

## 酮替芬缓释口服剂型的体内体外相关性:体外溶出速率

宫曙光译 周 全校

酮替芬 (Ketotifen, Zaditen, 瑞士 Sandoz 公司) 是一种苯并庚硫芬衍生物, 作为一种口服抗过敏药物, 主要用作预防气喘。相对于其他气喘预防药而言, 酮替芬开始作用缓慢并具有温和的镇静作用。可用于长期预防气喘, 成人和儿童的日剂量是每日 2 次 (早、晚), 每次 1mg。市售剂型有溶液、糖浆、胶囊 (1mg) 和片剂 (1mg), 均为生物等效产品。

缓释片必须具有以下优点: (1) 宜于晚上服用, 镇静作用利于夜间睡眠; (2) 一日一次给药, 不降低生物利用度; (3) 避免常规剂型的高峰血浆浓度。

多数系统试验获得的药物缓慢释放是其吸收速率缓慢下降而吸收量却不缓慢下降, 但酮替芬这种新剂型不同, 它与 Zaditen SRO 片一样有效。其性能之一已由临床疗效观察的良好的药动学图象所肯定。

在开发酮替芬新剂型期间, 发现不同种类的缓释片显示出不同的体外溶出速率 (DR) 图象。为确保质量和市售缓释制剂性能, 一个重要问题是建立不同批号产品的体外溶出表。

为确定各种缓释片的药物释放测定容许的范围, 必须找出缓释片体外药物释放和体内药物动力学参数之间的相关性。

按照文献, 一种药物缓释剂型的主要的体外—体内相关性报告是在各参数之间获得的。例如, 作为体外参数的平均溶出时间, 在一次准确的时间内容出量和溶出速率等等; 作为体内参数的血药浓度—时间曲线下的面积, 血浆峰浓度, 达峰时间, 在一个确定时间内的吸收量等等。然而, 这些单点的相关不能保证体内动力学图象重现性。

另有研究提出溶出曲线用一级方程去描述, 在尚无任何设想的数学模型来描述这个溶出曲线的情况下, 允许由溶出曲线来预测血浆浓度。然而只有少数例子能在由体外溶出来精确预测血浆浓度的文献中找到。

新近描述 Zaditen SRO 片的论文(1) 研究者选择一种最理想的条件进行检测溶出速率和药动学研究, 获得一种好的体内体外相关性; (2) 在单剂量或稳态时给药后由一条溶出曲线预测血浆浓度的可能性; (3) 给予各种缓释片的溶出速率可达到确定的范围, 以充分保证体内药动学参数的良好实验结果。

### 实验部分

剂型 市场销售的 Zaditen (含酮替芬 1mg; 批号 222, 289 和 329; 法兰西 Sandoz 公司生产)。市售胶囊为参比剂型 (速释)。四种缓释片 (酮替芬 2mg) A, B, C 和 D 是由瑞士 Basle, Sandoz 公司批量生产。品种 A, B 和 C 按试验性的大小批量生产, 但是阻滞剂配料的数量不同 ( $B \neq A$  和  $C$ ), 加上 (B 和 C) 或不加 (A) 的一层水溶性包衣。品种 D 和品种 C 含有同样的成分, 但是在工艺改进后按工业规模的大小批量生产。

溶出试验 应用四种不同的溶出试验 (DR) 方法进行。

溶出试验 1 体外溶出试验用美国药典仪器 1 (转篮式) 进行。转篮在 500ml 37°C pH1 的 HCl 中 120rpm 转动 2h, 然后在 pH6.8 中转动。溶解的酮替芬用 HPLC 方法分析, 用 UV 检测。对于每个品种, 代表着时间对体外溶出累积百分率 (CPD) 的平均曲线, 是从至少三次溶出试验的结果计算的。每个溶出试验用 6 片片剂。

溶出试验 2 体外溶出试验用美国药典仪器 2(转桨式)进行。浆在 500ml 37℃ 及循环 pH(从 2、4 至 6、8)的水中以 50rpm 的速度旋转,其他过程同溶出试验 1。

