奥美拉唑肠溶胶囊的人体药物动力学和生物等效性研究

周云芳[1],邹晓华[1],代宗顺[2](1.浙江省丽水市第二人民医院,浙江 丽水 323000;2.华中科技大学同济医学院临床药理研究所,武汉 430030)

摘要:目的 研究奥美拉唑肠溶胶囊在人体内药动学和生物等效性。方法 健康志愿者 20名,随机双交叉单剂量口服通化神源药业有限公司研制的奥美拉唑肠溶胶囊(试验制剂)和海口康元制药有限公司生产的奥美拉唑肠溶胶囊(参比制剂),剂量分别为 40 mg,剂间间隔为 1周。分别于服药后 12 h内多点抽取静脉血,用高效液相色谱(HPLC)法测定血浆中奥美拉唑肠溶胶囊的浓度。用 DAS(Drug And Statistics, version 2.0)药动学程序计算相对生物利用度并评价两种制剂生物等效性。AUC_{0-12},$AUC_{(0-inf)}$和 C_{max}经方差分析和双单侧 t检验,T_{max}进行秩和检验。结果 单剂量口服奥美拉唑肠溶胶囊试验和参比制剂后,血浆奥美拉唑的 C_{max}分别为(1 146.77 ±386.58) ng·mL^{-1}和(1 138.93 ±360.90) ng·mL^{-1};T_{max}分别为(2.40 ±0.53) h和(2.28 ±0.44) h;$AUC_{(0-12)}$分别为(4 853.61 ±1 960.52) ng·h·mL^{-1}和(4743.06 ±1 740.71) ng·h·mL^{-1};$AUC_{(0-inf)}$分别为(5 111.76 ±2 031.72) ng·h·mL^{-1}和(4 942.71 ±1 833.39) ng·h·mL^{-1}。$AUC_{(0-12)}$的 90%可信区间为 94.6 ~106.3%,$AUC_{(0-inf)}$的 90%可信区间为 96.5 ~107.2%,C_{max}的 90%可信区间为 95.9 ~104.3%。结论 试验制剂与参比制剂的人体相对生物利用度为(101.32 ±14.90)%,试验制剂与参比制剂具有生物学等效性。

关键词:奥美拉唑;药动学;相对生物利用度;生物等效性;高效液相色谱法
中图分类号:R943.41;R945.2;R969.1 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2008)03-0223-04

Pharmacokinetics and Bioequivalence of Omeprazole Enteric-coated Capsules in Chinese healthy volunteers

ZHOU Yun-fang[1], ZOU Xiao-hua[1], DAI Zong-shun[2] (1. *The Second People's Hospital of Lishui City, Lishui* 323000, *China*; 2. *Institute of Clinical Pharmacology, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan* 430030, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the Pharmacokinetics and Bioequivalence of Omeprazole Enteric-coated Capsules in Chinese healthy volunteers. **METHODS** A single oral dose (40mg of tested and reference formulation) were given to 20 healthy volunteers in

作者简介:周云芳,男,在读硕士,副主任药师 Tel: 13567622808 E-mail: zyf2808@sohu.com

a randomised crossover study. The concentrations of Trimetazidine in plasma were determined by HPLC. The pharmacokinetics parameters were calculated and the bioavailability and bioequivalence of two formulations were evaluated by DAS program. **RESULTS** After a single dose, the pharmacokinetics parameters for Trimetazidine were as follows: C_{max} were (1 146.77 ±386.58) ng• mL^{-1} and (1 138.93 ±360.90) ng• mL^{-1}; T_{max} were (2.40 ±0.53) h and (2.28 ±0.44) h; $AUC_{(0-12)}$ were (4 853.61 ±1 960.52) ng• h• mL^{-1} and (4 743.06 ±1 740.71) ng• h• mL^{-1}; $AUC_{(0-inf)}$ were (5 111.76 ±2 031.72) ng• h• mL^{-1} and (4 942.71 ± 1 833.39) ng• h• mL^{-1} for tested and reference formulation respectively. The 90% confidential interval of $AUC_{(0-12)}$, $AUC_{(0-inf)}$ and C_{max} of tested formulation were 94.6% ~106.3%, 96.5% ~107.2% and 95.9% ~104.3% respectively. **CONCLUSION** The relative bioavailability was (101.32 ±14.90)%; The results of the statistic analysis showed that the two formulations were bioequivalence.

