

盐酸格拉司琼口腔崩解片的人体生物等效性评价

张志涛, 李见春, 蒋志文

[摘要] 目的: 研究盐酸格拉司琼口腔崩解片的药动学, 并与国产盐酸格拉司琼片进行生物利用度比较。方法: 20 名健康男性志愿者, 采用随机交叉给药方案, 分别单剂量口服 2 mg 受试制剂和参比制剂后, 采用高效液相色谱荧光法测定血浆药物浓度。结果: 健康志愿者单剂量口服盐酸格拉司琼口腔崩解片后体内过程符合开放式血管外一室模型, 其 C_{max} 为 $(7.2 \pm 3.4) \mu\text{g/L}$, $t_{1/2}$ 为 $(4.2 \pm 1.8) \text{h}$, t_{max} 为 $(1.3 \pm 0.3) \text{h}$, $AUC_{0-24 \text{h}}$ 为 $(37.3 \pm 25.6) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}$, 与参比制剂的主要药代动力学参数比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。受试制剂相对于参比制剂的生物利用度为 $(97.9 \pm 19.2) \%$ 。结论: 两种制剂具有生物等效性。

[关键词] 盐酸格拉司琼; 高效液相色谱法; 药动学; 生物等效性

[中国图书资料分类法分类号] R 978.1; R 969.1 **[文献标识码]** A

Bioequivalence of granisetron HCl orally disintegrating tablet in Chinese healthy volunteers

ZHANG Zhi-tao, LI Jian-chun, JIANG Zhi-wen

(Faculty of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To study the pharmacokinetics of granisetron HCl orally disintegrating tablet and compare its relative bioavailability with domestic granisetron tablet. **Methods:** Twenty healthy volunteers were administered a single oral dose of domestic granisetron HCl orally disintegrating tablet or tablet (reference) in a randomized crossover study, and their plasma drug concentration was determined by HPLC-fluoremetry. **Results:** The plasma concentration-time curve was fitted to one-compartment model. The pharmacokinetic parameters obtained were: $C_{max} = (7.2 \pm 3.4) \mu\text{g/L}$, $t_{1/2} = (4.2 \pm 1.8) \text{h}$, $t_{max} = (1.3 \pm 0.3) \text{h}$, $AUC_{0-24 \text{h}} = (37.3 \pm 25.6) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}$. No significant difference was found between the test and the reference groups. The relative bioavailability obtained was $(97.9 \pm 19.2) \%$. **Conclusions:** The two preparations are bioequivalent.

[Key words] granisetron HCl; HPLC; pharmacokinetics; bioequivalence

盐酸格拉司琼 (granisetron HCl) 是一种强效高选择性的 5-HT₃ 受体拮抗剂, 临床主要用于细胞毒性药物放疗、化疗引起的恶心呕吐以及预防和治疗手术后的恶心、呕吐。本品有很强的首过效应, 其代谢由肝微粒酶 CYP3A 介导^[1]。与普通制剂相比, 口腔崩解片具有吸收快、生物利用度高、服用方便、肠道残留少、不良反应小、部分避免肝脏首过效应等优点^[2], 同时对于部分吞水即呕的癌症化疗患者, 提供了一种可行的服药方式。本试验采用 HPLC-荧光法测定了 20 名健康受试者口服盐酸格拉司琼口腔崩解片的血药浓度经时过程, 求出其相应的药动学参数, 并对其生物等效性作出评价, 为临床用药提供参考。

1 材料与方 法

1.1 药品及试剂 盐酸格拉司琼口腔崩解片 (受试制剂): 每片 1 mg, 批号 050414, 量子高科 (北京)

研究院有限公司; 盐酸格拉司琼片 (参比制剂): 每片 1 mg, 批号 050501, 宁波市天衡制药有限公司。盐酸格拉司琼标准品: 中国药品生物制品检定所, 批号 100375-200509, 含量 > 99.3%; 昂丹司琼: 内标, 紫金医药有限公司, 含量 > 99%。甲醇为色谱纯, 乙酸乙酯、磷酸二氢钠、三乙胺为分析纯。

