

西替伪麻缓释片中盐酸伪麻黄碱的动物药代动力学研究

吕竹芬¹, 谢清春¹, 陈燕忠¹, 申 楼¹, 周 松² (1. 广东药学院药物研究所, 广州 510240; 2. 武警广东省总队医院药剂科, 广州 510507)

摘要 目的:采用高效液相色谱法测定 Beagle 犬体内盐酸伪麻黄碱血药浓度, 并对其药动学参数、相对生物利用度及体内外的相关性作初步研究。**方法:**Beagle 犬 6 只, 单次口服西替伪麻缓释片 2 片, 用 HPLC 法, 采用 DiamonsilTM C₁₈ 色谱柱 (5 μ m, 250 \times 4.6mm), 0.05mol/L 的磷酸二氢钠溶液-甲醇 (75:25), 以磷酸调节 pH 3.0 为流动相, 盐酸苯丙醇胺为内标, 检测波长 213nm, 测定血浆中的药物浓度。**结果:**盐酸伪麻黄碱的相对生物利用度为 (95.9 \pm 2.3)%, 单次口服西替伪麻缓释片药动学参数分别为 MRT=8.21h, T_{peak} =4h, C_{max} =2008.7ng/mL。**结论:**经统计分析自制片与对照片药动学过程相似, 生物利用度等效, 并且自制片体内外累积释放有着良好的相关性。

关键词 缓释片; 西替伪麻; 药代动力学

中图分类号: R969.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2006)06-0342-04

Pharmacokinetics of cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets in Beagle dogs

LV Zhu-fen¹, XIE Qing-chun¹, CHEN Yan-zhong¹, SHEN Lou¹, ZHOU Song² (1. Institute of Material Medica, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510240, China; 2. Department of Pharmacy, Guangdong General Hospital, Chinese People's Armed Police, Guangzhou 510507, China)

ABSTRACT Objective: To study the pharmacokinetics of cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets in Beagle dogs. **Methods:** Pseudoephedrine concentrations in serum were assayed by HPLC with DiamonsilTM C₁₈ (250 \times 4.6 mm, 5 μ m) column, 0.05mol/L sodium dihydrogen phosphate-methanol (75:25), pH adjusted to 3.0 with phosphoric acid as mobile phase, and detection wavelength of 213nm. The pharmacokinetic parameters were researched after single administration of cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets in 6 Beagle dogs. **Results:** The pharmacokinetic parameters cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets were followed: MRT=8.21h, T_{peak} =4h, C_{max} =2008.7ng/mL. The relative bioavailability of cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets was (95.9 \pm 2.3)%. **Conclusion:** The pharmacokinetic profile of cetirizine/pseudoephedrine sustained release tablets was similar to the reference tablets. The self-made one was bioequivalent to Zycet-D 12h tablets, and its released profile in vivo/in vitro was correlation.

KEY WORDS sustained release tablets; cetirizine/pseudoephedrine; pharmacokinetic

体内生物利用度和生物等效性与制剂疗效和安全性密切相关, 本文在 Beagle 犬体内进行了西替伪麻缓释片生物利用度试验、初步体内药动学试验及体内外相关性研究。文献报道盐酸伪麻黄碱体内测定方法有气质联用法^[1]、液质联用法^[2]、HPLC 荧光检测^[3]和紫外检测^[4]等方法。本文结合实际条件建立了 HPLC 紫外检测法测定伪麻黄碱在 Beagle 犬体内血浆药物浓度。

1 仪器与试剂

Dionex P680 HPLC Pump, Dionex UVD170U (德国 Dionex 公司), WH-3 微型涡漩混合仪 (上海沪西分析仪器厂), KQ-100 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), 821 型袖珍离子式 pH 计 (中山大学电子厂), TDL-60B 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

盐酸伪麻黄碱对照品 (pseudoephedrine hydrochloride, 简称 PE, 国家麻醉品实验室 批号: 1237-200002), 盐酸苯丙醇胺 (phenylpropanolamine hydrochloride, 简称 PA, 中国药品生物制品检定所 0217-9602), 肝素 (常州市新华活性材料研究所), 甲

基金项目: 广东省科技攻关项目 (编号 2005B30101002)

