论著

文章编号:1000-5404(2005)21-2148-03

盐酸二甲双胍缓释片人体相对生物利用度及其药代动力学研究

陈勇川,何菊英,唐 敏,代 青,石 英,夏培元 (第三军医大学西南医院药剂科,重庆 400038)

提 要:目的 建立人血浆中盐酸二甲双胍的高效液相色谱测定方法,考察国产盐酸二甲双胍缓释片相对于普通片的生物等效性,并估算其药代动力学参数。**方法** 血浆样品经乙氰沉淀蛋白后进行高效液相色谱分析。色谱柱为Nucleosil 100-5硅胶柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相为0.03 mol/L磷酸二氢铵(pH 7.0)-乙氰(75∶25,V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为240 nm。**结果** 缓释片和普通片的主要药动学参数为:单剂量时AUC_{0-24}分别为(12.13±1.85)和(13.72±2.04)μg·h^{-1}·ml^{-1};C_{max}分别为(1.6±0.3)和(2.31±0.36)μg/ml;t_{max}分别为(4.7±0.87)和(1.95±0.54)h;$t_{1/2}$分别为(4.04±1.16)和(4.26±0.64)h;多剂量时AUC_{ss}分别为(14.52±1.98)和(7.22±1.49)μg·h^{-1}·ml^{-1};C_{max}分别为(1.61±0.26)和(1.54±0.27)μg/ml;C_{min}分别为(0.17±0.11)和(0.17±0.05)μg/ml;C_{av}分别为(0.61±0.09)和(0.60±0.12)μg/ml;t_{max}分别为(4.8±0.7)和(1.9±0.64)h;AUC_{0-24}和AUC_{ss}经对数转换后方差分析和双单侧t检验,均无显著性差异。**结论** 盐酸二甲双胍缓释片的相对生物利用度单剂量时为(88.8±9.3)%,多剂量时为(100.54±10.6)%,试验片和参比片吸收程度生物等效,试验片具有缓释特征。

关键词: 盐酸二甲双胍;缓释片;高效液相色谱;药代动力学

中图法分类号: R944.4; R969.1; R977.15 **文献标识码:** A

Study on the relative bioavailability and pharmacokinetics of Metformin extended-release tablets in human volunteers

CHEN Yong-chuan, HE Ju-ying, TANG Min, DAI Qing, SHI Ying, XIA Pei-yuan (Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the study of bioavailability and pharmacokinetics of Metformin in human plasma. **Methods** A simple HPLC method using ultraviolet detection was developed, which established the direct injection of the plasma sample after deproteinating with acetonitrile. The mobile phase consisted of 0.03 mol/L ammonium dihydrogen phosphate (pH 7.0) and acetonitrile (75∶25, V/V). Analysis was run at a flow-rate of 1.0 ml/min with the detector operated at wavelength 240 nm. **Results** The single-dose pharmacokinetic parameters of Metformin extended-release tablet and Metformin tablet were: AUC_{0-24} (12.13±1.85) μg·h^{-1}·ml^{-1} and (13.72±2.04) μg·h^{-1}·ml^{-1}, C_{max} (1.6±0.3) μg/ml and (2.31±0.36) μg/ml, t_{max} (4.7±0.87) h and (1.95±0.54) h, $t_{1/2}$ (4.04±1.16) h and (4.26±0.64) h; The multiple-dose pharmacokinetic parameters of Metformin extended-release tablet and Metformin tablet were: AUC_{ss} (14.52±1.98) μg·h^{-1}·ml^{-1} and (7.22±1.49) μg·h^{-1}·ml^{-1}, C_{max} (1.61±0.26) μg/ml and (1.54±0.27) μg/ml, C_{min} (0.17±0.11) μg/ml and (0.17±0.05) μg/ml, C_{av} (0.61±0.09) μg/ml and (0.6±0.12) μg/ml, t_{max} (4.8±0.7) h and (1.9±0.64) h. The statistical analysis for AUC_{0-24} showed that there was no significant difference between Metformin extended-release tablet and Metformin tablet. **Conclusion** The single-dose and multiple-dose relative bioavailability of Metformin extended-release tablet were (88.8±9.3)% and (100.54±10.6)%, respectively. The bioavailability of Metformin extended-release tablet was equal to Metformin tablet. The test tablet posseses controlled release characteristic.

