

马来酸曲美布汀缓释片的家犬药动学研究

何 飞^{*}, 涂家生, 殷琳琳, 胡瑜兰, 张钧寿

(中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009)

摘 要 目的 研制了马来酸曲美布汀(TMB)缓释片家犬药动学, 为人体生物利用度研究提供依据和参考。方法 以市售普通片为参比制剂, 采用 HPLC 法测定了两制剂在家犬的血药浓度, 按单剂量给药、多剂量给药方案进行研究并计算药动学参数。结果 单剂量给药, 6 只家犬的双周期交叉试验后, T_{max} 、MRT 有极其显著性差异, 相对生物利用度为 102.5%, TMB 缓释片具有缓释作用。多剂量试验给予 TMB 缓释片和 TMB 普通片达稳态后, 缓释片与普通片比较, 稳态达峰时间极显著延长 ($P < 0.01$), 稳态达峰浓度显著降低 ($P < 0.05$), C_{ss} 、 C_{min} 、 $T_{1/2}$ 、 $AUC_{0-\infty}$ 等药动学参数的改变没有显著意义。表明受试制剂 TMB 缓释片与参比制剂达稳态的程度相同, TMB 缓释片稳态血药浓度的波动程度较小。结论 该缓释片在家犬体内具有缓释作用。

关键词 马来酸曲美布汀; 缓释片; 药物动力学; 单剂量给药; 多剂量给药

中图分类号: R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2001)02-0122-12

马来酸曲美布汀(trimebutine maleate, TMB)是一种治疗慢性胃炎引起的消化道症状和肠易激综合症的药物。TMB 具有双向选择作用, 可以治疗胃肠运动不足, 也可以治疗胃肠运动兴奋。目前国外 TMB 的主要剂型有片剂、干糖浆、软胶囊、缓释片、栓剂、溶液型注射剂、颗粒剂等^[1], 其中韩国马来酸曲美布汀缓释片已经上市, 加拿大 Axcan Pharm 公司研制的马来酸曲美布汀缓释片正在进行临床研究。2000 年 6 月, 国家药品监督管理局批准马来酸曲美布汀及其片剂上市。TMB 普通制剂(100 mg)一天服用 3~4 次, 每次 1~2 片, 服用不方便。研制 TMB 缓释片, 旨在减少患者的服药次数, 提高患者的顺应性, 本品为 150 mg/片, 12 h 给药 1 次, 每次 1~2 片。

有人报道了 TMB 人体及小鼠的血药浓度 HPLC 测定法^[2], 人体药动学研究^[3]。这些研究都是通过静脉给药的方法来求算药动学参数, 本研究直接采用口服给药的方法来求算药动学参数。同时, 为了考察 TMB 缓释片在体内是否具有缓释作用, 根据国家药品监督管理局颁布的动物药物代谢动力学研究指导原则, 研究了 TMB 缓释片的家犬药动学。

1 药品与仪器

1.1 药品与试剂

TMB(河南援生制药集团); TMB 缓释片(自制, 150 mg/片, 批号 00053101); 市售 TMB 普通片(商品名: 舒丽启能, Cerekinon, 天津田边制药有限公司, 批号 9808001)。

正己烷、异丙醇: 苏州正兴化工研究所; 庚烷磺酸钠: 日本东京化成工业株式会社; 乙酸钠: 上海试剂四厂; 甲醇, 乙腈为色谱纯。

1.2 仪器

高效液相色谱仪(Waters 公司); Waters 2487 紫外检测器(Waters 公司); 80-2B 型离心机; 色谱工作站(SR2000, 上海三锐科技公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: ODS (Lichrospher5-C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.05 mol/L 醋酸缓冲液(加 5 mmol/L 庚烷磺酸钠, 用冰醋酸调 pH 值至 5.5)(75:25, v/v); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 267 nm; 灵敏度: 0.1 AUFS。分离度为 9.048。

