

复方氯雷他定缓释微丸胶囊的药代动力学与相对生物利用度

田媛, 张尊建*

(中国药科大学分析测试中心, 南京 210009)

摘要 目的: 研究复方氯雷他定缓释微丸胶囊中氯雷他定和硫酸伪麻黄碱在中国健康志愿者体内的药代动力学行为及相对生物利用度。**方法:** 20名健康受试者单剂量及多剂量交叉服用受试制剂和参比制剂后, 采用 LC-MS 法分别测定氯雷他定和硫酸伪麻黄碱在血浆中的浓度, 估算其药代动力学参数。**结果:** 试验胶囊中的缓释成分硫酸伪麻黄碱与参比片中硫酸伪麻黄碱相比, c_{\max} 降低, t_{\max} 延长, 波动度 (DF) 较小。单剂量时氯雷他定的相对生物利用度为 $(97.6 \pm 17.4)\%$, 硫酸伪麻黄碱为 $(98.8 \pm 15.5)\%$ 。多剂量时氯雷他定的相对生物利用度为 $(94.6 \pm 16.0)\%$, 硫酸伪麻黄碱为 $(94.4 \pm 13.9)\%$ 。**结论:** 两成分测定结果经方差分析及双单侧 t 检验, 证明两制剂生物等效。

关键词 氯雷他定; 硫酸伪麻黄碱; 高效液相色谱-质谱法; 药代动力学; 生物利用度

中图分类号 R969.1 文献标识码 A 文章编号 1000-5048(2006)01-0049-05

Pharmacokinetics and relative bioavailability of compound loratadine sustained-release capsules in healthy volunteers

TIAN Yuan, ZHANG Zun-jian

Center for Instrumental Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Aim: To investigate the pharmacokinetics and relative bioavailability of compound loratadine sustained-release capsules in healthy chinese volunteers. **Methods:** The concentrations of loratadine and pseudoephedrine sulfate in plasma were determined by LC-MS after oral administration of a single and multiple oral doses of the test capsules and references tablets. The pharmacokinetic parameters were estimated by BAPP 2.2 software. **Results:** The concentration-time curves of two formulations were successful fitted to a one-compartment open model. In the single dose, the relative bioavailabilities of loratadine and pseudoephedrine sulfate were $(97.6 \pm 17.4)\%$ and $(98.8 \pm 15.5)\%$, respectively. In the multiple doses, they were $(94.6 \pm 16.0)\%$ and $(94.4 \pm 13.9)\%$, respectively. **Conclusion:** The test capsules are found to be bioequivalent to the reference tablets in the term of the AUC, but the c_{\max} and t_{\max} of pseudoephedrine sulfate are significantly different.

Key words loratadine; pseudoephedrine sulfate; LC-MS; pharmacokinetics; bioavailability

复方氯雷他定缓释微丸胶囊 (Compound loratadine sustained-release micro-capsules), 系国内开发的三类新药, 每粒含氯雷他定 10 mg 和硫酸伪麻黄碱 240 mg, 其中前者为常释成分, 后者为缓释成分, 每 24 h 给药 1 次, 可同时发挥氯雷他定的快速抗组胺作用和硫酸伪麻黄碱的减轻鼻充血作用, 临床用于缓解过敏性鼻炎和感冒症状。有关本品体内分析方法和药代动力学的研究, 目前仅见一篇同时分析血浆中两种成分的文章报道^[1], 其中氯雷他

定采用 GC-MS 分析, 硫酸伪麻黄碱采用 HPLC-UV 测定。但方法灵敏度较低, 干扰大, 且分析时间长。本文建立了灵敏度更高、选择性更好的血浆中氯雷他定和硫酸伪麻黄碱 LC-MS 分析方法, 并以所建立的方法测定了 20 名中国健康受试者口服复方氯雷他定缓释微丸胶囊和参比制剂开瑞能后的体内血药浓度经时过程, 估算其药代动力学参数, 评价试验制剂的缓释特征及相对生物利用度。

