

## 柳氮磺吡啶肠溶片人体生物等效性研究

梁燕<sup>1,2</sup>, 王凌<sup>2</sup>, 王蕊<sup>3</sup>, 常臻<sup>3</sup>, 钟延强<sup>1</sup>, 邹豪<sup>1</sup> (1. 第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433; 2. 四川大学华西药学院, 成都 610041; 3. 上海信谊药厂有限公司药物研究所, 上海 201206)

**[摘要]** 目的 柳氮磺吡啶肠溶片(sulfasalazine enteric-coated tablet, SECT)属于口服不易吸收的药物,其人体药动学和相对生物利用度研究存在一定难度。本研究通过评价不同厂家生产的两种制剂的生物等效性,建立SECT的研究方法。方法 对24名健康男性志愿者按随机交叉自身对照的方法,给予单剂量口服500 mg SECT受试制剂和参比制剂,两次试验间隔为1周,分别测定血浆柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SS)、磺胺吡啶(sulfapyridine, SP)、5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)浓度。结果 血浆中SS、SP、5-ASA的药动学参数如下:以 $AUC_{0-12}$ 计算,受试制剂SECT中SS相对生物利用度为 $(108.8 \pm 24.1)\%$ ;SP相对生物利用度为 $(105.0 \pm 25.0)\%$ ;5-ASA相对生物利用度为 $(94.1 \pm 22.0)\%$ 。以 $AUC_{0-\infty}$ 计算,受试制剂SECT中SS相对生物利用度为 $(106.9 \pm 23.4)\%$ ;SP相对生物利用度为 $(104.1 \pm 25.0)\%$ ;5-ASA相对生物利用度为 $(93.6 \pm 22.2)\%$ 。受试制剂与参比制剂的血药浓度-时间曲线基本一致,受试制剂与参比制剂主要药动学参数无显著性差异( $P > 0.05$ )。结论 两家厂家生产的SECT,受试制剂与参比制剂在健康中国人体内具有生物等效性。

**[关键词]** 柳氮磺吡啶;磺胺吡啶;5-氨基水杨酸;生物等效性

**[中图分类号]** R969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)06-0424-05

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.06.007

## Study on bioequivalence of sulfasalazine enteric-coated tablet in healthy volunteers

LIANG Yan<sup>1</sup>, WANG Ling<sup>2</sup>, WANG Rui<sup>2</sup>, CHANG Zhen<sup>2</sup>, ZHONG Yan-qiang<sup>1</sup>, ZOU Hao<sup>1</sup> (1. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Huaxi School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Institute of Drug Research, Shanghai Xinyi Pharmaceutical Co., Ltd. Shanghai 201206, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the pharmacokinetics and relative bioavailability of sulfasalazine enteric-coated tablets from two different factories in healthy volunteers. **Methods** 24 healthy male volunteers were enrolled in the study. A single oral dose (500 mg) of test and reference Sulfasalazine Enteric-coated tablet preparations were given respectively to the volunteers according to randomized two way cross over study design. The washout period was 1 week. The plasma concentrations of Sulfasalazine (SASP) and sulfapyridine (SP) were determined by HPLC-UV method, the plasma concentrations of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) were determined by HPLC-FLU method. **Results** The pharmacokinetic parameters of SASP, SP and 5-ASA in plasma were as follows: according to  $AUC_{0-12}$ , the relative bioavailability of SASP, SP and 5-ASA was  $(108.8 \pm 24.1)\%$ ,  $(105.0 \pm 25.0)\%$  and  $(94.1 \pm 22.0)\%$  in the test preparations; while according to  $AUC_{0-\infty}$ , the relative bioavailability of SASP, SP and 5-ASA was  $(106.9 \pm 23.4)\%$ ,  $(104.1 \pm 25.0)\%$  and  $(93.6 \pm 22.2)\%$  in the test preparations. Mean plasma concentration-time curve of the test product was highly close to that of the reference product. There was no significant difference in pharmacokinetic parameters between the test and reference preparations of sulfasalazine enteric-coated tablets ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The results of statistical analysis showed that the two sulfasalazine enteric-coated tablets from different factories in healthy volunteers were bioequivalent.

