

## 齐多夫定片剂人体生物等效性研究

李见春<sup>1</sup>, 胡齐胜<sup>2</sup>, 高 署<sup>2</sup>, 蒋志文<sup>1</sup>

**[摘要]**目的:研究齐多夫定片剂与胶囊在健康人体的生物等效性。方法:20 名健康志愿者采用双周期交叉试验,单剂量空腹口服齐多夫定片剂和胶囊剂各 300 mg, HPLC 法测定其血清中齐多夫定浓度,血药浓度-时间数据经 DAS 2.0 统计软件处理,计算主要药代动力学参数,并进行两种制剂的生物等效性评价。结果:齐多夫定片剂与胶囊的主要药代动力学参数分别为: $t_{1/2}$  (0.909 ± 0.308)h 和 (0.987 ± 0.234)h,  $C_{max}$  (1.723 ± 0.870) μg/ml 和 (1.457 ± 0.578) μg/ml,  $T_{max}$  (0.90 ± 0.69)h 和 (0.80 ± 0.41)h,  $AUC_{0-8h}$  (2.302 ± 0.503) μg · h<sup>-1</sup> · ml<sup>-1</sup> 和 (2.361 ± 0.567) μg · h<sup>-1</sup> · ml<sup>-1</sup>。片剂与胶囊比较相对生物利用度为 (100.8 ± 25.8)%。结论:齐多夫定片剂与胶囊具有生物等效性。

**[关键词]** 齐多夫定;生物利用度;高效液相色谱法

**[中国图书资料分类法分类号]** R 969.1;R 945.1 **[文献标识码]** A

## Bioequivalence of zidovudine tablets and capsules in healthy volunteers

LI Jian-chun<sup>1</sup>, HU Qi-sheng<sup>2</sup>, GAO Shu<sup>2</sup>, JIANG Zhi-wen<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu 233030; 2. Hefei Heyuan Phuni and Tel Ltd. Coop, Hefei 230000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the bioequivalence of zidovudine tablets and capsules in healthy volunteers. **Methods:** Twenty volunteers were randomly divided into two groups (test and reference), with double cross-over design. The concentration of zidovudine in serum was determined by HPLC, and pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 2.0 practical pharmacokinetics program. **Results:** The pharmacokinetic parameters of zidovudine tablets and capsules were as follows:  $t_{1/2}$  (0.909 ± 0.308) h and (0.987 ± 0.234) h,  $C_{max}$  (1.723 ± 0.870) μg/ml and (1.457 ± 0.578) μg/ml,  $T_{max}$  (0.90 ± 0.69) h and (0.80 ± 0.41) h,  $AUC_{0-8h}$  (2.302 ± 0.503) μg · h<sup>-1</sup> · ml<sup>-1</sup> and (2.361 ± 0.567) μg · h<sup>-1</sup> · ml<sup>-1</sup>. The relative bioavailability of zidovudine tablets was (100.8 ± 25.8)%. **Conclusions:** The statistical analysis shows that the test and reference preparation are bioequivalent.

**[Key words]** biological availability; zidovudine; high performance liquid chromatography

齐多夫定 (zidovudine, AZT) 是核苷类逆转录酶抑制剂,为第一个被美国食品与药品管理局 (FDA) 批准用于治疗 HIV 感染的药物<sup>[1]</sup>。在人免疫缺陷病毒 (HIV) 感染的细胞内,通过胸苷激酶、胸苷酸激酶的磷酸化作用,形成活化型三磷酸体 (AZTTP)。AZTTP 竞争性抑制病毒逆转录酶和中止 DNA 链增长而阻碍病毒繁殖。本研究观察了上海迪赛诺生物医药有限公司研制的齐多夫定片剂的药物动力学特征,并评价其是否与市售齐多夫定胶囊具有生物等效性。

## 1 材料与方 法

1.1 药品与试剂 试验制剂:齐多夫定片,上海迪赛诺生物医药有限公司,批号 040202,每片 0.3 g; 参比制剂:齐多夫定胶囊,葛兰素威康制药厂,批号 A050491,每粒 0.1 g;齐多夫定标准品:上海迪赛诺

