

# 苯磷硫胺片在健康人体内的药动学研究

蔡凝芳<sup>1\*</sup>, 罗 茜<sup>2</sup>, 程泽能<sup>2#</sup>(1. 漳州市医院药学部, 福建 漳州 363000; 2. 中南大学药学院生物药剂教研室, 长沙 410013)

中图分类号 R969.1; R977.2<sup>2</sup> 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)18-1671-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.18.13

**摘要** 目的: 研究苯磷硫胺片在中国健康志愿者中单次及连续多次口服给药的药动学特征。方法: 12名健康志愿者采用随机、开放试验设计, 单次及连续多次给予苯磷硫胺片300 mg后, 采用高效液相色谱-荧光(HPLC-FLU)法测定血浆及红细胞中硫胺素及二磷酸硫胺素(TDP)的浓度。使用WinNonlin 6.1软件对单次及多次给予苯磷硫胺片后血浆中硫胺素的浓度进行房室模型拟合并计算主要药动学参数, 以梯形面积法计算红细胞中TDP的药-时曲线下面积(AUC<sub>0-24h</sub>)。结果: 单次及多次给药后血浆中硫胺素药动学参数分别为:  $t_{1/2\alpha}$  (1.6 ± 0.4)、(2.1 ± 0.4)h, AUC<sub>0-24h</sub> (1 819.9 ± 336.3)、(3 034.8 ± 806.9) μg·h/L, AUC<sub>0-∞</sub> (1 835.3 ± 331.7)、(3 085.8 ± 774.0) μg·h/L,  $c_{max}$  (520.5 ± 130.2)、(679.4 ± 136.6) μg/L, CL/F (177.1 ± 30.5)、(116.7 ± 33.6) L/h,  $V_d/F$  (401.3 ± 129.2)、(334.2 ± 81.3) L, MRT (4.3 ± 0.9)、(5.3 ± 0.4)h。单次及多次给药后红细胞中TDP的AUC<sub>0-24h</sub>分别为(3 432.9 ± 815.5)、(5 013.4 ± 965.7) μg·h/L。结论: 连续多次给药后, 血浆硫胺素的浓度有所累加, 消除减慢; 红细胞中TDP存在蓄积现象, 达到稳态浓度后, 24 h内波动很小。

**关键词** 苯磷硫胺片; 硫胺素; 二磷酸硫胺素; 血药浓度; 药动学

## Pharmacokinetics Study of Benfotiamine Tablet in Healthy Volunteers

CAI Ning-fang<sup>1</sup>, LUO Xi<sup>2</sup>, CHENG Ze-neng<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Zhangzhou Municipal Hospital, Fujian Zhangzhou 363000, China; 2. Dept. of Biopharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the pharmacokinetics of single or multiple oral doses of Benfotiamine tablet in healthy Chinese volunteers. METHODS: The open, random clinical trial involved 12 healthy volunteers who received a single or multiple doses of benfotiamine 300 mg to study the pharmacokinetic characteristics of benfotiamine. The concentrations of thiamine and thiamine diphosphat (TDP) in plasma or erythrocyte were determined by HPLC-FLU. The main pharmacokinetic parameters were calculated by compartmental model fitting using WinNonlin 6.1 program. AUC<sub>0-24h</sub> of TDP in erythrocyte was calculated by trapezoidal method. RESULTS: The main pharmacokinetic parameters of thiamine in plasma after single and multiple doses were as follows:  $t_{1/2}$  were (1.6 ± 0.4)h and (2.1 ± 0.4)h, AUC<sub>0-24h</sub> were (1 819.9 ± 336.3) μg·h/L and (3 034.8 ± 806.9) μg·h/L, AUC<sub>0-∞</sub> were (1 835.3 ± 331.7) μg·h/L and (3 085.8 ± 774.0) μg·h/L,  $c_{max}$  were (520.5 ± 130.2) μg/L and (679.4 ± 136.6) μg/L, CL/F were (177.1 ± 30.5) L/h and (116.7 ± 33.6) L/h;  $V_d/F$  were (401.3 ± 129.2) L and (334.2 ± 81.3) L; MRT were (4.3 ± 0.9)h and (5.3 ± 0.4) h, respectively. AUC<sub>0-24h</sub> of TDP in erythrocyte after single and multiple doses were (3 432.9 ± 815.5) μg·h/L and (5 013.4 ± 965.7) μg·h/L, respectively. CONCLUSIONS: After multiple doses, the thiamine in plasma appears to be accumulated and its elimination is decreased. TDP in erythrocyte also shows accumulation, and its level remains stable within 24 h when the steady state achieves.

