

单剂量口服茶碱缓释胶囊的人体生物等效性评价

刘新宇, 吴芳, 陈连剑(广东医学院附属深圳福田医院, 深圳 518033)

摘要:目的: 选择 12 名男性健康志愿者, 进行单剂量口服茶碱缓释胶囊的人体生物等效性评价。方法: 采用反相高效液相色谱法, 以紫外 273nm 为检测波长, 测定了单剂量口服 200mg 国产茶碱缓释胶囊受试药品在健康人体内的茶碱浓度, 并与进口茶碱缓释胶囊参比药品进行对照。结果: 茶碱缓释胶囊的体内动态过程呈一级吸收的房室开放模型, 国产受试药品和进口参比药品的 C_{max} 分别为 (5.12 ± 0.74) mg/L 和 (5.14 ± 0.63) mg/L, t_{max} 分别为 (5.4 ± 1.0) h 和 (5.3 ± 1.1) h, MRT 分别为 (17.79 ± 1.48) h 和 (17.61 ± 1.78) h, $t_{1/2}$ 分别为 (10.55 ± 0.75) h 和 (10.59 ± 1.10) h, AUC_{0-36} 分别为 (85.33 ± 10.56) mg·h/L 和 (86.26 ± 8.80) mg·h/L。结论: 以体内茶碱 AUC_{0-36} 数值表征的国产茶碱缓释胶囊的相对生物利用度为 $(98.9 \pm 6.4)\%$; 选择 C_{max} 、 AUC_{0-36} 和 $AUC_{0-\infty}$ 进行三因素方差分析与双单侧 t 检验, 结果表明国产茶碱缓释胶囊和进口茶碱缓释胶囊两种制剂具有生物等效性。

关键词: 茶碱; 缓释胶囊; 药代动力学; 生物等效性; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R945

献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2001)03-0146-03

Evaluation of bioequivalence assessment after single dose theophylline sustained-release capsules in healthy volunteers

LIU Xin-yu, WU Fang, CHEN Lian-jian (Shenzhen Futian Hospital, Guangdong Medical College, Shenzhen 518033, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To evaluate the bioequivalence assessment of theophylline sustained-release capsules in healthy volunteers. **METHODS:** A reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method was established for the determination of theophylline in plasma after a single oral dose of 200mg domestic theophylline sustained-release capsules and imported theophylline sustained-release capsules in a randomized crossover design. The detector was operated at UV 273nm. **RESULTS:** The dynamic course of theophylline plasma concentrations conformed to a one-compartment open model with a 3P87 program and the main pharmacokinetic parameters after a single oral dose of 200mg domestic sustained-release capsules and imported sustained-release capsules were as follows: C_{max} were (5.12 ± 0.74) mg/L and (5.14 ± 0.63) mg/L, t_{max} were (5.4 ± 1.0) h and (5.3 ± 1.1) h, MRT were (17.79 ± 1.48) h and (17.61 ± 1.78) h, $t_{1/2}$ were (10.55 ± 0.75) h and (10.59 ± 1.10) h, AUC_{0-36} were (85.33 ± 10.56) mg·h/L and (86.26 ± 8.80) mg·h/L, respectively. **CONCLUSIONS:** The relative bioavailability of domestic theophylline sustained-release capsules is $(98.9 \pm 6.4)\%$. The results of statistical analysis for C_{max} , AUC_{0-36} and $AUC_{0-\infty}$ showed that domestic sustained-release capsules and imported sustained-release capsules were bioequivalent.

