

酮洛芬缓释片与常释片在健康受试者的药代动力学及生物利用度

高连用*, 李全胜, 顾以保, 刘昌孝

(国家医药管理局天津药物研究院, 天津 300193)

摘要 目的: 酮洛芬缓释片与常释片单次给药的生物利用度和多次给药的峰谷浓度波动大小。方法: 采用以萘普生(naproxen)为内标的 HPLC 测定方法, 测定健康男性受试者按交叉试验单剂量和多剂量服用酮洛芬缓释片和常释片后的血中酮洛芬浓度。结果: 单剂量服用酮洛芬缓释片和常释片后, 常释片的 C_{max} 显著高于缓释片($P < 0.01$), 缓释片给药后的 T_{max} 延迟, $t_{1/2ke}$ 显著延长, 相对生物利用度为 97.13%。缓释片在稳态时的 C_{min} 为 $0.401 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 而常释片为 $0.190 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P < 0.01$)。在稳态时缓释片的峰谷浓度波动度(DF)、峰谷比(PTR)都显著小于常释片, 说明缓释片的峰谷浓度波动程度优于常释片。结论: 经统计学检验表明这两种制剂具有生物等效性, 该缓释片具有峰谷浓度差异小, 波动幅度小的特点, 显示出缓释特征。

关键词 酮洛芬; HPLC; 单次和多次给药; 药代动力学; 生物利用度

酮洛芬(ketoprofen)是一具苯丙酸结构的非甾体类消炎、镇痛药物, 临床上广泛用于治疗风湿病等。其常释片在临床上多为每天给药 3 次, 每次 50 mg^[1,2]。但由于其胃肠道不良反应, 生物半衰期短, 有效血药浓度维持时间短等缺点, 国内外越来越多的药学工作者致力于酮洛芬新制剂的研究。国外已上市的酮洛芬制剂有胶囊、缓释制剂、栓剂、肌肉注射剂等^[3,4]。浙江宁波东海制药厂开发出了一种新的酮洛芬缓释片。为考察该缓释片在人体的药代动力学及生物利用度, 参考国外有关文献^[5,6], 建立了以萘普生(naproxen)为内标的简便准确的 HPLC 测定方法, 进行酮洛芬缓释片与常释片的单次给药的生物利用度比较研究和多次给药的峰谷浓度波动研究。这对评价新药质量, 指导临床合理用药有实际意义。

材料和方 法

药品与试剂 酮洛芬缓释片(ST): 浙江宁波东海制药厂提供, 每片含酮洛芬 75 mg, 批号: 951013。参比片为市售的酮洛芬常释片(RT): 西南合成制药厂生产, 每片含酮洛芬 50 mg, 批号: 9506023。甲醇为优级纯, 二氯甲烷和磷酸为分析纯, 水为超纯水。

仪器 日本岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪, 配以全自动 SIL-6A 进样器、RTO-6A 柱保温装置、SPD-6A 紫外检测器、SPD-6A 泵、C-R3A 数据处理系统, 各部分均由 SIL-6A 系统控制进行分析。Mill-QII 型超纯水器: 日本 Millipore 产品。

受试对象 10 位健康男性受试者, 年龄 29 ± 9 岁, 身高 171 ± 3 cm, 体重 62 ± 5 kg。受试者经全面体检, 肝肾功能(SGPT, BUN, Cr)和心电图正常, 符合试验要求, 试验前两周至试验结束未服用其它药物, 试验期间用统一中式餐, 试验期间不吸烟和饮用含乙醇的饮料, 试验前签订知情同意书。试验方案得到伦理委员会批准。

试验方案 (1) 单次给药试验: 8 位健康男性受试者按随机交叉试验设计, 分别服用酮洛芬缓释片和常释片各 150 mg。两次给药间隔时间两周。药物均用 200 mL 温水送服。各受试者服药前禁食过夜, 服药后 2 h 用统一餐。各受试者服药前及服药后 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 14.0 和 24.0 h 采静脉血 3 mL, 分离血清, 供测定血清酮洛芬浓度。并注意观察记录各受试者在试验期间的不良反应。