KEY WORDS: omeprazole; pharmacokinetics; relative bioavailability; bioequivalence; high performance liquid chromatography

奥美拉唑(omeprazole)是一种苯并咪唑类质子泵抑制剂,可选择性抑制壁细胞中的 H^+, K^+-ATP酶(又称质子泵),从而阻断胃酸分泌的最后步骤,产生强力的、剂量依赖性抑制胃酸分泌作用。临床用于胃溃疡、十二指肠溃疡、应激性溃疡、反流性食管炎和卓-艾综合征(胃泌素瘤)[1-2]。

本实验建立与评价高效液相色谱法检测人血浆奥美拉唑浓度的方法,在此法基础上研究奥美拉唑肠溶胶囊在中国健康志愿者体内的药动学和相对生物利用度,并评价生物等效性。以期为临床用药提供药动学依据和质量保证。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂和仪器

试验制剂:奥美拉唑肠溶胶囊,规格:20 mg粒,批号:060301;标示量:98.9%;由通化神源药业有限公司研制、生产。参比制剂:奥美拉唑肠溶胶囊,规格:20 mg粒,批号:060401;标示量:98.9%;批准文号:国药准字 H20046272;由海口康元制药有限公司生产。

甲醇和乙腈(色谱纯,天津市科密欧化学试剂开发中心);三氟乙酸(Sigma, 064K3647),乙酸乙酯、正己烷、氢氧化钠为分析纯;实验用水均为重蒸馏水(本实验室自制)。奥美拉唑对照品(通化神源药业有限公司提供,批号:060221);氟康唑对照品(中国药品生物制品检定所,纯度 99.9%)。高效液相色谱仪为 Agilent1100系列,包括 G1322A在线脱气机,G1311A四元泵,G1313A自动进样器,G1316A温控箱,G1315B二极管阵列检测器,Agilent化学工作站(Rev A.10.02.[1757])。电子分析天平(AB204-A,梅特勒-托利多(上海)仪器公司);涡旋混合器(FZQ-2,江苏泰县医疗器械厂);高速冷冻离心机(TGL-16G,上海安亭科学仪器厂);重蒸水仪(1810-B型,江苏金坛市科析仪器有限公司)

1.2 受试者选择

根据药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则[3],选取 20名健康男性志愿者,年龄 21 ~24岁,体重 55 ~77 kg。受试者无烟酒嗜好,无神经系统、精神异常及代谢异常等病史,血尿常规、肝肾功能及心电图等检查均正常,身体状况良好。受试前 2周至整个试验期间禁烟、酒和禁服其他任何药物。试验方案经医学伦理委员会批准,受试者均签署知情同意书。

1.3 给药方法与样品采集

采用单盲、单剂量、随机、2×2交叉试验设计。即将 20名健康受试者随机分为两组,每组各 10名。1组先服参比制剂 R,然后服试验制剂 T,两次服药相隔 1周,以 O表示,即 ROT。2组服药顺序为 TOR。给药前 12 h进清淡晚餐后禁食过夜,于次日早晨空腹口服试验制剂或参比制剂 40 mg,用 200 mL温开水送服,服药后 2 h可以饮水;服药后 4 h进统一标准午餐。采血总时间为 12 h。服药前取空白血,服药后分别于 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h取静脉血 4.0 mL,注入肝素化的试管,离心(3 000 r• min^{-1} ×10 min)取血浆,-65 ℃冰冻保存备测。

