

艾司奥美拉唑对柳氮磺吡啶在大鼠体内药动学行为的影响

贾茹^{1,2*}, 魏世杰^{1,3}, 张文萍^{1,3}, 买淑霞¹, 蒋韶斐⁴, 党宏万^{1,3#} (1. 宁夏医科大学总医院药剂科, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 3. 宁夏医科大学总医院临床药理研究室, 银川 750004; 4. 青岛胶州中心医院药剂科, 山东青岛 266300)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)13-1596-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.13.10

摘要 目的: 建立测定大鼠血浆中柳氮磺吡啶(SSZ)代谢产物磺胺吡啶(SP)浓度的方法, 并探讨艾司奥美拉唑(ESOM)对SSZ在大鼠体内药动学行为的影响。方法: 将雄性SD大鼠随机分为SSZ组和SSZ+ESOM组, 每组6只。SSZ+ESOM组大鼠连续灌胃艾司奥美拉唑肠溶片[90 mg/(kg·d)]14天; 第15天时, 两组大鼠单次灌胃柳氮磺吡啶肠溶片(90 mg/kg), 并在给药后0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、24、36、48、72 h时于其眼内眦取血。血浆经甲醇沉淀蛋白后, 以地西洋为内标, 以Agilent XDR-C₁₈为色谱柱, 以甲醇-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱)为流动相, 采用液相色谱-串联质谱法检测血浆中SSZ代谢产物SP的浓度; 采用DAS 3.0.1软件计算药动学参数并进行组间比较。结果: SP检测质量浓度的线性范围为2~1 000 ng/mL, 方法学考察结果符合《中国药典》相应要求。SSZ+ESOM组和SSZ组大鼠体内SP的AUC_{0-t}、t_{max}、t_{1/2z}、C_{max}、MRT_{0-t}等药动学参数比较, 差异均无统计学意义(P>0.05)。结论: 所建方法简便、快速、灵敏度高, 可用于血浆中SSZ代谢产物SP浓度的检测; ESOM对SSZ在大鼠体内的药动学行为无明显影响。

关键词 柳氮磺吡啶; 磺胺吡啶; 艾司奥美拉唑; 液相色谱-串联质谱法; 药动学行为

Effects of Esomeprazole on Pharmacokinetic Behavior of Sulfasalazine in Rats

JIA Ru^{1,2}, WEI Shijie^{1,3}, ZHANG Wenping^{1,3}, MAI Shuxia¹, JIANG Shaofei⁴, DANG Hongwan^{1,3} (1. Dept. of Pharmacy, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Institute of Clinical Pharmacology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 4. Dept. of Pharmacy, Qingdao Jiaozhou Central Hospital, Shandong Qingdao 266300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for determining the plasma concentration of sulfasalazine (SSZ) metabolite sulfapyridine (SP) in rats, and to investigate the effects of esomeprazole (ESOM) on the pharmacokinetic behavior of SSZ in rats. METHODS: Male SD rats were randomly divided into SSZ group and SSZ+ESOM group, with 6 rats in each group. SSZ+ESOM group were given Esomeprazole enteric-coated tablets [90 mg/(kg·d)] intragastrically for 14 days. On the 15th day, the rats in 2 groups were given Sulfasalazine enteric coated tablets (90 mg/kg) intragastrically, and blood sample was collected from the inner canthus at 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 h after administration. After protein precipitation with methanol, using diazepam as internal standard, Agilent XDR-C₁₈ column was adopted with methanol-0.1% formic acid solution (gradient elution) as mobile phase. The concentration of SSZ metabolite SP in plasma was determined by LC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were calculated by using DAS 3.0.1 software and compared between 2 groups. RESULTS: The linear range of SP were 2-1 000 ng/mL. The methodology met the requirements of *Chinese Pharmacopeia*. There was no statistical significance in pharmacokinetic parameters of SP between 2 groups, such as AUC_{0-t}, t_{max}, t_{1/2z}, C_{max}, MRT_{0-t} (P>0.05). CONCLUSIONS: The established method is simple, rapid and sensitive; it can be used for the concentration determination of SSZ metabolite SP in plasma. ESOM has no significant effect on the pharmacokinetic behavior of SSZ in rats.

