

中,与发热关系密切的是 COX - 2。文中研究显示, YHCE 能明显抑制发热大鼠的体温上升,抑制下丘脑中 COX - 2 蛋白的表达,而对下丘脑中 COX - 1 蛋白的表达无明显影响。作者以前的研究发现, YHCE 在发挥解热作用的同时,能抑制发热大鼠下丘脑中 COX - 2 的 mRNA 表达,但对下丘脑中 COX - 1 的 mRNA 表达也无明显影响。提示 YHCE 的解热作用机制之一很可能与其在调节基因和蛋白水平的同时抑制发热大鼠下丘脑中 COX - 2 的表达有关。

参考文献:

[1] 刘华钢, 吴文华, 石琳. 银黄微型灌肠剂稳定性的研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(6): 351- 352
[2] 张兆旺. 中药药剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.

331.
[3] 刘华钢, 阳洁, 杨斌, 等. 复方银黄微型灌肠剂对发热大鼠下丘脑中 COX - 1、COX - 2 mRNA 表达的影响 [J]. 华西药学期刊, 2007, 22(1): 14- 16
[4] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 302
[5] Samson WK, Taylor MM, Follwell M, et al. Oxytocin actions in hypothalamic paraventricular nucleus: physiological consequences and cellular correlates [J]. Regul Pept 2002; 2104(1-3): 97
[6] Sinicropie FA, Ruan SB, Cleary KR, et al. Bcl-2 and p53 oncoproteins expression during colorectal tumorigenesis [J]. Cancer Res 1995; 55(2): 237- 241.
[7] 周军, 李沧海, 霍海如, 等. 发热大鼠下丘脑组织中蛋白质组双向电泳图谱初步分析 [J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(8): 1492- 1494

收稿日期: 2007- 05

鞣酸苦参碱分散片在人体内的生物等效性

贾毅敏, 李铜铃*, 吴临松, 李 夏

(四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

摘要: 目的 研究鞣酸苦参碱分散片与普通片的人体生物等效性。方法 采用双制剂双周期自身交叉对照的方法, 将 22 名健康男性受试者随机分为两组, 单剂量分别口服 600 mg 受试制剂鞣酸苦参碱分散片和参比制剂鞣酸苦参碱片。血浆中苦参碱浓度用 HPLC 法测定, 计算药物动力学参数, 并进行生物等效性评价。结果 受试制剂和参比制剂苦参碱的 C_{max} 分别为 1.382 ± 0.28 , $1.371 \pm 0.214 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; t_{max} 分别为 2.5 ± 0.35 , $2.43 \pm 0.78 \text{ h}$; AUC_{0-14} 分别为 8.806 ± 2.454 , $8.568 \pm 1.897 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; $AUC_{0-\infty}$ 分别为 11.106 ± 2.582 , $11.090 \pm 2.866 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; 半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 4.30 ± 1.57 , $4.22 \pm 1.64 \text{ h}$ 。按苦参碱药-时曲线下 $0 \rightarrow T_n$ 的面积计算, 相对生物利用度为 $102.8\% \pm 17.1\%$ 。结论 口服鞣酸苦参碱受试制剂与参比制剂比较, AUC 、 C_{max} 符合生物等效性要求, T_{max} 比较差异无统计学意义, 受试制剂和参比制剂生物等效。

关键词: 鞣酸苦参碱分散片; 苦参碱; 高效液相色谱; 生物等效性

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2008)03- 0303- 03

Relative bioavailability of Alkaloidi sophorae tannate dispersible tablets in healthy volunteers