1.4 血浆样品处理及血药浓度测定

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX XDB-C_{18}(4.6 mm×150 mm, 5 μm);保护柱:Agilent XDB-C_{18}保护柱(4.6 mm×12.5 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1% TFA-水 =20∶10∶70;流速:1.0 mL• min^{-1};柱温:30 ℃;检测波长:302 nm,1 ~5 min 262 nm;参比波长:380 nm;检测灵敏度:0.1 mau。

1.4.2 血浆样品的处理方法 准确吸取待测血浆样品 1.0 mL于 10 mL具塞试管中,加入 100 μg• mL^{-1}的氟康唑内标工作液 50 μL,混匀后加入 0.1 mol/L氢氧化钠溶液 150 μL。再加入乙酸乙酯 2.5 mL,正己烷 2.5 mL,漩涡混匀 2 min。静止分层 10 min后,转移上层有机相于另一刻度离心管中,氮吹仪中吹干。用 20%乙腈 250 μL复溶,取复溶液于自动进样器的样品瓶中,设定 30 μL进样检测。

1.5 血浆标准曲线的制备和定量下限[3]

1.5.1 血浆标准曲线的制备 取 8只 10 mL具塞试管,依次加入不同浓度的奥美拉唑标准工作溶液,再加入空白血浆 1.0 mL,配成浓度相当于 25, 50, 100, 200, 100, 800, 1 200, 1 600 ng• mL^{-1}的血浆样品,再按“1.4.2”项处理方法处理后,测定奥美拉唑峰面积 A_i,内标峰面积 A_s,以 A_i/A_s为纵坐标,以所对应各点浓度(C)为横坐标绘制标准曲线。经最小二乘法线性回归,得奥美拉唑的标准曲线回归方程为 $C = 619.525/A_s + 9.872$($r = 0.999\ 9$)。

1.5.2 定量下限 取标准曲线的最小浓度值 25 ng• mL^{-1}为定量下限。

1.6 方法学考察与评价

1.6.1 色谱行为 空白血浆、奥美拉唑血浆标准以及健康受试者血浆样品,经 HPLC分析测定得到的色谱图见图 1。

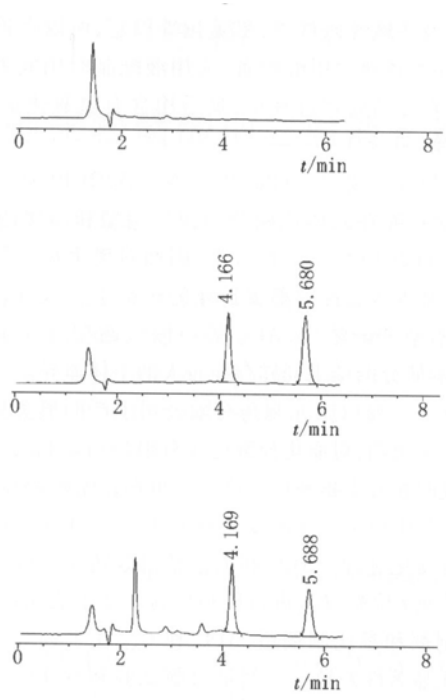

图 1 奥美拉唑的高效液相色谱图

A-空白血浆; B-血浆标准; C-样品-口服 1.5 h后血浆样品

Fig 1 HPLC Chromatograms of Omeprazole

A - blank plasma; B - plasma standard; C - sample-after 1.5 h administration

1.6.2 精确度 准确配制浓度为 50, 400, 1 200 ng·mL^{-1}的血浆标准溶液(每个浓度 5份),再按 1.4.2项处理后。于同一日内测定 5次和连续 5d测定,计算日内、日间精密度。结果见表 1。

表 1 血浆奥美拉唑的日内、日间精密度(n=5, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Precision of Omeprazole in human plasma (n=5, $\bar{x}\pm s$)