1 材料与试剂

1.1 药品与试剂

受试制剂:复方氯雷他定缓释微丸胶囊(24 小时缓释胶囊,成都恒瑞制药有限公司,规格:氯雷他定 10 mg + 硫酸伪麻黄碱 240 mg/粒);参比制剂:开瑞能(12 小时缓释片,上海先灵葆雅制药有限公司,规格:氯雷他定 5 mg + 硫酸伪麻黄碱 120 mg/片);对照品:氯雷他定(成都恒瑞制药有限公司,纯度 $\geq 99.5\%$);硫酸伪麻黄碱(成都恒瑞制药有限公司,纯度 $\geq 99.5\%$);地西洋(内标,江苏省药品检验所,纯度 $\geq 98.5\%$);盐酸苯丙醇胺(内标,中国药品生物制品检验所)。乙腈(色谱纯,德国默克公司);正己烷(色谱纯,加拿大克莱顿公司);双蒸水(自制)。

1.2 仪器及测试条件

Shimadzu LCMS-2010A 系统(含 2 台 LC-10ADVP 泵, DGU-14AM 在线真空脱气机, SIL-HTc 恒温自动进样器, CTO-10AVP 柱温箱, SPD-M10AVP 二极管阵列检测器, ESI 接口离子源); LC-MS solution 色谱工作站。硫酸伪麻黄碱:色谱柱 Shimadzu Shim-pack VP-ODS C_{18} (250 mm \times 2.0 mm ID) 色谱柱, 流动相:乙腈-0.01 mol/mL 乙酸铵水溶液(20:80, pH=4.00), 流速 0.2 mL/min; MS 检测条件:ESI(+)SIM 方式, 伪麻黄碱测定离子为 $[M+H]^+$, $m/z \approx 166.05$; 苯丙醇胺测定离子为 $[M+H]^+$, $m/z \approx 152.05$; MS 工作参数:CDL 温度 280 $^{\circ}\text{C}$, Block 温度 230 $^{\circ}\text{C}$, Probe 电压 +4.5 kV, 检测电压 1.5 kV, 雾化气流速 1.5 L/min。

氯雷他定:色谱柱 Shimadzu Shim-pack VP-ODS C_{18} (150 mm \times 2.0 mm, ID), 流动相:乙腈-0.01 mol/mL 乙酸铵水溶液(80:20, pH 4.40), 流速 0.2 mL/min; MS 检测条件:ESI(+)SIM 方式, 氯雷他定测定离子为 $[M+H]^+$, $m/z \approx 383.10$; 地西洋测定离子为 $[M+H]^+$, $m/z \approx 285.00$; MS 工作参数:CDL 温度 250 $^{\circ}\text{C}$, Block 温度 200 $^{\circ}\text{C}$, Probe 电压 +4.5 kV, 检测电压 1.6 kV, 雾化气流速 1.5 L/min。

2 方法

2.1 血浆样品处理方法

硫酸伪麻黄碱:精密吸取血浆 0.5 mL, 置 10

mL 具塞离心管中, 精密加入内标盐酸苯丙醇胺溶液 20 μL (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 加饱和碳酸氢钠 100 μL , 乙酸乙酯 4.5 mL, 涡旋 2 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 转移上清液 4 mL 至另一离心管中, 于 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹干。残留物以流动相 200 μL 涡旋溶解, 16 000 r/min 离心 10 min, 取上清液供 LC-MS 分析。氯雷他定:精密吸取血浆 1.0 mL, 置 10 mL 具塞离心管中, 精密加入内标地西洋溶液 50 μL (100 ng/mL), 加饱和碳酸氢钠 100 μL 及正己烷-5% 异丙醇 5.0 mL, 涡旋 2 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 转移全部上清液至另一离心管中, 于 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹干。残留物以流动相 100 μL 涡旋溶解, 离心(16 000 r/min) 10 min, 取上清液供 LC-MS 分析。