JIA Yi-min, LI Tong-ling*, GUO Lin-song, LI Xia

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract **OBJECTIVE** To study the relative bioavailability of Alkaloidi sophorae tannate dispersible tablets in healthy volunteers. **METHODS** According to a paired and cross-over design 22 healthy male volunteers were randomized into two groups and oral administered with Alkaloidi sophorae tannate dispersible tablets or reference preparation at alkaloidi sophorae equivalent dose of 600 mg. The plasma concentration of matrine was determined by HPLC with UV detection. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 statistical program and the bioequivalence of the two preparations was evaluated. **RESULTS** For the test and reference preparation C_{max} were 1.382 ± 0.280 and $1.371 \pm 0.214 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, T_{max} were 2.5 ± 0.35 and $2.43 \pm 0.78 \text{ h}$, AUC_{0-14} were 8.806 ± 2.454 and $8.568 \pm 1.897 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ were 11.106 ± 2.582 and $11.090 \pm 2.866 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t_{1/2}$ were 4.30 ± 1.57 and $4.22 \pm 1.64 \text{ h}$, respectively. The relative bioavailability of the test preparation was $102.8\% \pm 17.1\%$. **CONCLUSION** The Alkaloidi sophorae tannate dispersible tablets were bioequivalent to the reference preparation.

Key words Alkaloidi sophorae tannate dispersible tablets; Matrine; HPLC; Bioequivalence

CLC number R917

Document code A

Article ID: 1006- 0103(2008)03- 0303- 03

作者简介: 贾毅敏, 女, 正攻读药剂学专业的硕士学位。

* 通讯作者 (Correspondent author)

鞣酸苦参碱 (alkaloidi sophorae tannate, AST) 是从豆科植物苦参的根及根茎中提取的总生物碱,是与从五倍子中提取的鞣质一起经反应制得的一种有机鞣酸弱碱盐。口服后,鞣酸苦参碱在胃酸下条件溶解,游离出苦参总生物碱和鞣质而共同发挥药理活性。二者于胃肠道共同发挥抗炎作用而治疗菌痢、肠炎和腹泻^[1]。现以鞣酸苦参碱片为参比制剂,对鞣酸苦参碱分散片进行了人体生物等效性的评价。

1 实验部分

1.1 试药与仪器

受试制剂鞣酸苦参碱分散片(贵州世禧制药有限公司,批号:060702,每片10mg);参比制剂鞣酸苦参碱片(贵州世禧制药有限公司,批号:060701,每片10mg);苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110805-200306);尼扎替丁(内标);乙腈、二氯甲烷为色谱纯,其余试剂为分析纯。LC-10A液相色谱仪(日本岛津)。

1.2 受试者的选择

纳入实验的22例健康男性志愿者,年龄18~26岁,体重指数20~24(经四川大学华西医学中心伦理委员会批准)。受试者经血象、心电图、肝肾功能检查均正常,无过敏史、无体位性低血压史。不嗜烟、酒,试验前30d未参加过其他药物的试验,自愿签署知情同意书。

1.3 给药方案与样品采集

采用随机分组、自身对照交叉实验的方法进行实验。将22例受试者随机均分为实验组和对照(参比片)组。试验前禁食12h,当日早晨空腹服药,两组分别服用600mg受试制剂和参比制剂,用250ml温开水送服。服药2h后可自由饮水,3.5h分别进食低脂统一早餐、午餐。给药前,采集50ml

受试者的静脉血,给药后于0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、5.5、7、9、11、14h由肘静脉取50ml血,肝素抗凝,离心分离血浆,置-20℃保存,备测。间隔7d两组交叉服药,相同时间点肘静脉取血。

1.4 数据处理及统计分析

用DAS 2.0药动学统计软件处理经时血药浓度数据,用统计矩法计算AUC,由药-时曲线数据直接读出 C_{max} 、 T_{max} ;相对生物利用度计算公式为 $F = AUC_{受试片} / AUC_{参比片}$ 。AUC、 C_{max} 经对数转换后,进行方差分析,双单侧t检验及(1-2 α)置信区间分析;对 T_{max} 进行秩和检验,作出生物等效性评价。

1.5 方法

1.5.1 色谱条件 色谱柱为Hypersil BDS C₁₈(200mm×4.6mm,5 μ m);流动相为0.02mol·m⁻¹KP₂PO₄溶液(含0.4%三乙胺,磷酸调pH6.5)-乙腈(88:12);检测波长为220nm;流速为1.0ml·min⁻¹;柱温40℃;进样20 μ l。