浓度 /ng·mL^{-1}	日内精密度 /ng·mL^{-1}	RSD/%	日间精密度 /ng·mL^{-1}	RSD/%
50	49.90 ±2.313	4.63	52.21 ±2.06	3.94
400	86.98 ±7.87	2.03	389.90 ±16.77	4.30
1 200	1 162.41 ±44.53	3.83	1 171.87 ±57.76	4.93

1.6.3 相对回收率 准确配制浓度为 50, 400, 1 200 ng·mL^{-1}的血浆标准溶液(每个浓度 5份),再按"1.4.2"项处理后,进样检测,计算检测量。以检测量与加入量的比值计算回收率。结果见表 2。

表 2 血浆奥美拉唑的相对回收率(n=5, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Relative recoveries of Omeprazole in human plasma (n=5, $\bar{x}\pm s$)

理论浓度 /ng·mL^{-1}	测得浓度 /ng·mL^{-1}	相对回收率 /%	RSD %
50	52.53 ±1.68	105.06 ±3.36	3.20
400	413.61 ±16.33	103.40 ±4.08	3.95
1 200	1 205.41 ±39.87	100.45 ±3.32	3.31

1.6.4 绝对回收率 准确配制浓度为 50, 400, 1 200 ng·mL^{-1}的血浆标准溶液(每个浓度 5份),再按"1.4.2"项处理后,计录奥美拉唑的峰面积,为血浆标准峰面积。另配制 50, 400, 1 200 ng·mL^{-1}的奥美拉唑纯标准品溶液,挥干后流动相 250 μL复溶, 30 μL进样检测;记录不同浓度奥美拉唑的峰面积,为该浓度纯标准品的峰面积。血浆标准的峰面积与纯标的峰面积的比值,即为绝对回收率。结果见表 3。

表 3 血浆奥美拉唑的绝对回收率(n=5, mean ±SD)

Tab 3 Absolute recoveries of Omeprazole in human plasma (n=5, mean SD)

理论浓度 /ng·mL^{-1}	血浆标准峰面积 /mAU·s	纯标峰面积 /mAU·s	绝对回收率 /%
50	2.766 ±0.039	3.900	70.92 ±1.00
400	25.916 ±1.041	33.986	76.26 ±3.06
1 200	82.226 ±3.925	96.341	85.35 ±4.07

1.6.5 样品稳定性 ①冻融条件下血浆样品的稳定性:配制低、中、高三个浓度的奥美拉唑血浆标准溶液,每个浓度 5 mL;放置-65 ℃冰箱 2 h后解冻,各取 1 mL血浆样品检测。剩余的血浆样品再次放入 -65 ℃冰箱中, 2 h后解冻,各取 1 mL血浆样品检测。重复 3次,考察其稳定性。三个浓度的 RSD分别为 1.80%, 0.07%, 0.30%,结果显示冻融条件对血浆样品的检测结果没有明显的影响。②室温放置和冰冻保存血浆样品的稳定性:配制低、中、高三个浓度的奥美拉唑标准血浆样品溶液,每个浓度 5份,其中 3份在室温下放置 0, 6, 12 h后再经血浆样品处理方法处理后进样检测,记录结果。另外 2份分别在 -65℃冰箱冰冻保存 2周和 4周后,再经血浆样品处理方法处理后进样检测,记录结果。三个浓度的 RSD分别为 1.38%, 2.20%, 1.01%,说明血浆样品在室温放置和冰冻保存的条件下,均有很好的稳定性。

1.7 数据处理

用 DAS程序处理,用非房室模型计算药动学参数。C_{max}和 T_{max}均为实测值; AUC为 DAS计算所得。相对生物利用度按公式 $F=(AUC_{0\text{-}12})_T/(AUC_{0\text{-}12})_R\times 100\%$计算。

单剂量试验的药动学参数和 C_{max},经对数转换后进行交叉试验的方差分析,同时进行双单侧 t检验及 90%置信区间计算, T_{max}进行非参数法检验;对 2制剂进行生物等效性评价。