**[Key words]** sulfasalazine (SASP); sulfapyridine (SP); 5-aminosalicylic acid (5-ASA); pharmacokinetics and relative bioavailability

柳氮磺吡啶肠溶片(sulfasalazine enteric-coated tablet, SECT)临床应用广泛,可用于治疗克隆病和溃疡性结肠炎,目前也是类风湿关节炎(RA)的治疗主要用药,并可用于治疗强直性脊柱炎、瑞氏综合

征、反应性关节炎等,近年来柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SS)亦报道用于治疗皮肤病。SECT为口服不易吸收的药物,口服后一部分药物在肠微生物作用下分解成5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)和磺胺吡啶(sulfapyridine, SP),5-ASA再与肠壁结缔组织络合后,在肠壁组织中发挥抗菌消炎和免疫抑制作用。本研究分别用HPLC-UV方法和

**[作者简介]** 梁燕(1982-),女,在职硕士研究生。E-mail: liangyan-susan@126.com.

**[通讯作者]** 邹豪。E-mail: haozou@smmu.edu.cn.

HPLC-FLU方法,对两家厂家生产的SECT进行人体药动学及生物等效性研究。

## 1 材料和方法

**1.1 受试对象** 24名健康男性志愿受试者,年龄(36.08±2.78)岁,身高(169.67±2.58)cm,体重(62.87±2.41)kg。实验前经体检证明血、尿常规,肝、肾功能,心电图、胸片检查等均正常,无心血管系统、呼吸系统、消化系统、泌尿系统、中枢神经系统、代谢系统的明确病史或其他显著疾病,无药物与食物过敏史,无烟、酒嗜好或滥用毒品史,试验前1个月内未服用过可能影响本试验结果的药物,入选前3个月内无其他药物临床试验史与献血史。所有健康志愿者在了解本试验的目的与要求后签署知情同意书。柳氮磺吡啶肠溶片在人体的生物等效性研究方案经第四军医大学第一附属医院医学伦理委员会批准后实施<sup>[1]</sup>。

**1.2 药品和试剂** 受试制剂:柳氮磺吡啶肠溶片(T,0.25g/片,批号:20110505,遮光密封保存,有效期24个月,上海A公司);参比制剂:柳氮磺吡啶肠溶片(R,0.25g/片,批号:20100925,遮光密封保存,有效期24个月,上海B公司);柳氮磺吡啶对照品(批号:G3F035,含量以100%计,中国药品生物制品检定所);磺胺吡啶对照品(批号:I0B298,含量以100%计,中国药品生物制品检定所);茶苯海明对照品(内标,批号:100120-200403,含量以100%计,中国药品生物制品检定所);5-氨基水杨酸对照品(批号:I0F121,含量以100%计,中国药品生物制品检定所);4-氨基水杨酸对照品(内标,批号:LL-COJ05,含量:99.0%,百灵威科技有限公司)。甲醇、乙腈、三乙胺、冰乙酸、丙酸酐、磷酸二氢钾等均购自国药集团,水为去离子水<sup>[2]</sup>。

**1.3 试验设计和血样采集** 入组24例男性健康志愿者,等分为T、R两组,每组12例。采用随机、开放、单剂量、两制剂、双周期、自身交叉试验设计方法,第一次给药,T组服用受试制剂(T)由上海A公司生产的柳氮磺吡啶肠溶片,R组服用参比制剂(R)由上海B公司生产的柳氮磺吡啶肠溶片。间隔1周后,交叉服药,T组服用参比制剂(R),R组服用受试制剂(T)。清洗期为1周。<sup>[3]</sup>受试者禁食12h后,次日早晨空腹取空白血后,以200ml温开水送服受试制剂和参比制剂。受试者给药前自上肢肘静脉取空白血约4ml,给药后1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、12.0、15.0、24.0、36.0、48.0和72.0h由上肢肘静脉取含药血约4ml,试验过程共设计15个取样点,总取血量约60ml。血样置肝素化的离心