2.2 标准曲线的制备

硫酸伪麻黄碱:精密吸取硫酸伪麻黄碱标准储备液适量, 置 10 mL 具塞离心管中, 加入空白血浆 0.5 mL, 配制成硫酸伪麻黄碱浓度分别为 10, 50, 100, 200, 300, 500, 800, 1 000, 1 500 ng/mL 的血浆样本, 平行 5 份, 同法处理, 进行色谱分析, 记录硫酸伪麻黄碱色谱峰面积 (A_s) 与内标色谱峰面积 (A_i), 以比值 $R (R = A_s/A_i)$ 对浓度 (c , ng/mL) 进行线性回归, 得回归方程: $R = 0.003\ 63\ c + 0.001\ 66$, $r = 0.999\ 2$ 。结果表明:硫酸伪麻黄碱血浆浓度在 10 ~ 1 500 ng/mL 范围, 色谱响应线性关系良好, 血浆中硫酸伪麻黄碱的最低检测限约为 5 ng/mL。

氯雷他定:氯雷他定的回归方程: $R = 0.327\ c + 0.023\ 1$, $r = 0.998\ 8$ 。结果表明:氯雷他定血浆浓度在 0.05 ~ 30.0 ng/mL 范围, 色谱响应线性关系良好, 血浆中氯雷他定的最低检测限约为 0.01 ng/mL。

2.3 精密度试验

硫酸伪麻黄碱:精密加入硫酸伪麻黄碱适量于空白血浆 0.5 mL 中, 涡旋混匀, 配成 50, 300, 800 ng/mL 3 种不同浓度的血浆样本, 同法处理并测定, 一日测定 5 次, 计算日内变异。不同日期测定 5 次, 计算日间变异。结果见表 1。氯雷他定:氯雷他定的血浆样品在 0.1, 2.0, 10.0 ng/mL 3 种不同浓度的精密度结果见表 2。

2.4 绝对回收率试验

硫酸伪麻黄碱:取干净离心管, 精密加入不同量的硫酸伪麻黄碱标准溶液, 再用甲醇配成浓度分别为 50.0, 300.0, 800.0 ng/mL 的样本, 加内标溶液

Tab.1 Accuracy and precision of pseudoephedrine sulfate($\bar{x} \pm s, n=5$)

Added (ng/mL)	Within-day			Between days		
	Found(ng/mL)	Accuracy(%)	RSD(%)	Found(ng/mL)	Accuracy(%)	RSD(%)
50	50.91 ± 2.84	101.8	5.58	50.60 ± 3.12	101.2	6.17
300	299.39 ± 12.44	99.8	4.32	299.38 ± 13.10	99.7	4.38
800	796.54 ± 30.00	99.5	3.77	794.59 ± 30.64	99.3	3.86

Tab.2 Accuracy and precision of loratadine($\bar{x} \pm s, n=5$)

Added (ng/mL)	Within-day			Between days		
	Found(ng/mL)	Accuracy(%)	RSD(%)	Found(ng/mL)	Accuracy(%)	RSD(%)
0.1	0.108 ± 0.009	108.1	7.94	0.103 ± 0.008	103.2	8.54
2	1.98 ± 0.09	99.1	4.32	1.94 ± 0.10	97.3	5.21
10	9.76 ± 0.23	97.6	2.42	9.90 ± 0.25	99.0	2.61

(50 $\mu\text{g/mL}$)20 μL ,以氮气流吹干后,用流动相 200 μL 溶解残渣,进样分析,计算样品和内标的峰面积比值 $f_s(f_s = A_s/A_i)$ 。另取干净离心管,精密吸取硫酸伪麻黄碱标准贮备液适量,加空白血浆 0.5 mL,涡旋混匀,配成含硫酸伪麻黄碱 50.0, 300.0, 800.0 ng/mL 的血浆样本,平行 5 份。分别加饱和碳酸氢钠溶液 100 μL ,涡旋混匀,加乙酸乙酯 4.5 mL,涡旋 2 min,于 3 000 r/min 离心 5 min。分取上清液 4 mL 于另一离心管中,加内标溶液 20 μL (50 $\mu\text{g/mL}$),混匀,氮气流吹干。用流动相 200 μL 溶解残渣,进样分析,计算样品和内标的峰面积比值 $f_x(f_x = A_x/A_i)$ 。绝对回收率 $R(\%) = f_x/f_s \times 4.5/4 \times 100\%$,经计算其回收率大于 80%,能满足分析要求。氯雷他定:氯雷他定在 0.1, 2.0, 10.0 ng/mL 3 个浓度水平的绝对回收率均大于 90%。

