

尼索地平缓释胶囊的人体药动学及生物等效性研究

张华峰*, 宋青, 戴博, 王健康(解放军空军总医院药学部, 北京 100142)

中图分类号 R969.1; R972*.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)38-3607-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.38.20

摘要 目的:建立测定人血浆中尼索地平浓度的方法,研究国产尼索地平的药动学特征及生物等效性。方法:18名男性健康受试者分别单剂量和多剂量口服尼索地平30 mg的受试制剂(缓释胶囊)和参比制剂(片剂),血样处理后采用高效液相色谱法进行测定。计算药动学参数并评价其生物等效性。结果:尼索地平缓释胶囊单剂量和多剂量口服后体内过程均符合二房室模型,主要药动学参数分别为: c_{max} (12.07 ± 3.96)、(10.68 ± 3.61) ng/ml, $t_{1/2\beta}$ (12.72 ± 3.13)、(15.61 ± 2.88) h, AUC_{0-24h} (52.54 ± 16.71)、(70.81 ± 15.81) ng·h/ml, 平均相对生物利用度分别为(101.88 ± 18.63)%、(93.37 ± 19.17)%。结论:尼索地平缓释胶囊与普通片剂经单剂量、多剂量给药后,其 $AUC_{0-\infty}$ 、 AUC_{0-24h} 为生物等效,而 c_{max} 、 t_{max} 不具生物等效性。

关键词 尼索地平;药动学;生物等效性;高效液相色谱法

Pharmacokinetics and Bioequivalence of Nisoldipine Sustained-release Capsules in Healthy Volunteers

ZHANG Hua-feng, SONG Qing, DAI Bo, WANG Jian-kang (Dept. of Pharmacy, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of nisoldipine in human plasma, and to study the pharmacokinetics and bioequivalence of domestic nisoldipine in healthy volunteers. METHODS: Single dose and multi-doses of test and reference preparation of 30 mg of nisoldipine were given to 18 male healthy volunteers orally. The content of nisoldipine in blood samples was determined by HPLC after treated. Pharmacokinetic parameters were calculated and bioequivalability was evaluated. RESULTS: The pharmacokinetics of Nisoldipine sustained-release capsule was fitted with two-compartment open model after single dose or multiple dose administration. Main pharmacokinetic parameters were as follows: c_{max} were (12.07 ± 3.96) ng/ml and (10.68 ± 3.61) ng/ml; $t_{1/2\beta}$ were (12.72 ± 3.13)h and (15.61 ± 2.88)h; AUC_{0-24h} were (52.54 ± 16.71) ng·h/ml and (70.81 ± 15.81) ng·h/ml; relative bioavailability were (101.88 ± 18.63)% and (93.37 ± 19.17)%, respectively. CONCLUSIONS: The $AUC_{0-\infty}$ and AUC_{0-r} of the two kinds of dosage forms are proved to be bioequivalent, but the c_{max} and t_{max} are not bioequivalent.

KEY WORDS Nisoldipine; Pharmacokinetics; Bioequivalence; HPLC

尼索地平为二氢吡啶类药物,被认为是目前作用最强的钙通道拮抗药,对心率及心肌收缩力影响较小,而对冠状动脉血管具有一定选择性扩张效应,其作用较硝苯地平强4~10倍^[1];可降低体循环阻力和平均动脉压,减少心肌耗氧量,并通过增加冠状动脉侧支循环的灌注,使缺血心肌和正常心肌的冠状动脉血流量均增加。临床推荐用于高血压、心绞痛及轻度心力衰竭患者的治疗^[2]。本试验对尼索地平人体药动学及生物等效性进行研究,比较尼索地平缓释胶囊与尼索地平普通片

剂的药动学参数、谷浓度差异及峰-谷浓度的波动差异,以求证尼索地平缓释胶囊的缓释作用。

1 材料

1.1 仪器

Shimadzu-LC10A (VP) 高效液相色谱 (HPLC) 仪,包括 Shimadzu-SPD-10A (VP) 紫外检测器、LC-10AT (VP) 输液泵、CTO-10A 柱温箱、DGU-12A 脱气机、Class-VP5.03 色谱工作站 (日本岛津公司); XW-80A 涡旋混合器 (上海医科大学仪器

