

布洛芬缓释混悬液空腹和餐后给药的人体生物等效性研究^Δ

朱蕾蕾^{1*}, 张逸凡², 戴晓健², 钟大放², 裘福荣¹, 赵彤芳¹, 叶宇婕¹, 元唯安¹, 解家顺³, 祝瑞章³, 蒋健^{1#} (1. 上海中医药大学附属曙光医院临床药理科, 上海 201203; 2. 上海药物代谢研究中心, 上海 201203; 3. 扬州市三药制药有限公司, 江苏扬州 225231)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)11-1485-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.11.15

摘要 目的: 研究健康受试者空腹和餐后两种状态下单剂量口服布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂的生物等效性。方法: 本研究包括两个随机、开放、双周期、单剂量给药试验, 各入组 24 名健康受试者, 分别空腹和餐后单剂量交叉口服 600 mg (20 ml) 布洛芬混悬液受试制剂与参比制剂, 采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法测定给药后血浆中布洛芬的浓度。结果: 空腹给药条件下受试制剂与参比制剂的主要药动学参数中 $t_{1/2}$ 分别为 (4.27 ± 1.42) 和 (3.87 ± 1.03) h; t_{max} 分别为 (3.42 ± 0.72) 和 (3.29 ± 0.93) h; c_{max} 分别为 (27.4 ± 4.33) 和 (28.2 ± 4.65) $\mu\text{g/ml}$; $\text{AUC}_{0-\tau}$ 分别为 (167 ± 30.1) 和 (172 ± 28.8) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; 受试制剂的相对生物利用度为 $(97.4 \pm 9.7)\%$ 。餐后给药条件下受试制剂与参比制剂的主要药动学参数中 $t_{1/2}$ 分别为 (2.53 ± 0.46) 和 (2.64 ± 0.53) h; t_{max} 分别为 (3.63 ± 0.99) 和 (3.44 ± 1.15) h; c_{max} 分别为 (25.0 ± 4.12) 和 (27.0 ± 4.60) $\mu\text{g/ml}$; $\text{AUC}_{0-\tau}$ 分别为 (172 ± 33.4) 和 (184 ± 30.2) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; 受试制剂的相对生物利用度为 $(93.1 \pm 5.7)\%$ 。两种给药条件下的受试制剂与参比制剂 $\text{AUC}_{0-\tau}$ 和 c_{max} 几何均值比的 90% 置信区间 (CI) 均落在 80%~125% 之间。结论: 布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂在空腹和餐后两种状态下均具有生物等效性。

关键词 布洛芬; 缓释混悬液; 液相色谱-串联质谱法; 生物等效性

Study on Bioequivalence of Ibuprofen Sustained-Release Suspension in Fasting and Fed

ZHU Lei-lei¹, ZHANG Yi-fan², DAI Xiao-jian², ZHONG Da-fang², QIU Fu-rong¹, ZHAO Tong-fang¹, YE Yu-jie¹, YUAN Wei-an¹, XIE Jia-shun³, ZHU Rui-zhang³, JIANG Jian¹ (1. Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai Center for Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research, Shanghai 201203, China; 3. Yangzhou No.3 Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Yangzhou 225231, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the bioequivalence of Ibuprofen Sustained-Release Suspension test preparation and reference preparation after single oral dose in fasting and fed. METHODS: This study included two randomized, open and , cross-over-double-cycle and single dose trails, 24 healthy subjects in each group, were single oral administered 600 mg (20 ml) Ibuprofen Sustained-Release Suspension in fasting or fed respectively, plasma concentration of ibuprofen was determined by LC-MS/MS. RESULTS: The $t_{1/2}$ of test and reference preparation in fasting administration was (4.27 ± 1.42) and (3.87 ± 1.03) h, t_{max} was (3.42 ± 0.72) and (3.29 ± 0.93) h, c_{max} was (27.4 ± 4.33) and (28.2 ± 4.65) $\mu\text{g/ml}$, $\text{AUC}_{0-\tau}$ was (167 ± 30.1) and (172 ± 28.8) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, respectively; the relative bioavailability of test preparation was $(97.4 \pm 9.7)\%$. the $t_{1/2}$ of test and reference preparation in fed administration was (2.53 ± 0.46) and (2.64 ± 0.53) h, t_{max} was (3.63 ± 0.99) and (3.44 ± 1.15) h, c_{max} was (25.0 ± 4.12) and (27.0 ± 4.60) $\mu\text{g/ml}$, $\text{AUC}_{0-\tau}$ was (172 ± 33.4) and (184 ± 30.2) $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, respectively; the relative bioavailability of test preparation was $(93.1 \pm 5.7)\%$. There were 90% CI of test preparation and reference preparation $\text{AUC}_{0-\tau}$ and c_{max} geometric mean ratio fallen between 80%-125% both in two administration condition. CONCLUSIONS: Ibuprofen Sustained-Release Suspension test preparation bioequivalent to reference preparation both in fasting and fed.