KEYWORDS Sulfasalazine; Sulfapyridine; Esomeprazole; LC-MS/MS; Pharmacokinetic behavior

* 主管药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药学。电话: 0951-6746803。E-mail: ifjia@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 临床药理学、药动学。电话: 0951-6743649。E-mail: dhw-beining@163.com

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)因高效的抑酸作用而被广泛用于胃肠道疾病的临床治疗。目前, PPIs除用于治疗胃食管反流病、胃十二指肠溃疡和幽门螺杆菌感染等疾病外, 还被用于预防由非甾体抗炎

药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)引发的胃溃疡疾病^[1]。类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种全身性自身免疫疾病,其特征为多关节的慢性炎症、骨侵蚀和软骨破坏^[2]。柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SSZ)是传统的合成类抗风湿药物,是治疗RA的基石药物,临床通常在使用SSZ的基础上根据患者的病情联合使用NSAIDs^[3]。近年来,国外研究表明,SSZ联合PPIs代表药物艾司奥美拉唑(esomeprazole, ESOM)可协同抑制黑色素瘤和肉瘤细胞的生长和迁移;针对某些难治性肿瘤,二者联用也显示出一定的临床价值^[4]。此外,最新的研究结果证实,ESOM和SSZ可作为孕产妇子痫早期的备选治疗药物,两者联合使用后可降低可溶性血管内皮生长因子受体的分泌和内皮功能障碍标志物的水平,从而达到有效防治先兆子痫的目的^[5]。

有研究指出,SSZ需在肠道细菌产生的偶氮还原酶参与下释放出发挥药效的磺胺吡啶(sulfapyridine, SP)和5-氨基水杨酸(5-aminosalicylic, 5-ASA)^[6]。其中,约90%的SP在大肠被吸收,而仅有20%~30%的5-ASA被吸收,未被吸收的部分则经大便排出^[7]。同时,该药的不良反应发生率为71%,其中2/3涉及胃肠道和中枢神经系统,主要表现为恶心、呕吐、厌食、消化不良、腹痛、头痛、眩晕等,约20%~30%的患者因此而停药^[7-8]。SP是SSZ治疗RA的有效成分,且与服用SSZ后产生的不良反应密切相关^[9-11]。有学者研究认为,当临床以SSZ治疗溃疡性结肠炎且患者体内SP血药浓度达20~50 μg/mL时,疗效较好、不良反应较少;而当血药浓度超过50 μg/mL时,则易引发不良反应^[7]。有研究发现,PPIs可导致肠道细菌过度生长^[12-14]。那么,吸收、代谢过程受肠道菌群影响的SSZ与促进肠道细菌生长的PPIs联用时,前者的药动学行为是否会受后者的影响是值得探究的问题。基于此,本文拟建立测定大鼠血浆中SSZ代谢产物SP浓度的液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS),通过分别测定联用ESOM和未联用ESOM大鼠体内SP的血药浓度,计算并比较两者的药动学参数,以进一步明确ESOM是否会对SSZ的药动学过程产生影响,为提高SSZ的临床疗效及安全性提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-30A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司),API4000型串联四极杆质谱仪及配备的电喷雾离子源、Analyst 1.5.1分析操作软件(美国Applied Biosystems公司),Centrifuge 5804R型台式低温离心机(德国Eppendorf公司),VORTEX-GENIE2型涡旋混合器(美国Scientific Industries公司),Mettler型十万分之一电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)等。

1.2 主要药品和试剂

柳氮磺吡啶肠溶片(批号09190504,规格0.25 g)购自上海信谊天平药业有限公司;艾司奥美拉唑镁肠溶片[批号1908009,规格40 mg(按C₁₇H₁₉N₃O₃S计算)]购自阿斯利康制药有限公司;0.9%氯化钠注射液(批号A20040402B,规格250 mL:2.25 g)购自四川科伦药业有限公司;SP对照品(批号B24271,纯度≥98%)购自上海源叶生物科技有限公司;地西洋对照品(内标,批号171225-101304,纯度≥99.9%)购自中国食品药品检定研究院;甲酸、甲醇均为色谱纯,水为纯净水。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD大鼠,雄性,共12只,体质量250~310 g,由宁夏医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号为SCXK(宁)2015-0001。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

