

氯雷他定口腔崩解片人体药动学及生物等效性评价

马 涛, 李见春, 蒋志文

[摘要]目的: 评价氯雷他定口腔崩解片和氯雷他定片的人体生物等效性。方法: 20名男性健康志愿者随机交叉口服氯雷他定口腔崩解片和氯雷他定片各 20 mg 采用液相色谱-串联质谱法测定血药浓度。以 DAS2.0 软件计算其药动学参数, 考察其生物等效性。结果: 受试氯雷他定口腔崩解片和参比氯雷他定片的 T_{max} 分别为 (1.14 ± 0.43) h 和 (1.33 ± 1.02) h, C_{max} 分别为 (37.0 ± 16.0) $\mu\text{g/L}$ 和 (41.0 ± 17.1) $\mu\text{g/L}$; AUC_{0-15h} 分别为 (99.6 ± 49.5) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 (89.4 ± 43.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; $AUC_{0-\infty}$ 分别为 (108.0 ± 50.7) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 (101.7 ± 39.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。以 AUC_{0-15h} 计算, 受试氯雷他定口腔崩解片和参比氯雷他定片比较的人体相对生物利用度为 $(115.1 \pm 32.0)\%$ 。结论: 受试制剂氯雷他定口腔崩解片和参比制剂氯雷他定片具有生物等效性。

[关键词] 氯雷他定; 口腔崩解片; 液相色谱-串联质谱法; 生物等效性

[中国图书资料分类法分类号] R 969.1 [文献标识码] A

Pharmacokinetics and bioequivalent of loratadine orally disintegrating tablets in healthy volunteers

MA Tao LI Jian chun JIANG Zhi wen

(Department of Pharmaceutical Analysis Bengbu Medical College Bengbu 233030 China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the bioequivalence of loratadine orally disintegrating tablets and loratadine tablets in healthy volunteers. **Methods** A single oral dose of 20 mg test or reference formulations were given to 20 male healthy volunteers in a randomized crossover design. The serum concentration of loratadine was determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method. Pharmacokinetic parameters and relative bioavailability were calculated with DAS program to evaluate the bioequivalence of the two formulations. **Results** Pharmacokinetic parameters of loratadine reference formulation were obtained as follows: T_{max} was (1.33 ± 1.02) h, C_{max} was (41.0 ± 17.1) $\mu\text{g/L}$, AUC_{0-15h} was (89.4 ± 43.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ was (101.7 ± 39.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. For test formulation, T_{max} was (1.14 ± 0.43) h, C_{max} was (37.0 ± 16.0) $\mu\text{g/L}$, AUC_{0-15h} was (99.6 ± 49.5) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ was (108.0 ± 50.7) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Calculated with AUC_{0-15h} , the bioavailability of two formulations was $(115.1 \pm 32.0)\%$. **Conclusions** The loratadine orally disintegrating tablets and loratadine tablets were bioequivalent.

[Key words] loratadine orally disintegrating tablets; liquid chromatography tandem mass spectrometry; bioequivalent

氯雷他定为长效三环类抗组胺药, 能竞争性抑制组胺 H_1 受体, 从而抑制组胺所引起的过敏症状, 且无明显的抗胆碱作用及中枢抑制作用。临床上广泛用于缓解过敏性鼻炎有关的症状, 如喷嚏、流涕和鼻痒以及眼部瘙痒和烧灼感, 也用于缓解慢性荨麻疹及其他过敏性皮肤病的症状^[1]。口腔崩解片是近年开发的一种新剂型, 具有服用方便、吸收起效快、生物利用度高、口感好等特点^[2]。氯雷他定口腔崩解片的人体生物等效性研究, 国内尚未见文献报道。本试验采用液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 测定人血清中的氯雷他定浓度, 并对氯雷他定口腔崩解片人体药动学及生物等效性进行评价, 以期临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 受试制剂: 氯雷他定口腔崩解片, 每片 10 mg 批号: 040325 浙江金华康恩贝生物制药有限公司、浙江现代中药与天然药物研究院有限公司共同研制。参比制剂: 氯雷他定片, 每片 10 mg 批号: 05FRXF009Y, 上海先灵葆雅制药有限公司生产。氯雷他定对照品 (含量 99.3%) 由浙江金华康恩贝生物制药有限公司提供。内标: 地西洋对照品, 批号: 171225-200302 中国药品生物制品检定所。甲醇、异丙醇由 MERCK 公司生产, 色谱纯。甲酸由宜兴市化学试剂三厂生产, 分析纯。水: 三重蒸馏水, 自制。