2.2 血浆样品的色谱行为

在本实验所采用的色谱条件下, 内标盐酸维拉

帕米在 4.3 min 左右出峰, 马来酸曲美布汀在 9.2 min 左右出峰, 峰形良好, 无杂峰干扰测定(图 1)。

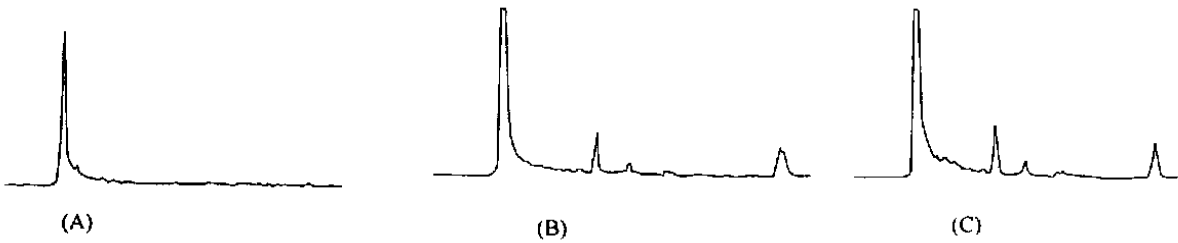


Fig 1. HPLC of (A)blank dog plasma, (B)dog plasma sample containing TMB(500 ng/ml) and verapamil(1 000 ng/ml), (C)dog plasma sample taken at 3 h after oral administration of TMB sustained-release tablets(300 mg) and spiked with verapamil(1 000 ng/ml)

2.3 血样的分离及处理

取静脉血 2 ml 置肝素化试管中, 3000 r/min 离心 10 min, 分离血浆备用。取 10 ml 具塞离心试管, 加入 3 μg/ml 盐酸维拉帕米 50 μl, 通入 N₂ 吹干。加入血浆 0.5 ml, 涡漩 20 s, 然后加入甲醇 1 ml, 5% 碳酸钠 1 ml, 加正己烷-异丙醇(99 :1, v/v) 3 ml, 涡漩 5 min, 4000 r/min 离心 10 min。取上清液 2.5 ml, 加 0.1 mol/L 盐酸, 涡漩 5 min, 4000 r/min 离心 10 min, 冷冻, 弃去有机相。水层用 N₂ 吹干, 残留物用 100 μl 流动相溶解, 涡漩 3 min, 取 10 μl 注入液相色谱仪。以内标法峰面积作标准曲线定量。

2.4 试验方案

单剂量试验 采用双周期交叉试验。家犬 6 只, 随机分成两组, A 组口服给予 TMB 缓释片 150 mg×2, B 组口服给予 TMB 普通片 100 mg×3。1 周后, A、B 两组进行交叉试验, A 组给予 TMB 普通片, B 组给予 TMB 缓释片。服药后 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 h 采血 2 ml 于肝素化的试管中, 离心后取血浆 0.5 ml 备用。

多剂量试验 采用双周期交叉试验。家犬 6 只, 随机分成两组 A、B, A 组口服给予 TMB 缓释片 150 mg×2, B 组口服给予 TMB 普通片 100 mg×3。第 1—4 天, 每只家犬每天给药 2 次, 给药时间第一次在 8:00 左右, 第二次在 20:00 左右, 每天给药前均采血一次。到第五天仅 8:00 左右给药一次。采血时间为给药后 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 h 采血 2 ml 于肝素化的试管中, 离心后取血浆 0.5 ml 备用。1 周后, A、B 两组进行交叉试验, A 组给予 TMB 普通片, B 组给予 TMB 缓释片。给药、采血方案相同。

