

常规法与简化样本法计算汉族健康人安替比林药动学参数的比较

李允武 孙达华 肖忠革 陈晓文 贺平¹(上海 200011 上海第二医科大学附属第九人民医院临床药理学,¹上海 200438 上海东方肝胆外科医院)

摘要 目的:研究汉族健康人能否采用单点法或二点法代替常规采血法计算安替比林药动学参数,并确定其最佳实验方案及采血时间;**方法:**8例汉族健康自愿者顿服安替比林 750mg 后,间隔不同时间采血,HPLC 法测定其血药浓度,比较一点法或二点法与常规多点采血法计算药动学参数(Cl 、 $t_{1/2}$ 、 V_d)的差异;**结果:**相关分析表明,在选择适当采血时间的条件下,简化法与常规法测定的 Cl 和 $t_{1/2}$ 相关性好($r > 0.85$),误差小($RSD < 15\%$)。采用单点法时,采血时间应大于 20h,如 24、32h,采用两点法时,可选择 4~32、8~32 或 4~24h。用 Døssing 公式估算 AP 的 V_d ,与常规法相比,相关性差($r = 0.663$, $P > 0.05$)。**结论:**汉族健康人可采用简化样本法计算 AP 的 $t_{1/2}$ 和 Cl ,但不宜采用 Døssing 公式估算 AP 的 V_d 。

关键词 安替比林;药代动力学;健康受试者

To compare the routine and simplified methods for determination of antipyrine pharmacokinetic parameters on the Han nationality health volunteers

Li Yunwu, Sun Dahua, Xiao Zhongge, Chen Xiaowen, He ping¹ (*Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai, 200011; * Shanghai East Liver and Gallbladder Surgery Hospital, Shanghai, 200438*)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the validity of the simplified methods (one-sample or two-sample method) for determination of antipyrine PK parameters on the Han nationality health volunteers, and to find out the best experiment condition and sampling time; **METHOD:** After a single oral dose of antipyrine (750mg) in 8 health Han nationality volunteers, The plasma level of antipyrine was assessed by HPLC method for nine different intervals, and then the Cl 、 $t_{1/2}$ and V_d was estimated by 3P87 PK program method and the simplified methods; **RESULTS:** Correlation analyses has indicated that the Cl and $t_{1/2}$ which

assessed from simplified methods and multiple-sample method were highly correlated ($r > 0.85$), and there are small variation between them ($RSD < 15\%$), when select suitable experiment condition and sampling time. In one-sample method, the sampling time should more than 20h. In two-sample method, the best correlation was observed for the 4~32h, 8~32h and 4~24h points. But the V_d which estimated from the Døssing formula was not good correlation with that from multiple-sample method ($r = 0.663$, $P > 0.05$, $RSD = 13.77\%$); **CONCLUSION:** Simplified methods (one-sample or two-sample method) can be used for determination of antipyrine PK parameters (Cl and $t_{1/2}$) on the Han nationality health volunteers, but V_d should not estimated from the Døssing formula.

KEY WORDS antipyrine, pharmacokinetics, health volunteers

安替比林 (Antipyrine, AP) 作为模型药物, 从 80 年代起, 广泛用于研究肝 P-450 活性及其影响因素^[1,2]。时至今日, AP 仍以其药酶非选择性代谢、重现性好和能够用于临床研究等特点, 被视为评估肝药酶活性的主要模型药物之一^[3,4,5]。安替比林试验通常采用单剂量给药, 多次采血测定的方法。其操作繁琐, 病人不易接受。为此, Døssing 等人先后提出了单点法与两点法测定人 AP 药动学参数的简化方法^[6,7], 并证明简化法同样适用于病人、健康人和老年人 AP 的药代动力学研究, 取得与常规法非常近似的实验结果。然而, 肝 P-450 酶系存在显著的种族和种属差异, 适合白种人的简化方法及实验条件不一定能完全适用于黄种人。本实验比较了 8 例汉族健康自愿者采用单点法、两点法及常规法进行安替比林试验的结果, 旨在确定 Døssing 简化法是否适

用于汉族健康人 AP 实验。

1 仪器与试剂

Gilson 715 型高效液相色谱系统, Gilson 117 型紫外检测器。安替比林(上海五洲制药厂生产); 氨基比林(上海五洲制药厂生产); 甲醇(上海化学试剂研究所生产, 批号 20010302, HPLC 级); 其余试剂均为国产分析纯。

