

硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片的人体药代动力学与生物利用度

潘卫三*, 吴涛, 尹飞¹, 陈济民, 张汝华, 王新

(沈阳药科大学药剂教研室, 沈阳 110015; ¹ 辽宁省肿瘤医院药剂科, 沈阳 110042)

摘要 目的: 研究自制硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片与进口控释片的人体药代动力学与生物利用度。方法: 利用高效液相色谱荧光检测法, 采用交叉实验设计对本品和进口硫酸沙丁胺醇控释片进行人体生物利用度对照研究。结果: 硫酸沙丁胺醇控释片与进口硫酸沙丁胺醇控释片的血药浓度曲线下面积 AUC 分别为 $(63.67 \pm 10.37) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(60.21 \pm 11.95) \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 最大血药浓度 C_{max} 分别为 $(8.60 \pm 1.93) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(8.20 \pm 1.40) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 达峰时间 T_{max} 分别为 $(6.3 \pm 1.0) \text{ h}$ 和 $(6.8 \pm 1.3) \text{ h}$, 多剂量给药达稳态时血药浓度波动系数 FD 分别为 1.09 ± 0.23 和 1.14 ± 0.25 。结论: 经方差分析和双单侧检验, 两种制剂生物等效。

关键词 硫酸沙丁胺醇; 渗透泵; 相对生物利用度; 药代动力学

渗透泵控释制剂 (osmotic pump controlled release system) 是缓释、控释制剂的代表, 是药物传递系统 (drug delivery system) 的一种, 它以零级释放为根本特征, 能够以预先设定的释药速率释放出一定量的治疗药物, 不受释药环境 pH 值的影响, 释药速率恒定, 从而避免普通口服制剂造成的血药浓度波动较大的现象, 极大地提高药物的安全性和有效性^[1~5]。这种新型控释制剂的技术关键是采用激光打孔法, 片剂内产生很高的渗透压, 使药物从片剂上的小孔中定量恒速地释放出来, 从而达到良好的控制释放效果, 是一种良好的给药系统。国外已有渗透泵制剂的产品上市。国内关于渗透泵的研究报道极少, 本文选择硫酸沙丁胺醇为模型药物制备了硫酸沙丁胺醇 (渗透泵) 控释片, 并以英国 Glaxo 公司的硫酸沙丁胺醇控释片 (商品名为全特宁, 以下简称市售片) 为对照药品, 进行了人体相对生物利用度和药代动力学的研究。

材料与 方法

仪器、药品与试剂 高效液相色谱仪 (PU-980, Jasco), 荧光检测器 (RF-535 Shimadzu), KF1 型控释片剂激光打孔机 (中国药科大学), 全特宁 (硫酸沙丁胺醇控释片, 英国葛兰素公司, 批号 W9307CB, 8 mg/片), 硫酸沙丁胺醇控释片 (沈阳药科大学, 批号 980226, 8 mg/片), 磷酸二异辛酯 (化学纯, 北京

旭东化工厂), 乙腈为色谱纯, 聚维酮 K30 (PVP, 河南开源药厂); 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 沈阳化学试剂厂); 氯化钠 (青岛第二制药厂); 羟丙基甲基纤维素 (HPMC, 山东肥城瑞泰化工有限公司); 聚乙二醇 1500 (PEG 1500, 上海化学试剂采购供应站); 醋酸纤维素 (乙酰化率 39.8%, 美国 Eastman 公司)。

受试者 12 名男性健康志愿受试者, 平均年龄 (22.8 ± 1.8) 岁, 平均体重 $(65.3 \pm 7.6) \text{ kg}$, 经肝肾功能、心电图及血液常规检查合格, 签定志愿者同意书参加本实验。

1 硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片的制备

将硫酸沙丁胺醇与氯化钠、PVP 及 CMC-Na 分别过 40 目筛后混匀, 加入 75% 乙醇制软材, 过 20 目筛后制粒, 40℃ 干燥 12 h, 18 目筛整粒, 加入适量硬脂酸镁, 混匀压片, 即得片芯。醋酸纤维素、HPMC 和 PEG 1500 溶解于二氯甲烷和甲醇的混合溶媒中, 混合均匀, 即得包衣溶液。将片芯置于包衣锅内, 吹入热空气, 待温度为 50℃ 后, 进行包衣。包衣液输入速度为 $0.6 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$, 压力为 24.4 kPa, 包衣锅内温度为 40℃, 直至片芯外包衣膜的厚度达到预定标准为止, 继续吹入热空气 0.5 h, 然后将包衣片在干燥箱中 40℃ 下干燥 48 h。取上述干燥完毕的包衣片, 根据预实验结果, 用 KF1 型控释片剂激光打孔机在包衣外膜一侧上打成孔径为 0.4 mm 的小孔, 即得硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片。