2.5 标准曲线的制备

分别加入 3 μg/ml 盐酸维拉帕米 50 μl 于系列离心试管中, 然后分别取 100, 200, 500, 1 000, 2 500, 5 000, 10 000, 30 000, 50 000 ng/ml 标准溶液 50 μl 加入其内, 通入 N₂ 吹干, 分别加入空白血浆 0.5 ml, 加入甲醇 1 ml 和 5% 碳酸钠 1 ml, 加正己烷-异丙醇(99 :1, v/v)。涡漩 5 min, 4 000 r/min 离心 10 min。取上清液 2.5 ml, 加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 100 μl 涡漩 5 min, 4 000 r/min 离心 10 min。冷冻, 弃去有机相。水层用 N₂ 吹干, 残留物用 100 μl 流动相溶解, 涡漩 2 min, 精密量取 10 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算。C~A 回归, 在血浆浓度为 10~5 000 ng/ml 范围内, 标准曲线方程为 A₂/A₁=0.004827C+0.07675, (r=0.9992, n=9)。

2.6 回收率与精密度

分别配制加入内标的浓度为 10, 1000, 5000 ng/ml 血浆, 按照以上方法操作, 按峰面积计算回收率、日内差、日间差。结果见表 2。

Tab 2 Recoveries of TMB by HPLC(n=3)

Added (ng/ml)	Found (ng/ml)	Recovery (%)	RSD (%)
10	10.9	109	3.9
1000	968.2	96.8	4.3
5000	4715.3	94.3	2.5

Tab 3. Result of interday and intraday variance(n=3)

Conc. (ng/ml)	Interday (RSD, %)	Intraday (RSD, %)
10	5.8	6.7
1000	4.2	5.9
5000	5.4	6.2

2.6 单剂量试验

2.6.1 血药浓度的测定 按 2.3 项下方案给药, 取离心试管, 加入 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 盐酸维拉帕米 50 μl , 分别加入空白血浆样品 0.5 ml, 加入甲醇 1 ml 和 5% 碳酸钠 1 ml, 加正己烷-异丙醇(99:1, v/v)。涡漩 5 min, 4000 r/min 离心 10 min。取上清液 2.5 ml, 加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 100 μl , 涡漩 5 min, 4000 r/min 离心 10 min。冷冻, 弃去有机相。水层用 N_2 吹干, 残留物用 100 μl 流动相溶解, 涡漩 2 min, 精密量取 10 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按内标法以峰面积计算。TMB 缓释片与普通片的平均血药浓度-时间曲线见图 2。

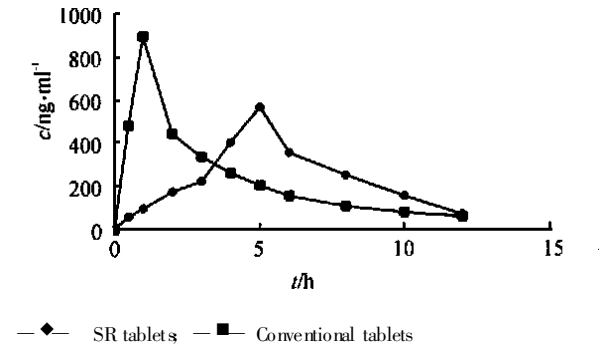


Fig 2. Mean TMB plasma concentration-time curve after single-dose oral administration of TMB sustained release tablets and TMB conventional tablets

2.6.2 药动学参数 按照中国药典(2000 年版二部)附录 XIX B 中“药物动力学数据处理”方法进行, $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 均为实测数据, 各参数经成组 t 检验。结果见表 4、5, 结果显示, A、B 两组家犬分别给予 TMB 缓释片 150 mg $\times$ 2 和 TMB 普通片, 所得药动学参数 $C_{\max}$ 分别为 638.1 ± 43.6 , 1036.4 ± 348.0 ; AUC 分别为 2751.3 ± 461.5 , 2685.3 ± 413.8 ; $T_{\max}$ 分别为 5.00 ± 0.89 , 0.83 ± 0.26 。缓释片与普通片比较, 达峰时间与平均驻留时间极显著延长($P < 0.01$), 达峰浓度显著降低($P < 0.05$), 其它药动学

