

文章编号:(2003)03-0099-08

## 氢溴酸右美沙芬药物树脂缓释混悬剂 在家犬体内药物动力学研究

刘天富<sup>1</sup>, 李三鸣<sup>2</sup>, 吴顺芹<sup>2</sup>, 赵国斌<sup>3</sup>

(1.哈尔滨泰华药业股份有限公司,黑龙江 阿城 150302;2.沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016;3.吉林省药品检验所,吉林 长春 130062)

**摘要:**目的 建立测定家犬血浆中氢溴酸右美沙芬的代谢产物去甲右美沙芬含量测定的方法,并研究氢溴酸右美沙芬缓释混悬剂在家犬体内的药物动力学性质。方法 以己酮可可碱为内标,乙腈-0.3%( $\varphi$ )磷酸盐缓冲液(60:30=V:V,三乙胺调pH为6.2)为流动相,Kromasil ODS-1 色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)为固定相,检测波长为278 nm,以HPLC法测定家犬体内去甲右美沙芬。结果 本缓释制剂的AUC<sub>0-t</sub>为7988.354 ( $\mu$ g·h)  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, C<sub>max</sub>为750.5 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, t<sub>max</sub>为4 h;常释片(参比制剂)的AUC<sub>0-t</sub>为7787.5 ( $\mu$ g·h)  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, C<sub>max</sub>为1467.1  $\mu$ g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, t<sub>max</sub>为2 h;缓释制剂的相对生物利用度为97.5%。结论 本缓释制剂具有良好的缓释效果,且与参比制剂生物等效。

**关键词:**药理学;缓释混悬剂;药物树脂;药物动力学;氢溴酸右美沙芬;去甲右美沙芬

**中图分类号:** R 94 **文献标识码:** A

氢溴酸右美沙芬(dextromethorphan hydrobromide)是中枢性镇咳药,主要用于由感冒及其他各种因素所导致的咳嗽的治疗。氢溴酸右美沙芬在体内的代谢广泛而迅速,具有较强的首过效应,因此原形药物在循环系统中浓度很低,其活性代谢物去甲右美沙芬(dextrophan, DP)在血浆中与葡萄糖醛酸结合<sup>[1,2]</sup>后的产物可用于药物浓度的监测。图1给出了右美沙芬在体内的主要代谢途径。

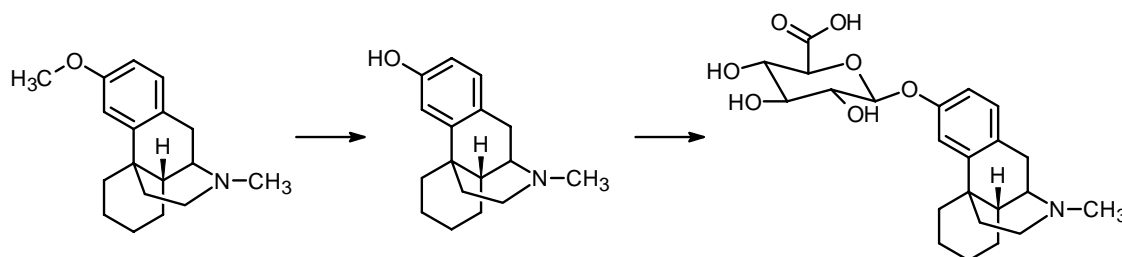


Fig. 1 The structures of dextromethorphan and its main metabolites

文献报道多以高效液相色谱-荧光法、柱切换-高效液相色谱法进行检测<sup>[3-6]</sup>,本实验直接应用高效液

收稿日期:2003-09-01

作者简介:刘天富(1973-),男(汉族),黑龙江阿城人,药剂学硕士, Tel(0451)53705522, E-mail: longman5099@163.com;李三鸣(1957-),男(汉族),辽宁开原人,教授,主要从事药学研究, Tel(024)23843711-3362, E-mail: li\_sanming@sina.com.cn.