**KEYWORDS** Benfotiamine tablet; Thiamine; Thiamine diphosphat; Blood concentration; Pharmacokinetics

苯磷硫胺为硫胺素(Thiamine, 即维生素B<sub>1</sub>)的前体药物, 口服给药后吸收快且完全。硫胺素以主动转运方式吸收, 随着剂量增大引起吸收饱和; 而苯磷硫胺则通过被动扩散吸收, 显著提升了硫胺素在血液与组织中的浓度。硫胺素作为辅酶参与糖代谢, 其缺乏可引起线粒体功能障碍和慢性氧化应激, 从而造成老年人抑郁症状的高发<sup>[1]</sup>。硫胺素在体内主要以二磷酸硫胺素(TDP)、一磷酸硫胺素(TPP)和游离硫胺素形式存

在<sup>[2]</sup>。TDP作为体内能量代谢关键酶α-酮戊二酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶和转酮醇酶的辅酶, 占全血中总硫胺素的80%以上<sup>[2-3]</sup>。因此红细胞中TDP的水平可作为药效学指标评价转酮醇酶活性<sup>[2-3]</sup>。由德国Wörwag Pharma GmbH & Co.KG公司生产的苯磷硫胺片(50 mg/片)现申请进口注册并已获得国家食品药品监督管理局(CFDA)的药物临床试验批件(批件号: 2008L10373)。本研究旨在评价单次及多次口服苯磷硫胺片后的药动学特性, 为苯磷硫胺的国内注册申报提供参考依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1200型高效液相色谱仪, 配有Agilent Chemstation数据处理系统(美国Agilent公司); AB135-S型十万分之一天

\* 药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药学。电话: 0596-2082381。E-mail: 18759771619@163.com

#通信作者: 教授, 博士研究生导师, 博士。研究方向: 生物药剂学与药动学。电话: 0731-82063078。E-mail: chengzenengcsu@yahoo.com.cn

平(瑞士Mettler Toledo公司);WH-2微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂);TGL16M型冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司);PHS-3C型pH计(上海精密科学仪器有限公司);KL-RO-10型艾柯超纯水机(中国台湾艾柯公司)。

## 1.2 药品与试剂

苯磷硫胺片(由课题合作单位赞助提供,并已获得CFDA的临床试验批件,规格:50 mg/片);硫胺素对照品、二磷酸硫胺素对照品(美国Sigma公司,纯度 $\geq 98\%$ );甲醇、甲酸为色谱纯,磷酸、氢氧化钠、高氯酸、铁氰化钾为分析纯,试验用水为自制去离子超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 受试者选择

本试验采用随机、开放设计,选取12名中国健康志愿者参与本试验,男、女各半。志愿者完成单次给药药动学试验后继续参与连续多次给药药动学试验。志愿者年龄为19~26岁,体质量51~77 kg,身高155~180 cm。志愿者通过试验前病史询问、实验室检查、全身体格检查,并未发现有临床意义的异常,无本类药物过敏史,无药物依赖史和体位性低血压,无肝肾脏、心血管系统、消化系统、呼吸系统、代谢系统、骨骼肌肉系统与中枢神经系统的病史,至少近2周内未服用过各种其他药物,最近3个月内未作为受试者被采样或献血,无烟酒嗜好。本试验研究方案经中南大学湘雅三医院医学伦理委员会批准,试验前所有志愿者均签署了知情同意书。