1.2 主要仪器与配件 LC-10ATvp 输液泵, RF-10AXL 荧光检测器, 均为日本岛津公司生产; N2000 色谱数据工作站, 浙江大学智达信息工程有限公司; DAS2.0 药代动力学统计软件, 由安徽省药物临床评价中心编制; AT-130 柱温箱, AUTO SCIENCE 公司; TDZ5 多管架自动平衡离心机, 长沙湘仪仪器有限公司。

1.3 受试者选择 20 名健康男性志愿者, 年龄 20~23 岁, 体重 $(64.1 \pm 4.9) \text{kg}$, 身高 $(172.2 \pm 4.6) \text{cm}$, 试验前经全面体格检查及化验检查, 均在正常范围。试验前 2 周内未服用任何药物, 试验期间统一进低脂饮食及饮水, 不允许吸烟和饮用含乙醇或咖啡因的饮料。本试验经医学伦理委员会批准, 试验前所有受试者均自愿签署知情同意书。

1.4 分组与给药 采用双周期随机交叉单剂量试

[收稿日期] 2010-02-22

[作者单位] 蚌埠医学院 药物分析教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 张志涛 (1970-), 男, 硕士, 副教授。

验方案。20名受试者随机分成2组(10人/组),服药前禁食过夜(10h以上),于次日早晨空腹分别口服盐酸格拉司琼口腔崩解片2mg(2片)和盐酸格拉司琼片2mg(2片),普通片用200ml温开水送服,口腔崩解片于服药前5min先用200ml温开水漱口后咽下,然后将口腔崩解片置舌上用少量唾液溶化后咽下。服药后2h可适量饮水,4h后进食统一的标准餐。受试者接受交叉口服受试制剂和参比制剂各1次,洗脱期1周。于服药前及服药后0.25、0.5、0.75、1、1.25、1.5、2、4、6、8、12、15、24h从受试者肘静脉取血3ml,避光条件下操作,置已用肝素抗凝的试管中,静置30min,4000r/min离心分离血浆,-20℃储存。

1.5 血药浓度测定

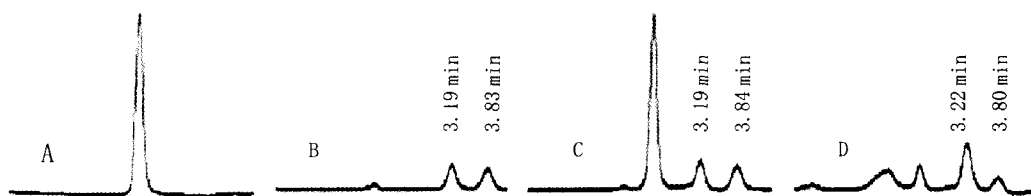
1.5.1 色谱条件 固定相:Kromasil 60-5 CN 色谱柱(150mm×4.6mm,5μm);流动相:甲醇-0.05

mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(含0.25%三乙胺,用磷酸调节pH为6.0)=55:45。荧光条件:激发波长305nm,发射波长365nm。流速1ml/min;柱温45℃,进样量20μl。

1.5.2 血浆样品处理 取300μl血浆,精密加入10μl昂丹司琼内标溶液(15mg/L),加入1mol/L NaOH溶液20μl,混匀;再加入1ml乙酸乙酯,涡旋3min,14000r/min离心10min,取上清液700μl, N₂吹干,用70μl流动相复溶,涡旋1min,14000r/min离心5min,取上清液20μl进样。

1.6 方法学评价

1.6.1 专属性 在选定的色谱条件下测得的空白血浆及血样色谱图(见图1),血浆中格拉司琼的保留时间约为3.2min左右,内标的保留时间约为3.8min左右,峰形良好,分离完全,无内源性杂峰干扰。



A: 空白血浆; B: 格拉司琼和内标标准品; C: 格拉司琼和内标血浆稀释标准品; D: 受试者血浆

图1 人血浆中格拉司琼和内标的HPLC色谱图

1.6.2 标准曲线制备 分别配制含盐酸格拉司琼0.25、0.5、1、2、4、8、16μg/L的标准血浆样品,按上述“1.5.2”项处理后进样分析,以待测物浓度(C)为纵坐标,待测物与内标物的峰面积比值(R)为横坐标,用加权最小二乘法进行回归运算,回归方程为: $C = 2.305R - 0.046$, $r = 0.999$ 。最低定量浓度为0.25μg/L(S/N=10)。

