

国产氨氯吡咪片的相对生物利用度及其生物等效性评价

柳晓泉 黄圣凯

(中国药科大学药物代谢研究中心,南京 210009)

摘要 6名健康志愿者随机交叉 po 单剂量 10 mg 氨氯吡咪国产或进口片。利用 HPLC 测得血浆中药物浓度分别在 3.12 ± 0.50 和 3.07 ± 0.71 h 达到峰值 25.4 ± 5.3 和 21.8 ± 8.9 ng/ml。血药浓度-时间曲线下面积分别为 253 ± 66 和 226 ± 56 ng · h/ml。药-时曲线符合一级吸收的单室模型,国产氨氯吡咪片的相对生物利用度 F 为 1.14 ± 0.34 ,经统计分析两种制剂具有生物等效性。

关键词 氨氯吡咪; 生物利用度; 高效液相色谱法

氨氯吡咪(amiloride)是一种保钾排钠的利尿药,具有利尿降压作用,临幊上用于肝腹水,心衰及高血压病人的利尿^[1~3]。本文采用高效液相色谱法^[4]测定了6名健康志愿者 po 氨氯吡咪片后的经时过程的血药浓度,并计算出血药浓度-时间曲线下面积(AUC),相对生物利用度,以及有关的药动学参数,同时根据测定值 C_{max} 和 AUC 经统计处理,对生物等效性进行评价。

1 材料与方法

1.1 药品

国产氨氯吡咪片(杭州民生药厂),批号 881206;进口氨氯吡咪片(英国 Merck Sharp & Dohme),批号 HK 22260。

1.2 仪器与色谱条件

Waters 510 高级液相色谱仪; HP 1046 A 荧光检测器; YEW 3066 记录仪; 色谱柱为反相 C₁₈Nucleosil 柱 25 cm × 4.6 I. D. (中科院大连化学物理所),流动相为甲醇-水(45:55, V/V, 含 HClO₄ 0.10 mol/L),流速 0.6 ml/min, λ_{ex} 为 286 nm, λ_{em} 为 418 nm, 进样量为 50 μ l。

1.3 试验对象及方法

健康受试者 6名,年龄 27.6 ± 3.7 岁,体

重 61.6 ± 5.7 kg,经检验证明心、肝、肾功能正常。受试者空腹 12 h 后,于早晨 8:00 顿服国产片或进口片 10 mg,用 250 ml 温水送服。分别于服药后 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 24 h 取血 3.5 ml,分离血浆,备测试。在取血同时分别于服药后 0~12 h 和 12~24 h 收集尿液,测定服药后 0~12 h 和 12~24 h 内尿中原型氨氯吡咪的排出量。

1.4 血药及尿药浓度的测定

取血浆 0.2 ml,加 0.2 ml 6% 高氯酸,混旋振荡约 1 min,离心后取上清液直接进样;取尿样 0.2 ml,用 6% 高氯酸稀释至 2.0 ml 后直接进样。标准曲线的制备如下:取健康人空白血浆或尿样 0.2 ml,各 5 份,分别加入氨氯吡咪标准品,使其浓度分别为 2, 4, 8, 16, 20 ng/ml。样品处理方法同上述,经 HPLC 测定,以峰高为纵坐标,以浓度为横坐标,得血浆中回归方程 $y = 0.5104x - 1.9312, r = 0.9997$,尿样中的回归方程为 $y = 0.4994x - 0.6193, r = 0.9999$ 。又在 2~20 ng/ml 范围内($n = 5$)测得的平均回收率为 97.6% ± 1.78%, CV 为 2.9%~6.2%。

1.5 数据处理

将每例受试者血药浓度-时间数据输入 IBM-PC 机,按 PKBP-N1 程序中具有滞后时

收稿日期 1993-09-10

间的一级吸收一房室模型方程拟合,求得有关的药动学参数。

1.6 统计方法^[5]

采用三因素方差分析法,对国产氨氯吡咪片的生物等效性进行评价。用两种制剂的交叉设计方法,以进口氨氯吡咪片为标准(记为R),对国产氨氯吡咪片(记为T)进行评价。6名健康受试者,间隔1 wk分别交叉给予R或T。有关方差分析的方法见文献[6]。

