

阿魏酸钠胶囊与片剂在健康人体的生物等效性研究

杨婷¹, 余斌¹, 宋欣², 刘丽萍¹

1. 安徽医科大学第二附属医院药剂科, 安徽合肥 230601; 2. 安徽中医学院药学院, 安徽合肥 230038

[摘要] 目的: 研究阿魏酸钠胶囊和阿魏酸钠片在健康志愿受试者中的药动学和人体生物等效性。方法: 20名健康志愿者随机交叉单次口服受试制剂阿魏酸钠胶囊和参比制剂阿魏酸钠片, 均 100 mg, 采用 HPLC-UV 检测方法, 测定血浆中阿魏酸钠浓度, 采用 Das2.1 程序计算其药动学参数, 评价两种制剂的人体生物等效性。结果: 受试制剂及参比制剂主要药动学参数分别为: C_{max} (1.021±0.286) $\mu\text{g/ml}$ 和 (1.066±0.397) $\mu\text{g/ml}$, t_{max} (0.388±0.078) h 和 (0.371±0.083) h, $t_{1/2}$ (0.887±0.431) h 和 (0.824±0.404) h, $AUC_{(0-t)}$ (0.613±0.172) $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ 和 (0.614±0.235) $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ 。结论: 受试制剂阿魏酸钠胶囊和参比制剂阿魏酸钠片具有生物等效性。

[关键词] 阿魏酸钠; 生物等效性; 高效液相-紫外检测法

[中图分类号] R969.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2011)11(c)-037-03

Bioequivalence of Sodium Ferulate Capsules and Tablets in healthy volunteers

YANG Ting¹, YU Bin¹, SONG Xin², LIU Liping¹

1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Province, Hefei 230601, China; 2. College of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Anhui Province, Hefei 230038, China

[Abstract] Objective: To study the pharmacokinetic characteristics of Sodium Ferulate Capsules and Tablets in healthy volunteers and to evaluate the bioequivalence of them. **Methods:** In a randomized, crossover and self-control study, 20 healthy volunteers were orally administered Sodium Ferulate Capsules and Tablets (100 mg respectively). The plasma concentrations were determined by the HPLC-UV. Pharmacokinetic parameters were calculated and the bioequivalences were evaluated by DAS2.1 software. **Results:** The main pharmacokinetic parameters of Sodium Ferulate were as follows: C_{max} (1.021±0.286) $\mu\text{g/ml}$ and (1.066±0.397) $\mu\text{g/ml}$, t_{max} (0.388±0.078) h and (0.371±0.083) h, $t_{1/2}$ (0.887±0.431) h and (0.824±0.404) h, $AUC_{(0-t)}$ (0.613±0.172) $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ and (0.614±0.235) $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$. **Conclusion:** The test and reference sodium ferulate are bioequivalent.

[Key words] Sodium Ferulate; Bioequivalence; HPLC-UV

阿魏酸(Ferulic Acid)的化学名称为 4-羟基-3-甲氧基-肉桂酸, 是桂皮酸的衍生物之一, 最初在植物的种子和叶子中发现, 是一种广泛存在于植物中的酚酸, 在细胞壁中与多糖和蛋白质结合成为细胞壁的骨架。它在阿魏、当归、川芎仁等中药材中的含量较高, 是这些中药的有效成分之一。阿魏酸钠(Sodium Ferulate)是阿魏酸的钠盐, 具有抑制血小板聚集、松弛血管平滑肌、清除氧自由基、提高膜稳定性、保护血管内皮^[1]、增强免疫功能等功效, 并具有一定的镇痛、解痉作用^[2]。临床上主要用于冠心病^[3]、脑血管病^[4]、肾小球疾病^[5]、肺动脉高压、糖尿病性血管病变^[6]、脉管炎等血管性病症的辅助治疗, 亦可用于偏头痛、血管性头痛的治疗^[7]。本实验目的是研究不同厂家的阿魏酸钠胶囊和阿魏酸钠片的相对生物利用度, 评价两者的生物等效性, 为临床安全合理用药提供依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