精密称取SP对照品10 mg,置于10 mL棕色量瓶中,用50%甲醇溶解并定容,制成质量浓度为1 mg/mL的对照品贮备液。精密称取内标地西洋对照品10 mg,置于10 mL棕色量瓶中,用50%甲醇溶解并定容,制成质量浓度为1 mg/mL的内标母液;用50%甲醇进一步将上述内标母液稀释至200 ng/mL,即得内标溶液。以上所有溶液均于4℃下保存。临用前,SP对照品贮备液需用50%甲醇稀释成所需质量浓度的标准溶液。

2.2 药液的配制

2.2.1 ESOM药液 精密称取研细的艾司奥美拉唑肠溶片粉末适量,用0.9%氯化钠注射液溶解,配制成质量浓度为15 mg/mL的ESOM药液,备用。

2.2.2 SSZ药液 精密称取研细的柳氮磺吡啶肠溶片粉末适量,用0.9%氯化钠注射液溶解,配制成质量浓度为30 mg/mL的SSZ药液,备用。

2.3 血浆样品的处理

取大鼠血浆样品50 μL,置于1.5 mL离心管中,加入50%甲醇50 μL,涡旋2 min,然后加入内标溶液(200 ng/mL)50 μL和甲醇200 μL,涡旋5 min;于4℃下以14 000 r/min离心10 min,取上清液100 μL,加水100 μL,涡旋2 min;于4℃下以14 000 r/min离心2 min,取上清液,进行LC-MS/MS分析。

2.4 色谱与质谱条件

2.4.1 色谱条件 以Agilent XDR-C₁₈(2.18 mm×100 mm, 1.8 μm)为色谱柱,以Shim-pack GVP-ODS(2.0 mm×5 mm, 2.2 μm)为保护柱;以甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~0.8 min, 60%B; 0.8~1.8 min, 60%B→20%B; 1.8~4 min, 20%B; 4~4.2 min, 20%B→60%B; 4.2~5 min, 60%B);流速为0.30 mL/min;

柱温为 40 ℃;进样量为 10 μL。

2.4.2 质谱条件 以电喷雾离子源为离子源,离子喷射电压为 4.5 kV,离子源温度为 600 ℃;雾化气流速为 45 L/h,辅助加热气流速为 45 L/h;气帘气(N₂)压力为 14 psi,碰撞气压力为 7 psi。以多反应监测(MRM)模式进行正离子扫描,用于定量分析的离子对分别为 m/z 250.1→156.0(SP)、 m/z 285.3→193.1(内标),碰撞能量分别为 25、43 eV,扫描时间为 200 ms。SP 和内标的二级质谱图见图 1。