参考文献

- [1] 张志清.国内抗菌药物应用现状及实施抗菌药物合理应用干预的可行性与难点[J].中国药房,2004,15(12):708.
- [2] 秦娜,许建波,张云芳,等.我院临床药师参与查房前、后抗菌药物应用分析[J].中国药房,2010,21(10):891.
- [3] 曹玉,李娅娟,丁海燕,等.临床药师参与腹股沟疝修补术围术期抗菌药物合理应用干预研究[J].中国药房,2011,22(22):2095.
- [4] 郑文新,汪文新.EpiData 软件在流行病学调查中立数据库

- 的应用[J].数理医药学杂志,2005,18(5):486.
- [5] 郑造乾,黄萍,杨秀丽.EpiData Entry-EpiData Analysis 软件联用在医院处方分析评价中的应用[J].中国药业,2011,20(12):46.
- [6] 丁晓霖,应茵,石佳娜,等.EpiData 联用软件在药物咨询信息处理中的应用[J].海峡药学,2011,23(8):212.
- [7] 应茵,郑造乾,石佳娜.EpiData Entry-EpiData Analysis 软件联用在药学信息处理中的应用[J].药学实践杂志,2011,29(4):304.
- [8] 应茵,黄萍,薛飞,等.临床合理用药专家质询制度的实践与药师的体会[J].中国现代应用药学,2011,28(3):271.

(收稿日期:2012-12-20 修回日期:2013-07-24)

* 副主任药师。研究方向: I 期临床研究。电话:010-66928501。
E-mail: m0530@sina.com

厂);LXJ-II 离心沉淀机(上海医用分析仪器厂);GM-0.33 隔膜真空泵(中国上海津腾)。

1.2 药品与试剂

尼索地平对照品(中国食品药品检定研究院,纯度:98.6%,批号:100574-200401);莫雷西嗪对照品(内标,山东新华制药股份有限公司,批号:200501);受试制剂:尼索地平缓释胶囊(山东新华制药股份有限公司,规格:10 mg/粒,批号:010505);参比制剂:尼索地平片(山东新华制药股份有限公司,规格5 mg/片,批号:0107028);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯;空白血浆由空军总医院输血科提供;纯化水为空军总医院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Zorbax SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-四氢呋喃-水-三乙胺-冰醋酸(65:5:29.8:0.1:0.1);流速:1 ml/min;检测波长:237 nm;进样量:50 μl;柱温:30 ℃。

2.2 对照品溶液的制备

分别准确称取莫雷西嗪和尼索地平对照品于量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,得136 μg/ml的莫雷西嗪内标溶液和按浓度梯度配制的尼索地平系列标准溶液。尼索地平见光容易分解,置棕色容量瓶中在4 ℃冰箱中密封保存。以下的所有操作均在暗室内进行,样品避光保存。

2.3 样品的预处理

取待测健康人血浆1.2 ml置15 ml具塞试管中,加入浓度为136 μg/ml的内标莫雷西嗪10 μl混匀,加氢氧化钠(1 mol/ml)溶液0.5 ml,轻轻摇匀后,加入乙醚5 ml,涡旋振荡1 min,3 000 r/min离心10 min,立即放入-20 ℃冰箱中冰冻2 h,取乙醚上清液4 ml,置棕色尖底试管中,40 ℃水浴中氮气流吹干,残余物用流动相80 μl溶解,取上清液50 μl进样。

2.4 方法的专属性

取6名受试者空白血浆按照“2.3”项操作,进行HPLC分析,获得空白血浆样品色谱图;取混合空白血浆1.2 ml,加入尼索地平标准溶液,同法操作,获得相应的色谱图,并与空白生物样品的色谱图比较。结果表明生物样品中内源性物质不干扰尼索地平的测定,莫雷西嗪和尼索地平的保留时间分别为4.1 min和8.9 min。色谱图见图1。

