉提取物中熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的质量分数分别为82.5%、13.1%。每7.88 g黄芩提取物、每8.98 g熊胆粉提取物、每5.6 g山羊角提取物均分别溶于1 000 mL含10%丙二醇的生理盐水。黄芩苷(批号110715-201016)、熊去氧胆酸(批号110755-9003)、鹅去氧胆酸(批号110806-200704)、内标芦丁(批号110080-200707)和双氯芬酸(批号110334-200302),均购于中国药品生物制品检定所。甲醇、乙腈为色谱纯,德国Merck公司;其余试剂均为市售分析纯。

1.2 动物

SD大鼠,雌雄各半,体质量(190±10)g,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证号SCXK(沪)2008-0016。

1.3 仪器

日本岛津高效液相色谱仪(包括2个LC—20AD送液泵、DGU—20A3在线脱气机、SIL—20A自动进样器、CTO—20A柱温箱、SPD—20A紫外检测器、CBM—20A系统控制器和岛津Labsolutions色谱工作站);岛津LC-MS 2020液相色谱-质谱联用仪(包括LC—20ADXR送液泵、DGU—20A3脱

气机、SIL—20ACXR自动进样器、CTO—20A柱温箱、电喷雾离子化接口ESI和岛津Labsolutions质谱工作站);Milli-Q Gradient A10超纯水器,美国Millipore公司;Thermo SPD—2010—230台式真空浓缩仪、Sorvall Stratos台式高速冷冻离心机,美国Thermo公司;Eppendorf 5810R高速离心机,德国Eppendorf公司;Vortex—2旋涡混合器,美国Scientific Industries公司。

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 内标溶液的制备 精密称取内标芦丁、双氯芬酸各适量,用甲醇配制成1.0 mg/mL贮备液,临用时用甲醇分别稀释至25、4 µg/mL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷、熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸对照品各适量,用甲醇配制成分别含黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸均为0.6 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2 色谱条件

2.2.1 黄芩苷的测定 色谱柱为Waters Symmetry C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 µm);流动相为5 mmol/L磷酸二氢钠(含0.05%磷酸)(A)、乙腈(B);体积流量1.5 mL/min;柱温40 °C;紫外检测波长276 nm;进样量20 µL。梯度洗脱程序:0~2 min, 85%A;2~3 min, 线性过渡到76%;3~10 min, 76%A;10~11 min, 线性过渡到40%;11~13.5 min, 40%A;13.5~16 min, 线性回归到85%;16~19 min, 85%A平衡色谱柱。工作曲线范围0.078~20 µg/mL,定量限为0.078 µg/mL。

2.2.2 熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的测定 色谱柱为Waters Atlantis T3(150 mm×2.1 mm, 5 µm);预柱为Phenomenex SecurityGuard Cartridges C₁₈柱(4 mm×2.0 mm);等度洗脱;流动相为甲醇-水(24:76,含1 mmol/L乙酸铵-0.01%甲酸);体积流量0.2 mL/min;柱温40 °C;进样量5 µL。

2.3 质谱条件

离子化方式为ESI,扫描方式为SIM,离子模式为负离子。检测离子:熊去氧胆酸[M-H]⁻m/z: 391.05,鹅去氧胆酸[M-H]⁻m/z: 391.05,双氯芬酸[M-H]⁻m/z: 293.80。加热模块温度350 °C;脱溶剂管温度250 °C;干燥气体积流量10.0 L/min;雾化气体积流量1.5 L/min,接口电压-4.5 kV。熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸及双氯芬酸的基质效应在85%~115%。熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸均在

0.078~20 $\mu\text{g/mL}$ 具有良好的线性关系, 定量下限为 0.078 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 痰热清注射液不同组分配伍在大鼠体内的药动学指标研究

前期研究显示, 大鼠内源性胆酸的血药浓度呈时间节律性, 熊去氧胆酸的血药浓度较低, 15:00 以后的血药浓度绝大部分在定量限以下; 鹅去氧胆酸血药浓度高于熊去氧胆酸, 13:00 以后血药浓度有所下降, 在 13:00~20:00 本底比较稳定^[5]。为了最大限度地减少内源性胆酸的干扰, 实验在 13:00 以后进行。

