

# 阿魏酸钠胃漂浮缓释片 Beagle 犬体内药动学研究

阮建山, 韩松, 王向军, 丁仲杰(浙江九洲药业股份有限公司, 浙江 台州 318000)

**摘要:** 目的 建立高效液相法测定 Beagle 犬血浆中阿魏酸钠浓度, 考察单次给药后阿魏酸钠胃漂浮缓释片和阿魏酸钠普通片的药动学行为, 以及考察阿魏酸钠胃漂浮缓释片的缓释效果。方法 采用双周期交叉实验设计, 分别服用阿魏酸钠胃漂浮缓释片和阿魏酸钠普通片(分别相当于阿魏酸钠 100 mg), 以甲醇-10%三氯乙酸(1:1)作为蛋白沉淀剂, 按血浆-蛋白沉淀剂(3:2)沉淀血浆, 离心后取上清液进样分析。采用 3P97 药动学软件进行药动学参数的考察。结果 胃漂浮缓释片达峰时间( $t_{max}$ )明显延长, 达峰浓度( $C_{max}$ )也明显降低, 实验中未发现突释现象, 达到了很好的缓释效果。结论 本实验血浆处理方法简单, 方法的回收率高, 测得阿魏酸钠胃漂浮缓释片具有明显的缓释特征。

**关键词:** 阿魏酸钠; 胃漂浮缓释片; 高效液相色谱法; 药动学; 血药浓度

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2012)03-0246-04

## Pharmacokinetic Study of Sodium Ferulate Gastric Floating Sustained-release Tablets in Beagle Dogs

RUAN Jianshan, HAN Song, WANG Xiangjun, DING Zhongjie(Zhejiang Jiuzhou Pharmaceutical Co.,Ltd, Taizhou 318000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method to determinate sodium ferulate in Beagle dogs and compare the pharmacokinetic parameters between sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets and sodium ferulate tablets by single dose in Beagle dogs. And to demonstrate the controlled release effect of sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets. **METHODS** Use a standard two period cross-over design, the plasma concentration of sodium ferulate was determined by HPLC after a single oral dosage(equal to 100 mg sodium ferulate). Methanol-10% TCA(1:1) was used as a protein precipitant agent with a ratio of plasma-protein precipitant agent(3:2). After centrifugation, the supernatant was analyzed and the pharmacokinetic parameters were obtained by 3P97 statistical analysis software. **RESULTS** Sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets indicated a good controlled release profiles with prolonged  $t_{max}$ , lower  $C_{max}$  and no burst effect. **CONCLUSION** The HPLC method meets the requirement of sensitivity, specific and recovery and is capable to determine sodium ferulate in Beagle dogs. Sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets indicates a marked sustained release profiles.

**KEY WORDS:** sodium ferulate; gastric floating sustained-release tablets; HPLC; pharmacokinetics; plasma concentration

阿魏酸钠(sodium ferulate)为 3-甲氧基-4-羟基桂皮酸钠盐二水合物, 临床主要剂型为普通片、粉针剂、滴丸等, 为血管内皮保护剂, 能清除自由基, 防治脂质过氧化损伤, 拮抗内皮素引起的血管收缩、血压升高及血管平滑肌细胞的增殖, 减轻血管内皮损伤; 增加 NO 的合成, 松弛血管平滑肌; 抑制血小板聚集、抗凝血、改善血液流变学特征。本品亦可抑制胆固醇的合成, 降低血脂, 影响补体, 增强免疫机能, 并具有一定的镇痛、解痉作用。阿魏酸钠消除半衰期为 0.5 h<sup>[1]</sup>, 需要频繁给药, 并且阿魏酸钠是强极性钠盐, 不容易被小肠黏膜吸收, 但在胃中遇胃酸可转化成具有弱酸性的游离阿魏酸分子, 较容易被胃黏膜吸收。基于以上的药物吸收的生理特征, 将其设计成胃漂浮型缓释片, 目的是使制剂漂浮在胃液上, 延

长制剂在胃内的滞留时间, 有利于弱酸性药物在胃中的吸收, 提高药物生物利用度<sup>[2]</sup>。为评价浙江九洲药业股份有限公司研制的阿魏酸钠胃漂浮型缓释片在 Beagle 犬体内的释放同市售的阿魏酸钠片相比较是否有缓释特征, 本实验建立了可靠的血药浓度测定方法, 对阿魏酸钠胃漂浮型缓释片与市售的阿魏酸钠片在 Beagle 犬体内的释放行为进行了药动学研究。

### 1 仪器、试剂与动物

#### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); XS105 型电子天平(METTLER TOLEDO); XW-80C 型涡旋混合器(上海医科大学仪器厂); TGL-16C 型高速离心机(上海安亭科学仪器厂); SK250HP 型超声波清洗器(上海科导超声