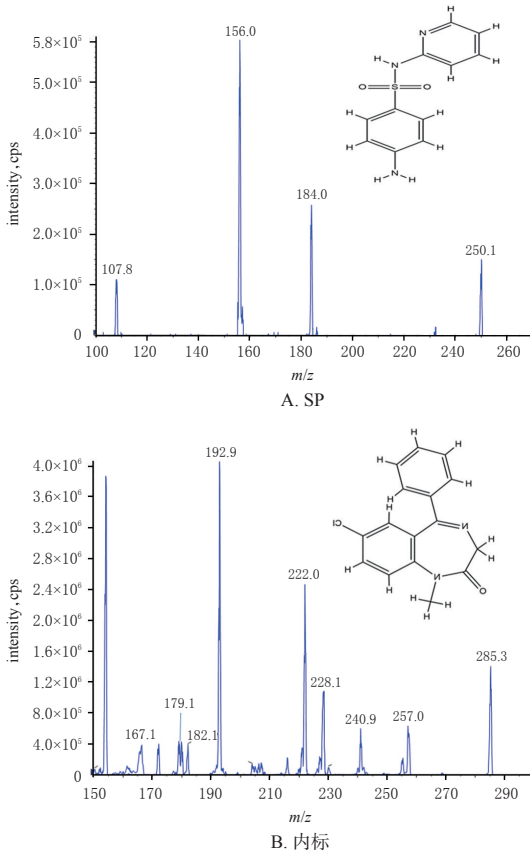
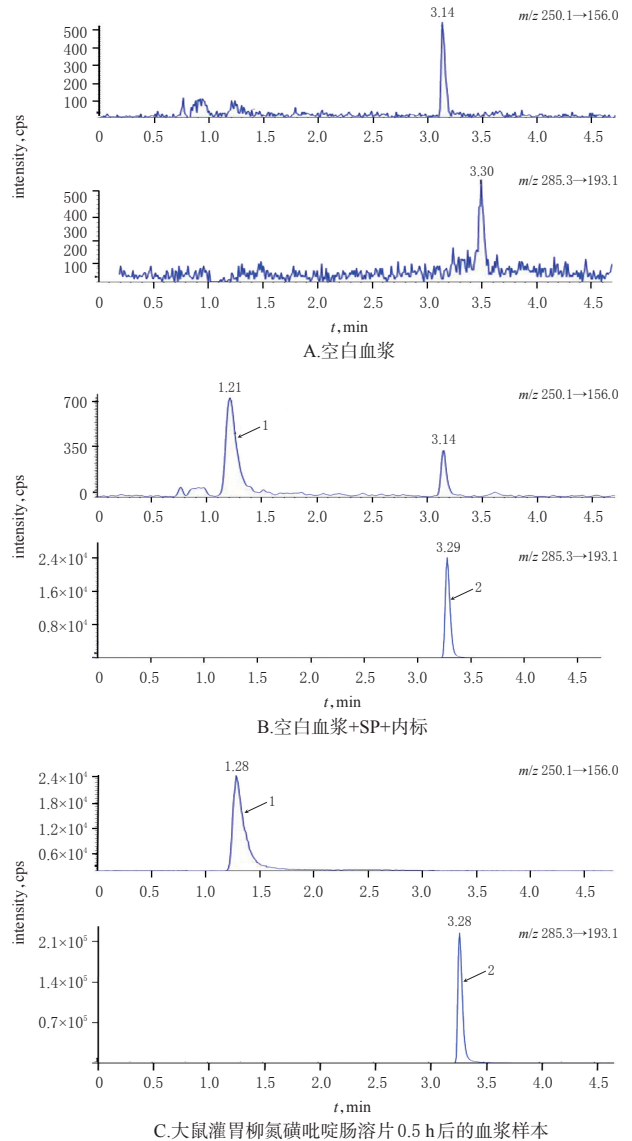


图 1 SP 和内标的结构式及二级质谱信息

Fig 1 Structure and MS/MS spectrum of SP and internal standard

2.5 专属性考察

分别取不同来源的空白血浆 50 μL,用等体积的 50% 甲醇代替内标溶液,其余按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,得空白血浆色谱图(图 2A);将质量浓度为 2 ng/mL 的 SP 标准溶液加入空白血浆中,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,得到空白血浆+SP+内标色谱图(图 2B);取单只大鼠灌胃柳氮磺吡啶肠溶片 0.5 h 后采集的血浆样品,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,得到大鼠血浆样品色谱图(图 2C)。由图 2 可见,SP 和内标的保留时间约分别为 1.2、3.3 min,内源性杂质不干扰待测成分的检测。



注:1. SP;2.内标

Note:1. SP; 2. internal standard

图 2 大鼠血浆中 SP 和内标的典型 MRM 色谱图

Fig 2 Typical MRM chromatograms of SP and internal standard in rat plasma

2.6 标准曲线的绘制和定量下限的考察

以 50% 甲醇为溶剂,按“2.1”项下方法配制 7 个不同质量浓度的 SP 标准溶液;分别移取各标准溶液 50 μL 至 1.5 mL 离心管中,加入空白血浆 50 μL,依次配制成 SP 质量浓度分别为 2、5、20、100、500、800、1 000 ng/mL 的系列标准血浆样品,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录峰面积。以 SP 质量浓度(x)为横坐标、SP 峰面积与内标峰面积的比值(y)为纵坐标,应用加权最小二乘法($w=1/x^2$)进行线性回归,得回归方程为 $y=0.002\ 97x+0.002\ 02$ ($r=0.998\ 7$)。这表明 SP 检测质量浓度的线性范围为 2~1 000 ng/mL,定量下限为 2 ng/mL。

