

阿替洛尔片人体相对生物利用度与生物等效性评价

杨敏,陈铁锋,余细勇,钱忆之,江桂芬,林曙光(广东省心血管病研究所临床药理室,广东 广州 510080)

摘要:目的 了解不同厂家生产的阿替洛尔片的药动学特性和相对生物利用度的差异。方法 用高效液相色谱法测定血中阿替洛尔浓度;20名健康志愿者采用自身对照、随机交叉方法,分别单次口服两个厂家的阿替洛尔片 50 mg,测定不同时间的血药浓度,用 3P97 程序计算药动学参数,并对 $C_{\max}$, $T_{\max}$ 和 AUC_{0-T} 进行生物等效性分析。结果 两种制剂的阿替洛尔 $T_{\max}$ 为 $(2.5 \pm 0.8)h$ (受试药)和 $(2.8 \pm 0.9)h$ (对照药), $P > 0.05$; $C_{\max}$ 为 $(326.1 \pm 101.4) \mu g/L$ (受试药)和 $(301.1 \pm 73.3) \mu g/L$ (对照药), ($P > 0.05$); AUC_{0-T} 为 $(2573.2 \pm 737.6) \mu g \cdot h/L$ (受试药)和 $(2485.4 \pm 606.9) \mu g \cdot h/L$ (对照药), $P > 0.05$ 。受试药阿替洛尔片相对生物利用度为 $(105.5 \pm 27.4)\%$ 。结论 两制剂的体内吸收、消除过程基本一致,经统计学分析,两制剂具有生物等效性。

关键词:阿替洛尔;高效液相色谱法;相对生物利用度;生物等效性

中图分类号:R972;R945 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)04-0283-04

Evaluation for bioavailability and bioequivalence of atenolol in human

YANG Min, CHEN Tie-feng, YU Xi-yong, QIAN Yi-zhi, JIANG Gui-fen, LIN Shu-guang (Division of Clinical Pharmacology, Guangdong Cardiovascular Institute, Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the difference in pharmacokinetics and relative bioavailability of atenolol produced by different factories. **METHOD** A single oral dose of 50 mg atenolol tablet was given respectively to 20 healthy volunteers in an open randomized crossover test. Atenolol concentration was determined by HPLC. Pharmacokinetic parameters were calculated by 3P97 program. Bioequivalence analysis was done to $C_{\max}$, $T_{\max}$ and AUC_{0-T} . **RESULTS** The main pharmacokinetics of the two products (test and reference) were as follow. $T_{\max}$ were $(2.5 \pm 0.8)h$ and $(2.8 \pm 0.9)h$, $P > 0.05$; $C_{\max}$ were $(326.1 \pm 101.4) \mu g/L$ and $(301.1 \pm 73.3) \mu g/L$, ($P > 0.05$); AUC_{0-T} were $(2573.2 \pm 737.6) \mu g \cdot h/L$ and $(2485.4 \pm 606.9) \mu g \cdot h/L$, $P > 0.05$. The relative bioavailability of tested tablets was $(105.5 \pm 27.4)\%$. **CONCLUSION** The absorption and elimination processes of two products in human body were similar and the two products were bioequivalent.

KEY WORDS:atenolol; HPLC; relative bioavailability; bioequivalent

阿替洛尔(atenolol, AT, 氨酰心安)为选择性 β_1 受体阻滞剂,临床上广泛用于治疗高血压、心绞痛、心肌梗死、心率失常等疾病,已取得良好疗效。为了研究广州贝氏药业有限公司生产的阿替洛尔片的药动学特性和相对生物利用度,用高效液相色谱法测定血中阿替洛尔浓度,并以市售同类药上海九福药业有限公司生产的阿替洛尔片作对照,分析了 20 名健康志愿者分别口服两种片剂后阿替洛尔血药浓度,比较阿替洛尔在两种制剂中的药动学特性,并对阿替洛尔片进行生物等效性评价。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

受试药阿替洛尔片(广州贝氏药业有限公司,批号 990330,含阿替洛尔 50 mg/片);对照药阿替洛尔片(上海九福药业有限公司,批号 000601,含阿替洛尔 50 mg/片。对照

品阿替洛尔(含量 99%,天津中央药厂);内标参比品 N-乙酰普鲁卡因胺(N-acetylprocainamide, NAPA,购自 Sigma 公司)。乙腈为色谱纯,甲醇、二氯甲烷等试剂为分析纯。

1.2 标准液及内标液配制

精密称取阿替洛尔 10 mg,用甲醇溶解至浓度为 1.0 mg/mL,再用甲醇稀释为 10 $\mu g/mL$ 的标准工作液,贮存于 4℃ 备用。精密称取内标物 N-乙酰普鲁卡因胺 10 mg,用甲醇溶解配至浓度为 1.0 mg/mL,再用二氯甲烷稀释为 100 ng/mL 的内标工作液。