Key words: metformin; extended-release tablet; HPLC; pharmacokinetics

二甲双胍属双胍类降糖药,是目前世界发达国家仍在使用的惟一口服双胍类抗高血糖药物,其降糖机制是提高外周组织和肝脏对胰岛素的敏感性,降低胰岛素抵抗,减少胃肠道对葡萄糖的吸收。目前国内临

作者简介:陈勇川(1970-),男,四川省成都市人,硕士,副主任药师,主要从事新药临床药理方面的研究,发表论文35篇。电话:(023)68765495

收稿日期:2004-07-13;修回日期:2004-08-19

床上使用的为其普通片剂和胶囊剂，常用剂量为每日 3 次，每次 500 mg，存在服药次数多、血药浓度波动大等缺点。美国 FDA 已批准 BMS 公司的盐酸二甲双胍缓释片上市，商品名 GlucophageXR，此制剂目前还未在国内上市，而国内市场上也没有其国产缓释制剂应用。为评价国产二甲双胍缓释片的生物等效性，为新药报批和临床应用提供依据，我们对国产二甲双胍缓释片的药代动力学进行了研究。

1　材料与方法

1.1　仪器与试药

Waters 2690 Alliance 液相色谱仪，包括 Waters 2487 双波长检测器，Millennium^{32} 数据采集处理系统；高速离心机（美国 Abbott 公司）；超纯水器（Milli-Q plus，USA，Millipore 公司）；微孔滤膜及过滤装置（Millipore USA）；KQ-250B 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

试验药：盐酸二甲双胍缓释片，500 mg/片（重庆人本药物研究院，批号 020901）。对照药：盐酸二甲双胍片（格华止），500 mg/片，（法国里昂医药工业公司，中美上海施贵宝制药有限公司分装，批号 0303066）。盐酸二甲双胍对照品（重庆人本药物研究院，含量 99.4%，批号 030401）。乙腈、甲醇为色谱纯，水为超纯水，其余试剂均为分析纯。

1.2　实验方法

1.2.1　盐酸二甲双胍血浆样品的处理　　按文献[1]方法。

1.2.2　色谱系统适用性试验[2]　　色谱柱：Nucleosil 100-5 硅胶柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm），德国 Macherey-Nagel 公司生产；流动相：0.03 mol/L 磷酸二氢铵（pH 7.0）-乙氰（75∶25，V/V），流速 1.0 ml/min；检测波长 240 nm；柱温 30 ℃；进样量 40 μl。在上述色谱条件下，二甲双胍分离良好，保留时间为 8.82 min，血中内源性物质不干扰样品测定。

1.2.3　标准曲线的制备　　取空白血浆加入二甲双胍标准甲醇液（100 μg/ml）适量，使成为 4 000 ng/ml，再依次用空白血浆稀释成 2 000、1 000、500、250、100、50、25 ng/ml 系列的浓度，按样品处理方法处理后进样测定。将二甲双胍峰面积（A）对浓度（C）进行回归，得回归方程：A = −120 + 56.5C，r = 0.999 9，n = 8。线性范围 25 ~ 4 000 ng/ml，最低检测浓度为 25 ng/ml（以 S/N≥3 计）。

1.2.4　回收率和精密度试验　　取空白血浆加入二甲双胍标准甲醇液（100 μg/ml）适量，使成为高、中、低 3 种不同浓度（4 000、500、50 ng/ml），按样品处理方法处理后进样测定，高、中、低 3 种浓度二甲双胍平均回收率分别为（95.02 ± 0.31）%、（98.6 ± 0.31）%、（98.43 ± 1.45）%，日内 RSD 分别为 2.32%、1.43%、1.44%，日间（5 d）RSD 分别为 3.23%、3.42%、2.11%。

1.2.5　自愿受试者选择　　本研究共纳入 20 名男性健康自愿者，年龄 18 ~ 23 岁，体质量（57.2 ± 4.8）kg，身高（168.3 ± 4.7）cm，无心、肝、肾、消化道、神经系统、精神异常及代谢异常等病史；体格检查示血压、心率、心电图、呼吸状况、肝、肾功能和血象无异常；试验前 2 周内未用过任何药物，试验方案经本院伦理委员会讨论通过，受试者自愿签署知情同意书后进入临床试验。