生物医药有限公司,含量 > 94%;扑热息痛标准品 (内标):SIGMA 公司,含量 > 95%。乙腈:TEDIA 公司,色谱纯;四氢呋喃:天津市四友生物医药技术有限公司,色谱纯;甲酸、乙醚:分析纯;水为自制双蒸水。

1.2 仪器和 HPLC 条件 SPD-10Avp 紫外检测器, LC-10ADvp 输液泵,均为日本岛津公司生产;N2000 色谱数据工作台软件,浙江大学智达信息工程有限公司生产;AT-130 柱温箱, AUTO SCIENCE 公司生产;高速微量离心机,北京医用离心机厂;BT25 S 电子天平, Sartorius 生产。色谱条件:Kromasil C<sub>18</sub> 柱, 250 mm × 4.6 mm, I. D. × 5 μm, 柱温:30 °C, 流动相:四氢呋喃:水:甲酸 = 50:49:1, 流速 1.0 ml/min, 检测波长 267 nm, 灵敏度 0.001 AUFS。

1.3 样本处理<sup>[1-3]</sup> 精密吸取血清 0.1 ml 置于 2 ml 具塞离心管中,精密加入扑热息痛 (内标) 溶液 (6 μg/ml) 5 μl, 涡旋 1 min。精密加入乙醚 1 ml, 涡旋 3 min, 14 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 0.8 ml, 恒温 40 °C 下,用氮气吹干,然后再用 80 μl 流动相复溶,14 000 r/min 高速离心 5 min 后,取 20 μl 进样。

1.4 血清标准曲线的建立 取空白试管分别加入

[收稿日期] 2006-08-30

[作者单位] 1. 蚌埠医学院 药剂学教研室,安徽 蚌埠 233030; 2. 合肥源医药科技有限公司,安徽 合肥 230000

[作者简介] 李见春 (1973 -), 男, 硕士, 讲师。

[通讯作者] 蒋志文 (1951 -), 男, 博士, 教授。

不同量的标准品溶液,用氮气吹干,再加入 0.1 ml 空白血清,使其浓度分别为 0.031 3、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1、2、4  $\mu\text{g/ml}$ ,按“样本处理”项下操作,记录齐多夫定和内标物的峰面积。以齐多夫定峰面积( $A_i$ )与内标物峰面积( $A_s$ )的比值( $A_i/A_s$ )对浓度( $X, \mu\text{g/ml}$ )进行线性回归。

1.5 精密度与回收率的测定 以空白血清配制低、中、高(0.0625、0.25、2  $\mu\text{g/ml}$ )3个不同浓度的齐多夫定标准系列,每一浓度进行5样本分析,按“样本处理”项下操作,计算日内、日间变异系数,提取回收率,评价方法的精密度和准确度。

1.6 受试者选择 20名健康志愿者,体重( $62.9 \pm 4.5$ )kg;年龄( $21.7 \pm 1.1$ )岁。均无药物过敏史,无肝、肾疾病史,精神状态良好,全面体格检查均正常(其中包括肺部听诊,肝脾触诊,心电图,心率,血压,肝、肾功能,血、尿常规等)。在被告知所有与药物有关可能的不良反应后,自愿签署知情同意书。受试者在受试前2周末服用任何药物,从开始进入试验后直至试验结束,禁烟酒及任何饮料。

