

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01407

苯磺酸氨氯地平片人体药物动力学和相对生物利用度研究

Pharmacokinetics and relative bioavailability of amlodipine besylate tablet in healthy volunteers

李 珍¹, 计一平¹, 闻 俊², 康 新¹, 范国荣², 唐世新¹, 杨武云¹

1. 第二军医大学长海医院临床药理研究室, 上海 200433

2. 第二军医大学药学院药物分析学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的:** 研究苯磺酸氨氯地平片在健康人体内的药物动力学和相对生物利用度, 并与市售苯磺酸氨氯地平片进行生物等效性评价。 **方法:** 20例男性健康受试者双周期随机交叉单剂量口服10 mg苯磺酸氨氯地平片受试制剂和参比制剂, 两次试验间隔为2周, 采用LC/MS/MS法测定血浆中氨氯地平浓度。 **结果:** 受试制剂与参比制剂的血药浓度时间曲线基本一致, 主要药代动力学参数 C_{max} 分别为 (9.72 ± 0.90) 和 (9.57 ± 0.96) ng/ml; t_{max} 分别为 (6.0 ± 0.8) 和 (6.4 ± 1.0) h; $t_{1/2}$ 分别为 (31.35 ± 6.49) 和 (31.77 ± 5.07) h; MRT 分别为 (46.63 ± 6.54) 和 (47.15 ± 5.72) h; Cl/F 分别为 (38.30 ± 4.11) 和 (37.97 ± 4.95) L/h; AUC_{0-96} 分别为 (323.54 ± 31.01) 和 (325.76 ± 34.49) h·ng/ml。 **结论:** 统计分析结果表明两种制剂具有生物等效性, 受试制剂的相对生物利用度为 $(99.86 \pm 13.48)\%$ 。

[关键词] LC/MS/MS法; 苯磺酸氨氯地平; 生物利用度; 药代动力学

[中图分类号] R 972.4 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2008)11-1407-03

苯磺酸氨氯地平(amlodipine besylate)是一种独特的具有高度血管选择性的长效二氢吡啶类钙离子拮抗剂^[1], 与同类药物比较, 该药服用方便、维持作用时间长、不良反应少而轻, 目前已成为临床治疗高血压的一线药物^[2]。本研究依据国家食品药品监督管理局新药临床研究批件的要求, 采用LC/MS/MS法测定血浆中氨氯地平浓度, 观察20例男性健康受试者单剂量口服苯磺酸氨氯地平片后的血药浓度经时过程, 估算相应的药物动力学参数, 并以大连辉瑞制药有限公司生产的苯磺酸氨氯地平片为参比制剂, 进行人体药物动力学和相对生物利用度研究。

1 材料和方法

1.1 受试对象 20例男性健康受试者, 年龄 (20.50 ± 1.57) 岁, 身高 (175.25 ± 6.02) cm, 体质量 (65.55 ± 6.87) kg, 试验前经体检证明血常规、肝肾功能、ECG、胸片检查等均正常, 无心血管系统、呼吸系统、消化系统、泌尿系统、中枢神经系统、代谢系统的明确病史或其他显著疾病, 无二氢吡啶类钙离子拮抗剂过敏史, 无烟酒嗜好或滥用毒品史, 筛选前2周内未服用过可能影响本试验结果的药物, 入选前3个月内未参加过其他药物临床试验且无献血史。健康志愿者在明了本试验的目的与要求后签署知情同意书。苯磺酸氨氯地平片人体药物动力学和相对生物利用度研究试验方案报上海长海医院伦理委员会批准后实施。

1.2 仪器、药品与试剂 VARIAN 1200L液相色谱-质谱联用仪, 包括 VARIAN ProStar 210 高压泵, VARIAN ProStar

410 自动进样器, VARIAN 1200L Quadrupole MS/MS 仪, VARIAN MS 6.3 工作站。XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂), TGL-16G 台式高速离心机和 80-2B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。苯磺酸氨氯地平化学对照品(上海天赐福生物工程有限公司), 纯度 99.3%。甲醇、乙酸乙酯、甲酸均为美国 Merck 公司色谱纯试剂, 氢氧化钠为分析纯试剂, 购自中国医药(集团)上海化学试剂公司, 水为自制去离子水。受试制剂: 苯磺酸氨氯地平片(上海天赐福生物工程有限公司), 批号 040801, 5 mg/片; 参比制剂: 苯磺酸氨氯地平片(商品名: 络活喜, 辉瑞制药有限公司), 批号 55805024, 5 mg/片。

1.3 试验设计和血样采集 受试者随机分为2组, 每组10人, 交叉口服10 mg苯磺酸氨氯地平片受试制剂和参比制剂, 试验清洗期为2周。健康志愿者禁食过夜后, 于早上7:00单剂量空腹口服10 mg苯磺酸氨氯地平片, 200 ml 温开水送服, 服药2 h后可以饮水, 4 h后进食统一低脂餐。于给药前及给药后的1、2、3、4、5、6、8、10、14、24、36、48、72、96 h于肘静脉取血3 ml, 肝素抗凝, $2016 \times g$ 离心10 min后, 分取血浆, 于 -20°C 冰箱保存至测定, 采血及保存过程中应注意避光。按血浆样品预处理方法操作, 测定血浆中氨氯地平浓度。