2 安替比林 HPLC 定量分析

2.1 色谱条件 色谱柱为 ODS C18 反相柱(4.6 × 250mm, 5 μ m), 流动相为甲醇:水=80:20, 流速 1ml/min, 紫外检测波长 254nm, 灵敏度为 0.100 AUFS, 室温, 进样量 20 μ l。标准溶液为 0.2 μ g/ μ l 安替比林溶液, 内标为 0.2 μ g/ μ l 氨基比林溶液。色谱图如图 1 所示。

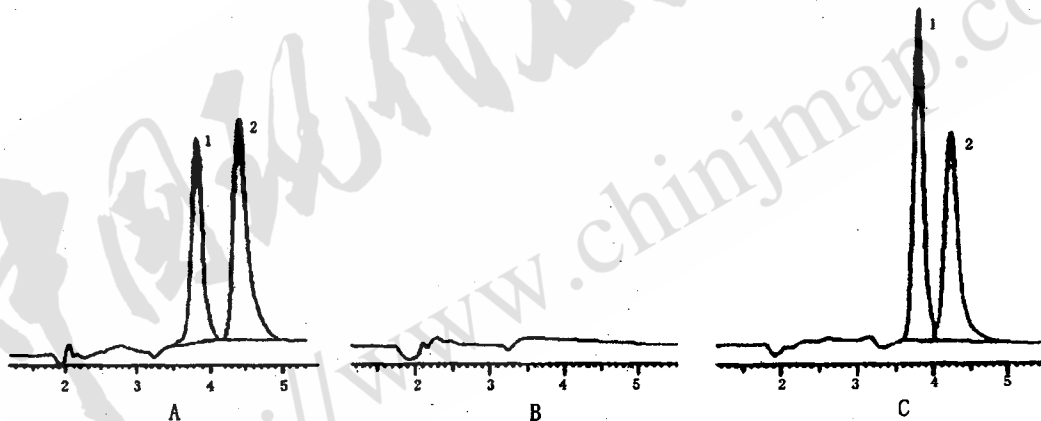


图 1 标准品、空白及样品血浆色谱图

A: 标准品血浆色谱图, B: 空白血浆色谱图, C: 样品血浆色谱图; 峰 1 为安替比林(3.80min), 峰 2 为氨基比林内标(4.50min)。

2.2 样品测定 取样品血浆 0.1ml, 加 0.2 μ g/ μ l 氨基比林内标溶液 10 μ l 和 0.1N NaOH 100 μ l, 混匀, 加 1ml 氯仿, 旋涡振荡 1min, 3000r/min 离心 5 分钟, 取氯仿提取液, 氮气吹干, 残渣用 100 μ l 流动相溶解, 取 20 μ l 进样。采用 Gilson 715 HPLC 色谱系统, 测定血药浓度。

2.3 标准曲线的绘制 取不同浓度的标准液 10 μ l, 分别加入 0.1ml 空白血浆中, 使血浆中安替比林浓度为 2.5、10、25、和 50 μ g/ml, 按“样品测定”操作, 测定血药浓度, 回归方程为: $Y = 0.9701C + 0.2151$, $r = 0.9997$ 。样品的平均回收率为 98.8 ± 2.36, $RSD = 2.39\%$ ($n = 5$)。此法测定 5、25、50 μ g/ml 三个浓度的日内、日间误差及回收率见表 1。

表 1 安替比林血浓度日内、日间误差及回收率($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

加入量 (μ g/ml)	日 内			日 间		
	测得量	回收率%	RSD%	测得量	回收率%	RSD
5	4.82 ± 0.062	96.40 ± 1.24	1.29	4.87 ± 0.082	97.40 ± 1.64	1.68
25	24.84 ± 0.64	99.36 ± 2.56	2.58	24.95 ± 0.96	99.80 ± 3.84	3.85
50	51.02 ± 1.05	102.04 ± 2.10	2.06	49.52 ± 1.85	99.04 ± 3.70	3.73

3 安替比林药动学参数测定

3.1 试验方法

健康自愿受试者 8 人(男 4 人、女 4 人), 身高: 男 167.7 ± 4.5 cm; 女 161.0 ± 6.9 cm。体重: 男 63.2 ± 5.3 kg; 女 58.7 ± 8.0 kg。年龄: 男 38.5 ± 2.3 y; 女 36.7 ± 3.5 y。一周内未服任何药物, 无解热镇痛药过敏史。

受试者空腹顿服安替比林 750mg, 1 小时后进早餐。给

药后,间隔 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 和 32 h 各取血液 2ml,按“样品测定”操作,测定药物浓度,分别采用 3P87 药代动力学程序和简化的单点法与两点法计算药动学参数(CI、 $t_{1/2}$ 和 V_d)。

