doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.05.08

❖论著❖

两种单硝酸异山梨酯缓释片在人体中的生物等效性试验研究

蒋云[1],杨农[2],陈磊[3],李坤艳[1],林小平[2]
(湖南省肿瘤医院,1.药物临床试验机构;2.肺胃肠内科;3.心肺功能室,湖南 长沙 410006)

【摘要】**目的**:本试验旨在研究两种单硝酸异山梨酯缓释片在人体中的生物等效性。**方法**:采用双周期随机自身交叉试验设计。分别给予受试者受试制剂或参比制剂(均含单硝酸异山梨酯 60 mg),采用气相色谱法测定给药后不同时间的单硝酸异山梨酯的血药浓度。计算药动学参数。**结果**:(1)单硝酸异山梨酯参比制剂(R)与受试制剂(A)的主要药代动力学参数 C_{max}(772.95±106.68 *vs.* 767.84±108.54) ng/mL、T_{max}(5.78±0.81 *vs.* 5.72±0.83) h、AUC_{0-36}(11 219.57±1 731.61 *vs.* 10 897.97±1 670.59) ng·h^{-1}·mL^{-1}和 $AUC_{0\to\infty}$(12 432.67±2 050.36 *vs.* 11 865.56±1 937.85) ng·h^{-1}·mL^{-1}均较为接近;(2)T_{max}经非参数检验,两种制剂间差异无统计学意义($P>0.05$);(3)AUC_{0-36}、$AUC_{0\to\infty}$和 C_{max}在不同制剂间和不同周期间差异无无统计学意义($P<0.05$);(4)受试制剂 AUC_{0-36}和 $AUC_{0\to\infty}$的 90%可信区间均未超出参比制剂相应 AUC_{0-36}和 $AUC_{0\to\infty}$的 80%~125%的范围;(5)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。受试制剂对参比制剂的平均相对生物利用度 F(以 AUC_{0-36}作为评价依据)为 102.9%。**结论**:受试制剂单硝酸异山梨酯缓释片与等剂量的参比制剂在人体的吸收速度和吸收量差异无统计学意义,两药具有生物等效性。

【关键词】单硝酸异山梨酯缓释片;生物等效性;气相色谱法
【中图分类号】R96 【文献标志码】A

Bioequivalence of two isosorbide mononitrate sustained-release tablets in human body

JIANG Yun[1], YANG Nong[2], CHEN Lei[3], LI Kun-yan[1], LIN Xiao-ping[2]
(1. *Drug Clinical Trial Institute*; 2. *Department of Gastroenterology*; 3. *Cardiopulmonary Function Room, Hunan Cancer Hospital, Changsha* 410006, *Hunan*, *China*)

【**Abstract**】**Objective**: To study the bioequivalence of two isosorbide mononitrate sustained-release tablets in human body. **Methods**: The double period randomized self crossover design was used. Subjects were given 60 mg isosorbide mononitrate of test preparation or reference preparation respectively, and the blood concentration of isosorbide mononitrate at different time after administration was determined by gas chromatography. The pharmacokinetic parameters were calculated. **Results**: The main pharmacokinetic parameters C_{max} (772.95±106.68 *vs.* 767.84±108.54) ng/mL, T_{max} (5.78±0.81 *vs.* 5.72±0.83) h, AUC_{0-36} (11,219.57±1,731.61 *vs.* 10,897.97±1,670.59) ng·h/mL and $AUC_{0\to\infty}$ (12,432.67±2,050.36 *vs.* 11,865.56±1,937.85) ng·h/mL of the isosorbide monosorbate reference preparation (R) and the test preparation (A) were closed. There was no significant difference in T_{max} between the two preparations by nonparametric test ($P>0.05$). AUC_{0-36}, $AUC_{0\to\infty}$ and C_{max} were no significant difference between different formulations and different periods ($P<0.05$). The 90% confidence intervals of the test preparations AUC_{0-36} and $AUC_{0\to\infty}$ did not exceed the range of 80% to 125% of the corresponding AUC_{0-36} and $AUC_{0\to\infty}$ of the reference preparation. The 90% confidence interval for the C_{max} of the test formulation did not exceed the range of 70% and 143% of the C_{max} of the reference formulation. The average relative bioavailability F of the test preparation to the reference preparation (based on AUC_{0-36}) was 102.9%. **Conclusion**: There are no significant difference in the absorption rate and absorption between the test preparation isosorbide mononitrate sustained-release tablets and the equivalent dose of the reference preparation (isosorbide mononitrate sustained release tablets). The two drugs are bioequivalent.

