

盐酸阿夫唑嗪缓释片的人体生物等效性研究

李欣^① 杜丽娜^②

[摘要] 目的 考察自制盐酸阿夫唑嗪缓释片及其市售制剂在健康人体的相对生物利用度及生物等效性。方法 采用双周期自身随机交叉试验设计。20 名健康男性志愿者口服受试制剂或参比制剂 血药浓度采用液相色谱-串联质谱测定。结果 受试制剂及参比制剂的主要药动学参数为: C_{max} 分别为 (16.8 ± 5.9) 和 (17.5 ± 5.7) ng/ml; T_{max} 分别为 (4.1 ± 1.5) 和 (4.5 ± 1.2) h; $t_{1/2}$ 分别为 (8.5 ± 1.7) 和 (8.6 ± 1.8) h; $AUC_{(0-48h)}$ 分别为 (208 ± 61) 和 (210 ± 56) ng·h/ml; $AUC_{(0-\infty)}$ 分别为 (221 ± 64) 和 (224 ± 61) mg·h/ml; 以 $AUC_{(0-48h)}$ 计算 受试制剂的相对生物利用度为 $(101.5 \pm 24.1)\%$ 。结论 受试制剂和参比制剂具有生物等效性。

[关键词] 盐酸阿夫唑嗪缓释片; 液相色谱-串联质谱法; 生物等效性

[中图分类号] R969.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1008-9926(2011)02-0132-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.02.011

Bioequivalence of Alfuzosin Hydrochloride Sustained-release Tablets in Healthy Volunteers

LI Xin^①, DU Li-na^②

^① Department of Pharmacy, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China;

^② Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the relative bioavailability and bioequivalence between two kinds of alfuzosin hydrochloride sustained-release tablets. **Methods** The self-made sustained-release tablets or reference formulation were given orally to 20 healthy volunteers in a two-crossover test. Drug concentrations in plasma were determined by LC-MS-MS. **Results** The main pharmacokinetic parameters of the self-made sustained-release tablets and reference formulation were as follows: C_{max} was (16.8 ± 5.9) and (17.5 ± 5.7) ng/ml; T_{max} was (4.1 ± 1.5) and (4.5 ± 1.2) h; $t_{1/2}$ was (8.5 ± 1.7) and (8.6 ± 1.8) h; $AUC_{(0-48h)}$ was (208 ± 61) and (210 ± 56) ng·h/ml; $AUC_{(0-\infty)}$ was (221 ± 64) and (224 ± 61) mg·h/ml. The relative bioavailability was $(101.5 \pm 24.1)\%$. **Conclusion** The test preparation is bioequivalent to the reference preparation.

[Key words] alfuzosin hydrochloride sustained-release tablets; LC-MS-MS; bioequivalence

盐酸阿夫唑嗪是一种具有口服活性的唑嗪衍生物,为选择性突触后 α_1 肾上腺素受体拮抗剂^[1],能使尿道和前列腺平滑肌松弛,改善尿流量,用于治疗良性前列腺增生所致的症状^[2],对各种原因暂缓手术治疗的 患者及前列腺肥大症状严重的患者均可应用。本研究考察了自制盐酸阿夫唑嗪缓释片与其市售制剂在 20 例健康成年男性体内的药代动力学特性,并评价两种制剂的人体生物等效性,为临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试药 受试制剂:盐酸阿夫唑嗪缓释片(规格:5 mg/片,自制,批号:080324);参比制剂:盐酸阿夫唑嗪

缓释片(规格:5 mg/片, Synthelabo Groupe 公司 杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药有限公司分装,批号:33555);盐酸阿夫唑嗪对照品(含量 99.7%,中国药品生物制品检定所);内标:罗沙替丁对照品(含量 >99%,北京四环制药有限公司,批号:071016);甲醇为色谱纯;甲酸及碳酸钠、二氯甲烷及乙醚均为分析纯;空白人血浆(解放军 307 医院血站)。

1.2 仪器 TSQ Quantum Ultra 型三重四极杆串联质谱仪、APCI 源、Xcalibur 1.4 数据采集系统及 Lcquan 定量处理软件(美国 Thermo Finnigan 公司);LC-10ADvp 泵及 SIL-HTA 型自动进样器(日本岛津制作所);分析柱为 Gemini C₁₈ 柱(5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm I. D.);预柱为 C₁₈ 保护柱(4 mm \times 3.0 mm I. D., 美国 Phenomenex 公司)。

