

丙戊酸钠和丙戊酸镁在大鼠体内的药动学研究

庄星星, 李萌, 倪受东, 苗仁华* (安徽医科大学附属巢湖医院药剂科, 安徽 巢湖 238000)

摘要: 目的 研究丙戊酸钠和丙戊酸镁在大鼠体内的药动学特征, 评价其优势丙戊酸盐, 为临床合理用药提供参考。方法 SD大鼠随机分为2组, 分别灌胃给予丙戊酸钠片和丙戊酸镁片。于不同时间点眼眶取血。采用HPLC测定血清中丙戊酸的血药浓度, 计算2种丙戊酸盐在大鼠体内的药动学参数, 并比较2种丙戊酸盐之间的差异。结果 HPLC测定丙戊酸血药浓度方法专属性好, 血清丙戊酸浓度在10.00~110.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。精密度、稳定性和回收率均符合要求。丙戊酸钠和丙戊酸镁在大鼠体内的主要药动学参数: $T_{1/2}$ 分别为(14.02±3.86)h和(12.11±1.95)h; T_{max} 分别为(3.67±0.58)h和(2.67±0.26)h; C_{max} 分别为(67.10±10.87) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和(75.67±12.94) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为(969.86±72.08) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$ 和(1 093.56±48.69) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$; $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 分别为(1 178.10±185.29) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$ 和(1 279.35±109.18) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$; MRT_{0-t} 分别为(10.73±2.05)h和(13.06±3.24)h。 V_d 分别为(16.31±2.18)L和(23.47±2.19)L; CL 分别为(0.056 3±0.009) $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 和(0.051 1±0.004) $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 。结论 与丙戊酸钠相比, 丙戊酸镁在大鼠体内的药动学参数具有一定的优势, 可能是一种更具有治疗优势的丙戊酸盐。

关键词: 丙戊酸钠; 丙戊酸镁; 药动学; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)14-1787-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.14.012

引用本文: 庄星星, 李萌, 倪受东, 等. 丙戊酸钠和丙戊酸镁在大鼠体内的药动学研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(14): 1787-1791.

Pharmacokinetic Comparison of Sodium Valproate and Magnesium Valproate in Rats

ZHUANG Xingxing, LI Meng, NI Shoudong, MIAO Renhua* (Department of Pharmacy, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the differences of pharmacokinetic characteristics between sodium valproate and magnesium valproate in rats, and provide reference for clinical rational use of drugs. **METHODS** SD rats were randomly divided into 2 groups and gavaged with sodium valproate and magnesium valproate respectively. Blood was taken from the orbit at different time points. An HPLC method was established to determinate the blood concentration of valproic acid in serum. The pharmacokinetic parameters of sodium valproate and magnesium valproate in rats were calculated and compared. **RESULTS** The HPLC method showed a good specificity, and a good linearity was obtained over the range of 10.00–110.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The mean recovery and precision values were favorable. The pharmacokinetic parameters of sodium valproate and magnesium valproate were as follows: $T_{1/2}$ was (14.02±3.86)h and (12.11±1.95)h; T_{max} was (3.67±0.58)h and (2.67±0.26)h; C_{max} was (67.10±10.87) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and (75.67±12.94) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; $\text{AUC}_{(0-t)}$ was (969.86±72.08) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$ and (1 093.56±48.69) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$; $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ was (1 178.10±185.29) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$ and (1 279.35±109.18) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$; MRT_{0-t} was (10.73±2.05)h and (13.06±3.24)h; V_d was (16.31±2.18)L and (23.47±2.19)L; CL was (0.056 3±0.009) $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ and (0.051 1±0.004) $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. **CONCLUSION** Compared with sodium valproate, magnesium valproate showed some advantages in pharmacokinetics in rats, may be a more therapeutic advantage of valproic acid salt.