【**Key words**】Isosorbide mononitrate sustained release tablets; Bioequivalence; Gas chromatography

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2019JJ40178)
作者简介:蒋云(1983-),女,主管药师。E-mail:jiangyun@hnca.org.cn
通讯作者:陈磊。E-mail:chenlei@hnca.org.cn

单硝酸异山梨酯(ISMN)是一类带有硝酸酯基团(ONO_2)的血管扩张剂,可减轻心脏前后负荷,改善心肌缺血区的供血供氧,用于预防和治疗冠心病心绞痛或心肌梗死后心衰的长期治疗[1-2]。ISMN口服吸收迅速,无肝脏首过效应,有效血药浓度稳定,持续时间长,分布心脏、脑组织中含量较高,该成分主要作用于松弛血管平滑肌,可引起外周动脉和静脉回流,因此对静脉血管和冠状动脉的扩张具有促进作用[3-4]。本研究中所采用药品为单硝酸异山梨酯缓释片,其有效成分的释放不受pH影响,且缓释片吸收期、作用期比普通片延长,且对食物吸收无影响,理论上其在治疗方面更有优势。因此本试验旨在研究两种单硝酸异山梨酯缓释片在健康人体中的吸收速度和吸收量,以明确其是否具有生物等效性。

1 材料与方法

1.1 药品

参比制剂:再佳(单硝酸异山梨酯缓释片),规格:60 mg/片,南京臣功制药有限公司生产,批号:1508001。受试制剂:单硝酸异山梨酯缓释片,规格:60 mg/片,批号:141101,山东齐都药业有限公司研制。标准品:单硝酸异山梨酯由山东齐都药业有限公司提供,纯度均>99%。

1.2 分组、给药和样品测定

1.2.1 *分组与给药方法* 18名受试者随机分成两组,一组首先服用受试制剂,经1周洗脱后再服用参比制剂;另一组给药顺序相反。给药剂量均为单硝酸异山梨酯缓释成份60 mg。受试者禁食12 h后,于试验当天早晨统一空腹口服药物,温开水送服,服药2 h后统一进食。第一轮试验于36 h后结束。试验过程中记录准确采血时间和药物不良反应。1周洗脱时间后开始第二轮试验,过程同上。

1.2.2 *样品采集测定* 取样时间点为服药前空白血样(0时),服药后1、2、3、4、5、6、8、10、12、24、36 h静脉采血5 mL,离心,血浆在-20 ℃避光保存。采用色谱法测定两组的药动学参数。

1.3 受试者的筛选

入选标准:男性;18~40岁;无心、肝、肾、神经系统及代谢异常等病史;体格检查、实验室检查和心电图检查均正常;试验前两周及试验期间不服用其它药物。排除标准:体格检查不合格者;药物滥用者、嗜烟酒者;血友病或血小板减少症者等。本试验伦理审批号[2006院伦药审(6)号]。

1.4 统计学分析

采用DAS Ver 2.0软件进行单硝酸异山梨酯的药代动力学参数的相关计算与统计学检验分析。

2 结果

2.1 平均血药浓度—时间曲线

单硝酸异山梨酯受试制剂(A)和参比制剂(R)的平均血药浓度随时间变化趋势较为一致,服药后均很快在血浆中检测到其有效成分,在约6 h后血液中单硝酸异山梨酯浓度达到峰值约700 ng/mL,然后血浆中药物浓度逐渐呈下降趋势,药效均持续时长约36 h。见图1。

