

多剂量口服 5-单硝酸异山梨酯缓释片及普通片的药代动力学和生物利用度研究

张 强 黄晓芳* 汲 萍 傅利辉 严宝霞* 魏树礼

(北京医科大学药剂研究室,* 第三附属医院药剂科,北京 100083)

摘要 对 10 名健康男性受试者连续 6 d 多剂量交叉 po IS-5-MN 缓释片和普通片的药代动力学性质和相对生物利用度进行了研究。结果表明: IS-5-MN 缓释片和普通片的 T_{max} 分别为 5.0 h 和 1.4 h ($P < 0.05$), 前者的缓释效果十分明显; AUC 经对数转换后的多种统计分析表明, IS-5-MN 缓释片(40 mg)与 IS-5-MN 普通片(20 mg \times 2)生物等效; IS-5-MN 缓释片的相对生物利用度为 108.95%; IS-5-MN 缓释片和普通片的 C_{min} 分别为 74.20 ng \cdot ml $^{-1}$ 和 134.42 ng \cdot ml $^{-1}$ ($P < 0.05$), 而两种制剂的其他药代动力学参数如 C_{max} , AUC_0^{24} , AUC_0^{∞} , Ke , $T_{1/2}$ 以及波动系数(FI)等均无显著性差异($P < 0.05$)。多次给药后两种制剂都无明显的蓄积。

关键词 5-单硝酸异山梨酯; 药代动力学; 生物利用度; 缓释片

5-单硝酸异山梨酯(isosorbide-5-mononitrate, IS-5-MN)是二硝酸异山梨酯的主要代谢产物之一。和其母体药物一样, IS-5-MN 可用于预防和治疗慢性心绞痛和充血性心力衰竭等; 与其母体药物相比, IS-5-MN 吸收良好, 半衰期更长, 口服后不受首过代谢作用的影响, 血药浓度更易预测^[1]。国外关于 IS-5-MN 缓释制剂药代动力学的研究也较多^[2,3], 目前临床上有不少进口 IS-5-MN 制剂在使用。但 IS-5-MN 制剂在中国人中药代动力学的研究甚少。为了减少服药次数, 提高病人的顺应性我们研制了 IS-5-MN 缓释片剂。本文的目的是测定和比较中国人口服多剂量 IS-5-MN 缓释片及普通片的药代动力学性质, 评价两种制剂的生物等效性, 研究多剂量给药后可能的蓄积和波动情况。

材 料 与 方 法

仪器 HP5890II 气相色谱仪, 包括分流/

不分流进样器, 63Ni 电子捕获检测器, HP3394 积分仪, 美国惠普公司; Alltech 毛细管柱 (ECONO), 15 m \times 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m, 澳大利亚 SGE 公司; 分流/不分流进样衬管(4 mm, 去活化), 澳大利亚 SGE 公司; YKH-II 型漩涡混合器, 江西医疗器械厂。

药品与试剂 IS-5-MN 对照品由山东省医药工业研究所制药厂提供; IS-2-MN(内标)由北京双桥制药厂提供; 受试制剂为 IS-5-MN 缓释片(40 mg/片), 由北京第四制药厂和北京医科大学联合研制, 批号为 960116; 标准参比制剂为 IS-5-MN 普通片(20 mg/片), 德国宝灵曼公司产品, 商品名为 Ismo, 批号为 755205-04; 高纯氮, 北京氮气厂供应; 正己烷、乙醚、甲苯均为分析纯, 用前经重蒸精制。

受试者 10 名成年健康男性, 年龄 19~23 岁, 体重 54~82 kg。体检证明身体健康, 精神状况良好。实验前停药一个月, 实验过程中禁止服用其他药物, 并禁烟酒。

生物样品测定方法 采用毛细管气相色谱法及电子捕获检测器测定血浆中 IS-5-MN 的含量^[4]。药物峰高与内标峰高之比(Hy/Hn)

