

丙戊酸钠缓释片及其人体生物利用度的研究

戈文兰 王广基¹ 孙建国¹ 郁健² 何海燕 郭建兰

(江苏省药物研究所; 中国药科大学药代研究中心; 中国药科大学药物分析教研室, 南京 210009)

摘要 制备了丙戊酸钠缓释片(SRT),其释放曲线与国外缓释片(Depakine Chrono, 简称 DC)基本一致。对 SRT 和普通片(CT)进行人体生物利用度比较,10 名健康男性志愿者随机交叉口服单剂量两种剂型后,利用 HPLC 测得血药浓度。SRT 和 CT 的 AUC 分别为 $1143.6 \pm 139.6 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ 和 $1082.7 \pm 205.5 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, MRT 分别为 $22.6 \pm 3.8 \text{ h}$ 和 $18.8 \pm 3.6 \text{ h}$, C_{max} 分别为 $47.7 \pm 7.5 \mu\text{g/ml}$ 和 $67.0 \pm 8.6 \mu\text{g/ml}$, T_{max} 分别为 $6.2 \pm 1.4 \text{ h}$ 和 $1.6 \pm 0.9 \text{ h}$ 。SRT 的相对生物利用度为 $107.0\% \pm 10.7\%$ 。与 CT 相比, SRT 能明显推迟达峰时间并降低峰浓度($P < 0.01$), AUC 无显著性差异($P > 0.05$)。10 名受试者多剂量服用 SRT 和 CT 后,稳态时 C_{min} 分别为 $91.8 \pm 14.7 \mu\text{g/ml}$ 和 $83.2 \pm 24.4 \mu\text{g/ml}$, C_{max} 分别为 $134.4 \pm 23.2 \mu\text{g/ml}$ 和 $134.4 \pm 38.3 \mu\text{g/ml}$, 波动系数 FI 分别为 0.374 ± 0.092 和 0.483 ± 0.162 。

关键词 丙戊酸钠; 缓释片; 释放度; 高效液相色谱法; 药代动力学; 相对生物利用度

丙戊酸钠是广谱抗癫痫药,主要用于单纯或复杂失神发作(小发作)及全身强直性——阵挛性发作(大发作)。口服后吸收迅速而完全,与其它抗癫痫药相比半衰期较短,平均为 9h,是造成 24 h 内血药波动的主要原因。临床上常需口服 3~4 次,对癫痫这一种需长期服药的慢性病患者来说,使用很不方便。另外,丙戊酸钠有一定的副作用,最常见的为消化道症状,故研制丙戊酸钠缓释片,使吸收后药时曲线平稳,避免峰谷现象,从而达到减少服药次数,降低毒副作用。国外 Labaz 公司及 Sanofi winthrop Ltd 已有缓释片商品(DC)^[1]。本文建立了 SRT 的体内血药浓度测定方法,并以 CT 为对照品,测定了 10 名健康志愿者随机交叉口服 SRT 和 CT 单剂量和多剂量后的血药浓度,研究了 SRT 的相对生物利用度,以及有关的药动学参数,同时研究了在稳态情况下两制剂的体内药物动力学特征。

1 药品与仪器

普通片(A)(江苏省连云港制药厂 960504-3); Depakine chrono 国外缓释片(B)(Sanofi winthrop Ltd 94-115); 自制缓释片(C); 丙戊酸钠原料(药用,江苏省连云港制药厂); 羟丙基甲基纤维素(Methocel K4M, K15M, 药用,简称 HPMC;

Color-con); 乙基纤维素(药用,简称 EC,上海化学试剂二厂)

ZRS-4 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); 25 型酸度计(上海电冰箱厂); Waters600 泵, 420C 荧光检测器; PC800 色谱处理系统(Waters 公司, 美国)。

2 实验方法

2.1 丙戊酸钠缓释片的制备

丙戊酸钠与 HPMC K4M、HPMC K15M、EC, 淀粉混合均匀,用含 EC 的醇溶液为湿润剂制软材,干燥,整粒,加入硬脂酸镁,压片,包薄膜衣,即得。

2.2 体外释放度测定

取缓释片 6 片,照中国药典(95 年版)释放度测定法,采用溶出度测定法第二法的装置,以水 500 ml 为溶剂,转速 50 r/min,依法操作,定时取样 25 ml,同时补入 25 ml 水。在取样液中,加入乙醚适量,照电位滴定法(95 版中国药典附录 V II A)用玻璃——饱和甘汞电极,盐酸滴定液(0.01 mol/L)滴定至 pH 4.5。每 1 ml 0.01 mol/L 盐酸液相当于 1.662 mg 的 $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NaO}_2$ 。计算缓释片的累积释药百分率。