KEY WORDS: theophylline; sustained-release capsule; pharmacokinetics; bioequivalence; reversed-phase high performance liquid chromatography

茶碱(theophylline)是治疗支气管哮喘和早产儿阵发性呼吸暂停的常用平喘药。近年来对于茶碱的药理学研究表明,其临床治疗作用仅需较低的血浆浓度,表现为茶碱血浆浓度尚未达到扩张支气管所需要的水平即可出现显著的抗哮喘效应,故茶碱的

有效治疗浓度现已重新制定为 5~10mg/L^[1,2]。为了克服茶碱常规剂型口服吸收峰浓度高而引起的不良反应,国内外已有多种茶碱缓释制剂上市。影响茶碱口服吸收因素较多,个体差异大,其缓释制剂尤为明显,因此必须进行临床血药浓度监测和药代动

力学研究。目前国内临床应用的茶碱缓释制剂为 400mg 规格的胶囊和片剂, 本文报道一种每粒 200mg 国内研制的茶碱缓释胶囊和进口对照品的人体药代动力学及其生物等效性评价, 为临床合理应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试药

SHIMADZU-10A 高效液相色谱仪, SHIMADZU C-6A 色谱数据处理机(日本岛津); Rheodyne 7125 型六通进样阀, 配以 50 μ l 定量管。茶碱标准对照品(中国药品生物制品鉴定所), 国产茶碱缓释胶囊试验药品由国内 A 药厂研制(规格 200mg/粒, 批号 00C0401), 进口茶碱缓释胶囊参比药品由法国 B 药厂生产(规格 200mg/粒, 批号 0001/08)。甲醇、乙酸乙酯、磷酸等实验试剂均为国产分析纯, 水为重蒸馏水。

1.2 血浆样品预处理

取血浆 0.5ml, 置于 10ml 具塞玻璃离心管中, 加入 5.0ml 乙酸乙酯, 涡旋混匀 2min, 3 500r/min 离心 6min。分取有机层 4.0ml, 在 50 $^{\circ}$ C 水浴下空气流挥干, 残留物以 200 μ l 流动相溶解, 10 000r/min 高速离心 5min 后, 吸取上清液 50 μ l 进样分析。

1.3 色谱分离条件

色谱柱: Hypersil- ODS₂(200mm \times 4.0mmID, 5 μ m, 中科院大连化物所); 流动相: 甲醇- 水- 10% 磷酸(30 : 70 : 1), 流速 1.2ml/min; 紫外检测波长为 273nm, 柱温控制为 25 $^{\circ}$ C。

1.4 体内分析的方法学评价

1.4.1 血浆标准曲线的制备 精密称取 5.00mg 茶碱标准对照品, 置于 100ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 50.0mg/L 的茶碱标准溶液。在 0.5ml 空白血浆中添加不同量的茶碱标准溶液, 配制成含茶碱 0.20、0.50、1.00、2.00、5.00 和 10.00mg/L 的标准血浆样品。按上述血浆样品预处理步骤操作, 并进行色谱分析。以茶碱标准对照品的峰面积(A, Y) 对相应的浓度(C, mg/L) 进行线性回归, 得血浆标准曲线方程: $Y = -2047.73 + 71406.19C$, $r = 0.9999$ ($n = 5$), 线性范围为 0.20~10.00mg/L。以信噪比 $S/N = 3$ 计算, 本法测定茶碱血浆样品的最低检测浓度为 0.10mg/L, 最低检测限可达 5.0ng。

1.4.2 方法回收率和精密度测定 按血浆样品标准曲线测定方法配制 0.50mg/L、2.00mg/L、10.00mg/L 低、中、高 3 种不同浓度的茶碱血浆质

控样品各 5 份, 经血浆样品预处理步骤操作后进样分析, 并以血浆样品标准曲线测得量与加入量之比求算茶碱血样分析方法回收率, 结果 3 种浓度的茶碱标准血浆质控样品方法回收率分别为(94.00 \pm 6.38)%、(97.50 \pm 3.08)%、(99.10 \pm 2.22)%。同法操作考察日内日间精密度, 结果表明 0.50mg/L、2.00mg/L、10.00mg/L 3 种浓度的茶碱标准血浆质控样品日内相对标准差(RSD) 分别为 6.38%、3.08%、2.22%, 日间 RSD 分别为 6.25%、4.57%、2.81% ($n = 5$)。