2 生物样品测定方法

2.1 色谱条件 用高效液相荧光色谱法检测血浆中的沙丁胺醇, 激发波长为 280 nm, 发射波长为 310

收稿日期: 1998-11-23

* Tel: (024) 23843711 - 3735, Fax: (024) 23882915,

E-mail: panwsan@pub.sy.inpta.net.cn

nm。固定相为 Hypersil ODS2 色谱柱(5 μm, 200 mm × 4.6 mm), 流动相为乙腈-0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾(8:92), 用磷酸调至 pH 3.2。柱温为室温。流速为 0.8 mL·min⁻¹。

2.2 血样制备方法 精密量取离心后的血浆 2 mL, 置于 10 mL 带塞试管中, 加入内标液阿替洛尔(9.98 μg·mL⁻¹) 5 μL, 加入 pH 9.0 缓冲液 0.5 mL, 振荡 30 s, 加入 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二异辛酯的二氯甲烷溶液(简称 DEHP) 5 mL, 振荡 10 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离有机层并转移到另一个 10 mL 带塞试管中, 分两次加入 0.5 mol·L⁻¹ H₃PO₄ 溶液 0.5 mL, 振荡 10 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后, 分离后合并水层, 将水层转移到另一试管中, 离心 10 min, 取上清液进样 100 μL。

记录色谱峰面积, 以浓度(C)对峰面积比 A(A_标/A_{内标})作图, 得标准曲线及回归方程 A_标/A_{内标} = 0.0563 C - 0.0022, 其线性关系良好(γ = 0.9993), 线性范围是 1.96 ~ 19.68 ng·mL⁻¹。本方法的平均回收率为 100.2%, 日内及日间相对标准偏差分别为 3.71% 和 4.10%, 最低检测浓度为 1.77 ng·mL⁻¹。

3 方法设计

3.1 单剂量试验 受试者随机分为两组, 禁食 12 h 后分别服用受试片与市售片各一片, 分别在服药后不同时间取静脉血 5 mL, 置于带抗凝剂的离心试管中, 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 然后置 -20 °C 冰箱保存待用。间隔一周后交叉服药, 同样时间采血。受试者在受试期间禁烟酒, 统一进标准餐, 并且在实验前两周内及实验期间不得服用其他药物(以下同)。

3.2 多剂量实验 受试者随机分为两组, 禁食 12 h 后分别服用受试片与市售片, 每日 2 次, 每次 1 片, 连服 6 d, 为了测定 3 次谷浓度, 在 d 7 第 1 次服药后的 12 h(即 d 7 第 2 次服药后的 0 h), 24 h(即 d 8 服药后的 0 h) 取静脉血 5 mL; 另外, 在 d 8 服药后的不同时间取静脉血 5 mL, 置于带抗凝剂的试管中, 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 然后置 -20 °C 冰箱保存待用。间隔一周后交叉服药, 同样时间采血。

4 数据处理

4.1 单剂量 由药-时曲线尾部几个点的血药浓度对数对时间 t 进行回归, 由直线斜率求算消除速度常数 Ke(h⁻¹), 并由此计算 T_{1/2}(h)。药-时曲线下面积 AUC_{0-t}(ng·h·mL⁻¹) 以梯形法计算; AUC_{0-∞}

由 AUC_{0-t} 加上残余部分 C/Ke 得到。峰浓度 C_{max} 和达峰时 T_{max} 从药时曲线上直接读出。

4.2 多剂量 同单剂量实验类似, 由最后一个给药周期药-时曲线计算 Ke(h⁻¹), 并求得 T_{1/2}(h) 和 AUC_{0-t}(ng·h·mL⁻¹), 峰浓度 C_{max} 和达峰时间 T_{max} 从药时曲线上直接读出。波动系数由下式计算:

$$FD = (C_{max} - C_{min}) / AUC_{av}; AUC_{av} = AUC_{0-t} / 12$$

结 果

1 单剂量实验结果

12 名受试者口服自制控制释片和市售片的血药浓度-时间曲线见图 1, 药代动力学参数以及用梯形法计算的两种制剂的 AUC 见表 1。由实验结果可见, 自制控制释片与市售片的峰浓度 C_{max} 和达峰时间 T_{max} 较为接近, 表明两者在体内的释药趋势相似。