1.2 仪器 美国 Finnigan 公司 LCQ Advantage MAX (包括: ESI 离子源, Surveyor LC pump, Surveyor Autosampler, Xcalibur 1.3 软件); ALC4239R 型高速大容量台式离心机, 意大利产。

1.3 研究对象 20 名男性健康志愿者均为在校学生, 体重 (61.3 ± 6.6) kg 年龄 (21.5 ± 1.1) 岁, 均

[收稿日期] 2006-08-28

[作者单位] 蚌埠医学院药理学系 药物分析教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 马 涛 (1974-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 体内药物分析和药物动力学。

[通讯作者] 蒋志文 (1951-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 分子生化药理和药物动力学。

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、肾功能、肝功能、血常规及尿常规等)。受试者在被告知所有与药物可能有关的不良反应后,自愿签署知情同意书。受试者在受试前两周内未服用任何药物,从开始进入试验后直至试验结束,不吸烟,不喝酒,只饮温开水,不饮用其它任何饮料。

1.4 试验设计 20名受试者根据体重系数随机分成两组,每组 10名,服药前禁食 10 h以上,于次日早晨 7时 30分空腹服用氯雷他定口腔崩解片或氯雷他定片 20 mg。服用氯雷他定口腔崩解片前,先用 200 ml温开水漱口后咽下,然后把药片置舌上,用少量唾液溶化后咽下;服用氯雷他定片用 200 ml温开水送服。分别在给药前及给药后 0.17、0.33、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、15.0 h从受试者肘静脉采血约 3 ml,血样经离心取血清,置 -20°C 冰箱中保存待测。服药后在观察室中停留 12 h,服药 2 h后方可适量饮水,4 h后统一进标准餐。在临床医生的监护下,观察受试者不良反应发生情况以及一般情况。受试者在服药后避免剧烈活动,亦不得长时间卧床。1周后两组交叉给药,方法同前。

1.5 血药浓度测定

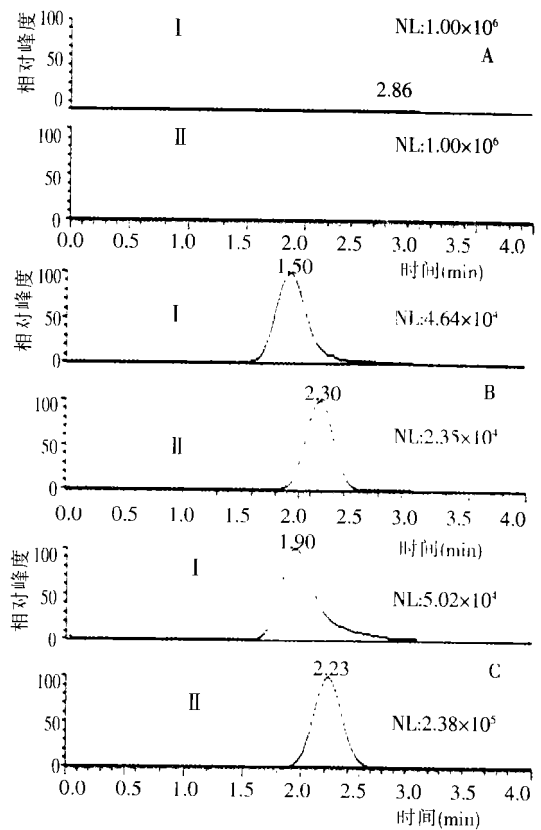
1.5.1 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-3 柱, 2.1 mm \times 150 mm, 5 μm (GL Sciences Inc Japan); 流动相: 甲醇-异丙醇-0.1%甲酸=85:5:10 (v/v); 流速 0.3 ml/min; 柱温为 20°C 。

1.5.2 质谱条件 离子源为 ESI源; 电喷雾电压 5.0 kV; 加热毛细管温度 275°C ; 正离子方式检测, 扫描方式为选择反应监测 (SRM), 用于定量的离子反应为氯雷他定 m/z 383 \rightarrow m/z 337 和内标地西洋 m/z 285 \rightarrow m/z 257, 扫描时间为 0.03 s。

