

· 临床研究 ·

盐酸二甲双胍片剂的人体药动学与生物等效性研究

Study on pharmacokinetics and bioequivalence of metformin hydrochloride tablets in healthy volunteers

杨阳¹, 倪立²

(1. 解放军第123医院药械科, 蚌埠 233015; 2. 南京军区总医院临床药理科, 南京 210002)

[摘要] 目的: 观察盐酸二甲双胍片剂在人体内的药动学, 并比较2种片剂的生物等效性。方法: 20名健康成年男性志愿者随机分为2组, 自身交叉分别单剂量口服500mg盐酸二甲双胍试验和参比2种片剂, 建立反相高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍的血药浓度, 采用3P97程序拟合房室模型, 计算其药动学参数。结果: 2种片剂的主要药动学参数为: t_{max} , (2.53±0.95)和(2.43±0.75)h; C_{max} , (1.774.6±480.8)和(1.829.3±517.7) $\mu\text{g}/\text{L}$; $t_{1/2Ke}$, (2.53±0.45)和(2.48±0.36)h; AUC_{0-12h} , (8.951.6±2.012.9)和(9.186.1±1.981.3) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$; AUC_{0-} , (9.441.7±1.981.6)和(9.691.0±2.009.9) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 。2种片剂的 C_{max} , AUC_{0-12h} , AUC_{0-} 经对数转换后, 进行方差分析, 双单侧 t 检验及90%可信区间统计无显著性差异。试验制剂对于参比制剂的相对生物利用度 F_{0-12h} 为(98.2±14.1)%, F_{0-} 为(98.2±13.2)%。结论: 2种片剂生物等效。

[关键词] 盐酸二甲双胍; 色谱法; 高压液相; 药动学; 生物等效性

[中图分类号] R 977.15 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2004)09-1038-02

* 二甲双胍(metformin)是双胍类口服降血糖药, 近年来研究^[1]表明, 它还可以降低血液中三酰甘油和胆固醇, 改善纤维蛋白溶解, 减轻血小板凝聚。本实验建立反相高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍血药浓度, 考察药物在健康志愿者体内的药动学, 并评价试验制剂、参比制剂的生物等效性。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器 盐酸二甲双胍片, 250mg/片, 批号20001216, 江苏方强制药厂生产。参比制剂: 盐酸二甲双胍片, 250mg/片, 批号20010401, 天津中新药业集团股份有限公司新新制药厂生产。盐酸二甲双胍标准品(纯度99.65%), 内标苯乙双胍(phenformin, 纯度99.87%), 均由江苏方强制药厂提供。乙腈为色谱纯, 美国Tedia公司出品; 十二烷基硫酸钠(SDS)、磷酸二氢钾、高氯酸为市售分析纯; 水为蒸馏水, 以0.45 μm 微孔滤膜过滤。

日本岛津LC-10AD HPLC系统, 包括LC-10AD泵, SPD-10A紫外分光光度检测仪, Rheodyne 7725i 进样阀, WDL-95 色谱工作站, Sartorius 电子天平(1/10万)。

1.2 受试者选择和分组 20名健康成年男性志愿者, 年龄(22.0±2.3)岁, 身高(175.0±5.2)cm, 体质量(66.2±6.1)kg, 无心、肝、肾、消化道、代谢、神经系统疾病等病史, 无过敏史, 无体位性低血压史。经检查, 肝、肾功能, 血常规, 血压和心电图均为正常。志愿者无烟酒嗜好, 近2周内未服用过其他任何药物, 近1周内未喝过任何含乙醇的饮料。健康志愿者试验前均签署“知情同意书”, 并报医院医学伦理委员会批准备案。采用随机分组自身交叉对照试验设计方法, 将20名志愿者分为2组, 每组10名, 分别自身交叉口服盐酸二甲双胍试验制剂或参比制剂, 2次试验间隔1周的清洗期。志愿者隔夜禁食10h, 于试验日晨8:00空腹服用200ml温开水送服单剂量盐酸二甲双胍片剂500mg(2片)。服药后志愿者保持安静, 并禁食4h, 全日统一进食低脂标准餐。整个试验

期间, 志愿者禁止吸烟, 饮酒, 饮茶及饮用含有乙醇、咖啡因的饮料, 禁服一切非试验药物。服药前及服药后0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、6、8、10和12h分别抽取志愿者前臂静脉血3ml, 肝素抗凝, 离心, 血浆置于-30℃冰箱保存待测。