1.6.3 随行标准曲线及质量控制 为减少系统误差,在进行样品分析时,每天建立随行标准曲线,并测定低、中、高浓度分别为0.5、2、8μg/L的质控样品,其准确度为90.25%~113.69%,符合生物样品分析要求。

1.6.4 提取回收率测定 同法配制低、中、高3个浓度的标准血浆样品溶液,测定其峰面积;另取相同浓度的对照品溶液,除上述加入空白血浆改为蒸馏水并且不加内标外,其余步骤相同,测得标准溶液样品峰面积,按两者比值计算提取回收率。低、中、高3个浓度的提取回收率分别为83.3%、87.1%、94.7%。

1.6.5 精密度试验 按“标准曲线制备”项下配制低、中、高3个浓度的血浆样品,按“血浆样品处理

方法”项下目“精密加入10μl昂丹司琼内标溶液15μg/m”起同法操作,每一浓度进行5样本分析,连续测定3天,计算日内和日间的相对标准差(RSD),结果均小于15%。

1.7 统计学方法 20名健康受试者口服2mg盐酸格拉司琼口腔崩解片和盐酸格拉司琼片后的血药浓度-时间数据用DAS2.0软件计算盐酸格拉司琼的药动力学参数,其中参数AUC、 C_{max} 经自然对数转换后方差分析,再用双向单侧t检验对其进行生物等效性评价。参数 t_{max} 采用非参数检验法进行统计。

2 结果

2.1 血药浓度-时间曲线 20名受试者单剂量分别口服2种盐酸格拉司琼不同制剂后0~24h的血药浓度-时间数据经DAS2.0软件拟合,符合开放式血管外一室模型,平均药时曲线见图2。

2.2 药动力学参数 根据所测血浆药物浓度-时间数据,计算主要药动力学参数 C_{max} 、 t_{max} 、 AUC_{0-24h} 等,受试制剂及参比制剂的差异均无统计学意义($P > 0.05$),以 AUC_{0-1} 计算得受试制剂的平均相对生物利用度为(97.9±19.2)% (见表1)。

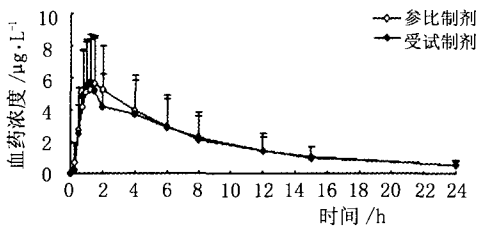


图 2 20 名受试者口服受试制剂和参比制剂 2 mg 后的平均血药浓度-时间曲线

表 1 受试者口服盐酸格拉司琼口腔崩解片及普通片剂后的药动学参数 ($n_i = 10; \bar{x} \pm s$)

制剂类型	C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-24\text{h}}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}$)
受试制剂	7.2 ± 3.4	1.3 ± 0.3	4.2 ± 1.8	37.3 ± 25.6	41.1 ± 27.2
参比制剂	7.6 ± 2.8	1.2 ± 0.4	3.8 ± 1.5	38.9 ± 27.4	41.9 ± 27.6
t	0.29	0.63	0.54	0.13	0.07
P	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