2.5 稳定性试验

硫酸伪麻黄碱:制备浓度为 50.0, 300.0, 800.0 ng/mL 的血浆样本,置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,分别在 0, 5, 10, 15, 25 d 室温解冻后,按上述方法操作,测定硫酸伪麻黄碱浓度,计算血药浓度变异系数,结果表明硫酸伪麻黄碱样品在 25 d 内冻融稳定。氯雷他定:氯雷他定血浆样本在 25 d 内冻融稳定。

2.6 药代动力学试验

试验经中国医学科学院皮肤病研究所国家药品临床研究基地伦理委员会同意后实施。20 名男性健康志愿受试者,年龄 18~24 岁,体重 55~77 kg,身高 165~180 cm,常规体检及生化检验结果证明肝肾功能均正常,心电图正常,精神状态良好。受试前 2 周及实验期间未服用其他药物,试验期间

忌烟、酒和过分油腻食物,试验期间饮食统一。受试前签定知情同意书。受试者随机分成 2 组,依次进行多剂量和单剂量研究。单剂量研究:受试者禁食过夜(至少 12 h),次日早上 8:00,用 200 mL 温开水分别口服试验胶囊 1 粒和参比片 2 片,于给药前及给药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 24, 36 h 肘静脉取血约 5.0 mL,置肝素处理过的试管中,3 000 r/min 离心 15 min 分取血浆,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存供测定。多剂量研究:用单剂量研究的受试者继续进行多剂量研究。即单剂量服药后第 3 天开始多剂量研究。试验制剂:每天 1 次,每次 1 粒,于每日早 8:00 空腹用温开水 200 mL 送服,服药后 3 h 方可进食,连续 6 d;参比制剂:每天 2 次,每次 1 片,分别于每日早 8:00 空腹用温开水 200 mL 送服,服药后 3 h 方可进食,(禁食 2 h 后)晚 8:00 用 200 mL 温开水送服。连续 6 d,第 6 天于早 8:00 只服药 1 次(1 片)。从多次给药第 4 天起,每日早上服药前(8:00)取血 5 mL。第 6 天取血时间同单剂量。停药 7 d 后,进行交叉试验,方法同上。

3 结果

3.1 血药浓度测定方法学评价

本文所建立的色谱分析方法,内源性杂质不干扰样品峰,方法的回收率均大于 80%;日内、日间变异均小于 10%,分析结果的准确度、精密度和检测限均符合体内分析试验要求。氯雷他定保留时间约为 3.9 min,内标地西洋约为 2.9 min(图 1);硫酸伪麻黄碱保留时间约为 4.2 min,内标盐酸苯丙醇胺约为 3.8 min(图 2)。

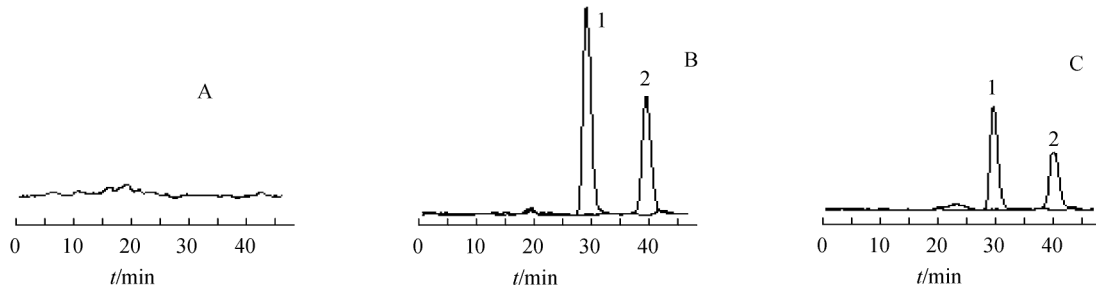


Fig.1 Typical chromatograms of loratadine

A: Blank plasma; B: Blank plasma + loratadine + IS; C: Plasma after administration of compound loratadine sustained-release micro-capsules; 1: IS; 2: loratadine