相色谱-紫外法测定 DP 的血药浓度来进行药动学研究。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪 (LC-10AT 泵, SPD-10A 紫外-可见检测器, 日本岛津株式会社); 恒温水浴箱 (北京医疗设备厂); 80-2 型离心机 (上海手术器械厂); WH-微型涡旋混合仪 (上海沪西分析仪器厂); 微量定量移液器 (上海求精生化试剂仪器有限公司)。

### 1.2 材料

氢溴酸右美沙芬缓释混悬剂 (自制); 氢溴酸右美沙芬常释片 (哈尔滨泰华药业股份有限公司); 去甲右美沙芬 (DP, 沈阳药科大学有机教研室提供); 己酮可可碱 (内蒙古赤峰制药厂);  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (上海东风生化制剂厂); 其他试剂均为分析纯。

## 2 分析方法的确立

### 2.1 DP 标准液和内标液的制备

称取 50 mg DP, 制成  $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  DP 的溶液, 作为标准液。另取取己酮可可碱适量, 制成  $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  己酮可可碱溶液, 作为内标液。

### 2.2 液相色谱条件

固定相为十八烷基硅烷键合硅胶 (Kromasil ODS-1,  $5 \mu\text{m}$ ,  $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ); 流动相为乙腈-0.3% ( $\varphi$ ) 磷酸盐缓冲液 (三乙胺调节 pH 至 6.2); 检测波长: 278 nm。

### 2.3 血浆样品的处理

取血浆样品 0.5 mL, 加入  $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液 ( $1000 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ )  $100 \mu\text{L}$ ,  $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  枸橼酸钠缓冲溶液 (pH 5.0)  $400 \mu\text{L}$ , 涡流 1 min, 置  $37^\circ\text{C}$  恒温水浴中水解 16 h, 取出后加入内标溶液  $50 \mu\text{L}$ ,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 溶液 0.5 mL, 涡旋混合 1 min, 加入正己烷-二氯乙烷-异丙醇 (100:50:5=V:V:V) 3 mL, 涡旋混合 3 min,  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min, 移取有机层至 5 mL 离心试管中,  $40^\circ\text{C}$  氮气流下吹干, 残留物加流动相  $100 \mu\text{L}$ , 涡流混合 1 min,  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min, 取上清液  $20 \mu\text{L}$ , 注入高效液相色谱仪。

### 2.4 分离度和专属性

按上述色谱条件进行分析, 记录色谱图见图 2。DP、内标及血浆中的内原物分离良好, DP 与内标的保留时间分别为 9.4 min 和 4.2 min。

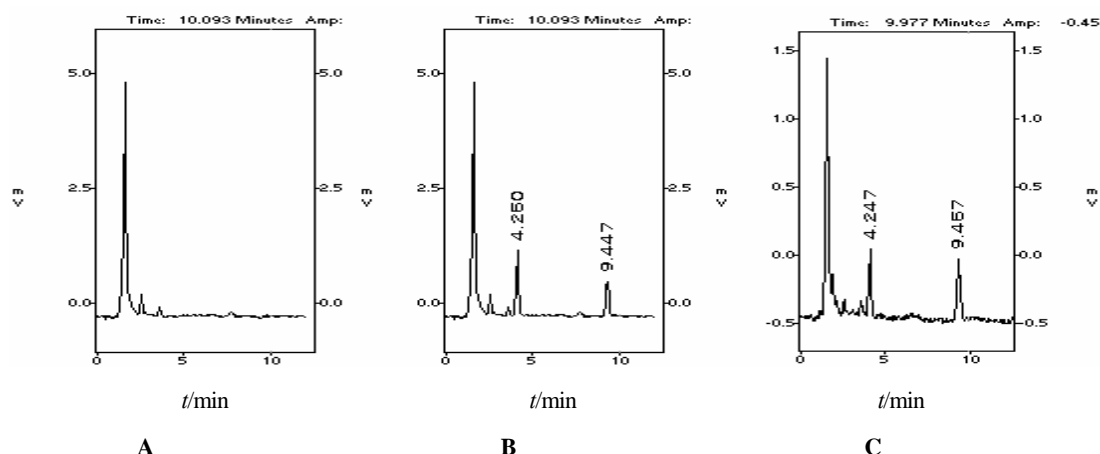


Fig.2 The chromatograms of DP and the internal standard

A—Blank plasma ; B—DP and internal standard in plasma; C—A sample 2h after oral administration of the DMH SRS

## 2.5 血浆标准曲线的制备

取空白血浆 0.5 mL 置于 10 mL 具塞刻度试管中，加入计算量的 DP 标准液，使之成为相当于 DP 质量浓度为 50, 100, 200, 400, 800 和 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的血浆样品，按“2.3”条操作，进样 20  $\mu\text{L}$ ，记录色谱图。以样品峰面积与内标峰面积之比 ( $A_S/A_I$ ) 对进样量  $m$  (ng) 回归标准曲线。

$$m=42.683A_S/A_I-1.465 \quad r=0.9896。$$

## 2.6 方法学验证

### 2.6.1 回收率

取空白血浆 0.5 mL 置于 10 mL 具塞试管中，加入 DP 标准溶液适量，使血浆中 DP 的质量浓度分别为 50, 400 和 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。按“2.3”条操作，进样 20  $\mu\text{L}$ ，记录色谱图。将  $A_S/A_I$  代入血浆标准曲线，计算血浆中 DP 的回收率，结果见表 1。

