

# 盐酸氨溴索口腔崩解片的人体生物等效性研究

陈白莹<sup>1\*</sup>, 夏铮铮<sup>2</sup>, 常宏<sup>1</sup>(1. 南方医科大学附属深圳市妇幼保健院药剂科, 广东深圳 518028; 2. 香港大学深圳医院药学部, 广东深圳 518053)

中图分类号 R969.1; R378.2; R446.5

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)22-2070-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.22.20

**摘要** 目的: 对生产工艺重大改变前、后盐酸氨溴索口腔崩解片在健康人体的生物等效性进行对比研究。方法: 20名健康男性受试者按交叉试验设计方案分别口服受试制剂和参比制剂各30 mg, 采集服药后48 h内的动态血标本, 以普拉克索为内标, 采用液-质联用(LC-MS)法测定血浆中盐酸氨溴索的质量浓度, 并用DAS 2.0软件统计分析药动学参数。结果: 参比制剂和受试制剂药动学参数分别为:  $c_{\max}$  (84.96 ± 32.46)、(90.86 ± 44.81) ng/ml,  $t_{\max}$  (1.7 ± 0.7)、(1.4 ± 0.3) h,  $AUC_{0-48h}$  (678.85 ± 235.17)、(663.87 ± 214.37) ng·h/ml,  $t_{1/2}$  (9.8 ± 1.9)、(9.7 ± 2.0) h, 主要药动学参数无显著性差异。结论: 生产工艺重大改变前、后生产的两种制剂生物等效。

**关键词** 盐酸氨溴索; 液-质联用法; 药动学; 生物等效性

## Study on Bioequivalence of Ambroxol Hydrochloride Oral Disintegrating Tablets in Healthy Volunteers

CHEN Bai-ying<sup>1</sup>, XIA Zheng-zheng<sup>2</sup>, CHANG Hong<sup>1</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Shenzhen Maternity & Children Health Hospital of Southern Medical University, Guangdong Shenzhen 518028, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shenzhen Hospital of Hong Kong University, Guangdong Shenzhen 518053, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the bioequivalence of Ambroxol hydrochloride oral disintegrating tablets in healthy volunteers after significant change of manufacturing technology. METHODS: Test preparation and reference preparation each 30 mg were given to 20 male healthy volunteers in randomized two-way crossover design. Blood samples were collected within 48 h after medication using pramipexole as internal standard. Plasma concentrations of ambroxol hydrochloride were determined by LC-MS, and pharmacokinetic parameters were analyzed using DAS 2.0 software. RESULTS: The pharmacokinetics parameters of test preparation and reference preparation were as follows:  $c_{\max}$  (84.96 ± 32.46) ng/ml and (90.86 ± 44.81) ng/ml;  $t_{\max}$  (1.7 ± 0.7) h and (1.4 ± 0.3) h;  $AUC_{0-48h}$  (678.85 ± 235.17) ng·h/ml and (663.87 ± 214.37) ng·h/ml;  $t_{1/2}$  (9.8 ± 1.9) h and (9.7 ± 2.0) h, respectively. There was no significant difference in main pharmacokinetic parameters of them. CONCLUSIONS: Two preparations are bioequivalent after significant change of manufacturing technology.

**KEY WORDS** Ambroxol hydrochloride; LC-MS; Pharmacokinetics; Bioequivalence

氨溴索作为溴己新在人体内的活性代谢产物, 于1991年在我国上市以来, 在临床上已经成为急、慢性呼吸道疾病的常用药。盐酸氨溴索口腔崩解片的开发, 提高了该药的生物利用度和吞咽困难患者的依从性。国内、外曾有文献报道采用高效液相-紫外(HPLC-UV)法<sup>[1-4]</sup>或液-质联用(LC-MS)<sup>[5-6]</sup>法研究拟上市制剂盐酸氨溴索口腔崩解片与国外研发原厂生产的同种制剂在健康人体内的生物等效性。笔者在上述方法的基础上, 优化了流动相和内标物质的选择, 新建LC-MS法测定口