KEYWORDS: sodium valproate; magnesium valproate; pharmacokinetic; HPLC

丙戊酸作为临床一线抗癫痫药物, 是临床治疗癫痫大发作、小发作以及肌阵挛性发作的首选治疗药物^[1-2]。此外, 丙戊酸作为目前使用最为普遍的心境稳定剂, 用于辅助治疗躁狂症和双相情感障碍等精神疾病。临床实践表明丙戊酸可以有效治疗躁狂, 对双相情感障碍的混合性发作和快速循环发作也具有较好疗效, 并能预防其复发^[3-5]。

研究资料已证实丙戊酸镁在抗惊厥方面的临床疗效优于丙戊酸钠; 多数学者认为这种优势得益于镁离子的抗惊厥作用。然而后期的临床研究发现服用丙戊酸镁后, 患者血镁浓度未见明显升高, 故丙戊酸镁的疗效更优可能与镁离子的关系不大, 而可能与2种丙戊酸盐体内的药动学过程相关。然而目前尚无丙戊酸钠盐和丙戊酸镁盐之

基金项目: 2016-2017年度安徽医科大学校科研基金项目(2017xkj063); 北京医学奖励基金会资助项目(YJHYXKYJJ-414)

作者简介: 庄星星, 男, 硕士, 药师 Tel: (0551)82321415 E-mail: zxx900913@126.com *通信作者: 苗仁华, 男, 副主任药师 Tel: (0551)82321415 E-mail: zzshzh@163.com

间药动学方面的研究报道。课题组根据文献资料报道的丙戊酸血药浓度测定方法^[6-8]，结合丙戊酸相关的药动学研究资料^[9-11]，比较2种丙戊酸盐在SD大鼠体内的药动学差异，为丙戊酸的临床科学、合理用药提供参考。

1 材料

1.1 药品与试剂

丙戊酸钠片(规格:0.2 g×100片/瓶;国药准字:H43023874;批准文号:180217)和丙戊酸镁片(规格:0.2 g×60片/瓶;国药准字:H10890013;批准文号:170403)均购自湖南省湘中制药有限公司。

丙戊酸钠对照品(Sigma公司,分析级,批号:A1215AS,纯度>98%);环乙烷羧酸(阿拉丁化学公司,批号:J1323025;纯度:99%);2-溴苯乙酮(阿拉丁化学公司,分析级);甲醇(色谱纯)、正己烷(分析纯)均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;三乙胺(分析纯)、浓氨水(分析纯)、浓硫酸(分析纯)、小牛空白血清(供质控用,-20℃)、超纯水由安徽医科大学附属巢湖医院检验科提供。

1.2 动物

SPF级SD大鼠20只,♀♂各半,体质量(200±20)g,由苏州市爱尔麦特科技有限公司提供,实验动物许可证号:SXX(苏)2009-001。自由取食、饮水,每天给予12h光照,饲养环境的温度维持在20℃左右,相对湿度40%左右。所有大鼠适应性饲养1周后,进行实验操作。

1.3 仪器

1260高效液相色谱仪(美国Agilent公司,Agilent1100DAD检测器);AB135-5电子分析天平(上海梅特勒多-托利多);XW-80A涡旋振荡器(上海医科大学仪器厂);TGL-16H离心机(珠海黑马仪器公司);氮吹仪EYELA MG-2200(北京成萌伟业科技有限公司);HH数显恒温水浴锅(金坛市科析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 溶液配制

精密称取丙戊酸钠对照品10.00 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇定容,得1.0 mg·mL⁻¹的丙戊酸钠母液,备用。

精密称取环己烷羧酸12.5 mg至25 mL量瓶中,加0.2 mol·L⁻¹的氨水稀释至刻度混匀,再精密吸取该液7.5 mL至25 mL量瓶中,加0.5 mol·L⁻¹的氨水甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,得150 μg·mL⁻¹