1.3 色谱条件

LC-3A 液相色谱仪, C-R3A 数据处理器(日本岛津公司), SP-100 紫外检测器;色谱柱为 Hypersil BDS C18 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm , 大连依利特科学仪器公司);流动相为水:乙腈(89:11), 100 mL 流动相分别含冰醋酸和三乙胺 10

作者简介:杨敏,女,副主任药师。Tel: (020)83827812-1317

μL ;流速:1.0 mL/min;检测波长:UV 228 nm。

1.4 样品处理方法

采用改良汪晓梅等^[1]方法。0.2 mL 含药血浆加至 5 mL 锥形离心管内,加入 1 mol/L NaOH 40 μL ,再加入二氯甲烷(含内标 100 ng/mL)1 mL 密塞,旋转振荡 1 min,离心(2 000 r/min)3 min 弃去血浆层,再吸尽二氯甲烷层放入 2 mL 锥形管内,50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气流吹干。加入流动相 30 μL ,快速振荡数秒溶解残留物,吸取 15 μL 进样测定。

1.5 标准曲线的测定

取 5 支 5 mL 锥形离心管,分别精确加入 AT 标准工作液,各管均加入 0.2 mL 空白血浆后,振荡数秒,配制成浓度分别为 10,25,50,100,200,500 $\mu\text{g/L}$ 的带药血浆样品,按前项样品处理方法进行。

1.6 精密度试验

按“1.5”方法分别配制低(25 $\mu\text{g/L}$)、中(200 $\mu\text{g/L}$)、高(500 $\mu\text{g/L}$)浓度的样品,在 1 d 内重复 3 次和分散于 2 wk 内重复 5 次测定其浓度,计算日内、日间误差及相对回收率。

2 药动学实验

2.1 受试者基本情况

健康男性志愿者 20 人,年龄 23~36 a,平均(27.5 $\pm$ 3.2) a;体重 56~85 kg,平均(66.0 $\pm$ 7.3) kg。所有受试者试验前常规体检和血液生化检查肝、肾功能未见异常。志愿者试验前签署知情同意书,受试期间停服任何药物,并禁烟和酒。

2.2 标本采集

受试者于实验日的前 1 d 晚上开始禁食 12 h,d2 早晨 7:30 空腹开始实验。采用自身对照、随机交叉的方法,分别

表 1 人血浆阿替洛尔 HPLC 分析精密度试验结果

Tab 1 Precision test of HPLC analysis for atenolol in human plasma

样品实际浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测得浓度($\mu\text{g/L}$) $\bar{x} \pm s$		RSD %		回收率(%)	
	日内($n=3$)	日间($n=5$)	日内($n=3$)	日间($n=5$)	日内($n=3$)	日间($n=5$)
25	27.8 $\pm$ 0.3	28.0 $\pm$ 0.6	1.1	3.0	111.2	112.1
200	201.8 $\pm$ 6.1	201.3 $\pm$ 8.5	3.0	4.0	100.9	100.6
500	483.6 $\pm$ 5.3	488.9 $\pm$ 11.5	1.1	2.3	96.7	97.8

阿替洛尔的血药浓度测定,文献报道多为荧光检测的高效液相色谱法。本实验曾经作了样品直接测定比较,紫外检测灵敏度可与荧光媲美,且在较低的波长 UV 228 nm 时灵敏度最高。

色谱分析中采用了去碱基活性 C_{18} 柱,获得满意的色谱效果。样品分析时间仅为 7 min。

血药提取方法,文献报道用醋酸乙酯回收率较高,但杂质多,乙醚提取回收率低,用二氯甲烷-正丁醇杂质明显减少,但操作繁琐。为节省有机溶剂,简化方法,本实验用 0.2 mL 血样和 1 mL 二氯甲烷一次提取,虽然提取率为 65%,由于本法具相当的灵敏度,最低检测浓度达 7.5 $\mu\text{g/L}$,已基本达到实验要求。

本实验只对阿替洛尔原型物进行分析,没有对手性药物进行拆分。

一次性口服受试药贝氏阿替洛尔片(B)50 mg,或对照药九福阿替洛尔片(A)50 mg,100 mL 温开水送服,服药后 2 h 后给予统一早餐(50 g 面包 1 个,鸡蛋 1 只,牛奶 100 mL),午餐统一为标准餐。前后两次给药间隔时间为 1 wk。服药前和服药后 0.25,0.5,1,1.5,2,2.5,3,4,6,9,13,24 h 前臂静脉取血 5 mL,立即加入肝素抗凝试管中,轻轻混匀,尽快离心 $3\,000 \times g$,10 min,分离血浆贮存 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,待分析。