对药物浓度(C)的标准曲线为: $H_y/H_n = 0.003824C - 0.009992$ ($n = 7$), $\gamma = 0.9993$ 。在 $24 \sim 1200 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ 浓度范围内, 药物浓度与药物峰高与内标物峰高之比有较好的相关性。此法平均回收率为 101.66%, 日内和日间相对标准偏差分别小于 6.5% 和 10.0%, 最低检测浓度为 $2 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$, 最小检测量为 0.002 ng。

实验方案 10 名受试者, 随机分成两组, 交叉给药, 洗净期为一周。服药一周。服普通片者每日早 8:00, 晚 8:00 各服 IS-5-MN 普通片(20 mg)一片, d 4, 5, 6 于早 8:00 服药前取一次静脉血, d 5 晚 8:00 以后禁食, d 6 服药后继续禁食 2 h 后统一进标准餐, d 6 服药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 12.25, 12.5, 12.75, 13, 14, 15, 16, 20, 24 和 36 h 取前臂静脉血 4 ml, 肝素抗凝, 立即 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 分离出血浆于 -20°C 保存备用。服缓释片者每天早 8:00 服 IS-5-MN 缓释片(40 mg)一片, 并于 4, 5, 6 d 每天早 8:00 服药前采一次静脉血。d 6 服药后按 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 16, 24 和 36 h 采血。

数据处理 由药一时曲线尾部几个点的血药浓度的对数对时间 t 进行回归, 由直线斜率求算消除速度常数 K_e (h^{-1}), 并由此计算 $T_{1/2}$ (h)。药一时曲线下面积 AUC_0^t ($\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$) 以梯形法则计算; AUC_0^∞ 由 AUC_0^t 加上残余部分 C/K_e 得到。

峰浓度 C_{\max} 和达峰时 T_{\max} 从药时曲线上直接读出, 其中普通片峰浓度 C_{\max} 为两个峰浓度的平均值。同样, 普通片的达峰时 T_{\max} 亦为两个达峰时的平均值。谷浓度 C_{\min} 为 d 4, 5, 6, 7 谷浓度的平均值。

生物利用度由下式计算:

$$\text{Fr}\% = (AUC_0^{24} \text{缓} / AUC_0^{24} \text{普}) \times 100\%$$

波动系数由下式计算:

$$\text{FI} = (C_{\max} - C_{\min}) / AUC_{\text{av}}; AUC_{\text{av}} = AUC_0^{24} / 24$$

积蓄因子和积蓄程度由下式计算:

$$R = 1 / (1 - e^{-k\tau}); \text{积蓄程度} = 1.44 T_{1/2} / \tau$$

房室药代动力学模型采用 3P87 程序进行模拟。

结 果

1 口服多剂量 IS-5-MN 缓释片和普通片的血药浓度—时间曲线

10 名受试者 po IS-5-MN 多剂量普通片(20 mg, bid)和缓释片(40 mg, qd)的经时血药浓度—时间曲线分别见图 1 和图 2; 10 名受试者的平均药时曲线见图 3; 其中 4~7 d 平均谷浓度—时间曲线见图 4。从图中可见, IS-5-MN 普通片的血药浓度上升较快, 而 IS-5-MN 缓释片的血药浓度则上升比较缓慢。血药浓度的个体差异也比较大。从 4 d 开始, 每种片剂的谷浓度基本保持在同一比较低的水平上, 表明 4 d 已接近稳态, 而且积蓄不明显。