Table 1 Recovery of DP in plasma

	50	400	1000	Mean	RSD/%
Extraction recovery%	82.3	83.1	78.4	81.3	3.09
Method recovery%	94.2	92.2	95.7	94.0	1.06

### 2.6.2 精密度试验

取空白血浆 0.5 mL 置于 10 mL 具塞刻度试管中，加入 DP 标准溶液适量，使血浆中 DP 的质量浓度分别为 50, 400 和 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。按“2.3”条操作，分别在日内和日间进样 20  $\mu\text{L}$ ，记录色谱图。将  $A_S/A_I$  代入血浆标准曲线，计算日内精密度和日间精密度，结果见表 2。

Table 2 Precision of the method for determination of DP

/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Within-day		Between-day	
	Mean( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	RSD/%	Mean( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	RSD/%
50	43.95	2.48	41.78	6.21
400	339.18	3.12	335.28	5.26

1 000	832.32	3.79	821.75	5.24
-------	--------	------	--------	------

### 3 DMH 缓释混悬剂狗体内药动学研究

#### 3.1 实验动物

健康家犬 3 只, 体重(14.2 ± 2.9) kg。实验前禁食 12 h, 给药后 4 h 统一进食。

#### 3.2 服药方案及样品采集

用自身对照方式, 单剂量交叉口服给药。第一周期口服自制缓释混悬剂(90 mg), 在给药后 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0 和 24.0 h 由前腿静脉取血约 3 mL, 并立即移入涂有肝素的试管中, 4000 r · min<sup>-1</sup>, 离心 10 min, 分离得到血浆样品, 置冰箱中保存, 备用。第 2 周期口服市售常释片(90 mg), 在给药后 15 min, 30 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 2.5 h, 3 h, 3.5 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 16 h, 24 h 由前腿静脉取血约 3 mL, 同前法处理得到血浆样品, 置冰箱中保存, 备用。周期间隔为 1 周。

#### 3.3 样品血药浓度的测定

取血浆样品 0.5 mL, 按“2.3”条操作, 记录样品峰面积与内标峰面积之比 ( $A_s/A_I$ ), 将其代入血浆标准曲线即可求得各时刻的血药浓度。

#### 3.4 实验结果

实验动物服用常释片后的各个时间点的血药浓度测定结果见表 3。

Table 3 The plasma concentrations(  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of DP of reference tablets

t/h	1	2	3	Mean	RSD /%
0.25	243.6	412.5	294.5	316.9	27.3
0.50	732.8	963.4	846.2	846.2	13.6
1.00	1388.5	1426.7	1178.6	1331.2	10.3
1.50	1423.6	1628.3	1275.5	1422.5	10.5
2.00	1627.7	1395.1	1381.2	1467.1	9.32
2.50	1523.2	1245.4	1459.4	1409.2	10.3
3.00	1232.5	1021.5	1302.1	1185.3	12.3
3.50	1099.8	887.6	1234.0	1073.8	16.3
4.00	634.2	678.6	846.9	719.9	15.6
6.00	386.4	432.2	586.7	468.4	22.4
8.00	234.3	214.6	369.8	272.9	30.9
12.0	111.7	112.4	158.1	127.4	20.9
16.0	39.6	35.4	64.5	46.5	33.8
24.0	---	---	---	---	---

实验动物服用缓释混悬剂后的时间点的血药浓度测定结果见表 4 3 只实验动物各时间点血药浓度的平均值与时间的关系图见图 3 (--- 表示取得血浆但未测到血药浓度)。

Table 4 The plasma concentrations ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of DMH of SRS

$t/h$	1	2	3	Mean	RSD/%
0.5	21.3	---	35.4	28.4	
1.0	113.4	86.4	134.6	99.9	19.1
2.0	436.7	374.6	568.4	459.9	21.5
3.0	654.9	552.1	764.1	657.0	16.1
4.0	769.2	669.8	812.4	750.5	9.7
5.0	795.4	785.6	645.1	742.1	11.3
6.0	754.9	745.3	548.7	548.7	10.1
8.0	786.2	554.1	452.6	452.6	28.6
10.0	521.4	402.1	344.3	344.3	21.3
12.0	242.1	298.0	239.8	239.8	12.7
16.0	115.4	156.5	104.6	104.6	21.8
24.0	74.6	55.8	43.5	43.5	27.0