1.3 血药浓度测定方法

1.3.1 色谱条件 岛津LC-10AD HPLC系统, 色谱柱为Lichrospher C-18柱(江苏淮阴汉邦科技有限公司出品, 5 μm 粒径, 150mm×4.6mm)。流动相为磷酸二氢钾缓冲溶液(50mmol/L, 氢氧化钾调pH=5.0) 乙腈 SDS溶液(8mmol/L)=80:20:5($V/V/V$), 流速为1.0ml/min, 紫外检测波长为234nm。柱温为室温。

1.3.2 血浆样品预处理 精密量取血浆0.5ml, 置于1.5ml离心管中, 分别定量加入30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 内标苯乙双胍溶液0.1ml, 蛋白沉淀剂20%高氯酸溶液0.1ml, 涡旋振荡60s, 12000 r/min离心5min, 取上清液50 μl 直接进样。

1.3.3 标准曲线制备 精密称取盐酸二甲双胍标准品适量, 加入水于容量瓶中定容, 制成标准品水溶液, 置于4℃冰箱备用。取健康志愿者混合空白血浆, 加入适量盐酸二甲双胍标准品水溶液, 配制浓度分别为62.5、125、250、500、1000、2000、4000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的血浆样品溶液, 如上述血浆样品处理方法处理后测定。以盐酸二甲双胍浓度为 x 轴, 以盐酸二甲双胍与苯乙双胍峰面积比为 y 轴, 进行回归, 回归方程 $Y=0.0013x+0.0008$, 相关性良好($r>0.9999, n=7$)。

1.3.4 绝对回收率试验 取空白血浆, 加入盐酸二甲双胍标准品水溶液, 配制浓度分别为100、500、1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 血浆样品溶液, 每个浓度配制5份, 处理后测定。将测得的峰面积与相应浓度盐酸二甲双胍标准品水溶液直接进样所测得的峰面积相比, 计算绝对回收率。

* [作者简介] 杨阳(1980-), 男(汉族), 药师
E-mail: Dsaip@163.com

1.3.5 精密度和相对回收率试验 同法,1 d 内配制上述3种浓度血浆样品溶液各5份,预处理后测定,连续5 d,每天配制上述3种浓度血浆样品溶液各1份,预处理后测定。分别计算日内精密度、日间精密度,并计算相对回收率。

1.4 数据处理 采用3P97实用药动学程序,对志愿者的血药浓度-时间数据进行模型选择和拟合。计算主要药动学参数:达峰时间 t_{max} 、峰浓度 C_{max} 为实测值,消除速率常数 K_e 、吸收速率常数 K_a 由拟合曲线计算,消除半衰期 $t_{1/2K_e} = 0.693/K_e$ 、吸收半衰期 $t_{1/2K_a} = 0.693/k_a$,药时曲线下面积 AUC_{0-m} 用梯形法计算, $AUC_{0-} = AUC_{0-m} + C_m/K_{e0}$ 。2种片剂的 AUC 比值为 F_{0-m}/F_{0-} 。对试验制剂、参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-m} 、 AUC_{0-} 对数转换后,进行方差分析,双单侧 t 检验及90%可信区间统计,统计结果由3P97程序直接给出。若试验制剂的 AUC_{0-m} 、 AUC_{0-} 的90%可信区间落在参比制剂的80%~125%内, C_{max} 落在70%~143%内,可认为试验制剂与参比制剂生物等效。

2 结果

2.1 色谱行为 在1.3.1色谱条件下,盐酸二甲双胍的保留时间约5.5 min左右,内标苯乙双胍的保留时间在6.5 min左右。空白血浆无杂质干扰。

2.2 绝对回收率、精密度和相对回收率 3种浓度(100、500、1000 $\mu\text{g/L}$)的盐酸二甲双胍血浆样品溶液绝对回收率分别为(115.75 \pm 6.07)%、(103.81 \pm 4.08)%和(99.34 \pm 2.01)% ($n=5$);日内精密度分别为4.84%、2.66%和1.49%;相对回收率分别为(110.68 \pm 5.36)%、(93.20 \pm 2.48)%和(95.67 \pm 1.42)% ($n=5$);日间精密度分别为5.42%、2.63%和1.62%,相对回收率分别为(84.00 \pm 4.56)%、(93.66 \pm 2.47)%和(98.87 \pm 1.60)% ($n=5$)。

2.3 血药浓度和药动学参数 20名健康志愿者单剂量口服盐酸二甲双胍片剂(500 mg),平均血药浓度-时间曲线呈一级吸收-房室模型特征(图1),其主要药动学参数见表1。