溶出试验 3 体外溶出试验用美国药典仪器 2(转桨式)进行,浆在 500ml 37℃ 水中以 50rpm 转速旋转,其他过程同溶出试验 1。

溶出试验 4 体外溶出试验同试验 1 但是按美国药典仪器 2(转桨式)进行。

药物动力学研究方案 年青健康的志愿者 58 位,男女均有,参加四种不同的研究。

研究 I 评价缓释片剂(2mg)的三个品种(A, B 和 C)的相对生物利用度,并且与参比胶囊(1mg)对照。本研究在 15 位志愿者单剂量(2mg)给药后实施四个周期的交叉试验。早晨,用标准化大陆早餐前 2 小时给药,药动学评价在 48 小时周期的期间内进行。

研究 II 在 15 位志愿者中单剂量(2mg)给药后三个周期交叉试验后评价食物对缓释片的生物利用度的影响。给药方法为参比胶囊晚餐前 2 小时,缓释片(品种 B)晚餐前 2h 和缓释片(品种 B)晚餐开始后 30min。在 48h 周期内进行药动学评价。

研究 III 由 12 名志愿者参加在两个周期的交叉试验中评价稳态下的药物动力学。每人每日服用酮替芬 2mg,共服 8 天,剂型为参比胶囊(1mg),每日 2 次,或缓释片(2mg)每日早晨一次(品种 A)。均在食前 10min 服药。药动学评价周期为 24h,第 8 天进行。

研究 IV 16 位志愿者在两个周期的交叉试验中评价稳态下的药物动力学。每人每日 2mg 酮替芬,共服 9 天。剂型为参比胶囊(1mg),每日 2 次(上午 8 点 1 次,下午 8 点 1 次)或缓释片(2mg)每日早晨 1 次(品种 D),每日晚上 1 次(下午 8 点钟),均在开始摄取食物后 30min 服药。药动学评价周期 24h,第 8 天(下午 8 点钟)到第 9 天(下午 8 点钟)内进行。

血浆中酮替芬检测 用 RIA(放射免疫测定)方法。RIA 完全是按四组研究中酮替芬的血浆动力学进行测定。在测定待测(研究各组)样品期间为对照的质控样品的浓度为 40, 250, 400 和 1500pg/ml 时,其测定间隔变异(方差)的典型结果分别是 32, 11, 12 和 9%。

药物动力学分析 比较缓释片和参比胶囊在单剂量服药后测得的下列参数:最大血浆浓度( $C_{max}$ ),最大的血浆浓度比( $RC_{max}$ ),达到最大血浆浓度的时间( $t_{max}$ )和根据缓释片与参比胶囊两者血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)的比例计算的为缓释片的相对生物利用度。由梯形规律加上外推法到终端半衰期(见下面)的  $\beta$  值无限大计算  $AUC_{0-\infty}$ 。

对于稳态的研究,做出了下列参数的比较:( $C_{max}$ ), ( $RC_{max}$ ), ( $t_{max}$ ), 最小血浆浓度( $C_{min}$ ), 最小血浆浓度比例( $RC_{min}$ ), 缓释片对参比胶囊的相对的生物利用度(0~24h 区间 AUC 的比例)和波动指数(FI):

$$FI = \frac{C_{max} - C_{min}}{C_{av}} \quad (1)$$

公式 1 中  $C_{av}$  定义如下:

$$C_{av} = \frac{AUC_{ss}[0 \sim 24h]}{\tau} \quad (2)$$

公式 2 中  $\tau$  为给药间隔(24h)。按照单剂量口服给药酮替芬的血浆浓度图象表明为两室特征。服用参比胶囊后获得的个体血浆浓度数据,用下列一般公式给出合适的用药方案:

$$C(t) = -Ce^{-k\alpha(t-\Delta t)} + Ae^{-\alpha(t-\Delta t)} + Be^{-\beta(t-\Delta t)} \quad (3)$$

公式 3 中  $C = A + B$ ;  $C(t)$  是在时间“t”

[当  $t \leq \Delta t$  时,  $C(t) = 0$ ] 时血浆浓度; t 为给药后时间;  $\Delta t$  为滞后时间; A, B 和 C 是指数前因子(pre-exponential factor);  $k\alpha$ ,  $\alpha$  和  $\beta$  是血浆浓度-时间曲线的速率常数。然后计算出微量常数(microconstant)  $k_{21}$ ,  $k_{12}$  和  $k_{10}$ 。

