

小儿布洛芬栓剂生物等效性研究

姜楠,杨永革,许雪廷,赵刚涛,杨凡(北京军区总医院药理科,北京 100700)

摘要 目的:建立测定人血浆中布洛芬(ibuprofen)浓度的LC-MS/MS方法,研究布洛芬小儿剂量在健康人体内的药动学行为,评价两种制剂的生物等效性。方法:采用随机双周期两制剂交叉实验设计,用建立的LC-MS/MS方法对20名健康受试者直肠给药50 mg布洛芬栓剂(受试制剂)和50 mg布洛芬栓剂(参比制剂)后12 h内多点抽取静脉血进行血药浓度检测。应用DAS 2.0统计软件计算主要动力学参数,并评价2种制剂的生物等效性。结果:布洛芬的线性范围为0.05~6.4 mg/L,受试制剂与参比制剂中布洛芬的主要药动学参数分别为: $t_{1/2}$ (2.77 ± 0.65)和(3.02 ± 0.99) h, t_{max} (2.148 ± 0.643)和(2.013 ± 0.844) mg/L, t_{max} (3.2 ± 0.7)和(3.1 ± 0.5) h, AUC_{0-12} (11.37 ± 3.56)和(11.30 ± 4.62) mg·h/L。结论:所用测定方法简便、专属性高,统计学分析结果显示,两种制剂具有生物等效性。

关键词 小儿布洛芬;栓剂;液相色谱质谱联用仪;生物等效性

中图分类号: R971⁺.1, R945 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)04-0258-04

Bioequivalence of two paediatric ibuprofen suppositories in healthy volunteers

JIANGNan, YANG Yong-ge, XU Xue-ting, ZHAO Gang-tao, YANG Fan (Department of Pharmacy, General Hospital of Beijing Military Command of PLA, Beijing 100700, China)

ABSTRACT Objective: To develop a LC-MS/MS assay for the determination of ibuprofen in human serum and to investigate the pharmacokinetics and bioequivalence of two preparation in Chinese healthy volunteers **Methods:** A single per rectum dose of 50 mg ibuprofen test suppositories and reference suppositories was given to 20 healthy male volunteers in a randomized double cross-over design. Ibuprofen concentration were determined by LC-MS/MS assay, and pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 2.0 practical pharmacokinetics program. **Results:** The calibration curve was linear over the range of 0.05~6.4 mg/L. The main pharmacokinetic parameters of test suppositories and reference suppositories were as follow: $t_{1/2}$ (2.77 ± 0.65) and (3.02 ± 0.99) h, t_{max} (2.148 ± 0.643) and (2.013 ± 0.844) mg/L, t_{max} (3.2 ± 0.7) and (3.1 ± 0.5) h, AUC_{0-12} (11.37 ± 3.56) and (11.30 ± 4.62) mg·h/L. **Conclusion:** The method applied was convenient, accurate and specific, and the statistical analysis showed that the test and reference preparation bioequivalent

KEY WORDS pediatric ibuprofen; suppository; LC-MS/MS; bioequivalence

布洛芬是近二十年来发展的解热镇痛抗炎药,临床上主要用于轻度疼痛;如关节痛、神经痛、肌肉痛、头痛、牙痛,也用于减轻普通感冒引起的发热,1989年美国允许将布洛芬用作6个月内小儿解热药。通常,布洛芬口服制剂的胃肠道副作用明显并具有首过效应,使其使用受限,小儿布洛芬栓通过直肠给药,较好的克服了口服剂型的不足,具有给药方便、起效快的优点,是小儿解热镇痛药的OTC品种。本实验建立了测定人血浆中布洛芬浓度的LC-MS/MS方法,该方法对健康成年志愿者服用小儿剂量后血中布洛芬含量的检测具有灵敏、专属性高的优点,并对该药的两种制剂在健康人体内的药代动力学参

