DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.22.033
第26卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 22
2064 2004年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2003

论著

文章编号:1000-5404(2004)22-2064-03

伊贝沙坦胶囊生物等效性的评价研究

周世文,汤建林,徐 颖,黄永平,应 懿 (第三军医大学新桥医院临床药理基地,重庆 400037)

提 要:目的 评价伊贝沙坦两种制剂是否生物等效。方法 男性健康受试者24名,随机分成两组,交叉口服试验品与参比制剂各300 mg,在一定时间点取静脉血分离血浆,以HPLC法测定血药浓度,各受试者服药后的血药浓度经时数据以BECS软件处理得到主要药代动力学参数,C_{max}、AUC_{0-tn},AUC_{0-inf}经对数转换地行双单侧 t 检验分析,T_{max}经Wilcoxon铁和检验,判断两制剂的等效性。结果 试验品与参比制剂的$T_{1/2}$分别为(14.3±6.3) h及(14.4±4.9) h,T_{max}分别为(2.08±0.58) h及(2.12±0.61) h,C_{max}分别为(2 370.7±834.5) ng/ml及(2 193.2±608.3) ng/ml,AUC_{0-tn}分别为(15 460±7 007) ng·ml^{-1}·h^{-1}与(14 758±4 395) ng·ml^{-1}·h^{-1},AUC_{0-inf}分别为(17 051±7 105) ng·ml^{-1}·h^{-1}与(16 634±4 724) ng·ml^{-1}·h^{-1}。经统计分析试验药品与参比制剂的C_{max},AUC_{0-tn},AUC_{0-inf}均在规定范围内。T_{max}无显著性差异,试验品的相对生物利用度为(104.08±26.85)%(以AUC0-Tn计算得出)和(102.25±24.80)(以AUC_{0-inf}计算得出)。结论 两制剂生物等效。

关键词:伊贝沙坦;药代动力学;生物等效性;HPLC
中图法分类号:R944.5;R969;R972.4 文献标识码:A

Experimental evaluation of the bioequivalence of irbesartan capsules

ZHOU Shi-wen, TANG Jian-lin, XU Ying, HUANG Yong-ping, YING Yi (Base for Drug Clinical Trial, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To evaluate the bioequivalence of two irbesartan preparations. Methods A total of 24 healthy male volunteers, divided randomly into two groups, were administered with two preparations of irbesartan respectively in an open randomized cross-over test. A single oral dose of the test and control preparations was 300 mg. Venous blood of the subjects was collected for separation of blood plasma. Irbesartan concentration in the plasma was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The pharmacokinetic parameters of irbesartan were obtained by using BECS software. Results Parameters of the test and control preparations were obtained. $T_{1/2}$: (14.3±6.3) h *vs* (14.4±4.9) h; T_{max}: (2.08±0.58) h *vs* (2.12±0.61) h; C_{max}: (2370.7±834.5) ng/ml *vs* (2 193.2±608.3) ng/ml; AUC_{0-tn}: (15 460±7 007) ng·ml^{-1}·h^{-1} *vs* (14 758±4 395) ng·ml^{-1}·h^{-1}; AUC_{0-inf}: (1 7051±7 105) ng·ml^{-1}·h^{-1} *vs* (16 634±4 724) ng·ml^{-1}·h^{-1}. The results of statistical analysis showed that there was no significant difference between C_{max}, AUC_{0-tn}, and T_{max} of irbesartan. Conclusion The two preparations are bioequivalent.

Key words: irbesartan; pharmacokinetics; bioequivalence; high performance liquid chromatography

伊贝沙坦是血管紧张素Ⅱ(AⅡ)受体拮抗剂,能选择性、非竞争性地与AⅡ型(AT1)受体结合,从而抑制AⅡ活性。伊贝沙坦口服生物利用度为60%~80%,高于其它AⅡ受体拮抗剂,如氯沙坦、缬沙坦、坎地沙坦等,口服伊贝沙坦150~300 mg后,在1.5~2 h达到C_{max}。C_{max}和AUC值是剂量依赖性的,且不受食物影响。伊贝沙坦的血浆结合率约为90%,细胞色素P_{450} 2C9是其主要代谢酶[1~3]。临床上伊贝沙坦用于治疗高血压。随着国外伊贝沙坦专利保护期的结束,国内已有厂家或研究单位开始仿制。依据国家新的药品管理注册办法规定,对国内一研究机构研制的伊贝沙坦胶囊进行人体生物等效性评价。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