### 2.2 给药方案

12名志愿者先后进行单次及多次药动学研究。试验第1天早上8:00,志愿者空腹(禁食10 h)口服苯磷硫胺片300 mg,服药前(0 h)及服药后0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0 h时各采集肘静脉血7 ml。从试验第2天起至试验第14天,所有志愿者按照每日1次、每次300 mg的给药方案连续服用苯磷硫胺片,在试验第12、13、14天早上服药前及末次服药后0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0 h时各采集肘静脉血7 ml。采集的血样以离心半径为8 cm、转速为2 500 r/min离心10 min,分离血浆及红细胞,−70 °C冰箱保存待测。

### 2.3 血浆中硫胺素和红细胞中TDP的测定方法

采用高效液相色谱-荧光(HPLC-FLU)法测定血浆中硫胺素和红细胞中TDP的浓度。方法学主要内容(待另文发表)简述如下。

2.3.1 血浆中硫胺素的测定方法。(1)色谱条件:色谱柱为Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);保护柱为Gemini C<sub>18</sub>(4.0 mm×3.0 mm);流动相为磷酸氢二钾水溶液(10 mmol/L磷酸调pH 7.5)-甲醇(71:29, V/V);流速为1.0 ml/min;激发波长为375 nm,发射波长为430 nm;柱温为30 °C;进样量为50 μl。(2)血样处理:精密吸取血浆样品1 ml,置于2.0 ml聚乙烯离心管中,精密加入蛋白沉淀剂25%高氯酸溶液200 μl,涡旋振荡2 min,冰浴10 min,低温高速离心(离心半径:8 cm,转速:12 000 r/min)15 min,取上清液700 μl置于1.5 ml聚乙烯离心管中,加入铁氰化钾碱性溶液70 μl、甲醇30 μl进行衍生。室温下涡旋混匀1 min,静置5 min,加入20%磷酸溶液60 μl,涡

旋30 s,低温高速离心(离心半径:8 cm,转速:12 000 r/min)5 min,取上清液进样50 μl进行色谱分析。(3)方法学验证:专属性试验结果表明,血浆中内源性物质不干扰硫胺素的测定;硫胺素血药浓度在15.79~1 011 μg/L范围内线性关系良好,定量下限为15.79 μg/L;低(31.59 μg/L)、中(126.4 μg/L)、高(1 011 μg/L)3种质量浓度的提取回收率为96.36%~104.9%,准确度符合生物样本测定要求,日内、日间RSD<5.1%。

2.3.2 红细胞中TDP的测定方法。(1)色谱条件:色谱柱为Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);保护柱为Gemini C<sub>18</sub>(4.0 mm×3.0 mm);流动相为磷酸氢二钾水溶液(10 mmol/L磷酸调pH 7.0)-甲醇(80:20, V/V);流速为1.0 ml/min;激发波长为375 nm;发射波长为430 nm;柱温为30 °C;进样量为50 μl。(2)血样处理:红细胞样品于−70 °C冰箱冷冻过夜以促进红细胞溶血完全<sup>[9]</sup>。精密吸取红细胞样品500 μl,置于2.0 ml聚乙烯离心管中,精密加入蒸馏水500 μl,涡旋混匀30 s,加入蛋白沉淀剂25%高氯酸溶液200 μl,涡旋振荡2 min,冰浴10 min,低温高速离心(离心半径:8 cm,转速:12 000 r/min)15 min,取上清液600 μl置于1.5 ml聚乙烯离心管中,加入铁氰化钾碱性溶液70 μl、甲醇30 μl进行衍生。室温下涡旋混匀1 min,静置5 min,加入20%磷酸溶液90 μl,涡旋30 s,低温高速离心(离心半径:8 cm,转速:12 000 r/min)15 min,取上清液进样50 μl进行色谱分析。(3)方法学验证:专属性试验结果表明,红细胞中内源性物质不干扰TDP的测定;TDP检测浓度在36.67~1 114 μg/L范围内线性关系良好,定量下限为36.67 μg/L;低(55.01 μg/L)、中(185.7 μg/L)、高(1 114 μg/L)3种质量浓度的提取回收率分别为80.53%~87.34%,准确度符合生物样本测试要求,日内、日间RSD<6.9%。