服给药后人体血浆中氨溴索的浓度, 统计药动学参数, 判断工艺重大改变前、后两种盐酸氨溴索口腔崩解片是否生物等效, 为临床用药提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Waters 2695型高效液相色谱仪带自动进样器和柱温箱(美国Waters公司); MICROMASS Quattro Micro API型液质联用仪, 带电喷雾离子化源(ESI)(美国Waters公司); 数据采集:

操作前后医务人员均应严格进行手部消毒, 避免发生交叉感染。

## 参考文献

- [1] 吕一欣, 任南, 吴安华, 等. 神经内科住院患者医院感染危险因素研究[J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(1): 29.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准: 试行[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5): 314.
- [3] 应爱娟, 黄金莲, 陈桂枝. 1966例神经内科住院患者医院

- 感染调查分析[J]. 中国预防医学杂志, 2009, 10(6): 507.
- [4] 臧大维, 刘娟. 512例神经内科NICU重症患者医院感染的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(7): 944.
- [5] 孙迎娟, 董国英, 丁钰, 等. 医院感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(9): 1141.
- [6] 戴兆燕, 杨雪英, 陈华. 246例老年患者医院感染分析及对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(22): 3043.
- [7] 张敬, 丁宁, 陈小雄, 等. 急诊重症监护病房医院感染危险因素与干预措施[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(8): 953.

\* 主管药师。研究方向: 医院药学。电话: 0755-83570000-8110。  
E-mail: 709677612@qq.com

(收稿日期: 2013-01-06 修回日期: 2013-02-07)

MassLynx 4.1 软件(美国 Waters 公司); AB-265S 型精密天平(日本梅特勒公司); 涡旋混合器(上海沪西分析仪器厂); MassLynx 4.1 定量处理软件(美国 Waters 公司); Microsoft Office XP (Excel) 软件(美国微软公司)。

## 1.2 药品与试剂

受试制剂: 盐酸氨溴索口腔崩解片(生产工艺重大改变后制剂, 重庆康尔威制药股份有限公司, 规格: 15 mg/粒, 含量: 100.3%, 批号: 20110502); 参比制剂: 盐酸氨溴索口腔崩解片(生产工艺重大改变前制剂, 重庆康尔威制药股份有限公司, 规格: 15 mg/粒, 含量: 100.3%, 批号: 20110501); 盐酸氨溴索对照品(中国食品药品检定研究院, 含量  $\geq 99.8\%$ , 批号: 100599-200502); 内标: 普拉克索对照品(德国勃林格殷格翰国际有限公司, 含量: 99.0%, 批号: H20050600); 空白血浆(长沙血液中心); 甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯, 试验用水为自制蒸馏水。

## 2 方法

### 2.1 研究对象

20 名健康男性受试者, 年龄为  $(23 \pm 2)$  岁, 体质量指数为  $(21 \pm 2)$  kg/m<sup>2</sup>, 试验前、后经病史询问、体格检查和实验室检查, 未发现有临床意义的异常情况。受试者无药物过敏史和药物依赖史, 无精神病史以及其他慢性病史。2 周内未服用任何药物。试验经医院医学伦理委员会批准, 均签署知情同意书。

### 2.2 给药方案

给药前 1 天(基线期)入住 I 期病房。随机分为 2 组, 统一进食清淡晚餐后禁食过夜(至少 10 h)。给药当天清晨根据服药方法和要求服用研究药物, 给药前 0.5 h 和给药后 2 h 之间不能饮水, 给药 2 h 后进食统一标准餐。给药方式为受试者将盐酸氨溴索口腔崩解片 2 片放入口中, 待融化后自然吞服。在服药前 0 h 及服药后 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、24.0、36.0、48.0 h 时取肘静脉血 5 ml 分析。经过 7 d 的清洗期后, 即第 1 次给药后的第 8 天, 交叉服用另外一种制剂后重复上述采血过程。

### 2.3 血样采集

给药前(0 h)及给药后 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、24.0、36.0、48.0 h 时静脉采血, 每次 5 ml。立即以 3 000 r/min 的速度离心 10 min, 移液器分离血浆,  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  冻存。

