

· 药 剂 ·

盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度研究

范国荣 李 珍 胡晋红 石 晶 宋洪杰 沈意翔(上海 200433 第二军医大学附属长海医院临床药理研究室)

摘要 目的:选择 10 名男性健康志愿者,研究盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度。方法:采用反相高效液相色谱法,以紫外 242nm 为检测波长,测定了单剂量口服 90mg 盐酸氨溴索口服溶液和进口盐酸氨溴索片剂(商品名 Mucosolvan)在健康人体内的氨溴索浓度。结果:盐酸氨溴索的体内动态过程呈一级吸收的一房室开放模型,国产口服溶液和进口 Mucosolvan 片剂的 C_{max} 分别为 $134.54 \pm 43.84 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ 和 $127.22 \pm 36.18 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$, t_{max} 分别为 $1.55 \pm 0.64 \text{ h}$ 和 $1.71 \pm 0.66 \text{ h}$, $t_{1/2Ke}$ 分别为 $7.06 \pm 0.86 \text{ h}$ 和 $6.79 \pm 1.10 \text{ h}$, $AUC_{0-\tau}$ 分别为 $1488.59 \pm 419.13 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$ 和 $1406.43 \pm 360.51 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。结论:盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度为 $105.68\% \pm 11.70\%$;选择 C_{max} 和 $AUC_{0-\tau}$ 进行三因素方差分析与双单侧 t 检验,结果表明国产口服溶液和进口 Mucosolvan 片剂两种制剂具有生物等效性。

关键词 盐酸氨溴索;口服溶液;相对生物利用度;高效液相色谱法

Relative bioavailability of ambroxol hydrochloride oral solution in healthy volunteers

Fan Guorong(FanGR), Li Zhen(LiZ), Hu Jinhong(Hu JH), et al(Department of Clinical Pharmacology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the relative bioavailability of ambroxol hydrochloride oral solution in healthy volunteers. **METHOD:** A reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method was established for the determination of ambroxol in plasma after a single oral dose of 90 mg ambroxol hydrochloride oral solution and imported ambroxol hydrochloride (Mucosolvan) tablet in a crossover design, the detector was operated at UV 242 nm. **RESULTS:** The dynamic course of ambroxol plasma concentrations conformed to a one-compartment open model with a 3P87 program and the pharmacokinetic parameters after a single oral dose of 90 mg oral solution and Mucosolvan tablet were as follows: C_{max} were $134.54 \pm 43.84 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ and $127.22 \pm 36.18 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$, t_{max} were $1.55 \pm 0.64 \text{ h}$ and $1.71 \pm 0.66 \text{ h}$, $t_{1/2Ke}$ were $7.06 \pm 0.84 \text{ h}$ and $6.79 \pm 1.10 \text{ h}$, $AUC_{0-\tau}$ were $1488.59 \pm 419.13 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}$ and $1406.43 \pm 360.51 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}$ respectively. **CONCLUSION:** The relative bioavailability of ambroxol hydrochloride oral solution was $105.68\% \pm 11.70\%$. The results of statistical analysis for C_{max} and $AUC_{0-\tau}$ showed that ambroxol hydrochloride oral solution and imported ambroxol hydrochloride (Mucosolvan) tablet were bioequivalent.

KEY WORDS ambroxol hydrochloride, oral solution, relative bioavailability, reversed-phase high performance liquid chromatography

盐酸氨溴索(Ambroxol hydrochloride)又名盐酸溴环己胺醇,是溴己新的体内活性代谢物,它明显地促进肺表面活性物质的生成和增强支气管纤毛的排空运动,对急性慢性呼吸道疾患特别是慢性支气管炎具有祛痰作用,目前已成为国外临床上广泛使用的祛痰药物之一^[1,2]。为了方便小儿用药,常州第四制药厂研制了盐酸氨溴索口服溶液。本实验选择反相高效液相色谱(RP-HPLC)方法,以进口盐酸氨溴索片剂(商品名 Mucosolvan)为对照,对国产盐酸氨溴索口服溶液进行相对生物利用度研究,同时采用三因素方差分析和双单侧 t 检验评价两种制剂的生物等效性,为临床合理用药提供实验依据。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂

日立 655 系列 HPLC 仪, Rheodyne 7125 型进样阀,配以 50 μ l 定量管。盐酸氨溴索标准对照品(江苏连云港制药厂),盐酸氨溴索口服液(常州第四制药厂,规格 30mg/5ml,批号

960604),进口盐酸氨溴索片(商品名 Mucosolvan)对照药品由德国 Boehringer Ingelheim 药厂生产(规格 30mg/片,批号 611240)。甲醇、乙腈和四氢呋喃均为色谱纯,其它实验试剂均为国产分析纯,水为二次蒸馏水。

1.2 色谱分离条件

分析柱:Hypersil C_{18} (250mm \times 4.6mm, 5 μ m) 色谱柱,流动相:乙腈-甲醇-0.01 mol \cdot L⁻¹ pH7.0 磷酸盐缓冲液-四氢呋喃(350:350:275:25),流速 1.5 ml \cdot min⁻¹,检测波长 242nm,柱温控制为 18 $^{\circ}$ C。

1.3 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 0.5 ml 0.01 mol \cdot L⁻¹ pH10.0 磷酸盐缓冲液和 5.0ml 乙醚,封口后涡旋混匀 60s, 3500r \cdot min⁻¹ 离心 6min。分取醚层 4.0ml 转移至另一 10ml 具塞玻璃离心管中,加入 200 μ l 0.01 mol \cdot L⁻¹ 盐酸,涡旋混匀 60s, 3500r \cdot min⁻¹ 离心 6min,弃去醚层,吸取酸层 50 μ l 进样分析。

1.4 体内分析方法的评价

1.4.1 血浆标准曲线的制备 取健康人空白血浆共 5 份,精密添加盐酸氨溴索标准对照品一定量,配制成 10.0,20.0,40.0,80.0,160.0 和 320.0 ng·ml⁻¹ 的盐酸氨溴索标准血浆样品系列。按血浆样品预处理步骤和 RP-HPLC 测定方法进行操作,以血浆样品氨溴索峰高(Y)与其相应的浓度(C)表征的回归方程为: $Y = 12.99 + 1.422C$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。以信噪比 $S/N > 2$ 计,血浆样品中氨溴索最低检测浓度为 5 ng·ml⁻¹,最低检测限为 1 ng。

1.4.2 回收率和精密度试验 按血浆样品标准曲线测定方法配制 20.0,80.0 和 320.0 ng·ml⁻¹ 低、中、高三种不同浓度的盐酸氨溴索标准血浆质控样品各 5 份,经血浆样品预处理步骤处理后进样分析,结果三种浓度的盐酸氨溴索标准血浆质控样品萃取回收率分别为 79.24% ± 6.37%, 81.15% ± 4.05% 和 85.24% ± 3.84%,方法回收率分别为 104.61% ± 8.32%, 98.63% ± 4.67% 和 100.42 ± 4.11%。同法配制低、中、高三种浓度的盐酸氨溴索标准血浆质控样品,测定日内与日间精密度,结果 20.0,80.0 和 320.0 ng·ml⁻¹ 三种浓度的盐酸氨溴索标准血浆质控样品日内相对标准差(RSD)分别为 7.65%, 4.73% 和 4.09%, 日间 RSD 分别为 9.07%, 7.00% 和 4.36% ($n = 5$)。

1.5 研究对象与实验设计

男性健康志愿者 10 名,年龄平均(21.75 ± 0.89)岁,体重平均(71.69 ± 6.98)kg。所有志愿者经肝肾功能、血常规及心电图检查均正常,且精神良好;受试前一月内未服用任何药物,禁忌烟酒。健康志愿者明了本试验的目的与要求,均签署知情同意书,并上报上海长海医院医学伦理委员会批准备案。

采用随机交叉试验,将 10 名健康志愿者随机分为二组,受试前隔夜禁食 12h,次日早晨空腹分别口服 90mg 国产盐酸氨溴索口服溶液或 90mg 进口盐酸氨溴索片剂,200ml 温开水送服。于服药后 0.25,0.5,1.0,1.5,2.0,3.0,4.0,6.0,9.0,12.0,15.0 和 24.0h 从其左(右)肘静脉采血约 2ml,血样置于肝素抗凝管中,2500r/min 离心 5min 后分取血浆,置 -20℃ 冰箱保存待测。2 次试验的间隔周期为 2 周。