2 口服多剂量 IS-5-MN 缓释片和普通片的药代动力学参数

10 名受试者 po 多剂量 IS-5-MN 缓释片和普通片的药代动力学参数见表 1。可见与普通片相比, 受试者多剂量 po IS-5-MN 缓释片后, 达峰时间明显延长 (T_{\max} 分别为 5.0 和 1.4 h, $P < 0.05$), 缓释效果十分明显。两种制剂的平均谷浓度也具有显著性的不同 ($P < 0.05$), 多剂量 po IS-5-MN 缓释片后平均谷浓度更低些。但两种片剂的其他药代动力学参数如 C_{\max} , AUC_0^{24} , AUC_0^∞ , K_e 和 $T_{1/2}$ 等均无显著性差异 ($P > 0.05$)。IS-5-MN 缓释片相对于普通片的生物利用度(Fr)达到 108.95%, 符合要求。多剂量 po IS-5-MN 缓释片(40 mg, qd)及 IS-5-MN 普通片(20 mg, bid)达稳态后, 24 h 内血药浓度波动范围分别为 $74.20 \sim 512.55 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ 及 $134.42 \sim 494.58 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$, 按前式计算缓释片和普通片的波动系数分别为 1.83 ± 0.30 和 1.63 ± 0.65 , 用方差不齐的 t 检验比较可得出二者(检验值 $t = 0.883$, 临界值 $t = 2.17$)无显著性差异 ($P > 0.05$)。对 IS-5-MN 普通片和缓释片的血药浓度—时间数据进行拟合, 结果表明, 一室模型能较好地描述 IS-5-MN 普通片和缓释片血药浓度随时间的变化规律。

IS-5-MN 缓释片与普通片的积蓄因子分别

为 1.12 和 1.44, 而积蓄程度分别为 0.46 和 0.92, 表明后者稍大于前者, 但总体讲两种制剂都无明显的蓄积。

Tab 1 Individual and mean steady state pharmacokinetic parameters of isosorbide-5-mononitrate after multiple oral dose to ten human volunteers

Subject	C_{max} ($\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	C_{min} ($\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	T_{max} (h)	$AUC_{0\sim 24}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	$AUC_{0\sim inf}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$)	K_c (h^{-1})	$T_{1/2}$ (h)	FI	Fr (%)
Conventional tablet (Ismo, 20 mg, bid)									
01	730.42	121.29	0.4	7.20	8.65	0.105	6.60	2.03	
02	500.42	180.10	1.7	6.84	8.66	0.104	6.66	1.12	
03	439.10	183.69	2.5	5.88	7.48	0.127	5.46	1.04	
04	428.79	82.57	1.1	3.84	5.00	0.080	8.66	2.16	
05	548.95	81.22	1.7	3.81	4.98	0.090	7.70	2.95	
06	322.55	106.73	1.4	5.14	7.03	0.060	11.55	1.01	
07	464.44	142.61	0.9	6.36	8.15	0.109	6.34	1.21	
08	524.23	126.02	0.4	5.52	7.07	0.078	8.88	1.71	
09	455.41	147.35	2.4	5.14	6.59	0.096	7.22	1.44	
10	531.45	172.59	1.5	8.13	10.05	0.141	4.91	1.06	
Mean	494.58	134.42	1.4	5.79	7.36	0.099	7.67	1.63	
s	105.56	37.61	0.7	1.40	1.60	0.023	1.82	0.65	
Sustained release tablet (40 mg, qd)									
01	503.59	60.68	2.0	4.76	5.60	0.064	10.83	2.23	66.10
02	613.59	89.20	3.0	6.71	7.59	0.106	6.54	1.88	98.42
03	416.79	76.15	5.0	5.91	7.39	0.092	7.53	1.38	100.56
04	521.53	59.39	5.0	5.47	6.43	0.098	7.07	2.03	142.56
05	401.13	48.79	6.0	4.50	5.01	0.117	5.92	1.90	120.17
06	667.69	114.23	6.0	8.52	10.02	0.095	7.29	1.56	165.63
07	387.44	64.58	4.0	4.93	5.85	0.081	8.56	1.57	68.16
08	472.98	59.95	5.0	4.74	5.60	0.080	8.66	2.10	85.92
09	645.80	64.80	5.0	7.50	8.46	0.104	6.66	1.86	145.87
10	489.96	104.25	8.0	7.80	9.38	0.090	7.70	1.19	96.04
Mean	512.55	74.20	5.0	6.09	7.14	0.093	7.68	1.83	108.95
s	100.23	21.51	1.6	1.46	1.73	0.015	1.40	0.30	33.68

