

文章编号：(2007)01-0020-06

脱卷积法对盐酸普罗帕酮缓释微丸体内外相关性

于杰, 邹梅娟, 邓春霞, 万英, 任君刚, 程刚

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要：目的 采用脱卷积法进行盐酸普罗帕酮缓释微丸体内外相关性的研究。方法 以盐酸普罗帕酮普通片的犬体内血药质量浓度数据为权函数，根据自制盐酸普罗帕酮缓释微丸试验犬体内血药质量浓度数据，采用脱卷积法计算体内释药特性，与相应的体外释药特性进行比较，考察体内外相关性。结果 用脱卷积法计算自制盐酸普罗帕酮缓释微丸的体内外释药相关性良好。结论 脱卷积法适用于自制盐酸普罗帕酮缓释微丸的体内外相关性研究。

关键词：药剂学；脱卷积法；体内外相关性，盐酸普罗帕酮；缓释微丸

中图分类号：R943

文献标识码：A

开发和评价体内外相关性 (IVIVC) 的主要目的是确定以体外溶出实验代替人体生物等效性实验，从而减少生物等效性研究的数量、降低开发成本。因此，体内外相关性研究对药物制剂开发，特别是缓控释制剂的开发极为重要。缓、控释制剂体外实验与体内实验的相关性评价方法^[1,2]有：隔室模型依赖法、逆卷积分法、应用统计矩原理建立体外释放的平均时间 (MDT) 与体内平均滞留时间 (MRT) 之间的相关关系、释放时间点对应药物动力学参数的线性关系的考察方法等。一般所采用的隔室模型虽然计算方法简单，数据的点对点的对应能较完整地反映制剂中药物的体外释放和体内吸收之间的相关关系，但吸收分数的计算引入了消除速率常数 k ，且缓释制剂体内的尾段数据常混杂有吸收相，而且动力学实验中的选点偏差及尾段数据低浓度点的分析测定误差较大，所以根据缓控释制剂的药时数据得到的 k 值与实际 k 值有一定偏差。因此目前国外普遍采用 FDA 所推荐的逆卷积分法进行体内外相关性研究。

1 仪器与试药

BS110S 精密分析天平 (德国赛多利斯仪器公司), ZRD6-B 型药物溶出仪 (上海黄海药检仪器厂), SLJ- 电动离心机 (沈阳市理化仪器厂), YKH- 液体快速混合器 (江西电动器械厂)。

盐酸普罗帕酮片 (中诺药业有限公司, 批号: 04055001, 50 mg/片), 自制盐酸普罗帕酮缓释微丸 (沈阳药科大学, 批号: 051203), 乙腈 (色谱纯, 山东禹王化工有限公司), 甲醇 (色谱纯, 山东禹王化工有限公司), 磷酸二氢铵 (分析纯, 汕头西陇化工厂), 乙醚 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心), 氨水 (分析纯, 沈阳市辽中精细化工厂), 磷酸 (分析纯, 沈阳化学试剂厂), 氯化铵 (分析纯, 天津博迪化工有限公司)。

2 方法

2.1 给药方案

采用自身对照交叉试验设计法, 分别给试验犬口服参比制剂 (盐酸普罗帕酮普通片)、受试制剂

收稿日期: 2006-05-22

作者简介:于杰 (1980-), 女 (汉族), 辽宁沈阳人, 硕士研究生; 程刚 (1963-), 男 (汉族), 辽宁康平人, 教授, 主要从事药剂学研究, Tel. 024-23986326, E-mail chenggang63@hotmail.com。

(自制盐酸普罗帕酮缓释微丸), 分别相当于主药 200 mg 和 225 mg, 按实验安排表(表 1) 给药, 2 次给药时间间隔为 1 周, 实验在早上空腹口服给药, 同时饮水 100 mL, 4 h 后统一进食。

Table 1 Experimental schedule in dogs for different formulations

Period	No. of dogs					
	1	2	3	4	5	6
I	Test	Test	Test	Reference	Reference	Reference
II	Reference	Reference	Reference	Test	Test	Test