日本岛津高效液相系统: LC-10ATvp 型溶剂输送泵, SPD-10Avp 紫外-可见检测器, LC-Solution Light 色谱中文数据系统; Welchorm-C₁₈, 4.6 mm×150 mm, 5 μm 色谱柱 (上

[作者简介] 杨婷, 女, 硕士研究生, 安徽合肥人, 药师, 主要从事医院药学工作。

海月旭)及配套保护柱; TDL80-2B 型离心机(上海安亭); 快速混匀器; AL104/01 型梅特勒电子分析天平。

1.2 药物与试剂

受试制剂: 阿魏酸钠胶囊(开封制药有限公司生产, 批号: 20100302, 规格: 50 mg/粒); 参比制剂: 阿魏酸钠片(成都亨达药业有限公司生产, 批号: 091201, 规格: 50 mg/片)、阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110773-200611)、内标替硝唑对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100336-200703, 含量: 99.8%)。

试剂: 乙腈(美国 TEDIA 试剂有限公司, 色谱纯)、冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司, 分析纯)、盐酸(宿州化学试剂厂, 分析纯)、乙酸乙酯(汕头市西陇化工厂有限公司, 分析纯)、纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法与结果

采用两周期双交叉的实验设计方法。将 20 名健康志愿者随机分为 2 组, 每组 10 名, 服药前 1 天晚餐后禁食不禁水, 分别于次日早晨空腹服用阿魏酸钠胶囊和阿魏酸钠片(均 100 mg), 用 200 ml 温开水送服。服药后 2 h 可饮水, 4 h 统一进餐。每例受试者均于服药前、服药后 5、10、15、20、25、30、40、50、60、90、120、180、240 min 各采血 4 ml, 共计 14 针。