以50%甲醇为溶剂,按“2.1”项下方法配制相应质量浓度的SP标准溶液;精密移取该标准溶液50 μL至1.5 mL离心管中,加入空白血浆50 μL,配制成SP质量浓度为2 ng/mL的定量下限血浆样品,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录峰面积。每个分析批平行操作6个样品、连续操作3个分析批,分别根据同批随行标准曲线计算SP的实测质量浓度,并考察批内、批间精密度[以相对标准偏差(RSD)表示,下同]和准确度[以相对误差(RE)表示,下同],结果见表1。由表1可见,定量下限血浆样品的批内、批间RSD均不超过10%,与理论质量浓度的RE均在±5%之内,符合2020年版《中国药典》(四部)“生物样品定量分析方法验证指导原则”的要求^[15]。

表1 精密度和准确度试验结果

Tab 1 Results of precision and accuracy tests

待测成分	理论质量浓度, ng/mL	批内试验(n=6)			批间试验(n=3)		
		实测质量浓度($\bar{x}\pm s$), ng/mL	RSD, %	RE, %	实测质量浓度($\bar{x}\pm s$), ng/mL	RSD, %	RE, %
SP	2	1.92±0.18	9.49	-4.11	1.92±0.19	3.62	-4.11
	4	4.05±0.26	5.30	1.24	4.05±0.10	6.05	1.24
	80	83.78±3.88	4.22	4.73	83.78±1.34	3.92	4.73
	800	785.56±33.13	1.59	-1.81	785.56±34.94	10.89	-1.81

2.7 精密度与准确度试验

以50%甲醇为溶剂,按“2.6”项下方法配制SP质量浓度分别为4、80、800 ng/mL的低、中、高质量浓度质控(QC)样品,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录峰面积。每个分析批平行操作6个样品、连续操作3个分析批,分别根据同批随行标准曲线计算各QC样品的实测质量浓度,并计算其批内、批间精密度和准确度,结果见表1。由表1可见,SP低、中、高质量浓度QC样品的批内、批间RSD均小于11%,与理论质量浓度的RE均在±5%之内,符合2020年版《中国药典》(四部)“生物样品定量分析方法验证指导原则”的要求^[15]。

2.8 稀释可靠性考察

以50%甲醇为溶剂,按“2.6”项下方法配制SP质量浓度为4 000 ng/mL的高质量浓度血浆样品,再用空白血浆稀释5倍,按此稀释倍数平行操作6份,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录峰面积。根据同批随行标准曲线计算样品的实测质量浓度,并乘以稀释倍数计算最终质量浓度,将该值与对应的理论质量浓度进行比较,用以考察精密度和准确度。结果,大鼠血浆中SP稀释5倍后,所得样品实测质量浓度的RSD为1.1%(n=6),与理论质量浓度的RE为-0.5%,表明稀释可靠性良好。

2.9 提取回收率和基质效应试验

以50%甲醇为溶剂,按“2.6”项下方法配制SP质量

浓度分别为4、80、800 ng/mL的低、中、高质量浓度QC血浆样品,每个质量浓度样品平行制备6份,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录相应峰面积(A);将不同来源的空白血浆按“2.3”项下方法处理后,再加入相应浓度的SP标准溶液和内标溶液,使质量浓度与前者对应,每个质量浓度样品平行制备6份,按“2.4”项下条件进样分析,记录相应峰面积(B);分别配制含内标且质量浓度与前者对应的SP标准溶液,按“2.4”项下条件进样分析,记录相应峰面积(C)。按如下公式计算提取回收率:提取回收率(%)=A/B×100%,结果见表2。由表2可见,低、中、高质量浓度QC样品中,SP的提取回收率(以平均值计)为86.16%~95.26%,RSD均不高于2.47%(n=6);内标的提取回收率(以平均值计)为89.09%,RSD为14.2%(n=6)。按如下公式计算基质因子:基质因子=B/C×100%;以SP与内标的基质因子的比值作为内标归一化基质因子,结果见表2。由表2可见,低、中、高质量浓度QC样品的内标归一化基质因子(以平均值计)为58.80%~62.53%,RSD不超过6.06%,符合2020年版《中国药典》(四部)“生物样品定量分析方法验证指导原则”的要求^[15]。