### 2.4 样品测定

2.4.1 色谱条件: 预柱: Phenomenex C<sub>18</sub>(4.0 mm $\times$ 2.0 mm); 分析柱: Thermo Hypurity C<sub>18</sub>(150 mm $\times$ 2.1 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 0.1% 甲酸-乙腈(50:50, V/V); 流速: 0.2 ml/min; 进样量: 10  $\mu\text{l}$ ; 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2 质谱条件: 采用电喷雾电离(ESI)<sup>+</sup>多反应监测(MRM)进行离子方式监测, 氨溴索测定离子  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$   $m/z$  379.1 $\rightarrow$ 264.3; 内标普拉克索测定离子  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$   $m/z$  212.1 $\rightarrow$ 153.1, 采集时间均为 300 ms。毛细管电压: 3.5 kV; 源温度: 100  $^{\circ}\text{C}$ ; 去溶剂气体温度: 350  $^{\circ}\text{C}$ ; 锥孔气体流速: 50 L/h; 去溶剂气体流速: 400 L/h; Multiplier: 700 V; LM1 和 LM2 分辨率均为 11; 离子能 1 电压: 0.5 V; 离子能 2 电压: 3.0 V; 碰撞气压:  $4.20 \times 10^{-3}$ 。氨溴索和内标普拉克索的保留时间分别约为 1.69、1.46 min, 色谱图见图 1。

2.4.3 血样预处理: 取血浆样品 500  $\mu\text{l}$  至 10 ml EP 管中, 加入质量浓度为 74.343 ng/ml 的内标溶液 100  $\mu\text{l}$ , 再加入乙醚 3 ml,

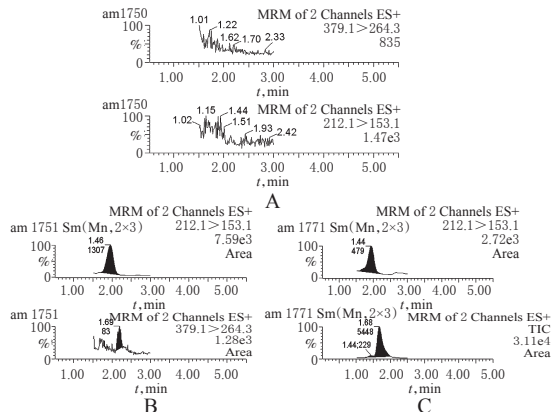


图 1 血浆样品中氨溴索及普拉克索 MRM 质谱色谱图

A. 空白血浆; B. 含氨溴索和普拉克索(内标)的空白血浆; C. 给药 2 h 后血浆样品

### Fig 1 MRM chromatogram of ambroxol and pramipexole in plasma sample

A. blank plasma; B. blank plasma containing ambroxol + pramipexole (IS); C. sample plasma 2 h after medication

振荡 2 min, 2 600 r/min 离心 10 min, 静置分层后, 吸取上清液 2 ml, 移至另一干净的 10 ml EP 管中, 置于 40  $^{\circ}\text{C}$  水浴上挥干溶剂, 残渣用流动相 200  $\mu\text{l}$  溶解后取 10  $\mu\text{l}$  上清液待用。

2.4.4 线性关系和定量限考察: (1) 对照品溶液的配制: 准确称取盐酸氨溴索对照品 17.44 mg 于 5 ml 量瓶中, 用甲醇溶解并定容配成质量浓度为 3.488 mg/ml 的盐酸氨溴索标准贮备液, 换算成氨溴索的质量浓度为 3.181 mg/ml, 用空白血浆稀释至一系列对照品标准溶液。(2) 内标溶液的配制: 准确称取盐酸普拉克索对照品 2.5 mg 于 25 ml 量瓶中, 用甲醇溶解并定容配成质量浓度为 0.1 mg/ml 的盐酸普拉克索贮备液, 换算成普拉克索的质量浓度为 74.343  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。取系列浓度对照品溶液 500  $\mu\text{l}$ , 照“2.4.3”项下操作, 每一质量浓度(0.62、1.24、2.49、4.97、9.94、19.88、39.76、79.53、79.53、159.05 和 318.10 ng/ml) 进行双样本处理分析, 取 10  $\mu\text{l}$  进样分析, 记录色谱图。以待测物浓度(x)为横坐标、待测物与内标物的峰面积比值(y)为纵坐标, 用加权( $W=1/X$ )最小二乘法进行回归运算, 求得的直线回归方程为  $y=5.23x+11.67$  ( $r=0.997\ 0$ )。结果表明, 氨溴索血药浓度在 0.62~318.10 ng/ml 范围内线性关系良好, 定量限为 0.621 ng/ml。