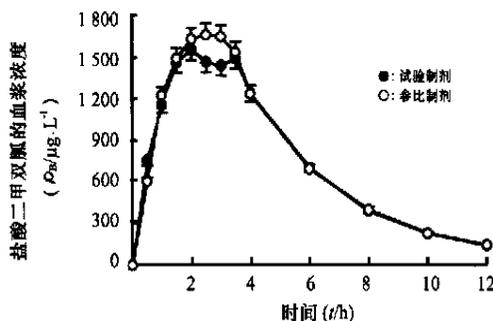


图1 单剂量口服500 mg 盐酸二甲双胍片剂后平均血药浓度-时间曲线

2.3 生物等效性分析 试验制剂对于参比制剂的相对生物利用度 F_{0-12h} 为(98.2 \pm 14.1)%; F_{0-} 为(98.2 \pm 13.2)%。2种片剂的 C_{max} 、 AUC_{0-12h} 、 AUC_{0-} 无显著性差异。试验制剂与参比制剂等效。

表1 单剂量口服500 mg 盐酸二甲双胍2种片剂的药动学参数

| 参数 | $(n=20, \bar{x} \pm s)$ | |
|--|-------------------------|---------------------|
| | 试验制剂 | 参比制剂 |
| t_{max} (t/h) | 2.53 \pm 0.95 | 2.43 \pm 0.75 |
| C_{max} ($\mu\text{g}/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 1774.6 \pm 480.8 | 1829.3 \pm 517.7 |
| K_e (h^{-1}) | 0.28 \pm 0.05 | 0.29 \pm 0.04 |
| $t_{1/2K_e}$ (t/h) | 2.53 \pm 0.45 | 2.48 \pm 0.36 |
| K_a (h^{-1}) | 0.95 \pm 0.17 | 0.68 \pm 0.24 |
| $t_{1/2K_a}$ (t/h) | 1.27 \pm 0.99 | 1.14 \pm 0.39 |
| AUC_{0-12h} ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$) | 8951.6 \pm 2012.9 | 9186.1 \pm 1981.3 |
| AUC_{0-} ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$) | 9441.7 \pm 1981.6 | 9691.0 \pm 2009.9 |

3 讨论

3.1 色谱流动相选择 RP-HPLC 法测定盐酸二甲双胍血药浓度,文献报道的色谱流动相为加入少量SDS的磷酸盐缓冲液-甲醇的混合溶液^[2]。流动相中加入离子对试剂SDS,可使极性化合物盐酸二甲双胍的保留时间推迟为5.5 min左右,避开血浆内源物质峰干扰。有机溶剂采用乙腈,盐酸二甲双胍出峰峰形优于采用甲醇。在1.3.1项流动相条件下,内标苯乙双胍峰与盐酸二甲双胍峰分离良好,峰形良好,且保留时间在8 min内,适合批量血浆样品的检测。

3.2 血浆样品处理 文献报道^[2]的血浆样品处理方法有:定量加入内标苯乙双胍,有机溶剂提取法^[2],血浆样品不加内标,直接沉淀蛋白^[3]。本试验采用的处理方法为血浆样品定量加入内标苯乙双胍,20%高氯酸溶液沉淀蛋白,上清液直接进样。结果显示,沉淀蛋白法操作简便易行,血浆用量少,避免了提取物处理的损失,使平均绝对回收率达到99.34%~115.75%;内标峰面积法定量,避免了处理血浆样品时的操作误差,定量相对准确,所得血浆样品标准曲线线性良好($r > 0.9999$),精密度、相对回收率试验符合要求。

3.3 志愿者体内药动学过程 试验制剂、参比制剂的主要药动学参数基本一致, K_e 、 $t_{1/2K_e}$ 与文献报道相似^[2,3]。图2中,试验制剂出现2次吸收峰,参比制剂无此现象;而在20名志愿者的个体药时曲线图中,有7名志愿者的试验制剂、参比制剂曲线均出现2次吸收峰,另有6名志愿者的试验制剂或参比制剂曲线出现2次吸收峰。由此可知,图2中试验制剂曲线出现二次吸收峰,参比试剂曲线无2次吸收峰均是20名志愿者血药浓度的算术平均值的结果,虽然试验制剂与参比制剂的体内药动学过程存在差异,但经过3P97程序验证,其统计学上无显著差异,试验制剂与参比制剂是生物等效的。关于曲线二次吸收峰的原因,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 邵丙扬. 盐酸二甲双胍在糖尿病治疗中的地位[J]. 德国医学, 1999, 16(2): 79-81.
- [2] 王 萍, 丁林鸿, 郭振波. 高效液相色谱法测定盐酸二甲双胍肠溶片在正常人体的药动学及生物利用度[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(11): 664-665.
- [3] 范鲁雁, 仇益群, 汤 震. 盐酸二甲双胍胶囊的药动学与相对生物利用度研究[J]. 安徽医科大学学报, 1999, 34(4): 268-270.

[收稿日期] 2004-01-05

[修回日期] 2004-04-28

[本文编辑] 孙 岩