技术与方法 文章编号:0253-3626(2009)11-1552-04

盐酸氨溴索缓释片人体生物等效性研究

吕宗杰,郑 永
(重庆医科大学附属第二医院药剂科,重庆 400010)

【摘 要】目的:研究盐酸氨溴索缓释片与对照制剂的人体生物等效性。方法:20 名健康受试者采用双周期 2 制剂自身交叉单剂量口服盐酸氨溴索缓释片和对照制剂;用高效液相色谱法测定血药浓度,3P97 软件计算药动学参数和等效性分析。结果:盐酸氨溴索缓释片与对照制剂的 C_{max} 分别为 78.19 ± 11.60 和 77.26 ± 18.50 ng/ml,T_{max} 分别为 5.00 ± 1.16 和 5.00 ± 1.16 h, $AUC_{(0-36h)}$ 分别为 1234.70 ± 58.50 和 1150.10 ± 265.48(ng/ml)·h, $AUC_{(0-inf)}$ 分别为 1505.74 ± 208.10 和 1381.25 ± 364.37(ng/ml)·h。C_{max}, $AUC_{(0-36h)}$, $AUC_{(0-inf)}$ 的 90%可信区间分别为 76.8%~125.6%,87.5%~109.1%,101.4%~120.3%。结论:试验制剂与对照制剂的人体相对生物利用度为(113.4 ± 35.3)%,试验制剂与对照制剂具有生物等效性。

【关键词】盐酸氨溴索;生物等效性;血药浓度
【中国图书分类法分类号】R969.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-09

Bioequivalence of ambroxol hydrochloride sustained-release tablets in healthy volunteers

LV Zong-jie, et al
(*Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstact】*Objective*: To study the bioequivalence of ambroxol hydrochloride sustained-release tablets to the reference. *Methods*: A single oral dose (75 mg tested and reference formulation) was given to 20 healthy volunteers in a randomised crossover study.The concentrations of ambroxol hydrochloride sustained-release tablets in plasma were determined by HPLC. *Results*: After a single dose, the pharmaco kinetic parameters for ambroxol hydrochloride sustained-release tablets as compared with those of the reference were as follows: C_{max}: (78.19 ± 11.60)and (77.26 ± 18.50) ng/ml; T_{max}: (5.00 ± 1.16)and (5.00 ± 1.16)h; $AUC_{(0-36h)}$: (1234.70 ± 58.50)and (1150.10 ± 265.48) (ng/ml)·h, $AUC_{(0-inf)}$: (1505.74 ± 208.10)and(1381.25 ± 364.37)(ng/ml)·h.The 90% confidential intervals of Cmax, $AUC_{(0-36h)}$ and $AUC_{(0-inf)}$ of tested formulation were 76.8%~125.6%, 87.5%~109.1%, 101.4%~120.3%, respectively. *Conclusion*: The relative bioavailability is (113.4 ± 35.3)%.The results of the statistic analysis show that the two formulations are bioequivalent.

【Key words】Ambroxol hydrochloride; Bioequivalence; Plasma concentration

盐酸氨溴索能增加呼吸道粘膜浆液腺分泌,减少粘液腺分泌,从而降低痰液粘度;还可促进肺表面活性物质的分泌,增加支气管纤毛运动,使痰液易于咳出。适用于伴有痰液分泌不正常及排痰功能不良的急性、慢性呼吸道疾病。盐酸氨溴索原料及片剂、胶囊、缓释胶囊已为 2005 年版中国药典所收载,盐酸氨溴索缓释片系对已上市的盐酸氨溴索缓释胶囊在同剂量和给药方式下进行的不改变给药途径,只改变剂型的五类新药,旨在降低药物制造成本,使制剂工艺更加简洁,制剂质量更加稳定、可靠,因此按国家药品监督管理局有关规定,进行人体生物等效性预试验研究。为研究其缓释片的科学性和工艺的合理性,为其临床合理用药提供试验依据。

作者介绍:吕宗杰(1985-),男,硕士,
研究方向:临床药理。
通讯作者:郑 永,男,副教授,E-mail: zhenyon68@tom.com。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂

试验药物:盐酸氨溴索缓释片,75 mg/片,生产批号:050822,由天津药物研究院提供。参比药物:盐酸氨溴索缓释胶囊,批号:20050607;75 mg/粒,由天津药物研究院提供。乙腈、乙醚、四氢呋喃为色谱纯,天津市四友生物医学技术有

限公司生产;磷酸二氢钾为分析纯,重庆化学试剂厂生产;盐酸氨溴索标准品:由天津药物研究院提供。

1.2 试验仪器

Waters 高效液相色谱仪、Waters 1525 泵、Waters 2487 紫外可变波长检测器;Waters Breeze 工作站;WHX 微型涡旋混合器(上海跃进机械厂);KL512J 氮吹仪(北京康林科技有限责任公司)。