2.2 样品采集与处理

给药后不同时间抽取股静脉血 4 mL, 血样置肝素抗凝管中, 离心 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 10 min, 血浆置 -20 °C 冰箱中待测。给药前给药后第 0.25、0.50、0.75、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、4.00、5.00、6.00、8.00、12.00、24.00 h 进行了血样采集。

2.3 血浆样品分析

色谱条件: 色谱柱: CenturySIL BDS 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 大连江申分离科学仪器公司), 检测波长: 220 nm, 流动相: 甲醇-乙腈-0.067 mol·L⁻¹ 磷酸二氢铵 (体积比为 30:22:48), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 室温, 灵敏度: 0.01 AUFS。

血浆样品处理: 取血浆 1.0 mL, 加内标盐酸氯丙嗪溶液 (40 mg·L⁻¹) 25 μL, 涡旋, 加入体积分数为 0.2 % 的磷酸与氨-氯化铵缓冲液 (pH 10) 各 100 μL 涡旋 10 min, 加入 3 mL 重蒸乙醚涡旋 10 min, 离心 5 min, 取出有机层, 加入 1 mol·L⁻¹ 磷酸 200 μL 涡旋 10 min, $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取酸层 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 进样 50 μL。

2.4 数据处理

采用梯形法计算药时曲线下面积 AUC; 达峰质量浓度 ρ_{max} 和达峰时间 t_{max} 均从药时曲线上观察得到; 由药时曲线尾部 4 个点的血药浓度数据的对数值对时间 t 进行线性回归, 由直线斜率求消除速率常数 k (h⁻¹) 并计算 $t_{1/2}$ (h)。

2.5 体内外相关性考察

采用脱卷积法, 根据试验犬体内药动学试验结果计算体内吸收或释放分数, 与相应时间点的体外累积释放百分数作线性回归, 考察制剂的体内外相关性。

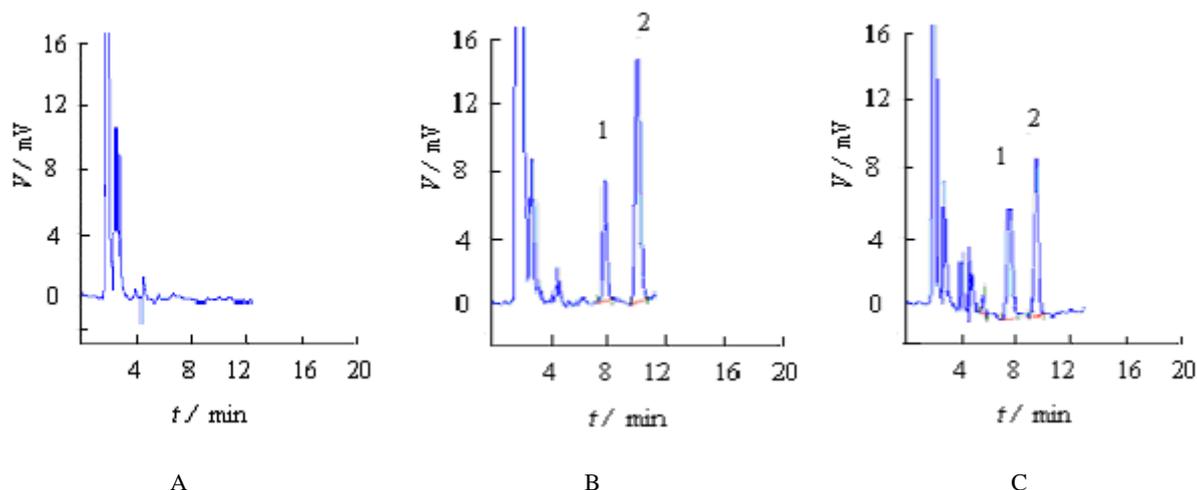
3 结果

3.1 分析方法确证

标准曲线的制备: 取空白犬血浆 1.0 mL 于 10 mL 具塞试管中, 加入系列盐酸普罗帕酮标准溶液, 使血浆中药物质量浓度分别为 0.05、0.08、0.20、0.50、1.00、2.00 mg·L⁻¹, 按“2.3”条操作。以盐酸普罗帕酮与内标物的峰面积比 (A/A_s) 对标准血浆浓度 (ρ) 作图, 进行回归运算, 得标准曲线方程为

