

原子吸收分光光度法测定口服甘草锌 的血锌浓度及药代动力学研究

张欣怡* 吴如金 陈 坚* 安登魁

(中国药科大学, 南京 210009; *新疆医学院药学系, 乌鲁木齐 830054)

甘草锌 (licorzin) 是从豆科植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) 根中提取的有效成分与锌盐结合而成的含锌药物 (含锌约 4~5%, 甘草酸约 25%)。该药在临床上主要用于补锌, 并且对胃肠道的刺激明显小于国内常用的补锌剂硫酸锌。为了解新药甘草锌在人体内的吸收、消除过程, 推广该药在临床上的应用, 本文用原子吸收分光光度计 (AAS) 建立了测定血锌浓度的方法 (有关甘草酸部分的 HPLC 测定, 已另文报道)。与文献法^(1,2)比较, 本法不仅适用于临床检验, 且也适合于药代动力学研究。应用所建立的方法测定了健康受试者口服甘草锌后的血浆锌浓度, 并求算了药代动力学参数。

实 验 部 分

一. 仪器、试剂

仪器 日立 180-80 型原子吸收分光光度计。工作条件为灯电流 10.0 mA; 共振谱线 213.8 nm; 狭缝 1.3 nm; 燃气乙炔 (0.20 kg/cm²), 助燃气 (1.60 kg/cm²), 燃烧器高度 7.5 cm; 测量方式浓度直读; 测量时间 5 s。

试剂 氧化锌、甘油均为分析纯; 去离子水 (比电导 $< 1.1 \times 10^{-6} \Omega^{-1}/\text{cm}$)。

药品 甘草锌胶囊 (含锌 4.5%, 新疆制药厂)。

标准溶液 配制 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准锌贮备液 (pH 1~2), 置聚乙烯塑料瓶中。分别吸取 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准锌溶液 0.20, 1.00, 1.50 ml, 各置 100 ml 量瓶中, 用 5% 甘油水溶液稀释至刻度, 反复摇匀后, 置聚乙烯塑料瓶中备用, 浓度分别为 0.20, 1.00, 1.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

二. 血浆预处理方法

精密吸取血浆 1 ml 经冷冻 (-12°C)、融化, 加去离子水 1 ml 稀释, 在滑动混合器上混合 30 s 后, 以 4000 r/min 离心 5 min, 上清液供测定。

三. 血浆锌 AAS 测定法

(一) 配制锌标准溶液的溶剂 由于 5% 甘油水溶液与血浆的水稀释液 (1:1) 在测定时的吸引速度 (均为 0.092 ml/s) 相当, 故选其为配制标准液的溶剂, 以免因标准液与待测样品液吸引速度的差异引起误差。

(二) 标准曲线 每次测定前以 0.20, 1.00 及 1.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 三个浓度标准液, 由仪器自动建立标准曲线 ($r > 0.9992$)。

(三) 精密度与回收率试验 按“血浆预处理方法”在三个浓度 (0.20, 0.90, 1.80 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ($n=14$), 测得日内及日间精密度的变异系数均小于 5%; 平均回收率为 $97.3 \pm 4.3\%$

(n=10)。

四. 健康受试者血锌浓度及药代动力学参数

(一) 血锌浓度测定 给药组健康受试者 10 名 (男女兼有), 年龄 20 ± 2 岁, 体重 55 ± 5 kg; 对照组健康受试者 6 名 (男女兼有), 年龄 20 ± 1 岁, 体重 53 ± 5 kg。食用标准餐三天后, 于第四天继续食用标准餐的同时, 给药组每人一次口服甘草锌 2.5 g (约相当于锌 110mg)。两组均在相同时间静脉取血, 每次约 2 ml, 依法处理并测定。发现在服药后出现两个峰值, 结果见图 1。

(二) 给药组血锌本底浓度的扣除 根据图 1 中对照组的平均血锌本底浓度 $C't$, 按下式从给药组的血锌浓度 C_t 中扣除其血锌本底浓度 $C''t$ 后, 即得校正后的给药组血药锌浓度 ΔC_t 。

$$\Delta C_t = C_t - C''t$$

$$C''t = \frac{C_o(\text{给药组})}{C_o(\text{对照组})} \cdot C't$$

式中 $C_o(\text{给药组})$ 为给药组服药前上午 8:00 时的血锌本底浓度; $C_o(\text{对照组})$ 为对照组上午 8:00 时的血锌本底浓度。