(2) 多次给药试验: 10 位健康男性受试者按随机交叉试验设计分成 2 组, 一组 5 人连续服用酮洛芬缓释片 3 天, 每天 2 次, 每次 1 片, 分别于 8:00 和 20:00 服用; 另一组 5 人连续服用酮洛芬常释片 3 天, 每天 3 次, 每次 1 片, 分别于 8:00, 14:00 和 20:00 服用。常释片于第 8, 9 次服药前采血, 缓释片于 5,

收稿日期: 1998-10-15

* Tel: (022)27381329, Fax: (022)27387536,

E-mail: gly@public.tpt.tj.cn

高连用 男, 33 岁, 助理研究员

刘昌孝 男, 57 岁, 研究员

6次服药前采血。两组受试者在第4天8:00继续服药一次,在服药前及服药后0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,6.0,8.0,12.0和24.0h采静脉血3mL,分离血清。两次给药间隔时间两周。并注意观察记录各受试者在试验期间的不良反应。

色谱条件 柱: C₁₈(ODS) 5 μm 250 × 4.6 mm (L × ID), 流动相: 甲醇—水(含0.03%磷酸) = 60:40(v/v), 流速: 0.9 mL · min⁻¹, 检测: UV 258 nm, 柱温: 40℃, 内标物(IS): 萘普生, 配成浓度为 100 μg · mL⁻¹的甲醇溶液。在此条件下, 酮洛芬与萘普生均有足够大的峰值和较好的分离度(见图1)。酮洛芬与萘普生的保留时间(RT)分别为10和13min。

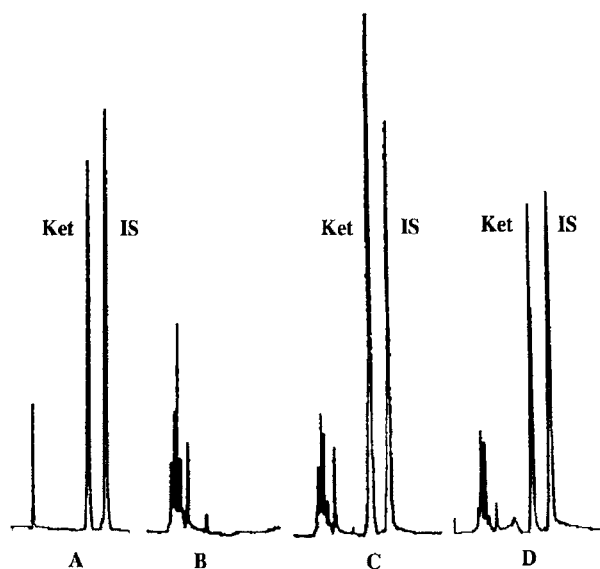


Fig 1 HPLC Chromatograms of ketoprofen standard solution (A), blank serum (B), serum 3 hours after oral dose of ketoprofen (C), and blank serum spiked with ketoprofen 2.5 μg · mL⁻¹ (D). Ket. Ketoprofen, IS. Internal standard (naproxen).

样品处理方法 取血清(空白血清、含药血清或服药后血清)0.5 mL于试管中,加入100 μg · mL⁻¹的内标50 μL,0.1 mol · L⁻¹的盐酸酸化,混匀,加入二氯甲烷5 mL,振荡、离心,取有机层4 mL,在40℃水浴中用氮气挥干,残留物加200 μL流动相溶解并移至微量样品瓶中进行HPLC分析。进样量为30 μL。

数据处理 单次服药试验:对血药浓度时间曲线下面积(AUC)采用孙瑞元教授等编制的新药统计程序(NDST4.1)进行方差分析和双向单侧t检验,判断缓释片与常释片是否生物等效。多次服药