2 结 果

2.1 血药浓度-时间曲线

20名健康志愿者随机双交叉单剂量口服 40 mg试验的奥美拉唑肠溶胶囊和 40 mg参比的奥美拉唑肠溶胶囊,用 HPLC法测得不同时间的奥美拉唑平均血药浓度-时间曲线见图 2。

药动学参数 20名健康志愿者随机双交叉单剂量口服 40mg奥美拉唑试验和参比制剂后,血浆奥美拉唑的主要药动学参数见表 4。以试验和参比制剂的 0-t时间的曲线下面积 $AUC_{(0\text{-}12)}$计算,人体相对生物利用度 F=(101.32 ±14.90)%。

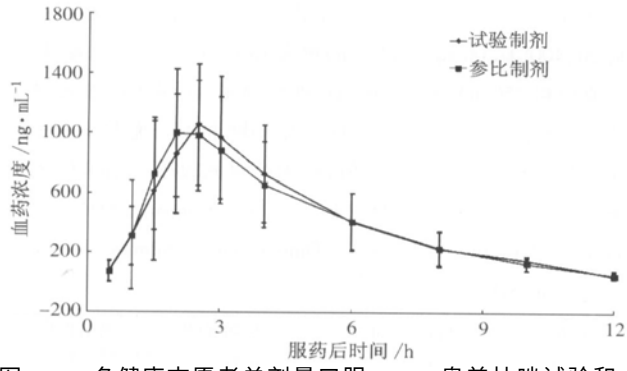

图 2　20名健康志愿者单剂量口服 40 mg奥美拉唑试验和参比制剂后血浆平均药物浓度-时间曲线

Fig 2　Mean concentration-time curve of Omeprazole after a single dose of 40 mg of tested and reference formulations administration to 20 healthy volunteers

表 4　单剂量口服奥美拉唑试验与参比制剂的主要药动学参数

Table 4　Pharmacokinetical parameter of Omeprazole after a single dose of 40 mg tested and reference formulations

药动学参数	测得值	参考值
C_{max} /ng· mL^{-1}	1 146.77 ±386.58	1 138.93 ±360.90
T_{max} /h	2.40 ±0.53	2.28 ±0.44
$t_{1/2(ke)}$ /h	2.34 ±0.83	2.03 ±0.59
$AUC_{(0-12)}$ /ng· h· mL^{-1}	4 853.61 ±1 960.52	4 743.06 ±1 740.71
$AUC_{(0-inf)}$ /ng· h· mL^{-1}	5 111.76 ±2 031.72	4 942.71 ±1 833.39

2.3　生物等效性

单剂量药动学参数 AUC和 C_{max},经对数转换后进行交叉试验的方差分析,结果显示试验制剂和参比制剂的 $AUC_{(0-12)}$, $AUC_{(0-inf)}$, C_{max}在周期间和制剂间差异无显著($P > 0.05$),在个体间差异显著($P < 0.05$)。 $AUC_{(0-12)}$、$AUC_{(0-inf)}$和 C_{max}的 90%可信区间分别为 94.6% ~106.3%、96.5% ~107.2%和 95.9% ~104.3%。按照生物等效性判定标准,试验制剂 AUC的 90%置信区间落在标准参比制剂的 80% ~125%, C_{max}落在 70% ~143%,即可认为生物等效[3]。根据本试验的结果,可判定两制剂生物等效。

对试验和参比制剂的 T_{max}进行非参数检验,表明健康志愿者单剂量口服试验制剂和参比制剂的达峰时间无差异。

3　讨　论

本研究建立了检测血浆奥美拉唑浓度的高效液相色谱分析的方法,运用二极管阵列检测器,提高了分离度,加快了出峰时间,本方法专属性高,分离完全,成本较低廉;相对回收率在 100%附近,日内、日间精密度 RSD均小于 15%,符合生物等效性指导原则关于生物样品分析方法的基本要求,可用于奥美拉唑人体药动学和生物等效性试验的血药浓度检测。