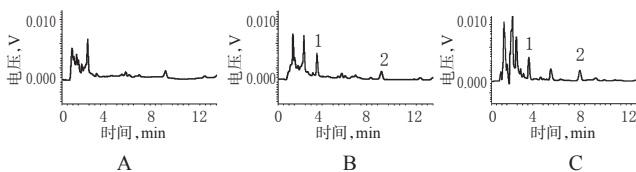


图1 尼索地平的色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+尼索地平对照品溶液+内标溶液;C.受试者口服尼索地平后血浆样品+内标溶液;1.莫雷西嗪;2.尼索地平

Fig 1 Chromatograms of nisoldipine

A. blank plasma; B. blank plasma + nisoldipine control + internal standard; C. plasma sample of volunteers after oral administration of nisoldipine+internal standard; 1. moracizine; 2. nisoldipine

2.5 线性关系与定量限考察

制备质量浓度为0.70、1.01、2.01、4.02、8.04、16.08、32.16、64.32 ng/ml的标准血浆样品,按“2.3”项操作,进行HPLC分析

并记录峰面积,以尼索地平和内标峰的峰面积比值(f)为纵坐标,以尼索地平标准浓度(c)为横坐标,用加权最小二乘法($w=1/c^2$)进行回归计算,其回归方程为: $f=0.0504c-0.0137$ ($r=0.9997$)。结果表明,尼索地平血药浓度在0.70~64.32 ng/ml范围内线性关系良好($r=0.9995$)。本方法尼索地平的血浆样品的定量下限浓度为0.70 ng/ml。

2.6 提取回收率试验

分别制备质量浓度为1.01、8.04、32.16 ng/ml的尼索地平血浆样品各5份,作为质控样品,按“2.3”项操作,进行HPLC分析,记录峰面积;在同样条件下测定相应浓度的对照品溶液,记录峰面积,以相应的峰面积比值计算提取回收率,结果见表1。

表1 提取回收率及精密度的试验结果

Tab 1 Results of extraction recovery and precision tests

血浆质量浓度, μg/ml	尼索地平提取回收率, %	RSD, %	内标提取回收率, %	RSD, %	日内RSD, %	日间RSD, %
1.01	84.37±0.86	1.02	76.81±2.01	2.62	3.03	1.92
8.04	86.68±2.82	3.25	80.38±1.25	1.56	2.33	2.30
32.16	81.55±1.43	1.75	80.22±2.17	2.71	2.75	3.96

2.7 精密度试验

分别制备质量浓度为1.01、8.04、32.16 ng/ml的尼索地平血浆样品各5份,按“2.3”项操作,在日内和日间连续测定,记录峰面积,测定日内和日间精密度,结果见表1。

2.8 稳定性考察

2.8.1 样品处理后稳定性。分别制备质量浓度为1.01、8.04、32.16 ng/ml的尼索地平血浆样品各5份,按“2.3”项操作,将所得样品在室温下放置,在0、2 h时进样检测,考察血浆样品经处理后在室温放置条件下的稳定性。结果血浆质控3个质量浓度的RSD均<15%,满足试验要求。

2.8.2 长期稳定性。分别制备质量浓度为1.01、8.04、32.16 ng/ml的尼索地平血浆样品各5份,于-20 ℃冰箱保存冰冻28 d后,按“2.3”项操作,进样检测,考察血浆样品的长期稳定性。结果血浆质控3个质量浓度的RSD均<15%,满足试验要求。

2.9 药动学研究

2.9.1 受试者选择。18名受试者均为健康男性受试者,平均年龄(25.78±3.14)岁,平均体质量指数为(22.27±1.38)kg/m²,平均身高(172.3±4.0)cm,平均体质量(64.2±3.6)kg。非过敏体质,无已知的药物过敏史;以往无重要脏器病史者;无影响药物代谢的其他因素,无吸烟、饮酒或吸毒历史。试验前2周内未服任何药物。受试者试验前均签署知情同意书,且试验经本院医学伦理委员会批准。