Tab 4. Pharmacokinetic parameters in six dogs after single-dose oral administration of conventional tablets of TMB

	$C_{\max}$	$T_{\max}$	$T_{1/2}$	AUC	MRT	Cl/F
	(ng/ml)	(h)	(h)	(ng·h/ml)	(h)	(l/h)
A	871.5	1.00	2.99	2671.9	4.89	112.3
B	865.5	1.00	2.67	2575.2	4.11	116.5
C	1025.5	1.00	4.28	2708.7	5.05	119.6
D	856.3	0.50	4.10	2386.3	5.03	125.7
E	1734.5	1.00	2.26	3465.5	4.36	86.6
F	865.2	0.50	2.83	2304.1	3.95	142.6
$\bar{x}$	1036.4	0.83	3.19	2685.3	4.57	117.2
s	348.0	0.26	0.81	413.8	0.49	18.4

Tab 5. Pharmacokinetic parameters in six dogs after single-dose oral administration of sustained-release tablets of TMB and the t -test result

	$C_{\max}$	$T_{\max}$	$T_{1/2}$	AUC	MRT	Cl/F	F
	(ng/ml)	(h)	(h)	(ng·h/ml)	(h)	(l/h)	(%)
A	666.8	5.00	2.85	2418.5	5.85	124.0	90.51
B	680.4	4.00	2.88	2760.5	5.55	108.7	107.2
C	593.9	6.00	1.88	2933.6	5.73	83.1	108.3
D	584.3	5.00	2.11	2412.1	5.58	124.4	101.1
E	622.6	6.00	2.11	3579.0	6.55	83.8	103.3
F	680.4	4.00	2.13	2404.1	5.13	124.8	104.3
$\bar{x}$	638.1	5.00	2.33	2751.3	5.73	108.1	102.5
s	43.6	0.89	0.43	461.5	0.47	20.1	6.41
P	0.0430	0.0001	0.1088	0.3884	0.0050	0.2362	

参数的改变没有显著意义。以普通片为对照, 家犬给予 TMB 缓释片的相对生物利用度为 $(102.5 \pm 6.41)\%$ 。

2.7 多剂量试验

2.7.1 血药浓度的测定 按 2.3 项下方案给药, 按 2.6.1 项下血药浓度测定方法测定, C、D 两组家犬连续给药 4 d, 每天给药 2 次, 每次给药前均采血一次。所采平均血药浓度-时间曲线见图 3。由图 3 可见, 家犬连续给与 TMB 缓释片或普通片 4 d 后血药浓度已经没有向上增长的趋势, 基本达到稳态。C、D 两组家犬到第 5 天后测定所得的平均血药浓度-时间曲线如图 4。

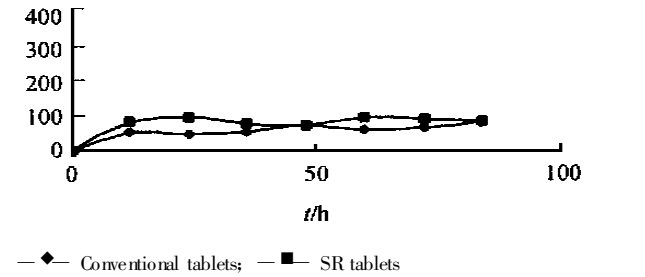


Fig 3. Mean TMB plasma $C_{\min}$ -time curve of eight doses in four days oral administration of TMB sustained release tablets and TMB conventional tablets