本研究显示,口服奥美拉唑肠溶胶囊后,经小肠吸收,1 h内起效,0.5 ~3.5 h血药浓度达峰值,作用持续 24 h以上,可分布到肝、肾、胃、十二指肠、甲状腺等组织,且易透过胎盘。通常单剂量生物利用度约 35%,多剂量生物利用度增至约 60%,血浆蛋白结合率为 95% ~96%。

奥美拉唑在酸性条件下很不稳定,并很快降解;在甲醇溶液中以及在碱性条件下,奥美拉唑稳定,所以在检测过程中,标准品贮备液用甲醇配置;应用液配制时用氢氧化钠溶液稀释。在样品处理过程中,最后用含有氢氧化钠的乙腈-水溶液复溶。

奥美拉唑主要经 CYP2C19代谢, CYP2C19具有基因多态性;奥美拉唑在人体代谢分为快代谢型和慢代谢型。 PM个体中, CYP2C19代谢活性较低,因而对奥美拉唑的代谢能力降低。基因多态性对奥美拉唑的药动学参数有很大的影响,快代谢型的峰浓度、AUC等与慢代谢型存在很大的差异[4-6]。本研究的结果同样存在较大的个体差异。

本研究以海口康元制药有限公司生产的奥美拉唑肠溶胶囊为参比制剂,对通化神源药业有限公司研制的奥美拉唑肠溶胶囊的相对生物利用度进行了单剂量给药的试验研究。通过对血浆中奥美拉唑浓度的测定,研究了奥美拉唑的体内血药浓度变化过程。 AUC和 C_{max}经对数转换后进行方差分析和双单侧 t检验, T_{max}进行秩和检验。结果表明:单剂量口服试验制剂和参比制剂后, AUC和 C_{max}在生物等效性范围内, T_{max}无显著性差异。单剂量口服试验和参比的奥美拉唑的人体相对生物利用度为(101.32 ±14.90) %;统计学分析表明,试验制剂与参比制剂具有生物学等效性,达峰时间无明显差异。

在整个研究期间, 20例健康志愿者中无一例因不良反应而终止试验,其血液、血液生化、尿常规以及心电图检查在试验前后未见异常,说明本品在试验剂量下表现出良好的安全性。

REFERENCES

[1] HU Y R, ZHANG N, SHAN L H, *et al*. Determination of omeprazole concentration in plasma by RP-HPLC and its pharmacokinetics in healthy male volunteers[J]. Chin J Clin Pharmacol Therapeu(中国临床药理学与治疗学), 2005, 10(9): 1065-1068.

[2] MANES G, PIERAMICO O, PERRI F, *et al*. Twice-daily standard dose of omeprazole achieves the necessary level of acid inhibition for Helicobacter Pylori eradication. A randomized controlled trial using standard and double doses of omeprazole in triple therapy [J]. Dig Dis Sci, 2005, 50: 443-448.

[3] Ch P(2005) Vol II(中国药典 2005年版 二部) [S]. 2005: 173-176.

[4] HU X P, XU J M, HU Y M, *et al*. Effects of CYP2C19 genetic polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of omeprazole in Chinese volunteers[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2005, 21(10): 1210-1213.

[5] FU L Q, HUANG F, WU D Z, *et al*. Pharmacokinetic comparison of omeprazole and its metabolites between Chinese CYP2C19 EMs and PMs subjects[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2004, 39(8): 614-616.

[6] SHIMATANI T, INOUE M, KUROIVA T, *et al*. Effect of omeprazole 10mg on intragestric PH in three different CYP2C19 genotypes, compared with omeprazole 20mg and lafutidine 20 mg, a new H2-receptor for antagonist [J]. Alinent Pharmacol Ther, 2003, 18(11-12): 1149-1157.

收稿日期: 2007-12-11