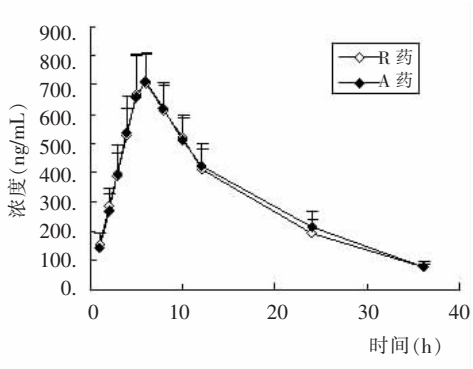

图1 平均血药浓度-时间曲线

2.2 专属性

气相分离条件下,单硝酸异山梨酯、内标的保留时间分别为8.911 min和4.568 min,血浆中内源性物质对测定不造成干扰。

2.3 精密度和回收率

每天用空白血浆配制低、中、高浓度的单硝酸异山梨酯标准血浆各5份,连续测定3 d,计算日内和日间变异以及回收率(RSD),见表1。表明该方法精密度和准确度较好。

表1 单硝酸异山梨酯精密度和回收率($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

浓度(ng/mL)	日内精密度		日间精密度		回收率(%)	
	浓度(ng/mL)	RSD(%)	浓度(ng/mL)	RSD(%)	相对回收率	绝对回收率
8.6	8.8±0.7	6.7	9.0±0.6	6.6	101.6	94.3
138.3	137.6±5.8	4.3	132.4±1.0	4.1	99.0	92.4
1106	1101.4±50.8	4.3	1091.0±30.0	4.1	100.0	92.6

2.4　稳定性

2.4.1　融冻实验　反复3次冻融(室温 -20 ℃)后单硝酸异山梨酯在血浆中稳定。见表2。

表2　单硝酸异山梨酯融冻条件下的稳定性($\bar{x} \pm s$)

时间	单硝酸异山梨酯浓度(ng/mL)		
	低(8.6)	中(138.3)	高(1 106)
0 h			
浓度	8.3 ±0.7	136.6 ±8.1	1 107.6 ±64.4
RSD(%)	8.2	5.9	5.8
8 h			
浓度	8.4 ±0.7	138.5 ±4.0	1 137.2 ±69.3
RSD(%)	8.0	2.9	6.1
16 h			
浓度	8.8 ±0.8	137.7 ±7.0	1 097.2 ±41.9
RSD(%)	9.5	5.1	3.8
24 h			
浓度	8.4 ±0.8	136.9 ±6.2	1 102.8 ±47.8
RSD(%)	9.2	4.5	4.3

2.4.2　介质中长期稳定性　0 d、3 d和12 d单硝酸异山梨酯各浓度检测值的变异系数均 <15%,表明在 -20 ℃下单硝酸异山梨酯在血浆中12 d内稳定。见表3。

表3　单硝酸异山梨酯长期稳定性($\bar{x} \pm s$)

时间	单硝酸异山梨酯浓度(ng/mL)		
	低(8.6)	中(138.3)	高(1 106)
0 d			
浓度	8.3 ±0.6	135.8 ±5.9	1 096.2 ±34.9
RSD(%)	7.7	4.3	3.2
3 d			
浓度	8.4 ±0.6	134.3 ±5.8	1 099.8 ±50.3
RSD(%)	6.6	4.3	4.6
12 d			
浓度	8.4 ±0.6	134.1 ±5.1	1 105.2 ±37.7
RSD(%)	7.0	3.8	3.4

2.5　药代动力学参数

单硝酸异山梨酯参比制剂(R)与受试制剂(A)的主要药代动力学参数较为接近。见表4。

表4　单硝酸异山梨酯药代动力学参数($\bar{x} \pm s$)