用比值 $C_o(\text{给药组})/C_o(\text{对照组})$ 校正 $C't$ 并从 C_t 中扣除, 是为了减少个体差异的影响。校正后, 服药组的平均药锌血液一时间曲线, 见图 2。

(三) 甘草锌中锌的药代动力学参数 应用非线性最小二乘法回归程序("NLFTZH-U")求算药代动力学参数。将

给药组服药后 1~11 h 之间的血药锌浓度 (ΔC_t) 一时间数据, 进行一室、二室模型的嵌合, 一室又分别以吸收速度常数 K_a 与消除速度常数 K 相等或不相等两种情况进行。结果以 $K_a=K$ 的一室模型嵌合结果为好。求得的药动学参数列于表 1。

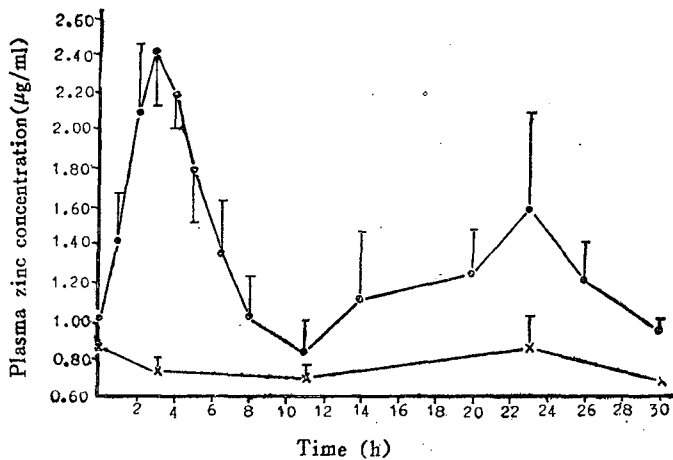


Fig 1. The mean plasma concentration-time curve in volunteers after oral administration of licorzin 2.5g (·—·, n=10) and in controls given no licorzin (×—×, n=6).

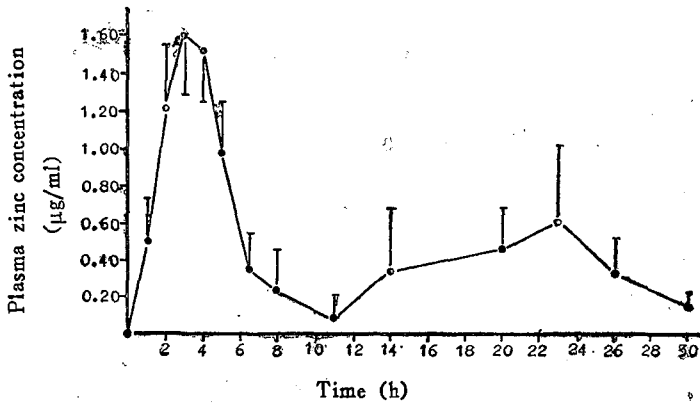


Fig 2. The mean plasma zinc concentration-time curve in the volunteers of the medication group corrected for the mean plasma zinc concentration of the control group.

讨 论

一. 本文采用血浆以水 1:1 稀释、冷冻、离心方法得到上清液, 可降低仪器吸引管和燃烧器堵塞的程度, 延长清洗周期, 且并不影响回收率。文献^(1,2)报道有以甘油为粘度调节

Tab 1. Pharmacokinetic parameters of zinc in the volunteers(n=10)

Parameter	K_e, K (h^{-1})	V (L)	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu g/ml$)	AUC ($h \cdot \mu g/ml$)	$T_{1/2}$ (h)
Mean	0.380	33.03	2.7	1.29	9.33	1.9
SD	0.076	5.76	0.5	0.22	1.45	0.4

剂,按1:4的比例稀释血浆;尚有不用粘度调节剂,以离子水1:5稀释血浆后测定,近有人⁽³⁾取少量血(约200 μl)用火焰AAS测定。尽管稀释比例大或取血量少不易引起堵塞但测定误差增大,不适用于药代动力学研究。

