

咖啡因对乙酰水杨酸镇痛作用的协同效应

陈镇生 (浙江省药品检验所, 杭州 310004)

摘要 让健康受试者分别或同时口服咖啡因和乙酰水杨酸, 考察受试者对痛刺激的反应并测定受刺激部位血流量的变化和血药浓度, 实验证明, 咖啡因对乙酰水杨酸的镇痛作用无明显协同效应。

关键词 乙酰水杨酸 咖啡因 协同作用

为了验证咖啡因 (Caffeine) 对乙酰水杨酸 (Acetylsalicylic Acid, ASA) 的镇痛作用有无可协同效应, 本试验对24位健康受试者采用双盲法, 三次交叉实验设置, 通过对指间皮肤间竭性加压(10牛顿力)产生痛刺激, 让受试者在服药前和服药后一系列时间点上对痛感作出评估; 并用 Laser 光测量通过该处血流量的变化; 同时采血测定 Caffeine, ASA 和其代谢物水杨酸 (Salicylic Acid, SA) 的血液。本文仅介绍血液的测定。

实验部分

1 药品、试剂和仪器

1.1 药品: 乙酰水杨酸片(每片含 ASA 500 mg); 咖啡因片(每片含 Caffeine 50 mg); 复方乙酰水杨酸片(每片含 ASA 500 mg + Caffeine 50 mg); 咖啡因、 β -羟基茶碱、ASA、SA 由德国巴尔药厂提供。

1.2 试剂: 乙腈、氯仿、异丙醇等均购自 Merck 公司。

1.3 仪器: 美国 Beckman 公司高效液相色谱仪、自动进样器; Spectra-physics 紫外检测器; 日本 Shimadzu 积分仪; Beckman 高速冷冻离心机。

2 色谱条件

色谱柱: Nucleasil C₁₈ (3 μ m, 25 cm $\times$ 4.6 mm ID), 流动相: 测咖啡因 pH 4.0 磷酸盐缓冲液—乙腈(95:5), 测 ASA 和 SA 为 pH 3.0 磷酸盐缓冲液—乙腈(70:30), 流速: 1.5 ml/min (Caffeine), 1 ml/min (ASA + SA), 检测波长:

257 nm (Caffeine) 及 237 nm (ASA + SA)。分离后色谱图如图(1)、(2)所示。

3 志愿者血样收集

健康受试者(18~30 a 男性, 按德国联邦药品法进行挑选, 均为医、药专业学生)在标准早餐后 0.5 h 开始采血作空白, 然后于服药后 5 min 起, 每隔 10 min 采血 5.4 ml, 其中 2.7 ml 制成 Serum* 用于测 Caffeine, 2.7 ml 制成 Plasma* 用于测 ASA 和 SA, 共采血 10 次。取血后即分别与沉淀剂、抗凝剂振摇, 离心, 取上清液 (Serum 和 Plasma) 置 -20°C 冷藏至分析。受试期间禁用其它药物和咖啡等。

4 样品测定方法

4.1 测定 Caffeine: 取 Serum 50 μ l, 加 15 μ g/ml 的 β -羟基茶碱(内标)的乙腈溶液 50 μ l, 混匀, 加氯仿—异丙醇(95:5) 5 ml, 振摇 10 min, 离心 3000 rpm、5 min, 取有机层 4 ml 置氮气流下吹干, 残渣加 0.1 ml 流动相溶解, 50 μ l 进样。

4.2 测定 ASA 和 SA: 取 Plasma 200 μ l, 加高氯酸—乙腈(2:8)溶液 50 μ l, 混匀, 离心 13000 rpm, 3 min, 取上清液 100 μ l, 加 pH 3.0 磷酸盐缓冲液 100 μ l, 混匀, 50 μ l 进样。

5 结果

线性关系与最低检测浓度及回收率试验

咖啡因: 取空白 Serum, 加入不同量的 Caffeine 溶液, 混匀, 按样品测定方法处理, 以 Caffeine 和内标物的峰高比浓度作图。在 0.25~5 μ g/ml 范围内线性良好, 回归方程 $y = 1.2772x - 0.0233$

* Serum 和 Plasma 均为血清, 不同的是 Serum 含有少量的纤维蛋白。Plasma 比 Serum 的纯度更高。

$r = 0.9997$

ASA 和 SA，取空白 Plasma，分别加入不同量的 ASA 和 SA，混匀，按样品测定方法处理，分别以 ASA 和 SA 的峰面积对浓度作图，ASA 在 $0.3 \sim 10 \mu\text{g/ml}$ 范围内，SA 在 $1.5 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ 内线性良好，回归方程分别为 $y = 0.0105x - 0.0606$ $r = 0.9998$ (ASA)和 $y = 0.01314x - 0.663$ $r = 0.9999$ (SA)。