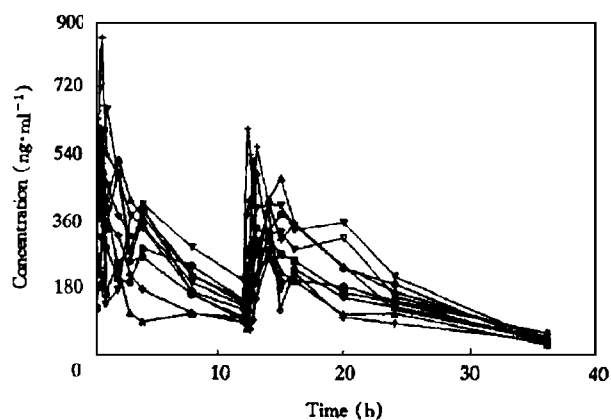


Fig 1 Plasma drug concentration of isosorbide-5-mononitrate (IS-5-MN) versus time curves for 10 subjects after multiple oral administration of conventional tablet (20 mg, bid).

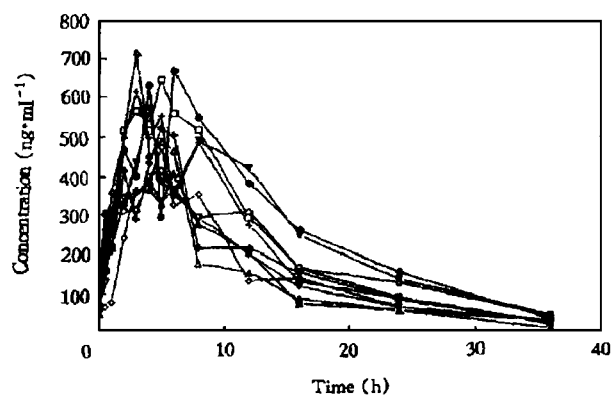


Fig 2 Plasma drug concentration of IS-5-MN versus time curves for 10 subjects after multiple oral administration of sustained release tablet (40 mg, qd).

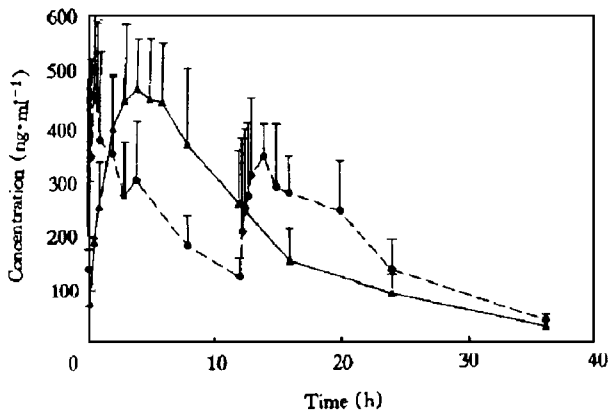


Fig 3 Mean plasma concentration of IS-5-MN versus time curves for 10 subjects after multiple dose administration of sustained release tablet (—, 40 mg, qd) or conventional tablets (- - -, 20 mg, bid).

3 IS-5-MN 缓释片和普通片的生物等效性评价

将缓释片和普通片的 AUC_0^∞ 作对数转换后,采用交叉设计进行方差分析,结果见表 2。方差分析表明,两种制剂之间没有显著性差异 ($P > 0.05$),个体之间也无显著性差异 ($P > 0.05$),但实验周期之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Tab 2 Analysis of variances for the observed $\ln(AUC)$

Source	df	SS	MS	F	$F(\alpha=0.05)$
Subject	9	0.6653	0.07392	2.7317	$F(9,8)=3.32$
Period	1	0.1757	0.1757	6.4938	$F(1,8)=5.32$
Formulation	1	0.01406	0.01406	0.5196	$F(1,8)=5.32$
Error	8	0.2165	0.02706		
Total	19	1.0716			