试验:根据每位受试者多次服用酮洛芬缓释片与常释片后的C_{max}与C_{min}以及AUC计算出达稳态时的血药浓度波动度(DF)、峰谷比(Peak-Trough Ratio, PTR)和稳态时的平均血药浓度(C_{avg})。其计算公式分别为:PTR = C_{max}/C_{min}, C_{avg} = AUC/τ(式中τ为给药间隔),DF = (C_{max} - C_{min})/C_{avg}。

实验结果

1 测定方法的确定

1.1 标准曲线的制备 取酮洛芬标准溶液用甲醇配成浓度分别为0.020,0.050,0.100,0.500,1,2.5,5,10和20 μg · mL⁻¹的酮洛芬溶液,分别取上述浓度的酮洛芬溶液0.5 mL,用氮气挥干,分别加入0.5 mL血清,按上述样品处理方法处理。计算酮洛芬与内标物峰面积之比(R),得浓度(C)对峰面积比的回归方程:R = -0.00049 + 0.3383C (n = 9, γ = 0.999)。在血药浓度0.020~20 μg · mL⁻¹范围内具有良好的线性关系,且基本通过原点。

1.2 方法的精密度和准确度 按血清中酮洛芬标准曲线制备方法,进行0.10,1和10 μg · mL⁻¹低中高3种不同浓度样品日内和日间精密密度分析。每一浓度各做5个样品。结果见表1。此方法精密度高,变异系数均在10%以内,回收率高,检测限为0.02 μg · mL⁻¹,可以满足实验要求。

Tab 1 Precision and accuracy of the HPLC method to determine ketoprofen in human serum ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Concentration/ μg · mL ⁻¹	Within-day C/μg · mL ⁻¹	Within-day RSD/%	Between-day C/μg · mL ⁻¹	Between-day RSD/%	Recovery/ %
0.1	0.101 ± 0.0096	9.41	0.098 ± 0.007	7.14	99.1
1.0	1.092 ± 0.055	5.04	1.070 ± 0.066	6.17	105.6
10.0	9.246 ± 0.078	0.84	9.244 ± 0.052	0.56	99.7

2 单次服药试验研究数据

2.1 血清药物浓度 8位健康男性受试者一次服用酮洛芬缓释片和常释片后不同时间的血清药物浓度测定结果见图2。从实验结果可以看出,缓释片在给药后2~3h血药浓度最高,以后缓慢下降,到24h其血药浓度为0.05 μg · mL⁻¹左右;而常释片在给药后1~2h血药浓度最高,到24h其血药浓度为0.035 μg · mL⁻¹左右。缓释片一次服药后8h的浓度显著高于常释片的浓度,为常释片的3倍,缓释片12h的浓度为常释片的2倍,与常释片8h的浓度接近。

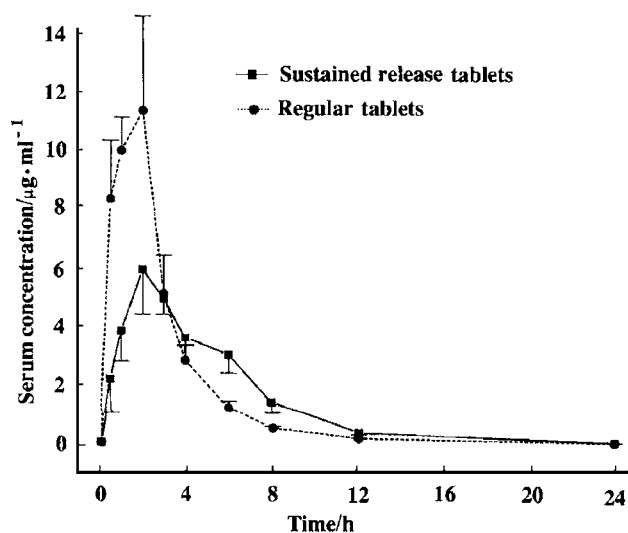


Fig 2 Serum concentration - time curve of ketoprofen in subjects after single oral dose (150 mg) of sustained release tablets and regular tablets in crossover design ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$).