2.4.5 精密度与准确度考察: 取空白血浆, 照“2.4.4”项下方法制备低、中、高 3 个水平(氨溴索血药浓度分别为 1.243、19.88 和 318.10 ng/ml) 的样品, 每一水平平行操作 5 个样本分析。另取空白血浆 500  $\mu\text{l}$ , 除不加入对照品溶液和内标溶液外, 按“2.4.3”项下方法操作, 向残渣中加入相应浓度标准溶液 50  $\mu\text{l}$  和内标溶液 100  $\mu\text{l}$ , 涡流混合, 40  $^{\circ}\text{C}$  空气流吹干, 残留物加入流动相 200  $\mu\text{l}$  溶解, 进样分析。以每一浓度前后两种处理方法的峰面积比值计算血浆中氨溴索和内标普拉克索的提取回收率, 结果分别为 75.42% 和 60.36%, 计算得各水平样品的日间精密度 RSD 均  $< 15\%$ 。

取 6 个不同来源受试者空白血浆 500  $\mu\text{l}$ , 经液-液萃取处理后以氨溴索和内标普拉克索的混合溶液溶解(氨溴索血药浓度分别为 1.243、19.88 和 318.10 ng/ml, 内标为 74.343 ng/ml) 进行 LC-MS 分析, 计算峰面积与相同溶液直接进样的峰面积之比, 结果血浆中氨溴索和内标普拉克索的平均基质效应分别

为100.00%和87.78%,平均RSD均在15%之内。

2.4.6 稳定性考察:本研究考察了氨溴索血浆样品经历3次冷冻-解冻循环、血浆样品处理后室温放置24 h、血浆样品-40℃冷冻放置30 d的稳定性。取空白血浆500 μl,制备氨溴索低、中、高3个水平(氨溴索血药浓度分别为1.243、19.88和318.1 ng/ml)的血浆样品,每一种水平进行5个样本分析,照“2.4.3”项下方法处理后测定。结果表明,氨溴索血浆样品经过3次冷冻-解冻循环后稳定(RE在85%~115%范围内);血浆样品萃取处理后室温放置24 h稳定(RE在85%~115%范围内);血浆样品-40℃冷冻放置30 d稳定(RE在85%~115%范围内)。

## 2.5 数据处理

利用DAS 2.0软件进行药动学参数计算和统计分析。主要药动学参数经对数转换后以多因素方差分析(ANOVA)进行显著性检验,然后用双单侧 $t$ 检验和计算90%置信区间的统计分析方法来评价和判断药物间的生物等效性。

## 3 结果

### 3.1 药-时曲线

20名男性健康受试者单剂量交叉口服两种盐酸氨溴索口腔崩解片30 mg后的氨溴索平均药-时曲线见图2。

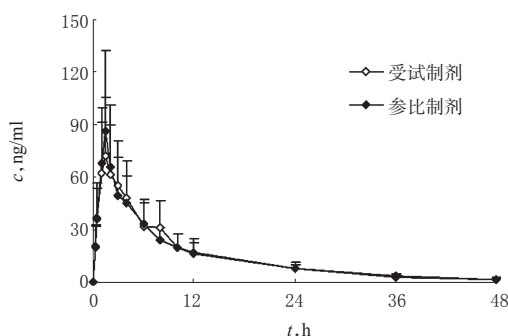


图2 20名健康受试者单剂量口服受试制剂或参比制剂30 mg后的平均药-时曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve of test preparation or reference preparation (30 mg) in 20 healthy male volunteers after a single oral dose