作者简介: 吕竹芬 (1965-), 女, 高级工程师 (教授级)。

Tel: (020) 34074503, E-mail: Luzhufen@163.com

醇、乙腈、二氯甲烷(色谱纯,铨能色谱有限公司),其余试剂均为分析纯。Zyrtec-D 12h缓释片(美国Pfizer Inc, Lot:2K169Z),西替伪麻缓释片(自制,批号030407,每片含盐酸西替利嗪5mg,盐酸伪麻黄碱120mg)。

2 实验方法

2.1 PE的体内分析方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil™ C₁₈柱(5μm, 250×4.6mm), 流动相: 0.05mol/L的磷酸二氢钠水溶液-甲醇(75:25), 以磷酸调节pH 3.0。检测波长 213nm, 灵敏度 0.005AUFS, 进样体积 50μL。

2.1.2 专属性实验 将空白血浆不加内标按“样品处理方法”处理和加入药物及内标血浆同法处理进样。

2.1.3 样品制备 取0.5mL血浆于5mL具塞离心管中, 加入内标PA溶液(20μg/mL)50μL, 0.5mL混合碱液(每1L含氢氧化钠1g, 碳酸钠4g)0.5mL, 涡漩混合30s。加入混合溶剂(乙醚-正己烷, 1:1)4mL, 涡漩2min, 4000r/min离心5min。将上层有机相转移至另一已加入100μL的0.5%磷酸(V/V)5mL具塞离心管中, 涡漩1min, 4000r/min离心5min, 抽去上层有机相, 量取水相50μL进样。

2.1.4 标准曲线的制定 在空白血浆中加入不同量的PE标准液, 配成浓度为50、100、200、400、800、1600、3200μg/mL的PE的系列标准血样。按“样品制备”方法进行, 精密吸取50μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以PE面积(A_i)对内标峰面积(A_s)的比值对浓度C作线性回归, 得到标准曲线方程。

2.1.5 回收率实验 ① 相对回收率 取5mL具塞离心管, 加入空白血浆0.5mL, 精密加入PE标准品

溶液适量和内标液50μL, 使血浆中PE浓度为高、中、低3个浓度即100、1600、3200ng/mL, 其余按“样品制备”项下操作, 由标准曲线计算测得量与实际加入量相比计算回收率。② 绝对回收率 取相同量的PE溶液直接进样, 其峰面积作为对照峰面积, 计算经处理和未经处理峰面积比值, 计算绝对回收率。

2.1.6 精密度实验 取空白血浆加入标准液使成100、1600、3200ng/mL, 按“样品处理方法”每样3份于1d进样, 计算日内差。连续3d, 上述3种浓度每天进样一次, 计算日间差。

2.1.7 最低检测限和最低检测浓度 配制5、10、20、30ng/mL的标准含药血浆样品, 按“样品处理方法”进行处理后进样分析, 测定各浓度样品的峰高与噪音(基线峰高), 取信噪比为3, 得本法的最低检测限。

2.2 Beagle犬体内药代动力学和生物利用度实验

采用双周期交叉试验, Beagle犬6只, 平均体重12.9kg, 随机分成A、B两组。给药前夜禁食, 犬A1、A2和A3给予对照片2片(相当于盐酸伪麻黄碱240mg), 另3只犬B1、B2和B3给予自制缓释片2片(相当于盐酸伪麻黄碱240mg)。服药后于第0.25、0.5、1.5、1、2、3、4、9、14、24、32h静脉采血4mL左右于10mL已涂有肝素离心管中, 离心后分离出的血浆于-20℃低温保存至测定。