2.2 药代动力学参数 每位受试者的血清药物浓度-时间数据用 3P87 程序处理, 所得的主要药代动力学参数列于表 2。从表中可以看出, 常释片的 C_{max} 显著高于缓释片的 C_{max} ($P < 0.01$), 缓释片给药后的达峰时间 (T_{max}) 延迟, 消除半衰期 ($t_{1/2ke}$) 显著延长, 与常释片相比均有非常显著差别 ($P < 0.01$)。

2.3 酮洛芬缓释片与常释片的相对生物利用度 由每位受试者交叉服用酮洛芬缓释片和常释片的血药浓度-时间曲线下面积 ($AUC_{0 \rightarrow 24}$) 计算出每位受试者的相对生物利用度 (见表 3)。结果表明, 缓释片相对于常释片的相对生物利用度为 97.13%。 $AUC_{0 \rightarrow 24}$ 经双向单侧 t 检验进行两种片剂的生物等效性分析, 证明两种制剂具有生物等效性。

Tab 2 The main pharmacokinetic parameters after single oral dose of sustained release tablets (ST) and reference tablets (RT) ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Parameter	ST	RT
$T_{1/2ke}/h$	$2.61 \pm 0.49^{**}$	1.37 ± 0.27
T_{max}/h	$2.03 \pm 0.30^{**}$	1.04 ± 0.12
$C_{max}/\mu g \cdot mL^{-1}$	$5.401 \pm 0.854^{**}$	10.283 ± 1.667
$AUC_{(0 \rightarrow \infty)}/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	33.136 ± 4.760	34.075 ± 4.312
$AUC_{(0 \rightarrow 24)}/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	32.941 ± 4.738	34.008 ± 4.308
$CL/L \cdot h^{-1}$	4.610 ± 0.666	4.463 ± 0.548
Vd/L	17.036 ± 2.005	8.809 ± 2.226

** $P < 0.01$ compared with RT.

Tab 3 The relative bioavailability of sustained release tablets

Subject No.	$AUC_{RT}/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	$AUC_{ST}/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	$f(AUC_{ST}/AUC_{RT})/\%$
1	40.409	39.794	98.48
2	29.468	34.370	116.63
3	29.587	27.127	91.69
4	32.489	27.008	83.13
5	39.340	38.373	97.54
6	30.245	31.899	105.47
7	35.864	34.496	96.19
8	34.661	30.463	87.89
x	34.008	32.941	97.13
s	4.308	4.738	10.44
RSD, %	12.66	14.38	

3 多次服药试验

3.1 血清药物浓度 10 位受试者连续服用酮洛芬缓释片和常释片后的血清药物浓度数据见图 3。结果显示, 缓释片在稳态时的 C_{min} 为 $0.401 \mu g \cdot mL^{-1}$, 而常释片的 C_{min} 为 $0.190 \mu g \cdot mL^{-1}$, 两者之间存在非常显著的差别 ($P < 0.01$)。缓释片与常释片在连续服药时最后一次给药后的血药浓度变化趋势基本与单次给药时的情况相似, 缓释片的血药浓度缓慢上升, 达峰后又缓慢下降; 而常释片的血药浓度则快速上升, 达峰后又快速下降。在给药后 3~24 h 内的对应时间点血药浓度都存在显著差别。缓释片停药后 12 h 的浓度为常释片停药后 8 h 浓度的 2 倍, 缓释片停药后 8 h 的浓度是常释片 8 h 浓度的 4 倍, 这种显著的差异, 表明缓释片的缓释效果。