$\rho=0.4802 A/A_s+0.0211$, $r=0.9997$, 线性为: $0.05 \sim 2.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

方法专属性:取犬空白血浆 1.0 mL,按“2.3”条操作(不加内标),进样 $50 \mu\text{L}$ 记录色谱图,如图 1-A。将一定质量浓度盐酸普罗帕酮和内标溶液加入空白血浆,按“2.3”条操作,如图 1-B:标号为 1 的色谱峰为盐酸普罗帕酮,标号为 2 的色谱峰为内标峰。取犬给药后某时间点的血浆样品,同法测定记录色谱图,如图 1-C。结果表明,血浆中的内源性物质不干扰盐酸普罗帕酮的测定。



A—Blank plasma; B—Blank plasma spiked with propafenone hydrochloride (1) and IS (2); C—Plasma sample
Fig. 1 Chromatograms of propafenone hydrochloride and IS (chlorpromazine hydrochloride) in dog plasma.

方法回收率、精密度与最低检测限:取空白血浆 1.0 mL,按“3.1”条方法配制盐酸普罗帕酮低、中、高 3 个质量浓度的质量控制样品(5 样本)连续测定 3 d,将质控样品测得质量浓度与配制质量浓度相对照,求得方法和提取回收率为 98.5% 和 72.3%;日内和日间精密度的 4.34% 和 6.67%;以信噪比等于 3 和 10 计算,本法最低检测限为 $0.015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;最低定量限为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3.2 2 种制剂平均血药质量浓度时间曲线

6 只家犬分别灌服 2 种制剂后平均血药质量浓度时间曲线见图 2。

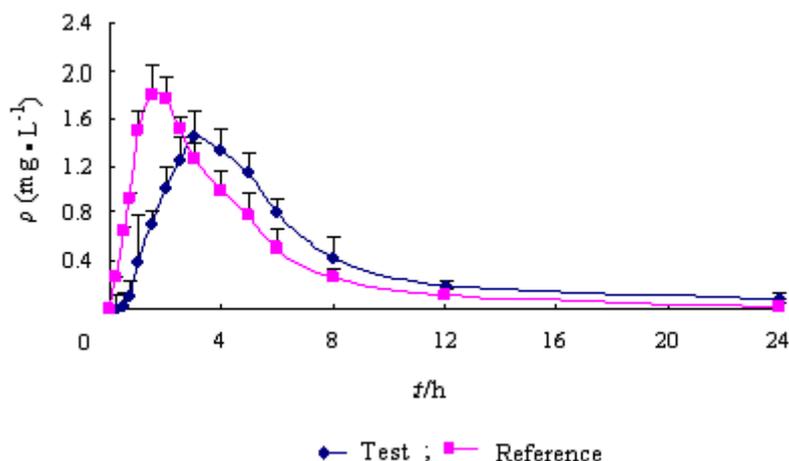


Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of 6 dogs each after administration of 2 formulations

3.3 体内外相关性

逆卷积方法是一种不需使用模型而直接根据实验数据就可以得到关于药物体内动态情况的方法^[3]，尤其适用于隔室模型拟合困难的药物和缓控释制剂的体内相关性研究。该方法不仅可以通体内药时数据推算体内吸收，又可以根据体外释放数据预测体内药时数据。其原理为：根据质量守恒原则，可以用数学方法严格证明，药物在体内的浓度 $c(t)$ 可用下面的方程来表示：