	AUC_{0-36} ($ng \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$)	$AUC_{0\to\infty}$ ($ng \cdot h^{-1} \cdot mL^{-1}$)	T_{max}(h)	C_{max} (ng/mL)	$T_{1/2}$(h)	A/R			
						AUC_{0-36}	$AUC_{0\to\infty}$	T_{max}	C_{max}
受试制剂	10 897.97 ±1 670.59	11 865.56 ±1 937.85	5.72 ±0.83	767.84 ±108.54	9.14 ±0.92	1.032 ±0.071	1.051 ±0.102	0.994 ±0.087	1.009 ±0.052
参比制剂	11 219.57 ±1731.61	12 432.67 ±2 050.36	5.78 ±0.81	772.95 ±106.68	9.87 ±1.93				

2.6　生物等效性评价

受试制剂和参比制剂间 AUC_{0-36}、$AUC_{0\to\infty}$、C_{max} 经对数转换后无显著性差异($P = 0.780$)。t 检验和90%置信区间分析显示受试制剂 AUC_{0-36} 和 $AUC_{0\to\infty}$ 的90%置信区间分别为100.2% ~105.7%和100.7% ~108.9%,均落在80% ~125%标准置信区间内;C_{max} 的90%置信区间为98.7% ~102.8%,落在70% ~143%标准置信区间内,符合生物等效性要求。

2.7　安全性评价

本试验中7位受试者在受试制剂周期内、5位在参比制剂周期内出现1度头晕,有2位在两个用药周期内均出现上述症状。症状多在用药后2 ~3 h出现,持续6 ~24 h后消失,可能与受试制剂有关。试验结束后受试者体检及心电图检查均正常。

3　讨论

单硝酸异山梨酯是临床上冠心病心绞痛、心力衰竭等疾病常用治疗药物,具有降低心室充盈压和心肌氧耗和室壁应力的作用,减少心肌耗氧量,还可改善心室的舒张和收缩功能和血流动力学,因此在相关疾病治疗中取得了较好的效果[5-8]。但目前以上两种疾病患者的长期预后状况仍不容乐观,因此其死亡率仍然较高,且具有年轻化趋势[9-11]。因此,新药物的研发和应用仍是相关研究热点内容。

本研究根据之前的相关报道[12-13],建立了测定单硝酸异山梨酯血浆浓度的气相色谱分析方法(GC-ECD)测定方法,采用南京臣功制药有限公司生产的单硝酸异山梨酯缓释片(再佳)作为参比制剂,山东齐都药业有限公司研制的单硝酸异山梨酯缓释片为受试制剂,通过开放的双周期、自身双交叉对照的试验设计对两者是否具有生物等效性进行相关研究,结果显示:两种药物经服用后均很快在血浆中检测到其有效成分,并在服药后约6 h后血液中单硝酸异山梨酯浓度达到峰值约700 ng/mL,然后血浆中药物浓度逐渐呈下降趋势,药效均持续时长约36 h,两种药物的平均血药浓度随时间变化趋势较为一致。另外,本研究结果还表明:两种药物药代动力学参数接近、特点相似且二者生物物理学释放性质相似,与相关文献中药物动力学[14-16]和生物物理学释放性质[17-19]研究结果一致。受试制剂 AUC_{0-36} 和 $AUC_{0\to\infty}$ 的90%置信区间分别为100.2% ~105.7%和100.7% ~108.9%,均落在80% ~125%标准置信区间内;C_{max} 的90%置信区间为

98.7% ~102.8%,落在70% ~143%标准置信区间内,符合生物等效性要求。因此,单硝酸异山梨酯缓释片的单硝酸异山梨酯缓释成分与等剂量参比制剂单硝酸异山梨酯缓释片在人体的吸收速度和吸收量差异无显著性意义,判定为生物等效。另外,本研究中受试者服药后受试制剂和参比制剂均出现轻微不适,但不适症状均在6 ~24 h后消失,且试验结束后受试者体检及心电图检查均正常,表明受试制剂单硝酸异山梨酯缓释片安全性良好。

综上所述,受试制剂单硝酸异山梨酯缓释片与参比制剂单硝酸异山梨酯缓释片参比制剂具有生物等效性,且安全性稳定性较好。但是本研究中未研究未采集服药后0.5 h静脉血测定药动学参数,参比制剂选择国产再佳,未选择原研进口单硝酸异山梨酯缓释片作为参比制剂,将在下一步研究中进行采集并测定服药后0.5 h静脉血药动学参数,并以原研进口单硝酸异山梨酯缓释片作为参比制剂进一步探讨单硝酸异山梨酯缓释片的生物等效性。

参考文献

[1] 张卫君,刘琳琳,林利. 单硝酸异山梨酯上调外泌体-microRNA378表达减轻机械牵张诱导的心力衰竭[J]. 同济大学学报(医学版),2018,39(3):24-29.