体内吸收分数 用于两室模型的 Loo-

Riegelman 方法<sup>[1]</sup>曾用来评价各时刻体内吸收累积百分率(CPA)。在缺乏静脉给药的条件下,则利用口服参比剂型后获得微量常数。每个病例,参比胶囊的体内 CPA 在时间无穷大的情况下假设为 100%。缓释片在时间无穷大的个体体内 CPA 是由缓释片对参比胶囊的相对的生物利用度来计算,对每位志愿者每次服用的“研究 I”品种作计算,同样也对“研究 I”和“II”的每个品种的平均血浆浓度—时间曲线加以计算。

**体内体外相关性** 评价两种相关性,首先,在两个相应的体内和体外时刻之间,CPA 和 CPD 的数值相同;第二,在规定时刻体内 CPA 平均值与体外 CPD 平均值相同。

**单剂量给药后由体外溶出速率预测血浆浓度** Loo-Riegelman 方法允许由血浆浓度引入动力学计算。用 Loo-Riegelman 方程由体外溶出试验预测缓释制剂的血浆浓度是可能的。计算是根据有关的缓释片品种体外溶出试验数据,找出体内—外相关性,和与研究有关的参比胶囊的平均  $AUC_{0-\infty}$  值。

计算的第一步包括以下计算:每个时刻的体内溶出—吸收分数;基于体外的 DR 值;二者的相关性。第二步根据微量常数,参比的  $AUC_{0-\infty}$  和体内溶出—吸收分数来计算缓释片各时刻的血浆浓度。这些计算的细节见于附录,血浆浓度在单剂量给药后 0~24h 区间进行上述计算。

**预测稳态血浆浓度** 为比较所期望的血浆动力学,对服用缓释片每日 1 次 2mg 和参比胶囊 1mg 每日 2 次的稳态血浆浓度图象进行了模拟。因为酮替芬显示—线性动力学(人体的数据),故由迭加原理获得了曲线,即按照单剂量血浆浓度的结果使用线性内推并用参比胶囊(研究 I)的平均  $\beta$ -相 ( $\beta = 0.039h^{-1}$ ) 外推至无限时间计算求得。

对参比胶囊,按照单剂量给药的血浆浓度,在给药(研究 I)后的 0~24h 间隔期间由实验的平均值求得。对于缓释片,由体外溶出

速率获得血浆浓度推测单剂量给药后的血浆浓度。模拟进行 7 天以上,以此足够长的时间来获得酮替芬稳态图象。

考虑到在不同研究中对参比药所观察到的 AUC 的区别而引入一个加权因数 (Weighting factor)。参比药 AUC 的这种区别是由清除率的个体差异引起的,同样地是研究中的测量误差引起的。权数(f)如下式表示:  $f = \text{参比胶囊研究 III 或 IV 的 } AUC_{ss}[0 \sim 24h] / \text{参比胶囊研究 I 的 } AUC_{0-\infty}$

这个权数用于研究参比胶囊和缓释片是必须考虑的。

## 结果和讨论

**体内吸收** 比较测试品种由平均血浆浓度计算出的平均 CPA 和从个体血浆浓度求得的平均 CPA 很有意义。这些比较在“研究 I”期间试验的三个品种,无论哪一个品种被看重的品种都予执行,显示出良好的一致性,见图 1(品种 A)。这些结果使我们得出结论,可从平均血浆浓度—时间曲线中直接计算 CPA。由此可减少冗长的计算,而且可用平均血浆浓度—时间曲线评价吸收动力学。