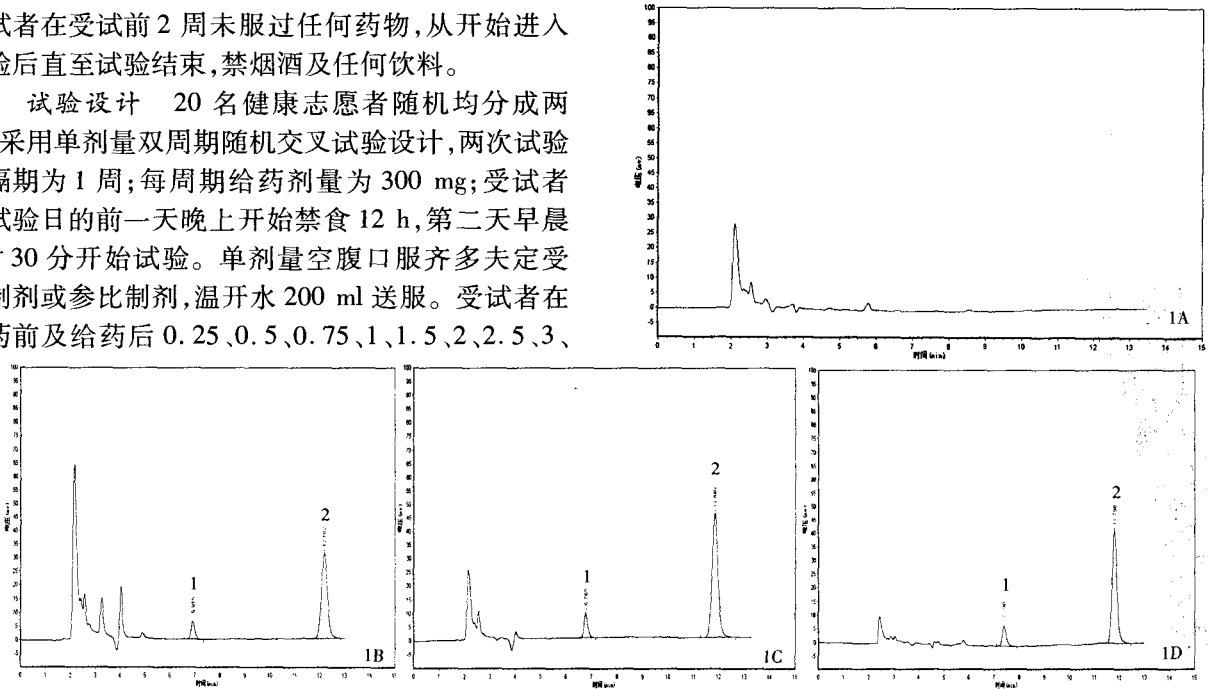
1.7 试验设计 20名健康志愿者随机均分成两组,采用单剂量双周期随机交叉试验设计,两次试验间隔期为1周;每周期给药剂量为300 mg;受试者于试验日的前一天晚上开始禁食12 h,第二天早晨7时30分开始试验。单剂量空腹口服齐多夫定受试制剂或参比制剂,温开水200 ml送服。受试者在给药前及给药后0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3、

4、5、6、8 h采静脉血3 ml。血样经离心取血清,置-20  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待测。服药2 h后自由进水,4 h后统一进标准餐。在临床医生的监护下,观察受试者不良事件。受试者在服药后避免剧烈活动。

1.8 统计学方法 根据所测齐多夫定血药浓度-时间数据,采用 DAS 2.0 药代动力学程序,计算齐多夫定试验制剂和参比制剂的主要药代动力学参数( $C_{\text{max}}$ 、 $T_{\text{max}}$ 用实测值, AUC 采用梯形法进行计算),并进行方差分析、双向单侧  $t$  检验法和(1-2 $\alpha$ )置区间分析,评价两种制剂的生物等效性。

2 结果

2.1 方法的专属性 本试验建立的齐多夫定 HPLC 法具有较好的特异性,空白人血清、标准品、内标及用药后血清在检测范围内无干扰物质,齐多夫定的保留时间约为 12.0 min,内标(扑热息痛)的保留时间约为 7.0 min。各色谱图见图 1。



A:空白血清;B:内标+齐多夫定标准品;C:血清+内标+齐多夫定标准品;D:药后0.5 h受试者血清样品;1:内标(扑热息痛,  $t_R=7.0$  min);2:为齐多夫定( $t_R=12.0$  min)