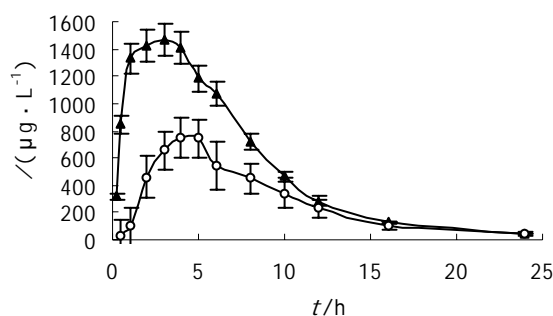


Fig. 3 Profiles of mean plasma drug concentration-time after the administration of reference tablets (90 mg) or DMH SRS (90 mg) to dogs

— Reference tablets; ○—Sustained-release suspensions

由图 3 可见，与常释片相比，DMH 缓释混悬剂的药时曲线比较平稳， $C_{\max}$  降低， $t_{\max}$  后移。

### 3.5 结果处理

#### 3.5.1 隔室模型药物动力学参数

利用 3p97 实用药代动力学程序，根据 AIC 和拟合度判断氢溴酸右美沙芬药物树脂缓释混悬剂和常释片的模型归属，结果表明两者均符合单室模型。药物动力学参数见表 5。

Table 5 The pharmacokinetic parameters of DP in dogs

	$t_{\max}/h$	$c_{\max}$ ( $\mu g \cdot L^{-1}$ )	$k_e \cdot h^{-1}$	$k_a$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}(k_e)$ (h)	$t_{1/2}(k_a)$ (h)	AUC ( $[\mu g \cdot h] \cdot L^{-1}$ )
Suspensions	4.59	504.4	0.171	0.272	4.05	2.54	6474.5
Tablets	2.79	1363.6	0.248	1.688	2.79	0.41	7640.2

## 3.5.2 非隔室模型药物动力学参数

计算  $k_e$  和  $t_{1/2}(k_e)$ ,  $t_{\max}$  和  $c_{\max}$  采用实测值, 药物动力学参数见表 6。

Table 6 The pharmacokinetic parameters of DP in dogs

	$t_{\max}/h$	$\rho_{\max}$ ( $\mu g \cdot L^{-1}$ )	$k_e$ ( $h^{-1}$ )	$t_{1/2}/h$	AUC ( $[\mu g \cdot h] \cdot L^{-1}$ )
Suspensions	4	750.5	0.246 8	2.808	7 787.54
Tablets	2	1 467.1	0.147 6	4.695	7 988.35

## 3.5.3 相对生物利用度

相对生物利用度可用式(1)计算:

$$F = \frac{AUC_T}{AUC_F} \times 100\% \quad (1)$$

其中, T, F 分别代表试验制剂和参比制剂。

利用非隔室模型计算的 AUC 来计算氢溴酸右美沙芬缓释混悬剂的生物利用度为 97.5%。

## 3.5.4 体内相关性

用 Wagner-Nelson 方法计算各时间点体内吸收百分数  $F_a$ , 计算公式为

$$F_a = \frac{c_t + k_e AUC_{0-t}}{k_e AUC_{0-\infty}} \quad (2)$$

以体内吸收百分数  $F_a$  对外释放百分数  $L$  进行回归, 结果见表 7。

Table 7 The values of  $F_a$  and  $L$  of DMH (%)

$t/h$	1	2	4	6	8	10	12
$L$	0.185	0.315	0.506	0.724	0.836	0.842	0.845
$F_a$	0.090	0.430	0.834	1.061	1.056	1.036	0.983

回归方程为:  $F_a = 1.2615 L + 0.0004$   $r = 0.9499$ 。

体外释放和体内吸收之间有良好的相关性。

## 4 讨论

右美沙芬体内代谢广泛而迅速, 血浆中母体药物浓度很低, 而活性代谢物去甲右美沙芬血浆浓度很高, 约为右美沙芬的 20 ~ 100 倍<sup>[7]</sup>, 因此本实验通过测定去甲右美沙芬血药及其体内处置状况, 来间