的环己烷羧酸内标液。

精密称取10 mg 2-溴代苯乙酮至离心管中,加1 mL乙腈混匀,得10 mg·mL⁻¹的2-溴代苯乙酮溶液,所有试液配置后均避光、8℃条件下存储。

2.2 血清处理

吸取血清100 μL于2.0 mL离心管中,加内标液60 μL,混匀30 s,加0.01 mmol·L⁻¹硫酸50 μL,混匀1 min;加正己烷1.5 mL涡旋1 min,5 000 r·min⁻¹离心5 min,取出上层萃取液于1.5 mL离心管中;萃取液中加入2-溴代苯乙酮10 μL和三乙胺10 μL,混匀1 min;55℃水浴加热衍生化15 min;氮气吹干,用甲醇100 μL溶解残渣,涡旋1 min,10 000 r·min⁻¹离心5 min,取上清液10 μL进样。

2.3 色谱条件

色谱柱:Agilent C₁₈(4.6 mm×150 mm,5 μm);流动相:甲醇:水=75:25;检测波长:248 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:30℃;进样量:10.0 μL。

2.4 给药方案与血样采集

SD大鼠20只,随机分成2组,每组♀♂各5只,♀♂分开饲养。为排除饮食对实验结果的影响,给药前禁食不禁水饲养12 h。以63 mg·kg⁻¹剂量灌胃给予丙戊酸钠片、丙戊酸镁片^[12];分别于给药后0.5,1,1.5,2,2.5,3,4,6,8,12,16,24,30,36 h时眼眶取血0.5 mL^[13],置于1.5 mL的离心管中,5 000 r·min⁻¹离心10 min得到血清,按“2.2”项下方法处理,测定丙戊酸血药浓度。

2.5 药动学研究

利用DAS 2.0药动学软件,对时间-丙戊酸血药浓度监测结果进行分析,绘制药时曲线,计算主要药动学参数。采用SPSS 22.0检验进行组间差异比较, $P<0.05$ 表示差异具有显著性。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验 将空白血清、空白血清+内标物+丙戊酸对照品和大鼠含药血清+内标物,按“2.2”项下方法处理;按“2.3”项下色谱条件测定,结果见图1。丙戊酸与内标物的色谱峰可完全分离(丙戊酸出峰时间:5.6 min;内标物出峰时间:7.8 min),血清中内源性物质对丙戊酸和内标物的出峰时间和峰形无明显干扰,可见该检测方法专属性较高。

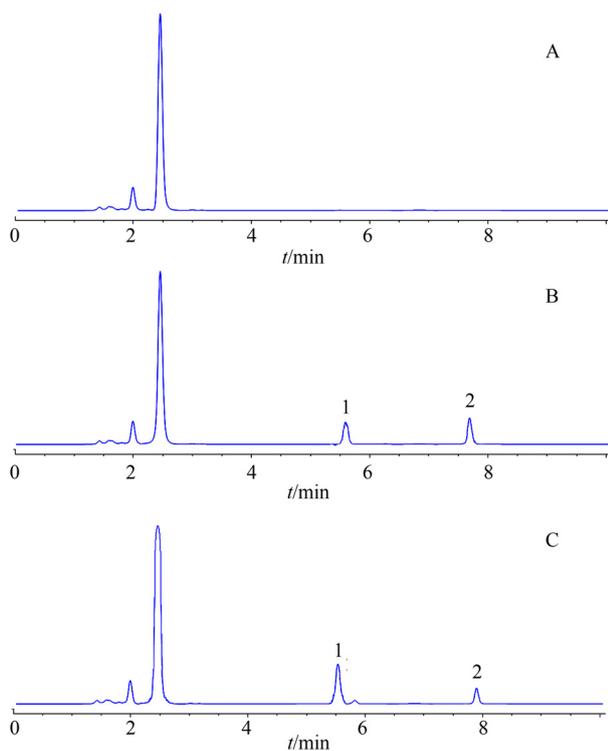


图1 HPLC 色谱图

A-空白血清; B-质控血清+内标+丙戊酸; C-样品血清+内标; 1-丙戊酸; 2-内标。

Fig. 1 HPLC chromatogram

A-blank serum; B-quality control serum+internal standard+valproic acid; C-sample serum+internal standard; 1-valproic acid; 2-internal standard.