1.5.2 溶液的配制 精密称取苦参碱对照品适量,用流动相溶解并制成720.8 μ g·m⁻¹的对照品工作液,备用。精密称取内标适量,用流动相溶解并制成132.0 μ g·m⁻¹的内标工作溶液。

1.5.3 血浆样品的处理和测定 取20ml室温下融化的血浆,加入20 μ l内标溶液,振荡混合,加入0.5ml20%NaOH溶液,混匀,加入4.0ml二氯甲烷,漩涡提取5min,3×10³r·min⁻¹离心30min,分取有机层于氮气下挥干,残渣用100 μ l流动相溶解后进样20 μ l。记录苦参碱峰面积($A_{样品}$)和内标峰面积($A_{内标}$),按内标法用标准曲线计算,即得血浆中苦参碱的浓度。

1.5.4 专属性考察 在“1.5.1”项条件下,测得空白血浆、苦参碱对照品、内标、空白血浆加苦参碱对照品和内标以及含药血浆样品的色谱图(图1)。空白血浆中,内源性物质不干扰样品的测定。

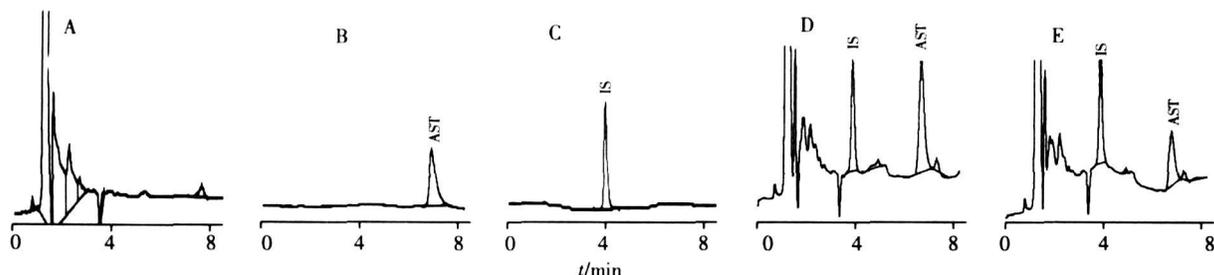


图 1 空白血浆(A)、对照品(B)、内标(C)、空白血浆+对照品+内标(D)和血浆样品(E)溶液的HPLC图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of blank plasma solution(A), control solution(B), internal standard solution(C), blank plasma with alkaloidi sophorae tannate standard material and internal standard solution(D) and plasma sample solution(E)

1.5.5 标准曲线的制备 取“1.5.2”项的对照品 溶液用流动相按倍数法稀释,制得720.72、360.36

180.18 90.09 45.05 22.52 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的供试溶液; 分取 10 μL 此溶液于试管中, 氮气挥干, 加入 2.0 mL 空白血浆后混匀。照“1.5.3”项的方法测定。以 $A_{\text{样品}}/A_{\text{内标}}$ 为纵坐标, 血浆中苦参碱浓度为横坐标, 计算得线性回归方程为: $Y = 1.464 \times 10^{-3} + 4.620 \times 10^{-4}X$ ($r = 0.9998$); 苦参碱 0.113~3.604 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积之间有良好的线性关系。

1.5.6 方法的准确度、精密度及提取回收率 制备 0.213、0.851、2.724 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低、中、高浓度的苦参碱对照血浆样品作为质控样品, 照“1.5.3”项方法平行制备 5 份作为分析批。以当日的标准曲线计算样品的测得浓度, 与配制浓度比较, 求方法的相对回收率和批内精密度。于不同日制备样品, 并测定 3 批, 求得批间精密度。另取与 0.213、0.851、2.724 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 苦参碱血浆浓度相对应的对照品溶液各 10 μL , 氮气挥干, 残渣用 100 μL 流动相溶解, 进样, 记录峰面积, 考察提取回收率 (表 1)。