1.2.6　试验设计　　①单剂量给药：试验药或对照药 1 000 mg 于早晨 8:00 空腹温水 200 ml 口服，服药后 2 h 方可再饮水，4 h 后进统一标准餐。于服药前与服药后 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、10、12、16、24 h 取静脉血 3 ml，肝素抗凝，分离血浆，−40 ℃冷冻保存至测定。②多剂量给药：试验药：每天早晨 8:00 服药1 000 mg，连服 7 d，于第 5、6 天服药前，第 7 天服药前与服药后 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、10、12、16、24 h 取静脉血 3.0 ml，肝素抗凝，分离血浆，−40 ℃冷冻保存至测定。对照药：每天早晨 8:00 和晚上 8:00 各服药 500 mg，连服 7 d（第 7 天只服药 1 次），于第 11、12 次服药前，第 13 次服药前与服药后 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、10、12 h 取静脉血 3.0 ml，肝素抗凝，分离血浆，−40 ℃冷冻保存至测定。交叉服药清洗期为 1 周。

1.3　统计学处理

以非房室依赖型方法估算受试者的主要药代动力学参数 $t_{1/2}$，MRT，C_{max} 和 t_{max} 为实测值，AUC_{0-24}，$AUC_{0-\infty}$ 和 AUC_{ss} 由实测血药浓度经梯形积分法估算。所得参数经对数转换进行方差分析和双单侧 t 检验。

2　结果

2.1　血药浓度-时间数据

20 名受试者口服盐酸二甲双胍缓释片和普通片后平均血浆药物浓度-时间数据见图 1、2。

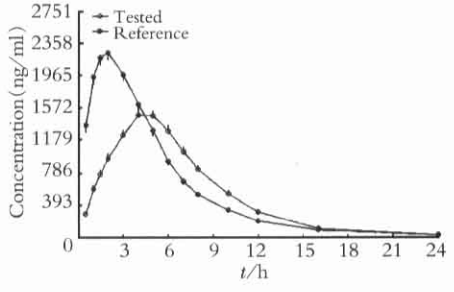


图 1　20 名健康受试者单剂量口服 1 000 mg 二甲双胍血药浓度时间曲线

Fig 1　Curve of mean concentration-time after oral single-dose of 1 000 mg Metformin in 20 volunteers

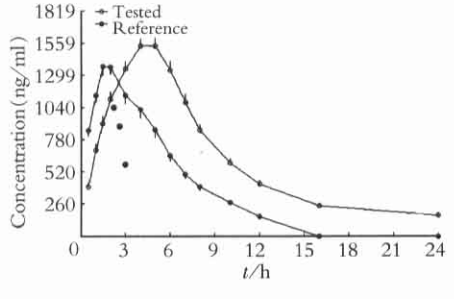


图 2　20 名健康受试者多剂量口服二甲双胍血药浓度时间曲线

Fig 2　Curve of mean concentration-time after oral multiple-dose of Metformin in 20 volunteers

2.2 多剂量稳态药动学数据,见表1

表1 20名健康受试者多剂量口服盐酸二甲双胍缓释片稳态波动度参数

Tab 1 Pharmacokinetic parameters of Metformin at steady state after oral administration in 20 volunteers

	C_{min}-1	C_{min}-2	C_{min}-3	C_{min}-4	C_{max}	C_{av}	DF
Test	0.16 ±0.02	0.17 ±0.02	0.17 ±0.03	0.17 ±0.02	1.57 ±0.22	0.61 ±0.08	2.30 ±0.3
Reference	0.16 ±0.05	0.17 ±0.06	0.18 ±0.06	0.16 ±0.04	1.54 ±0.27	0.60 ±0.12	2.30 ±0.29

C_{min}-1; C_{min}-2; C_{min}-3; C_{min}-4: steady state through concentration; C_{max}: steady state peak concentration; C_{av}: average steady state concentration; DF: degree of fluctuation