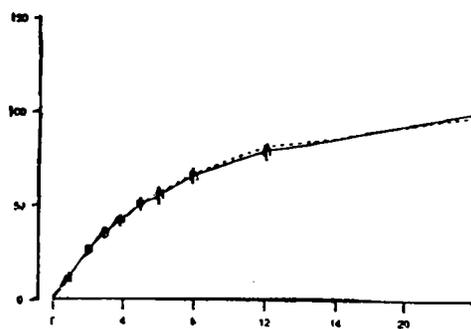


图 1 品种 A(研究 I)CPA-时间曲线。

注: (—□—) 个体的 (n=15) 平均累积吸收百分率  $\pm$  SEM;  
(—●—) 从平均血浆浓度推出的累积吸收百分率

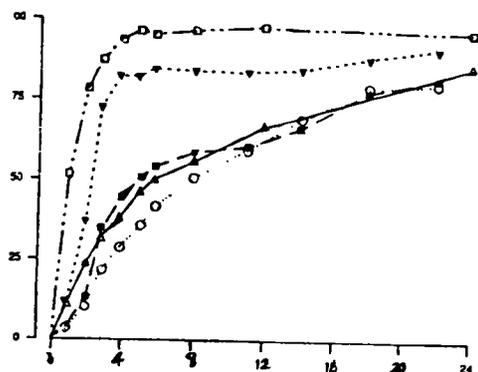


图 2 平均累积吸收百分率对时间曲线

注: (—□—) 参比研究 I, 早餐前 2h;  
 (—▲—) 参比研究 I, 晚餐前 2h;  
 (—△—) 品种 B, 研究 I, 早餐前 2h;  
 (—■—) 品种 B, 研究 I, 晚餐前 2h;  
 (—○—) 品种 B, 研究 I, 晚餐期间。

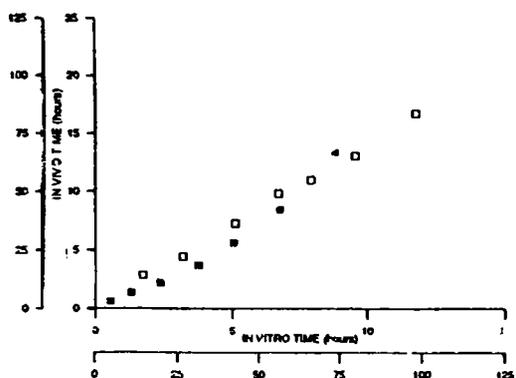


图 3 品种 B (□) 累积溶出百分率和相同时刻的累积吸收百分率的相关性 ( $\gamma=0.997$ ) 以及 ■ 相同吸收/溶出百分率的体内时间和体外时间之间的相关性 ( $\gamma=0.985$ )。

给药条件对体内 CPA 图象的影响 研究 I 和 II 于早餐前 2h 和晚餐前 2h 给予参比胶囊后酮替芬的 CPA 图象见图 2。在晚上获得吸收相与早上比较明显地缓慢下降。这种下降可能是由于晚上禁食后或白天用早餐、午餐后的不同胃肠道状态造成,也可能是由于血流变化所致。志愿者的活动似乎相应地减少,因为早晚均在病房进行类似的活动。

对缓释片,在研究 I 和 II 中,早餐前 2h,

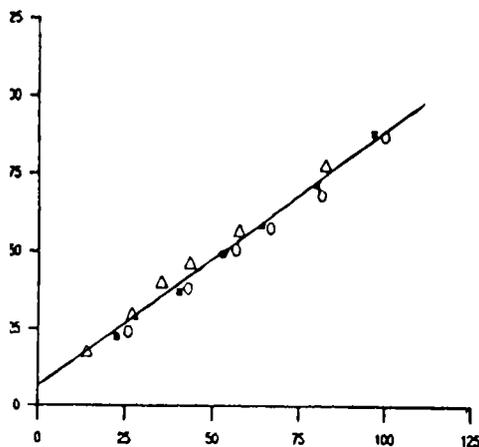


图 4 “研究 I”中各品种在溶出试验(3)条件下的溶出百分率和吸收百分率之间的线性相关。

■为品种 A, (○)为品种 B, (△)为品种 C。

晚餐前 2h 和晚餐期间给予品种 B 后评价酮替芬的 CPA 图象。当服用参比品时,晚上吸收比早晨同样缓慢下降,晚餐前与晚餐期间服药也减少吸收相的速度;然而,在所有情况下,观察到的参比胶囊或缓释片在吸收量上没有明显差别。

为了标准化的目的而设计不同的试验,早晨,晚上禁食后,早餐前 2 小时的吸收,以便认定体内和体外数据的相关性。

体内和体外的相关性 品种 B 体内一体外相关实验的两种类型见图 3。在规定的时间内观察到 CPA 和 CPD 两者之间最好的线型相关;品种 A 和 C 得到同样的结果。所有的四种溶出试验和每个品种,都得到了良好的体内一体外相关性,按溶出试验 3 的条件结果最好。例如,对应于品种 B 的 DRI 溶出试验 1, DR2, DR3 和 DR4 的相关系数分别为 0.994, 0.990, 0.997 和 0.989。