管中离心5min(4000r/min),分离血浆,置于-20℃保存待测。

受试者于服药后在药物临床试验I期病房观察12h,由内科医师密切监测受试者的生命体征和药物不良反应发生情况。

### 1.4 血药浓度测定方法

**1.4.1 仪器** LC-20A高效液相色谱仪,检测器:SPD-20A(日本Shimadzu公司);Waters 474荧光检测器(Waters公司);电子天平(德国赛多利斯公司);移液器(德国Eppendorf公司);涡旋混合仪(德国IKA公司);TGL-16C台式高速离心机(上海市安亭科技仪器厂);TDL-40B台式低速大容量离心机(上海市安亭科技仪器厂);HGC-36A氮吹仪(上海泉岛科贸有限公司);PCJ-10超纯水机(成都品成科技有限公司)<sup>[4]</sup>。

**1.4.2 色谱条件** SASP、SP检测:仪器:LC-20A(日本Shimadzu公司);检测器:SPD-20A;色谱柱:Dikma Technologies Diamonsil C<sub>8(2)</sub>(250mm×4.6mm,5μm);流动相:A:水(含0.3%的三乙胺、0.3%冰乙酸),B:乙腈。梯度洗脱:0.01~5.50min,B:20%;5.51~11.50min,B:30%;11.51~15.00min,B:20%。柱温:25℃;流速:1ml/min;检测波长:254nm。

5-ASA检测:仪器:LC-20A(日本Shimadzu公司);检测器:Waters 474荧光检测器(Waters公司);色谱柱:Dikma Technologies Diamonsil C<sub>8(2)</sub>(250mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈-磷酸盐缓冲液(pH3)(18:82);柱温:25℃;流速:1.2ml/min;测定波长为Ex:311nm,Em:449nm。

**1.4.3 血浆样品的预处理** 精密量取甲醇50μl置2mlEP管中,于37℃下N<sub>2</sub>吹干,加入室温下融化的受试者血浆200μl,涡旋振荡混合30s,加入内标茶苯海明工作溶液I50μl,涡旋振荡混合30s后,加入蛋白沉淀剂甲醇300μl,涡旋振荡混合5min后,12000r/min离心5min,吸取上清液入进样瓶中,依次放置于自动进样器样品盘中,进样20μl,在上述色谱条件下分离测定,记录SASP、SP峰面积(A<sub>analyte</sub>)与内标峰面积(A<sub>IS</sub>)。

精密量取于室温下融化的受试者血浆1ml,置2mlEP管中,加入甲醇50μl,涡旋混合30s,加入5-ASA内标工作溶液II50μl,涡旋混合30s,加入30%高氯酸100μl,涡旋混合5min,12000r/min离心5min,取出上清液置10mlEP管中,再加入50μl的丙酸酐,涡旋混合30min进行衍生化反应,加入5ml乙醚,涡旋混合5min,3000r/min离心10min,吸取上清液,于37℃下氮气吹干,残渣加入150μl甲醇复溶,涡旋混合1min后12000r/min离心5min,

吸取上清液入进样瓶中,依次放置于自动进样器样品盘中,进样 20  $\mu\text{l}$ ,在上述色谱条件下分离测定,记录 5-ASA 峰面积( $A_{\text{analyte}}$ )与内标峰面积( $A_{\text{IS}}$ )。

**1.4.4 标准溶液配制** 精密称取 SS、SP 各 10 mg,分别加适量 1% 氨水溶液溶解,以甲醇定容于 10 ml 量瓶中,摇匀,即得对照品储备液。再精密吸取 SP 的储备液 5 ml,置 25 ml 容量瓶中,甲醇稀释至刻度,得浓度约为 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 SP 甲醇储备液溶液 I 号。取出浓度为 1 005  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 SS 的对照品储备液、200.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  SP 的对照品储备液溶液 I 号,用甲醇稀释分别得到浓度为 78.55/15.69/70.49/14.08、60.42/12.07、40.28/8.048、20.14/4.024、7.855/1.569、4.028/0.805、2.014/0.402  $\mu\text{g}/\text{ml}$  对照品溶液 SS 与 SP 混合工作溶液;精密称取 5-ASA 10 mg,以甲醇定容于 10 ml 量瓶中,摇匀,即得对照品储备液,取出浓度为 1 011  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 5-ASA 对照品储备液,以甲醇稀释,得到浓度分别为 16.18、12.13、8.088、4.044、2.022、1.011、0.202、0.101  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的 5-ASA 工作溶液。