仪器:Beckman system gold HPLC仪(美国Beckman公司),包括126泵,167检测器,210A进样阀,配Beckman system gold色谱

作者简介:周世文(1956—),男,云南省罗平县人,硕士,教授,主要从事临床药理和中药药理方面的研究,发表论文78篇。电话:(023)68755311
通信作者:汤建林,电话:(023)68755311;E-mail:yljd@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2004-09-09;修回日期:2004-10-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

数据工作处理站。DL-1 型固相萃取器(大连国家色谱研究中心提供), CN 固相萃取小柱(大连国家色谱研究中心提供, 100 mg, 1.0 ml), Millipore 超纯水器(美国 Millipore 公司), SC-120 超声波清洗器(Sonicor 公司)。伊贝沙坦对照品和氯沙坦内标物(成都市高新区药工医药生物技术研究所提供)。乙腈、甲醇为色谱纯, 磷酸、冰乙酸为分析纯, 水为 Millipore 超纯水。

伊贝沙坦标准液: 精密称取伊贝沙坦对照品, 甲醇溶解使其浓度为 500 μg/ml, 于冰箱 4 ℃保存。氯沙坦标准液: 精密称取氯沙坦对照品, 甲醇溶解使其浓度为 500 μg/ml, 于冰箱 4 ℃保存。

试验药品: 伊贝沙坦胶囊(含主药伊贝沙坦 75 mg/粒), 成都市高新区药工医药生物技术研究所生产, 批号: 990501。

参比制剂: 伊贝沙坦片剂(含主药伊贝沙坦 75 mg/片), 成都市高新区药工医药生物技术研究所生产, 批号: 990501。

1.2　试验对象

健康男性受试者 24 名, 年龄(21.04±2.07)岁, 平均身高(172.46±3.65) cm, 体质量(58.27±3.63) kg, 受试者经病史询问, 并经肝肾功能, 血尿常规和心电图检查证实为健康者, 志愿作为本试验受试者参加伊贝沙坦胶囊的人体生物利用度试验。受试者在 1 个月内未服用其它药物, 并在规定试验期间不服用其它任何药物。受试者在受试前签署受试者知情同意书。

1.3　给药方案和血样采集

1.3.1　给药方案　　24 名受试者随机分成两组, 每组各 12 名, 交叉口服试验药品或参比制剂(4 粒, 75 mg/粒), 以温开水 200 ml 送服, 4 h 后统一用餐, 试验期间禁烟酒和其它药物。第 1 周期和第 2 周期 2 次给药间隔为 7 d。

1.3.2　血样采集　　受试者在服药前及服药后 0.5、1、1.5、2、3、4、5、6、8、12、24、36 h 时采集静脉血 3 ml 于肝素抗凝管中, 分离得到血浆, 于 20 ℃储存, 待测血药浓度。

1.4　血样的预处理和血药浓度 HPLC 测定

1.4.1　萃取小柱的活化　　取 CN 小柱(大连国家色谱研究中心提供)用甲醇 2 ml 活化, 再用稀磷酸(1 ml 磷酸用水稀释至 100 ml)2 ml 洗涤备用(流速 1.0 ml/min)。

1.4.2　血样处理　　血浆样品 1.0 ml, 加入氯沙坦内标甲醇液(50 μg/ml)50 μl 和稀磷酸 1.0 ml 混匀, 以 1.0 ml/min 的流速通活处理好的小柱, 用 3 ml 稀磷酸洗去水溶性杂质, 再以甲醇—稀磷酸混合液(1∶1)1 ml 洗脱药物, 洗脱液 20 μl 直接近样, HPLC 测定方法测定。

1.4.3　色谱条件　　固定相: YMC Pack ODSA, 5 μm, 4.6 mm×150 mm 柱(Ser. 041528430)。流动相乙腈∶水∶冰乙酸 = 40∶60∶0.1(V/V), 流速: 1.0 ml/min 检测波长: 245 nm。