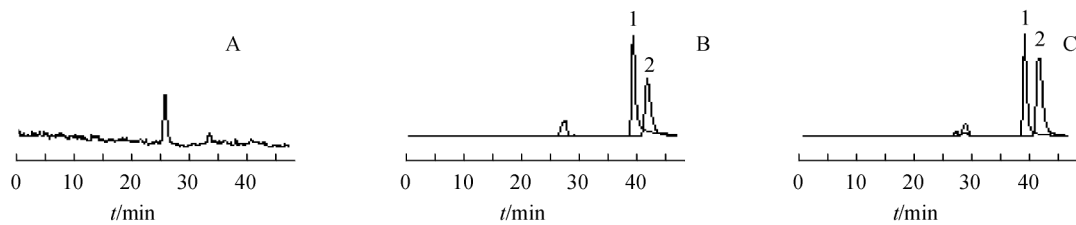


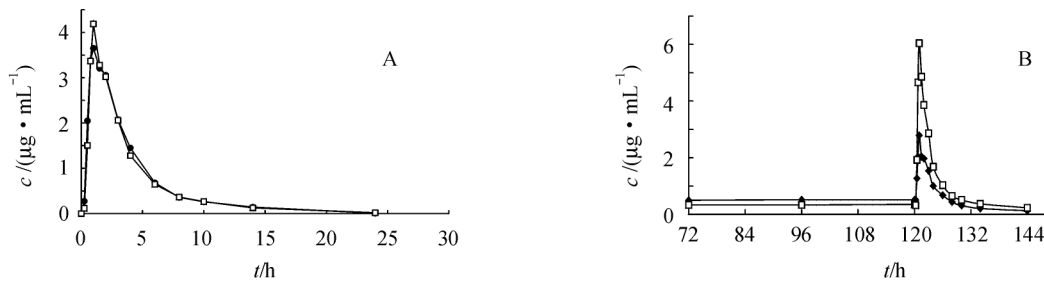
Fig.2 Typical chromatograms of pseudoephedrine sulfate

A: Blank plasma; B: Blank plasma + pseudoephedrine sulfate + IS; C: Plasma after administration of compound loratadine sustained-release micro-capsules; 1: IS; 2: Pseudoephedrine sulfate

3.2 结果

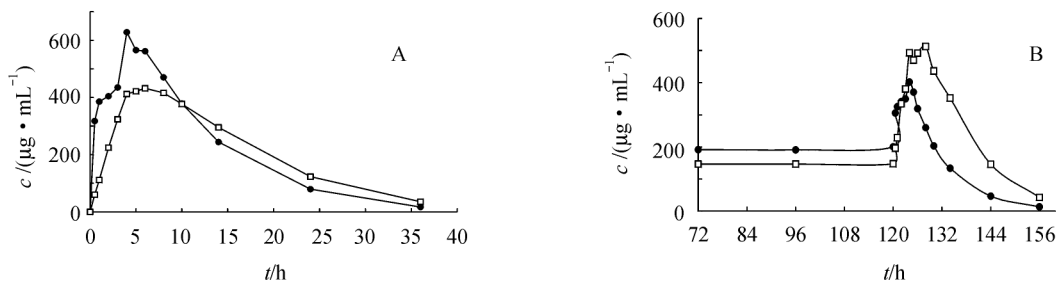
3.2.1 血药浓度-时间曲线 20 名健康受试者单剂量和多剂量口服复方氯雷他定缓释试验胶囊或

参比片开瑞能后,平均血药浓度-时间曲线分别见图 3、图 4。



—●—Reference tablet; —□—Test capsules

Fig.3 Mean plasma concentration-time curve of loratadine after oral compound loratadine sustained-release micro-capsules(A: Single; B: Multiple)



