

# 复方烟酸双层缓释片与市售烟酸缓释片的生物等效性研究

吴春芝<sup>1\*</sup>, 金蓉<sup>2</sup>, 谷福根<sup>1#</sup> (1.内蒙古医科大学附属医院, 呼和浩特 010050; 2.内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)25-2329-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.25.09

**摘要** 目的:研究复方烟酸双层缓释片和市售烟酸缓释片的生物等效性。方法:采用双周期自身交叉给药,6只家犬单剂量灌胃复方烟酸双层缓释片与市售烟酸缓释片(均含烟酸500 mg)后,采用高效液相色谱法测定给药后12 h内的烟酸血药浓度,以3p97软件计算烟酸药动学参数和相对生物利用度。结果:家犬口服复方烟酸双层缓释片和市售烟酸缓释片后,烟酸的药动学特征符合一室模型;其主要药动学参数 $t_{\max}$ 分别为 $(5.2 \pm 1.4)$ 、 $(5.0 \pm 1.6)$  h,  $c_{\max}$ 分别为 $(77.3 \pm 10.8)$ 、 $(76.3 \pm 7.3)$   $\mu\text{g/ml}$ ,  $t_{1/2}$ 分别为 $(1.5 \pm 0.2)$ 、 $(1.4 \pm 0.2)$  h,  $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 $(416.6 \pm 60.5)$ 、 $(377.5 \pm 50.7)$   $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ ;双层缓释片的相对生物利用度为 $(111.1 \pm 14.8)\%$ ,双层缓释片 $c_{\max}$ 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 的90%置信区间分别为87.0%~119.0%、101.0%~120.0%。结论:两种缓释片的 $c_{\max}$ 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 比较差异无统计学意义,具有生物等效性。

**关键词** 复方烟酸双层缓释片;家犬;药动学;生物等效性

## Bioequivalence Study of Compound Nicotinic Acid Bilayer Sustained-release Tablets and Marketed Nicotinic Acid Sustained-release Tablets

WU Chun-zhi<sup>1</sup>, JIN Rong<sup>2</sup>, GU Fu-gen<sup>1</sup> (1.The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China; 2.School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the bioequivalence of Compound nicotinic acid (NA) bilayer sustained-release tablets and marketed NA sustained-release tablets. **METHODS:** A single dose of Compound NA bilayer sustained-release tablets (containing 500 mg NA) and the marketed NA sustained release tablets (containing NA 500 mg) were administered to 6 dogs, respectively, according to the double periods and randomized crossover design. Blood concentration of NA was determined by HPLC within 12 h after medication. The pharmacokinetic parameters and relative bioavailability of NA were calculated with 3p97 software. **RESULTS:** The pharmacokinetic characteristics followed one-compartment model after oral administration of Compound NA bilayer sustained-release tablets and NA sustained-release tablets. Their main pharmacokinetic parameters were as follows:  $t_{\max}$  were  $(5.2 \pm 1.4)$  h and  $(5.0 \pm 1.6)$  h;  $c_{\max}$  were  $(77.3 \pm 10.8)$   $\mu\text{g/ml}$  and  $(76.3 \pm 7.3)$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $t_{1/2}$  were  $(1.5 \pm 0.2)$  h and  $(1.4 \pm 0.2)$  h;  $\text{AUC}_{0-\infty}$  were  $(416.6 \pm 60.5)$   $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$  and  $(377.5 \pm 50.7)$   $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ , respectively. The relative bioavailability of Compound NA bilayer sustained-release tablets was  $(111.1 \pm 14.8)\%$ . 90% CI of  $c_{\max}$  and  $\text{AUC}_{0-\infty}$  of Compound NA bilayer sustained-release tablets were 87.0% - 119.0% and 101.0% - 120.0%. **CONCLUSIONS:** The difference of  $c_{\max}$  and  $\text{AUC}_{0-\infty}$  between 2 kinds of sustained-release tablets has no statistical significance; the 2 kinds of sustained-release tablets are bioequivalent.