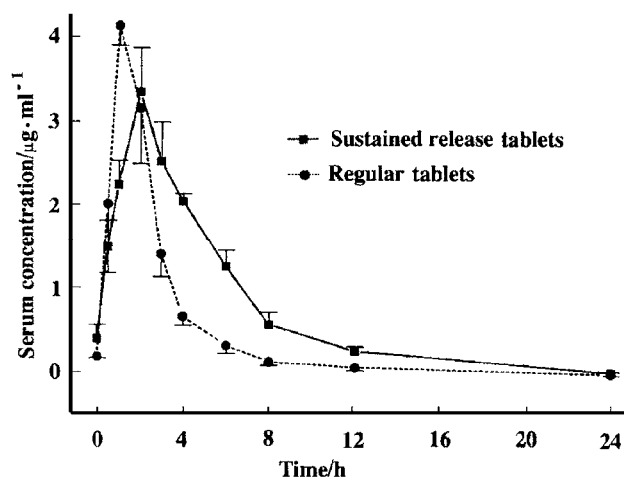


Fig 3 Serum concentration - time curve of ketoprofen in subjects after repeated oral dose of sustained release tablets and regular tablets in crossover design ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$).

3.2 药代动力学参数及峰谷浓度波动程度的比较

每位受试者连续服用酮洛芬缓释片和常释片后的血药浓度时间数据用 3P87 程序处理, 得到两种制剂的主要药代动力学参数, 并由此计算出缓释片和常释片多次给药后在稳态时的 DF, PTR, C_{avg} , 见表 4。可以看出缓释片的 PTR 和 DF 都显著小于常释片, 说明缓释片在稳态时的峰谷浓度波动程度小于常释片。

Tab 4 The main pharmacokinetic parameters after repeated oral doses of sustained release tablets and regular tablets ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Parameter	ST	RT
$T_{1/2ke}/h$	$2.38 \pm 0.44^{**}$	1.13 ± 0.20
T_{max}/h	$1.95 \pm 0.33^{**}$	1.00 ± 0.30
$C_{max}/\mu g \cdot mL^{-1}$	$2.780 \pm 0.248^{**}$	3.450 ± 0.361
$C_{min}/\mu g \cdot mL^{-1}$	$0.401 \pm 0.167^{**}$	0.190 ± 0.021
$AUC/\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	16.562 ± 1.441	10.501 ± 0.893
$CL/L \cdot h^{-1}$	4.559 ± 0.397	4.994 ± 0.763
Vd/L	15.611 ± 3.077	7.838 ± 1.896
PTR	$9.40 \pm 3.07^{**}$	22.04 ± 3.19
$C_{avg}/\mu g \cdot mL^{-1}$	1.380 ± 0.120	1.313 ± 0.111
DF	$2.170 \pm 0.286^{**}$	3.012 ± 0.238

** $P < 0.01$ compared with RT.

4 缓释片体内吸收与体外溶出度相关性分析

用不同时间(t)的 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 与 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 计算出缓释片不同时间的吸收分数。在给药后 1, 2, 3, 4, 6 和 8 h 其体内的吸收分数分别为 6.11%, 20.56%, 36.61%, 49.29%, 69.01% 和 82.20%。该制剂在 1, 2, 3, 4, 6 和 8 h 的体外溶出度分别为 21.5%, 34.7%, 46.5%, 56.0%, 75.2% 和 94.6%。将体内吸收分数与相应时间的体外溶出度进行相关性分析, 其相关系数 $\gamma = 0.993$, 表明两者间存在相关性。

讨 论

酮洛芬是一优于布洛芬的非甾体类抗炎镇痛药, 其作用强度是乙酰水杨酸的 150 倍, 而布洛芬与乙酰水杨酸相似^[8]。根据文献^[6]分析, 一次服药 100 mg 后 8 h 的血药浓度在 $0.1 \mu g \cdot mL^{-1}$ 左右, 表明其有效浓度在 $0.1 \mu g \cdot mL^{-1}$ 上下。本试验所用参比制剂为市售常释片剂, 一次口服给药 150 mg, 平均达峰时间为 1.04 h, 消除半衰期 $t_{1/2ke}$ 为 1.37 h,