**1.4.5 标准曲线及最低定量浓度的确定** 分别精密量取 SS、SP、5-ASA 对照品标准曲线工作溶液 50  $\mu\text{l}$  置 2 ml EP 管中,于 37  $^{\circ}\text{C}$  下氮气吹干,加入室温下融化的空白人血浆 200  $\mu\text{l}$ ,照“1.4.3”项下涡旋振荡混合 30 s,加入内标茶苯海明工作溶液 I 50  $\mu\text{l}$ ,进样 20  $\mu\text{l}$  在上述色谱条件下分离测定操作,记录 SS、SP 峰面积( $A_{\text{analyte}}$ )与内标峰面积( $A_{\text{IS}}$ ),分别以 SS、SP 峰面积( $A_{\text{analyte}}$ )与内标峰面积( $A_{\text{IS}}$ )之比 R 对 SS、SP、5-ASA 浓度计算标准曲线。标准曲线方程分别为:R(SS) = 0.462 904C - 0.021 81,  $r(\text{SS}) = 0.999\ 05$  ( $n = 7$ ),线性范围 0.50 ~ 20.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,最低定量浓度 0.50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ;R(SP) = 0.693 881C + 0.036 895,  $r(\text{SP}) = 0.996\ 83$  ( $n = 7$ ),线性范围 0.10 ~ 4.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,最低定量浓度 0.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ;R(5-ASA) = 0.008 485C - 0.007 770,  $r = 0.998\ 50$  ( $n = 7$ ),线性范围 5.06 ~ 808.8 ng/ml,最低定量浓度 5.06 ng/ml。

**1.4.6 回收率和精密度** 分别精密量取低、中、高 3 种不同浓度的 SS、SP、5-ASA 对照品工作溶液 50  $\mu\text{l}$  置 2 ml EP 管中,按标准曲线项下方法操作,记录 SS、SP、5-ASA 峰面积( $A_{\text{analyte}}$ )与内标峰面积( $A_{\text{IS}}$ ),用测得浓度与配制浓度的比值计算回收率。低浓度血浆样品中 SS、SP、5-ASA 的回收率分别为 (102.24  $\pm$  3.00)%、(87.58  $\pm$  3.59)%、(96.85  $\pm$  8.48)%;中浓度血浆样品中 SS、SP、5-ASA 的回收率分别为 (97.40  $\pm$  1.78)%、(101.63  $\pm$  3.46)%、(96.93  $\pm$  3.22)%;高浓度血浆样品中 SS、SP、5-

ASA 的回收率分别为 (102.96  $\pm$  3.96)%、(98.98  $\pm$  3.12)%、(105.33  $\pm$  6.84)%。在 1、2、3 d 分别制备样品并测定,考察该分析方法的日内与日间精密度。测得低、中、高 3 种不同浓度的 SS、SP、5-ASA 日内 RSD 分别为 3.44%、6.14%、8.15%、4.37%、3.50%、3.40%、2.17%、3.07%、6.57% ( $n = 5$ );日间 RSD 分别为 3.63%、9.06%、7.76%、5.05%、4.66%、3.93%、2.72%、4.16%、8.92% ( $n = 5$ )。

**1.5 药动学参数与相对生物利用度计算方法**  $C_{\text{max}}$  和  $t_{\text{max}}$  采用实测值;  $\text{AUC}_{0-24}$  采用梯形面积法计算,  $\text{AUC}_{0-\infty} = \text{AUC}_{0-24} + C_{\text{in}}/\lambda_z$ , 上式中  $t_n$  为最后一次可测浓度的取样时间,  $C_{\text{in}}$  为最后一点的血药浓度,  $\lambda_z$  为末端相消除速率常数,用末端相 4 点的  $\ln C-t$  回归求得。  $t_{1/2} = 0.693/\lambda_z$ ;  $\text{MRT} = \text{AUMC}_{0-\infty} / \text{AUC}_{0-\infty}$  ( $\text{AUMC}$ :时间与血药浓度的乘积-时间曲线下面积);  $\text{CL}/F = \text{剂量} / \text{AUC}_{0-\infty}$  <sup>[5]</sup>。