受试者于服药后在I期病房观察15 h, 由心内科医师密切监测受试者的血压, 观察受试者有无头痛、踝部水肿、面红、心悸、乏力、眩晕、腹痛、恶心、嗜睡等不良反应发生。

1.4 血药浓度测定

1.4.1 色谱条件与质谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB

[收稿日期] 2008-03-12 **[接受日期]** 2008-06-08

[作者简介] 李 珍, 博士, 副主任药师。E-mail: lizhen-01@163.com

C₁₈柱,100 mm×3.0 mm,3.5 μm 粒径 (Agilent Technologies);流动相为甲醇-0.5%甲酸(60:40),流速为0.3 ml/min;柱温30℃。

采用ESI离子源,正离子检测,选择SRM工作方式进行一/二级质谱分析。质谱检测工作参数如下:苯磺酸氨氯地平 Q1(Mass)409、Q3(Mass)238;Scan time 1.0 s,SIM width 0.7,Q1 peak width 1.5;Needle 5 000 V、10 μA;Shield 600 V、379 kPa;Dry gas 200℃、131 kPa;Capillary 20 V,Q0 -0.9 V,L4 -1.0 V,Q1 -0.6 V;Q2 Collision energy -8.0 V,Collision gas 0.24 Pa;Positive detection 1 300 V。

1.4.2 血浆样品的预处理 取血浆0.5 ml置于10 ml玻璃离心管中,加1.0 mol/L NaOH 50 μl,涡旋振荡30 s混匀,加乙酸乙酯3.0 ml,涡旋振荡3 min,2 016×g离心10 min;分取乙酸乙酯层2.5 ml,在45℃水浴下通氮气挥干,残留物加流动相100 μl溶解,自动进样10 μl,处理全过程均注意避光操作。

1.4.3 标准曲线及最低定量浓度 从氨氯地平标准溶液中精密吸取相当于5.01、10.02、20.04、50.10、100.20、200.40 ng氨氯地平溶液置于6个10 ml量瓶中,加入空白血浆配制成含氨氯地平0.501、1.002、2.004、5.01、10.02和20.04 ng/ml的标准血浆样品。按上述血浆样品预处理步骤操作,并进行LC/MS/MS分析。以氨氯地平化学对照品的峰面积(A)对相应的浓度(C,ng/ml)进行加权(1/C)线性回归,得血浆标准曲线方程为:A=0.660 3C-0.038 77,r=0.999 6(n=5),线性范围0.501~20.04 ng/ml,最低定量浓度为0.501 ng/ml。

1.4.4 回收率及精密度 配制1.002、5.01、20.04 ng/ml低、中、高3种不同浓度的氨氯地平标准血浆样品,按上述血浆样品预处理步骤操作,血浆样品中氨氯地平色谱峰面积代入血浆标准曲线,通过测得量与加入量的比值求得相对回收率,分别为(102.77±6.45)%、(97.49±4.54)%和(99.52±1.11)%;测定日内RSD分别为6.27%、4.66%和1.11%(n=5);日间RSD分别为7.28%、5.73%和1.43%。

1.5 药物动力学参数和相对生物利用度计算 C_{max}和 t_{max}采用实测值计算;药-时曲线下面积(AUC₀₋₉₆)采用梯形面积法计算,AUC_{0-∞}=AUC₀₋₉₆+C_{tn}/λ_z;上式中tn为最后一次可测浓度的取样时间,C_{tn}为最后一点的血药浓度,λ_z为末端相消除速率常数,用末端相4点的lnC对t回归求得。t_{1/2}=0.693/λ_z;MRT=AUMC_{0-∞}/AUC_{0-∞};Cl/F=Dose/AUC_{0-∞}。

以络活喜为参比制剂(R),受试制剂苯磺酸氨氯地平片(T)的相对生物利用度计算公式为:F=[(AUC₀₋₉₆)_T/(AUC₀₋₉₆)_R]×100%。

1.6 生物等效性评价方法 C_{max}和AUC₀₋₉₆经对数转换后,在三因素方差分析的基础上,用双单侧t检验和计算90%置信区间方法进行生物等效性评价(α=0.05),要求C_{max}的90%置信区间落在70%~143%范围内,AUC₀₋₉₆的90%置信区间落在80%~125%范围内。

2 结果

20例健康受试者单剂量口服10 mg苯磺酸氨氯地平片受试制剂和参比制剂后血浆中氨氯地平浓度-时间曲线见图1。主要药物动力学参数见表1。方差分析结果显示主要药物动力学参数在受试制剂和参比制剂间无显著性差异(P>0.05)。