于空白血清 (Serum 和 Plasma) 中加入一定量的 Caffeine、ASA 和 SA，按样品测定方法处理，计算回收率，结果见表 1。

表 1 回收率试验(n = 6)

	加入量 ($\mu\text{g/ml}$)	测得量 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率 (%)	CV (%)
咖啡因	5	4.97	99.4	3.0
	2.5	2.57	102.8	3.8
	1.25	1.23	98.4	8.3
ASA	10	10.06	100.6	1.96
	2.5	2.41	98.4	3.15
	0.625	0.639	96.5	6.09
SA	50	50.16	100.3	0.35
	12.5	12.27	98.2	1.2
	3.13	3.23	103.2	2.4

血样测定

24 各受试者每隔一周分别口服 ASA、Caffeine 及 ASA + Caffeine 复合片各二片后，按上述方法测定 85 min 内血液中三种药物的浓度，求出血液一时间曲线下的面积(AUD)。结果见图 3、图 4。

6 讨论

经对 24 位受试者的血液测定结果，单独服用 ASA 和服用 ASA + Caffeine 复合片，二者血液一时间曲线下面积无显著差异。这与另二个考察项目所得结果[受试者对痛感的评估及血流量的变化]相吻合。经数理统计分析说明，咖啡因对乙酰水杨酸无显著协同作用。

附：本实验是作者在德国埃朗根大学药理研究所(Institut fuer Pharmakologie und Toxikologie der Universitaet Erlangen-Nuernberg)进修期间，在 K. Brune 教授指导下，与 Katrin 博士合作完成。作者负责血液测定项目。

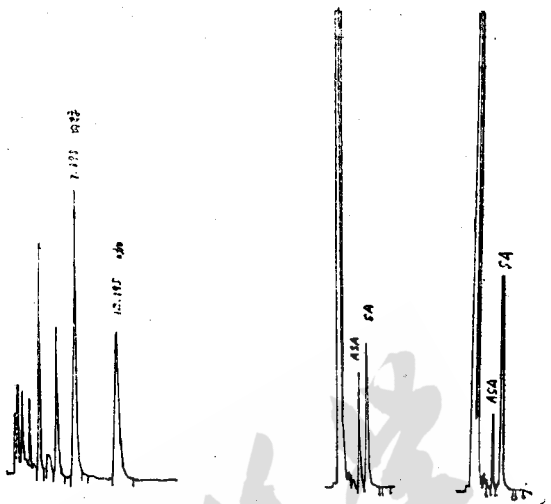


图 1 口服咖啡因片 85 min 后的色谱图

图 2 口服乙酰水杨酸片后 65 min 和 85 min 的色谱图

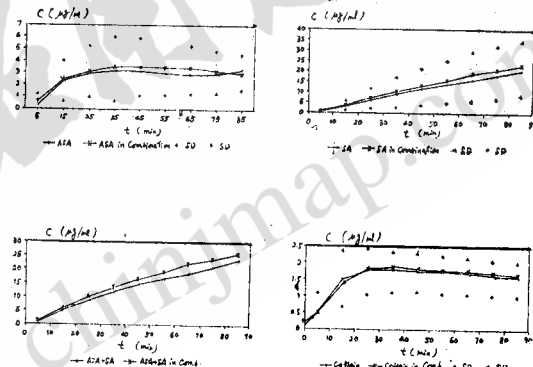


图 3 24 位受试者的平均血药浓度——时间曲线

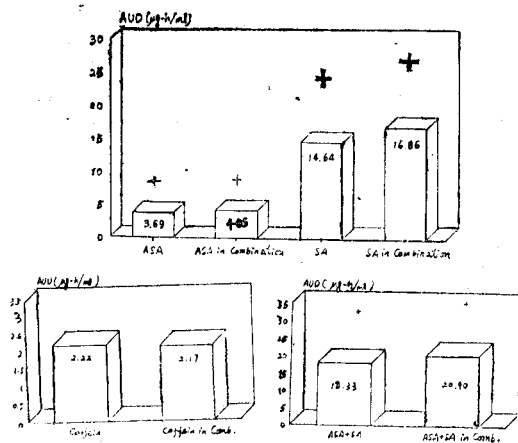


图 4 24 位受试者的 AUD 平均值

收稿日期：1993-05-24

The Effects of Caffeine on the Analgesic Action of Aspirin

Chen Zhengsheng

(Zhejiang Provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004)

Abstract In this experiment, the volunteer's reaction to pain, the change of blood volume and the concentration of drugs in blood were monitored after the volunteers orally took caffeine and aspirin respectively or simultaneously. The results showed that caffeine has not obvious cooperative effect on the analgesic action of aspirin.

Key words Caffeine Aspirin Analgesic action