以柳氮磺吡啶肠溶片为参比制剂(R),受试制剂柳氮磺吡啶肠溶片(T)的相对生物利用度计算公式为:  $F_T = (\text{AUC}_{0-t})_T / (\text{AUC}_{0-t})_R \times 100\%$ 。

**1.6 生物等效性评价方法**  $C_{\text{max}}$  和  $\text{AUC}_{0-24}$  经对数转换后,在三因素方差分析的基础上,用双单侧  $t$  检验和计算 90% 置信区间方法进行生物等效性评价 ( $\alpha = 0.05$ ),要求受试制剂  $C_{\text{max}}$  的 90% 置信区间落在参比制剂 70% ~ 143% 内,受试制剂  $\text{AUC}_{0-24}$  的 90% 置信区间落在参比制剂 80% ~ 125% 内。

## 2 结果

**2.1 血药浓度-时间数据** 24 例健康受试者单剂量口服 500 mg 柳氮磺吡啶肠溶片受试制剂(T)和参比制剂(R)后血浆中药物浓度-时间曲线见图 1。

**2.2 药动学参数** 24 例健康受试者单剂量口服 500 mg 柳氮磺吡啶肠溶片受试制剂(T)和参比制剂(R)后的主要药动学参数见表 1。

**2.3 生物等效性评价** 方差分析结果表明,  $C_{\text{max}}$  和  $\text{AUC}_{0-24}$  在制剂间、周期间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),受试者个体间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。以上海 B 公司的柳氮磺吡啶肠溶片作为参比制剂,受试者服用上海 A 公司的柳氮磺吡啶肠溶片作为受试制剂后,体内 SS 的  $C_{\text{max}}$  的 90% 置信区间为 96.2% ~ 109.8%, SP 的  $C_{\text{max}}$  的 90% 置信区间为 94.2% ~ 116.5%, 5-ASA 的  $C_{\text{max}}$  的 90% 置信区间为 84.9% ~ 99.8%。这不仅符合 SFDA 规定的等效标准,并且符合 FDA 指导原则中的  $C_{\text{max}}$  等效标准,即 80% ~ 125%。SS 的  $\text{AUC}_{0-t}$  的 90% 置信区间为 97.8% ~ 115.1%, SP 的  $\text{AUC}_{0-t}$  的 90% 置信区间为 94.5% ~ 111.0%, 5-ASA 的  $\text{AUC}_{0-t}$  的 90% 置信区间为 85.5% ~ 99.2%, 均落在规定范