**KEYWORDS** Compound nicotinic acid bilayer sustained-released tablets; Dogs; Pharmacokinetics; Bioequivalence

烟酸(Nicotinic acid)为B族维生素之一,在临床上小剂量可用于预防和治疗烟酸缺乏症,大剂量使用时有降低血清胆固醇、甘油三酯浓度等作用<sup>[1]</sup>,但同时伴有皮肤潮红和瘙痒等不良反应。如果将烟酸制成缓释制剂可减轻血药浓度过高造成的副反应<sup>[2]</sup>。辛伐他汀(Simvastatin, SVT)可抑制内源性胆固醇的合成,临床上可用于治疗高胆固醇血症<sup>[3]</sup>。SVT降低低密度脂蛋白效果显著,烟酸提高高密度脂蛋白作用明显,两者联合用药,可达到全面调节血脂的目的。目前,已有美国雅培公司生产的烟酸与SVT的复方缓释片(Simcor®)获批上市。近年来,国内对复方烟酸缓释制剂在动物体内的药动学有较

多研究报道<sup>[4-8]</sup>,但均以市售烟酸普通制剂作为参比来考察该药物缓释制剂的生物等效性。根据原国家食品药品监督管理局(SFDA)颁布的《化学药物制剂人体生物利用度和生物等效性研究技术指导原则》,应采用已上市相同剂型原创药或上市主导产品作为参比制剂,来研究化学药物缓释制剂的生物等效性。因此,笔者在前期完成复方烟酸双层缓释片的研制以及体外质量评价的基础上<sup>[9]</sup>,在本研究中采用了国内市售烟酸缓释制剂主导产品为参比制剂,考察该新制剂在家犬体内的烟酸药动学及其相对生物利用度,旨在为今后开展烟酸缓释制剂在动物和人体内的药动学研究以及科学评价其生物等效性提供重要参考依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪,包括G1315B型二级

\*副主任药师。研究方向:临床药学及药品调剂。电话:0471-6637634。E-mail: gfg1968@163.com

#通信作者:主任药师。研究方向:环糊精包合物及药物新剂型。电话:0471-6636650。E-mail: fgczh@sina.com

管阵列检测器(美国安捷伦公司);AL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司,精度:0.1 mg);82-1 电动离心机(上海黄海药检仪器厂);DHG-9145A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司)。

## 1.2 药品与试剂

烟酸对照品(天津中瑞药业有限公司,批号:071001,纯度:99.8%);烟酸缓释片(商品名:本悦<sup>®</sup>,北京赛科药业有限公司,批号:0910023,规格:按烟酸计每片 500 mg);复方烟酸双层缓释片(内蒙古元和药业有限公司提供,批号:20110805,规格:按烟酸计每片 250 mg);磷酸二氢铵和 25% 四丁基氢氧化铵(天津星马克科技发展有限公司,分析纯);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

## 1.3 动物

家犬,♀ ♂ 各半,体质量 10.0~15.5 kg,由内蒙古医科大学实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(蒙)2002-0001。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[10-11]</sup>

色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(含 0.02 mol/L 磷酸二氢铵)-四丁基氢氧化铵水溶液(用氨水或磷酸调节 pH 为 7.8)(17:83, V/V),流速:1 ml/min;检测波长:263 nm;柱温:40 ℃;进样量:20 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液。精密称取烟酸对照品约 250 mg,置于 25 ml 量瓶中,加水溶解定容,配制成质量浓度为 10 mg/ml 的对照品贮备液,置于冰箱冷藏保存。

2.2.2 对照品血浆。将 10 mg/ml 的对照品贮备液以水稀释成质量浓度分别为 10 000、7 500、2 500、500、250、100、50 μg/ml 的烟酸系列溶液,再加入空白血浆,混匀,制得含烟酸质量浓度分别为 200、150、50.0、10.0、5.0、2.0、1.0 μg/ml 的对照品血浆。

### 2.3 血浆样品处理与测定<sup>[12-13]</sup>

取家犬血浆样品 0.5 ml,加入乙腈 0.5 ml,涡旋振荡 3 min 后,1 000×g 离心 10 min,取上清液,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,进样 20 μl。

### 2.4 含量测定

2.4.1 方法的专属性。取家犬空白血浆、对照品血浆、血浆样品(给药后 2.5 h),按照“2.3”项下方法处理后,在色谱条件下进样测定,记录色谱。结果,烟酸的出峰时间为 4.5 min,峰形较好,且与血浆中内源性物质分离完全,表明该方法的专属性良好,色谱图见图 1。