考虑所有这些结果,体内一体外相关性最终的选择是以溶出试验 3 条件下的体外数据和“研究 I”的体内数据求得的,故将品种

A, B 和 C 的数据一起处理而求得缓释片更具代表性的相关。Passing 和 Bablock 方法曾用在计算体外数据和体内数据之间的线形关系(图 4)。

由体外溶出试验得到期望的单剂量的血浆浓度 通过“附录”描述的体外溶出试验和方法,按单剂量给药后计算缓释片 A, B 和 C 的血浆酮替芬浓度,并反复计算证实了这个方法的可靠性。当计算的血浆浓度与在“研究 I”中的那些测试比较时,每个品种的两条曲线间均显示出较好的一致性(图 5)。

由体外 DR 求期望的稳态血浆浓度 比较模拟血浆浓度与对参比胶囊和缓释片稳态研究中那些测试的结果显示在图 6 的研究 III 和研究 IV。对于参比胶囊,观察到模拟数据和实验数据之间不一致,这是因为对观察的实验数据的昼夜效应未行模拟考虑。此外,观察到研究 IV 比研究 III 在模拟和实验数据之间有更大的差异,事实上,模拟值是从早餐前 2h 禁食状态下给药推断的;而在研究 IV 期间,药物是在早餐间和晚餐间服用的。另一方面,在研究 III 中摄取食物前 10min 服药。然而,其他有关酮替芬的药动学研究表明,昼夜效应是关于早晚服药两者间吸收相的速率效应,而不是关于药物吸收量的效应(人的数据)。

对于缓释片,研究 III 的模拟和实验数据之间达到良好的一致。动力学第一部分时段

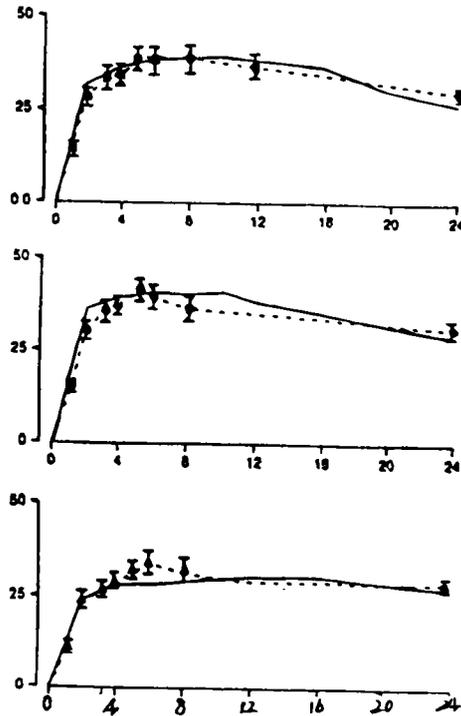


图 5 血浆酮替芬浓度——时间曲线  
(.....) 单次口服 2mg 以后测定 (mean ± SEM; n=15); 研究 I 各品种的个体值: (■) A. (●) B. (▲) C; (—) 由体外溶出速度预测的数值。

的微弱差别可以由关于食物摄取的差别来解释。对于“研究 IV”,就参比品而言,也是由于相同的原因而不相符合。但是,比较两种稳态

Table 1—Relative Pharmacokinetic Parameters at Steady State of MR Tablet (2 mg, OAD) versus Reference Capsule (1 mg, BID); Comparison of Experimental Data (Study III and Study IV) and Predicted Data

Parameter*	MR Variant A			MR Variant D		
	Study III (n=12)	Predicted Data	Difference, % <sup>b</sup>	Study IV (n=16)	Predicted Data	Difference, % <sup>b</sup>
C <sub>max</sub> MR tablet/C <sub>max</sub> Ref.	0.835	0.792	-5.1	0.692	0.761	10.0
C <sub>min</sub> MR tablet/C <sub>min</sub> Ref.	0.914	0.859	-6.0	0.978	0.854	-12.7
Bioavailability on AUC 0-24h, %	92.7	88.6	-4.4	94.1	84.9	-9.8
Huctuating index <sup>c</sup>						
reference	0.68	0.61	— <sup>d</sup>	0.79	0.61	—
MR tablet	0.55	0.49	—	0.36	0.47	—

Over a 24-h period. Difference (%); [(predicted data - experimental data)/experimental data] · 100. From the mean parameter.