与文献报道^[2,6,8]基本一致。

通过生物等效性分析, 表明酮洛芬缓释片和常释片具有生物等效性。说明缓释片的制剂工艺并不影响药物的吸收, 只是对其吸收速率起到调控作用, 达到控释药量, 延缓血药浓度衰减的目的。酮洛芬缓释片和常释片多次给药试验结果证明, 按每天给药 2 次, 即每隔 12 h 一次, 在稳态时, 缓释片的 C_{min} 在有效血药浓度之上, 也显著高于常释片在稳态时的 C_{min} , 缓释片的 C_{max} 则低于常释片, 因此缓释片具有峰谷浓度差异小, 波动幅度小的特点。由常释片每天给药 3 次改为缓释片每天给药 2 次, 既可使受试者的血药浓度维持在有效的治疗血药浓度水平, 且波动小, 又方便了用药, 显示缓释片的缓释特征。因此说明该缓释片是一安全有效、优于常释片的新制剂。鉴于目前国内尚无开发本品的缓释制剂的报道, 因此开发本品对满足临床用药是有价值的。

另外, 本试验所建立的测定血药浓度方法, 与文献^[5,8]相比, 具有样品提取分离处理方法简便、灵敏, 也不需用特殊技术, 适合于一般实验室应用。

References

- 1 Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Public Health, P. R. China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (1995 Edition) (Part II). Beijing: Chemical Industry Press. 1995. 999
- 2 Chen XL (陈新谦), Jin YU (金有豫), eds. *New Materia Medica* (新编药理学). 13th Edition. The People's Health Publishing House, 1992. 165
- 3 Veys EM. Twenty years experience with ketoprofen. *Scand J Rheumatol Suppl*, 1991, **90**(Suppl 1):44
- 4 Avouac B, Teule M. Ketoprofen: The European experience. *J Clin Pharmacol*, 1998, **28**(12 Suppl):S2
- 5 Wanwimolruk S, Wanwimolruk SZ, Zoest AR. Sensitive HPLC assay for ketoprofen in human plasma and its application to pharmacokinetic study. *J Liq Chromatogr*, 1991, **14**:3685
- 6 Bannwarth B, Lopicque F, Netter P, et al. The effect of food on the systemic availability of ketoprofen. *Eur J Clin Pharmacol*, 1988, **33**:643
- 7 Li Dakui (李大魁), ed. *Handbook of Modern Clinical Medicine* (现代临床药物手册). Beijing: Chinese Medicinal Science and Technology Press. 1993. 37
- 8 Kitaro O, Shugi A. Highly sensitive determination of ketoprofen in human serum and urine and its application to pharmacokinetic study. *J Chromatogr*, 1985, **345**:419

COMPARISON OF PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY OF REGULAR TABLETS KETOPROFEN AND ITS SUSTAINED RELEASE TABLETS IN HEALTHY VOLUNTEERS

Gao Lianyong (Gao LY), Li Quansheng (Li QS), Gu Yibao (Gu YB) and Liu Changxiao (Liu CX)

(*Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193*)

ABSTRACT AIM: To compare the pharmacokinetics and bioavailability of ketoprofen sustained release tablets (ST) with those of regular tablets (Reference tablet, RT) in 10 healthy volunteers after single and repeated oral administrations in randomized crossover design. **METHODS:** A sensitive and rapid HPLC method was used to determine the serum ketoprofen concentration. **RESULTS:** The results from single oral dose in 8 healthy volunteers indicated that the C_{\max} of RT was significantly higher than that of ST. The T_{\max} and $t_{1/2kc}$ of ST were significantly longer than those of RT ($P < 0.01$). The relative bioavailability of ST was found to be 97.13%. As there was no difference in the AUC between the two preparations, it can be concluded that the new sustained release tablet was bioequivalent to RT. The C_{\min} of ST and RT at steady state were $0.401 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $0.190 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, with a significant difference ($P < 0.01$) between them. The ketoprofen concentration peak-trough ratio (PTR) and the degree of fluctuation (DF) of ST were significantly smaller than those of RT. **CONCLUSION:** The new sustained release tablet showed less fluctuation of peak and trough serum drug concentrations than those of the regular tablet at steady state and exhibited good sustained release property.

KEY WORDS ketoprofen; HPLC; pharmacokinetics; bioavailability