

热毒宁注射液家兔鼻腔给药的药代动力学研究

谢 珍[#], 王雪艳[#], 赵 欣, 张景照, 唐旭东^{*}

(深圳清华大学研究院创新中药及天然药物研究重点实验室, 深圳 518057)

摘 要 将热毒宁注射剂制备成鼻腔喷雾剂, 进行家兔鼻腔黏膜给药药代动力学研究。以健康家兔为模型, 建立空白组、鼻腔给药组和注射给药组。给药后使用乙腈沉淀蛋白法处理家兔血浆样品, HPLC 检测血浆中药物有效成分绿原酸的浓度。HPLC 结果显示, 鼻腔给药组中可检测到绿原酸, 且在给药后 2~5 min 时浓度最高, 说明自制热毒宁鼻腔喷雾剂可成功透过鼻腔黏膜吸收进入血液中快速代谢。相比于注射给药组, 鼻腔给药组血液中的药物有效物质含量较低, 提示热毒宁鼻腔喷雾剂药物透黏膜吸收效率有待提高。

关键词 热毒宁; 鼻腔给药; 注射给药; 高效液相色谱; 绿原酸; 药代动力学

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)05-0599-04

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160516

引用本文 谢珍, 王雪艳, 赵欣, 等. 热毒宁注射液家兔鼻腔给药的药代动力学研究[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(5): 599-602.

Cite this article as: XIE Zhen, WANG Xueyan, ZHAO Xin, et al. Pharmacokinetics of *Reduning* injection for nasal administration in rabbits[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(5): 599-602.

Pharmacokinetics of *Reduning* injection for nasal administration in rabbitsXIE Zhen[#], WANG Xueyan[#], ZHAO Xin, ZHANG Jingzhao, TANG Xudong^{*}

Key Lab for New Drug Research of TCM, Research Institute of Tsinghua University in Shenzhen, Shenzhen 518057, China

Abstract *Reduning* nasal sprays were prepared from *Reduning* injection to explore the pharmacokinetics of its nasal administration in rabbits. Healthy rabbits were divided into three groups: blank group, nasal administration group, and intravenous injection group. Plasma samples were pretreated using acetone to precipitate proteins. High-performance liquid chromatography (HPLC) was performed for the detection of chlorogenic acid. The results showed that chlorogenic acid was detected in the plasma samples of nasal administration group with the highest concentration occurring in 2-5 min after administration, which indicated that *Reduning* nasal sprays could be successfully absorbed from nasal mucosa and could rapidly metabolize in blood. Compared with intravenous injection group, nasal administration group had lower concentration of active ingredients, revealing that the transdermal absorption rate of *Reduning* nasal sprays requires further improvement.

Key words *Reduning*; nasal administration; intravenous injection; HPLC; chlorogenic acid; pharmacokinetics

[#]XIE Zhen and WANG Xueyan contributed equally to this work

This work was supported by the Science and Technology Research and Development Projects of Shenzhen (No. JCYJ20130401173155808)

热毒宁注射液是江苏康缘药业股份有限公司生产的中药复方注射剂。该处方由青蒿、金银花、栀子等 3 味中药提炼而成, 具有抗病毒、抗菌和增强机体免疫力等功效, 用于治疗上呼吸道感染、急

性支气管炎、外感风热所致感冒、咳嗽等疾病。近年来, 临床上使用热毒宁注射液引起的不良反应 (如皮疹、严重肠胃反应、甚至过敏性休克等) 经常发生, 引起社会的广泛关注^[1-3]。

收稿日期 2015-08-12 * 通信作者 Tel: 0755-26551399 E-mail: tangxd@tsinghua-sz.org

[#]谢珍和王雪艳对本论文的贡献相同

基金项目 深圳市科技研发资金资助项目 (No. JCYJ20130401173155808)

鼻腔给药具有吸收快、生物利用度高以及可以有效避免药物肝脏首过效应等优点,且相比于注射给药,鼻腔给药具有更低的不良反应^[4]。因此,结合鼻腔黏膜给药的特点,将热毒宁注射液改造成鼻腔给药制剂可以有效减少药物不良反应的发生率,为热毒宁的临床应用提供一种新剂型,同时也为中药新剂型改造提供一种新思路和新方法。

本研究以热毒宁注射液为研究对象,在不改变原药方前提下,针对注射剂有效成分的物化性质,添加药学上可用的辅料,制备成含热毒宁的可通过鼻腔黏膜给药的制剂。通过健康家兔动物模型,采用现代药物传递系统进行鼻腔黏膜给药,考察鼻腔黏膜给药后家兔血浆中药物有效成分的经时变化,实现药物载体在鼻腔黏膜表面的停留并使有效成分充分地透过鼻腔黏膜进入血液循环,发挥药效作用,为热毒宁的临床应用及工业化生产提供依据。