KEYWORDS Ibuprofen; Sustained-Release Suspension; LC-MS/MS; Bioequivalence

布洛芬是苯丙酸类的非甾体类, 可抑制前列腺素合成, 具有较强的解热、镇痛及抗炎作用, 临床上广泛应用于由感冒、急性上呼吸道感染、急性咽喉炎等疾病引起的发热, 减轻或消

^Δ 基金项目: “十二五”重大新药创制《创新药物研究开发技术平台建设》(No.2012ZX09303009-001); 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划(2014-2016年)中医药专门人才计划(No.ZY3-RCPY-3-1059)

* 主治医师, 博士。研究方向: 临床药理学。电话: 021-20256053。E-mail: zhuleilei1981@163.com

通信作者: 主任医师, 博士生导师。研究方向: 临床药理学。电话: 021-20256053。E-mail: jiangjiansg@126.com

除由扭伤、劳损、肩周炎、滑囊炎、肌腱及腱鞘炎等疾病引起的疼痛及痛经、牙痛、术后疼痛及腰部疼痛, 也可用于类风湿性关节炎、骨关节炎、其他非类风湿性关节炎及急性痛风的治疗。布洛芬半衰期较短, 常需频繁给药以维持有效治疗浓度, 缓释制剂则可减少给药次数, 提高患者的依从性。布洛芬缓释混悬液成人及 12 岁以上儿童推荐剂量为每次 0.3~0.6 g (10~20 ml), 每日 2 次。本研究采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法测定扬州市三药制药有限公司研制的布洛芬缓释混悬液空腹和餐后两种状态下的药-时过程, 计算相应的药动学参数, 并与原研产品四川中方制药有限公司生产的布洛芬缓释混悬液比较, 进行生物等效性评价, 为药品注册和

临床用药提供依据。

1 材料

1.1 仪器

液相色谱系统,包括DGU-20A3型脱气机、LC-20ADXR型二元液相泵、SIL-20ACXR型自动进样器和CTO-20AC型柱温箱(日本岛津公司);串联质谱(MS/MS)系统,包括API 4000型三重四极杆串联质谱仪,配备加热电喷雾电离源(ESI源)(美国Applied Biosystems公司);数据采集Analyst 1.5.2软件(美国Applied Biosystems公司)。

1.2 药品与试剂

受试制剂:布洛芬缓释混悬液(扬州市三药制药有限公司,规格:100 ml:3 g,批号:20130206);参比制剂:布洛芬缓释混悬液(四川中方制药有限公司,规格:100 ml:3 g,批号:121106);布洛芬(中国食品药品检定研究院;批号:100179-201105;纯度:98.8%);内标: d_3 -布洛芬(加拿大TLC公司,批号:1029-060A,纯度:99.7%);乙腈、甲醇、醋酸铵为色谱纯,水为法国Millipore超纯水仪制备的去离子水。

2 方法^[1]

2.1 色谱与质谱条件

色谱柱: C_{18} 柱(100 mm×4.6 mm, 3.5 μ m);预柱: C_{18} 保护柱(4.0 mm×3.0 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-5 mmol/L醋酸铵(50:50, V/V);流速:0.6 ml/min;进样量:1.0 μ l;柱温:35 $^{\circ}$ C。

离子源为电喷雾电离源(ESI),负离子方式检测;源喷射电压:-3 500 V;温度:400 $^{\circ}$ C;离子源气体1(N_2)压力:50 psi;离子源气体2(N_2)压力:50 psi;气帘气体(N_2)压力:30 psi;扫描方式:多反应监测(MRM);碰撞气压力:4 psi;去簇电压(DP)均:-40 V;碰撞能量(CE)均为-10 V。用于定量分析的离子反应分别为 m/z 205 \rightarrow 161(布洛芬), m/z 208 \rightarrow 164(内标 d_3 -布洛芬);扫描时间:200 ms。