2.4.2 标准曲线的制备。取家犬空白血浆 0.5 ml,分别加入烟酸系列溶液 10 μl,混匀,制成含烟酸质量浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、50.0、150、200 μg/ml 的烟酸标准工作液。按照“2.3”项下方法处理后,进样测定。以烟酸峰面积(A)为纵坐标、血浆中烟酸质量浓度(c, μg/ml)为横坐标作线性回归。得回归方程为:  $A = 14.186c + 18.795$  ( $r = 0.999\ 9$ ),表明烟酸检测质量浓度的线性范围为 1.0~200 μg/ml。

2.4.3 精密度与回收率试验。取空白血浆,加入已知质量浓度的烟酸系列溶液,配制成质量浓度分别为 2.0、50.0、150.0 μg/ml 的烟酸血浆样品,各 5 份,处理后进样测定,记录峰面积,与相同浓度烟酸水溶液的色谱峰面积比较计算提取回收率,将测得峰面积代入回归方程计算烟酸含量,与配制浓度比较计算方法回收率。日内重复进样 5 次,连续测定 5 d,考察日内和日间精密度,结果见表 1。

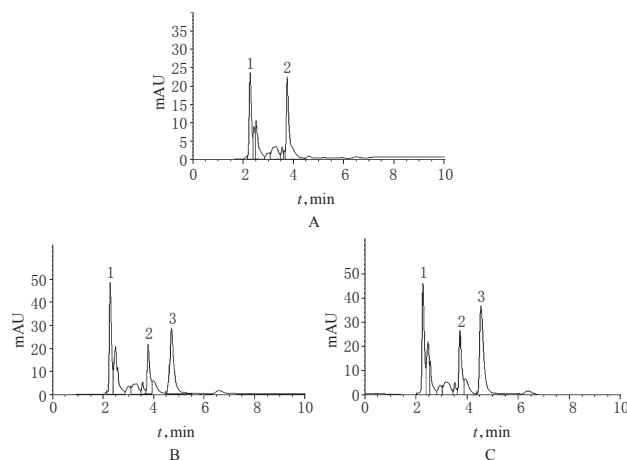


图 1 高效液相色谱图

A. 空白血浆; B. 对照品+空白血浆; C. 血浆样品; 1、2. 内源性物质; 3. 烟酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. substance control+blank plasma; C. plasma sample; 1, 2. endogenous impurities; 3. nicotinic acid

表 1 精密度及回收率试验结果( $n=5$ )

Tab 1 Results of precision and recovery tests ( $n=5$ )

| 质量浓度, μg/ml | 提取回收率, % | 方法回收率, % | 日内 RSD, % | 日间 RSD, % |
|-------------|----------|----------|-----------|-----------|
| 2.0         | 93.7     | 105.0    | 1.98      | 8.8       |
| 50.0        | 98.3     | 86.8     | 0.25      | 3.1       |
| 150.0       | 95.9     | 93.7     | 0.10      | 2.3       |

2.4.4 样品的稳定性考察。配制质量浓度分别为 2.0、50.0、150.0 μg/ml 的烟酸血浆样品,于室温放置 8 h、4 ℃ 下放置 2 d 以及经 3 次冷冻-解冻循环,处理后测定。结果不同放置条件下,烟酸峰面积的 RSD 均小于 20%,表明烟酸血浆样品在上述条件下均具有较好的稳定性。

2.4.5 检测限与定量限试验。配制系列质量浓度的烟酸血浆样品,处理后测定。当信噪比为 3 时得检测限为 0.5 μg/ml,信噪比为 10 时得定量限为 1.0 μg/ml。

### 2.5 药动学实验<sup>[7]</sup>

2.5.1 给药方案与血浆样品的测定。家犬 6 只,实验前禁食 12 h,允许自由饮水,实验期间统一进食与饮水。采用双周期自身交叉实验设计,将家犬随机均分为两组,一组灌服受试制剂复方烟酸双层缓释片 2 片(含烟酸 500 mg,相当于人临床给药剂量),另一组灌服参比制剂烟酸缓释片 1 片(含烟酸 500 mg),同时灌水 100 ml。分别于给药前及给药后 0.5、1.5、2.5、3.5、4.5、5.6、7、8、10、12 h 前肢静脉取血 2 ml,置于肝素化试管中,5 000×g 离心 20 min,分离血浆,置于 -20 ℃ 冰箱中冷藏,待测。经 1 周洗净期后,两组家犬分别换服另一种制剂并按相同时间方案采血。血浆样品同法处理后,测定血药浓度并绘制平均药-时曲线,结果见图 2。