2.9.2 给药方案及血样采集。(1)单次给药双周期交叉试验:18名受试者随机确定服药顺序,进行自身对照双交叉试验。所有受试者在试验期间全程入住I期病房。受试者禁食过夜,于清晨8:00空腹口服受试制剂或参比制剂。采用单次给药,给药剂量为临床一次常用剂量,受试制剂尼索地平缓释胶囊口服剂量为30 mg,参比制剂尼索地平普通片口服剂量为30 mg,并饮水200 ml。服药4 h后进食低油脂的标准餐。每次试验于服药前(0 h)和服药后0.25、0.5、0.75、1、2、3、4、5、6、8、10、12、24 h时由前臂静脉取血3 ml,在1 h内以离心半径8 cm,3 000 r/min离心10 min分离血清,-20 ℃以下冰箱保存。(2)多次给药双周期交叉试验:参比制剂尼索地平片组在每天

8:00、16:00和24:00时各服10 mg(2片),连服6 d;受试制剂缓释胶囊组在每天8:00服30 mg(3粒),连服6 d。两组在连续服药后的第4、5、6天的8:00(即下一次给药前)取血4 ml;第6天在服药后按单剂量给药后的时间点取血,每个时间点取血量同单剂量给药。间隔2周后,两组受试者交换药品,按上述安排同法进行试验。

2.9.3 数据处理。将受试者口服受试制剂国产尼索地平缓释胶囊及参比制剂尼索地平片后的血药浓度列表并计算均值及标准差,绘制药-时曲线,用3p97实用药动学程序计算参比制剂尼索地平片以及尼索地平缓释胶囊主要药动学参数,并求出其均值及标准差。 c_{max} 、 t_{max} 均为试验的实测值;以梯形法计算AUC;应用方差分析法和双单侧 t 检验对 AUC_{0-7} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 c_{max} 进行统计分析,评价国产尼索地平缓释胶囊与参比制剂尼索地平片剂的生物等效性。

2.9.4 药动学参数:用3p97实用药动学计算程序对尼索地平单、多剂量给药后每位健康受试者的药-时曲线进行拟合,用赤池信息判据(AIC)、拟合优度、最大误差等相关数值判定。尼索地平血药-时曲线符合一级动力学二房室模型,见图2;主要药动学参数见表1。

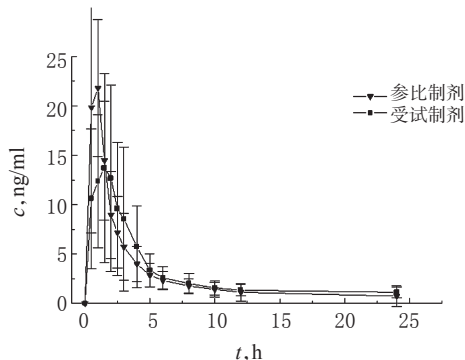


图2 18位健康受试者单剂量口服尼索地平受试制剂与参比制剂后平均药-时曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of nisoldipine in 18 healthy volunteers after oral administration of single dose of nisoldipine test and reference preparation

表2 18名健康受试者服用尼索地平受试制剂与参比制剂后的主要药动学参数

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of nisoldipine in 18 healthy volunteers after oral administration of nisoldipine test and reference preparation