数进行比对,评价其生物等效性。

1 仪器与材料

1.1 药品与试剂 受试制剂:小儿布洛芬栓(规格:50 mg,批号:050901,烟台荣昌制药有限公司提供)。参比制剂:小儿布洛芬栓(商品名:福尔,规格:50 mg,批号:050101,山西太原药业有限公司生产)。布洛芬对照品(批号:100179-200303,中国药品生物制品检定所提供)。硝西泮(内标 nitrazepam)对照品(批号:1217-9201,中国药品生物制品检定所提供(国家麻醉药品实验室)。甲醇、乙腈为色谱纯,乙酸胺、氨水等试剂均为分析纯,分析用水为重蒸馏水。

1.2 仪器 TSQ Quantum Discover型LC-MS/MS联用仪、电喷雾离子化电离源(ESI), Xcalibur 1.4数

据处理系统(美国 Finnigan公司); XW-80A型微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司); TGL-26H高速离心机(德国 Eppendorf公司); BT25S电子天平(Sartorius公司)。

2 方法与结果

2.1 实验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱: 色谱柱为 ZORBAX Eclipse XDB-C8柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 美国 ZORBAX公司); 流动相: 乙腈(含 0.3% 氨水)水(含 0.3% 氨水 + 2mM 乙酸胺) = 70:30; 流速 0.4 L/min; 柱温为室温。

2.1.2 质谱条件 电喷雾离子化电离源 ESI, 喷雾电压 3.1 KV; 毛细管温度 320 °C; 鞘气流速 5 Arb; 辅助气流速 20 Arb; 源内碰撞诱导解离(Source CD)能量为 12 V; 负离子方式检测; 布洛芬和内标

硝西泮的碰撞能量均分别为 10 eV、20 eV; 质谱 1000-*seed weight* 选择反应监测(SRM), 分别测定布洛芬和内标硝西泮负离子 m/z 205 161 和 m/z 280 252; 扫描时间为 0.5 s。

2.2 样本处理

精密量取血浆样品 100 μL, 加入 400 μL 内标的甲醇溶液(18.75 mg/L), 振荡混匀, 涡流振荡 2 min(沉淀蛋白) 离心(10 000 r/min) 10 min, 取上清液 300 μL, 再次离心(10 000 r/min) 10 min, 取上清液 10 μL 进样检测。

2.3 方法的专属性

本实验所采用的质谱条件下, 布洛芬与内标硝西泮(nitrazepam)的保留时间分别为 2.60 与 4.71 min, 见图 1。布洛芬与内标峰形良好, 无杂质峰干扰测定, 具有良好的专属性。