2.2 受试者选择与试验方案

本研究包括空腹给药和餐后给药两个等效性试验,每个试验分别入组24名男性健康志愿者。空腹给药组年龄(24.08 \pm 2.21)岁,身高(173.71 \pm 4.73)cm,体质量(64.38 \pm 4.77)kg;餐后给药组年龄(23.25 \pm 2.27)岁,身高(173.71 \pm 3.78)cm,体质量(65.15 \pm 5.01)kg。试验前经血、尿、粪常规检查,大便隐血、血生化、乙肝表面抗原、丙肝抗体、人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体、心电图等检查均无异常,无消化道、呼吸道等各系统疾病史,无药物过敏史,无烟酒嗜好,试验前3个月内未参加过其他临床试验,试验前两周内未服用过任何中西药。试验前所有受试者均签署知情同意书,试验方案经上海中医药大学附属曙光医院医学伦理委员会批准后实施。

试验分为空腹给药试验与餐后给药试验,均采用单中心、随机、开放、双周期交叉试验设计,两个周期之间的清洗期为1周。每个试验将24名受试者随机分为甲、乙两组,每组12人,交叉口服受试制剂或参比制剂,甲、乙两组给药顺序分别为受试制剂-参比制剂和参比制剂-受试制剂。空腹给药组受试者于试验当天早8:00开始空腹(禁食10 h以上)单剂量口服充分混匀的受试制剂或参比制剂600 mg(20 ml),用200 ml温水冲洗送服药杯中残留药物,确保药物的摄入。餐后给药组受试者于试验当天早7:30开始进食高脂肪餐(煎蛋2个、食用油20 g、面包100 g、方腿100 g、黄油10 g、牛奶200 ml,总热量约950 kcal,脂肪约占总热量的52%),30 min内完成进食,8:00开始

单剂量口服充分混匀的受试制剂或参比制剂600 mg(20 ml),并用200 ml温水冲洗送服药杯中残留药物,确保药物的摄入。两组试验均为给药2 h后方可饮水,4、10 h后统一进清淡饮食。于给药前0 h及给药后0.5、1.0、1.5、2、2.5、3、3.5、4、5、6、8、10、12、16、24 h时于肘静脉采血4 ml,置肝素抗凝试管中,以离心半径为8 cm、转速为3 500 r/min离心10 min,分离血浆,于-20 $^{\circ}$ C冰箱中冷冻保存。

2.3 血浆样品处理

向血浆样品100 μ l中分别加入内标溶液(10.0 μ g/ml d_3 -布洛芬)25.0 μ l,甲醇-水溶液(50:50, V/V)50 μ l和乙腈1 ml,涡旋混合1 min后,以离心半径为8 cm、转速为11 000 r/min离心5 min,取1.0 μ l进行LC-MS/MS分析。

2.4 方法学验证

2.4.1 专属性考察 以6个不同来源的人空白血浆及相应空白血浆配制的最低定量限(LLOQ)样品,评价方法的专属性。结果表明,内源性物质不干扰待测物和内标的测定。典型色谱图见图1。

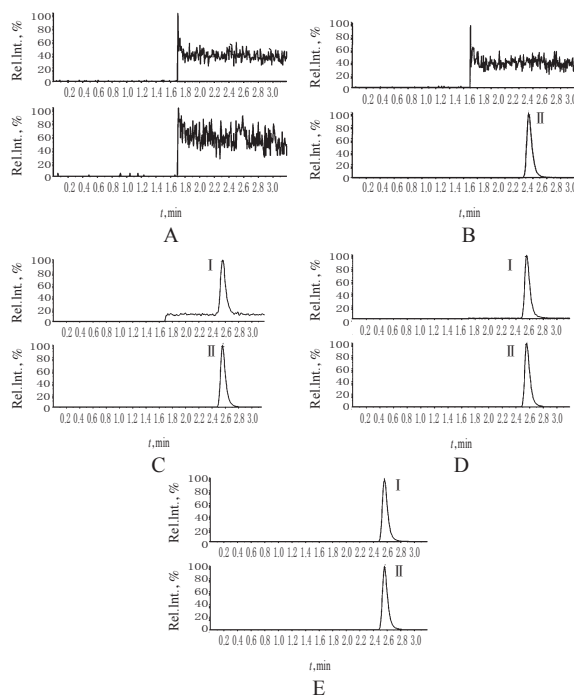


图1 典型色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+内标(2.50 μ g/ml d_3 -布洛芬)溶液;C.空白血浆+0.200 μ g/ml布洛芬溶液+内标(2.50 μ g/ml d_3 -布洛芬)溶液;D.空白血浆+3.000 μ g/ml布洛芬溶液+内标(2.50 μ g/ml d_3 -布洛芬)溶液;E.1号受试者空腹口服布洛芬2.5 h后血浆样品;I.布洛芬;II. d_3 -布洛芬