1.6 数据处理与分析

健康志愿者体内各时间点的氨溴索血药浓度采用 3P87 程序处理进行自动模型判别,曲线下面积(AUC)由梯形法计算,并以进口盐酸氨溴索片剂的 AUC 为参照,求算国产盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度。选择 NDS15.0 统计分析程序,对主要药代动力学参数 C_{max} 和 $AUC_{0-\tau}$ 进行三因素方差分析和双单侧 t 检验(显著性水平 $\alpha = 0.05$)。

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,氨溴索的保留时间约为 4.56min,相应的理论塔板数每米约 5800。图 1 为空白血浆和实测血浆样品的典型色谱分离谱图,显然氨溴索与血浆中的内源性物质之间达到了良好的分离,其色谱峰位

处没有其它杂质的干扰。

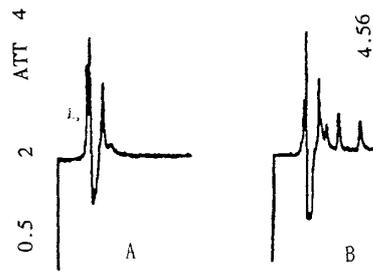


图 1 血浆样品中氨溴索的反相高效液相色谱分离谱图 A- 空白血浆;B- 实测血浆

2.2 人体药代动力学

10 名健康志愿者单剂量口服 90mg 国产盐酸氨溴索口服溶液和 90mg 进口 Mucosolvan 片剂后体内氨溴索平均血药浓度一时间曲线见图 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,结果显示盐酸氨溴索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,其中国产口服溶液和进口 Mucosolvan 片剂的主要药代动力学参数见表 1。

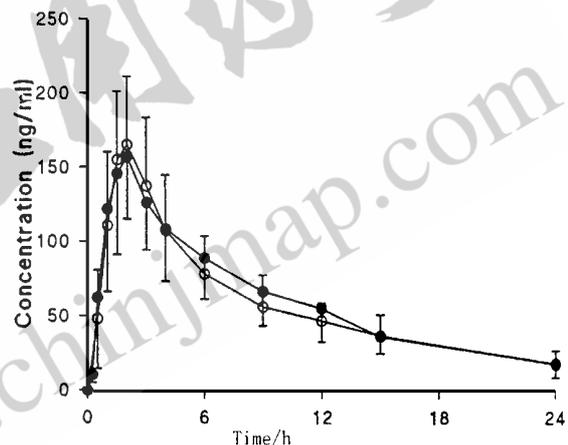


图 2 10 名男性健康志愿者单剂量口服 90mg 国产盐酸氨溴索口服溶液(●)和 90mg 进口 Mucosolvan 片剂(○)后的平均血药浓度一时间曲线

表 1 单剂量口服国产盐酸氨溴索口服溶液与进口 Mucosolvan 片剂后的药代动力学参数

Parameter	Oral solution	Mucosolvan tablet
K_a/h^{-1}	4.38 ± 3.79	3.53 ± 3.00
K_e/h^{-1}	0.098 ± 0.011	0.10 ± 0.017
$t_{1/2K_a}/h$	0.26 ± 0.24	0.32 ± 0.24
$t_{1/2K_e}/h$	7.06 ± 0.86	6.79 ± 1.10
t_{max}/h	1.55 ± 0.64	1.71 ± 0.66
$C_{max}/ng \cdot ml^{-1}$	134.54 ± 43.84	127.22 ± 36.18
$ADC_{0-\tau}/ng \cdot h \cdot ml^{-1}$	1488.59 ± 419.13	1406.43 ± 360.51

2.3 相对生物利用度

氨溴索血药浓度一时间曲线下面积(AUC_{0-24})值根据体内血浆样品中氨溴索的实测值由梯形法计算,以进口

Mucosolvan 片剂的氨溴索 AUC_{0-24} 为参照, 求算国产盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度, 结果列于表 2, 其中平均相对生物利用度为 $105.68\% \pm 11.70\%$ 。