围内,表明柳氮磺吡啶肠溶片受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

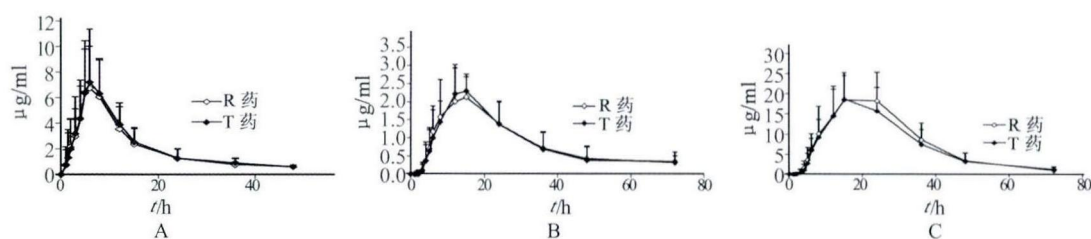


图 1 受试者口服单剂量受试制剂与参比制剂后平均血药浓度-时间曲线图  
A-SS;B-SP;C-5-ASA

表 1 口服单剂量 500 mg 柳氮磺吡啶肠溶片受试制剂 (T) 与参比制剂 (R) 后的主要药动学参数

参数	SS		SP		5-ASA	
	受试制剂	参比制剂	受试制剂	参比制剂	受试制剂	参比制剂
$C_{max}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$8.08 \pm 3.67$	$7.78 \pm 3.43$	$2.54 \pm 0.63$	$2.46 \pm 0.74$	$213.50 \pm 51.38$	$232.83 \pm 57.94$
$t_{max}$ (h)	$6.42 \pm 1.21$	$6.42 \pm 1.32$	$13.5 \pm 3.43$	$13.67 \pm 4.06$	$17.50 \pm 4.82$	$17.58 \pm 5.33$
$K$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$0.10 \pm 0.04$	$0.10 \pm 0.03$	$0.06 \pm 0.02$	$0.06 \pm 0.02$	$0.07 \pm 0.02$	$0.07 \pm 0.02$
$t_{1/2}$ (h)	$7.86 \pm 3.27$	$7.98 \pm 3.14$	$12.62 \pm 5.86$	$13.07 \pm 5.76$	$11.12 \pm 3.33$	$11.19 \pm 2.48$
$AUC_{0-1}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ )	$90.47 \pm 48.04$	$83.63 \pm 42.23$	$56.19 \pm 21.36$	$56.21 \pm 24.39$	$5130.83 \pm 1648.32$	$5590.66 \pm 1784.75$
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ )	$98.86 \pm 50.04$	$92.45 \pm 44.27$	$62.22 \pm 26.11$	$62.89 \pm 30.48$	$5383.72 \pm 1763.21$	$5849.26 \pm 1742.68$
$AUC_{0-1} / AUC_{0-\infty}$ (%)	$90.67 \pm 5.79$	$89.37 \pm 7.13$	$91.14 \pm 5.18$	$90.52 \pm 6.05$	$95.45 \pm 2.54$	$94.95 \pm 3.92$
$MRT_{0-1}$ (h)	$11.50 \pm 2.32$	$10.89 \pm 2.34$	$21.11 \pm 5.36$	$21.37 \pm 5.21$	$23.50 \pm 4.02$	$23.90 \pm 3.87$
$MRT_{0-\infty}$ (h)	$14.40 \pm 4.11$	$13.90 \pm 3.12$	$25.85 \pm 9.24$	$26.34 \pm 8.27$	$25.91 \pm 4.99$	$26.37 \pm 3.84$
$CL_z / F$ (L/h)	$6.43 \pm 3.43$	$6.45 \pm 2.56$	$8.74 \pm 2.12$	$8.99 \pm 2.52$	$102.90 \pm 35.07$	$94.23 \pm 33.47$
$V_z / F$ (L)	$66.36 \pm 32.76$	$71.72 \pm 38.67$	$148.95 \pm 51.29$	$156.17 \pm 52.84$	$1538.91 \pm 394.83$	$1516.02 \pm 647.74$

**2.4 生物等效性评价** 方差分析结果表明,  $C_{max}$  和  $AUC_{0-24}$  在制剂间、周期间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 受试者个体间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。以上海 B 公司的柳氮磺吡啶肠溶片作为参比制剂, 受试者服用上海 A 公司的柳氮磺吡啶肠溶片作为受试制剂后, 体内 SS 的  $C_{max}$  的 90% 置信区间为 96.2% ~ 109.8%, SP 的  $C_{max}$  的 90% 置信区间为 94.2% ~ 116.5%, 5-ASA 的  $C_{max}$  的 90% 置信区间为 84.9% ~ 99.8%, 不仅符合 SFDA 规定的等效标准, 并且符合 FDA 指导原则中的  $C_{max}$  等效标准, 即 80% ~ 125%。SS 的  $AUC_{0-1}$  的 90% 置信区间为 97.8% ~ 115.1%, SP 的  $AUC_{0-1}$  的 90% 置信区间为 94.5% ~ 111.0%, 5-ASA 的  $AUC_{0-1}$  的 90% 置信区间为 85.5% ~ 99.2%, 均落在规定范围内, 表明柳氮磺吡啶肠溶片受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