1.5 研究对象与实验设计

选择男性健康志愿者 12 名, 年龄 20~23a, 体重 53~78kg。所有志愿者经检查肝肾功能、血尿常规及心电图均正常, 且精神良好; 受试前 1mo 内未服用任何药物, 禁忌烟酒。采用随机交叉试验, 受试前隔夜禁食 12h, 次日早晨空腹分别口服 200mg 茶碱缓释胶囊国产受试药品或进口参比药品, 200ml 温开水送服。于服药前(0h) 及服药后 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、10.0、12.0、15.0、24.0 和 36.0h 肘静脉取血 1.5ml, 置肝素化试管中, 2 500r/min 离心 5min, 分取 0.5ml 血浆, 置-20 $^{\circ}$ C 冰箱保存待测。2 次试验的间隔周期为 2wk。

2 结果

2.1 色谱行为与典型谱图

在本文建立的血浆样品色谱分离条件下, 茶碱的保留时间约为 4.3min, 内色谱峰的理论塔板数可达每米约 5210。图 1 为空白血浆和实测血浆样品的典型色谱分离谱图, 显然血浆中的内源性物质对样品系统分离与定量分析没有干扰。

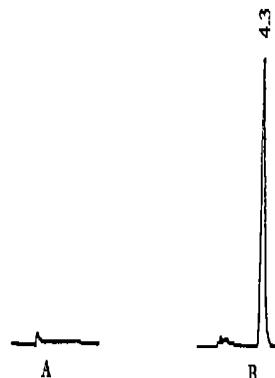


图 1 血浆样品中茶碱的 RP-HPLC 分离谱图
A. 空白血浆, B. 实测血浆(茶碱 t_R 4.3min)

2.2 人体药代动力学

12 名健康志愿者单剂量口服 200mg 茶碱缓释胶囊国产受试药品和进口参比药品后体内平均血药浓度- 时间曲线见图 2。血药浓度数据采用 3P87

程序经计算机自动迭代拟合, 以实测值与理论值比较及 AIC 值判别, 结果显示茶碱缓释胶囊在健康人体内的药代动力学过程呈一级吸收的一房室开放模型。国产受试药品和进口参比药品的主要药代动力学参数根据实测数值和统计矩方法计算, 并由梯形

法估算药时曲线下面积(AUC), 结果列于表 1。以进口茶碱缓释胶囊的 AUC 为参照, 求算国产茶碱缓释胶囊的相对生物利用度, 其中以体内茶碱 AUC₀₋₃₆ 数值表征的平均相对生物利用度为(98.9 ± 6.4) %。

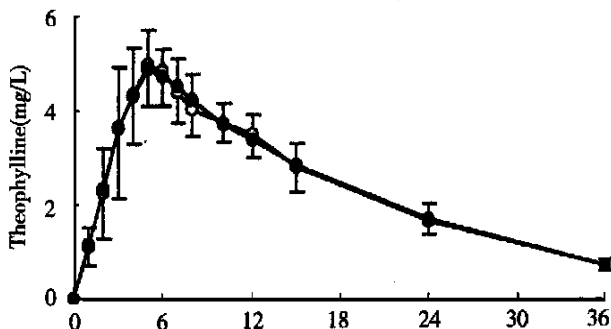


图 2 单剂量口服国产和进口茶碱缓释胶囊后的平均血-时曲线

○国产茶碱缓释胶囊(200mg) ●进口茶碱缓释胶囊(200mg)

表 1 单剂量口服 200mg 国产和进口茶碱缓释胶囊后的药代动力学参数($n = 12, \bar{x} \pm s$)