1.5.3 血清样品处理 精确吸取 0.5 ml血清加入带盖 5 ml试管中, 精密加入 1.25 $\mu\text{g/ml}$ 地西洋内标溶液 20 μl 涡旋 1 min 混匀, 再加入 3 ml 乙醚, 涡旋 5 min, 5000 r/min 离心 5 min, 取醚层 2.5 ml 氮气吹干, 100 μl 甲醇复溶, 16000 r/min 离心 10 min, 10 μl 进样, LC-MS/MS 测定。

1.6 方法的专属性 将空白血清、空白血清加氯雷他定对照品和内标对照品溶液及服药后血清样品按“血清样品处理”项下处理后, 用 LC-MS/MS 测定, 所得谱图见图 1。氯雷他定的保留时间为 2.2 min, 内标地西洋的保留时间为 1.9 min。空白血清中内源性物质不干扰氯雷他定及内标的测定。

1.7 标准曲线 分别精密吸取不同浓度的氯雷他



A: 空白血清; B: 空白血清加入氯雷他定和内标地西洋; C: 2号受试者口服 20 mg 氯雷他定口腔崩解片 1.5 h 后的样品。峰 I: 氯雷他定; 峰 II: 内标

图 1 测定血清中氯雷他定及内标地西洋的典型 SRM 色谱图

定对照品溶液 20 μl 于离心管中, 氮气吹干后加入 200 μl 空白血清配成相当于氯雷他定血清浓度为 1.44、2.88、5.75、11.5、23.0、46.0 和 69.0 $\mu\text{g/L}$ 的样品, 按“血清样品处理”项下依法操作, 以待测物浓度为横坐标, 待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标, 用加权 ($W=1/x$) 最小二乘法进行线性回归, 求得直线回归方程即为标准曲线: $\hat{Y} = -0.0710 + 0.0502X$, $r=0.9967$ ($n=7$), 结果表明氯雷他定在 1.4~69.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好。

1.8 精密性与回收率 取空白血清, 配制氯雷他定低、中、高三个浓度 (2.88、11.5 和 46.0 $\mu\text{g/L}$) 的样品, 每一浓度进行 5 样本分析, 连续测定 3 天, 计算日内、日间变异系数、相对回收率, 评价方法的精密性。血清样品低、中、高三个浓度日内、日间相对标准差 (RSD%) 低浓度 $<20\%$, 中、高浓度 $<15\%$, 低、中、高三个浓度的平均回收率在 $70.20\% \sim 86.63\%$ 。

1.9 稳定性实验 按标准曲线配制方法配制氯雷他定浓度为高、中、低三个浓度 (2.88、11.5 和 46.0 $\mu\text{g/L}$) 各 4 份样本, 分别立即处理 (0 h)、24 h 室温

放置、24 h反复冻溶及 7天冷冻等不同条件下考查样品的稳定性,结果,放置不同时间段 $RSD\% < 15\%$,表明血清样品在室温放置和冷冻储存等情况下稳定。

1.10 统计学方法 血药浓度经 DAS 2.0 软件处理,求算药动学参数及相对生物利用度。 T_{max} 、 C_{max} 为实测值, AUC 用梯形法计算。受试制剂与参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-15h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后采用交叉试验设计的方差分析,分析药剂间、个体间和周期间变异的统计学意义。 C_{max} 、 AUC_{0-15h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行双向单侧 t 检验,受试制剂 AUC 在参比制剂的 80% ~ 125% 作为等效标准, C_{max} 在参比制剂的 70% ~ 143% 作为等效标准,对 T_{max} 采用非参数法检验进行考察,以此来评价受试制剂与参比制剂是否生物等效。

2 结果

2.1 血药浓度-时间曲线 20名健康志愿受试

表 1 健康受试者口服氯雷他定口腔崩解片和氯雷他定片的主要药动学参数 ($n_i = 18 \bar{x} \pm s$)

制剂类型	$C_{max} (\mu g/L)$	$T_{max} (h)$	$t_{1/2} (h)$	AUC_{0-15h} ($\mu g \cdot h^{-1} \cdot L^{-1}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu g \cdot h^{-1} \cdot L^{-1}$)
受试制剂	37.0 ± 16.0	1.14 ± 0.43	2.96 ± 2.36	99.6 ± 49.5	108.0 ± 50.7
参比制剂	41.0 ± 17.1	1.33 ± 1.02	2.21 ± 1.83	89.4 ± 43.2	101.7 ± 39.2
t	0.72	0.73	1.07	0.66	0.42
P	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