作者简介: 阮建山, 男, 工程师 Tel: (0571)87000701-819 E-mail: whiteswane@163.com

仪器有限公司)。

阿魏酸钠对照品(广东利民制药厂, 批号 090707, 纯度 99.8%); 阿魏酸钠片(成都亨达药业有限公司, 批号: 091223, 规格: 50 mg); 阿魏酸钠胃漂浮缓释片(浙江九洲药业股份有限公司, 批号: 20100501, 规格: 100 mg); 三氯乙酸(TCA, 上海凌峰化学试剂有限公司, 批号: 20100308); 肝素钠注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司, 批号: 0808123); 甲醇、乙腈为色谱醇, 冰醋酸为分析醇, 水为 Millipore 制备的纯化水。

## 1.2 实验动物

Beagle 犬, ♀ ♂ 兼用, 体重(12±2) kg, 由浙江大学动物中心提供, 动物饲养许可证号: SYXK(浙)2007-0099。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

Agilent XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 以 0.5%冰醋酸为流动相 A, 甲醇-乙腈(3:2)为流动相 B, 按以下条件进行线性梯度洗脱, 检测波长: 322 nm; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 进样量: 100 μL。梯度洗脱程序设置如下: 0.00~9.00 min 为 A:B=75:25; 9.00~9.01 min 为 A:B=75:25→5:95; 9.01~17.00 min 为 A:B=5:95; 17.00~17.01 min 为 A:B=5:95→75:25; 17.01~23.00 min 为 A:B=75:25。

### 2.2 贮备液的配制

精密称取阿魏酸钠对照品 100 mg 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解后稀释至刻度。精密量取上述溶液 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀得浓度为 100 μg·mL<sup>-1</sup> 的溶液, 将此溶液逐步用水稀释成浓度为 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.2, 0.1 μg·mL<sup>-1</sup> 的贮备液。

### 2.3 血浆样品的处理

由于血浆中内源性物质比较多, 采用常规萃取的方法处理血浆<sup>[3-5]</sup>, 发现绝对回收率较低, 因此采用蛋白沉淀剂将血浆蛋白沉淀后直接测定血药浓度, 以甲醇-10% TCA(1:1)作为蛋白沉淀剂。

血样处理方法为: 取后肢静脉血 1.0 mL, 置于肝素化的 2 mL 具塞离心管中, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 吸取上层血浆, 精密吸取血浆 300 μL 于 1.5 mL 具塞离心管中, 精密加入蛋白沉淀剂 200 μL, 涡旋 3 min, 在 12 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 10 min, 吸取上层清液, 精密量取 100 μL 进样。

## 2.4 专属性试验

分别将阿魏酸钠对照品、空白血浆样品、模拟生物样品(空白血浆中添加对照品)及用药后的血浆样品, 按“2.3”项下方法处理, 所得样品进样分析, 结果见图 1。结果显示, 空白血浆样品对测定无干扰, 模拟生物样品、用药后的血浆样品中主成分的保留时间与对照品一致, 且主成分峰能与内源性物质峰较好地分离。

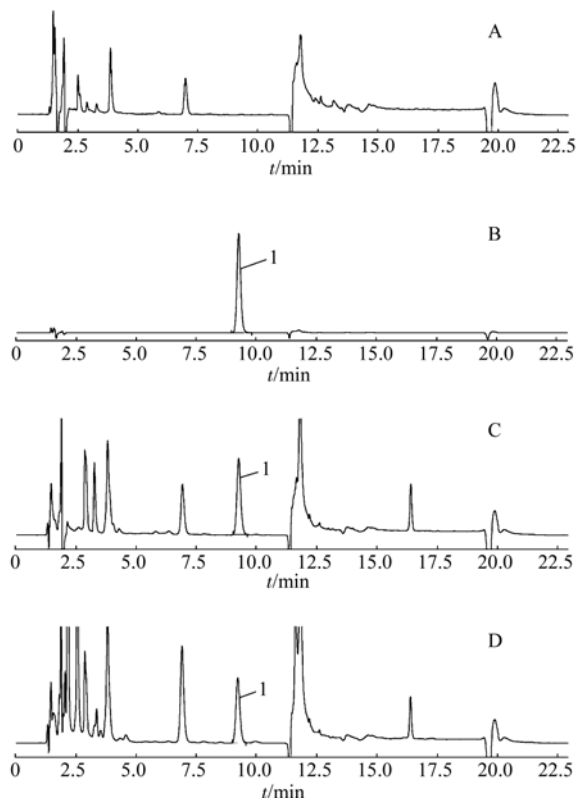


图 1 犬血浆内阿魏酸钠高效液相色谱图

A-空白血浆; B-阿魏酸钠对照品溶液(10 μg·mL<sup>-1</sup>); C-空白血浆+阿魏酸钠(0.5 μg·mL<sup>-1</sup>); D-给药后血浆样品; 1-阿魏酸钠