参数	国产受试药品	进口参比药品
C_{max} (mg/L)	5.12 ± 0.74	5.14 ± 0.63
t_{max} (h)	5.4 ± 1.0	5.3 ± 1.1
MRT (h)	17.79 ± 1.48	17.61 ± 1.78
$t_{1/2}$ (h)	10.55 ± 0.75	10.59 ± 1.10
Cl/F (L·h ⁻¹)	2.11 ± 0.26	2.09 ± 0.23
AUC ₀₋₃₆ (mg·h/L)	85.33 ± 10.56	86.26 ± 8.80
AUC _{0-∞} (mg·h/L)	96.00 ± 12.08	96.92 ± 10.65

2.3 生物等效性评价

应用新药统计程序 NDST5.0 对单剂量口服 200mg 国产茶碱缓释胶囊受试药品及进口茶碱缓释胶囊参比药品后的主要药代动力学参数 $\ln C_{max}$ 、 $\ln AUC_{0-36}$ 和 $\ln AUC_{0-\infty}$ 进行三因素方差分析, 结果表明试验制剂间及交叉周期间无显著性差异 ($P > 0.05$), 仅健康个体间存在差异; 进一步进行双单侧 t 检验, 结果判定国产茶碱缓释胶囊受试药品和进口茶碱缓释胶囊参比药品具有生物等效性。

3 讨论

目前, 应用于茶碱临床血药浓度监测和药代动力学的体内分析方法主要有荧光偏振免疫法、紫外分光光度法和高效液相色谱法^[3-5]。考虑到血浆中的内源性物质和体内代谢物的干扰, 高效液相色谱法是常用的茶碱分离检测方法, 具有定量准确、专属性强的优点。文献报道的茶碱血浆预处理提取溶剂氯仿、二氯甲烷毒性大、沸点高, 乙醚易乳化, 本文改用乙酸乙酯作提取溶剂, 既提高了分析方法的回收率, 又使体内样品提取物色谱干扰减少。在确定的反相高效液相色谱分离条件下, 选择最大

吸收波长 273nm 定量检测, 有利于提高样品组分茶碱的检测灵敏度, 且峰形对称好、保留时间短。本实验所需血样仅为 0.5ml, 但最低检测浓度为 0.10mg/L, 最低检测限可达 5.0ng。

12 名健康志愿者随机交叉单剂量口服 200mg 茶碱缓释胶囊国产受试药品和进口参比药品后的体内动态过程表明, 研制的国产缓释胶囊与进口缓释胶囊的血药浓度变化趋势基本一致, 说明国内厂家研制的茶碱缓释胶囊已达到国外同类产品的缓释效果, 且与常规剂型比较, 具有峰浓度低、维持血浓长的优点。国产茶碱缓释胶囊和进口茶碱缓释胶囊在健康人体内相应的各时间点茶碱血药浓度数据采用 3P87 程序经计算机自动迭代拟合与判别, 其药代动力学过程均呈现一级吸收的一房室开放模型, 与文献报道一致^[5]。国产缓释胶囊与进口缓释胶囊的主要药代动力学参数 C_{max} 、AUC₀₋₃₆ 和 AUC_{0-∞} 经三因素方差分析和双单侧 t 检验均无显著性差异, 且以体内茶碱 AUC₀₋₃₆ 数值表征的国产茶碱缓释胶囊受试药品的相对生物利用度为(98.9 ± 6.4) %。

参考文献:

- [1] 何权瀛. 对茶碱类药物在哮喘治疗中作用和地位的再评价[J]. 国外医学呼吸系统分册, 1995, 15(2): 76.
- [2] 石克成, 曹世珍, 程远远, 等. 优喘平在人体内药物动力学及体内相关性[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18(2): 53.
- [3] 林小勇, 王燕里, 罗平. 茶碱控释片血药浓度监测 61 例分析[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18(8): 347.
- [4] 闫惠琴, 马力, 马秋连. 健康人单剂量口服茶碱控释胶囊的药物动力学[J]. 中国医院药学杂志, 1999, 19(11): 655.
- [5] 蒋新国, 江志强, 奚念朱, 等. 茶碱缓释片的人体生物利用度[J]. 中国医院药学杂志, 1998, 18(3): 99.