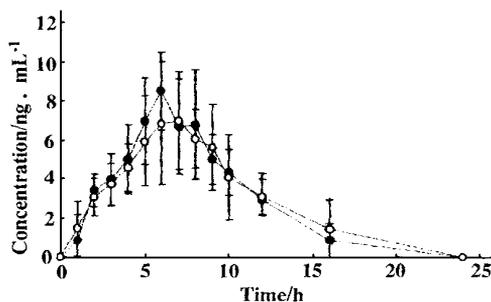


Fig 1 Plasma drug concentration of salbutamol sulfate versus time curve for 12 subjects after single oral dose of self prepared controlled tablet (8 mg) and imported tablets (8 mg). • Self prepared tablets; ○ Imported tablets.

Tab 1 Mean pharmacokinetic parameters of salbutamol sulfate after single oral dose of 8 mg to 12 healthy volunteers

Parameters	Self prepared controlled tablet	Imported tablet
Ke / h ⁻¹	0.18 ± 0.08	0.14 ± 0.05
T _{1/2} (Ke) / h	4.82 ± 2.54	6.73 ± 2.54
C _{max} / ng·mL ⁻¹	8.05 ± 2.10	8.49 ± 2.10
AUC / ng·h·mL ⁻¹	63.0 ± 15.2	60.8 ± 19.6
T _{max} / h	5.7 ± 1.8	7.0 ± 1.1

2 多剂量实验结果

12 名受试者口服自制控制释片和市售片的经时血药浓度-时间曲线见图 2, 其药代动力学参数及用梯形法计算的两种制剂达稳态血药浓度时在一个给药周期内的 AUC 见表 2。多剂量给药达稳态时, 两种制剂的 C_{max} 和波动系数较为接近, 说明两种制剂

的控释效果相似。

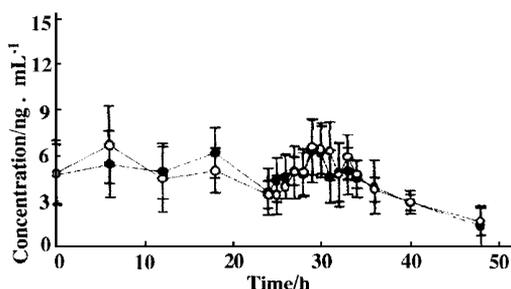


Fig 2 The mean plasma drug concentration of salbutamol sulfate versus time curve for 12 subjects after multiple oral administration (8 mg/ tablet). The tablets were given at 6 a. m. and 6 p. m. for 7 days and at 6 a. m. on the 8th day. The blood samples were taken before the first dose and every 6 hour after the first dose was given on the 7th day. Blood samples were also taken at different time immediately after the tablet was given on the 8th day. • Self prepared tablets; ○ Imported tablets.

Tab 2 The pharmacokinetic parameters for multiple dose administration. The tablets were given at 6 a. m. and 6 p. m. for 7 days and at 6 a. m. on the 8th day. The blood samples were taken before the first dose and every 6 hour after the first dose was given on the 7th day. Blood samples were also taken at different time immediately after the tablet was given on the 8th day

Parameters	Self prepared controlled tablet	Imported tablet
$AUC_{0-\infty} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	58.03 ± 11.46	58.46 ± 6.69
T_{\max} / h	6.6 ± 2.3	6.17 ± 1.59
$C_{\max} / \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	7.81 ± 0.71	8.20 ± 1.01
$C_{\min} / \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.63 ± 1.46	3.32 ± 0.89
FD	0.91 ± 0.34	1.01 ± 0.21
K / h^{-1}	0.11 ± 0.04	0.07 ± 0.02
$T_{1/2} / \text{h}$	11.27 ± 5.37	11.83 ± 5.14