因测定用酸碱滴定,故释放液取样量较多,每

次取样量占释放液总量的 1/20,故用下式进行校正。

$$C_{COTT}=C_p+\sum_{s=1}^{n-1}C_s$$

C_{COTT} :在“ t ”时校正后 C_0 累积释药浓度

C_p :在“ t ”时实测药物浓度

$\sum_{s=1}^{n-1}C_s$:在“ t ”时(第 n 次)前各次测定时抛弃的药物浓度之总和。

2.3 含量测定

2.3.1 方法 参照丙戊酸钠片剂^[2]项下进行。

2.3.2 回收率和精密度 按常规方法测定,平均回收率为 99.5%±0.6%,精密度为 98.95%±0.48%,RSD=0.48%。

2.4 人体内血浓测定

参照文献^[3],自行建立了血药浓度测定方法^[4]。

2.4.1 HPLC 色谱条件 流动相为乙腈-水(60:40),色谱柱为 Spherisorb C_{18} 柱,检测波长为 325/398 nm,流速:1.0 ml/min。

2.4.2 血样处理 精密吸取血清,加入内标及甲醇混匀,加入 0.1 mol/L 盐酸液和二氯甲烷,混匀,离心,分出有机相,蒸干,加三乙胺和 BrDMC 液,混匀,加热,冷却,20 μ l 进样,记录峰面积,计算。

2.4.3 标准曲线和检测限 血清中药物浓度范围为 2~150 μ g/ml,按“血清样品处理”项下操作,以样品峰面积与内标峰面积之比(f)对血清药物浓度回归,得回归方程: $C(\mu\text{g/ml})=-1.442+60.96f$, $r=0.9993(n=5)$,最低检测浓度为 2 μ g/ml。

2.4.4 回收率和精密度 回收率:6 个浓度梯度,平均回收率为 98.17%±5.20%;精密度:用高、中、低三种浓度,测定日内变异和日间变异,其变异系数小于 10%,符合生物样品分析要求。

2.4.5 生物利用度研究 10 名健康男性志愿受试者,年龄 20~22 岁,体重 61.5~66.8 kg,经肝、肾、心电等检查合格者入选。于受试前一周未服用其它药物,受试期间禁烟酒。受试者统一用餐。采用自身对照随机交叉空腹口服 CT 或 SRT。

单剂量研究:CT 与 SRT 剂量均为 2 片(2×200 mg/片)。CT 于 0,0.5,1,2,3,4,5,6,8,12,24,48 h,SRT 于 0,1,2,3,4,5,6,8,12,24,48 h 取血处理后,采用 HPLC 法,测定血清中药物浓度。

多剂量研究:SRT:每日 2 次,每次 2 片(2×200 mg/片);CT:每日 3 次,每次 1 片。连续服药 5d,在 2~4 d 每日于给药前取血一次,于第 5 d 24 h 内定时取血 12 次,经处理后测定血中药物浓度。

2.4.6 数据处理 用 3P87 程序在 IBM 计算机上对尾端进行曲线拟合求算药动学参数,用面积法估算相对生物利用度。并经方差分析和双单侧 t 检验,考察试验两制剂的生物等效性。

3 结果

3.1 体外释放度测定

测定了 CT、DC、SRT 释放度,结果见图 1。表明 CT 片 30 min 溶出在 70%以上,SRT 释放缓慢,与 DC 片的释放度基本一致。

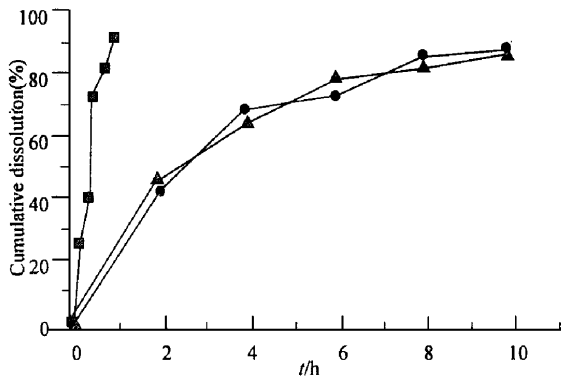


Fig 1. Dissolution profiles of three preparations in vitro($n=6$)