3.2 安替比林药动学参数的计算

3.2.1 常规法

采用 3P87 药代动力学参数计算程序对实验数据进行房室模型分析,计算有关药动学参数(CI、 $t_{1/2}$ 和 V_d)。

3.2.2 简化样本法

两点法按一室模型计算安替比林药动学参数:

$$CI = \frac{\ln C_1 - \ln C_2}{t_2 - t_1} \times V_d \quad (\text{式 } 1)$$

$$T_{1/2} = 0.693 \times \frac{t_2 - t_1}{\ln C_1 - \ln C_2} \quad (\text{式 } 2)$$

式中 C_1 和 C_2 分别为 t_1 和 t_2 采血时间点的安替比林血药浓度($\mu\text{g/ml}$), V_d 为表观分布容积,按 Døssing 公式法估算^[6]:

$$V_d(\text{男}) = 0.3625 \times BW + 0.2239 \times BH - 0.1387 \times AGE - 14.47$$

$$V_d(\text{女}) = 0.2363 \times BW + 0.1962 \times BH - 0.0272 \times AGE - 10.26$$

单点法计算时上式可简化为:

$$CI = \frac{\ln(D/V_d) - \ln C_t}{t} \times V_d \quad (\text{式 } 3)$$

$$T_{1/2} = 0.693 \times \frac{t}{\ln(D/V_d) - \ln C_t} \quad (\text{式 } 4)$$

式中 D 为安替比林给药量(mg), t 为采血时间。

4 结果

4.1 血药浓度~时间数据

八例健康自愿者单剂量口服安替比林 750mg 后,测得的血药浓度~时间数据见表 2

表 2 8 例健康自愿者口服安替比林后的血药浓度($\mu\text{g/ml}$)

编号	0.5	1	2	4	6	8	12	24	32
1	14.71	20.11	22.64	21.89	21.13	16.25	15.20	10.00	6.43
2	6.92	9.13	16.81	19.49	16.41	15.16	13.00	7.37	4.32
3	9.71	18.40	19.03	14.03	12.00	10.78	9.52	5.01	2.42
4	16.39	21.54	20.47	17.72	16.21	13.60	13.01	8.61	6.89
5	6.30	10.34	14.90	14.20	12.30	10.56	9.35	6.77	3.98
6	8.55	15.01	22.49	21.54	18.81	17.37	14.30	7.06	4.66
7	6.31	14.25	20.84	19.96	17.63	17.20	15.60	9.15	6.98
8	9.34	23.05	24.47	21.35	20.10	19.45	16.55	10.00	8.17

采用 3P87 程序对 8 例健康自愿者口服安替比林后各时间点的血药浓度均数进行房室模型分析。安替比林口服给药符合一室模型,权重选择 1/C2。故按有滞后时间的血管外给药一室模型计算各对象的药动学参数,结果见表 3,表 4。

4.2 多样本法与简化样本法计算药动学参数的比较

由常规法与简化法(单点法与两点法)测得的药动学参数(V_d 、 $t_{1/2}$ 、CI)见表 3,表 4。

表 3 常规法与 Døssing 公式法计算 $V_d(L)$ 的比较

对象	常规法	简化法
1	30.51	33.57
2	33.04	31.32
3	40.79	37.41
4	37.38	40.89
5	48.02	41.45
6	29.18	38.47
7	33.32	35.20
8	30.10	32.30
$\bar{x} \pm s$	35.29 \pm 6.47	36.33 \pm 3.84
RSD %		13.77
R		0.663*

RSD 为 Døssing 公式法相对常规法测定偏差的变异系数; * $P > 0.05$ 。

表 4 常规法、单点法和两点法计算 AP 的 $T_{1/2}$ 和 CI 的比较

	采血时间	CI (L/h)			$T_{1/2}$ (h)		
		RSD (%)	R	P 值	RSD (%)	R	P 值
单点法	8 hr	34.44	0.833	+	93.39	0.042	
	12 hr	20.44	0.917	+	46.10	0.535	
	24 hr	6.94	0.988	+	8.88	0.929	+
	32 hr	4.62	0.991	+	13.08	0.919	+
两点法	4~12 hr	21.98	0.690		17.49	0.722	+
	4~24 hr	23.42	0.630		8.83	0.938	+
	8~24 hr	32.22	0.393		29.60	0.655	
	4~32 hr	13.74	0.894	+	5.54	0.974	+
	8~32 hr	15.66	0.855	+	12.30	0.946	+

RSD (%) 为单点法和两点法相对常规法测定偏差的变异系数;

R 为简化样本法相对常规法测定结果线性回归的相关系数;