**2.5 临床观察** 在整个试验过程中未发生严重不良事件。

### 3 讨论

柳氮磺吡啶是目前治疗溃疡性结肠炎的常用药物, 同时也广泛应用于类风湿关节炎的治疗<sup>[6]</sup>。本研究建立了用 HPLC-UV 方法测定受试者给药后血

浆中 SS 和 SP 的浓度, 用 HPLC-FLU 检测方法测定受试者给药后血浆中 5-ASA 的浓度。该方法样品处理精准、专属性强、灵敏度高, 适合于多种药物的血药浓度测定, 并在国内首次对口服柳氮磺吡啶肠溶片后, 人体内 3 种主要产物 SS、SP 和 5-ASA 的血药浓度都进行了检测。

以  $AUC_{0-1}$  计算, 受试制剂 SECT 中 SS 相对生物利用度为  $(108.8 \pm 24.1)\%$ ; SP 相对生物利用度为  $(105.0 \pm 25.0)\%$ ; 5-ASA 相对生物利用度为  $(94.1 \pm 22.0)\%$ 。以  $AUC_{0-\infty}$  计算, 受试制剂 SECT 中 SS 相对生物利用度为  $(106.9 \pm 23.4)\%$ ; SP 相对生物利用度为  $(104.1 \pm 25.0)\%$ ; 5-ASA 相对生物利用度为  $(93.6 \pm 22.2)\%$ 。整个试验过程顺利, 试验期间未见不良反应发生。上海 A 公司生产的受试制剂 SECT 与上海 B 公司生产的参比制剂 SECT 在健康中国人体内具有生物等效性。

### 【参考文献】

- [1] CDER/FDA. Guidance for Industry, Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations, March 2003. [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance Compliance Regulatory Information/Guidances/UCM070124.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance%20Compliance/Regulatory%20Information/Guidances/UCM070124.pdf). (下转第 466 页)

鼠。取筛选合格的小鼠,分组及给药剂量同“3.1”项,给药方法同“2.1”项。末次给药后分别测定小鼠30、60、90、120 min时小鼠的痛阈值。结果显

示,退烧颗粒能够增加小鼠对疼痛的耐受性,显著延长小鼠热刺激所致疼痛反应的痛阈值( $P < 0.05$ ),见表4。

表4 退烧颗粒对小鼠热板致痛反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	剂量 (g/kg)	基础痛阈值 (t/s)	给药后不同时间痛阈值(t/s)			
			30 min	60 min	90 min	120 min
空白对照组	—	15.3 ± 2.15	15.7 ± 2.45	15.8 ± 2.18	15.4 ± 3.11	15.5 ± 3.21
阳性对照组	0.005	14.8 ± 2.33	27.4 ± 2.15 <sup>2)</sup>	32.3 ± 2.58 <sup>2)</sup>	31.6 ± 2.69 <sup>2)</sup>	28.7 ± 2.30 <sup>2)</sup>
低剂量组	2.57	15.5 ± 2.17	18.3 ± 2.20 <sup>1)</sup>	20.7 ± 2.57 <sup>1)</sup>	20.2 ± 2.29 <sup>1)</sup>	18.5 ± 2.43 <sup>1)</sup>
中剂量组	5.14	14.8 ± 2.31	19.5 ± 1.78 <sup>1)</sup>	22.8 ± 2.37 <sup>1)</sup>	23.4 ± 2.07 <sup>1)</sup>	20.3 ± 2.39 <sup>1)</sup>
高剂量组	10.28	14.1 ± 1.87	23.8 ± 2.34 <sup>2)</sup>	27.1 ± 1.74 <sup>1)</sup>	28.3 ± 2.21 <sup>1)</sup>	25.7 ± 2.28 <sup>1)</sup>