由图 2 可见,烟酸双层缓释片与烟酸缓释片的药-时曲线非常相似。

2.5.2 数据的处理与生物等效性评价<sup>[14]</sup>。对每只家犬的血药浓度数据采用 3p97 药动学软件进行拟合,结果烟酸双层缓释片与烟酸缓释片中烟酸的药动学特征均符合一室模型。药动学参数测定结果见表 2。

对两制剂的  $AUC_{0-\infty}$ 、 $C_{max}$  经对数转换后作方差分析。同时计算  $AUC_{0-\infty}$ 、 $C_{max}$  的  $1-2\alpha$  置信区间,对  $t_{max}$  进行非参数秩和检

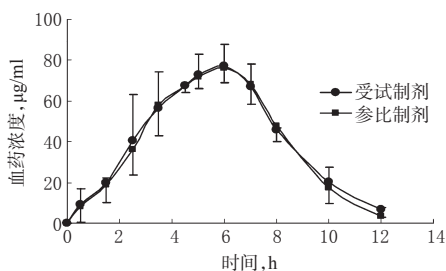


图2 家犬体内烟酸的药-时曲线

Fig 2 Blood concentration-time curves of nicotinic acid in dogs

表2 家犬体内烟酸的药动学参数( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of nicotinic acid in dogs ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 药动学参数                                                    | 参比制剂             | 受试制剂             |
|----------------------------------------------------------|------------------|------------------|
| $t_{\max}, \text{h}$                                     | $5.0 \pm 1.6$    | $5.2 \pm 1.4$    |
| $c_{\max}, \mu\text{g/ml}$                               | $76.2 \pm 7.3$   | $77.3 \pm 10.8$  |
| $k, \text{h}^{-1}$                                       | $0.49 \pm 0.10$  | $0.48 \pm 0.07$  |
| $t_{1/2}, \text{h}$                                      | $1.4 \pm 0.2$    | $1.5 \pm 0.2$    |
| $\text{AUC}_{0-12\text{h}}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ | $320.9 \pm 45.6$ | $360.6 \pm 39.8$ |
| $\text{AUC}_{0-\infty}, \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$     | $377.5 \pm 50.7$ | $416.6 \pm 60.5$ |
| $F, \%$                                                  |                  | $111.1 \pm 14.8$ |

验。结果,受试制剂烟酸双层缓释片  $\text{AUC}_{0-\infty}$  的 90% 置信区间为 101.0%~120.0%, 在 80%~125% 等效区间内;  $c_{\max}$  的 90% 置信区间为 87.0%~119.0%, 在 75%~133.0% 等效区间内。表明两制剂的  $\text{AUC}_{0-\infty}$ 、 $c_{\max}$  差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。此外,两制剂的  $t_{\max}$  差异也无统计学意义 ( $P>0.05$ )。因此,可认为上述两制剂具有生物等效性。

### 3 讨论

家犬血浆中烟酸血药浓度的高效液相色谱法测定研究中,笔者曾采用文献<sup>[6]</sup>中报道的内标法对血样进行处理,以富马酸为内标物。结果发现烟酸于 7 min 左右出峰,峰形较好;富马酸于 12 min 左右出峰,但色谱峰拖尾严重,且随测定过程的进行,其保留时间逐渐后移,不能满足分析要求。原因可能为本文所采用的色谱条件,如色谱柱类型、流动相组成等与上述文献有较大差异。之后改用文献<sup>[7]</sup>报道的外标法,以乙腈为血浆蛋白沉淀剂,离心后,取上清液直接进样,测定烟酸色谱峰面积,对血样进行定量分析。结果发现,乙腈沉淀蛋白效果良好,所建立血浆中烟酸测定方法的专属性、精密度、准确度、灵敏度以及定量方程的线性等均符合分析要求。此外,与内标法相比,外标法操作更为简便、快捷和经济,故本文采用外标法测定血浆样品中烟酸的浓度。由于本研究中采用自动进样器进样,避免了外标法影响因素多、重复性较差的不足。当然在条件允许的情况下,对生物样品应尽可能采用内标法测定为宜。