表2 提取回收率与基质效应试验结果

Tab 2 Results of extraction recovery and matrix effect tests

待测成分	理论质量浓度, ng/mL	提取回收率(n=6)		基质效应, %		
		结果($\bar{x}\pm s$), %	RSD, %	基质因子($\bar{x}\pm s$), %	内标归一化的基质因子结果($\bar{x}\pm s$), %	RSD, %
SP	4	86.16±2.13	2.47	65.78±4.44	60.42±4.08	6.06
	80	89.11±1.46	1.64	64.01±2.19	58.80±2.02	3.37
	800	95.26±2.17	2.28	68.07±3.63	62.53±3.34	3.79
内标	200	89.09±5.05	14.2	108.86±5.38		

2.10 稳定性试验

以50%甲醇为溶剂,按“2.6”项下方法配制SP质量浓度分别为4、80、800 ng/mL的低、中、高质量浓度QC血浆样品,每个质量浓度样品平行制备5份,考察其在室温(25℃)存放4 h、冻融(-80℃~室温)循环3次、-80℃冰箱保存1个月再处理以及处理后于4℃冰箱中存放24 h的稳定性。所有样品均按同批随行标准曲线计算其实测质量浓度及RSD。结果,低、中、高质量浓度QC血浆样品在上述条件下,实测质量浓度的RSD均小于6.6%(n=5),提示样品稳定性良好。

3 SSZ药动学研究

3.1 动物实验方案

将SD大鼠随机分为SSZ组和SSZ+ESOM组,每组6只。SSZ+ESOM组大鼠每天于固定时间点灌胃15 mg/mL的ESOM药液(给药剂量为3.6 mg/kg^[16]),每天1次,连续给药14天;SSZ组大鼠不作处理。所有大鼠在

相同环境下正常喂养,直到14天末次给予ESOM后,禁食、不禁水12 h,同时单次灌胃30 mg/mL的SSZ药液(给药剂量为90 mg/kg^[10,16])。分别在此次给药后0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、24、36、48、72 h于大鼠眼内眦采血(采血量约300 μL),置于肝素抗凝管中,于4 000 r/min离心10 min,分离血浆于一80 ℃保存,备用。

3.2 平均药-时曲线的绘制及药动力学参数的计算

取“3.1”项下冻存的血浆样品,放置至室温,按“2.3”项下方法处理后,再按“2.4”项下条件进样分析,记录峰面积并按随行标准曲线计算其血浆中SP的质量浓度(各时间点的血浆样品需用空白血浆稀释5倍),再采用Origin Pro 9.1软件绘制其平均药-时曲线,结果见图3。

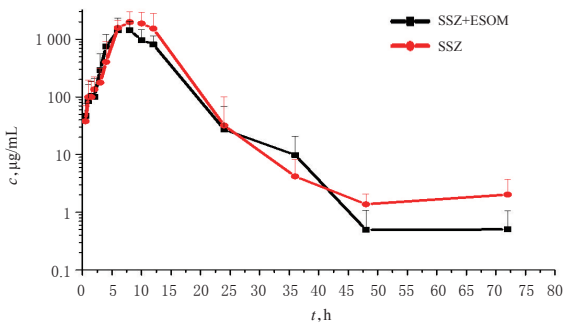


图3 大鼠灌胃柳氮磺吡啶肠溶片后SP的平均药-时曲线

Fig 3 Mean pharmacokinetic-time curves of SP in rats after intragastric administration of Sulfasalazine enteric-coated tablets

采用DAS 3.0.1软件以非房室模型方法计算药动力学参数,采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。其中,对 c_{max} 和AUC先进行对数转化后再进行 t 检验;对 t_{max} 进行秩和检验,对 $t_{1/2z}$ 、 MRT_{0-t} 、 CLz 、 Vz 进行 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义,结果见表3。