3 生物等效性评价

3.1 单剂量实验 将受试片与市售片血药浓度曲线下的面积 AUC, C_{\max} , T_{\max} 分别进行 3 因素方差分析(周期、制剂、个体)。经方差分析可知,两种制剂的 AUC, C_{\max} 和 T_{\max} 均无显著性差异 ($\alpha = 0.05$)。采用双单侧检验法,统计检验量为:

$$T_1 = [(\mu_T - \mu_R) - \text{Ln}0.8] / [s(2/n)^{1/2}] \quad (1)$$

$$T_2 = [\text{Ln}1.25 - (\mu_T - \mu_R)] / [s(2/n)^{1/2}] \quad (2)$$

μ_T 和 μ_R 分别为受试片和市售片的 AUC 经对数变换后的均值, s 为样本误差均方的平方根。

3.1.1 AUC 的双单侧检验结果

由方差分析得 $s = (0.0286)^{1/2} = 0.1691$, 将 μ_T 和 μ_R 及 $n = 12$, 分别代入(1)和(2)式中计算,取 $\alpha = 0.05$, 得:

$$T_1 = [(4.131 - 4.068) - \text{Ln}0.8] / [0.1691 \times (2/12)^{1/2}] = 4.145$$

$$T_2 = [\text{Ln}1.25 - (4.131 - 4.068)] / [0.1691 \times (2/12)^{1/2}] = 2.320$$

3.1.2 C_{\max} 的双单侧检验结果

将 $s = (0.0433)^{1/2} = 0.2080$, μ_T 和 μ_R 及 $n = 12$, 代入(1)和(2)式中计算,取 $\alpha = 0.05$, 得:

$$T_1 = [(2.1841 - 2.1811) - \text{Ln}0.8] / [0.2080 \times (2/12)^{1/2}] = 2.66$$

$$T_2 = [\text{Ln}1.25 - (2.1841 - 2.1811)] / [0.2080 \times (2/12)^{1/2}] = 2.59$$

3.2 多剂量实验 对这两种制剂的 AUC, C_{\max} 进行双单侧检验, 3 因素方差分析(周期、制剂、个体)结果表明: AUC, T_{\max} 和 FD 在个体间存在显著性差异, 其它各项均无显著性差异 ($\alpha = 0.05$)。

3.2.1 AUC 的双单侧检验结果

将 $s = (0.0104)^{1/2} = 0.1020$, μ_T , μ_R 和 $n = 12$, 代入(1)和(2)式中计算, 得:

$$T_1 = [(4.080 - 4.087) - \text{Ln}0.8] / [0.1020 \times (2/12)^{1/2}] = 5.191$$

$$T_2 = [\text{Ln}1.25 - (4.080 - 4.087)] / [0.1020 \times (2/12)^{1/2}] = 5.527$$

3.2.2 C_{\max} 的双单侧检验结果

将 $s = (0.0055)^{1/2} = 0.0742$, μ_T , μ_R 和 $n = 12$, 代入(1)和(2)式中计算, 得:

$$T_1 = [(2.0709 - 2.1398) - \text{Ln}0.8] / [0.0742 \times (2/12)^{1/2}] = 5.092$$

$$T_2 = [\text{Ln}1.25 - (2.0709 - 2.1398)] / [0.0742 \times (2/12)^{1/2}] = 9.641$$

T_1 和 T_2 服从自由度为 ν 的 T 分布, 查 T 单侧分位数表: $T_{1-0.05(12)} = 1.812$, 由以上计算可知, 单剂量与多剂量中 AUC 与 C_{\max} 双单侧检验的 T_1 和 T_2 均大于 1.812。所以, 拒绝原假说 $H_0: \mu_T - \mu_R \leq \theta_1$ 或 $\mu_T - \mu_R \geq \theta_2$, 接受备选假说 $H_1: \theta_1 \leq \mu_T - \mu_R \leq \theta_2$, 认为自制片与市售片生物等效。

由单剂量实验计算 AUC 的 90% 置信区间为:

$$\text{上限: } (\mu_T - \mu_R) + T_{1-0.05(12)} [s(2/n)^{1/2}]$$

$$\text{下限: } (\mu_T - \mu_R) - T_{1-0.05(12)} [s(2/n)^{1/2}]$$

计算所得实际的上下限为 0.1881 和 -0.0621, 经反对数换算的 90% 置信区间为 86.67% ~

133.38%, 自制控释片的相对生物利用度为 103.62%, 说明两种制剂生物等效。

讨 论

沙丁胺醇是选择性 β_2 肾上腺能受体激动剂, 主要用于治疗支气管哮喘^[6]。目前, 临床上常使用其硫酸盐的速释口服制剂, 但作用时间较短, 仅为 6 h 左右。为了使药物作用时间延长并使其血药浓度更稳定, 本文制备每天只需口服两次的硫酸沙丁胺醇渗透泵控释片。