1.3 受试者的选择

根据药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则 2005 年版,无心、肝、肾、消化道、代谢异常、神经系统疾病等病史健康男性自愿者 20 名,年龄 18 ~ 40 岁,身高(170 ± 10)cm, 体重不超过标准体重 ± 10%kg, 并进行心电图、血压、肝功能、肾功能和血象等,无异常。受试者充分了解试验内容后自愿受试并签署知情同意书。

1.4 给药方法及生物样本的采集

本试验采用自身交叉单剂量口服给药。20 名受试者随机分为两组,每组 10 名,禁食 12 h 后,于次日晨空腹口服 75 mg 盐酸氨溴索受试药物或参比药物,均用 200 ml 温开水服下。间隔 2 周后交换服另一种盐酸氨溴索药品。在给药前及给药后 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0、12.0、24.0、36.0 h,抽取前臂静脉血 4 ml,5 000 转离心 5 min 后分离血浆, 将血浆样本于低温(-20℃)保存。

1.5 血药浓度测定

1.5.1 色谱条件 色谱柱 Symmetry® C_{18},54 μm,4.6 × 150 mm,固定进样环 20 μl。根据参考文献[1~4]及试验选择如下流动相:甲醇:0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0):四氢呋喃 =30:70:2.5;流速:1.0 ml/min;紫外检测波长:245 nm;柱温:25℃。

1.5.2 样品处理 精密取受试者血浆 0.8 ml, 精密加浓度为 9.2 μg/ml 的盐酸多虑平内标液 10 μl,加入 2 mol/L 的 NaOH 100 μl,旋摇 30 s,再加入 3 ml 乙醚,涡旋震荡 3 min,5 000r/min 离心 1 min,吸取上层有机层于尖底试管中,乙醚层中加入 0.05 mol/L 的盐酸 100 μl, 涡旋震荡 3 min,弃去乙醚层,取盐酸层 20 μl 进样。

1.5.3 标准曲线的制备 在空白血浆中加入浓度为 19.2 μg/ml 的盐酸氨溴索标准液,使血药浓度分别为 384.00、197.00、98.50、49.25、24.63、12.31、6.17 ng/ml,按"1.5.2"项下操作测定,记录色谱图、样品峰面积。以氨溴索峰面积 A1 与盐酸多虑平内标峰面积 A2 的比值 I,对盐酸氨溴索血药浓度 C 进行回归分析,得标准曲线。

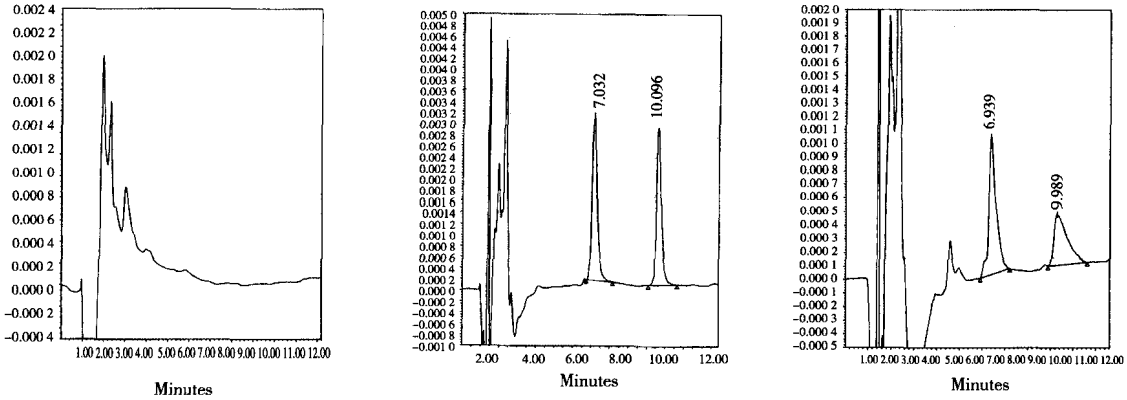
1.5.4 回收率测定 在空白血浆中加入浓度为 19.2 μg/ml 的盐酸氨溴索标准液,配制高、中、低浓度的标准血样,使血样的盐酸氨溴索浓度分别为 384.00、98.50、12.31 ng/ml。按"1.5.2"项下操作测定,由标准曲线计算出血样中盐酸氨溴索的药物浓度,将求得的浓度与已知血药浓度相比,计算方法回收率,连续测定 5 次。

1.5.5 精密度测定 在空白血浆中加入浓度为 19.2 μg/ml 的盐酸氨溴索标准液,配制高、中、低浓度的标准血样,使血样的盐酸氨溴索浓度分别为 384.00、98.50、12.31 ng/ml。按"1.5.2"项下操作测定,日内各浓度测定 5 次,并连续测定 5 d,计算日内、日间精密度。