2.3 生物利用度和生物等效性评价 18名完成试验的男性健康受试者口服试验制剂与参比制剂血药浓度经时过程,经药代动力学参数计算,试验制剂氯雷他定口腔崩解片和参比制剂氯雷他定片之间的 $\ln(AUC_{0-15h})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 、 $\ln(C_{max})$ 。经交叉试验设计的方差分析表明,两制剂药剂间差异均无统计学意义 ($F = 2.39$, $F = 0.01$ 和 $F = 0.17$, $P > 0.05$, $MS_{误差} = 0.040$, $MS_{误差} = 0.081$ 和 $MS_{误差} = 0.238$); 经双向单侧 t 检验, $\ln(AUC_{0-15h})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 的置信区间在 80% ~ 125% 范围内, $\ln(C_{max})$ 的置信区间在 70% ~ 143% 范围内,表明两种制剂在吸收程度和达峰浓度上具有生物等效性。 T_{max} 经非参数法检验差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

有关血样中氯雷他定的测定方法国内外均有报道,包括荧光检测法^[3]、高效液相色谱法^[4]、气相色谱-质谱联用法^[5]、液相色谱-质谱联用法^[6-8]等。本试验采用的 LC-MS/MS 法测定人血清的氯雷他定

者,其中第 10号受试者于第 2周期开始前退出(非药物因素),根据随机对照原则剔除 20号,其他 18名受试者交叉口服试验制剂氯雷他定口腔崩解片和参比制剂氯雷他定片后血药浓度-时间曲线见图 2。

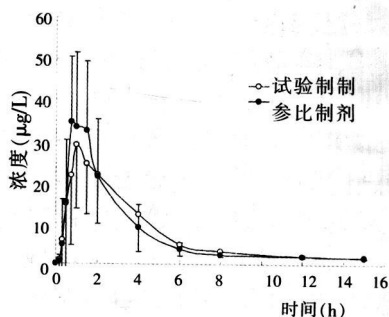


图 2 18名健康受试者交叉口服氯雷他定口腔崩解片和氯雷他定片 20 mg 后平均血药浓度-时间曲线

2.2 主要药动学参数 受试者口服氯雷他定口腔崩解片或参比制剂氯雷他定片 20 mg 后的主要药动学参数见表 1。

含量,血清中内源性物质不干扰氯雷他定和内标的测定,在 1.44 ~ 69.0 $\mu g/L$ 浓度范围内线形良好,最低检测浓度为 1.44 $\mu g/L$,检测方法稳定可靠,适用于氯雷他定的药动学和生物等效性研究。

试验结果与服用相同剂量的文献^[3,6]报道相比, T_{max} 基本一致; $t_{1/2}$ 有一定差异,这可能与本试验尾点的选择不同有关; C_{max} 、 AUC_{0-15h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 也与文献存在差异,这应该和个体差异有关,据文献^[3]报道人体内氯雷他定在细胞色素 P450 酶系 3A4 和 2D6 酶作用下转化为去乙酰基氯雷他定 (desacboethoxybratadine),而这两种酶活性存在着较大的个体差异。试验结果显示, $\ln(AUC_{0-15h})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 在个体间差异有统计学意义 ($P < 0.01$),也提示临床用药应注意个体化。18名健康受试者口服氯雷他定口腔崩解片和氯雷他定片 20 mg 主要药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-15h} 、 $AUC_{0-\infty}$, 两制剂间差异均无统计学意义,两制剂具有生物等效性。以氯雷他定片为标准对照,氯雷他定口腔崩解片的相对生物利用度为 (115.1 ± 32.0)% ($n = 18$ 以 AUC_{0-15h} 计)。

罗红霉素分散片人体生物等效性研究

李见春¹, 胡齐胜², 董淑英¹, 吴华璞¹, 高 署², 蒋志文¹

[摘要]目的: 观察两个不同厂家生产的罗红霉素分散片在健康人体的生物等效性。方法: 20名志愿者采用双周期交叉试验, 分别单剂量口服罗红霉素分散片 150 mg 高效液相-质谱联用(LC-MS)法测定其血清中罗红霉素浓度, 血药浓度-时间数据经 DAS 2.0 统计软件处理, 计算主要药物动力学参数, 并进行两种制剂的生物等效性评价。结果: 受试制剂与参比制剂的药物学参数分别为: $t_{1/2}$ (8.131 ± 1.465) h 和 (9.020 ± 2.914) h, C_{max} (3.065 ± 0.940) $\mu\text{g/ml}$ 和 (3.157 ± 1.019) $\mu\text{g/ml}$, T_{max} (2.000 ± 0.924) h 和 (2.306 ± 1.363) h, AUC_{0-48h} (38.312 ± 19.673) $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$ 和 (41.029 ± 21.842) $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。受试制剂的相对生物利用度为 (110.4 ± 67.2)%。结论: 罗红霉素两种制剂具有生物等效性。