然后采用双单侧检验法(two one-side test)和 $(1-2\alpha)$ 置信区间法两种统计方法进行生物等效性评价。双单侧检验的统计量为:

$$T_1 = [(\eta_T - \eta_R) - \ln r_1] / [s(2/n)^{1/2}]$$

$$T_2 = [\ln r_2 - (\eta_T - \eta_R)] / [s(2/n)^{1/2}]$$

式中 η_T 和 η_R 分别为缓释片和普通片的 AUC_0^∞ 经对数变换后的均值, s 为样本误差均

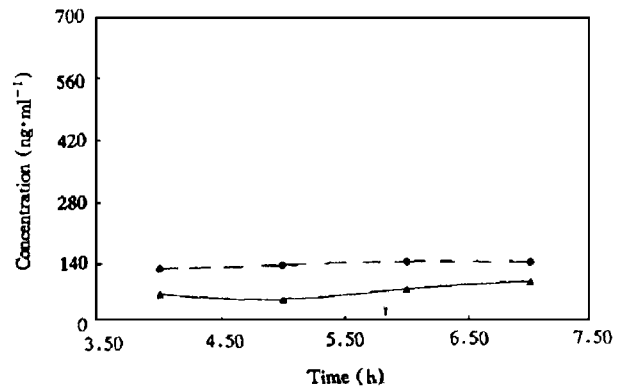


Fig 4 Average trough concentrations of IS-5-MN versus time curves for 10 subjects after multiple oral administration of conventional (- - -) and sustained release (—) tablets.

方的平方根, r_1 和 r_2 为生物等效性部门规定的下限和上限,其中 $r_1 = 0.8, r_2 = 1.25$ 。 T_1 和 T_2 服从自由度为 ν 的 T 分布。计算得: $T_1 = 3.7541, T_2 = 2.3124$ 。查 T 单侧分位数表: $T_{1-0.05(8)} = 1.86$, 即 $T_1 > 1.86, T_2 > 1.86$, 故拒绝无效假说 $H_0: \eta_T - \eta_R \leq \ln r_1$ 或 $\eta_T - \eta_R \geq \ln r_2$, 接受备选假说 $H_1: \ln r_1 < \eta_T - \eta_R < \ln r_2$ 。这一统计分析结果表明, IS-5-MN 缓释片(40 mg, qd)与普通片(20 mg, bid)生物等效。 $1-2\alpha$ 置信区间的上下限分别为:

$$\text{上限: } (\eta_T - \eta_R) + t_{1-\alpha}(\nu) [s(2/n)^{1/2}]$$

$$\text{下限: } (\eta_T - \eta_R) - t_{1-\alpha}(\nu) [s(2/n)^{1/2}]$$

式中 n 为受试者人数, ν 为误差均方的自由度, $t_{1-\alpha}(\nu)$ 为双侧 t 分布值,其他符号同上。计算得到实际的上下限分别为: -0.1308 和 0.2368 , 经反对数换算可得 90% 置信区间为 91.96% ~ 120.90%。 IS-5-MN 缓释片相对于普通片的生物利用度 108.95% 正好处于这个范围,表明 IS-5-MN 缓释片(40 mg, qd)与普通片(20 mg, bid)生物等效。

讨 论

关于 IS-5-MN 缓释片与普通片的人体药

代动力学和生物利用度的研究国外报道较多,但未见与本文完全相同的给药方案。本文得到的 IS-5-MN 缓释片的药代动力学参数如 AUC_0^{24} , C_{max} 和 T_{max} , 与国外同类产品的药代动力学参数比较一致 ($P > 0.05$)^[5]。与普通片相比, IS-5-MN 缓释片的 T_{max} 明显延长, 缓释效果非常明显。而且通过生物等效性的考察, 证明 IS-5-MN 缓释片与普通片生物等效。缓释片和普通片的波动系数也无显著性差异 ($P > 0.05$)。故 IS-5-MN 缓释片基本达到了设计要求。

本实验中的给药方案是考虑到临床的实际情况而设计的。临床上 IS-5-MN 普通片 (Ismo, 20 mg) 一般给药 20 mg bid, 而缓释片 40 mg qd。这样在多剂量口服给药之后 (达稳态后), 就能较好地评价临床上可能出现的蓄积和波动情况。波动系数与给药间隔 (τ) 有关, 在相同剂量下给药间隔越大, 波动系数越大。本实验中 IS-5-MN 缓释片的给药间隔 ($\tau = 24$ h) 大于普通片 ($\tau = 12$ h), 因此如果两种制剂都是普通片, 前者的波动系数应该明显大于后者。但结果是缓释片和普通片的波动系数无显著性差异, 这主要是由于前者具有明显的缓释效果。药物在体内的积蓄主要是由给药频率 ($T_{1/2}/\tau$) 决定的, 由于 IS-5-MN 的 $T_{1/2}$ 不长, 而给药间隔较长, 使给药频率较小, 故不容易在体内形成蓄积。