— Not applicable.

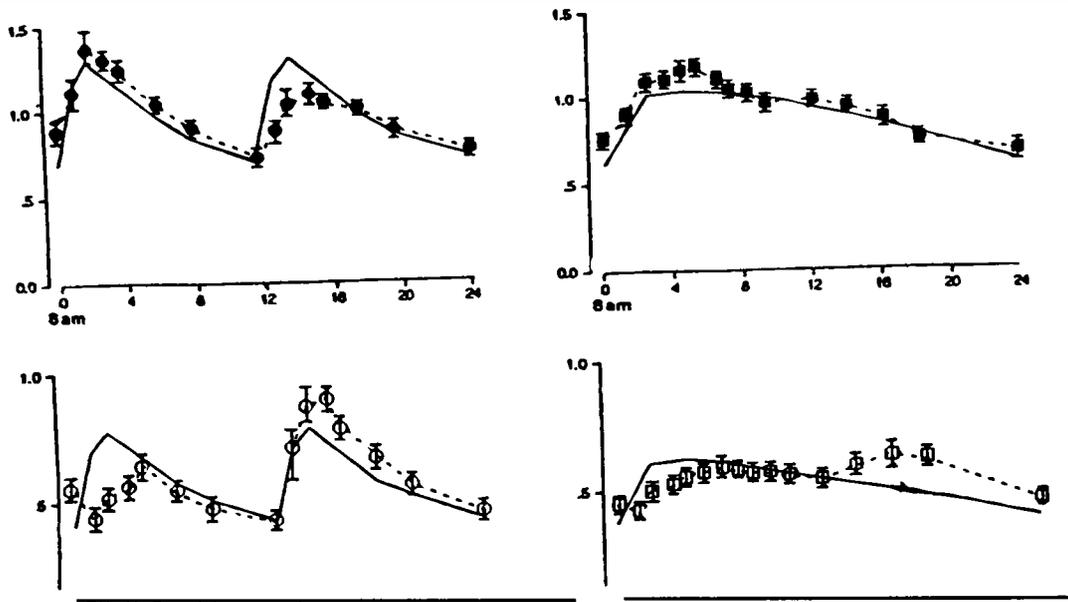


图 6 参比胶囊(每日 2 次,每次 1mg)和缓释片(每日 1 次,每次 2mg)稳态血浆酮替芬浓度-时间曲线。

注: (·····)“研究 III”数值 (mean±SEM, n=12), (●)参比胶囊, (■)品种 A; (·····)研究 IV 数值 (mean±SEM, n=16), (○)参比胶囊, (□)品种 D; (—)参比胶囊单剂量给药和由品种 A 与 D 体外 DR 预测的数值。

Table 2—Release Specifications in DR3 Conditions for the MR Tablet of Ketotifen

	Dose Dissolved, %	
	Lower Limit	Upper Limit
4	20	50
8	40	75
24	80	100

Table 3—Predicted Pharmacokinetic Parameters of Ketotifen at Steady State for the Upper and Lower Limits Dissolution Rate Specification for the MR Tablet in Comparison with the Reference Capsule

Parameter	Reference Capsule (1 mg BID)	MR Tablet (2 mg OAD)	
		Lower limit	Upper limit
Bioavailability	100% <sup>a</sup>	78%	93%
Ratio C <sub>max</sub> <sup>b</sup>	—	0.69	0.87
Ratio C <sub>min</sub> <sup>b</sup>	—	0.88	0.91
Fluctuating index	0.61	0.36	0.54

<sup>a</sup> By definition. <sup>b</sup> MR tablet versus reference capsule.