鉴于渗透泵控释技术在国内刚起步, 本文选择了进口市售片作为参比制剂。本文实验结果表明, 自制片与进口片在 AUC , C_{max} , T_{max} 及 K , $T_{1/2}$ 等药代动力学参数无显著差异, 两者的波动系数 FD 分别为 1.09 和 1.14, 经方差分析与双单侧检验, 可判定两者生物等效。

判断生物等效性的正确与否, 不仅与所选择的统计学方法有关, 而且还与实验的样本容量有关^[7]。双单侧检验可避免由于个体差异过大所造成的错误判断, 是一种较为理想的评价生物等效性的方法。本研究为国产渗透泵控释制剂的临床应用

提供了理论基础。

References

- 1 Chien Y W. Parenteral controlled release drug administrations. In: *Novel Drug Delivery System*. New York: Marcel Dekker Inc, 1992. 219 ~ 304
- 2 Santus G, Baker R W. Osmotic drug delivery: a review of the patent literature. *J Controlled Release*, 1995, **35**: 1
- 3 Cheung WK, Silber BM, Yacobi A. Pharmacokinetic principles in the design of immediate-release components in sustained-release formulation with zero order release characteristics. *J Pharm Sci*, 1991, **80**: 142
- 4 Herbig SM, Cardinal JR, Korsmeyer RW, et al. Asymmetric membrane tablet coating for osmotic drug delivery. *J Controlled Release*, 1995, **35**: 127
- 5 Guedes JP, Couet W. Simulation of the effect of variable duration of absorption on steady-state plasma levels of drugs administered orally as zero order delivery systems. *J Controlled Release*, 1997, **46**: 197
- 6 Cullum VA, Farmer JB, Jack D, et al. Salbutamol: a new selective β_2 -adrenoceptive receptor stimulant. *Brit J Pharmacol*, 1969, **35**: 141
- 7 Shuirmann DJ. A comparison of the two-sided tests procedure and the approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinetic Biopharm*, 1987, **15**: 657

STUDY ON THE HUMAN PHARMACOKINETICS AND RELATIVE BIOAVAILABILITY OF SALBUTAMOL SULFATE ORAL OSMOTIC PUMP CONTROLLED TABLETS

Pan Weisan(Pan WS), Wu Tao(Wu T), Yin Fei(Yin F),
Chen Jimin(Chen JM), Zhang Ruhua(Zhang RH) and Wang Xin(Wang X)

(Department of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015)

ABSTRACT **AIM:** To prepare salbutamol sulfate osmotic pump controlled tablet and study the pharmacokinetics and relative bioavailability of two kinds of salbutamol sulfate oral osmotic pump controlled tablets in healthy volunteers. **METHODS:** Tablet core, made mainly of sodium chloride, was coated with cellulose acetate and then drilled by laser to make osmotic pump controlled tablets. HPLC method was employed to detect the plasma drug concentration in 12 healthy volunteers. Two one-sided tests and analysis of variance were performed to evaluate the bioequivalence of the two formulations. **RESULTS:** The pharmacokinetic parameters of self prepared controlled tablets and imported tablets were listed below: T_{max} were (6.30 ± 1.0) h and (6.8 ± 1.3) h, C_{max} were (8.60 ± 1.93) $ng \cdot mL^{-1}$ and (8.20 ± 1.40) $ng \cdot mL^{-1}$, AUC were (63.67 ± 10.37) $ng \cdot h \cdot mL^{-1}$ and (60.21 ± 11.65) $ng \cdot h \cdot mL^{-1}$ respectively. For multi dose administration, the fluctuation degree (FD) were 1.09 ± 0.23 and 1.14 ± 0.25 respectively. **CONCLUSION:** The two formulations were found to be bioequivalent.

KEY WORDS salbutamol sulfate; osmotic pump; relative bioavailability; pharmacokinetics