1周后两组进行交叉试验, A1、A2和A3给予自制缓释片2片, B1、B2和B3给予对照片2片, 采血及血浆分离方法相同分离方法相同。

3 实验结果

3.1 HPLC法检测PE血药浓度的方法学研究

3.1.1 PE的体内色谱行为(图1, 图2)

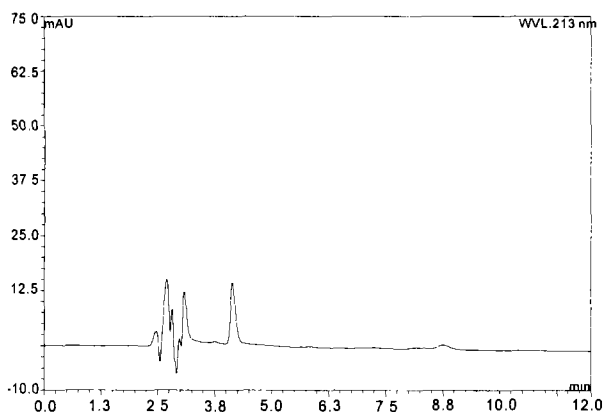


图1 空白血浆色谱图

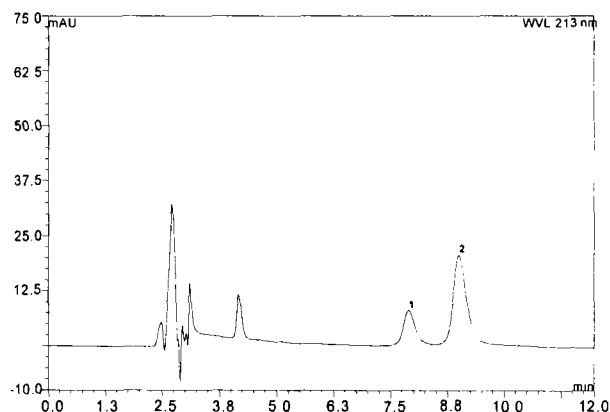


图2 PE样品色谱图

1-PA峰, 2-PE峰

由图可见血浆对测定无干扰, PE 出峰时间为 9.1 min, 而内标 PA 出峰时间为 7.9 min, 分离度大于 2, 理论塔板数均大于 4 000。

3.1.2 标准曲线 按内标法以峰面积计算, 以 PE 与 PA 面积之比(A_i/A_s)对 PE 的浓度(C , ng/mL) 进行线性回归。结果见表 1。

表 1 PE 标准曲线方程 ($n=3$)

| PE 浓度 (C , ng/mL) | 50 | 100 | 200 | 400 | 800 | 1 600 | 3 200 |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| A_i/A_s | 0.166 2 | 0.289 4 | 0.447 5 | 0.832 7 | 1.540 3 | 3.051 9 | 5.783 9 |
| $A_i/A_s = 0.001 8C + 0.11, R^2 = 0.999 6$ | | | | | | | |

表 2 PE 相对回收率试验结果

| 加入量 (ng/mL) | 回收量 (ng/mL) | 回收率 (%) | 回收率 \pm SD (ng/mL) | RSD (%) | 平均回收率 \pm SD (ng/mL) | RSD (%) |
|----------------|----------------|------------|-------------------------|------------|---------------------------|------------|
| 100 | 99.5 | 99.5 | | | | |
| 100 | 106.9 | 106.9 | 104.6 \pm 4.4 | 4.20 | | |
| 100 | 107.3 | 107.3 | | | | |
| 1 600 | 1 658.2 | 103.6 | | | | |
| 1 600 | 1 604.6 | 100.3 | 103.9 \pm 3.7 | 3.59 | 101.9 \pm 4.7 | 4.58 |
| 1 600 | 1 723.7 | 107.7 | | | | |
| 3 200 | 3 142.9 | 98.2 | | | | |
| 3 200 | 3 187.5 | 99.6 | 97.4 \pm 2.7 | 2.79 | | |
| 3 200 | 3 019.4 | 94.4 | | | | |

表 3 PE 绝对回收率试验结果 ($n=9$)

| 加入量 (ng/mL) | 回收量 (ng/mL) | 回收率 (%) | 回收率 \pm SD (ng/mL) | RSD (%) | 平均回收率 \pm SD (ng/mL) | RSD (%) |
|----------------|----------------|------------|-------------------------|------------|---------------------------|------------|
| 100 | 99.5 | 73.04 | | | | |
| 100 | 106.9 | 81.94 | 77.12 \pm 4.49 | 5.83 | | |
| 100 | 107.3 | 76.38 | | | | |
| 1 600 | 1 658.2 | 65.41 | | | | |
| 1 600 | 1 604.6 | 68.90 | 77.12 \pm 4.49 | 5.83 | 92.91 \pm 5.37 | 7.36 |
| 1 600 | 1 723.7 | 73.48 | | | | |
| 3 200 | 3 142.9 | 78.47 | | | | |
| 3 200 | 3 187.5 | 71.11 | 72.34 \pm 5.62 | 7.78 | | |
| 3 200 | 3 019.4 | 67.42 | | | | |