3.1.2 标准曲线和线性范围 吸取空白血清 100 μL , 加入不同浓度梯度的丙戊酸系列对照品溶液 10 μL , 涡旋混匀, 配制成浓度分别为 10.00, 30.00, 50.00, 70.00, 90.00, 110.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的含丙戊酸的质控血清。按“2.2”项下方法进行进样前的衍生化处理, 按“2.3”项下色谱条件测定丙戊酸浓度。以丙戊酸浓度为横坐标(Y), 以待测样品丙戊酸和内标物的峰面积之比为纵坐标(X), 得回归方程 $Y=39.206X+8.249$, $r^2=0.995$ ($n=6$)。结果表明, 血清中丙戊酸浓度在 10.00~110.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

3.1.3 精密度试验 配制浓度为 10.00, 30.00, 90.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的丙戊酸血清质控样品, 按“2.2”项下方法处理; 按“2.3”项下色谱条件进行分析。1 d 之内重复 5 次, 连续测定 5 d, 考察该方法的日内精密度和日间精密度。结果表明日内、日间精密度 RSD 均 < 15%, 符合生物样本测定要求。结果见表 1。

3.1.4 回收率试验 配制浓度为 10.00, 30.00, 90.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的丙戊酸血清质控样品, 按“2.2”

项下方法处理; 按“2.3”项下色谱条件进行分析。记录峰面积, 与相应浓度丙戊酸对照溶液进样所得到的峰面积相比, 二者的比值即为回收率。结果表明提取回收率为 66.92%~79.55%, 符合生物样本的检验要求, 见表 2。

表 1 日内和日间精密度试验结果

Tab. 1 Precision test results of intra-day and inter-day

质控血清浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度		日间精密度	
	实测浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	实测浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
10.00	8.87	11.04	9.31	10.55
	9.39			
	11.06			
	10.94			
	11.47			
30.00	27.19	5.23	26.49	6.12
	29.82			
	30.95			
	29.93			
	31.05			
90.00	82.25	5.01	84.61	4.45
	93.94			
	85.70			
	88.31			
	90.06			

表 2 回收率试验结果

Tab. 2 Results of recovery test

质控血清浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
10.00	67.72	5.89
	75.51	
	69.04	
	66.92	
	72.22	
30.00	70.92	2.95
	72.22	
	79.55	
90.00	76.56	2.83
	75.30	

3.1.5 稳定性试验 配制浓度为 30.00, 90.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的丙戊酸血清质控样品各 3 份, 分别放置于室温 12 h、-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存 24 h 以及 -20 $^{\circ}\text{C}$ 长期冷冻保存(30 d); 质控血清反复冻融 3 次后, 按“2.2”项下方法处理; 按“2.3”项下色谱条件进行分析。结果表明样本在上述条件下稳定, 见表 3。

表 3 稳定性试验结果

Tab. 3 Stability test results

质控血清浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	室温 12 h		冷冻保存 24 h		冷冻保存 30 d		反复冻融 3 次	
	测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%						
30.00	26.67	7.91	27.31	6.54	28.13	5.78	27.09	6.82
	28.91							
	31.25							
90.00	92.29	4.96	86.72	4.36	85.14	3.11	83.97	3.43
	84.03							
	85.86							

3.2 药动学研究

3.2.1 药时曲线 SD大鼠灌胃给予丙戊酸钠和丙戊酸镁的平均血药浓度-时间曲线见图 2。由图可知,丙戊酸镁口服后丙戊酸血药浓度的峰浓度大于丙戊酸钠;丙戊酸钠的达峰时间小于丙戊酸镁。

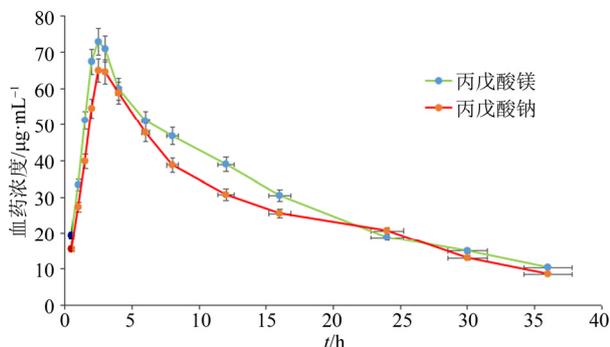


图 2 丙戊酸钠和丙戊酸镁在 SD 大鼠体内的药时曲线
Fig. 2 Drug time curves of sodium valproate and magnesium valproate in SD rats