—◆—CT;—▲—SRT;—■—DC

3.2 单剂量生物利用度

10 名健康志愿者单剂量口服 SRT(2×200 mg)和 CT(2×200 mg)后,测得 SRT 的相对生物利用度为 107.1%±10.7%,SRT 和 CT 的 AUC 分别为 1143.6±139.6 μ g/ml·h 和 1082.7±205.5 μ g/ml·h, T_{max} 分别为 6.2±1.4 h 和 1.6±0.9 h, C_{max} 分别为 47.7±7.5 μ g/ml 和 67.0±8.6 μ g/ml,MRT 分别为 22.6±3.8 h 和 18.8±3.6 h,SRT 的 MRT 大于 CT($P<0.01$),峰浓度低于 CT($P<0.01$),但两种制剂的 AUC 无显著性差异($P>0.05$)。说明 SRT 具有缓释效果,但吸收程度与 CT 等效。药代动力学参数见表 1,平均血药浓度—时间曲线见图 2。

Tab 1. Pharmacokinetic parameters after the oral single dose administration of SRT (2×200 mg) and CT (2×200 mg) in ten healthy volunteers

Parameter	SRT	CT
$C_{\max}$ (μg/ml)	47.7±7.5	67.0±8.6
$T_{\max}$ (h)	6.2±1.4	1.6±0.9
$AUC_{0\rightarrow\infty}$ (μg/ml·h)	1143.6±139.6	1082.7±205.5
MRT (h)	22.6±3.8	18.8±3.6
F (%)	107.1±10.7	

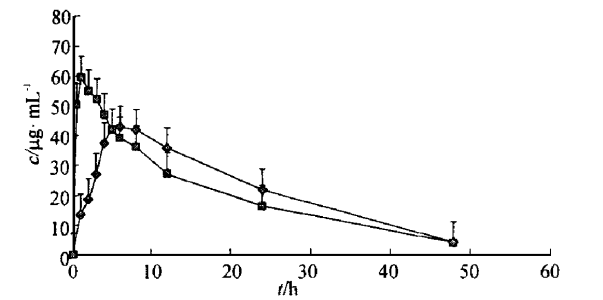


Fig 2. Mean plasma concentration-time profiles of sodium valproate for ten healthy volunteers after oral administration of SRT (—●—) and CT (—■—)

3.3 多剂量稳态血药浓度及波动系数

10 名受试者交叉连续服用 SRT 和 CT 5 d, 第 5 天 24 h 内经时过程中的血药浓度变化情况见图 3; 药动学参数见表 2 ($C_{\max}^a$ 为第 5 天第一次服药后的峰浓度实测值; $C_{\min}^b$ 为第 5 天第二次服药前取血的血药浓度实测值; $C_{ss}^c = AUC_{SS}/\tau$; $d.FI = 2(C_{\max} - C_{\min})/(C_{\max} + C_{\min})$)。

Tab 2. Pharmacokinetic parameters of sodium valproate following steady state of SRT(4×200 mg) and CT(3×200 mg) (adjusted dose) in ten healthy volunteers

Parmaeter	SRT	CT
$AUC_{SS}(\mu g \cdot h/ml)$	2468.0±327.4	2389.0±494.1
$C_{\min}^b(\mu g/ml)$	91.8±14.7	83.2±24.4
$C_{\max}^a(\mu g/ml)$	134.4±23.2	134.4±38.3
$C_{ss}^c(\mu g/ml)$	102.8±13.6	99.5±20.6
FI^d	0.374±0.092	0.483±0.162
τ (h)	12	8

每日 2 次, 每次 2 片多剂量口服缓释片 5 d 后血药浓度达到稳态, 稳态峰浓度为 $134.4 \pm 23.2 \mu g/ml$, 与每日 3 次, 每次 1 片多剂量口服普通片经剂量校正后的峰浓度 $134.4 \pm 38.3 \mu g/ml$ 无显著性差异 ($P > 0.05$); SRT 的谷浓度为 $91.8 \pm 14.7 \mu g/ml$, 与 CT 经剂量校正后的谷浓度 $83.2 \pm 24.4 \mu g/ml$ 无显著性差异 ($P > 0.05$); 两种制剂的谷浓度可维持在有效浓度^[5]范围内。SRT 的波动系

数为 0.374 ± 0.092 , 小于普通片 0.483 ± 1.62 。

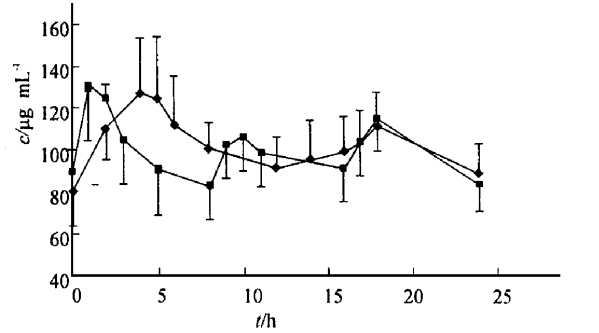


Fig 3. Mean plasma concentration-time curve of Sodium Valproate after oral multiple administration doses of SRT (4×200 mg) (—●—) and CT (—■—) (3×200 mg) (adjusted dose) on d5