表3 大鼠灌胃柳氮磺吡啶肠溶片后SP的药动力学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Pharmacokinetic parameters of SP in rats after intragastric administration of Sulfasalazine enteric-coated tablets($\bar{x} \pm s, n=6$)

药动力学参数	SSZ+ESOM组	SSZ组
$AUC_{0-t}, \mu g/(L \cdot h)$	14 618.68 ± 4 586.16	23 034.25 ± 12 147.94
$AUC_{0-\infty}, \mu g/(L \cdot h)$	14 619.12 ± 4 585.95	23 042.49 ± 12 143.95
MRT_{0-t}, h	9.44 ± 1.75	9.69 ± 1.57
$t_{1/2z}, h$	3.47 ± 1.58	3.87 ± 2.53
t_{max}, h	7.33 ± 2.42	9.33 ± 2.42
$Vz, L/kg$	32.50 ± 15.02	19.30 ± 5.51
$CLz, L/(h \cdot kg)$	6.55 ± 1.55	4.92 ± 2.46
$c_{max}, \mu g/L$	1 629.77 ± 687.43	2 445.98 ± 964.11

由表3可见,SSZ+ESOM组与SSZ组比较,各药动力学参数组间差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示ESOM对SSZ在大鼠体内的药动力学行为并无明显影响。

4 讨论

样品的前处理是血浆中药物定量分析至关重要的一步。本课题组前期曾尝试使用25%醋酸溶液和叔丁基甲醚或乙酸乙酯进行液液萃取,结果发现,此操作过程复杂且所需血浆量(500 μL)较大。与之相比,甲醇沉淀蛋白法操作过程简便、快速;同时与已有的LC-MS/MS法比较^[17],本方法的血浆用量(50 μL)更少,更有利于样品的批量采集。

在前期工作中,本课题组分别在正离子和负离子模式下对质谱参数进行了优化,发现在正离子模式下可获得更宽的线性范围和更强的色谱峰响应。同时,本课题组曾尝试使用 C_8 和 C_{18} 两种反相色谱柱进行分离,通过对流动相中有机相和水相的比例进行反复调试并结合内标物的筛选,最终确定使用色谱柱Agilent XDR- C_{18} (2.18 mm×100 mm, 1.8 μm),内标选择地西洋,流动相甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(B)初始比例为40:60(V/V)。方法学考察结果显示,待测成分SP和内标的响应均较强,色谱峰峰形、峰强度和分辨率均较优;本方法的精密度、准确度均符合2020年版《中国药典》(四部)“生物样品定量分析方法验证指导原则”的要求^[15];提取方法、基质效应均不影响待测成分的定量分析。这提示本法可行、简便、专属性强。与现已报道的分光光度法^[18]、LC-MS/MS法^[17]和高效液相色谱法^[19,19-20]相比,本法操作简单、所需血浆量少,且具有更高的灵敏度和准确性。

SP是SSZ经肠道菌群分解所得的主要代谢物,约90%在结肠中被吸收入血。本文通过测定SSZ的代谢物SP在大鼠体内的血药浓度,进一步研究ESOM对SSZ药动力学行为的影响。结果显示,当联合使用ESOM时,大鼠体内SP的药动力学参数 c_{max} 、AUC、 $t_{1/2z}$ 、MRT、 CLz 、 Vz 和 t_{max} 均无明显变化。这不能排除可能与ESOM在大鼠体内作用时间较短、不足以使其肠道菌群发生改变有关。此外,有研究表明,长时间使用PPIs可导致肠道中厚壁菌门细菌增多^[21];同时,除厚壁菌门中的葡萄球菌属、芽孢杆菌属、梭菌属外,真杆菌属、拟杆菌属等多种细菌也已经被证实能够产生偶氮还原酶^[22]。因此,SSZ发生偶氮还原反应所需的酶不一定是由ESOM增多的菌株所产生。在研究过程中,笔者还发现,在给药后的48~72 h内,两组大鼠体内的SP的血药浓度略有上述趋势,这可能与部分未被吸收入血的SSZ随胆汁转移至肠道中并发生偶氮还原反应,生成SP被吸收入血有关^[23]。