接评估右美沙芬生物利用度。去甲右美沙芬在血浆中多以葡萄糖醛酸结合物的形式存在，经水解后方可进行测定。实验过程中对酸、酶水解，以及在这两种方式下所需时间和酸、酶剂量分别进行了考察，发现酶水解明显优于酸水解。本实验确立于 37℃ 下将血浆样本经  $\alpha$ -葡萄糖苷酶水解 16 h 后进行测定。

与常释片相比，缓释混悬剂的血药浓度比较平稳， $C_{max}$  降低， $t_{max}$  后移。常释片与缓释制剂的 AUC 分别为 7 988.354 和 7 787.5 ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ )；常释片的  $C_{max}$ 、 $t_{max}$  分别为 1 467.1  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  和 2 h；缓释制剂的  $C_{max}$ 、 $t_{max}$  分别为 750.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  和 4 h；缓释制剂的相对生物利用为 97.5%。缓释制剂的体外释药与体内吸收有较好的相关性。

### 参考文献：

- [1] East TD. Determination of dextromethorphan and metabolites in human plasma and urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. J Chromatogr, 1985, 338: 99-112.
- [2] Ramachander G, Williams FD, Emele JF. Determination of dextrophan in plasma and evaluation of bioavailability of dextromethorphan hydrobromide in humans[J]. J Pharm Sci, 1997,66(7): 1047-1048 .
- [3] Liu Li-li,Wang Zhuo,Zhang Chun,*et al.*The bioavailability of dextromethorphan hydrobromide in 8 healthy volunteers [J].Chinese journal of Hospital Pharmacy(中国医院药学杂志), 1993,13(7) : 291-293.
- [4] Qian Fang, Jiang Xue-tao,Wang An-wen,*et al.* Determination of dextromethorphan hydrobromide in plasma by reversed phase HPLC [J].Chinese Journal of Phaemaceutical Analysis(药物分析杂志), 1996,16(1) : 147-148.
- [5] Liu Li-li, Wang Zhou,Feng Xiang-ting, *et al.*Column Switching HPLC method for determination of dextrophan,an active metabolite of dextromethorphan in plasma [J]. Acta Pharmaceutical Sinica (药理学学报),1993, 28(5):374-378.
- [6] Chen ZR,Somgyi AA, Bochner F.Simulaneous determination of dextromethophan and three metabolites in plasma and urine using high performance liquid chromatography with application to their disposition in man [J]. Ther Drug Monit, 1990,12(1): 97-104.
- [7] ChP 2000 Vol Appendix (中国药典 2000 版二部附录) B:193-199.

## Pharmacokinetic study on dextromethorphan hydrobromide drug-resin oral sustained-release suspensions in dogs

LIU Tian-fu<sup>1</sup>, LI San-ming<sup>2</sup>, WU Shun-qin<sup>2</sup>, ZHAO Guo-bin<sup>3</sup>

(1.Harbin Taihua Pharmaceutical Co.,Ltd., Acheng 150302, China; 2.Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China ;3. Jilin Province Institute for Drug Control ,Changchun 130062 China)

**Abstract: Objective** To establish a HPLC method for determining the metabolism dextrophan of dextromethorphan hydrobromide in plasma and study the pharmacokinetic of the drug in dogs . **Methods** The internal standard was pentoxifylline .Plasma concentration of dextrophan was determined by HPLC using

acetonitrile-0.3%( $\varphi$ ) phosphate buffer (60:30=V:V) as the mobile phase, the Kromasil column packed with ODS-1 (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m) as a fixed phase and 278 nm as the detector wavelength. **Results** The obtained pharmacokinetic parameters of the test and reference formulation were as follows :  $AUC_{0-t}$ 、 $C_{max}$ 、 $t_{max}$  for the sustained-release suspensions were 7 988.354 ( $\mu$ g $\cdot$ h) $\cdot$ L $^{-1}$ , 750.5  $\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$ , 4 h , respectively; for the reference formulation were 7 787.5 ( $\mu$ g $\cdot$ h) $\cdot$ L $^{-1}$ , 1467.1  $\mu$ g $\cdot$ L $^{-1}$ , 2 h , respectively ;the relative bioavailability of the test formulation was 97.5%. **Conclusion** The test formulation is a good sustained-release suspension and it is bioequivalent with the reference formulation..

**Key words:** pharmaceuticals; sustained-release suspensions; drug-resin; pharmacokinetics; dextromethorphan hydrobromide; dextrophan