3.4 体内外相关性

为了证明体外释药与体内吸收的相关性, 根据 Wagner-Nelson 方程计算在体内不同时间的吸收分数 (F)。

$$F = \frac{(X_e)^1}{(X_e)^\infty} = \frac{C_p + K_e \int_0^t C_p dt}{K_e \int_0^\infty C_p dt}$$

C_p : t 时间的血药浓度; K_e : 消除速度常数。
 $K_e \int_0^t C_p dt$, $K_e \int_0^\infty C_p dt$ 分别为 $0 \rightarrow t$ 和 $0 \rightarrow \infty$ 时间内“药一时”曲线下面积, 用口服后不同时间的吸收百分率与相对应时间的体外累积释放百分率 (批号 960326) 建立相关关系, 用最小二乘法经线性回归得体内、外相关公式:

$$y = 5.281 + 1.042X, r = 0.9787, P < 0.01$$

表明丙戊酸钠缓释片体内吸收与体外累积释药具有良好的相关性。

4 讨论

1) 丙戊酸钠缓释片是采用亲水性和疏水性纤维素 (HPMC K4M, HPMC K15M 和 EC) 制成的凝胶骨架片, 能减慢药物在胃肠道释放。
2) 丙戊酸钠缓释片体内试验结果表明, 与普通片相比, 能明显推迟达峰时间, 并降低峰浓度 ($P < 0.01$); 同时体内平均驻留时间 MRT 明显高于普通片 ($P < 0.01$), 证明缓释片具有缓释效果, 但吸收程度与普通片等效。
3) 丙戊酸钠缓释片的体外释放与体内吸收有显著相关性, 可利用体外释放进行本品质量控制。

参 考 文 献

1 黄胜炎. 日本正在开发的缓释制剂(二). 化学医药工业信息, 1992,1:28

2 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典,二部. 北京:化学工业出版社,1995. 90~91

3 Bousquet E, Firendi S, Santagati NA. Clean-up and

determination of sodium valproate in serum by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Pharmazie*, 1991, **46**(4):257

4 郁 健,王广基,杜春波,等. 高效液相色谱法测定人血清中丙戊酸钠的含量. 中国药科大学学报,1998,**29**(1):45

5 Loiseau P, Brachet A, Henry P. Concentration of dipropylacetate in plasma. *Epilepsia*, 1975,**16**:609

Preparation of Sodium Valproate Sustained-Release Tablets and Evaluation on its Bioavailability in Healthy Volunteers

GE Wen-Lan, WANG Guang-Ji¹, SUN Jian-Guo¹, YU Jian², HE Hai-Yan, GUO Jian-Lan

Jiangsu Institute of Materia Medice; Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University; Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract Sodium Valproate Sustained-release tablets (SRT) were prepared. The release curves of SRT were consistent with Depakine Chrono (DC). The pharmacokinetics and bioavailability of SRT was evaluated using the conventional tablets (CT). The plasma concentrations were determined by HPLC after a randomized crossover oral administration of single dose of SRT and CT in 10 healthy volunteers. The pharmacokinetic parameters of $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, MRT , C_{max} and T_{max} were: SRT: $1143.6 \pm 139.6 \mu\text{g/ml} \cdot \text{h}$, $22.6 \pm 3.8 \text{ h}$, $47.7 \pm 7.5 \mu\text{g/ml}$, $6.2 \pm 1.4 \text{ h}$; CT: $1082.7 \pm 205.5 \mu\text{g/ml} \cdot \text{h}$, $18.8 \pm 3.6 \text{ h}$, $67.0 \pm 8.6 \mu\text{g/ml}$, $1.6 \pm 0.9 \text{ h}$. It was found that the mean C_{max} for SRT was significantly lower than that for CT ($P < 0.01$) and the mean T_{max} was significantly later for SRT than that for CT. The total area under the plasma concentration-time curve was not significantly different between these two preparations ($P > 0.05$). The relative bioavailability of SRT was $107.0\% \pm 10.7\%$. After multiple dosing in 10 healthy volunteers, the mean steady state C_{min} values were $91.8 \pm 14.7 \mu\text{g/ml}$ and $83.2 \pm 24.4 \mu\text{g/ml}$, the mean C_{max} values were $134.4 \pm 23.2 \mu\text{g/ml}$ and $134.4 \pm 38.3 \mu\text{g/ml}$ respectively. The fluctuation indexes (FI) for the two preparations were 0.374 ± 0.092 and 0.483 ± 0.162 . The results showed that the two preparations were bioequivalent.

Key words Sodium valproate; Sustained-release tablets; HPLC; Dissolution; Pharmacokinetics; Relative bioavailability