综上所述,本研究成功建立了测定大鼠血浆中SSZ代谢产物SP浓度的LC-MS/MS法,该方法操作简单、准确、灵敏、所需血浆量少,对SP的血药浓度监测具有重要的参考价值。但本研究并未发现ESOM对SSZ药动力学行为有明显影响。由于本研究ESOM的用药时间有

限,其是否足以导致大鼠肠道菌群发生改变等,都有待于后续研究进一步探讨。

参考文献

- [1] ELIAS E, TARGOWNIK L E. The clinician's guide to proton pump inhibitor related adverse events[J]. *Drugs*, 2019, 79(7):715-731.
- [2] DE OLIVEIRA G L V, LEITE A Z, HIGUCHI B S, et al. Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases[J]. *Immunology*, 2017, 152(1):1-12.
- [3] 中华医学会风湿病学分会. 2018中国类风湿关节炎诊疗指南[J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(4):242-251.
- [4] BALZA E, CASTELLANI P, MORENO P S, et al. Restoring microenvironmental redox and pH homeostasis inhibits neoplastic cell growth and migration: therapeutic efficacy of esomeprazole plus sulfasalazine on 3-MCA-induced sarcoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40):67482-67496.
- [5] BINDER N K, BROWNFOOT F C, BEARD S, et al. Esomeprazole and sulfasalazine in combination additively reduce sFlt-1 secretion and diminish endothelial dysfunction: potential for a combination treatment for preeclampsia[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2020, 22:86-92.
- [6] LOMBARDO L, FOTI M, RUGGIA O, et al. Increased incidence of small intestinal bacterial overgrowth during proton pump inhibitor therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2010, 8(6):504-508.
- [7] LO W K, CHAN W W. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2013, 11(5):483-490.
- [8] BAVISHI C, DUPONT H L. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34(11/12):1269-1281.
- [9] 唐裕, 张舒锦. 高效液相色谱法测定人血浆中柳氮磺胺吡啶及磺胺吡啶的研究[J]. *临床合理用药杂志*, 2014, 7(9):129-130.
- [10] 杜凯阳, 肖征宇. 柳氮磺胺吡啶治疗类风湿关节炎研究进展[J]. *中国药物与临床*, 2008, 8(6):480-482.
- [11] PLOSKER G L, CROOM K F. Sulfasalazine: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis[J]. *Drugs*, 2005, 65(13):1825-1849.
- [12] MERASHL M, NOURELDINE M H A, TFAYLI Y, et al. Ankylosing spondylitis among familial mediterranean fever patients[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2018, 18(2):148-154.
- [13] 史丽璞, 赵小顺. 柳氮磺胺吡啶的药理与临床应用[J]. *青岛医药卫生*, 2004, 36(2):110-111.
- [14] 侯志铎, 肖征宇. N-乙酰基转移酶2基因多态性与柳氮磺胺吡啶药物效应的相关性[J]. *中国药物与临床*, 2007, 7(12):942-945.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020:466-472.
- [16] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9):1069-1072.
- [17] GU G Z, XIA H M, PANG Z Q, 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 Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011, 879(5/6):449-456.
- [18] 白小红, 付永丽. 分光光度法测定柳氮磺胺吡啶及其代谢物磺胺吡啶浓度的研究[J]. *山西医科大学学报*, 2003, 34(3):278-280.
- [19] 王红梅, 蒋学华, 宋林, 等. HPLC法测定人血浆中柳氮磺胺吡啶与磺胺吡啶浓度及其药动学研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2013, 38(3):223-226.
- [20] 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):18-19.
- [21] CLOONEY A G, BERNSTEIN C N, LESLIE W D, et al. A comparison of the gut microbiome between longterm users and non-users of proton pump inhibitors[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43(9):974-984.
- [22] CURRÒ D. The role of gut microbiota in the modulation of drug action: a focus on some clinically significant issues[J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2018, 11(2):171-183.
- [23] 孟珺, 刘玉琴, 刘丽娟, 等. 柳氮磺胺吡啶药物遗传学的研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2009, 25(15):2325-2326.

(收稿日期:2021-02-22 修回日期:2021-05-17)

(编辑:张元媛)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