2.3 数据处理:

所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。血药浓度-时间数据采用 3P97 药动学程序进行房室模型拟合并计算药动学参数,达峰时间($T_{\max}$)和峰浓度($C_{\max}$)采用实测值,药时曲线下面积(AUC)采用梯形方法计算实测值(AUC_{0-T})。所得药代动力学参数均采用配对 t 检验进行对照药与受试药之间的比较,其中 $C_{\max}$, $T_{\max}$ 和 AUC_{0-T} 进行生物等效性分析。相对生物利用度(F)采用下式计算:

$$F_1(\%) = \frac{\text{受试药 } \text{AUC}_{0-T}}{\text{对照药 } \text{AUC}_{0-T}} \times 100\%;$$

$$F_2(\%) = \frac{\text{受试药 } \text{AUC}_{0-\infty}}{\text{对照药 } \text{AUC}_{0-\infty}} \times 100\%$$

3 结果与讨论

3.1 方法学考察

经 HPLC 分析,测得阿替洛尔峰高与内标峰高之比(F)作纵坐标,以血浆阿替洛尔浓度为横坐标,得到 10~500 $\mu\text{g/L}$ 范围的血浆阿替洛尔浓度标准曲线,其回归方程为:

$$F = 0.0033C + 0.01418 \quad r = 0.9996$$

日内、日间误差及相对回收率结果见表 1。符合药动力学研究要求。

3.2 阿替洛尔的药动学与相对生物利用度

20 名受试者实验期间未见其它不良反应,实验结束后复查肝肾功能均正常。

阿替洛尔的平均血药浓度时间数据见图 1。血药浓度数据经 3P97 程序拟合并计算药动学参数,主要药动学参数见表 2。贝氏阿替洛尔片和对照阿替洛尔片的药动学特点是大部分符合具有一级消除速率常数的一房室模型,为便于比较,统一按一室模型计算。时滞 t_{lag} 分别为(0.20 $\pm$ 0.08) h(对照药)和(0.21 $\pm$ 0.06) h(受试药), $P > 0.05$;吸收半衰期 $t_{1/2K_a}$ 分别为(0.88 $\pm$ 0.42) h(对照药)和(0.77 $\pm$ 0.46) h(受试药), $P > 0.05$ 。两制剂的体内消除过程基本一致,消除半衰期 $t_{1/2K_e}$ 分别为(4.24 $\pm$ 1.09) h(对照药)和(4.27 $\pm$ 1.07) h(受试药), $P > 0.05$;比清除率 CL/F_{S} 分别为(23.1 $\pm$ 4.9) L/h(对照药)和(23.2 $\pm$ 6.6) L/h(受试药), $P > 0.05$;

平均留驻时间 $MRT_{0-\infty}$ 分别为 $(10.44 \pm 2.79)h$ (对照药) 和 $(9.34 \pm 1.87)h$ (受试药), $P > 0.05$ 。 T_{max} 分别为 $(2.5 \pm 0.8)h$ (受试药) 和 $(2.8 \pm 0.9)h$ (对照药) $P > 0.05$; 受试药的峰浓度较高, C_{max} 分别为 $(326.1 \pm 101.4) \mu g/L$ (受试药) 和 $(301.1 \pm 73.3) \mu g/L$ (对照药), $P > 0.05$; 曲线下面积 AUC_{0-T} 分别为 $(2573.2 \pm 737.6) \mu g \cdot h/L$ (受试药) 和 $(2$

$485.4 \pm 606.9) \mu g \cdot h/L$ (对照药), $P > 0.05$; $AUC_{0-\infty}$ 分别为 $(2802.3 \pm 830.5) \mu g \cdot h/L$ (受试药) 和 $(2775.8 \pm 684.6) \mu g \cdot h/L$ (对照药), $P > 0.05$ 。

按实测值 AUC_{0-T} 计算, 贝氏阿替洛尔片相对生物利用度为 $(105.5 \pm 27.4) \%$ 。

表 2 口服 50 mg 阿替洛尔片后不同时间平均血药浓度

制剂	取血时间(h)											
	0.25	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	6	9	13	24
(A)	20.4	69.7	171.7	213.9	248.2	267.7	267.1	219.5	157.6	107.1	63.0	23.2
$\pm s$	13.7	34.1	57.9	71.5	75.6	79.7	76.7	67.7	45.4	27.5	16.3	11.6
(B)	27.4	105.7	219.6	249.1	266.1	281.0	295.4	240.6	161.5	110.9	64.5	22.2
$\pm s$	26.7	57.0	107.5	110.2	109.3	99.3	92.0	66.2	44.2	38.5	24.2	11.1