### 3.2 药动学参数

20名男性健康受试者单剂量交叉口服两种盐酸氨溴索口腔崩解片后的药动学参数见表1。

### 3.3 生物等效性评价

参比制剂和受试制剂 $t_{max}$ 经非参数检验,二者无显著性差异( $U=1.185, P=0.236$ )。AUC<sub>0-48h</sub>、AUC<sub>0-∞</sub>和 $c_{max}$ 经对数转换后,进行方差分析,结果表明,二者在不同制剂间和不同周期间差异无显著性意义( $P>0.05$ )。 $c_{max}$ 、AUC<sub>0-48h</sub>和AUC<sub>0-∞</sub>双单侧 $t$ 检验结果表明 $t_{high}$ 和 $t_{low}$ 均大于单侧 $t_{0.05}$ 。受试制剂AUC<sub>0-48h</sub>和AUC<sub>0-∞</sub>的90%可信区间均未超出参比制剂相应AUC<sub>0-48h</sub>和

表1 受试制剂与参比制剂的主要药动学参数比较( $n=20$ )

Tab 1 Comparison of main pharmacokinetic parameters between test preparation and reference preparation ( $n=20$ )

参数	受试制剂	参比制剂
$c_{max}$ , ng/ml	90.86 ± 44.81	84.96 ± 32.46
$t_{max}$ , h	1.4 ± 0.3	1.7 ± 0.7
$t_{1/2}$ , h	9.7 ± 2.0	9.8 ± 1.9
AUC <sub>0-48h</sub> , ng·h/ml	663.87 ± 214.37	678.85 ± 235.17
AUC <sub>0-∞</sub> , ng·h/ml	687.35 ± 216.35	699.85 ± 238.48

AUC<sub>0-∞</sub>的80%~125%的范围;受试制剂的 $c_{max}$ 的90%可信区间,也未超出参比制剂 $c_{max}$ 的70%~143%的范围。综上,本研究中盐酸氨溴索口腔崩解片工艺变更前、后,两种制剂在人体内的吸收速度和吸收量差异无显著性意义,受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

## 4 讨论

根据国家食品药品监督管理局药物临床研究批件的审批结论“选择变更前产品作为参比制剂进行研究”,因此选择工艺变更前的盐酸氨溴索口腔崩解片作为参比制剂。

受试者服用盐酸氨溴索口腔崩解片参比制剂和受试制剂后均无沙砾感。参比制剂在15~50 s内,试验制剂在17~46 s内崩解完毕。整个试验期间有2例受试者在试验结束时检查结果AST、ALT超出正常值高限,判定为异常有临床意义,未用药物处理。经过复查,恢复正常,这一事件可能与试验药物无关。其他受试者口服参比制剂和受试制剂后均未出现不良事件或不良反应,试验结束时的实验室检查结果均无有临床意义的异常情况。

本试验条件下,样品主峰和内标峰出峰时间短,提取操作简便、结果准确可靠。本试验结论为氨溴索口腔崩解片的生产厂家在不影响制剂生物学疗效的基础上改进生产工艺提供了佐证。

## 参考文献

- [1] 刘书铭,周远大.盐酸氨溴索口腔崩解片人体生物等效性研究[J].中国药房,2006,17(12):923.
- [2] 温语关,廖日房,尹惠标,等.盐酸氨溴索口腔崩解片与普通片人体生物等效性比较[J].中国医院药学杂志,2007,27(3):293.
- [3] 张丽芳,胡晓,甘小健,等.盐酸氨溴索口腔崩解片的相对生物利用度与生物等效性研究[J].医药导报,2008,27(6):618.
- [4] 陶宜富,莫陵,肖大伟,等.盐酸氨溴索口腔崩解片人体生物等效性研究[J].中国药房,2008,19(5):341.
- [5] 周学敏,王鹤,刘杰,等.盐酸氨溴索口腔崩解片的人体生物等效性[J].中国医院药学杂志,2007,16(3):113.
- [6] 陈红燕,蒋翠岚.盐酸氨溴索口腔崩解片人体生物等效性研究[J].中国药房,2008,19(14):1 083.

(收稿日期:2012-11-21 修回日期:2013-01-04)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