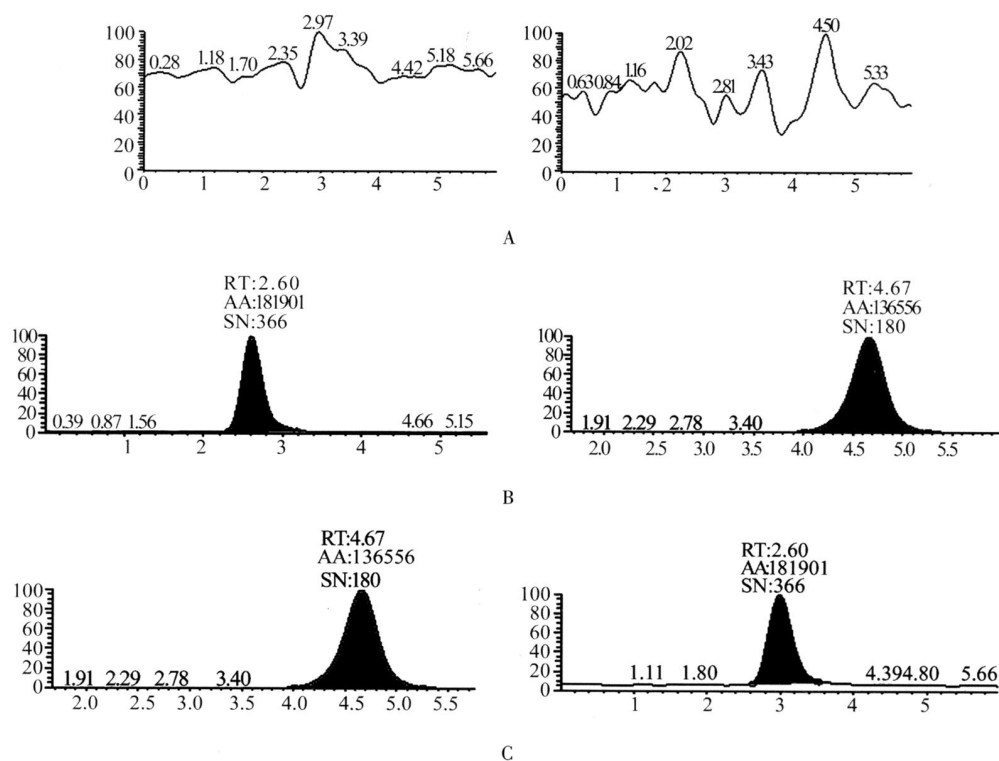


图 1 血浆中布洛芬 SRM 色谱图

A 空白血浆; B 标准血浆样品; C 受试者血浆样品

2.4 线性范围和定量限 用布洛芬对照品配成一系列浓度的工作溶液, 分别取各浓度工作溶液 10 μL 于 0.1 mL 空白血浆中, 使布洛芬的血浆终浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 mg/L, 遵照 2.2 项下样本处理方法, 测定布洛芬与内标的峰面积。以布洛芬峰面积 (A_1) 与内标峰面积 (A_B) 的比值 (A_1/A_B) 对血浆浓度 (X , mg/L) 进行回归计算。得到回归

方程: $Y = -0.00432491 + 0.207014X$ ($r = 0.9904$)。最低定量浓度为 0.05 mg/L (图 2)。

2.5 精密度与回收率 按布洛芬标准曲线制备方法制备质控样品, 对 0.1、0.8 和 3.2 mg/L 3 种浓度进行了连续 3 d 的 5 样本分析, 以评价方法的日内、日间精密度。同时以流动相代替空白血浆, 同样方法配制高、中、低 3 种浓度 (0.1、0.8、3.2 mg/L) 的

标准品样本,计算精密度与回收率。见表 1。

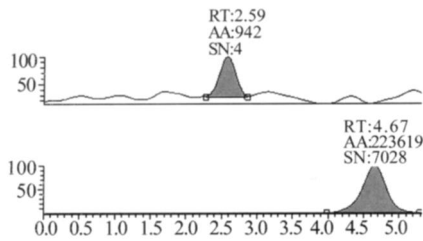


图 2 布洛芬含量为 0.05 mg/L 的血浆样品(含内标)SRM 色谱图

2.6 稳定性考察 将布洛芬标准溶液配制的从低到高二种浓度(0.8、3.2 mg/L)的血浆样品,放置-70℃冰箱中保存,测定样品放置 14 d 的药物浓度,与放置 0 d 的样品进行比较;冰冻-解冻循环 3 次,与未进行冰冻-解冻的样品进行比较,均无显著性差异。

表 1 血浆中布洛芬的日内、日间精密度与回收率 (n=5)

日期	0.1 mg/L		0.8 mg/L		3.2 mg/L	
	测定值	回收率	测定值	回收率	测定值	回收率
第一天	0.113	77.89	0.829	83.15	3.315	85
	0.085	73.52	0.852	79.27	3.674	75.13
	0.114	76.48	0.848	71.22	3.325	76.19
	0.112	75.42	0.903	75.27	3.284	80.15
	0.119	71.33	0.804	74.66	3.357	77.28
第二天	0.099		0.824		3.118	
	0.114		0.840		3.068	
	0.120		0.865		3.110	
	0.092		0.791		3.079	
	0.113		0.823		3.044	
第三天	0.090		0.791		3.607	
	0.098		0.839		3.617	
	0.089		0.895		3.675	
	0.086		0.825		3.036	
	0.092		0.860		3.562	
均值	0.102	74.93	0.839	76.71	3.325	78.75
SD	0.013	2.57	0.033	4.59	0.246	3.96
日内精密度 (%)	11.79		4.11		5.36	
日间精密度 (%)	10.30		2.56		14.50	