表 4 PE 精密度试验结果

| | 加入量 (ng/mL) | 实测量 (ng/mL) | 回收率 (%) | 平均回收率 \pm SD (ng/mL) | RSD (%) |
|----|----------------|----------------|------------|---------------------------|------------|
| | 100 | 99.2 | 99.2 | | |
| 日内 | 100 | 105.5 | 105.5 | 105.8 \pm 6.7 | 6.34 |
| | 100 | 112.6 | 112.6 | | |
| | 100 | 106.2 | 106.2 | | |
| 日间 | 100 | 110.6 | 114.6 | 106.6 \pm 3.8 | 3.53 |
| | 100 | 103.1 | 103.1 | | |
| | 1 600 | 1 549.1 | 96.8 | | |
| 日内 | 1 600 | 1 648.8 | 103.1 | 100.4 \pm 3.2 | 3.22 |
| | 1 600 | 1 623.4 | 101.5 | | |
| | 1 600 | 1 634.7 | 102.2 | | |
| 日间 | 1 600 | 1 568.3 | 98.6 | 99.7 \pm 2.19 | 2.19 |
| | 1 600 | 1 582.4 | 98.9 | | |
| | 3 200 | 3 021.8 | 94.4 | | |
| 日内 | 3 200 | 3 156.3 | 98.6 | 96.7 \pm 2.1 | 2.19 |
| | 3 200 | 3 102.2 | 96.9 | | |
| | 3 200 | 3 056.9 | 95.5 | | |
| 日间 | 3 200 | 3 072.8 | 96.0 | 97.0 \pm 2.2 | 2.27 |
| | 3 200 | 3 186.1 | 99.6 | | |

3.1.3 回收率 相对回收率和绝对回收率试验结果(见表 2, 表 3)。

回收率表明本法准确, 绝对提取率虽偏低但可以用于生物样品测定。

3.1.4 精密度试验结果(表 4) 日内精密度平均回收率为 101.0% \pm 5.55% ($RSD = 5.49\%$) 和日间精密度平均回收率为 101.6% \pm 5.93% ($RSD = 5.84\%$), 结果显示本法稳定、可靠, 可以用于生物样品测定。

3.1.5 最低检测限 按峰高是信噪比 3 倍计算, 本法最低检出浓度为 30ng/mL。

3.2 Beagle 犬体内药动学研究

3.2.1 自制缓释片和对照片的血药经时曲线(图 2)。

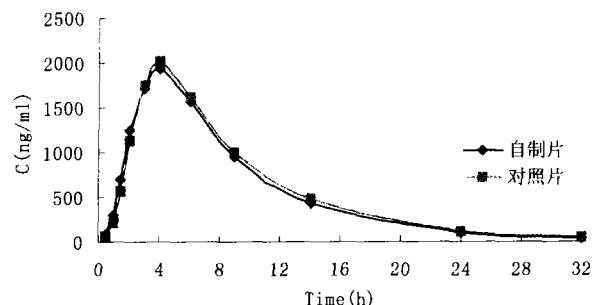


图 2 自制缓释片和对照片平均血药经时曲线 ($n=6$)

自制片和对照片达峰时间相同,虽然自制片初期的血药浓度略高于对照片,但最终趋于一致。

3.2.2 隔室模型的判断 使用3p97进行数据处理,根据拟合优度和AIC最小原则,取权重1/C/C之一时,PE的拟合度和AIC值最小,PE自制片和对照片在Beagle体内呈一室模型。

3.2.3 药动学参数 权重1/C/C,PE按一室模型,由平均血药浓度计算得到药动学参数见表5,PE滞后时间相似,清除率和药-时曲线下面积也较接近,提示两者在体内生物利用度相近,代谢过程相似。

表5 PE药动学参数值

| 参数 | 自制片 | 对照片 |
|---------------------------|----------|----------|
| A (ng/ml) | 4 565.2 | 8 802.5 |
| Ke (1/h) | 0.1 541 | 0.1 671 |
| Ka (1/h) | 0.3 414 | 0.2 372 |
| Lag time (h) | 0.4 140 | 0.4 091 |
| t _{1/2} (Ka) (h) | 2.0 301 | 2.9 226 |
| t _{1/2} (Ke) (h) | 4.4 940 | 4.1 477 |
| T (peak) (h) | 4.0 | 4.0 |
| C (max) (ng/ml) | 2 008.7 | 1 925.7 |
| AUC (ng/h/mL) | 18 946.3 | 18 198.2 |
| Cl/F (S) (L/h) | 0.01 477 | 0.01 543 |
| V/F (C) (L) | 0.09 584 | 0.09 231 |
| MRT (h) | 8.20 | 8.75 |
| VRT (h ²) | 35.21 | 35.53 |