2 结 果

2.1 氨氯吡咪的血药浓度和药时曲线

两种制剂交叉给予6名受试者后,其药时曲线符合口服一室模型,血药浓度-时间数据以PKBP-N1程序经IBM-PC机拟合,拟合曲线见图1,其药动学参数见表1。

Tab 1. Pharmacokinetic parameters of amiloride after a single oral dose of 10 mg. ($\bar{x} \pm SD, n=6$)

Subjects	K _a , h ⁻¹	t ₀ , h	t _{max} , h	C _{max} , ng/ml	K, h ⁻¹	t _{1/2k} , h	AUC, ng·h/ml
I ^a	1 0.81 0.69 3.70 19.6 0.107 6.5						242
2	3.06 0.06 1.82 32.9 0.137 5.0						281
3	0.06 0.52 2.70 18.4 0.182 3.8						168
4	0.62 0.30 3.45 18.7 0.170 4.1						193
5	0.55 0.54 3.63 31.7 0.170 4.1						296
6	1.08 0.62 3.10 9.6 0.070 9.9						173
\bar{x}	1.13 0.45 3.07 21.8 0.139 5.6						226
$\pm SD$	0.96 0.23 0.71 8.9 0.043 2.3						56
D ^b	1 0.57 0.76 3.98 20.3 0.138 5.0						213
2	1.00 0.19 2.47 25.7 0.130 5.3						238
3	0.87 1.13 3.11 30.5 0.120 5.8						217
4	1.06 0.36 3.29 32.9 0.101 6.8						338
5	0.85 0.52 2.94 21.5 0.154 4.5						332
6	0.85 0.49 2.94 21.3 0.154 4.5						182
\bar{x}	0.87 0.58 3.12 25.4 0.133 5.3						253
$\pm SD$	0.16 0.33 0.50 5.3 0.021 0.8						66

^aImported; ^bDomestic

国产片和进口片的吸收速率常数K_a分

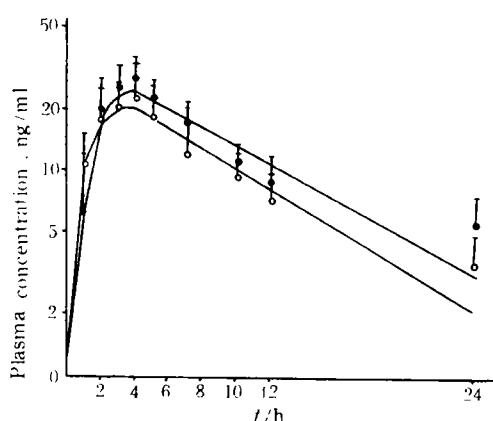


Fig 1. Amiloride concentrations in plasma after a single oral dose of 10 mg domestic \bullet \cdot or imported tablet \square \cdot ($n=6, \bar{x} \pm SD$)

别为 0.87 ± 0.16 和 1.13 ± 0.96 h⁻¹,消除半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 5.3 ± 0.80 和 5.6 ± 2.3 h,峰药浓度 C_{max} 分别为 21.8 ± 8.9 和 25.4 ± 5.3 ng/ml,达峰时间 t_{max} 分别为 3.12 ± 0.50 和 3.07 ± 0.71 h,曲线下面积 AUC 分别为 253 ± 66 和 226 ± 56 ng·h/ml。

2.2 氨氯吡咪的尿排泄量

两种制剂交叉给予6名受试者后,用HPLC测定了0~12 h和12~24 h内尿中氨氯吡咪原型的浓度,从而计算出尿中原型氨氯吡咪的排出量,结果见表2。24 h内国产和进口氨氯吡咪片的原型排出率分别为41%和33%。

2.3 统计分析

上述试验中以进口片为参比,国产片为待测制剂,它们的参数AUC和C_{max}的对比见表3。表3中第一、第二次给药分别为周期1和2。经三因素方差分析,所得结果见表4和表5。

Tab 2. Urine excreted amount of amiloride after administration to six volunteers

Subject	Imported excretion, mg			Domestic excretion, mg		
	0-2 h	12-24 h	24h-Excretion, %	0-2 h	12-24 h	24h-Excretion, %
1	4.04	0.94	52.4	3.63	0.88	45.1
2	1.97	1.46	34.3	4.68	1.42	61.0
3	1.08	0.78	18.7	0.65	0.08	7.3
4	1.95	1.55	35.0	4.89	1.46	63.5
5	1.45	2.10	23.4	0.96	0.13	10.9
6	1.71	1.70	34.1	4.79	1.06	58.5