参数	受试制剂		参比制剂	
	单剂量	多剂量	单剂量	多剂量
Lagtime, h	0.21 ± 0.18	0.30 ± 0.16	0.26 ± 0.17	0.14 ± 0.16
$t_{1/2\alpha}$, h	1.09 ± 0.53	1.24 ± 0.97	0.74 ± 0.41	0.71 ± 0.37
$t_{1/2\beta}$, h	12.72 ± 3.13	15.61 ± 2.88	5.07 ± 1.31	5.36 ± 1.49
c_{max} , ng/ml	12.07 ± 3.96	10.68 ± 3.61	19.51 ± 10.16	7.44 ± 2.19
t_{max} , h	0.88 ± 0.51	0.81 ± 0.48	0.68 ± 0.46	0.67 ± 0.46
AUC_{0-24h} , ng·h/ml	52.54 ± 16.71	70.81 ± 15.84	51.34 ± 17.64	26.11 ± 7.68
$AUC_{0-\infty}$, ng·h/ml	65.71 ± 19.51	84.33 ± 18.72	58.96 ± 18.90	31.99 ± 9.63
$AUC_{0-7}/AUC_{0-\infty}$, %	80.21 ± 3.14	82.19 ± 9.23	86.89 ± 7.54	84.00 ± 11.46

2.9.5 生物等效性。比较尼索地平缓释胶囊与普通片单剂量给药的药动学参数,其中吸收滞后时间、吸收相半衰期、血药浓度达峰时间、 AUC_{0-7} 、 $AUC_{0-\infty}$ 差异无统计学意义($P>0.05$);而消除相半衰期、峰浓度差异则具统计学意义($P<0.05$),普通片的峰浓度较缓释胶囊高,其半衰期较缓释胶囊小。多剂量给药后二者药动学参数比较结果与此相似。尼索地平缓释胶囊与普通片单次、多次给药后 $AUC_{0-7}/AUC_{0-\infty}$ 比值均 $>80\%$ 。尼索地平缓释胶囊单次给药后相对生物利用度为 $(101.99 \pm 18.63)\%$,多次给药后相对生物利用度为 $(93.37 \pm 19.17)\%$ 。

单剂量尼索地平缓释胶囊给药后,与参比制剂尼索地平普通片比较, AUC_{0-24h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的90%可信限在80%~125%的范围内,为生物等效;多剂量尼索地平缓释胶囊给药后,与参比药尼索地平普通片比较, $AUC_{0-\infty}$ 、 AUC_{0-7} 的90%可信限在80%~125%的范围内,为生物等效; t_{max} 和 c_{max} 的90%可信限不在80%~125%的范围内,为生物不等效。

3 讨论

尼索地平遇光不稳定^[3],在全部检测过程中应避免光操作,并尽量缩短每一环节的操作时间。在血样处理过程中,用乙醚提取、离心后放置在冰箱中冰冻保存,一则为了大批量处理临床血样时减少药物的损失,二则为减少血浆内源性物质的干扰。

按照文献报道^[4],对血浆样品液-液萃取方法的提取溶剂进行了优选,考察了乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、乙醚、乙醚-正己烷(1:1)等的提取效果。结果表明,乙醚回收率适中,内源性物质干扰少,容易吹干,处理时间短,可避免处理过程中尼索地平的分解。

尼索地平的血浆药物浓度与其降压效应的百分比可以通过 E_{max} 模型来描述,降压最大效应50%(EC_{50})时的血药浓度范围为0.99~2.62 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。本临床试验中的尼索地平缓释胶囊血药浓度达到稳态时,其浓度在此范围内,而普通片则存在着较大的个体差异。可见,缓释胶囊可以解决依从性的问题,做到每日1次给药。

参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].17版.人民卫生出版社,2011:366.
- [2] 穆殿平,张弋,蔡莉娟.尼索地平片在健康人体的药动学[J].中国临床药理学杂志,2003,12(3):160.
- [3] 黄超伦,刘辉,任聚杰,等.尼索地平光解稳定性研究[J].中国医药工业杂志,1996,27(1):26.
- [4] 吕鸣芳,江文德.进口尼索地平在中国人的人体药代动力学研究[J].中国临床药理学杂志,1996,12(2):93.
- [5] Schaefer HG, Heinig R, Ahr G, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling as a tool to evaluate the clinical relevance of a drug-food interaction for a nisoldipine controlled-release dosage form[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1997, 51(6):473.

(收稿日期:2013-05-09 修回日期:2013-07-04)