3.2.4 相对生物利用度和生物等效性 按 $F_{rel}\%$

$$= \frac{AUC_{test(0-\infty)}}{AUC_{ref(0-\infty)}} \times 100\%$$

计算自制片和对照片的相对生物利用度(表6,表7),结果PE相对生物利用度为(95.9 ± 2.3)%。达峰时间相同,对AUC进行t检验^[5](P > 0.05),均无显著性差异,自制片和对照片生物等效。

表6 PE相对生物利用度结果

| AUC _{test(0-∞)} | AUC _{ref(0-∞)} | F (%) |
|--------------------------|-------------------------|------------|
| 17 188.3 | 17 703.3 | 97.1 |
| 18 938.6 | 20 443.9 | 92.6 |
| 17 724.5 | 18 968.7 | 93.4 |
| 19 466.0 | 19 930.3 | 97.7 |
| 18 366.8 | 19 092.0 | 96.2 |
| 18 138.5 | 18 453.4 | 98.3 |
| 平均值 ± SD | | 95.9 ± 2.3 |

3.2.5 体内外相关性 根据自制复方缓释片中PE在Beagle犬体内血药-经时曲线符合单室模型特征,采用Wagner-Nelson法计算吸收分数Fa,计算公式如下,结果见表8,

$$Fa = \frac{(X_4)_T}{(X_7)_\infty} = \frac{C_T + K \int_0^T C dt}{K \int_0^\infty C dt}$$

表7 双向单侧t检验结果表

| 变异来源 | 变异值 | F值 | P值 |
|---------|--------------|-------|---------|
| 总变异 | 10 141 722.0 | | |
| 个体间 | 7 681 802.9 | 20.05 | 0.0 062 |
| 周期间 | 258 162.7 | 3.37 | 0.1 404 |
| 制剂间 | 1 895 200.6 | 24.73 | 0.0 076 |
| 双向单侧t检验 | | t值 | P值 |
| 低向单侧检验 | | 18.58 | 0.0 001 |
| 高向单侧检验 | | 18.56 | 0.0 001 |

表8 自制缓释片中PE释放度与体内吸收度

| T(h) | 0.5 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| X (%) | 31.99 | 46.69 | 64.35 | 78.12 | 85.67 |
| Fa (%) | 2.83 | 11.24 | 46.55 | 68.27 | 77.54 |

以体内吸收分数Fa对相应时间的体外累及释放百分率X(制剂工艺与释放度测定已另文发表)作线性回归,得到回归方程为: $Fa = 1.490 5X - 50.18$, $R^2 = 0.977 6$ (显著性检验的F值为130.9, $P < 0.01$)。结果表明,在所确定的实验条件下,PE的体内吸收百分数与体外累计释放百分率之间具有良好的相关性。

4 讨论

4.1 关于盐酸伪麻黄碱体内血药浓度的测定方法已有较多文献,本文建立的方法经验证表明可以用于本实验中的血药浓度测定。

4.2 相对生物利用度的计算有不同的方法但尚无定论,本文中参照文献进行方差分析,并进行双向单侧t检验。结果表明动物间、制剂间的差异性极显著,周期无显著性差异。但双向单侧t检验的结果表明本制剂与对照品仍然是生物等效。

参考文献:

[1] 李吉来,陈飞龙,刘传明,等. 麻黄汤中麻黄碱与伪麻黄碱的GC-MS法测定及配伍因素对汤剂中该成分含量的影响[J]. 中草药,2002,33(4):307.
 [2] 杨汉煜,陈笑艳,徐海燕,等. 液相色谱-串联质谱法测定人血浆中的伪麻黄碱浓度[J]. 沈阳药科大学学报,2001,18(2):116.
 [3] Halsas M, Penttinen T, Vedki P, et al. Time-controlled release pseudoephedrine tablets: bioavailability and in vitro/in vivo correlations[J]. Pharmazie,2001,56(9):718.
 [4] 钟明康,施孝全,张静华,等. 盐酸伪麻黄碱缓释片在健康志愿者中的药动学[J]. 中国医院药学杂志,2001,21(7):395.
 [5] 冯亮,李铜铃,邬琳,等. 头孢克肟胶囊与片剂的人体相对生物利用度[J]. 药学实践杂志,2004,22(5):284.

收稿日期:2005-12-27