2.3 生物等效性 C_{max} 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行方差分析,结果显示, $\ln(AUC_{0-24\text{h}})$ 在药剂间和周期间差异均无统计学意义(相应的 F 值分别为 0.88、2.02, P 均大于 0.05, $MS_{\text{误差}}$ 分别为 0.015、0.035), 个体间差异有高度统计学意义 ($F = 109.881, P < 0.01, MS_{\text{误差}} = 1.891$); $\ln(AUC_{0-\infty})$ 在药剂间和周期间均无统计学意义(相应的 F 值分别为 0.43、2.04, P 均大于 0.05, $MS_{\text{误差}}$ 分别为 0.009、0.042); 个体间差异有高度统计学意义 ($F = 83.21, P < 0.01, MS_{\text{误差}} = 1.708$); $\ln(C_{max})$ 在药剂间和周期间差异均无统计学意义(相应的 F 值分别为 2.71、1.93, P 均大于 0.05, $MS_{\text{误差}}$ 分别为 0.067、0.047), 个体差异间有高度统计学意义 ($F = 22.374, P < 0.01, MS_{\text{误差}} = 0.550$); 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 ($P < 0.05$), $\ln(AUC_{0-24\text{h}})$ 90% 置信区间为 89.5% ~ 103.4%, $\ln(AUC_{0-\infty})$ 90% 置信区间为 89.7% ~ 105.0%, 均落在 80% ~ 125% 的置信区间内; $\ln(C_{max})$ 90% 置信区间为 84.6% ~ 100.4%, 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。

2.4 安全性与主观评价 所有受试者在试验过程中,均未发现不良反应。盐酸格拉司琼口腔崩解片的平均崩解时间为 20.1 s, 20 名受试者服药后的味觉感受为微苦 14 例, 微甜 5 例, 先甜后苦 1 例, 并且

全部为可接受。

3 讨论

格拉司琼分子中含有碱性氮原子, 在 C_{18} 色谱柱上保留较强, 易造成拖尾。本试验选择 CN 柱为分析柱, 并在流动相中加入 0.25% 三乙胺, 能有效改善峰形和分离度。选择与待测物结构相近的昂丹司琼作为内标物, 克服了样品前处理造成的偏差, 提高了测定的准确性。在血样处理中, 用 NaOH 中和后, 使被测药物呈游离态, 再加入毒性较低的乙酸乙酯提取, 浓缩后进样分析, 改善了信噪比, 减少了杂峰干扰。

由于格拉司琼服用剂量小, 体内分布广, 因此血药浓度较低, 对测定方法的灵敏度要求较高。国内格拉司琼的血药浓度测定多采用 HPLC-荧光法^[3-4] 和液-质联用法^[5-6]。后者仪器昂贵, 操作繁琐, 限制了应用。本试验采用灵敏度同样较高的 HPLC-荧光测定法, 样品分析时间仅为 4 min, 且重现性好, 回收率高, 准确可靠, 符合盐酸格拉司琼人体药理学研究的要求。

盐酸格拉司琼两种制剂在人体内的吸收及消除过程基本一致, 说明两者生物等效, 其药动学参数与文献报道^[7] 一致。试验制剂盐酸格拉司琼口腔崩解片与参比制剂盐酸格拉司琼片经方差分析显示, 单次给药 C_{max} 、 AUC 个体间差异有高度统计学意义 ($P < 0.01$), 提示应注意个体化用药。

[参 考 文 献]

- [1] Lee CR, Plosker GL, McTavish D, et al. Tropisetron. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential as an antiemetic[J]. Drugs, 1993, 46(5): 925-943.
- [2] 王晓艳, 贾伟. 口腔崩解片的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(6): 425-428.
- [3] 董艳丽, 刘茜, 郑小楠, 等. 盐酸格拉司琼口腔崩解片在健康人体内的药动学及生物等效性[J]. 中国医药工业杂志, 2009, 40(7): 504-506.
- [4] 任进民, 李艳荣, 蒋晔, 等. HPLC 测定人体血浆中盐酸格拉司琼[J]. 中国现代应用药学杂志, 2008, 25(4): 323-325.
- [5] 欧阳冬生, 王杉博, 谭志荣, 等. LC-MS 法测定人血浆中格拉司琼的浓度[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 243-246.
- [6] 李浩, 谭志荣. 高效液相色谱串联质谱联用法测定人血浆中格拉司琼的浓度[J]. 中兽药学, 2008, 6(6): 701-704.
- [7] 张静, 李珍, 杨武云, 等. 盐酸格拉司琼口腔崩解片生物等效性评价[J]. 药学服务与研究, 2009, 9(4): 307-310.

(本文编辑 刘畅)