1.3 受试者 临床试验经医学伦理委员会批准,选择健康男性志愿受试者 20 名,年龄为 20 岁~27 岁,平均

作者简介:李欣 博士 助理研究员。研究方向:药物新剂型的研究开发。Tel: (010) 66936414; E-mail: fmmu_lixin@hotmail.com

作者单位: ① 100853 北京 解放军总医院药品保障中心; ② 100850 北京 军事医学科学院放射与辐射医学研究所

年龄(24±3)岁 身高 165~184 cm, 体质量指数均在正常值 19~24 范围内, 于试验前、后在医院接受全面的体格检查, 对肝、肾功能进行化验测定, 并进行心电图检查, 结果均属正常。受试者无既往病史和药物过敏史, 精神状态良好, 不吸烟, 不嗜酒, 试验前 14 d 内未用任何药物, 均自愿签署知情同意书。

1.4 给药方案与血样采集 本试验采用双周期交叉实验。20 名受试者随机分为甲、乙两组, 每组 10 人。第一周期甲组口服受试制剂 2 片(含盐酸阿夫唑嗪 10 mg), 乙组口服参比制剂 2 片(含盐酸阿夫唑嗪 10 mg); 第二周期甲组口服参比制剂 2 片, 乙组口服受试制剂 2 片。用药洗净期为 1 周。受试者于实验前 1 天 20:00 开始禁食, 实验当日晨 7:00 空腹按规定的剂量服药, 用温开水 200 ml 送服, 服药后 2 h 方可自由饮水, 服药后 4 h 和 10 h 进食统一的标准餐。试验期间医生进行严格的临床监护, 以保证受试者的安全。

1.5 血样采集 于口服给药前及给药后 0.50、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10、14、24、36 h 由受试者前臂静脉取血 4 ml, 并立即移入经肝素处理的离心试管中, 3500 r/min 离心 10min, 分离血浆, 于 -20℃ 保存备用。

1.6 血药浓度测定方法

1.6.1 血浆样品的处理 取血浆 250 μl, 分别加入 50 μl 甲醇-水(50:50), 50 μl 内标溶液(100 ng/ml 罗沙替丁), 250 μl Na₂CO₃ 水溶液(0.1 mol/L), 混匀; 加入 3 ml 提取溶剂乙醚-二氯甲烷(2:1), 涡旋混合 1 min, 往复振荡 10 min, 3500 r/min 离心 5 min, 分取上层有机相于另一试管中, 于 40℃ 氮气流下吹干, 残留物加入 150 μl 流动相溶解, 涡旋混合, 取 20 μl 进行 LC/MS/MS 分析。

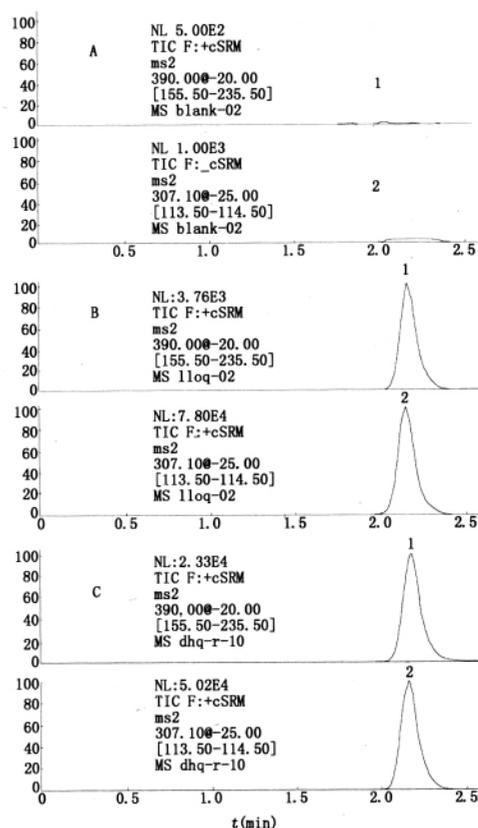
1.6.2 色谱与质谱条件 (1) 色谱条件: 流动相: 甲醇-水-甲酸(90:10:0.2), 流速: 0.50 ml/min, 柱温: 室温。(2) 质谱条件: 离子源: APCI 源; 检测方式: 正离子检测; 扫描方式: 选择反应监测(SRM)方式, 定量分析时的碎片离子分别为 m/z 390→ m/z (235+156) (阿夫唑嗪) 和 m/z 307→ m/z 114 (内标罗沙替丁), 扫描时间为 0.3 s; 电晕放电电流为 3.8 kV; 加热毛细管温度: 320℃; 气化室温度为 420℃; 碰撞诱导解离(CID)电压分别为 20 eV (阿夫唑嗪) 和 25 eV (罗沙替丁); 鞘气(N₂)流量: 35 Arb; 辅助气(N₂)流量: 8 Arb; 碰撞气(Ar)压力: 1.2 mTorr。