Fig 1 HPLC chromatograms of sodium ferulate in dog plasma A-blank plasma; B-sodium ferulate standard solution (10 μg·mL<sup>-1</sup>); C-blank plasma + sodium ferulate(0.5 μg·mL<sup>-1</sup>); D-plasma sample after administration of sodium ferulate; 1-sodium ferulate

## 2.5 标准曲线考察

精密吸取空白血浆 270 μL 于 1.5 mL 具塞离心管中, 加入不同浓度的阿魏酸钠贮备液 30 μL, 使血浆中药物浓度分别为 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 μg·mL<sup>-1</sup>, 旋涡 3 min 混匀。按“2.3”项下方法处理后测定, 进样 100 μL, 记录色谱图、计算峰面积。以阿魏酸钠的峰面积(y)为横坐标, 浓度(x, μg·mL<sup>-1</sup>)为纵坐标, 得标准曲线回归方程为  $y=114.21x+0.0801$ ,  $r=0.9996$ , 线性范围为 0.01~10 μg·mL<sup>-1</sup>。

## 2.6 回收率实验

**2.6.1 方法回收率** 取空白血浆 270  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 具塞离心管中, 加入不同浓度的贮备液 30  $\mu\text{L}$ , 配制成低、中、高 3 个浓度的样品各 5 份(分别为 0.025, 0.5, 5.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 按“2.3”项下方法处理操作。将血浆样品峰面积代入随行标准曲线计算相应的血药浓度, 与对应的制备浓度之比即为方法回收率。结果见表 1。

**2.6.2 绝对回收率** 将“2.6.1”项下空白血浆换成水加入不同浓度储备液, 同法操作作为未经处理的对照溶液, 计算经提取处理和未经提取处理色谱峰面积之比为绝对回收率, 结果见表 1。

表 1 阿魏酸钠回收率( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

Tab 1 Recovery results of sodium ferulate in dog plasma ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	方法回收率/%	绝对回收率/%
0.025	95.71 $\pm$ 11.52	85.12 $\pm$ 16.34
0.5	96.35 $\pm$ 5.54	86.23 $\pm$ 7.56
5.0	95.88 $\pm$ 2.34	84.34 $\pm$ 8.23

## 2.7 精密度考察

取空白血浆 270  $\mu\text{L}$  于 1.5 mL 具塞离心管中, 加入不同浓度的贮备液 30  $\mu\text{L}$ , 配制成低、中、高 3 个浓度的样品各 3 份(分别为 0.025, 0.5, 5.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 按“2.3”项下方法处理操作, 每样 3 份于一日进样, 计算日内差, 连续 3 d, 上述 3 种浓度每天进样 1 次, 计算日间差, 结果见表 2。

表 2 阿魏酸钠犬血样精密度( $n=3$ )

Tab 2 Precision results of sodium ferulate in dog plasma ( $n=3$ )

浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度 RSD/%	日间精密度 RSD/%
0.025	5.25	5.32
0.500	3.14	5.12
5.000	2.12	4.10

上述实验数据中, 低、中、高浓度的方法回收率均在 100%左右, 绝对回收率均达到 85%左右; 日内精密度和日间精密密度均 $<15\%$ 。结果表明, 此方法的准确度和精密度均符合要求。

## 2.8 稳定性考察

取空白血浆加贮备液制备成低、中、高 3 个浓度(分别为 0.025, 0.5, 5.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )的样品, 各 3 份, 1 份照按“2.3”项下方法处理后得到待进样溶液, 于室温下避光放置 48 h, 1 份反复冻融 3 次, 另 1 份在冷冻条件下( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ )避光放置 14 d, 按照

“血浆样品的处理方法”项下方法处理。用随行标准曲线计算相应的浓度, 实验结果见表 3。结果显示本条件下, 样品稳定性良好, 能满足实验要求。

表 3 犬血样中阿魏酸钠稳定性( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

Tab 3 Stability of sodium ferulate in dog plasma( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

配制浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	测得浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		
	室温	冻融	冷冻 14 d
0.025	0.024 $\pm$ 0.002	0.023 $\pm$ 0.002	0.024 $\pm$ 0.003
0.500	0.485 $\pm$ 0.010	0.480 $\pm$ 0.030	0.494 $\pm$ 0.020
5.000	4.900 $\pm$ 0.123	4.850 $\pm$ 0.210	4.892 $\pm$ 0.240