### 2.4 数据处理及统计分析

使用WinNonlin 6.1软件对单次及多次给予苯磷硫胺片后血浆中硫胺素的浓度进行房室模型拟合并计算主要药动学参数;梯形面积法计算红细胞中TDP的药-时曲线下面积(AUC<sub>0-24h</sub>)。另采用多因素多变量方差分析(ANOVA)对所得硫胺素及TDP的主要参数进行性别间、单次及多次给药间的显著性检验,AUC和 $c_{max}$ 需先进行对数转换。使用SPSS17.0软件进行统计分析, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

### 2.5 人体药动学参数

2.5.1 血药浓度及红细胞中药物浓度测定结果。12名中国健康志愿者单次及多次口服苯磷硫胺片后血浆中硫胺素平均药-时曲线见图1;单次及多次口服苯磷硫胺片后红细胞中TDP平均药-时曲线见图2。

2.5.2 药动学参数。使用WinNonlin 6.1软件中的NCA模块计算单次及多次给予苯磷硫胺片后血浆中硫胺素的主要药动学参数以及红细胞中TDP(药效学指标)的AUC<sub>0-24h</sub>,结果见表1。对单次及多次给药后硫胺素的血药浓度进行模型拟合,权重系数为1/C。通过比较不同模型计算所得的拟和度的确定系数( $r^2$ )及赤他信息量准则(AIC)值,结合F检验判断,结果显示血浆中硫胺素的数据符合一室模型。

2.5.3 统计分析结果。硫胺素的主要药动学参数采用ANOVA进行性别间、单次及多次给药间的显著性检验。结果表明,主

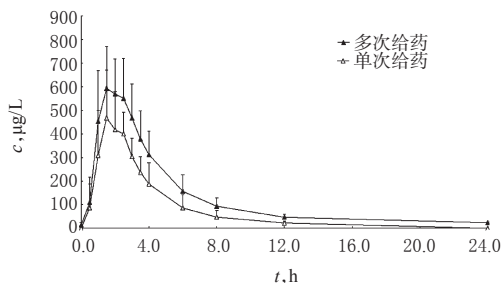


图1 12名中国健康志愿者单次及多次口服苯磷硫胺片后血浆中硫胺素平均药-时曲线

Fig 1 Mean concentration-time curves of thiamine in plasma after single and multiple doses of benfotiamine in 12 healthy Chinese volunteers

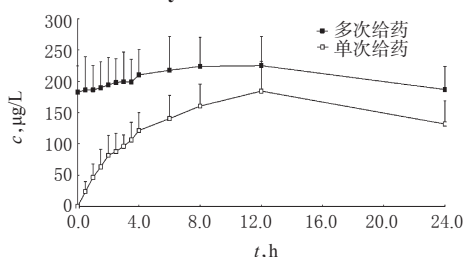


图2 12名中国健康志愿者单次及多次口服苯磷硫胺片后红细胞中TDP平均药-时曲线

Fig 2 Mean concentration-time curves of TDP in erythrocyte after single and multiple doses of benfotiamine in 12 healthy Chinese volunteers

表1 12名中国健康志愿者单次及多次口服苯磷硫胺片后血浆中硫胺素主要药动学参数及红细胞中TDP( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Main pharmacokinetic parameters of thiamine in plasma and TDP in erythrocyte after single and multiple doses of benfotiamine in 12 healthy Chinese volunteers( $\bar{x} \pm s$ )