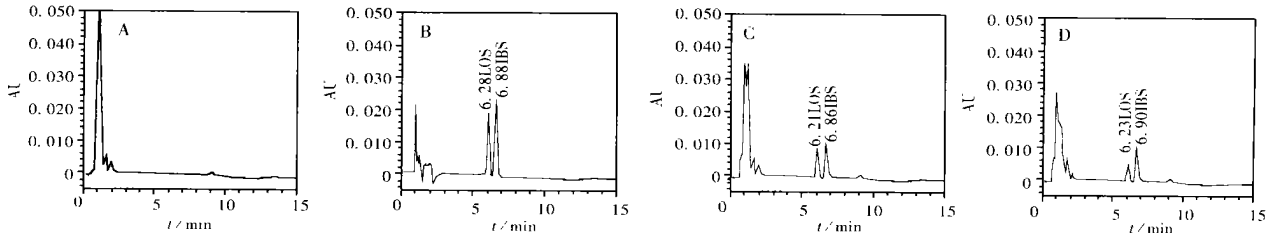
1.5　统计学方法

以 BECS 软件处理受试者服药后血药浓度经时数据, 将受试者原始血药浓度经时数据直接输入 BECS 生物等效性计算程序, 用非房室模型法估算动力学参数(梯形法估算 AUC), 在 90% 置信区间内对 T_{max} 和经对数转化后的 C_{max}, AUC_{0-tn}, AUC_{0-inf} 进行双单侧 t 检验, Wilcoxon 秩和检验(判断 T_{max}), 方差分析(判断 C_{max}, AUC_{0-tn}, AUC_{0-inf} 是否存在统计学差异)。试验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

2　结果

2.1　伊贝沙坦血浆样品测定的 HPLC 方法评价

2.1.1　伊贝沙坦色谱分离特性　　伊贝沙坦色谱分离谱图见图 1, 从图中得出, 伊贝沙坦和内标物氯沙坦有效分离, 血中杂质不干扰样品测定。伊贝沙坦的保留时间约为 6.88 min, 内标物的保留时间约为 6.28 min。



A: Blank plasma; B: Irbesartan standard and internal standard solution; C: Irbesartan standard and internal standard in blank plasma; D: Heathy volunteers plasma and internal standard

图 1　伊贝沙坦色谱图

Fig 1　Chromatogram of irbesartan

2.1.2　线性范围　　取健康受试者空白血浆 1.0 ml 数份, 分别加入伊贝沙坦溶液使其浓度为 50、100、200、400、800、1 600、3 200 和 6 400 ng/ml, 按血样预处理后作 HPLC 分析, 以伊贝沙坦浓度为变量(X), 测得的伊贝沙坦与内标峰面积之比为应变量(Y), 作线性回归, 得标准曲线方程为: Y = 545.245 9X + 15.418 03, r = 0.994 6, 本方法测定的线性范围为 50 ~ 6 400 ng/ml。

2.1.3　方法回收率　　取健康受试者空白血浆 1.0 ml 数份, 分别加入伊贝沙坦溶液使其浓度为 200、800 和 1 600 ng/ml, 按血样预处理作 HPLC 分析, 结果见表 1。

表 1　伊贝沙坦测定的回收率试验结果(n = 5, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Results of recovery tests for irbesartan in human plasma (n = 5, $\bar{x}\pm s$)

	Nominal (ng/ml)		
	200	800	1 600
Measured (ng/ml)	201.12±12.42	791.20±32.8	1 607.99±86.56
Recovery (%)	100.56	98.90	100.50

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.1.4 日内精密度与日间精密度 取健康受试者空白血浆1.0 ml数份，分别加入伊贝沙坦溶液使其浓度为200、800和1 600 ng/ml，各取一份按血样预处理后，于第1天内分别测定5次，统计测定数据的相对标准差RSD，即为方法的日内精密度，见表2。其余样品冰箱保存，在2周内任选4 d，分别按血样处理方法处理后，每样平行测定两次，统计5 d时间(包括第1天)测定数据的相对标准差RSD，即为日间精密度，结果见表3。

表2 日内精密度测定结果($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Intra-assay for the quantitation of irbesartan in human plasma($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

	Nominal (ng/ml)		
	200	800	1 600
Measured(ng/ml)	200.23±3.59	794.98±14.02	1 633.94±27.08
RSD (%)	1.79	1.76	1.66

表3 日间精密度测定结果($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3 Inter-assay for the quantitation of irbesartan in human plasma ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

	Nominal (ng/ml)		
	200	800	1 600
Measured(ng/ml)	200.79±11.36	790.08±43.96	1 639±68.74
RSD (%)	5.66	5.56	4.19