2.4.1 分组与给药 大鼠适应性喂饲 2 周, 取大鼠 36 只, 雌雄各半, 随机将大鼠分成 6 组(每组 6 只), 分别为黄芩提取物组、熊胆粉提取物组、黄芩+熊胆粉组、黄芩+山羊角提取物组、黄芩+熊胆粉+山羊角组、黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花提取物组。大鼠禁食、自由饮水 18 h 后尾 iv 给药 1 次, 各组分的剂量参照原制剂中的配比(痰热清注射液给药剂量为 5 mL/kg)。于给药后 5、10、15、20、30、60、120、240、360 min, 眼底静脉丛连续取血, 置于肝素处理的试管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 分离血浆, 置-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测。

2.4.2 血浆中黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸测定^[5] 50 μL 血浆加混合内标 10 μL , 混匀, 加 900 μL 甲醇-醋酸乙酯-甲酸(50:50:1)混合溶剂, 涡旋 10 min, 18 000 r/min 离心 2 次, 10 min, 取 800 μL 上清, 45 $^{\circ}\text{C}$ 真空浓缩挥干, 100 μL 甲醇-水(1:1)复溶, 涡旋 5 min, 18 000 r/min 离心 2 次, 10 min。取 20 μL 上清, LC-UV 法测定黄芩苷的量; 取 5 μL 上清, LC-MS 法测定熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸。

2.5 数据处理

采用 WinNonlin 6.3 软件对大鼠体内的药时曲线进行非房室模型拟合, 采用 SPSS 17.0 软件对痰热清注射液组分不同配伍组之间的药动学参数进行比较, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

大鼠 iv 给予黄芩提取物、黄芩+熊胆粉提取物、黄芩+山羊角提取物、黄芩+熊胆粉+山羊角提取物及黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花提取物后, 大鼠血浆中黄芩苷 $t_{1/2}$ 分别为(38.38 $\pm$ 9.01)、(39.54 $\pm$ 5.64)、(47.45 $\pm$ 5.65)、(42.43 $\pm$ 2.91)、(41.05 $\pm$ 5.20) min, 与 iv 痰热清注射液后黄芩苷的 $t_{1/2}$ (49.32 $\pm$ 11.93) min 相近^[5], 5 个配伍组黄芩

苷的 AUC 的变化呈现黄芩单用、黄芩+山羊角、黄芩+熊胆粉+山羊角、黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花合用逐渐增大的趋势。各配伍组合 iv 给药后黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的血药浓度-时间曲线见图 1~3, 药动学参数见表 1~3。

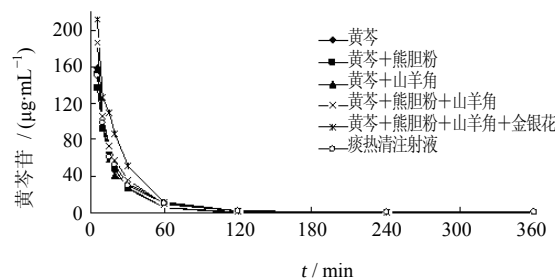


图1 大鼠 iv 痰热清注射液不同组分配伍组合后黄芩苷平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Concentration-time profiles of BC after iv administration of TI in various compatibilities to rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

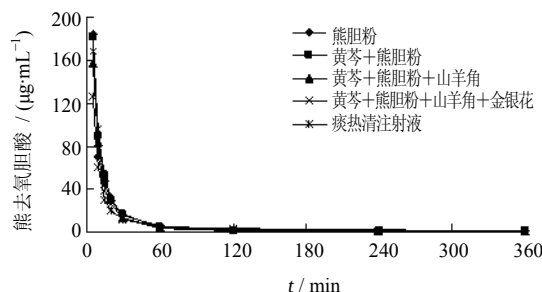


图2 大鼠 iv 痰热清注射液不同组分配伍组合后熊去氧胆酸平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Concentration-time profiles of UDCA after iv administration of TI in various compatibilities to rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