[关键词] 生物利用度; 罗红霉素; 高效液相-质谱联用仪

[中国图书资料分类号] R 945.1; R 978.15 [文献标识码] A

Bioequivalence of roxithromycin dispersible tablets in healthy volunteers

LI Jian chun¹, HU Qi Sheng², DONG Shu ying¹, WU Hua pu¹, GAO Shu², JIANG Zhi wen¹

(1 Department of Pharmacy, Bengbu Medical College Bengbu 233030, 2 Heifei Heyuan Pharm & Tech Ltd. Co Heifei 230000 China)

[Abstract] **Objective** To investigate the bioequivalence of roxithromycin dispersible tablets from two factories in Chinese healthy volunteers. **Methods** Twenty volunteers were randomly divided into two groups (test and reference), with double cross over design. The concentration of roxithromycin in serum was determined by LC-MS and pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 2.0 practical pharmacokinetics program. **Results** The pharmacokinetic parameters of the test and reference were as follows: T_{max} (8.131 ± 1.465) h and (9.020 ± 2.914) h, C_{max} (3.065 ± 0.940) $\mu\text{g/ml}$ and (3.157 ± 1.019) $\mu\text{g/ml}$, T_{max} (2.000 ± 0.924) h and (2.306 ± 1.363) h, AUC_{0-48h} (38.312 ± 19.673) $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$ and (41.029 ± 21.842) $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{ml}^{-1}$. The relative bioavailability of the test was (110.4 ± 67.2)%. **Conclusions** The statistical analysis showed that the test and reference preparation were bioequivalent.

[Key words] biological availability; roxithromycin; liquid chromatography tandem mass spectrometry

罗红霉素 (roxithromycin) 最早由德国 Roussel Uclaf 公司 20 世纪 80 年代初开发的十四元环口服大环内酯类第三代抗生素, 为红霉素的醚脂类衍生

物。临床主要用于上呼吸道、下呼吸道感染, 皮肤、软组织和口腔感染及衣原体引起的泌尿生殖道感染^[1]。本文用高效液相-质谱联用 (LC-MS) 法, 研究 20 名健康受试者交叉单剂量口服两个不同厂家生产的罗红霉素分散片的药物动力学及其人体生物利用度, 并进行等效性分析, 现作报道。

[收稿日期] 2005-12-20

[作者单位] 1 蚌埠医学院药理学系 药剂学教研室 安徽 蚌埠 233030 2 合肥合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, 研究方向: 药物新剂型及药物动力学。

[通讯作者] 蒋志文 (1951-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 分子生化药理和药物动力学。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 试验制剂: 罗红霉素分散片, 苏州俞氏药业有限公司, 批号 20040712 每片 150 mg

[参 考 文 献]

- [1] 杨 森, 张学军. 抗组胺药物应用进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2002 21(3): 177-180
- [2] 孙宁云, 吴 伟. 口腔崩解片的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2005 36(12): 784-788
- [3] 徐晓杰, 尚尔鑫, 裴福荣, 等. 氯雷他定血药浓度的 HPLC 荧光检测法及生物等效性研究 [J]. 药学报, 2004 39(2): 123-126
- [4] 阮邹荣, 袁 虹, 孙 凌. 反相高效液相色谱法测定人血浆中氯雷他定浓度 [J]. 药物分析杂志, 2002 22(4): 296-298
- [5] Noehr Jensen L, Danker B, Bidstrup TB *et al*. The relative bioavailability of loratadine administered as a chewing gum formulation in healthy volunteers [J]. *Eur J Clin Pharmacol*

2006 62(6): 437-445

- [6] 李丹毅, 陈晓辉, 毕开顺. HPLC-MS 法测定人血浆中氯雷他定的浓度及人体生物等效性 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006 23(7): 443-447.
- [7] Salem II, Idrees J, Al-Tamimi JI *et al*. Determination of loratadine in human plasma by liquid chromatography electrospray ionization-trap tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal* 2004 34(1): 141-151.
- [8] Chen J, Zha YZ, Gao KB *et al*. A validated HPLC-ESI/MS method for the determination of loratadine in human plasma and its application to pharmacokinetic studies [J]. *Pharmazie* 2004 59(8): 600-603.