血标本以肝素抗凝,室温静置2 h,4 000 r/min离心10 min,取上清血浆置-20℃冰箱保存备测。1周后进行交叉服药,再次按照上述方法留取标本。

2.1 色谱条件

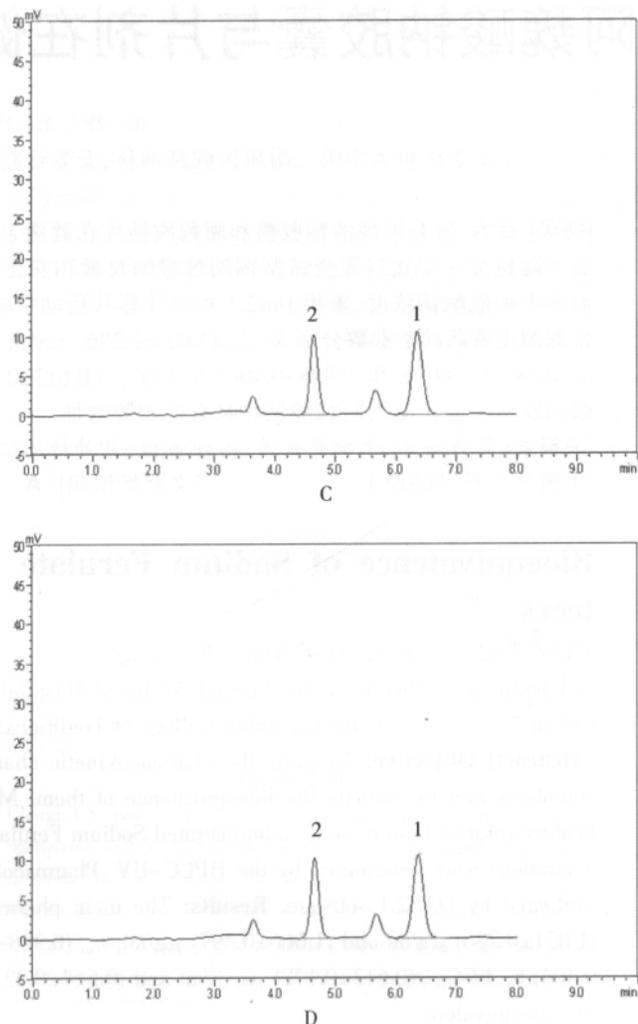
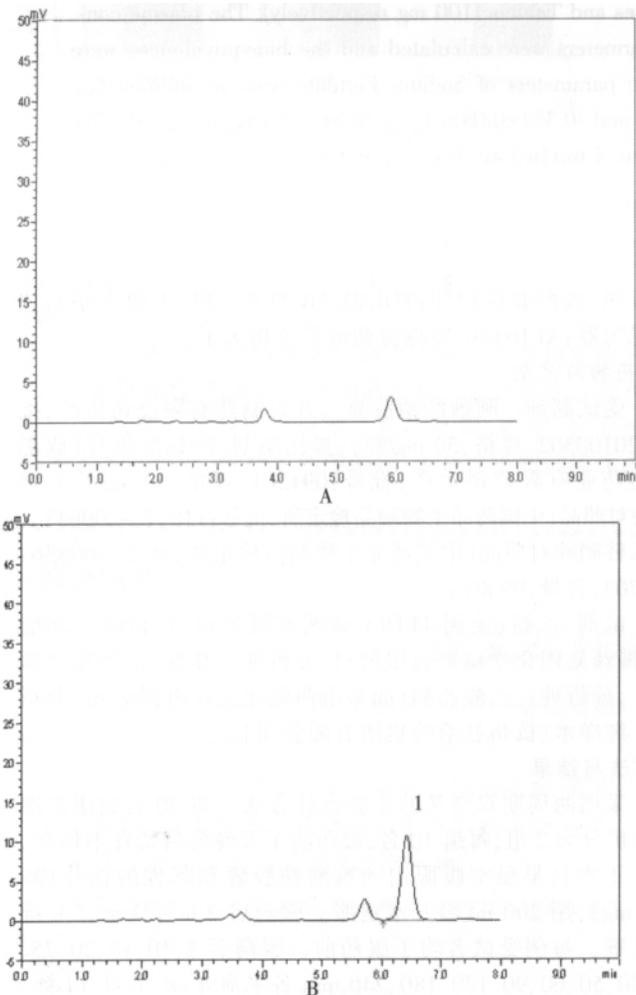
色谱柱为Welchorm-C₁₈ 4.6 mm×150 mm,5 μm,配套保护柱,流动相为乙腈:水:冰醋酸=22:78:1,流速为1.0 ml/min,检测波长为320 nm,灵敏度为0.005 AUFS,进样量为20 μl,柱温为30℃。

2.2 血浆样品处理方法

精密量取血浆200 μl加入内标替硝唑(15.57 μg/ml)20 μl,加入50 μl(0.6 mol/L)HCl溶液,混匀,加入萃取剂乙酸乙酯1 600 μl涡旋震荡2 min,4 000 r/min离心10 min后取上清液,40℃氮气吹干。100 μl流动相复溶,震荡1 min后取20 μl进样分析,以内标法峰面积比定量。

2.3 方法专属性考察

精密量取空白血浆200 μl,按“2.2”项下自“加入50 μl(0.6 mol/L)HCl溶液”依法操作得空白样品色谱图1(A);将一定浓度的阿魏酸对照溶液(1.0 μg/ml)加入空白血浆,按“2.2”项下自“加入50 μl(0.6 mol/L)HCl溶液”依法操作得含阿魏酸血浆样本色谱图1(B);将一定浓度的阿魏酸对照溶液(1.0 μg/ml)加入空白血浆,按“2.2”项下依法操作得含阿魏酸及内标的血浆样本色谱图1(C);取受试者给药后采集的血浆样品200 μl,按“2.2”项下依法操作,得色谱图1(D)。检测器波长均为320 nm。见图1。