3.2.2 药动学参数比较 比较丙戊酸钠和丙戊酸镁在 SD 大鼠体内的药动学参数,丙戊酸镁在大鼠体内的 T_{max} 、 C_{max} 、 MRT_{0-t} 以及 V_d 参数均大于丙戊酸钠,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 丙戊酸钠和丙戊酸镁在 SD 大鼠体内的药代动力学参数

Tab. 4 Pharmacokinetic parameters of sodium valproate and magnesium valproate in SD rats

药动学参数	丙戊酸钠	丙戊酸镁	P
$T_{1/2}/h$	14.02±3.86	12.11±1.95	0.383
T_{max}/h	3.67±0.58	2.67±0.26	0.000
$C_{max}/\mu g \cdot mL^{-1}$	67.10±10.87	75.67±12.94	0.000
$AUC_{(0-t)}/\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h$	969.86±72.08	1 093.56±48.69	0.076
$AUC_{(0-\infty)}/\mu g \cdot mL^{-1} \cdot h$	1 178.10±185.29	1 279.35±109.18	0.770
MRT_{0-t}/h	10.73±2.05	13.06±3.24	0.034
V_d/L	16.31±2.18	23.47±2.19	0.000
$CL/L \cdot h^{-1}$	0.056 3±0.009	0.051 1±0.004	0.210

4 讨论

一般来说,药物成盐后,由于溶解度增大以及改变了扩散层内的分布,致使溶解速率增加,从而提高生物效应。药物盐类型的差异不仅影响药物的溶解性、溶出速率以及稳定性等理化性质,也会不同程度地影响药物的生物利用度,从而影响药物的临床疗效^[14]。丙戊酸的化学结构为二丙基乙酰,属于短链脂肪酸,极微溶于水,因此临床在使用的多为丙戊酸的钠盐或者镁盐。

临床研究资料表明丙戊酸镁在抗癫痫方面的疗效要优于丙戊酸钠。最初,多数学者认为这种优势主要是因为镁离子作为钙离子通道的阻断

剂,可与钙离子竞争钙通道的结合位点,从而阻止癫痫发作^[15-16]。然而,临床研究发现服用丙戊酸镁的患者的血液中镁离子的浓度并没有显著上升^[17]。课题组通过实验比较丙戊酸钠和丙戊酸镁在 SD 大鼠体内的药动学参数,发现丙戊酸镁的 T_{max} 、 C_{max} 以及 MRT_{0-t} 等参数均优于丙戊酸钠,丙戊酸镁生物利用度约为丙戊酸钠的 1.1 倍。说明相比于丙戊酸钠,丙戊酸镁的优势不仅在于镁离子的钙离子通道阻断作用,也在于丙戊酸镁体内的药动学过程。笔者认为,根据本实验结果发现丙戊酸钠和丙戊酸镁在大鼠体内的药动学参数差异并不是很大,但作为抗癫痫药和心境稳定剂,镁离子和钠离子本身的作用仍不可忽视。

研究资料表明与某些化合物钠盐相比,镁盐在整个肠段吸收更好。一方面可能是由于化合物的镁盐在水中的溶解度更大,使其在生物体内的吸收速率增加;另一方面,也可能是化合物镁盐中所含的镁离子起到某种作用,使其肠吸收量增加^[18-19]。本实验中丙戊酸镁在大鼠体内的药动学参数 T_{max} 、 C_{max} 、 MRT_{0-t} 以及 V_d 参数均优于丙戊酸钠,从侧面佐证了文献资料报道的内容。上述原因可能导致了丙戊酸镁的生物利用度高于丙戊酸钠,但具体原因和机制尚不明确,有待于进一步研究证实。