图 1 齐多夫定专属性色谱图

2.2 线性范围及最低检测线 齐多夫定血清标准曲线,在 0.031 3 ~ 4.0  $\mu\text{g/ml}$  范围内线性良好,其线性回归方程为: $\hat{Y}=0.242 2X - 0.001 1 (n=5, r=0.999 9)$ 。最低定量浓度为 0.031 3  $\mu\text{g/ml}$  ( $n=5, RSD=6.05\%$ )。

2.3 回收率与精密度 血清样品低、中、高(0.031、0.25 和 2.0  $\mu\text{g/ml}$ )三个浓度日内及日间变异均 < 10%,低、中、高三个浓度的平均回收率在 98.17% ~ 99.70% (见表 1)。

表 1 齐多夫定的精密度与回收率 ( $n=5$ )

加入浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	日内精密度 ( $A_i/A_s$ )		日间精密度 ( $A_i/A_s$ )		回收率 (%)	
	$\bar{x} \pm s$	RSD%	$\bar{x} \pm s$	RSD%	$\bar{x} \pm s$	RSD%
0.031	0.231 $\pm$ 0.015	6.555	0.234 $\pm$ 0.021	8.951	98.17 $\pm$ 4.41	4.49
0.25	1.089 $\pm$ 0.051	4.689	0.986 $\pm$ 0.052	5.258	99.70 $\pm$ 9.73	9.76
2.0	3.660 $\pm$ 0.070	1.905	7.892 $\pm$ 0.451	5.718	99.41 $\pm$ 7.06	7.11

2.4 血药浓度与时间曲线 20名受试者均如期完成试验,服药后未见不良事件的发生。齐多夫定血

药浓度-时间数据见图 2。结果可见两制剂的血药浓度随时间变化趋势相近。

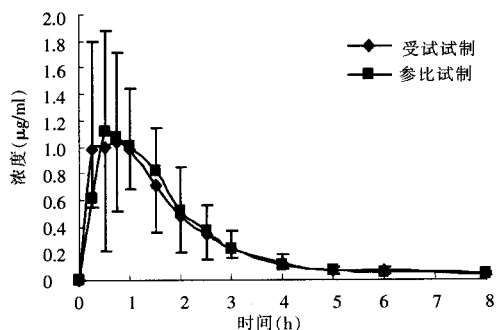


图 2 20 名受试者口服齐多夫定受试制剂和参比制剂平均血药浓度时间曲线

2.5 药代动力学参数 根据所测齐多夫定血清浓度-时间数据,利用 DAS 2.0 药代动力学程序计算主要药代动力学参数  $t_{1/2}$ 、 $AUC_{0-8h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  等,受试制剂及参比制剂均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (见表 2)。

2.6 生物等效性评价<sup>[2]</sup> 齐多夫定  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-8h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  数值经对数转换,方差分析结果表明,ln

( $AUC_{0-8h}$ ) 在药剂间、周期间和个体间均无统计学意义(相应的  $F$  值分别为 0.161 4、0.491 0、0.121 3,  $P$  均  $> 0.05$ ,  $MS_{误差}$  分别为 0.005 9、0.017 9、1.208 2); ln ( $AUC_{0-\infty}$ ) 在药剂间、周期间和个体间均无统计学意义(相应的  $F$  值分别为 0.105 6、0.543 0、1.606 7,  $P$  均  $> 0.05$ ,  $MS_{误差}$  分别为 0.003 7、0.019 1、1.071 1); ln ( $C_{max}$ ) 在药剂间,周期间均无统计学意义(相应的  $F$  值分别为 2.130 7、0.167 9,  $P$  均  $> 0.05$ ,  $MS_{误差}$  分别为 0.169 6、0.686 8; 个体间有统计学意义 ( $F = 4.088 8$ ,  $P < 0.01$ ,  $MS_{误差} = 6.185 6$ ); 双向单侧  $t$  检验显示,各参数与等效性检验的低限及高限比较均合格 ( $P < 0.05$ ),  $\ln AUC_{0-8h}$  90% 置信区间为 87.91% ~ 108.37%,  $\ln AUC_{0-\infty}$  90% 置信区间为 88.52% ~ 108.70%, 均落在 80% ~ 125% 的置信区间内;  $\ln C_{max}$  90% 置信区间为 97.58% ~ 132.97%, 落在 70% ~ 143% 的置信区间内;  $T_{max}$  经非参数检验差异无统计学意义 ( $u = 0.000$ ,  $P > 0.05$ )。表明两种制剂具有生物等效性。