Fig 1 MRM chromatographic

A. blank plasma; B. blank plasma and internal standard (2.50 μ g/ml d_3 -ibuprofen) solution; C. blank plasma added ibuprofen 0.200 μ g/ml and internal standard (2.50 μ g/ml d_3 -ibuprofen) solution; D. blank plasma added 3.000 μ g/ml ibuprofen and internal standard (2.50 μ g/ml d_3 -ibuprofen) solution; E. No.1 subject's fasting plasma sample 2.5 h after oral ibuprofen. I. ibuprofen; II. d_3 -ibuprofen)

2.4.2 标准曲线样品 取人空白血浆,配制相当于布洛芬血浆浓度分别为0.20、0.50、1.50、5.00、15.00、30.00和60.00 μ g/ml的血浆样品,以待测物浓度为横坐标,待测物与内标的峰面积比值为纵坐标,用加权($W=1/x^2$)最小二乘法进行线性

回归运算,求得的直线回归方程即为标准曲线。结果表明,布洛芬血药浓度在0.20~60.00 μg/ml范围内线性关系良好。

2.4.3 精密性及回收率试验 取低、中、高浓度(0.60、3.00、48.00 μg/ml)布洛芬血浆样品的质量控制(QC)样品,按“2.3”项方法操作,每一浓度进行6样本分析,连续测定3 d。根据当日的标准曲线,计算QC样品的测得浓度,并计算本法的准确度与精密性。LC-MS/MS法测得布洛芬每一浓度水平QC样品的日内精密性(RSD)均<3.1%,日间精密性(RSD)均<3.8%,准确度(RE)在-2.3%~1.7%之间。

2.4.4 稳定性考察 本试验考察了布洛芬人血浆样品经处理后室温放置24 h的稳定性、人血浆样品经历3次冷冻-解冻循环的稳定性、人血浆样品-20℃放置123 d的稳定性。稳定性考察时,取人空白血浆配制低、高浓度(0.600、48.0 μg/ml)的样品,每一浓度水平进行3样本分析,采用LC-MS/MS法测定。此外,本试验还考察了布洛芬贮备液4℃放置32 d稳定性、布洛芬工作溶液4℃放置32 d稳定性、d₃-布洛芬内标工作液4℃放置98 d稳定性。结果表明,人血浆样品室温放置24 h稳定(RE在-1.8%~0.3%之间),经处理后室温放置24 h稳定(RE在0.5%~0.6%之间),经历3次冷冻-解冻循环稳定(RE在-0.7%~3.7%之间),-20℃放置123 d稳定(RE在-4.7~2.6%之间)。布洛芬贮备液4℃放置32 d天稳定(RE=6.0%),布洛芬工作溶液(浓度为0.400 μg/ml)4℃放置32 d稳定(RE=-3.9%),布洛芬工作溶液(浓度为120 μg/ml)4℃放置32 d稳定(RE为4.8%),d₃-布洛芬内标工作液4℃放置98 d稳定[d₃-布洛芬中非同位素标记化合物峰面积响应为布洛芬最低定量限(LLOQ)响应的1.1%]。

2.4.5 统计学方法 应用Pharsight公司的Phoenix WinNonlin 6.3药动学分析软件,采用非房室模型法(NCA)计算药动学参数AUC_{0-t}、AUC_{0-∞}、t_{max}、C_{max}、MRT和t_{1/2}。对主要药动学参数(AUC、C_{max})对数转换后进行方差分析,采用90%置信区间(CI)法进行两制剂的生物等效性评价,t_{max}采用非参数检验法。若布洛芬受试制剂与参比制剂AUC_{0-t}几何均值的90% CI在80%~125%之间,C_{max}几何均值的90% CI在75%~133%之间^[1],则可认为受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

3 结果

3.1 药-时曲线

24名健康男性受试者空腹或餐后单剂量交叉口服600 mg布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂后的平均药-时曲线见图2。