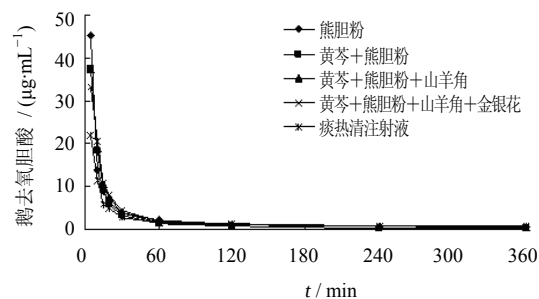


图3 大鼠 iv 痰热清注射液组分不同配伍组合后鹅去氧胆酸平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Concentration-time profiles of CDCA after iv administration of TI in various compatibilities to rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表1 大鼠 iv 痰热清注射液不同组分配伍组合和痰热清注射液后血浆中黄芩苷的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 1 Pharmacokinetic parameters of BC in plasma of rats after iv administration of SE, SE-BE, SE-CE, SE-BE-CE, SE-BE-CE-FE, and TI ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	黄芩	黄芩+熊胆粉	黄芩+山羊角	黄芩+熊胆粉+ 山羊角	黄芩+熊胆粉+山 羊角+金银花	痰热清注射液
AUC _{0-τ}	min·μg·L ⁻¹	3 015.87±1 101.70	2 816.79±956.77	3 424.30±934.07	3 752.56±1 352.74	4 931.03±1 420.46	3 579.72±1 671.03
AUC _{0-∞}	min·μg·L ⁻¹	3 077.53±1 088.31	2 872.18±969.88	3 514.26±945.32	3 835.00±1 355.06	5 017.47±1 441.24	3 679.03±1 734.89
t _{1/2}	min	38.38±9.01	39.54±5.64	47.45±5.65	42.43±2.91	41.05±5.20	49.32±11.93
K _a	min ⁻¹	0.02±0.01	0.018±0.002	0.015±0.002	0.016±0.001	0.017±0.002	0.015±0.003
MRT	min	41.33±7.37	39.78±5.49	53.69±10.39	46.90±10.37	44.07±6.06	54.26±16.10
C _{max, 5 min}	μg·L ⁻¹	159.24±26.26	137.04±22.43	158.05±9.55	186.48±54.37	211.29±49.24	144.99±16.72
CL	L ⁻¹ ·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	0.013±0.004	0.013±0.004	0.011±0.003	0.010±0.003	0.008±0.003	0.010±0.004
V _d	L·kg ⁻¹	0.73±0.31	0.79±0.33	0.75±0.31	0.61±0.17	0.46±0.20	0.66±0.22

表2 大鼠 iv 痰热清注射液不同组分配伍组合和痰热清注射液后熊去氧胆酸的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 2 Pharmacokinetic parameters of UDCA in plasma of rats after iv administration of BE, SE-BE, SE-BE-CE, SE-BE-CE-FE, and TI ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	熊胆粉	黄芩+熊胆粉	黄芩+熊胆粉+ 山羊角	黄芩+熊胆粉+ 山羊角+金银花	痰热清注射液
AUC _{0-τ}	min·μg·L ⁻¹	2 847.24±949.83	2 702.06±379.94	2 656.25±538.19	2 616.30±952.23	2 372.93±636.11
AUC _{0-∞}	min·μg·L ⁻¹	2 960.00±1 030.44	2 760.90±393.81	2 749.64±576.50	2 708.84±995.41	2 564.06±719.37
t _{1/2}	min	68.35±12.09	61.75±11.04	59.05±16.27	63.48±25.92	70.94±43.64
K _a	min ⁻¹	0.010±0.002	0.012±0.002	0.012±0.003	0.013±0.006	0.012±0.005
MRT	min	64.66±31.69	45.85±15.28	65.87±30.98	59.27±25.82	99.04±42.79
C _{max, 5 min}	μg·L ⁻¹	184.31±8.16	181.63±7.81	157.55±21.79	168.67±17.52	126.55±10.07
CL	L ⁻¹ ·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	0.014±0.004	0.014±0.002	0.014±0.003	0.015±0.006	0.014±0.004
V _d	L·kg ⁻¹	1.33±0.40	1.22±0.28	1.16±0.27	1.42±0.79	1.48±1.32