2.1.5 最低检测浓度 在信噪比S/N=3时，伊贝沙坦的最低检测浓度为50 ng/ml。

2.2 受试者服药后的药时曲线和主要动力学参数

24名受试者交叉服用试验药品和参比制剂后的药时曲线和主要动力学参数的均值图表见图2和表4。

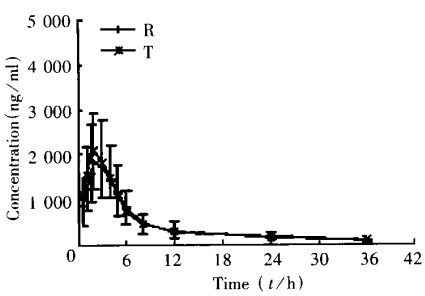


图2 24名受试者平均血药浓度-时间曲线

Fig 2 The average drug plasma concentration-time curve of irbesartan (300 mg) in 24 healthy volunteers after oral administration

交叉口服试验品与参比制剂各300 mg，试验药品与参与制剂的C_{max}，$AUC_{0\text{-}inf}$和$AUC_{0\text{-}inf}$经对数转化后双向单侧t检验示二者之间具有生物等效性，其中在90%置信区间内试验药品与参比制剂相比，C_{max}落在87.08%~123.9%的范围内，$AUC_{0\text{-}inf}$落在84.08%~120.9%的范围内，$AUC_{0\text{-}inf}$落在(83.90%~117.80)%的范围内，均符合规定。试验药品相对生物利用度为(104.1±26.8)%(以$AUC_{0\text{-}tn}$计算)和(102.2±24.8)%(以$AUC_{0\text{-}inf}$计算)。

表4 试验药品和参比制剂的主要动力学参数($n=24$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 4 Pharmacokinetic parameters for irbesartan after a single oral dose reference drug and test drug(300 mg)($n=24$, $\bar{x}\pm s$)

Parameter	Reference	Test
$T_{1/2}$(h)	14.37±4.89	14.29±6.28
T_{max}(h)	2.12±0.61	2.08±0.58
C_{max}(ng/ml)	2 193.2±608.3	2 330.7±834.5
$AUC_{0\text{-}tn}$(ng·mL^{-1}·h^{-1})	14 758±4 395	15 460±7 007
$AUC_{0\text{-}inf}$(ng·mL^{-1}·h^{-1})	16 634±4 724	17 051±7 105

3 讨论

本试验采用HPLC法测定血浆中伊贝沙坦浓度，血浆样品经CN小柱萃取浓缩处理后，可有效消除血浆内源性物质干扰，使主药、内标物与血浆干扰物较好分离，其最低检测限可满足实际测试需要。

根据世界各药品管理机构，包括我国食品药品及监督管理局(SFDA)确认的对双制剂(试验药品和参比制剂)的生物等效性判断，应对18~24名健康受试者分两个阶段采用2×2交叉设计的要求，进行了本次试验。对原始的血药浓度时间数据，用非房室模型法估算动力学参数(梯形法估算AUC)，进行生物等效性评价，其中T_{max}，C_{max}均为实测值。在对T_{max}作双单侧t检验时，在90%置信区间内其值落在了69.1%~133.2%范围内，超出了80%~120%范围要求，但经Wilcoxon秩和检验，试验药品与参比制剂的T_{max}无显著性差异。之所以出现这样的结果，笔者认为这主要与血样采集时间的设计有关。依据文献[4]，我们得出两种制剂生物等效的结论。

试验在富有经验的临床医师监护和急救措施配备下进行。整个试验期间，受试者精神状况良好，血压未见明显下降，未有主述其它不适或不良反应。

参考文献：

[1] Brunner H R. The new angiotensin Ⅱ receptor antagonist, irbesartan: pharmacokinetic and pharmacyodynamic considerations[J]. Am J Hypertans, 1997, 10(12Pt2): 311S-317S.

[2] 黄震华，徐济民. 新型血管紧张肽受体阻断剂伊贝沙坦[J]. 中国新药与临床杂志，2000，19(2)：135-137.

[3] 郭 利，恽榴红. 抗高血压药物伊贝沙坦的药效学和药代动力学及临床应用[J]. 国外医学药学分册，1998，25(4)：212-213.

[4] 郑筱萸. 化学药品和治疗用生物制品研究指导原则(试行)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2000. 70-76.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net