1 材料

1.1 试剂

热毒宁注射液(江苏康缘药业有限公司,每支10 mL,批号:130924);绿原酸对照品(批号:MUST-13121310)、栀子苷对照品(批号:MUST-13031401)、葛根素对照品(内标,批号:MUST-13111203)均由中国药品生物制品检定所提供。乙腈(色谱纯,美国Sigma公司);甲酸(色谱纯,西陇化工股份有限公司)。其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

1100型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);AG135型分析天平(瑞士Mettler Toledo公司);Neofuge 13R台式冷冻离心机(香港Heal Force公司);SA-2100E1超纯水系统(日本EYELA东京理化器械株式会社)。

1.3 动物

家兔,雌雄各半,体重2.0~3.0 kg,购于广东省医学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2011-0015,饲养于南方医科大学中医药学院(SPF级)。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

2 方法

2.1 液相色谱条件

采用Waters C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);检测波长λ=327 nm;流动相为0.1%甲酸(A)-乙腈(B),流速1.0 mL/min,柱温25℃,进样量20 μL。梯度洗脱条件参考文献[5],略微调整,具体如下:0 min,95% A;3 min,90% A;15 min,85% A;23 min,85% A。

2.2 热毒宁鼻腔给药制剂的制备

将热毒宁注射液40 mL真空冷冻干燥;将冰片20 mg和三氯叔丁醇20 mg溶于95%乙醇200~400 mL后加入上述热毒宁干燥产物,后加入聚乙烯吡咯烷酮30 mg、氯化钠36 mg和甘油400 μL,搅拌混匀,调节pH,加水补足至4 mL,装瓶灭菌即得。

2.3 给药方案

实验分为空白组、鼻腔给药组和注射给药组。鼻腔给药组予以热毒宁鼻腔给药制剂,注射给药组予以热毒宁注射液(对照)。给药剂量按人与家兔等效剂量比值进行换算,根据计算结果给予不同重量的家兔相应剂量。鼻腔给药组的给药方法按家兔每侧鼻腔喷或滴进行;注射给药组则为静脉注射。

于给药前和给药后2,5,10,15,30,45,60,90 min以及2,3,4,5 h取血0.5 mL,肝素抗凝,4 800 r/min离心15 min,取上清液-20℃冻存备用。

2.4 样品预处理方法

血浆样品预处理方法参考文献[6],具体操作如下:将1 mg/mL内标10 μL和2 mol/L盐酸10 μL加入血浆50 μL中,混匀,再加入乙腈200 μL,涡旋1 min,13 000 r/min离心5 min,转移上清液至干净离心管,氮气吹干,再加初始流动相200 μL复溶,涡旋1 min,13 000 r/min离心5 min,将上清液转移到棕色样品瓶,上机测定。

3 结果

空白血浆中加内标、空白血浆中同时加入绿原酸对照品和内标的色谱图分别见图1。由图1可知在所述色谱条件下,绿原酸的保留时间约为20 min,空白血浆中的内源性物质对绿原酸的测定无干扰。

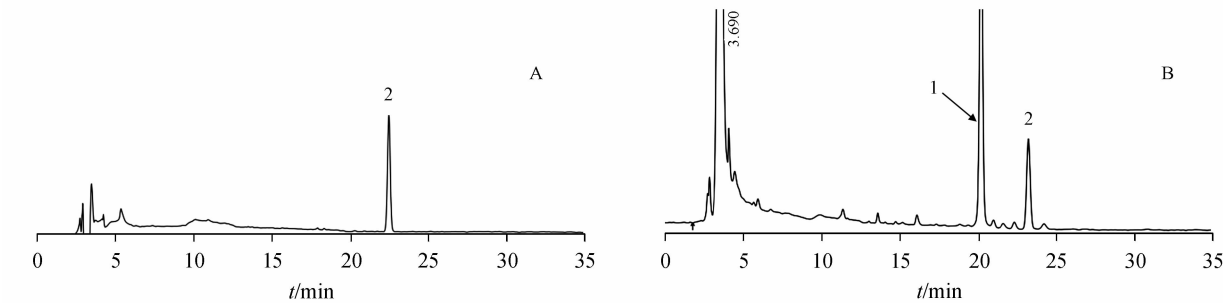


Figure 1 HPLC chromatograms of blank plasma spike with puerarin (IS) (A), and blank plasma spike with IS and chlorogenic acid (B)
1:Chlorogenic acid;2:IS