注:<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,与空白对照组比较。

#### 4 讨论

感冒是因外邪入侵而引起的临床常见病,症状多表现为由病毒引起的急性呼吸道传染性疾病,如发热、头痛、咳嗽、鼻塞、咽喉肿痛等不适感。退烧颗粒是临床验方,方中石膏、知母清热泻火,生津润燥,除烦止渴共为君药;金银花、柴胡、连翘、黄芩等祛风解表,解毒清热,柴胡与黄芩配伍疏散少阳半表半里之邪,配以板蓝根、大青叶、玄参等清热凉血、解毒利咽、消肿散结,共为臣药;佐以白术健脾益气,防止苦寒之药伤及脾胃,配以防风固表御邪,诸药合用具有清热解表、泻火生津、除烦止渴、解毒利咽、散结消肿之功效<sup>[7,8]</sup>。现代药理研究表明,方中诸药具有抗菌、抗病毒、解热、抗炎、镇痛、增强免疫细胞吞噬功能等作用。

本研究通过应用炎症以及疼痛动物模型对退烧颗粒抗炎、镇痛作用进行实验研究,结果表明退烧颗粒能够显著抑制二甲苯和蛋清刺激产生的由于毛细血管扩张、通透性增强、渗出增加而引起肿胀等早期炎症反应,同时能够显著减少冰醋酸刺激导致的扭体次数,明显增加热刺激致痛的痛阈值。研究表明退烧颗粒具有显著抗炎镇痛作用,可应用于感冒引起的发烧头痛、咽喉肿痛、全身酸痛不适等症状<sup>[9]</sup>。退烧颗粒对两种模型的抗炎效果与阳性对照药物比较有差异,可能原因有两点:两种模型方法不同,二

甲苯致炎是外部化学刺激引起,而鸡蛋清致炎是引起局部组胺、5-HT等炎症介质释放导致;另外,选择的实验动物对药物的反应也存在一定的差异。故退烧颗粒抗炎作用的具体药理学作用机制有待进一步深入研究。

#### 【参考文献】

- [1] 韦晨,方伟蓉,龚晓健,等. 辛清感冒颗粒治疗风热感冒的药效学研究[J]. 中中药学,2012,10(1):39.
- [2] 张晓霞,徐东宁,刘克琴. 抗感清热胶囊治疗风热感冒的临床研究[J]. 河北中医,2006,28(4):251.
- [3] 陈萍,王爱武,王福文. 川溃宁颗粒对小鼠的抗炎和镇痛作用[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(1):26.
- [4] 熊敏,张荫杰,徐世军,等. 感毒清颗粒抗炎镇痛作用研究[J]. 中药药理与临床,2012,28(3):89.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,2006:353.
- [6] 周幼帆,覃富景,冯洁,等. 两面针根挥发油的抗炎镇痛作用研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(1):19.
- [7] 彭欣,张少华. 中药方剂学[M]. 济南:山东科学技术出版社,2005:44,59,67,69,77,110,348.
- [8] 陈名贵,朱宜明,周建忠. 解表清热汤治疗风热感冒100例初探[J]. 中国实用医药,2008,3(7):71.
- [9] 刘千通. 感冒茶治疗风热感冒临床观察[J]. 中国现代药物应用,2010,4(14):8.

[收稿日期]2012-11-12

[修回日期]2013-04-08

(上接第427页)

- [2] FDA. Draft Guidance on Sulfasalazine, Feb 2010. [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance Compliance Regulatory Information/Guidances/UCM199673.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance%20Compliance%20Regulatory%20Information/Guidances/UCM199673.pdf).
- [3] 李金恒,刘存刚,姚旋,等. HPLC梯度洗脱法测定血浆中柳氮磺吡啶及其代谢物[J]. 医学研究生学报,2008,7(21):682.
- [4] 白小红,胡爽,李进霞,等. 高效液相色谱法测定人血浆中柳氮磺胺吡啶及其代谢物[J]. 中国医院药学杂志,2004,24(4):208.

- [5] Ma JJ, Liu CG, Li JH, et al. Effects of NAT2 polymorphism on SASP pharmacokinetics in Chinese population [J]. Clin Chem Acta, 2009, 407: 30.
- [6] Gu GZ, Xia HM, Pang ZQ, et al. Determination of sulphasalazine and its main metabolite sulphapyridine and 5-aminosalicylic acid in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatog B, 2011, 879: 449.

[收稿日期]2013-03-25

[修回日期]2013-05-15