2.7 方法的应用

2.7.1 受试者选择 本实验方案经国家药品临床研究基地伦理委员会批准。20 名健康志愿者,年龄 18~40 岁,体重指数 19~25 之间,无肛门直肠疾病,无药物过敏史,无肝、肾疾病,无心、肺、消化道及血液系统病史,精神良好,全面体检均正常(包括心电图、血压、肝功能、呼吸状况、肾功能和临床实验室指标等)。经知情同意,受试者于受试前两周内未服用任何药物,进入试验至结束禁烟酒及一切饮料。

2.7.2 实验设计 健康志愿者随机分为 2 组,每组

10 人,采用单剂量随即交叉设计,两次实验间隔 1 周;按用药说明直肠给药,受试者用药前和用药后的 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、7、9、12 h,分别由肘前静脉采血 3.0 mL 于肝素抗凝管,1 000 g(2 500 r/min)离心 10 min,将分离出的血浆转移到 5 mL 试管中,-70℃冰箱中待测。受试者在医生监护下,观察不良反应。

2.7.3 药动学研究 受试制剂与参比实际给药后经计量校正后的药-时曲线见图 3,采用 DAS2.0 药动学专业软件,计算主要药动学参数,结果见表 2。经平均生物等效性及群体生物等效性评价,结果表明 2 种制剂生物等效。

3 讨论

成年志愿者服用小儿剂量后其血中药物浓度较低而难以检测,这成了小儿药物体内动力学研究的瓶颈。文献^[1-6]提供的 HPLC 检测方法均无法达到本试验的检测限要求。本实验室建立的 LC-MS/MS 方法大大提高了检测灵敏度,使得成年志愿者服用小儿剂量后的检测成为可能,检测时间为 6 min,极大地节省了检测机时,降低了试验成本。采用甲醇直接沉淀蛋白的血浆样品处理方法,无需任何特殊的前处理,简单、快速,非常适合人体生物药动学的研究。国内未见小儿布洛芬栓剂体内药代动力学研究的文献报道。

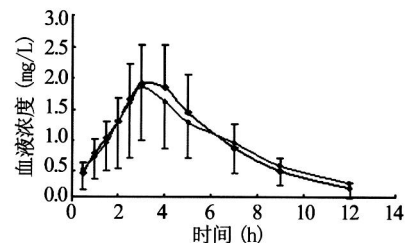


图 3 直肠给药小儿布洛芬栓受试制剂与参比制剂的平均血液浓度-时间曲线 (n=2)

表 2 直肠给药小儿布洛芬栓受试制剂与参比制剂的药动学参数 (n=20)

动力学参数	福尔	小儿布洛芬栓	P 值
C _{max} (mg/L)	2.013 ± 0.844	2.148 ± 0.643	0.33
T _{max} (h)	3.100 ± 0.5	3.200 ± 0.7	0.60
t _{1/2} (h)	3.020 ± 0.99	2.770 ± 0.65	0.40
AUC ₀₋₁₂ (mg·h/L)	11.300 ± 4.62	11.370 ± 3.56	0.64
AUC _{0-∞} (mg·h/L)	12.820 ± 5.65	12.300 ± 3.68	0.90

参考文献:

[1] 王文清,汪秋兰,方建国,等. 高效液相色谱法测定右旋布洛芬凝胶中右旋布洛芬的含量[J]. 药学导报, 2008, 27(7):