1.5.6 样品稳定性考察 (1)将浓度为 12.31、98.50、384.00 ng/ml 的标准血样常温避光放置 8 h,按"1.5.2"项下操作,测定 0、8 h 的血药浓度;(2)将浓度为 98.50 ng/ml 的标准血样放置于 -20℃冰箱中保存,于 0、7、14 d 取出血样,常温下融冻后,按"1.5.2"项下操作测定血药浓度,血样测定完后放回冰箱保存,下次融冻再测浓度,考查其稳定性。

1.6 统计学处理

药时数据采用中国药理学会编制的 3P97 统计分析软件的生物等效性模块进行药学动力学参数计算和生物等效性分析, 计算每一个体的药动学参数。C_{max}、T_{max} 取实测值,AUC_{0-t} 采用梯形法计算, AUC_{0-inf} 按 $AUC_{0-inf}=AUC_{0-t}+C_t/\lambda z$ 计算。C_{max}、AUC_{0-inf} 未经对数转换和经对数转换后分别进行方差分析和双单侧 t 检验(显著性水平 P=0.05),90%可信限考察,T_{max} 采用非参数统计 Wilcoxo 检验。分别计算各个受试者的相对生物利用度 F 值, 公式为 F=(AUC_{0-t})受试药物 /(AUC_{0-t})参比药物 × 100%。



A.空白血浆 B.空白血浆加入盐酸氨溴索标准品及多虑平内标 C.为服药后 4 h 血样

图 1 HPLC 图谱

2 结 果

2.1 色谱行为

在选定的色谱条件下测得的色谱见图 1。由图可见盐酸氨溴索、多虑平与血中内源性杂峰分离良好，峰形尖锐，杂质和代谢物不干扰药物的测定。

2.2 标准曲线方程的绘制及最低定量限

标准曲线方程为：C=6.89+63.676I，线性范围：384.00~6.16 ng/ml，相关系数 R= 0.9969，最低定量浓度为 6.16 ng/ml。

2.3 方法学评价

盐酸氨溴索日内、日间精密度及方法回收率见表 1。

2.4 样品稳定性

由表 2 中可以看出，血样在常温下放置 8 h，-20℃冰箱中保存 14 d 均稳定，RSD 值均小于 10%，不影响血药浓度的测定。

2.5 药-时数据及药代动力学参数

20 名健康男性受试者交叉服用 75 mg 的盐酸氨溴索受试药品及参比药品后，每例受试者的血药

表 1 盐酸氨溴索生物等效性试验日内、日间精密度和方法回收率（n=5）

标准浓度(ng/ml)	日内 RSD(%)	日间 RSD(%)	方法回收率(%)
384.00	6.90	5.91	98.34 ± 6.80
98.50	4.60	4.58	91.49 ± 4.71
12.31	2.39	3.49	108.73 ± 2.91

表 2 盐酸氨溴索生物等效性试验标准血样稳定性试验结果（n=5）

时间	标准浓度 12.31(ng/ml)	标准浓度 98.50(ng/ml)	标准浓度 384.00(ng/ml)
0 h	11.89 ± 0.11	97.98 ± 2.44	367.57 ± 7.66
8 h	11.65 ± 0.38	95.34 ± 3.25	353.29 ± 13.73
7 d	10.92 ± 0.26	96.43 ± 2.97	348.73 ± 10.36
14 d	11.16 ± 0.42	95.27 ± 3.87	357.38 ± 15.73
RSD	6.52	8.54	7.65

表 3 盐酸氨溴索生物等效性试验人体药代动力学参数（$\bar{x}\pm s$, n=20）

参数	受试品	参比品
$T_{1/2}ke$(h)	13.79 ± 4.82	12.99 ± 3.68
T_{max}(h)	5.00 ± 1.16	5.00 ± 1.16
C_{max}(ng/ml)	78.19 ± 11.60	77.26 ± 18.50
$MRT_{(0-36h)}$(·h)	13.10 ± 4.82	13.12 ± 1.60
$AUC_{(0-36h)}$(ng·h/ml)	1234.70 ± 58.50	1150.10 ± 265.48
$AUC_{(0-inf)}$(ng·h/ml)	1505.74 ± 208.10	1381.25 ± 364.37
$F_{(0-36h)}$(%)	113.4 ± 35.3	
$F_{(0-inf)}$(%)	118.7 ± 49.2	

表 4 盐酸氨溴索生物等效性试验方差分析结果

	AUC_{0-inf}	C_{max}
P值(未经对数转换)	>0.05	>0.05
P值(经对数转换)	>0.05	>0.05

表 5 盐酸氨溴索生物等效性试验双单侧 t 检验结果

	未经对数转换		经对数转换	
	AUC_{0-inf}	C_{max}	AUC_{0-inf}	C_{max}
t_1	5.891	3.728	6.610	4.111
t_2	1.762	4.638	2.531	3.573
90%置信区间	101.7% ~ 119.9%	76.8% ~ 125.6%	101.4% ~ 120.3%	78.2% ~ 134.6%