尽管 IS-5-MN 的浓度与药理效应之间的关系还不是十分明确, 但一般认为要产生血管舒张作用的最低浓度是 $100 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ^[6]。最近的研究表明, 如果在服用下一个剂量之前 IS-5-

MN 的血药浓度已经低于 $100 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, 则可防止其耐药性的出现^[7]。本实验中给与 IS-5-MN 普通片 (20 mg, bid) 时, 其 C_{min} 已超过 $100 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, 而给与 IS-5-MN 缓释片 (40 mg, qd) 时, 其 C_{min} 却能低于 $100 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, 因此 IS-5-MN 缓释片在大多数时间内保持作用的同时, 对于防止耐药性的产生可能是非常有用的。

参 考 文 献

- 1 Berlin R. Historical aspects of nitrate therapy. *Drugs*, 1987, **33**:1
- 2 Kosoglou T, Patrick JK, Cohen A, et al. Pharmacokinetics of isosorbide-5-mononitrate after oral administration of an extended-release mononitrate formulation versus a standard dinitrate formulation. *Clin Ther*, 1995, **17**:241
- 3 Merz PG, Thurmann P, Harder S. Biological availability and pharmacodynamics following single oral administration of three different sustained release isosorbide-5-mononitrate dosage forms. *Arzneimittelforsch*, 1992, **42**:21
- 4 Tzeng TB, Fung HL. Gas chromatographic analysis of isomeric organic mononitrates in plasma. *J Chromatogr*, 1991, **571**:109
- 5 Gandini R, Cuniatti E, Assereto R, et al. Pharmacokinetics of isosorbide mononitrate in a new sustained release oral form in comparison with a conventional formulation. *Arzneimittelforsch*, 1987, **37**:836
- 6 Sponer G, Kuhnle HF, Strein K, et al. Pharmacokinetic aspects of isosorbide-5-mononitrate in dogs. *J Pharmacol Exp Ther*, 1983, **228**:235
- 7 Wagner F, Siefert F, Trenk D, et al. Relationship between pharmacokinetics and hemodynamic tolerance to isosorbide-5-mononitrate. *Eur J Clin Pharmacol*, 1990, **38**(Suppl 1):S53

MULTIPLE DOSE PHARMACOKINETIC AND BIOAVAILABILITY STUDIES OF ORAL SUSTAINED RELEASE AND CONVENTIONAL FORMULATIONS OF ISOSORBIDE-5-MONONITRATE IN HEALTHY VOLUNTEERS

Zhang Qiang(Zhang Q), Huang Xiaofang(Huang XF), Ji Ping(Ji P),
Fu Lihui(Fu LH), Yan Baoxia(Yan BX) and Wei Shuli(Wei SL)

(*School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083*)

ABSTRACT The pharmacokinetics of a new sustained release tablets (40 mg, qd) of isosorbide-5-mononitrate (IS-5-MN) was investigated together with a conventional preparation (20 mg, bid) after multiple oral administration in ten healthy human subjects using an open, randomized two-way crossover experimental design. Based on three statistical analyses of the area under the plasma concentration-time curve (AUC), the two tablet formulations are judged to be bioequivalent ($P > 0.1$), with a relative bioavailability of 108.95% for the IS-5-MN sustained release formulation. Pharmacokinetic data showed that the sustained release formulation reached mean peak plasma levels significantly later and lower minimum plasma concentration (C_{\min}), compared with the conventional preparation. But no statistically significant difference was found for other pharmacokinetic parameters including peak plasma levels (C_{\max}), AUC, elimination constant (K_e), elimination half-life ($T_{1/2}$) and fluctuation index (FI) between the two preparations ($P > 0.05$).

KEY WORDS Isosorbide-5-mononitrate; Sustained release tablets; Pharmacokinetics; Bioavailability