表3 大鼠 iv 痰热清注射液不同组分配伍组合和痰热清注射液后鹅去氧胆酸的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 3 Pharmacokinetic parameters of CDCA in plasma of rats after iv administration of BE, SE-BE, SE-BE-CE, SE-BE-CE-FE, and TI ($\bar{x} \pm s, n=6$)

参数	单位	熊胆粉	黄芩+熊胆粉	黄芩+熊胆粉+ 山羊角	黄芩+熊胆粉+ 山羊角+金银花	痰热清注射液
AUC _{0-τ}	min·μg·L ⁻¹	811.65±387.36	643.83±109.17	764.15±200.63	845.80±260.08	626.81±205.18
AUC _{0-∞}	min·μg·L ⁻¹	917.88±513.18	687.37±137.01	859.55±237.45	944.36±312.43	735.84±271.87
t _{1/2}	min	105.71±28.01	98.76±15.76	106.59±24.44	106.93±22.85	102.09±12.40
K _a	min ⁻¹	0.007±0.002	0.007±0.001	0.007±0.002	0.007±0.001	0.007±0.001
MRT	min	108.33±48.38	82.61±30.52	119.54±39.76	120.28±35.61	155.38±44.26
C _{max, 5 min}	μg·L ⁻¹	45.38±8.23	37.61±6.49	37.48±2.40	33.32±5.19	22.02±1.65
CL	L ⁻¹ ·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	0.006±0.003	0.009±0.002	0.007±0.002	0.006±0.002	0.008±0.003
V _d	L·kg ⁻¹	0.90±0.51	1.19±0.22	1.01±0.21	0.93±0.22	1.22±0.43

4 讨论

痰热清注射液以黄芩为君药,上行清肺火,下行泻膀胱火;熊胆粉和山羊角为臣药,前者具有解痉、解毒、抑菌抗炎、镇咳、祛痰平喘等作用;金银花和连翘为佐使药,以助清热解毒、清热宣透等。本实验以痰热清注射液中主要成分黄芩苷、熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸为标志物,比较了痰热清注射液中组分不同配伍对上述3种成分在大鼠体内药动学参数的影响,并与大鼠iv痰热清注射液后的结果进行比较。结果显示,黄芩、黄芩+熊胆粉、黄芩+山羊角、黄芩+熊胆粉+山羊角、黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花各配伍组血浆中黄芩苷 $t_{1/2}$ 值与iv痰热清注射液的相近^[5],5个配伍组黄芩苷的AUC值呈现黄芩<黄芩+山羊角<黄芩+熊胆粉+山羊角<黄芩+熊胆粉+山羊角+金银花趋势,提示可能存在抑制黄芩苷体内消除的因素。四药合用组黄芩苷的AUC甚至高于痰热清注射液组,但无显著差异。各配伍组大鼠血浆中熊去氧胆酸的药动学参

数与痰热清注射液的相近,鹅去氧胆酸的实验结果与之类似。

综上所述,痰热清注射液组分不同配伍可以影响黄芩苷在大鼠体内的药动学行为,增加其暴露量,而对熊去氧胆酸和鹅去氧胆酸的药动学行为无明显影响。

参考文献

- [1] 韩宏锋,路西明.痰热清注射液药理与临床[J].河南科技大学学报,2006,24(1):78-79.
- [2] 王春全.痰热清注射液的方解及功效[J].现代医药卫生,2006,22(5):720.
- [3] 雷载权.中药学[M].上海:上海科学技术出版社,1998.
- [4] 薛东升,李小利,宋庆宏.痰热清注射液作用机理与临床应用[J].上海医药,2007,28(11):521-522.
- [5] 胡杰利,刘绍勇,张振华,等.痰热清注射液中主要活性成分在大鼠体内的药动学研究[J].中草药,2013,44(13):1779-1785.