| 药动学参数  | 单次给药(300 mg)         | 连续多次给药(300 mg, qd)   |
|--|----------------------|----------------------|
| $c_{max}, \mu\text{g/L}$                         | $520.5 \pm 130.2$    | $679.4 \pm 136.6$    |
| $t_{max}, \text{h}$                              | $1.8 \pm 0.5$        | $1.8 \pm 0.5$        |
| $AUC_{0-24\text{h}}, \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ | $1\ 819.9 \pm 336.3$ | $3\ 034.8 \pm 806.9$ |
| $AUC_{0-\infty}, \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$     | $1\ 835.3 \pm 331.7$ | $3\ 085.8 \pm 774.0$ |
| $t_{1/2Z}, \text{h}$                             | $1.6 \pm 0.4$        | $2.1 \pm 0.4$        |
| $CL/F, \text{L/h}$                               | $177.1 \pm 30.5$     | $116.7 \pm 33.6$     |
| $V_d/F, \text{L}$                                | $401.3 \pm 129.2$    | $334.2 \pm 81.3$     |
| $MRT, \text{h}$                                  | $4.3 \pm 0.9$        | $5.3 \pm 0.4$        |
| $t_{lag}, \text{h}$                              | $0.7 \pm 0.5$        | $0.4 \pm 0.3$        |
| $c_{min}^{ss}, \mu\text{g/L}$                    |                      | $14.96 \pm 10.6$     |
| $c_{max}^{ss}, \mu\text{g/L}$                    |                      | $679.4 \pm 136.6$    |
| 蓄积指数(R)  |                      | $1.016 \pm 0.0$      |
| $AUC_{0-24\text{h}}, \mu\text{g}\cdot\text{h/L}$ | $3\ 432.9 \pm 815.5$ | $5\ 013.4 \pm 965.7$ |

要药动学参数  $t_{max}$ 、 $t_{1/2}$ 、 $V_d/F$ 、 $CL/F$ 、 $\ln AUC_{0-24\text{h}}$ 、 $\ln AUC_{0-\infty}$ 、 $\ln c_{max}$ 、

在性别间差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ );除  $V_d/F$  外,其余药动学参数  $t_{1/2}$ 、 $CL/F$ 、 $\ln c_{max}$ 、 $\ln AUC_{0-24\text{h}}$  及  $\ln AUC_{0-\infty}$  在单次及多次给药间差异均具有统计学意义( $P < 0.01$ )。

红细胞中TDP的  $AUC_{0-24\text{h}}$  经对数转换后采用ANOVA进行性别间、单次及多次给药间的差异性检验。结果表明,  $\ln AUC_{0-24\text{h}}$  在性别间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),但单次与多次给药间差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。连续多次给药后红细胞中TDP有所累加,达到一个相对稳定的较高的浓度水平,24 h内的波动小。

### 3 讨论

苯磷硫胺本身无药理活性,进入体内后转化为硫胺素发挥药效,同时生成马尿酸并且通过尿液排泄。笔者的另一项研究发现,与硫胺素片相比,口服苯磷硫胺片后血浆中硫胺素的相对生物利用度为  $(1\ 147.3 \pm 490.3)\%$ ,红细胞中的药效学指标TDP的相对生物利用度为  $392.1\% \sim 114.8\%$  (待另文发表)。这些结果证明苯磷硫胺不仅可提高体内硫胺素暴露量,且红细胞中的效应成分TDP的水平也明显增加。

目前,国内尚无有关单次及多次给予苯磷硫胺的人体药动学研究。本研究结果表明,经多次给药后红细胞中的TDP有所累加并达到一个稳态浓度,24 h时内波动小,可获得稳定的疗效。多次给药后,血浆中硫胺素的半衰期延长,血浆清除率减慢,说明代谢减慢。分析原因可能是多次给药后,红细胞中TDP达稳态,从血浆中分布到红细胞中的硫胺素减少,因此代谢减慢,发生蓄积。本研究还发现苯磷硫胺转化为硫胺素过程中产生的马尿酸在服药后0~4 h基本从体内排出,且经多次给药后马尿酸不累加。此外,12名健康志愿者单次及多次给药后,未出现明显不良反应,试验后体检结果未见异常,提示苯磷硫胺具有良好的耐受性。本文也为后续临床研究奠定了基础。

### 参考文献

- [1] Zhang G, Ding H, Chen H, *et al.* Thiamine nutritional status and depressive symptoms are inversely associated among older Chinese adults [J]. *J Nutr*, 2013, 143(1):53.
- [2] Stuetz W, Carrara VI, McGready R, *et al.* Thiamine diphosphate in whole blood, thiamine and thiamine monophosphate in breast-milk in a refugee population [J]. *Plos One*, 2012, 7(6):e36 280.
- [3] Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alkharfy KM, *et al.* Thiamine and its phosphate esters in relation to cardiometabolic risk factors in Saudi Arabs [J]. *Eur J Med Res*, 2013, 18(1):32.

(收稿日期:2013-12-06 修回日期:2014-02-19)