7. 哪些因素可能会影响治疗药物的选择和药物治疗方案的制定 (多选)
- A. 病人的具体病情 B. 病人的经济承受能力 C. 医院的规章制度
D. 药物在个体上的差异 E. 医生的处方偏好
8. 美国药师 Winslade认为,在制定药物治疗方案时,首先应该 (单选)
- A. 收集有关药物、疾病和病人的信息 B. 确定哪些与药物有关的问题,应由药师负责
C. 将与药物有关的问题纳入治疗方案中 D. 制定监测方案,以评估是否达到预期的治疗结果
E. 确定药师与病患之间的契约关系,药师对患者的药物治疗结果负责
9. 在临床治疗中,制定药物治疗方案的关键是 (多选)
- A. 收集有关的数据或证据 B. 对有关材料进行评估 C. 确定医患间的伙伴关系
D. 了解病人的治疗预期 E. 提出有针对性的药物治疗方案
10. 实施药物治疗方案的要点有哪些 (多选)
- A. 按照药物治疗方案准确给药 B. 告诉病人药物治疗方案的目标、预期效果和可能的风险
C. 与病人建立起良好的互动和沟通渠道 D. 及时获知用药的反应并适时调整治疗方案
E. 告知病人药物治疗的最佳预期
11. 药师对治疗反应的评价,对临床医生实施治疗方案很有价值,其原因是 (多选)
- A. 药师能够从药效学方面来解释药物的效果和不良反应
B. 药师能够从药代动力学方面来解释药物的效果和不良反应
C. 药师能够否定临床医生的处方 D. 药师能够给予医生更多的药物选择建议
E. 药师对病人的影响力更大
12. 在药物治疗过程中,常见的用药管理内容有 (多选)
- A. 病人的用药依从性如何 B. 病人是否按时服用准确的剂量
C. 药历记录是否及时和准确 D. 给药过程是否存在差错或遗漏
E. 实验室检验数据是否异常
13. 下列哪些是监测药物治疗方案常用的简单方法 (多选)
- A. 询问病人用药后的反应 B. 询问病人的治疗预期 C. 询问病人对现治疗状态的评价
E. 询问病人感觉到的药物治疗中的问题 D. 询问病人的患病史
14. 下列哪些是监测药物治疗方案常用的复杂方法 (多选)
- A. 血药浓度检测 B. 临床检验学检查 C. 生化学检查
D. 心电图检查 E. 超声影像学检查
15. 哪些因素会影响对药物治疗的监测次数 (多选)
- A. 选择何种治疗药物 B. 病人病情的轻重缓急 C. 病人身体机能的稳定性
D. 病人的患病时间长短 E. 病人的经济条件
16. 是否调整治疗方案,需要根据哪些条件做出 (多选)
- A. 病人的依从性 B. 药效学反应 C. 观察病人的体征
D. 询问病人的感受 E. 实验室检验结果

(上接第 260页)

[2] 赵秀丽,陈大为,胡海洋,等. RP-HPLC法同时测定血浆中布洛芬丁香酚酯和布洛芬的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 1(1): 60.

[3] 刘建芳,邓鸣,赵春丽,等. 布洛芬缓释胶囊的人体相对生物利用度 [J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 19(2): 113.

[4] 吴琳华,赵红光,樊宏伟,等. 多剂量口服复方布洛芬控释片与普通片的药代动力学及相对生物利用度 [J]. 中国临床

药理学杂志, 2001, 17(2): 129.

[5] 赵侠,孙培红,周颖,等. 高效液相色谱法测定人血清中布洛芬浓度 [J]. 中国临床药理学杂志, 2004, 20(4): 295.

[6] 王润玲,张庆伟,杨金荣,等. 精氨酸布洛芬糖浆与布洛芬片剂人体药动学及生物等效性比较 [J]. 中国新药与临床杂志, 2006, 25(1): 52.

收稿日期: 2009-03-16