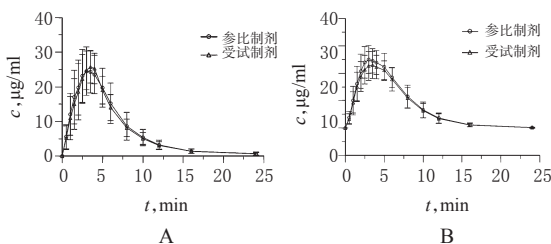


图2 24名健康男性受试者单剂量口服600 mg布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂后的平均药-时曲线

A. 空腹给药; B. 餐后给药

Fig 2 Mean plasma concentration-time after a single oral dose of 600 mg ibuprofen sustained-release suspension test preparation vs. reference preparation

A. Fasting; B. Fed

3.2 药动学参数

24名健康男性受试者空腹或餐后单剂量口服600 mg布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂后的主要药动学参数见表1。

表1 24名健康男性受试者单剂量口服600 mg布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂后的主要药动学参数($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Main pharmacokinetic parameters of ibuprofen sustained-release suspension test preparation vs. reference preparation after single oral dose of 600 mg ($\bar{x} \pm s$)

| 药动学参数 | 受试制剂 | | 参比制剂 | |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 空腹 | 餐后 | 空腹 | 餐后 |
| t _{1/2} , h | 4.27 ± 1.42 | 2.53 ± 0.46 | 3.87 ± 1.03 | 2.64 ± 0.53 |
| t _{max} , h | 3.42 ± 0.72 | 3.63 ± 0.99 | 3.29 ± 0.93 | 3.44 ± 1.15 |
| C _{max} , μg/ml | 27.4 ± 4.33 | 25.0 ± 4.12 | 28.2 ± 4.65 | 27.0 ± 4.60 |
| AUC _{0-t} , μg·h/ml | 167 ± 30.1 | 172 ± 33.4 | 172 ± 28.8 | 184 ± 30.2 |
| AUC _{0-∞} , μg·h/ml | 172 ± 31.4 | 173 ± 33.4 | 175 ± 30.9 | 186 ± 30.2 |
| F, % | 97.4 ± 9.7 | 93.1 ± 5.7 | | |

3.3 生物等效性评价

方差分析结果显示,空腹单剂量给药试验的布洛芬AUC_{0-∞}和C_{max}在给药顺序、制剂和周期间的差异均无统计学意义(P>0.05),AUC_{0-t}在周期间差异有统计学意义(P<0.05),但不影响制剂的生物等效性评价;餐后单剂量给药试验布洛芬AUC_{0-∞}、AUC_{0-t}和C_{max}在给药顺序和周期间的差异均无统计学意义(P>0.05),在制剂间差异有统计学意义(P<0.05),但不影响制剂的生物等效性评价。两组试验受试制剂与参比制剂AUC和C_{max}几何均值比及其90% CI见表2。两组试验t_{max}经非参数检验,差异均无统计学意义(P>0.05)。

表2 布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂生物等效性评价结果

Tab 2 Results of bioequivalence evaluation of ibuprofen sustained-release suspension test preparation vs. reference preparation

| 药动学参数 | 几何均值比, % | | 90% CI, % | |
|--------------------|----------|-------|--------------|-------------|
| | 空腹 | 餐后 | 空腹 | 餐后 |
| AUC _{0-∞} | 97.69 | 93.07 | 94.26~101.24 | 91.09~95.10 |
| AUC _{0-t} | 96.93 | 92.96 | 93.81~100.15 | 90.99~94.97 |
| C _{max} | 96.97 | 92.56 | 92.34~101.83 | 87.63~97.77 |

3.4 安全性评价

在整个试验进行过程中,有专职医护人员对受试者进行相关的医学监护,试验过程中无不良事件发生,试验后各项实验室检查、心电图检查未见异常。

4 讨论

本研究采用LC-MS/MS法进行测定,适用于布洛芬的人体药动学研究,两种制剂的主要药动学参数与文献报道基本一致^[2-3]。等效性分析结果表明,在空腹及餐后两种给药状态下,布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂AUC和C_{max}几何均值的90% CI均落在80%~125%之间,可判断布洛芬缓释混悬液受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:附录XIX B.
- [2] 商闯,杨更亮. 布洛芬缓释片的人体生物等效性研究[J]. 中国药房, 2008, 19(20): 1553.
- [3] 卓海通,曹文,毛桂福. 布洛芬混悬液人体生物利用度和药物动力学研究[J]. 中国医院药学杂志, 1997, 17(10): 435.

(收稿日期:2014-11-26 修回日期:2014-12-25)

(编辑:李 劲)