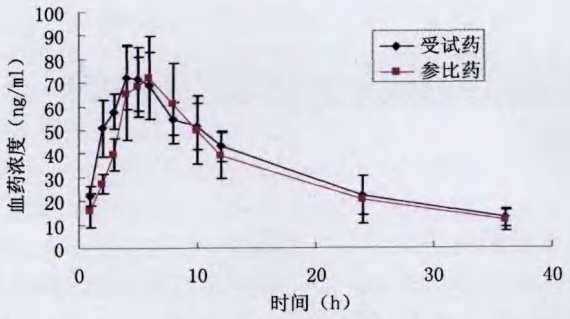


图 2　盐酸氨溴索受试药品和参比药品平均药-时曲线图

浓度-时间数据采用微机 3P97 程序自动拟合，参考实测值与理论值的相关系数(R^2)、最大绝对误差和相对误差、曲线拟合优度及 AIC 等指标选择模型。结果表明口服盐酸氨溴索缓释片或胶囊后，药-时数据符合 1 室药代动力学模型，平均血药浓度药-时曲线见图 2，有关药代动力学参数及生物利用度见表 3。

2.6　盐酸氨溴索受试品与参比品的生物等效性分析

采用计算机 3P97 软件的生物等效性分析模块对 20 名受试者的药时数据进行等效性分析，结果如下。盐酸氨溴索缓释片 C_{max}、AUC_{0-inf} 未经对数转换，方差分析及双单侧 t 检验结果显示，两药间无显著性差异，具有生物等效性($P>0.05$)。其 C_{max}、AUC_{0-inf} 经对数转换，方差分析及双单侧 t 检验结果显示，两药间无显著性差异，具有生物等效性($P>0.05$)。数据见表 4、表 5 受试品与标准参比品的 T_{max} 分别为 (5.00±1.16) h 和 (5.00±1.16) h，对实测的 T_{max} 用非参数统计 Wilcoxo 法进行检验，两药间无显著性差异。

3　讨　论

目前，体内分析氨溴索的方法有高效液相色谱法[1-3]和液质联用法[5]等，大多数分析采用高效液相法。本实验采用 HPLC 法测定人体血浆中盐酸氨溴索浓度，所建立的方法简便、灵敏、可靠，血药浓度在 384.00~6.16 ng/ml 范围内线性关系良好，相关系数为 0.996 9，最低检测浓度最低定量浓度为 6.16 ng/ml，能够满足盐酸氨溴索缓释片人体药代动力学和生物利用度研究需要。

20 名健康男性自愿者随机交叉单剂量口服盐酸氨溴索缓释片和盐酸氨溴索缓释胶囊的体内动态过程表明，盐酸氨溴索缓释片和盐酸氨溴索缓释胶囊的血药浓度变化趋势基本一致，其药动学参数与文献报道基本一致。说明盐酸氨溴索缓释片同样具有长效、安全的优点。盐酸氨溴索缓释片和盐酸氨溴索缓释胶囊在健康人体内相应的各时间点氨溴索血药浓度数据采用 3P97 程序的生物等效性分析模块进行分析，2 种制剂的主要药物动力学参数 C_{max}、AUC_{0-inf} 分别做对数转换处理和不做对数转换处理，进行方差分析和双单侧 t 检验和计算 90%可信区间。在两种数据处理方式下，受试制剂的 AUC_{0-inf} 的 90%可信限均落在参比制剂 80%~125%的范围内，C_{max} 落在参比制剂 70%~143%范围内，表明两种药物具有生物等效性。

参考文献

[1]　王唯红，灯树海，黄桂华，等.RP-HPLC 法测定人血浆中盐酸氨溴索片的浓度及其药代动力学[J].药物分析杂志，2001，20(1)：23-25.

[2]　范国荣，林　梅，安登魁.单剂量口服盐酸氨溴索缓释胶囊的人体生物等效性[J].中国医院药学杂志，2001，21(1)：9-12

[3]　范国荣，李　珍，胡晋红，等.盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度研究[J].中国现代应用药学杂志，2001，18(2)：105-107.

[4]　Lee H J，Joung S K，Kim Y G，et al. Bioequivalence assessment of ambroxol tablet after a single oral dose administration to healthy male volunteers[J]. Pharmacol Res，2004，49(1)：93-98.

[5]　陈红燕，蒋翠岚. 盐酸氨溴索口腔崩解片人体生物等效性研究[J].China Pharmacy，2008，19(14)：1083-1085.

（责任编辑：冉明会）