$$R(t) = \int_0^t I(\theta) \cdot W(t - \theta) d\theta \quad (1)$$

式中 $I(\theta)$ 为给药速度，称为输入函数。对于控释制剂来说，就是药物的体内释放特性（模型）。 $W(\theta)$ 是单位脉冲给药后体内药物浓度的变化函数（时间 θ 的函数），称为权函数。此式的意义：时间 t 时体内药物质量浓度 $R(t)$ 可以表示为无限个微小输入函数与权函数乘积的和。 $W(\theta)$ 是口服溶液或标准速释制剂的药物质量浓度函数， $I(\theta)$ 是口服控释制剂的输入函数， $R(t)$ 为口服控释制剂的药物质量浓度函数。已知输入函数 $I(\theta)$ 和权函数 $W(\theta)$ 求浓度 $R(t)$ 的过程称为卷积积分方法；反之，如果已知 $W(\theta)$ 和 $R(t)$ 求输入函数 $I(\theta)$ 的过程就称为逆卷积积分法。文献 [4] 通过运用卷积和逆卷积法对马来酸氯苯那敏控释制剂的体内相关性研究论证了卷积积分和逆卷积积分法对体内相关性评价的有效性。其具体计算过程可以简化为

$$I_i = (R_i - I_1 A_i - I_2 A_{i-1} \cdots - I_{i-1} A_2) / A_1 \quad (2)$$

式中 I_i 代表时间间隔 $t_{i-1} \sim t_i$ 内缓控释制剂的体内释放量或百分数； R_i 代表口服缓控释制剂后时间 t_i 时的血药浓度； A_i 代表口服溶液或标准速释制剂的 $t_{i-1} \sim t_i$ 之间药时曲线下面积。

作者以盐酸普罗帕酮片的血药质量浓度-时间函数作为体内相关性研究的权函数。为减少计算过程中的不稳定性，计算过程中产生的负值用 0 取代^[5]。这种修正可能使体内释放曲线出现短暂的平台，但释放曲线会保持递增趋势，并更趋近于平滑。

权函数的测定：6 只试验犬口服盐酸普罗帕酮片后血药质量浓度-时间曲线见图 3。将 6 组数据的平均值代入脱卷积公式进行计算。

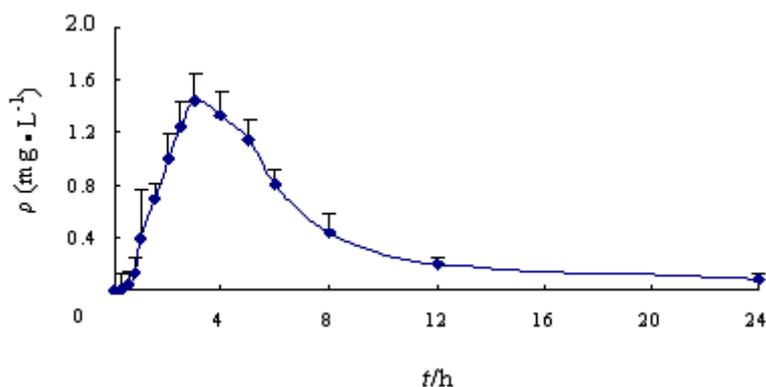


Fig. 3 Mean plasma concentration-time curves of 6 dogs after administration of propafenone hydrochloride tablets

脱卷积法计算体内释放度：采用公式 (2) 计算不同时间体内累积释放/吸收分数 (F_a)，并与相应时间点的体外累积释放百分数 (f_i) 作线性回归，根据方程的相关系数判断缓释微丸的体外释药与体内释放/吸收的相关性程度。该缓释微丸的体内相关性方程为 $F(t) = 0.9474 f(t) - 19.139$ ， $r = 0.9816$ 。图 4 描绘了脱卷积法计算得到的体内释放/吸收分数曲线和缓释微丸的体外释放曲线。