图 2 为鼻腔给药组在给药 2,5,10 min 后家兔血浆样品的色谱图。根据峰型面积大小可初步判断,鼻腔给药在 2 ~ 5 min 时血药浓度达最高,给药

10 min 后血药浓度下降,表明鼻腔给药可快速通过黏膜吸收进入血液循环。

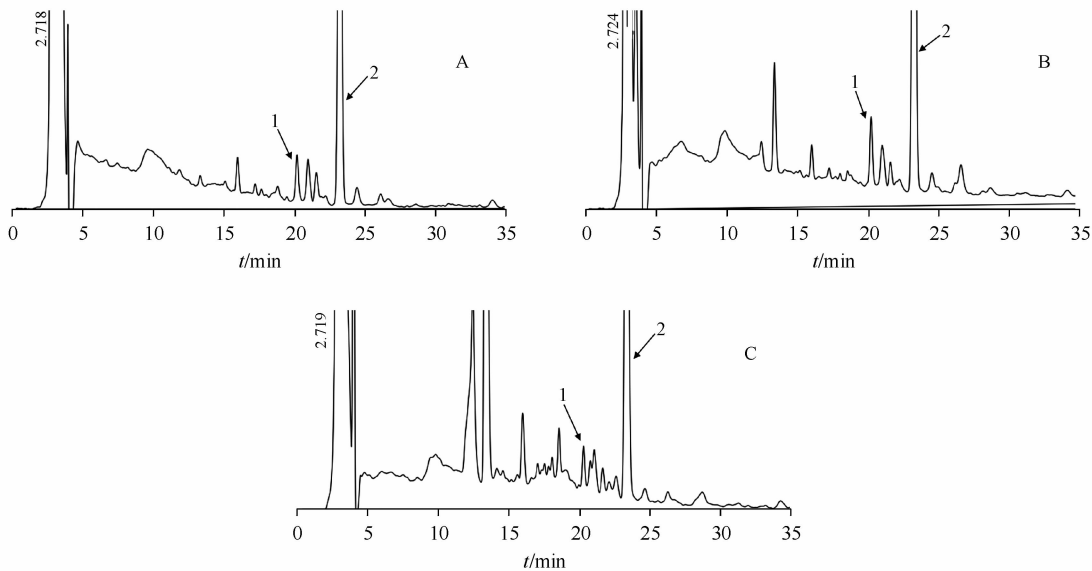


Figure 2 HPLC chromatograms of chlorogenic acid and puerarin (IS) in rabbit plasma sample after nasal administration of *Reduning* injection
A:2 min;B:10 min;C:30 min. 1:Chlorogenic acid;2:IS

图 3 为注射给药组在给药 5,10,20,30 min 后家兔血浆样品色谱图。由图可知,注射给药在 10 min 时血药浓度最高,随后下降,30 min 时已经几乎检测不到绿原酸有效物质。

以上结果表明,热毒宁鼻腔喷雾剂可以通过鼻腔黏膜进入血液循环,与注射给药相比,改造后的热毒宁经鼻腔给药后,有效成分的吸收可能更为迅速,提示将其开发为非注射型预防性感冒用药具有较好的可行性。

4 讨 论

近年来,中药注射液的安全性问题日益凸显,由中药注射液引起的不良反应发生率居高不下,涉

及的中药品种相当广泛,如热毒宁、痰热清、鱼腥草、双黄连、清开灵、穿琥宁、丹参、刺五加等,其中清热解毒类的中药注射液是不良反应的高发对象^[7-8]。研究者普遍认为中药注射液引起不良反应的主要原因在于注射剂直接进入人体血液循环,缺乏人体正常生理屏障保护。由于注射液的原药材品质参差不齐,药物中含不明确的致敏原,另外药液配伍导致大量不溶性微粒进入血液中引起各种不良反应。因此,关于中药注射液的临床使用需要重新审视。