Tab 3. Comparative bioavailability study

Subjects	Imported			Domestic		
	Period	AUC	C _{max}	Period	AUC	C _{max}
1	2	242	19.6	1	213	20.3
2	2	281	32.9	1	238	25.7
3	2	168	18.4	1	217	30.5
4	1	193	18.7	2	338	32.9
5	1	296	31.7	2	332	21.5
6	1	173	9.6	2	182	21.5

Tab 4. ANOVA for the observed AUC

Source	SS	df	MS	F	$\alpha=0.05$
Formulation	2324.1	1	2324.1	1.22	$F_0(1,4)=7.71$
Period	3780.8	1	3780.8	1.98	$F_0(1,4)=7.71$
Subject	25646.4	5	5129.3	2.68	$F_0(5,4)=6.26$
Error	7641.6	4	1910.4		
Total	39392.9	11			

Tab 5. ANOVA for the observed C_{max}

Source	SS	df	MS	F	$\alpha=0.05$
Formulation	38.6	1	38.6	0.74	$F_0(1,4)=7.71$
Period	8.86	1	8.86	0.17	$F_0(1,4)=7.71$
Subject	250.4	5	50.1	0.96	$F_0(1,4)=6.26$
Error	208.9	4	52.2		
Total	506.8	11			

观察值 AUC 和 C_{max} 算得的 F 值均小于 F_{0.05} 的临界值, 即 $P>0.05$, 表明 AUC 的 C_{max} 观察值在制剂间, 周期间和个体间的差异均无显著性。

3 讨 论

由表 1 可见, 两种制剂的消除性质较为接近, 其消除半衰期 t_{1/2} 虽有差异, 但经 t 检

验不显著 ($P>0.05$), 从吸收速率常数 K_a 达峰浓度 C_{max} 看, 进口片较国产片吸收迅速, 但峰浓度较低, 这可能与片剂崩解时限不同有关。一次口服给药后约 3 h 血药即达峰值, 但血药浓度较低, C_{max} 仅为 25.4(国产)和 21.8(进口) ng/ml, 24 h 后血浆中仍可检测出氨氯吡咪, 表明血浆半衰期较长。24 h 内约有 30%~40% 的氨氯吡咪以原型从尿中排出。由两种制剂血药浓度-时间曲线下面积算得国产氨氯吡咪片的相对生物利用度为 1.14 ± 0.34, 表明两种制剂虽在吸收速率上存有一定的差异, 但两者的吸收程度相似, 方差分析的结果表明两种制剂具有生物等效性。

参 考 文 献

- 1 Baba WI, Lant AF, Smith AJ, et al. Pharmacological effects in animals and normal human subjects of the diuretic amiloride hydrochloride (MK-870). *Chn Pharmacol Ther*, 1968, 9:318
- 2 Lant AF, Smith AJ, Wilson GM. Clinical evaluation of amiloride, a potassium-sparing diuretic. *Chn Pharmacol Ther*, 1969, 10:50
- 3 Singh BN, Richmond DE, Wilson JD, et al. Evaluation of MK-870: a new potassium-sparing diuretic. *Br Med J*, 1967, 1:143
- 4 Xu DK, Zhou JH, Yuan YS, et al. High-performance liquid chromatographic assay for amiloride in plasma and urine. *J Chromatogr*, 1991, 567:451
- 5 黄圣凯, 韩可勤. 生物等效性评价的几种方法. 中国临床药理学杂志, 1993, 9(1):46
- 6 浙江大学数学系编. 概率论与数理统计. 北京: 人民教育出版社, 1973, 1~3

Relative Bioavailability and Bioequivalence Assessment of Domestic Amiloride Tablet

Liu Xiaoquan, Huang Shengkai

China Pharmaceutical University, Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Nanjing 210009

The pharmacokinetics of amiloride was determined following a single oral dose of 10 mg given to each 6 volunteers in an open randomized crossover study. Drug concentration in plasma was assayed by HPLC method. The peak levels in plasma averaged 25.4 ± 5.3 and 21.8 ± 8.9 ng/ml at 3.12 ± 0.50, 3.07 ± 0.71 h, and the areas under the drug concentration curves were 253 ± 66 and 226 ± 56 ng · h/ml for domestic and imported tablet respectively. The concentration-time courses after medication conformed to a 1-compartment open model with a first order absorption. The results of three factors analysis of variance showed that the two formulations were bioequivalent.

Key words Amiloride; Bioavailability; HPLC