+ 表示简化法与常规法测定结果呈显著相关 ($P < 0.05$)。

5 讨论

AP 为吡唑酮类化合物,口服吸收迅速、完全,吸收后在体内分布均匀,主要经肝 P450 氧化代谢,口服给药呈一室模型,是研究肝 P-450 氧化酶活性的常用模型药物。国外 80 年代即开始采用简化样本法测定 AP 的 PK 参数。Døssing 的研究证明^[6],口服给药 18h 后一次采血测定 AP 的 CI,与多样本法测定结果无显著差异。McPherson 采用两点法(4、24h)测定阻塞性黄疸患者 AP 的 $T_{1/2}$,与常规法结果相比具有良好的相关性。Farrell & Zaluzny 的研究表明两点法与六点法测定的 CI 也存在较好的相关性。Jorquera 等^[7]1996 年采用一点法(24h),研究了 15 名老年妇女(平均年龄 86 岁)AP 的 CI、 $T_{1/2}$ 和 V_d ,并与多点法作了比较,发现其精密度和准确性均很好。但是,AP 代谢有种族差异,不同种族或种属的实验结果不宜外推。国内尚无人比较过简化法与常规法的差异。因此,本实验给 8 例健康自愿者顿服安替比林,同时采用单点法(8、12、24、32h)、两点法(4~12、4~24、8~24、4~32、8~32h)与常规法进行了比较。相关分析表明,在选择适当采血时间的条件下,两种简化样本法测定的 CI 和 $t_{1/2}$,与多样本法相比,相关性好($r > 0.85$),误差小(RSD $< 15\%$)。说明简化样本法同样适用于汉族健康受试者 AP 的 CI 与 $t_{1/2}$ 研究。但是,选择不同的实验方案与采血时间,产生的实验误差相差很大(表 4)。单点法测定时,如采血时间为 8 或 12 h,与常规测定法的相比,CI 和 $t_{1/2}$ 的误差较大,RSD 高达 93.9%;如采血时间分别为 24 和 32 h,则 CI 与 $t_{1/2}$ 的相关性较好,误差小,RSD 为 13.0%。两点法测定时,选择 4~32、8~32 h 测定的 CI 和 $t_{1/2}$ 相关性好,误差小。选择 4~24 h 两点法测定的 $t_{1/2}$ 相关性虽好,但 CI 误差大。选择 4

~12、8~24 h 测定,误差均过大。

实验结果表明,采用单点法时,采血时间应大于 20h,如 24 或 32h,采用两点法时,可选择 4~32、8~32 或 4~24h,具体采血点可视受试者情况而定。如肝功能较好,可适当提前,如肝功能受损,则可适当推迟采血时间(约两个 $t_{1/2}$)。值得注意的是,采用 Døssing 公式法估算 AP 的 V_d ,与常规法相比,相关性较差($r=0.663$, $P>0.05$)。由于本实验样本数有限,尚不足以推导出汉族人的 V_d 公式,对此有待扩大样本数。此外,当个体的 V_d 偏离平均值较大时,得到较大误差,使简化法求得的参数的意义大为降低。

总之,采用简化样本法进行安替比林试验具有方法简单实用、成本低、易为患者接受等优点,其测定结果与常规法相比,具有相似的准确度和精密度,值得推广应用。

参考文献

- 1 贺平、吴孟超、郭亚军. 有关安替比林代谢的临床药理研究. 中国药理学通报, 1996;12(4):306.
- 2 Tanaka E, Breimer DD. In vivo function tests of hepatic drug-oxidizing capacity in patients with liver disease. J Clin Pharm Ther. 1997;22(4):237.
- 3 Blanco JG, Harrison PL, Evans WE et. al. Human cytochrome P450 maximal activities in pediatric versus adult liver. Drug Metab Dispos. 2000;28(4):379.
- 4 Allen E, Tsanaclis LM, Wroe SJ et al. Gabapentin does not affect antipyrine clearance. J Clin Pharmacol. 1999;39(9):934.
- 5 Takeda M, Furuse A, Kawachi M et. al. Estimation of functional liver reserve in patients before cardiac surgery using antipyrine plasma clearance test. J Cardiovasc Surg. 1999;40:817.
- 6 Døssing M, Poulsen HE, Andreasen PB et al. A simple method for determination of antipyrine clearance. Clin. Pharmac. Ther., 1982;32(3):392.
- 7 Jorquera F, Almar MM, Gonzalez SM et. al. Accuracy of the one-sample method for determination of antipyrine clearance in elderly subjects. J Pharm Biomed Anal. 1996;15(1):7.

收稿日期:2001-07-16