2.7.2 药动学参数 按照 2.6.2 项下方法进行, $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 均为实测数据, 各参数经双单侧 t 检验。结果见表 6、7, 结果显示, C、D 两组家犬分别按 2.3 项下方案多剂量给予 TMB 缓释片 150 mg $\times$ 2 和 TMB 普通片达稳态后, 所得药动学参数 $C_{\max}$ 分别为 534.9 ± 127.7 , 887.7 ± 318.4 ; AUC_{0- τ} 分别为 2742.0 ± 506.2 , 2650.4 ± 379.2 ; $T_{\max}$ 分别为 4.00 ± 0.63 , 1.17 ± 0.41 。缓释片与普通片比较, 稳态达峰时间极显著延长($P < 0.01$), 稳态达峰浓度显著降低($P < 0.05$), C_{ss} 、 $C_{\min}$ 、 $T_{1/2}$ 、AUC_{0- τ} 等药动学参

数的改变没有显著意义。以普通片为对照, 家犬给予TMB 缓释片的相对生物利用度为 $(103.0 \pm 4.7)\%$ 。

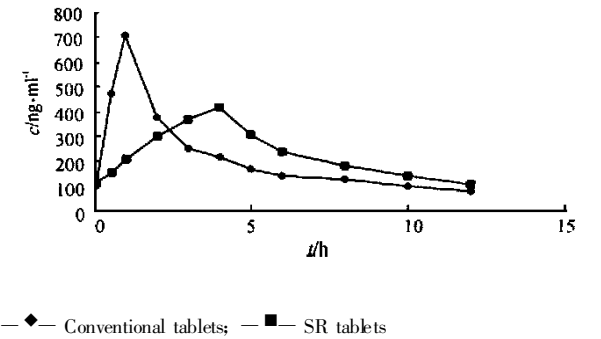


Fig 4. Mean TMB plasma concentration-time curve after eight doses oral administration of the fifth day TMB sustained release tablets and TMB conventional tablets

Tab 7. Pharmacokinetic parameters in six dogs after oral administration of sustained-release tablets of TMB(Bid. for 4 days) and the *t*-test

	$C_{\max}$ (ng/ml)	C_{ss} (ng/ml)	$C_{\min}$ (ng/ml)	$T_{\max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)	<i>FI</i>	$AUC_{0-\tau}$ (ng·h/ml)	<i>F</i> (%)
G	546.6	200.6	101.2	4	7.30	1.00	2207.7	98.0
H	467.5	179.7	95.5	5	5.07	1.07	2156.2	100.0
I	787.8	288.9	101.3	3	4.57	2.38	3466.9	111.5
J	474.9	250.2	100.5	4	4.10	1.50	3002.6	104.3
K	465.9	220.9	87.6	4	4.38	1.71	2650.9	101.1
L	467.0	247.3	97.3	4	4.22	1.49	2967.9	103.0
$\bar{x}$	534.9	231.3	97.2	4.00	4.94	1.52	2742.0	103.0
<i>s</i>	127.7	39.1	5.3	0.63	1.21	0.50	506.2	4.7
<i>P</i>	0.0175	0.0978	0.1685	0.0003	0.6034	0.0220	0.1787	

3 结论与讨论

1) 本实验建立了血浆中马来酸曲美布汀的HPLC 测定法, 血浆中杂质不干扰样品的测定, 线性关系良好($r=0.9992$); 最低检测限为 10 ng/ml; 相对回收率在 90% ~ 110% 之间; 日间差、日内差均小于 10.0%, 符合生物样本的分析要求。

2) 实验结果表明, 缓释片与普通片比较, 达峰时间与平均驻留时间极显著延长($P<0.01$), 达峰浓度显著降低($P<0.05$), 其它药动学的改变没有显著意义。以普通片为对照, 家犬给予 TMB 缓释片的相对生物利用度为 $(102.5 \pm 6.41)\%$ 。表明受试制剂 TMB 缓释片与参比制剂生物等效, 且具有缓释特征。

3) C、D 两组家犬连续给与 TMB 缓释片或普通片 4 d 后血药浓度趋稳。家犬分别多剂量给予 TMB 缓释片 $150\text{ mg} \times 2$ 和 TMB 普通片达稳态后,

Tab 6. Pharmacokinetic parameters in six dogs after multiple-dose oral administration of conventional tablets of TMB(Bid. for 4 days)