表 3 单剂量口服 50 mg 阿替洛尔片药动学参数

	t_{lag} (h)	K_e (h^{-1})	K_a (h^{-1})	$t_{1/2Ka}$ (h)	$t_{1/2Ke}$ (h)	$CL/F(s)$ (L/h)	$V/F[6]$ (L)	$MRT_{0-\infty}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu g/L$)	AUC_{0-T} ($\mu g/L \cdot h$)	F_1 (%)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu g/L \cdot h$)	F_2 (%)
$x(A)$	0.20	0.18	0.99	0.88	4.24	23.1	142.8	10.44	2.8	301.1	2485.4	100.0	2775.8	100.0
s	0.08	0.05	0.52	0.42	1.09	4.9	52.5	2.79	0.9	73.3	606.9		684.6	
$x(B)$	0.21	0.17	1.25	0.77	4.27	23.2	141.7	9.34	2.5	326.1	2573.2	105.5	2802.3	115.0
s	0.06	0.04	0.71	0.46	1.07	6.6	50.1	1.87	0.8	101.4	737.6	27.4	830.5	36.2
$t-test$	0.830	0.71	0.05	0.09	0.91	0.96	0.93	0.059	0.13	0.32	0.61		0.88	
P	> 0.05	> 0.05	0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05		> 0.05	

注:A:对照药 B:受试药

Note:A:Controlled B:Tested

表 4 生物等效性分析结果

	方差分析(F 值)				
	个体间	制剂间	周期间	t_1	t_2
$\ln AUC_{(0-T)}$	8.9089	1.1370	1.4436	42.738	55.762
$\ln C_{max}$	2.7742	0.4187	0.7393	4.382	4.497
$\ln T_{max}$	2.056	2.722	1.842	4.382	4.497
$F_{0.05}$	2.203	4.414	4.414		

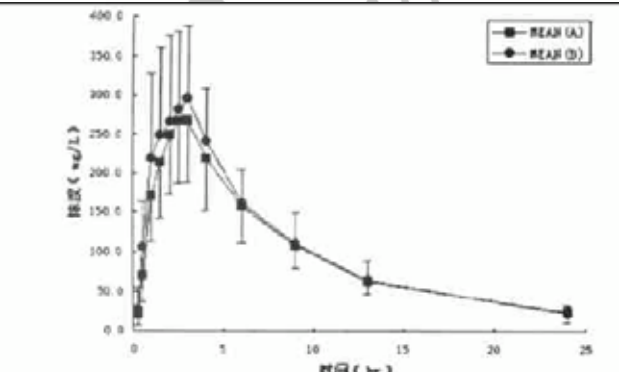


图 1 口服 50 mg 阿替洛尔片平均血药浓度-时间曲线
Fig 1 Mean Plasma concentration- Time curve after oral dose of 50 mg Atenolol

A:对照药 B:受试药

A:Controlled B:Tested

3.3 生物等效性评价

将主要药物动力学参数 C_{max} , T_{max} 和 AUC_{0-T} 对数转换后进行方差分析, 结果显示, 三个参数在受试药与对照药之间存在均无显著性差异 ($P > 0.05$), 服药周期对三个参数亦无明显影响 ($P > 0.05$), 只有 C_{max} , AUC_{0-T} 存在较明显的个体间差异 ($P < 0.05$)。进一步在 $\alpha = 0.05$ 的水平上进行双单侧检验和 $(1-2\alpha)$ 置信区间法分析, 结果见表 4。根据方差分析和双单侧检验及 $(1-2\alpha)$ 置信区间检验的结果和生物等效性判断的原则, 受试药 AUC_{0-T} , T_{max} 的 90% 可信限落在对照药 80% ~ 125% 范围内, C_{max} 落在 70% ~ 143% 的范围内, 可认为两种制剂具有生物等效性。

上述统计学分析表明, 受试药 (B) 与对照药 (A) 在吸收程度与吸收速度上有相同的生物等效性。广州贝氏药业有限公司生产的阿替洛尔片与上海九福药业有限公司生产的阿替洛尔片生物等效。受试药阿替洛尔片的相对生物利用度为 $(105.5 \pm 27.4) \%$ 。

参考文献

- [1] 汪晓梅,余细勇,林曙光,等.柱前衍生化高效液相色谱法拆分人体血浆和尿液中阿替洛尔对映体的研究[J].药物分析杂志,1998,18(6):363 .
- [2] 中国药典 2000 版[S],2000:附录 193 .

收稿日期:2002-02-05