研究的模拟和实验数据推论的结果仍然重要。表 1 所列缓释片每日 1 次和参比胶囊每日 2 次的主要药动学参数是对两种情况的总结。所有的实验参数由 A、D 两个品种两种稳态研究模拟的数据和实验数据之间有非常好的一致性。由模拟推测的结果有一种倾向,使缓释片药动学特性不利于跟参比胶囊药动学特性相比,于是我们认为在跟参比胶囊对比中该使用模拟数据去评价缓释片品种的不同 DR 是正确的。

体外—体内限度 基于缓释片不同品种的体外 DR 上和体内测得的结果,提出了一批 Zaditen·SRO 片剂体外 DR 上限和下限释放表(表 2)。每日早晨给予 1 次品种。体内特征对应的溶出试验上,下限是基于每日 2 次参比胶囊模拟情况的比较见表 3。源于这些参数,各品种从理论上对应的溶出速率的上、下限,对每早给予一次的缓释片保证了良好的一致性。

可争议的唯一参数是对应于低限值 78% 的生物利用度,它超出了±20%的规定,然而,表 1 中,品种 D 的生物利用度,其实结果比模拟结果高出 10% 而接近上限,所以由模拟方法计算的 78% 是低估的生物利用度,从而可接受该项的低限 DR。

综合上述结果,可以认为,确定酮替芬缓释片体外 DR 上下限作为规范,将保证遵行该标准的各批号酮替芬更好地在体内发挥药效。

### 结 论

规范一种口服药物剂型的体外溶出试验较难,然而,为保证给药剂型的生物利用度特性,在每个批号间达到体内重现,这些规范又是必需的。这就是关于缓释片剂型体内一体外相关性专题研讨的主要的结论。

对于 Zaditen SRO 片,相应于体内最好的给药条件来确定最好的体外 DR,从而有可能获得最好的体内-体外相关性。这个相关意味着血浆浓度能够准确地预测,并且确定这个剂型的体外 DR 上下限的正确性。然而,必须记住一点,由于试验的品种不同,口服给药途径情况的不同和给药剂型体外溶出试验条件的不同,要获得这样的相关性不总是可能的。

### 附 录

由缓释剂型的体外 DR 数据预测血浆浓度(单剂量给药)的计算过程 体内吸收分数(FA)与各时刻(T)体外溶出分数(DR)之间的线形关系。

$$(FA)_T = U(DR)_T + V \quad (A1)$$

Loo-Riegelman 法<sup>[1]</sup>

$$\frac{(X_A)_T}{V_c} = (FA)_T k_{el} AUC \quad (A2)$$

$$\frac{(X_A)_T}{V_c} = C_T + k_{el} AUC + \quad (A3)$$

公式(A3)中

$$k_{el} AUC_T = k_{el} AUC_{T-1} + k_{el} \frac{\Delta t}{2} C_T + k_{el} \frac{\Delta t}{2} C_{T-1} \quad (A4)$$

$$\begin{aligned} \frac{(X_P)_T}{V_c} &= \frac{(X_P)_{T-1}}{V_c} e^{-k_{21}\Delta t} + \frac{k_{12}C_{T-1}}{k_{21}} (1 - e^{-k_{21}\Delta t}) \\ &+ \frac{k_{12}}{2} \Delta t (C_T - C_{T-1}) \end{aligned} \quad (A5)$$

公式 A2~A5 中,  $(X_A)_T$  是在时间 T 时药物吸收的总量,  $V_c$  是中央室的表观容积,  $C_T$  是在时间 T 时缓释片剂的浓度,  $AUC_T$  是从时间 0 至时间 T 缓释片的 AUC,  $(X_P)_T$  是在时间 T 时周边室的药物数量,  $\Delta t$  是 T 和 T-1 之间的差,  $k_{e1}$ ,  $k_{21}$  和  $k_{12}$  是从研究 I 中由参比剂型获得的微量常数, AUC 是参比剂型的曲线下面积值(0→∞)。

从公式 A2~A5, 对各时间 T 预测的血浆浓度如下:

$$\begin{aligned} C_T &= \frac{(X_A)_T}{V_c} - \frac{(X_P)_{T-1}}{V_c} e^{-k_{21}\Delta t} + C_{T-1} k_{12} \frac{\Delta t}{2} \\ &- C_{T-1} \frac{k_{12}}{k_{21}} (1 - e^{-k_{21}\Delta t}) - C_{T-1} k_{el} \frac{\Delta t}{2} \\ &- AUC_{T-1} k_{el} / l + k_{12} \frac{\Delta t}{2} + k_{el} \frac{\Delta t}{2} \end{aligned} \quad (A6)$$

为了求得缓释片单次口服剂量后预测的血浆浓度-时间曲线, 必须按步骤( $\Delta t = 0.5h$ )计算各浓度。

(J Pharm. Sci Vol. 83, No. 2 February 1994)