表 1 方法的精密度、相对回收率及提取回收率 ($n = 15$)

Table 1 Results of precision relative recovery and extraction of alkaloid sophorae tannate in human plasma ($n = 15$)

$C/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Relative recovery/%	Extraction recovery/%	Intra-assay RSD/%	Inter-assay RSD/%
0.213	94.96 ± 10.54	75.75 ± 0.35	11.17	10.92
0.851	105.09 ± 5.60	81.15 ± 5.02	5.33	6.11
2.724	96.58 ± 5.64	76.15 ± 1.48	5.84	4.78

1.5.7 稳定性考察 制备 3 组苦参碱血浆样品, 每组包括 0.341、0.681、1.703 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低、中、高浓度。第 1 组样品在室温条件下放置 6 h 立即测定; 第 2 组样品在 1 日内反复冻融 3 次后测定; 第 3 组样品经 -20℃ 放置 30 d 测定。结果表明, 苦参碱血浆样品在上述条件下稳定性较好。

1.6 结果

1.6.1 血药浓度的测定 受试者口服两种鞣酸苦参碱片剂后, 按设计时间点采血, 其药-时曲线无差异。

1.6.2 药动学参数与相对生物利用度 药动学参数与相对生物利用度的结果见表 2。

1.6.3 生物等效性分析 将主要药动学参数经对数转换后进行方差分析, 结果无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 单次口服鞣酸苦参碱片后的药物动力学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of Alkaloid sophorae tannate after single oral dose

Parameters	Test tablet	Reference tablet
$C_{\text{max}}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.382 ± 2.800	1.371 ± 0.214
$AUC_{0-T_n}/\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	8.806 ± 2.454	8.568 ± 1.897
$AUC_{0-\infty}/\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	11.106 ± 2.582	11.090 ± 2.866
T_{max}/h	2.50 ± 0.35	2.43 ± 0.78
$t_{1/2}/\text{h}$	4.30 ± 1.57	4.22 ± 1.64
$F/\%$		102.83 ± 17.06

进一步对 AUC_{0-14} 和 C_{max} 采用双单侧 t 检验和 $(1-2\alpha)$ 置信区间法进行生物等效性评价。受试制剂 AUC_{0-14} 90% 置信区间为参比制剂相应参数的 96.1% ~ 107.4%, 落在 80% ~ 125% 的等效范围内; C_{max} 90% 置信区间为参比制剂相应参数的 94.8% ~ 105.5%, 落在 70% ~ 143% 的等效范围内。对 T_{max} 进行秩和检验, 得出受试制剂和参比制剂比较差异无统计学意义。统计结果表明两种制剂生物等效。

2 讨论

苦参碱呈弱碱性。文献^[2]采用加入强碱预处理血浆样品, 用乙醚提取。文中实验加 20% NaOH 使苦参碱呈游离状态, 用二氯甲烷作提取剂, 提取回收率、准确度和精密度均达到了分析的要求。在流动相中加入三乙胺作改性剂, 改善了苦参碱的峰形。流动相的 pH 对血浆样品中苦参碱的色谱行为影响较大, 因此, 将流动相中缓冲水相调成 pH 6.5, 苦参碱与内标尼扎替丁均能准确定量; 同时内源杂质不干扰样品含量的测定。结果显示, 单次口服鞣酸苦参碱后, 受试制剂的相对生物利用度为 102.8% ± 17.1%, 经生物等效性分析, 鞣酸苦参碱分散片和普通片具有生物等效性。

参考文献:

[1] 詹俊, 袁世珍. 鞣酸苦参碱片在急性腹泻病中的应用 [J]. 实用医学杂志, 1994, 10(9): 874
 [2] 李晏, 曹尉尉, 杨延莉, 等. 苦参碱缓释片、胶囊、注射液的药代动力学及生物利用度比较研究 [J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(6): 681-683

收稿日期: 2007-10