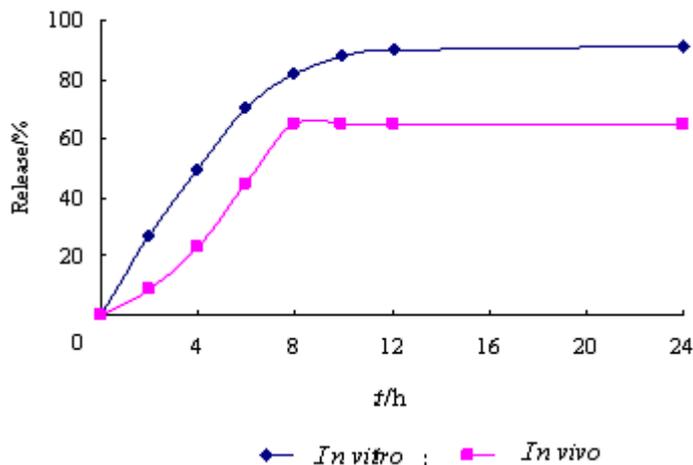


Fig. 4 Drug release profiles of propafenone hydrochloride sustained release pellets *in vivo* and *in vitro*

试验结果可以看出,采用脱卷积积分法计算得到的体内释放曲线与体外释放曲线相似,表明盐酸普罗帕酮缓释微丸用脱卷积积分法计算得到的体内外释药相关性良好,可以从计算得到的吸收曲线了解缓释微丸在体内释放较真实的信息。

4 讨论

卷积-脱卷积积分法理论除用于计算体内吸收分数和推测制剂在体内的释放模型外,还可以用于计算制剂的相对生物利用度、药物在体内的代谢速度等。当已知药物的口服溶液或标准速释制剂的体内药代动力学行为(权函数)后,根据临床治疗时所预期的体内血药浓度函数,可以计算体内的输入函数,即缓控释制剂的体内释药特性,然后再采用适当的制剂手段设计具有相同释药特性的缓控释制剂,因此,该理论还是用于缓控释制剂的设计的有效手段。

参考文献:

- [1] CHANG Cui, YANG Hong-tu, MAO Shi-rui, *et al.* Development of test methods on drug release and correlation *in vitro/in vivo* of oral sustained-release and controlled-release formulations[J]. Chinese Pharmaceutical Journal (中国药学杂志), 1999, 34 (12): 796-799.
- [2] YANG Ming-Shi, YOU Ben-gang, YANG Ming-hua, *et al.* Evaluation of *in vitro/in vivo* for three kinds of self-designed sustained-release nitrendipine formulations using deconvolution method[J]. Acta Pharmaceutica Sinica (药学报), 2004, 39 (9): 738-741.
- [3] Jennifer BD, Hans L. Oral absorption prediction and assessment[M]. New York : Marcel Dekker, Inc, 2000. 321.
- [4] Katori N, Okudaria K, Aoyagi N, *et al.* *In vitro* and *in vivo* correlation for controlled-release formulation of d-chlorpheniramine maleate [J]. J Pharmacobio Dyn, 1991, 14: 567-575.
- [5] Langenbucher F, Mysicka J. *In vitro* and *in vivo* deconvolution assessment of drug release kinetics from oxprenolol oros preparations [J]. Br J Clin Pharmacol, 1985, 19: 151S-162S.

Evaluation of *in vitro/in vivo* correlation for propafenone hydrochloride sustained release pellets using deconvolution method

YU Jie, ZOU Mei-juan, DENG Chun-xia, WAN-Ying, REN Jun-gang, CHENG Gang

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract : Objective To evaluate the *in vitro/in vivo* correlation for propafenone hydrochloride sustained

release pellets using deconvolution method. **Methods** The percentage of absorption was calculated by deconvolution method using data of plasma concentration from propafenone hydrochloride sustained release pellets in healthy dogs, which the *in vivo* data of propafenone hydrochloride tablets after oral administration to dogs was used as weight function. It was compared with data of *in vitro* release to assess the *in vitro/in vivo* correlations. **Results** The good correlations of *in vitro/in vivo* were shown for propafenone hydrochloride sustained release pellets by deconvolution method. **Conclusions** The deconvolution method exhibits advantage in evaluation of *in vitro/in vivo* correlation for propafenone hydrochloride sustained release pellets.

Key words: pharmaceutics; deconvolution method; *in vitro/vivo* correlation; propafenone hydrochloride; sustained release pellets

(本篇责任编辑：曹 霞)