1.7 数据处理 用非房室数学模型分析方法计算药代动力学参数, 采用梯形法计算 AUC₀₋₁ 值和

AUC_{0-∞} 值, 以半对数作图法, 由消除相的浓度点计算 ke 和 $t_{1/2}$, T_{max} 和 C_{max} 采用实测值。

2 结果

2.1 方法专属性 分别取 6 名受试者的空白血浆 250 μl, 除不加内标外, 按 1.6.1 项下依法操作, 进样 20 μl, 得色谱图如图 1A; 将一定浓度的标准溶液和内标溶液加入空白血浆中, 依法操作, 得色谱图如图 1B, 其中阿夫唑嗪和内标罗沙替丁的保留时间均为 2.2 min; 取健康受试者给药后收集的血浆样品, 依法操作, 得色谱图如图 1C。结果表明, 空白血浆中内源性物质不干扰阿夫唑嗪及内标罗沙替丁的测定。



A: 空白血浆; B: 空白血浆 + 阿夫唑嗪 + 内标; C: 血浆样品;
1: 阿夫唑嗪; 2: 内标

图 1 测定血浆中阿夫唑嗪及内标罗沙替丁的典型 SRM 色谱图

2.2 标准曲线的制备 取空白血浆 250 μl, 加阿夫唑嗪标准系列溶液 50 μl, 配制成相当于阿夫唑嗪血浆浓度为 0.10、0.30、0.80、2.0、5.0、10、20、50 ng/ml 的样品, 按 1.6.1 项下依法操作, 进样 20 μl, 记录色谱图; 以待测物浓度为横坐标, 待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法^[3]进行回归运算, 求得直线回归方程:

$$Y = 0.0837X + 0.036, r = 0.9969$$

线性范围为 0.10~50 ng/ml 定量下限为 0.10 ng/ml。

2.3 提取回收率 取空白血浆 250 μ l 按 2.2 项下的方法制备阿夫唑嗪低、中、高 3 个浓度(0.30、2.0、45 ng/ml) 的样品($n = 6$)。同时另取空白血浆 250 μ l 除不加标准系列溶液和内标外 按 1.6.1 项下操作 向获得的上清液中加入相应浓度的标准溶液和内标溶液各 50 μ l 涡流混合后吹干 残留物以流动相溶解进样分析 获得相应峰面积。以每一浓度两种处理方法的峰面积比值计算提取回收率。阿夫唑嗪在 0.30、2.0、45 ng/ml 3 个浓度的血浆样品提取回收率分别为(81.5 ± 2.7) % 、(77.3 ± 2.4) % 和(79.7 ± 1.4) % RSD 值分别为 3.31%、3.10%、1.76%。

2.4 精密度试验 取空白血浆 250 μ l 按 2.2 项下的方法配制阿夫唑嗪低、中、高(0.30、2.0、45 ng/ml) 3 个浓度的质量控制(QC) 样品 连续测定 3 d, 并与标准曲线同时进行 计算 QC 样品的测得浓度, 并与配制浓度对照 结果显示 3 个浓度批内 RSD 分别为 7.3%、6.9%、4.2%; 批间 RSD 分别为 5.0%、3.9%、0.8%。