目前,对于制剂间生物等效性的研究,国内外普遍采用两种处理、双周期随机交叉实验设计,并通过多因素方差分析、双单侧  $t$  检验和  $1-2\alpha$  置信区间等多种评价标准来判断制剂间的生物等效性。其中,方差分析法是后两种评价方法的基础。 $1-2\alpha$  置信区间法与双单侧  $t$  检验法是等价的,都是美国 FDA 确定的生物等效性评价的标准方法<sup>[15]</sup>。本文通过对复方烟酸双层缓释片与参比制剂的主要药动学参数  $c_{\max}$ 、AUC 分别进行多因素方差分析、双单侧  $t$  检验和  $1-2\alpha$  置信区间的计算,

结果表明上述 3 种等效性评价所得结论完全一致,即  $\text{AUC}_{0-\infty}$ 、 $c_{\max}$  在两制剂间无显著性差异。此外,非参数秩和检验证实,  $t_{\max}$  在两制剂间也无显著性差异。以上统计学分析结果表明,本文所研制复方烟酸双层缓释片与市售参比制剂间具有生物等效性。与国内现有研究报道比较,本文首次采用国内已上市销售烟酸缓释制剂的主导产品(目前市面仅有的烟酸缓释制剂)作为参比,研究了复方烟酸双层缓释片在家犬体内的药动学以及生物等效性,为今后研制与开发烟酸缓释制剂尤其是完成其临床前药动学研究提供了重要参考依据。此外,笔者在前期研究中已证实,复方烟酸双层缓释片与市售参比制剂的体外释药行为极其相似<sup>[9]</sup>,故本研究结果提示,复方烟酸双层缓释片的体外释放可能与其体内吸收具有良好的相关性。至于复方烟酸双层缓释片在动物体内多剂量给药的药动学行为和人体内的药动学特征及生物等效性还有待于今后进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药物手册[M].15版.北京:人民卫生出版社,2003:359.
- [2] 王萍,顾世芬,杨德隆,等.烟酸缓释片的人体药代动力学及相对生物利用度[J].中国药师,2005,8(2):94.
- [3] 李娇娜,洪博,赵春杰.用 RP-HPLC 法测定人体内辛伐他汀血药浓度[J].药学服务与研究,2008,8(5):370.
- [4] 付桂英,温明玲,李秀青,等.洛伐他汀烟酸缓释片研制[J].解放军药学学报,2008,24(5):425.
- [5] 马成孝,薄辉,张海燕,等.洛伐他汀烟酸缓释片的制备及释放度研究[J].中国药科大学学报,2007,38(3):213.
- [6] 于华,孙立新,王婷婷,等.复方烟酸缓释片与烟酸普通片在犬体内药代动力学的比较研究[J].西北药学杂志,2009,24(3):201.
- [7] 牛华英,刘彬,孔玉梅,等.复方烟酸缓释片在 Beagle 犬体内药代动力学研究[J].中国药业,2006,15(20):11.
- [8] 许卫东,周文,厉保秋,等.洛伐他汀烟酸缓释片在比格犬体内的药代动力学[J].齐鲁药事,2006,25(11):687.
- [9] 金蓉,谷福根.辛伐他汀-烟酸双层缓释片的制备及其体外质量评价[J].中南药学,2012,10(3):188.
- [10] Joshi SJ, Karbhari PA, Bhoir SI. RP-LC simultaneous determination of nebivolol hydrochloride and amlodipine besilate in bi-layer tablets[J]. Chromatographia, 2009, 70(3/4):557.
- [11] 高玲.高效液相色谱法测定烟酸缓释片血药浓度及药动学研究[J].赤峰学院学报,2007,23(3):18.
- [12] 高鹏.复方烟酸缓释片动物药代动力学及体内外相关性研究[D].天津:天津大学,2007:4-6.
- [13] 黄敏文,王广基,孙建国,等.RP-HPLC 法测定 Beagle 犬血浆中烟酸浓度及烟酸药代动力学研究[J].中国临床药理学与治疗学,2005,10(3):302.
- [14] 李大平,崔凤云,郑家润,等.国产辛伐他汀片的生物等效性[J].临床医学,2009,29(8):105.
- [15] 闫宇翔,王洪源,王仁安.等效性评价方法研究现状[J].药物流行病学杂志,2003,12(5):253.

(收稿日期:2013-09-10 修回日期:2013-10-18)