2.3 药动学参数,见表2

表2 20名健康受试者单次和多次口服盐酸二甲双胍的主要药代动力学参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of Metformin after oral single and multiple-dose administration in 20 volunteers

Parameters	Test	Reference
Single dose		
C_{max}(μg/ml)	1.60 ±0.30	2.31 ±0.36
t_{max}(h)	4.7 ±0.9	1.95 ±0.54
MRT(h)	6.61 ±0.60	5.00 ±0.38
$t_{1/2}$(h)	4.04 ±1.16	4.26 ±0.64
AUC_{0-24}(μg·h^{-1}·ml^{-1})	12.13 ±1.85	13.72 ±2.04
$AUC_{0-\infty}$(μg·h^{-1}·ml^{-1})	12.35 ±0.89	13.95 ±2.08
Multiple dose		
C_{max}(μg/ml)	1.61 ±0.26	1.54 ±0.27
t_{max}(h)	4.8 ±0.7	1.9 ±0.64
MRT(h)	7.78 ±0.61	3.25 ±0.34
$t_{1/2}$(h)	8.97 ±3.18	3.19 ±0.77
AUC_{0-24}(μg·h^{-1}·ml^{-1})	14.52 ±1.98	7.22 ±1.49
$AUC_{0-\infty}$(μg·h^{-1}·ml^{-1})	16.72 ±2.31	7.97 ±1.48

2.4 等效性研究[3]

以中美上海施贵宝公司生产的盐酸二甲双胍片为标准参比制剂,计算重庆人本药物研究院研制的盐酸二甲双胍缓释片的相对生物利用度,$F = AUC_{0-24}/AUC_{0-24} \times 100\%$,$F_{稳态} = AUC_{0-24}/2 \times AUC_{0-12} \times 100\%$,结果盐酸二甲双胍缓释片的相对生物利用度平均分别为(88.8 ±9.3)%和(103.45 ±19.45)%。两种制剂的 AUC_{0-24} 和 AUC_{ss} 经对数转换后的方差分析和双单侧 t 检验表明,在 $\alpha = 0.05$ 时无显著性差异($P > 0.05$)。故试验制剂和参比制剂吸收程度生物等效。

3 讨论

本研究结果表明,盐酸二甲双胍缓释片的 C_{max}(1.6 ±0.3)显著低于普通片的 C_{max}[(2.31 ±0.36),($P < 0.01$)];缓释片的达峰时间 t_{max}(4.7 ±0.9)显著延长,与普通片的 t_{max}(1.95 ±0.54)有极显著性差异;缓释片的吸收系数 Ka(0.37 ±0.06)显著小于普通片的[(0.84 ±0.21),($P < 0.01$)],而平均滞留时间 MRT(6.61 ±0.60)显著长于普通片的[(5.0 ±0.38),($P < 0.01$)];缓释片的消除相半衰期 T1/2ke(4.04 ±1.16)与普通片(4.26 ±0.64)无显著性差异($P > 0.05$)。以上结果表明,盐酸二甲双胍缓释片与普通片相比其吸收动力学有明显差异而消除动力学基本一致,其 C_{max} 明显降低,t_{max} 和 Ka 明显延长,显示了明显的缓释动力学特征。

盐酸二甲双胍缓释片达稳态时的 C_{min}、C_{max}、C_{av} 和 DF 与盐酸二甲双胍片配对比较均无显著性差异($P > 0.05$),说明盐酸二甲双胍缓释片每日1次给药与盐酸二甲双胍片每日2次给药能达到相同的临床效果[4]。

参考文献:

[1] Kah Hay Yuen, Kok Khiang Peh. Simple high-performance liquid chromatographic method for the determination of metformin in human plasma[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1998, 710(1-2): 243-246.

[2] Cheng C L, Chou C H. Determination of metformin in human plasma by high-performance liquid chromatography with spectrophotometric detection[J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2001(762): 51-58.

[3] 国家药典委员会. 药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则[Z]. 见:国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 附录XIX B. 2000.

[4] Gusler G, Gorsline J, Levy G, *et al*. Pharmacokinetics of metformin gastric-retentive tablets in healthy volunteers[J]. J Clin Pharmacol, 2001, 41(4): 655-661.

(编辑 汪勤俭)