表 2 20 名受试者口服齐多夫定片及齐多夫定胶囊后的药代动力学参数

制剂类型	$C_{max}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$T_{max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ )
受试制剂	$1.723 \pm 0.870$	$0.90 \pm 0.69$	$0.909 \pm 0.308$	$2.302 \pm 0.503$	$2.368 \pm 0.486$
参比制剂	$1.457 \pm 0.578$	$0.80 \pm 0.41$	$0.987 \pm 0.234$	$2.361 \pm 0.567$	$2.425 \pm 0.583$
$t$	1.14	0.56	0.90	0.35	0.34
$P$	$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$

### 3 讨论

国外齐多夫定血药浓度检测<sup>[4-7]</sup>多采用离子对液相色谱、反相液相色谱、高效液相色谱-质谱联用等方法,血样预处理普遍采用固相萃取、超滤等方法,操作复杂,成本高。本文采用反相液相色谱法,在文献<sup>[8]</sup>的基础上对试验条件加以改进:血样直接加乙醚进行萃取,然后再吹干、复溶,操作相对简单;流动相由水-乙腈改为四氢呋喃-水-甲酸,不需要梯度洗脱,基线更为平稳;内标物由扑热息痛代替奈韦拉平,齐多夫定的保留时间约为 12.0 min,内标(扑热息痛)的保留时间约为 7.0 min,用时与文献<sup>[8]</sup>基本一致。因此,本法更适用于大批量生物样品浓度的检测。

20 名健康志愿受试者服药后,受试制剂与参比制剂的血药浓度随时间变化趋势相近,两者主要药代动力学参数  $C_{max}$ 、 $AUC_{0-8h}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  经等效性分析均合格,说明两制剂具有生物等效性;齐多夫定片剂的相对生物利用度为  $(100.8 \pm 25.8)\%$ 。ln ( $C_{max}$ ) 在个体间差异有统计学意义,临床用药要注意个体化给药。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 方鹏飞,刘长余.固相萃取高效液相色谱法测定人血浆中齐多夫定浓度[J].武警医学,2005,16(5):355-357.
- [2] 丁鸿珊.高效液相色谱法测定齐多夫定胶囊中 AZT 的含量[J].海峡药学,2004,16(6):38-40.
- [3] 王伟,徐桂清,戴朝晖,等.齐多夫定含量的 HPLC 法测定[J].南阳师范学院学报(自然科学版),2003,2(9):128-129.
- [4] Marchei E, Valvo L, Pacifici R, et al. Simultaneous determination of zidovudine and nevirapine in human plasma by RP-LC [J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 29(6): 1 081-1 088.
- [5] Fan B, Stewart JT. Determination of zidovudine/lamivudine/nevirapine in human plasma using ion-pair HPLC [J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 28(5): 903-908.
- [6] Kenney KB, Wring SA, Carr RM, et al. Simultaneous determination of zidovudine and lamivudine in human serum using HPLC with tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2000, 22(6): 967-983.
- [7] Fletcher CV, Rhame FS, Beatty CC, et al. Comparative pharmacokinetics of zidovudine in healthy volunteers and in patients with AIDS with and without hepatic disease [J]. Pharmacotherapy, 1992, 12(6): 429-434.
- [8] 杨蓓,马玲,祁海宏,等.国产和进口齐多夫定胶囊人体生物等效性评价[J].中国药理学杂志,2005,40(14):1 097-1 099.