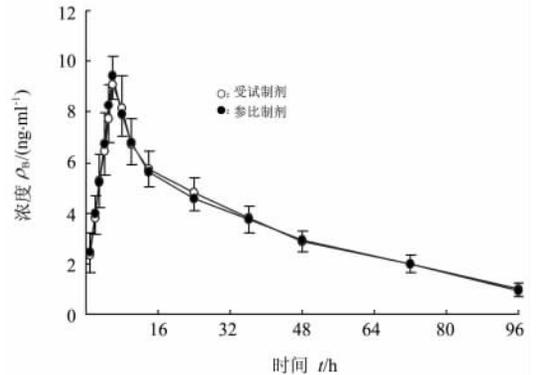


图1 受试制剂与参比制剂的平均血药浓度-时间曲线
n=20, $\bar{x} \pm s$

表1 受试者单剂量口服10 mg苯磺酸氨氯地平片受试制剂和参比制剂后的主要药物动力学参数

参数	受试制剂	参比制剂
C _{max} ρ _B /(ng·ml ⁻¹)	9.72±0.90	9.57±0.96
t _{max} t/h	6.0 ±0.8	6.4 ±1.0
t _{1/2} t/h	31.35±6.49	31.77±5.07
MRT t/h	46.63±6.54	47.15±5.72
Cl/F L/h	38.30±4.11	37.97±4.95
AUC ₀₋₉₆ /(h·ng·ml ⁻¹)	323.54±31.01	325.76±34.49
AUC _{0-∞} /(h·ng·ml ⁻¹)	366.98±39.99	371.65±45.83
F/%	99.86±13.48	100

双单侧t检验统计量t₁、t₂均小于单侧分位数表t_{1-0.05}(18)=1.74,以络活喜为参比,受试苯磺酸氨氯地平片C_{max}的90%置信区间为97.09%~106.50%,AUC₀₋₉₆的90%置信区间95.42%~103.61%,均落在规定范围内,表明受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

3 讨论

氨氯地平血药浓度测定方法主要有HPLC-UV法^[3],HPLC-ECD法^[4]、HPLC-荧光检测法^[5]、LC/MS法^[6]和LC/MS/MS法^[7]。由于氨氯地平给药剂量小,血药浓度水平低,UV法检测灵敏度难以达到要求,HPLC-电化学检测法干扰因素多,操作难度大;荧光检测法需要衍生化,过程复杂。本研究建立的LC/MS/MS法专属性和灵敏度高,最低定量浓度为0.501 ng/ml,预处理简单,完成一个样品的分析时间仅需4.0 min,适合于氨氯地平临床药物动力学和生物等效性研究^[8]。

本研究采用非房室模型法分析了苯磺酸氨氯地平片在健康受试者体内的药物动力学特点, 研究表明该药口服吸收较慢, 血药浓度 6~8 h 达峰, 半衰期平均在 30 h 左右, 说明该药起效慢, 作用缓和长效, 临床每日给药 1 次, 可提高服药的顺应性。主要药物动力学参数与文献报道基本一致^[6-7]。

苯磺酸氨氯地平两种制剂在健康受试者体内过程基本一致, 方差分析、双单侧 *t* 检验和 90% 置信区间分析结果表明两种制剂具有生物等效性, 苯磺酸氨氯地平片受试制剂的相对生物利用度为 (99.86±13.48)%。

[参 考 文 献]

- [1] van Zwieten P A. Amlodipine: an overview of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties[J]. Clin Cardiol, 1994, 17 (9 Suppl 3): III 3-III 6.
- [2] 杜 光, 刘 宇, 刘 东. LC-MS 法测定血浆中氨氯地平浓度[J]. 中国药师, 2007, 10: 328-329.
- [3] 袁 成, 焦素云, 王景祥. 氨氯地平在健康人和高血压患者中的药物动力学[J]. 中国医院药学杂志, 1996, 16: 435-437.
- [4] Shimooka K, Sawada Y, Tatematsu H. Analysis of amlodipine in serum by a sensitive high-performance liquid chromatographic method with amperometric detection[J]. J Pharm Biomed Anal, 1989, 7: 1267-1272.
- [5] Bahrami G H, Mirzaeei S H. Simple and rapid HPLC method for determination of amlodipine in human serum with fluorescence detection and its use in pharmacokinetic studies[J]. J Pharm Biomed Anal, 2004, 36: 163-168.
- [6] 杜 光, 刘 东, 刘 宇, 张冬林, 刘喆隆, 刘 异, 等. 国产苯磺酸氨氯地平片的生物等效性[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27: 185-187.
- [7] 马 涛, 张志涛, 王清清, 董海军, 蒋志文. 苯磺酸氨氯地平片人体生物等效性研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2008, 33: 344-346.
- [8] 康 新, 李 珍, 计一平, 唐世新, 杨武云. 苯磺酸氨氯地平片在健康人体内的药动学研究[J]. 药学服务与研究, 2008, 8: 42-45.

[本文编辑] 尹 茶