[2] 顾爱峰,张晓芳,于成娟. 血府逐瘀丸联合西药对冠心病高同型半胱氨酸血症患者血管内皮功能的影响[J]. 长春中医药大学学报,2018,34(3):489-491.

[3] 夏学英. 通心络胶囊联合单硝酸异山梨酯片治疗冠心病心绞痛的疗效观察[J]. 临床合理用药杂志,2016,9(19):78-79.

[4] 吴保军. 阿托伐他汀联合单硝酸异山梨酯治疗冠心病心绞痛的临床研究[J]. 现代药物与临床,2017,32(3):411-414.

[5] 闻淑范,赵胤冰. 单硝酸异山梨酯胶囊治疗冠心病心绞痛的临床观察[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(92):86.

[6] 郭文安,陈津瀚,黄上萌. 单硝酸异山梨酯治疗心力衰竭的效果及对心功能影响分析[J]. 中外医学研究,2019,17(25):17-19.

[7] 高树玲,张春梅,高向红,等. 单硝酸异山梨酯缓释片、多巴胺及呋塞米联合治疗慢性肺源性心脏病心力衰竭对患者心功能及生活质量的影响分析[J]. 解放军预防医学杂志,2016,34(S2):208-209.

[8] 王婷. 应用单硝酸异山梨酯胶囊治疗冠心病心绞痛的临床效果评价[J]. 生物技术世界,2016(1):176.

[9] 李海滨,李征,胡月,等. 灯盏生脉胶囊治疗冠心病及慢性心力衰竭的系统评价[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(7):11-15.

[10] 张卫君,刘琳琳,林利. 单硝酸异山梨酯上调外泌体-microRNA378表达减轻机械牵张诱导的心力衰竭[J]. 同济大学学报(医学版),2018,39(03):24-29.

[11] 石秋婷. 单硝酸异山梨酯胶囊治疗冠心病心绞痛患者的疗效观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2016,4(08):58-59.

[12] 刘朝霞,吴健敏,何兰,等. HPLC法测定注射用硝酸异山梨酯的有关物质[J]. 药物评价研究,2016,39(4):598-602.

[13] 贺美莲. 单硝酸异山梨酯,地芬尼多和盐酸氨溴索的生物等效性研究[D]. 济南:山东大学,2019.

[14] 梁震林. 高压氧治疗在改善无症状冠心病早期心功能减退者血流动力学的作用[J]. 当代医学,2016,22(14):23-24.

[15] 李自强,黄宇虹,王保和,等. FDA,EMA和CFDA关于高变异性药物生物等效性研究指南比较[J]. 中国新药杂志,2017,26(1):7-13.

[16] 钱薇,郑林海,杨迪,等. 人体生物等效性临床试验风险伦理评估要点初探[J]. 中国临床药理学与治疗学,2017,22(9):1077-1080.

[17] Liang Y, Zou J, Zhang X, *et al*. The Relationship between Compound Danshen Dripping Pills with Isosorbide Mononitrate in the Treatment of Elderly Patients with Unstable Angina Pectoris[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 2018(1):1-12.

[18] 淳泽利,刘文芳,林阳,等. 单剂量与多剂量口服单硝酸异山梨酯缓释胶囊的人体生物等效性研究[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(17):1727-1731.

[19] 寻明金,冯中,张贵民. 单硝酸异山梨酯缓释片的体内外相关性评价[J]. 中国医药工业杂志,2018,49(4):479-484.

(收稿日期:2019-12-26 学术编辑:刘福)