表2 单剂量口服国产盐酸氨溴索口服溶液与进口 Mucosolvan 片剂后的 AUC 比较与相对生物利用度计算

No.	Oral solution/ $ng \cdot h \cdot ml^{-1}$		Mucosolvan tablet/ $ng \cdot ml^{-1}$		Relative bioavailability / %
	Period	AUC_{0-24}	Period	AUC_{0-24}	
A	1	855.21	2	1066.79	80.17
B	1	1647.22	2	1431.52	115.07
C	1	1641.03	2	1823.70	89.98
D	1	990.43	2	922.23	107.40
E	1	1567.06	2	1393.89	112.42
F	2	2337.43	1	2072.31	112.79
G	2	1149.82	1	1023.33	112.36
H	2	1482.48	1	1279.82	115.84
I	2	1525.45	1	1452.77	105.00
J	2	1689.76	1	1597.89	105.75
Mean					105.68
SD					11.70

2.4 生物等效性评价

应用新药统计程序 NDST5.0 对盐酸氨溴索体内主要药代动力学参数 $\ln C_{max}$ 和 $\ln AUC_{0-24}$ 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, 结果判定国产盐酸氨溴索口服溶液和进口 Mucosolvan 片剂具有生物等效性。

3 讨论

目前, 盐酸氨溴索的体内分析方法主要为高效液相色谱法。但是, 文献报道的四种方法存在各种各样的问题, 如有的样品预处理需要附加甲醛衍生化过程; 有的采用不可获得的特别内标; 有的其本身同一实验室分离结果不能重复; 有

的选择含有壬胺竞争离子的复杂流动相组成^[3]。本实验以国产 Hypersil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱为分析柱, 流动相组成为乙腈 - 甲醇 - 0.01 mol · L⁻¹ pH7.0 磷酸盐缓冲液 - 四氢呋喃 (350:350:275:25), 在氨溴索最大吸收波长 242 nm 处定量检测, 有利于使分离组分峰形对称并缩短保留时间。血浆样品预处理采用碱化血浆乙醚正提和 0.01 mol · L⁻¹ 盐酸反提两步操作, 在保证萃取回收率的前提下, 使体内样品提取物色谱分离干扰减少, 在强洗脱流动相条件下保证血浆样品中微量氨溴索组分快速出峰, 极大地提高了检测灵敏度。本实验所需血样仅为 0.5 ml, 但最低检测浓度为 5 ng · ml⁻¹, 最低检测限可达 1 ng。

10 名健康志愿者随机交叉单剂量口服 90 mg 国产盐酸氨溴索口服溶液与进口 Mucosolvan 片剂后的血药浓度变化结果表明, 该药吸收迅速, 达峰时间短, 其体内动态规律与文献^[3]报道的应用实例结果基本一致。国产口服溶液与进口 Mucosolvan 片剂相应的各时间点氨溴索血药浓度数据采用 3P87 程序经计算机自动迭代拟合与判别, 体内药代动力学过程均呈现一级吸收的一房室开放模型。但相对于进口 Mucosolvan 片剂而言, 试验结果显示国产口服溶液的 K_a 数值较大, $t_{1/2K_a}$ 和 t_{max} 时间缩短。国产盐酸氨溴索溶液与进口 Mucosolvan 片剂的主要药代动力学参数 C_{max} 和 AUC_{0-t} 经三因素方差分析和双单侧 t 检验均无显著性差异, 且国产盐酸氨溴索口服溶液的相对生物利用度为 $105.68\% \pm 11.70\%$ 。

参考文献

- 1 贾伟元. 氨溴索合成路线图解. 中国医药工业杂志, 1995, 26(5): 235.
- 2 罗蔚慈, 甘春兰, 朱元钰, 等. 沐舒痰临床疗效验证 63 例总结. 中国新药杂志, 1992, 1(5): 23.
- 3 Nobilis M, Pastera J, Svoboda D, et al. High - performance liquid chromatographic determination of ambroxol in human plasma. J Chromatogr, 1992, 581: 251.