REFERENCES

- [1] 中国抗癫痫协会. 临床诊疗指南-癫痫病分册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 15-16.
- [2] FISHER R S, CROSS J H, FRENCH J A, et al. Operational classification of seizure types by the international league against epilepsy: position paper of the ILAE commission for classification and terminology [J]. *Epilepsia*, 2017, 58(4): 522-530.
- [3] ZHUANG X X, MIAO R H, NI S D, et al. Research progress on therapeutic drug monitoring in clinical application of valproic acid [J]. *Drugs Clin(现代药物与临床)*, 2018, 11(33): 3083-3085.
- [4] YUAN L, MA M B, PENG Q L, et al. Progress in individualized drug administration of valproic acid [J]. *Her Med(医药导报)*, 2017, 36(10): 1083-1091.
- [5] FENG R J, BAO H H, XIONG A Z, ET AL. Interactions between new oral anticoagulants and antiepileptic drugs [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志)*, 2018, 37(8): 443-447.
- [6] HU X F, ZHANG Y J, WEI L H. Analysis the influencing factors on plasma concentration of valproic acid sodium [J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2017, 37(13): 1246-1249, 1255.
- [7] LI S Y, WANG Y X, LIU L, et al. Simultaneous determination of valproate sodium and preservative in sodium valproate oral solution by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2017, 34(5): 711-714.

- [8] ZHUANG X X, LI J, LI M, et al. Serum concentration monitoring on valproic acid: an analysis of 144 cases of non standard / over standard [J]. Eval Anal Drug-use Hosp China (中国医院用药评价与分析), 2018, 18(6): 844-846.
- [9] LIU Z F, GUO X, YU P, et al. Pharmacokinetics of semisodium valproate enteric-coated tablets in healthy Chinese volunteers [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2014, 19(5): 567-573.
- [10] 涂为建, 戴逢伟, 许可为. 丙戊酸钠缓释片在犬体内的药代动力学和相对生物利用度研究[J]. 江西医药, 2012, 47(2): 160-162.
- [11] CHEN S, LOU Y J. Determination of related substances in compound sodium valproate and valproic acid SR tablets by GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(7): 998-1000.
- [12] TANG Y J, LIU X, FENG Y S, et al. Pharmacokinetics of valproate in rat blood and brain through combining microdialysis with HPLC following precolumn derivatization [J]. Cent South Pharm(中南药理学), 2018, 16(2): 148-151.
- [13] QIN Z Z, CHEN Q X, SONG J K, et al. Pharmacokinetic comparison of two ozagrel polymorph forms in SD rats [J]. Acta Pharm Sin, 2015, 50(2): 218-221.
- [14] XU H J, LIU Y X, LIU X G, et al. Comparison of intestinal absorption kinetics and pharmacokinetics of baicalin magnesium salt and baicalin [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(4): 78-83.
- [15] ONOFRJ M, COLANGELO U, MALATESTA G, et al. Comparative study of preparations of sodium and magnesium valproate (VPA) in treatment of patients with epileptic seizures [J]. Riv Neurol, 1988, 58(6): 223-230
- [16] SAFAR M M, ABDALLAH D M, ARAFA N M, et al. Magnesium supplementation enhances the anticonvulsant potential of valproate in pentylenetetrazol-treated rats [J]. Brain Res, 2010(1334): 58-64.
- [17] ZHUANG X X, LI M, NI S D, et al. Effects of different valproate and valproic acid dosage forms on plasma concentration of valproic acid [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药理学杂志), 2019, 39(14): 373-376.
- [18] JIN P, XU H J, XU B X, et al. Research status of baicalin and prospect of its magnesium salt [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(20): 228-234.
- [19] YIN X J, GAO L, LI Y, et al. Comparative evaluation of small dose of magnesium valproate and therapeutic dose of sodium valproate in the treatment of epilepsy and health economics value [J]. World Latest Med Inf(Elec Ver), 2017, 17(7): 25-26.

收稿日期: 2018-09-22
(本文责编: 曹粤锋)