二.关于“标准餐”及“本底校正”问题 人体血锌本底浓度受地理环境、营养状态、饮食、年龄等因素的影响并且在一天中也有变化。考虑在本实验条件下饮食是引起血锌本底浓度波动的主要因素,所以为受试者制定了“标准餐”以减少波动幅度,从图1中可见对照组的平均血锌浓度的波动幅度约为0.2 $\mu g/ml$ 。

人体血锌浓度在一昼夜内的波动趋势(图1)是先降低,随后又回升至原来水平,出现血锌最低潮为19:00(图1中0h为8:00所以19:00即为给药后11h)。说明人体血锌本底浓度具有节律性。在测定中还发现,如果受试者8:00时的血锌本底较高,则在一天中血锌的水平都相对较高,反之,则相对较低。所以为减少个体差异影响,作了血锌本底校正。

三.文献⁽⁴⁾报道健康受试者口服硫酸锌后的药代动力学参数 $K=0.36 h$, $T_{max}=2.2 h$,与本文表1中的结果接近。进一步说明甘草锌可以代替硫酸锌起到补锌剂的作用。

四.本文首次发现在健康受试者口服甘草锌后的血药浓度一时间曲线上出现双峰(图2)。第二个峰出现的机理尚不十分明确。初步考虑有几种可能:1.由于人体血液对锌有一定容纳量,当摄入锌超过容纳量时,机体将过多的锌转运⁽⁵⁾,贮存于“锌池(zinc pool)”⁽⁶⁾,当人体血锌恢复到正常值时,贮存于“锌池”中的锌才进入血液,便出现第二峰;2.由于锌与甘草中的甘草酸等多种成分结合状态的差异,服药后不同结合状态的锌在体内解离速度也有差异,使血液一时间曲线上出现第二峰;此外,也可能是由于锌的肠肝循环所引起。

致谢 在药代动力学参数处理中,承朱家壁副教授的热情指导,并提供了“NLFTZHU”程序。

关键词 甘草锌;原子吸收分光光度法;药代动力学

参 考 文 献

- Smith JC, et al. Direct measurement of zinc in plasma by atomic absorption spectroscopy. *Clin Chem* 1979;25:1487.
- Liska SK, et al. Determination of zinc in whole blood, plasma and serum using Zeeman effect flame atomic absorption spectroscopy. *Clin Chim Acta* 1985;151:237.
- 王彦,等.火焰原子吸收光谱法微量耳血清锌的测定方法及小儿正常参考值.中华医学检验杂志 1987;10:21.
- Meadows NJ, et al. Oral iron and the bioavailability of zinc. *Br Med J* 1983;287:1013.
- 孔祥瑞. 锌的营养及临床意义. 见:孔祥瑞编. 必需微量元素的营养、生理及临床意义. 第一版. 合肥:安徽科学技术出版社, 1982:224~5.
- Cousins RJ. Regulation of zinc absorption; role of intracellular ligands. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:339.

STUDY ON THE DETERMINATION OF ZINC IN PLASMA AFTER ORAL ADMINISTRATION OF LICORZIN BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY AND THE PHARMACOKINETICS OF ZINC IN HEALTHY VOLUNTEERS

XY Zhang*, RJ Wu, J Chen* and DK An

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; *Xinjiang Medical College, Wulumugi 830054)

ABSTRACT A rapid, accurate and sensitive atomic absorption spectrophotometry was established for the determination of zinc in plasma after oral administration of licorzin to healthy volunteers. The plasma sample diluted with de-ionized water (1:1) was determined directly. A 5% glycerol solution was used as the solvent of zinc standard solution. The recovery of the proposed method was $97.3 \pm 4.3\%$. The precisions(CV%) of within-day and day-to-day were less than 5%. The pharmacokinetics of zinc in healthy volunteers after oral administration of 2.5 g licorzin was studied. The results showed that an one-compartment model ($K_a=K$) was found in 10 healthy volunteers. The pharmacokinetic parameters were as follows: $K_a=K=0.380\text{h}^{-1}$, $T_{max}=2.7\text{h}$, $V=33.03\text{ L}$, $T_{1/2}=1.9\text{h}$.

Key words Licorzin; Atomic absorption spectrophotometry; Pharmacokinetics