A.空白样品溶液;B.含阿魏酸血浆样本溶液;C.含阿魏酸及内标的血浆样本溶液;D.给药后血浆样品溶液;1.阿魏酸钠;2.替硝唑
图1 血浆中阿魏酸钠和替硝唑的HPLC色谱图

2.4 标准曲线和定量下限

在空白血浆中加入不同浓度阿魏酸标准溶液20 μl,配制成相当于阿魏酸血浆浓度为0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、1.20、1.80 μg/ml的样品,按“2.2”项下依法操作,以待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标,待测物浓度为横坐标,并用加权(1/χ²)最小二乘法进行线性回归运算,求得的直线方程即为标准曲线。结果得线性方程为Y=1.139X-0.001,表明阿魏酸在0.05~1.80 μg/ml范围内线性关系良好,最低可定量为0.05 μg/ml(S/N>10)。

2.5 提取回收率试验

将不同浓度的阿魏酸的对照溶液20 μl加入180 μl空白血浆中,配制成高、中、低三个浓度(1.60、1.00、0.06 μg/ml)血浆样品各3份,按“2.2”项下操作,得到阿魏酸峰面积值A₁;另取空白管,配置相应浓度的阿魏酸对照溶液,不做萃取直接检测,得到阿魏酸峰面积值A₂。按公式提取回收率(%)=A₁/A₂×100%来计算阿魏酸的提取回收率。结果阿魏酸在上述3个浓度水平的提取回收率分别为91.33%、85.74%、85.97%。

2.6 精密度试验

取空白血浆加入不同浓度阿魏酸对照溶液,配制阿魏酸

高、中、低3个不同血浆浓度(1.60、1.00和0.06 $\mu\text{g/ml}$)的质量控制(QC)样品,连续测定3d,结果表明日内、日间相对标准差(RSD) $<15\%$ 。

2.7 稳定性试验

取空白血浆加入不同浓度阿魏酸对照溶液,配制阿魏酸高、中、低3个不同血浆浓度(1.60、1.00、0.06 $\mu\text{g/ml}$)的样品,分别考察血浆样品在室温放置0h和8h、在 -20°C 冰箱中反复冻融3次、冷冻条件下放置10d和15d的稳定性,结果显示,按“3.2”项下操作室温放置0、8h, -20°C 冰箱中反复冻融3次和长期冷冻RSD $<15\%$,稳定性较好。

2.8 血药浓度-时间数据和药代动力学参数

20名受试者口服阿魏酸钠胶囊和片剂后的平均血药浓度-时间曲线见图2。主要药动学参数见表1。

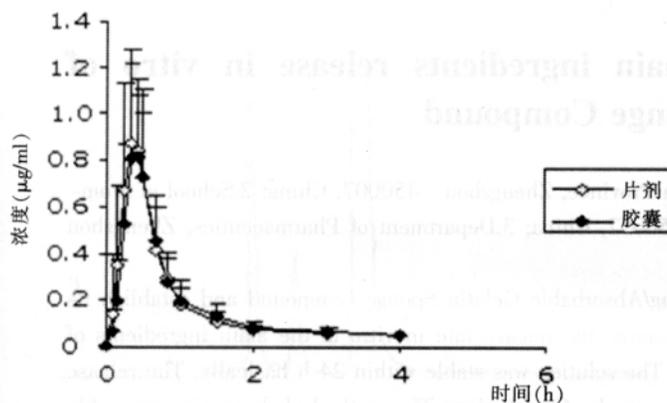


图2 受试者血浆中阿魏酸钠平均血药浓度-时间曲线

表1 受试者口服受试制剂或参比制剂后的平均药物代谢动力学参数

参数	受试制剂	参比制剂
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	1.021 ± 0.286	1.066 ± 0.397
t_{max} (h)	0.388 ± 0.078	0.371 ± 0.083
$AUC_{(0-4)}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$)	0.613 ± 0.172	0.614 ± 0.235
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$)	0.681 ± 0.177	0.674 ± 0.224
$t_{1/2}$ (h)	0.887 ± 0.431	0.824 ± 0.404