	$C_{\max}$ (ng/ml)	C_{ss} (ng/ml)	$C_{\min}$ (ng/ml)	$T_{\max}$ (h)	$T_{1/2}$ (h)	<i>FI</i>	$AUC_{0-\tau}$ (ng·h/ml)
G	861.6	187.7	90.1	1	4.06	1.66	2252.6
H	761.7	179.7	100.3	1	4.01	3.85	2156.9
I	1340.9	259.1	88.3	1	5.37	4.83	3109.3
J	545.7	239.8	99.0	2	4.62	1.86	2877.9
K	619.0	223.5	89.5	1	3.97	3.18	2622.8
L	1197.1	240.2	73.5	1	5.39	5.93	2882.7
$\bar{x}$	887.7	221.7	90.1	1.17	4.57	3.55	2650.4
<i>s</i>	318.4	31.6	9.6	0.41	0.67	1.67	379.2

缓释片与普通片比较, 稳态达峰时间极显著延长($P<0.01$), 稳态达峰浓度显著降低($P<0.05$), C_{ss} 、 $C_{\min}$ 、 $T_{1/2}$ 、 $AUC_{0-\tau}$ 等药动学参数的改变没有显著意义。表明受试制剂 TMB 缓释片与参比制剂达稳态的程度相同, TMB 缓释片稳态血药浓度的波动程度较小。

参考文献

[1] Delvaux M, Wingate D. Trimebutine; mechanism of action, effects on gastrointestinal function and clinical results[J] . *The J of Int Res*, 1997, **25**: 225-246.
[2] Eun-Hee Joo, Woo-Ik C, Injoon Oh. High-performance liquid chromatography determination of trimebutine and its major metabolite, *N*-monodemethyl trimebutine, in rat and human plasma[J] . *J of Chrom B*, 1999, **723**: 239-246
[3] Astier A, Deutsch AM. Quantitative high-performance liquid chromatographic determination of antispasmodic trimebutine in human plasma[J] . *J Chromatogr*, 1981, **224**: 149-155.

Pharmacokinetic Study on Trimebutine Maleate Sustained-release Tablets in Dogs

HE Fei, TU Jia-Sheng, YIN Lin-Lin, HU Yu-Lan, ZHANG Jun-Shou
Department of Pharmaceutic, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

ABSTRACT **AIM** Pharmacokinetics study on trimebutine maleate sustained-release tablets in dogs was carried out. **METHODS** An ion-pairing reversed-phase HPLC method was developed for determination of trimebutine in dogs plasma. Pharmacokinetics and bioavailability studies were compared with TMB sustained-release tablets and TMB conventional tablets. **RESULTS** The pharmacokinetic parameters in six dogs after single-dose oral administration of conventional tablets and sustained-release tablets of TMB were calculated. T_{max} and MRT had significant difference ($P < 0.01$). Relative bioavailability was 102.5%. The pharmacokinetic parameters in six dogs after multiple-dose oral administration of conventional tablets and sustained-release tablets of TMB; T_{max} , C_{max} , FI had significant difference ($P < 0.05$). **CONCLUSION** The TMB sustained-release tablets were able to maintain a sustained release for 12 h. **KEY WORDS** Trimebutine maleate sustained-release tablets; HPLC; Pharmacokinetic; Bioavailability

2000 年度国家科学技术奖励获奖项目 (药学及相关领域)

国家自然科学奖(二等奖)

共15 项, 其中药学及相关领域获奖 4 项:

- 1. Z-103-2-01 石杉碱的化学与药理研究;
- 2. Z-106-2-01 全反式维甲酸与三氧化二砷治疗恶性血液疾病的分子机制研究;
- 3. Z-106-2-02 神经性高频性耳聋等遗传性疾病基因的克隆和遗传疾病家系的收集;
- 4. Z-106-2-03 尿激酶原的结构和功能关系的研究。

(源自 科学新闻周刊 2001 年第 8 期)