## 2.9 血药浓度的测定

**2.9.1 给药方案与血样采集** 采用双周期交叉实验, 6 条 Beagle 犬, 随机分为 2 组, 每组 3 条, 每只犬分别口服市售的阿魏酸钠片 2 片和阿魏酸钠胃漂浮型缓释片 1 片, 均相当于阿魏酸钠 100 mg。给药前禁食 12 h。给药前先取空白血, 然后给予参比制剂和受试制剂。参比制剂给药后分别于 0.17, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 时, 受试制剂给药后分别于 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 16 h 和 24 h 时, 取后肢静脉血 1.0 mL, 置于肝素化试管中, 8 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 吸取上层血浆, 按“2.3”项下方法处理后测定。1 周清洗期后交叉给药进行 2 周期实验。

**2.9.2 数据处理** 采用 3p97 药动学计算软件, 计算药动学参数,  $C_{\text{max}}$ ,  $t_{\text{max}}$  以实测值计算。

**2.9.3 药动学测定结果** 血药浓度-时间关系曲线见图 2, 药动学参数见表 4。结果显示消除半衰期  $t_{1/2}$  明显延长, 提示该制剂具有缓释特征, 本品未见有突释现象。

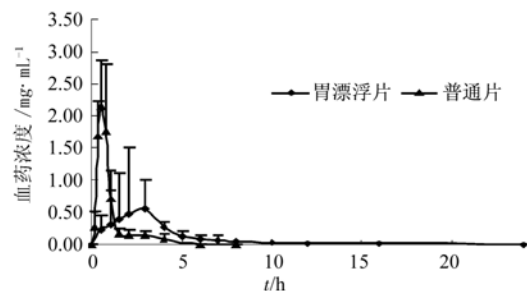


图 2 阿魏酸钠胃漂浮片同阿魏酸钠普通片单剂量口服平均血浆药物浓度-时间曲线

Fig 2 Curve of sodium ferulate in dog plasma after a single oral administration of sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets and sodium ferulate tablets

表 4 犬单剂量给予阿魏酸钠胃漂浮型缓释片和普通片后的主要药动学参数( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

Tab 4 Pharmacokinetics parameters of sodium ferulate in dog plasma after a single oral administration of sodium ferulate gastric floating sustained-release tablets and sodium ferulate tablets( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

参数	阿魏酸钠胃漂浮片	普通片
$t_{\max}/h$	3.01 $\pm$ 0.61	0.33 $\pm$ 0.26
$C_{\max}/\mu g \cdot mL^{-1}$	0.75 $\pm$ 0.11	2.60 $\pm$ 0.23
$t_{1/2}/h$	3.82 $\pm$ 1.13	0.56 $\pm$ 0.21

### 3 讨论

由于生物样品内源性物质较多,随着进样次数增多,引起柱效下降,因此采用梯度洗脱法提高有机相比例将弱极性强保留成分洗脱出来,以免强保留成分干扰下一针样品,同时可以恢复柱效,因此梯度的时间较长。

在血浆处理过程中曾尝试采取常规的有机溶剂萃取的方式处理血浆,但是回收率较低,因此采用蛋白沉淀剂将血浆蛋白沉淀后直接测定血药浓度,最后选取 TCA 与甲醇按照一定的配比作为蛋白质沉淀剂,回收率高,操作简单,准确度高,

能够满足体内分析的需要。

通过比较阿魏酸钠普通片和胃漂浮缓释片的药动学参数,表明胃漂浮缓释片达峰时间( $t_{\max}$ )明显延长,达峰浓度( $C_{\max}$ )也明显降低,实验中未发现突释现象,达到了很好的缓释效果。

### REFERENCE

- [1] DENG J X, HU J H, LI F Q. Preparation and release characteristics *in vitro* of gastric floating sustained-release tablets of sodium ferulate [J]. Pharm Care Res(药学服务与研究), 2007, 7(5):339.
- [2] SOPPIMATH K S, KULKARNI A R, AMINABHAVI T M. Development of hollow microspheres as floating controlled-release systems for cardiovascular drugs: preparation and release characteristics [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2001, 27(6): 507-515.
- [3] LIU X X, XIN J B, CAO C L, et al. The study of bioavailability and bioequivalence of sodium ferulate capsule in humans [J]. Her Med(医药导报), 2010, 29(5): 600-603.
- [4] ZOU J, LIANG M Z. Determination of piperazine ferulate in human plasma by RP-HPLC [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2006, 15(3): 230-233.
- [5] GUO T, QIAO J, LI W Y. Bioequivalence study of piperazine ferulate capsules in healthy Chinese subjects [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2009, 29(12): 994-997.

收稿日期: 2011-08-18