2.9 生物等效性评价

将 $\ln(AUC_{(0-4)})$ 、 $\ln(AUC_{(0-\infty)})$ 、 $\ln(C_{\text{max}})$ 经方差分析和双向单侧 t 检验,结果显示两种制剂在吸收程度和达峰浓度上等效。 t_{max} 经非参数检验(配对Wilcoxon法),差异无统计学意义($P>0.05$),表明两制剂在达峰时间上等效。单次口服受试制剂的相对生物利用度为 $(104.4 \pm 19.7)\%$ 。见表2。

表2 方差分析和双向单侧 t 检验表

	方差分析 P 值		双向单侧 t 检验		
	药剂间	周期间	t_1 值	t_2 值	$[1-2\alpha]$ 置信区间
$\ln AUC_{(0-4)}$	0.890	0.470	5.994	6.233	95.1%~110.1%
$\ln AUC_{(0-\infty)}$	0.893	0.472	5.767	6.039	95.2%~110.7%
$\ln C_{\text{max}}$	0.986	0.718	6.963	6.948	88.7%~108.3%

3 讨论

本实验建立了HPLC-UV测定人血浆中阿魏酸钠含量的方法。笔者参考有关文献^[8-11]对血浆样品处理方法进行筛选,选用0.6 mol/L HCl酸化血浆样品,使其易与蛋白分离。为了提高检测灵敏度,笔者先后考察了采用乙醚和乙酸乙酯两种有机溶剂进行提取,发现酸化后的样品经乙酸乙酯提取,提取回收率不仅高而且内源性物质干扰少,为阿魏酸钠体内药物浓度分析和药物动力学研究提供了依据。

20名健康志愿受试者分别口服100 mg阿魏酸钠受试制剂与参比制剂后,经检测得到血浆中阿魏酸钠主要药动学参数并进行方差分析,进一步采用双向单侧 t 检验和 $[1-2\alpha]$ 置信区间法进行生物等效性评价,结果均在等效范围内,证明两种制剂为生物等效制剂。

[参考文献]

- 王勇,邢宝恒,史丹丹.阿魏酸钠对重度子痫前期患者蛋白尿的疗效观察[J].中国医药导刊,2011,13(3):457-458.
- 刘力群,周丹丹,韩凤文.阿魏酸钠临床疗效研究[J].黑龙江医药,2010,23(1):96-97.
- 邹连琦,李玉华,邹峰.阿魏酸钠治疗冠心病疗效观察[J].中国医药,2010,5(5):393-394.
- 谷艳,刘爽,杨青兰,等.探讨缺血性脑血管病的临床诊治体会[J].中国现代药物应用,2010,4(9):108-109.
- 肖迎春,钱晓惠.阿托伐他汀联合阿魏酸钠治疗慢性肾小球肾炎[J].西部医学,2011,23(2):250-252.
- 周玲,喻海筹.阿魏酸钠联合胰激肽酶原酶治疗糖尿病肾病[J].中国医药指南,2010,8(13):241-242.
- 刘会荣.阿魏酸钠的药理作用与临床应用[J].中国药业,2005,14(3):78-79.
- 郑专杰,郝光涛,高洪志,等.阿魏酸钠颗粒人体生物利用度和生物等效性研究[J].解放军药学学报,2008,24(3):210-212.
- 闫冬,赵娜,张希玉,等.阿魏酸钠在健康人体中的生物等效性研究[J].中国新药杂志,2008,17(3):247-250.
- 徐术,胡晋红,李凤前.HPLC测定Beagle犬血浆中阿魏酸钠的浓度及其药代动力学研究[J].中成药,2005,27(9):1062-1065.
- 李再新,吴小红,贺福元,等.大鼠血浆中补阳还五汤及总苷元的阿魏酸药代动力学研究[J].中国药师,2007,10(10):943-945.

(收稿日期:2011-08-08)

欢迎订阅

欢迎投稿