2.5 稳定性考察 本试验考察了经液液萃取处理后的阿夫唑嗪血浆样品室温放置 24 h 的稳定性, 未经处理的阿夫唑嗪血浆样品室温放置 2 h 稳定性, 经历 3 次冷冻-解冻循环的稳定性以及血浆样品 -20 $^{\circ}$ C 冷冻放置 30 d 的稳定性。稳定性考察时 取空白血浆 250 μ l 配制阿夫唑嗪样品 每一浓度 进行 3 样本分析 采用 LC/MS/MS 法测定。结果表明 处理后的血浆样品室温放置 24 h 内稳定(RE 在 $\pm 3.9\%$ 之内) 血浆样品室温放置 2 h 内稳定(RE 在 $\pm 5.2\%$ 之内) 血浆样品 -20 $^{\circ}$ C 放置 30 d 内稳定(RE 在 $\pm 10\%$ 之内) 血浆样品经过 3 次冻融后稳定(RE 在 $\pm 9.6\%$ 之内)。

2.6 血药浓度与药动学参数 20 名受试者口服自制盐酸阿夫唑嗪缓释片和市售盐酸阿夫唑嗪缓释片后 血浆中盐酸阿夫唑嗪平均浓度-时间曲线见图 2。受试者口服受试制剂和参比制剂后血浆中盐酸阿夫唑嗪的主要药代动力学参数见表 1。

2.7 生物等效性分析 以 AUC_{0-48h} 计算 自制盐酸阿夫唑嗪缓释片的相对生物利用度为(101.5 ± 24.1) %。对主要药动学参数对数转换后进行方差分析 并进一步采用双单侧 t 检验和($1 - 2\alpha$) 置信区间法进行生物等效性评价 其中 T_{max} 采用非参数检验法。结果表明 阿夫唑嗪的 AUC_{0-48h} 和 C_{max} 均拒绝生物不等效假设, T_{max} 无显著性差异。受试制剂 AUC_{0-48h} 的 90% 置信区间为参比制剂相应参数的 88.4% ~

109.5% , C_{max} 的 90% 置信区间为参比制剂相应参数的 84.7% ~ 109.7% 表明两制剂具有生物等效性。

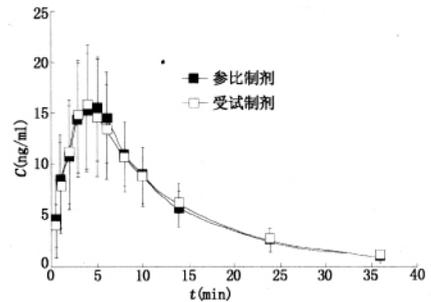


图 2 受试者血浆中盐酸阿夫唑嗪平均血药浓度-时间曲线

表 1 20 名受试者口服受试制剂或参比制剂后盐酸阿夫唑嗪的药动学参数($\bar{x} \pm s$)

参数	受试制剂	参比制剂
$t_{1/2}$ (h)	8.5 ± 1.7	8.6 ± 1.8
Ke(1/h)	0.086 ± 0.021	0.085 ± 0.023
C_{max} (ng/ml)	16.8 ± 5.9	17.5 ± 5.7
T_{max} (h)	4.1 ± 1.5	4.5 ± 1.2
AUC_{0-48h} (ng·h/ml)	208 ± 61	210 ± 56
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/ml)	221 ± 64	224 ± 61

3 讨论

本文采用罗沙替丁为内标 建立了 LC-MS/MS 法测定体内阿夫唑嗪血药浓度。结果显示 健康受试者空腹口服自制盐酸阿夫唑嗪缓释片后 其药代动力学参数与市售盐酸阿夫唑嗪缓释片相似 且血药浓度-时间曲线接近 表明受试制剂与参比制剂具有相似的缓释特征。经方差分析 各药代动力学参数在两组间均无显著性差异; 对两制剂的 C_{max} 、 AUC 等参数以双单侧 t 检验法和($1 - 2\alpha$) 置信区间法进行了统计 结果表明两制剂具有生物等效性 为自制盐酸阿夫唑嗪缓释片的研究及应用提供了依据。

[参考文献]

- [1] Mc Keage K, Plosker GL. Alfuzosin: A review of the therapeutic use of the prolonged-release formulation given once daily in the management of benign prostatic hyperplasia [J]. Drug, 2002, 62 (4): 633-653
- [2] Guay DR. Extended-release alfuzosin hydrochloride: a new alpha adrenergic receptor antagonist for symptomatic benign prostatic hyperplasia [J]. Am J Geriatr Pharmacother, 2004, 2(1): 14-23
- [3] 钟大放. 以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若干问题 [J]. 药物分析杂志, 1996, 16(5): 343-346

(收稿日期: 2010-12-22; 修回日期: 2011-01-11)

(本文编辑 魏 萍)