本研究发现,热毒宁中药注射液经添加辅料后改造成鼻腔给药制剂,采用健康家兔模型进行鼻腔给药,结果表明,家兔予以含热毒宁的鼻腔给药制

剂后,可明显在血浆中检测到热毒宁药物的有效成分绿原酸,给药2~5 min时药物浓度最大,表明了制备的热毒宁鼻腔给药制剂可通过鼻腔黏膜吸收

进入血液中,且具有见效快的特点,揭示清热解毒类的中药注射液可通过类似方法进行改造,这将对降低中药注射液引起的不良反应率具有潜在意义。

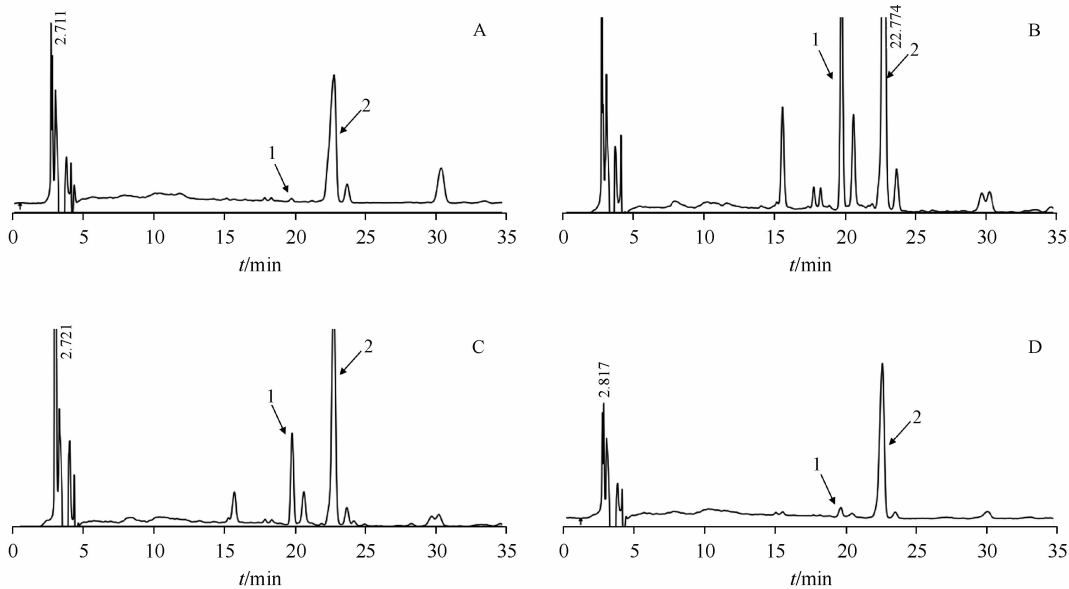


Figure 3 HPLC chromatograms of chlorogenic acid, and puerarin (IS) in rabbit plasma sample after *Reduning* injection
A: 5 min; B: 10 min; C: 20 min; D: 30 min
1: Chlorogenic acid; 2: IS

当然,本研究存在很多不足之处,特别是本实验制备的药物虽然可经过鼻腔黏膜吸收快速进入血液,但是药物的生物利用度偏低。可能原因是药物在鼻腔黏膜上的黏附能力弱,透膜吸收少。研究认为,可通过加入生物黏附剂,如甲壳素等,促进吸收^[9]。作为中药注射液向鼻腔给药制剂的转变改造的初探,尚有很多工作需要深入探讨,诸如药物对鼻腔黏膜的毒性试验以及鼻腔给药剂型是否符合鼻腔给药的相关规定等方面的工作亟待解决。

参考文献

[1] Yan AR, Peng FC. Adverse reactions and related factors of 10 kinds of traditional Chinese medicine injections[J]. *China J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2008, **28**(9): 765-766.
[2] Liang WK, Kuang JJ. Investigation on the adverse drug reactions and adverse events of 18 traditional Chinese medical injections by data analysis[J]. *China Licensed Pharmacist* (中国执业药师), 2011, **18**(1): 4-9.
[3] Zheng YY, Lu PP, Wu ZH, et al. Analysis of adverse reactions and their related factors in parental herbal solutions[J]. *Guang-*

dong Pharm J (广东药学), 2003, **13**(4): 53-55.
[4] Hu Y, Gao YL. Advance in nasal delivery system[J]. *Chin Med Biotechnol* (中国医药生物技术), 2008, **3**(5): 381-384.
[5] Qiu XL, Ren XL, Zhang HJ, et al. Safety of *Reduning* injection and their degradation products[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2013, **35**(10): 2108-2112.
[6] Wang Y, Wen J, Zheng W, et al. Simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid and geniposide in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study after administration of *Reduning* injection[J]. *Biomed Chromatogr*, 2015, **29**(1): 68-74.
[7] Tan ZF, Guo F, Zhang WB, et al. Investigation on the adverse reactions of Chinese medicine injection and the preventive measures[J]. *China J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2014, **34**(11): 949-951.
[8] Guo X, Ye X, Wang X, et al. Reporting patterns of adverse drug reactions over recent years in China: analysis from publications[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2015, **14**(2): 191-198.
[9] Zou YP, Lin Y, Xing K, et al. Adverse reactions analysis in elderly patients caused by traditional Chinese medicine injection[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, **18**(14): 295-299.