—●—Reference tablet; —□—Test capsules

Fig.4 Mean plasma concentration-time curve of pseudoephedrine sulfate after oral compound loratadine sustained-release micro-capsules(A: Single; B: Multiple)

3.2.2 药动学参数 两制剂的药-时数据用 BAPP

2.2 软件处理,药动学参数及生物利用度如表 3 和

表 4。试验胶囊中的缓释成分硫酸伪麻黄碱与参比片中硫酸伪麻黄碱相比, c_{\max} 降低, t_{\max} 延长, 波动度 (degree of fluctuation, DF) 减小, 较参比片具有更为明显的缓释特征。两成分的 $AUC_{0-\tau}$ 、 $AUC_{0-\infty}$

和 AUC_{ss} 经对数转换后方差分析和双单侧 t 检验, 在 $\alpha = 0.05$ 时无显著性差异, 表明受试制剂和参比制剂生物等效。

Tab.3 Pharmacokinetic parameters of compound loratadine sustained-release micro-capsules in 20 male volunteers (single dose)

Parameter	Loratadine		Pseudoephedrine sulfate	
	Test	Reference	Test	Reference
c_{\max} (ng/mL)	4.73 ± 3.08	4.45 ± 3.18	453.85 ± 105.85	695.15 ± 232.13
t_{\max} (h)	1.2 ± 0.5	1.1 ± 0.6	6.1 ± 1.6	4.5 ± 1.1
$t_{1/2}$ (h)	3.08 ± 1.61	3.67 ± 0.91	7.78 ± 0.75	6.10 ± 1.73
MRT (h)	3.84 ± 1.25	4.16 ± 0.74	14.07 ± 0.95	10.62 ± 1.18
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	14.23 ± 12.68	14.31 ± 11.57	7 742.02 ± 2 058.97	8 084.77 ± 2 704.79
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)	14.69 ± 13.14	14.98 ± 12.10	8 147.05 ± 2 167.19	8 248.29 ± 2 729.65
F (%)	97.6 ± 17.4		98.8 ± 15.5	

Tab.4 Pharmacokinetic parameters of compound loratadine sustained-release micro-capsules in 20 male volunteers (multiple dose)

Parameter	Loratadine		Pseudoephedrine sulfate	
	Test	Reference	Test	Reference
c_{\max} (ng/mL)	6.55 ± 3.95	3.04 ± 2.49	542.94 ± 103.94	433.29 ± 78.49
c_{\min} (ng/mL)	0.35 ± 0.39	0.51 ± 0.53	147.42 ± 54.66	200.08 ± 44.57
t_{\max} (h)	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.6	6.7 ± 1.5	4.0 ± 1.1
c_{av} (ng/mL)	0.97 ± 0.80	1.07 ± 0.47	390.84 ± 99.06	419.50 ± 55.43
DF	6.39 ± 4.45	4.77 ± 4.17	1.01 ± 0.49	1.10 ± 0.61
AUC_{ss} (ng·h/mL)	23.22 ± 19.25	12.78 ± 11.24	9 380.21 ± 2 377.32	5 043.91 ± 1 330.37
F (%)	94.6 ± 16.0		94.4 ± 13.9	

4 讨 论

1) 文献报道^[1]氯雷他定的最低检测限为 0.1 ng/mL, 本试验采用 2.0 mm 直径的窄径色谱柱, 并优化流动相的 pH 至 4.4, 增强了氯雷他定的 $[M+H]^+$ 强度, 提高了检测灵敏度, 使最低检测限达 0.01 ng/mL。文献报道^[2]氯雷他定的血样处理方法为固相萃取, 操作繁琐, 成本高, 样品难以浓缩, 本试验中采用碱化后正己烷-5% 异丙醇提取, 方法回收率高, 干扰小, 保证了检测的准确度和灵敏度。

2) 首次建立的硫酸伪麻黄碱血药浓度 HPLC-ESI-MS 测定方法, 克服了文献方法^[1]灵敏度低、干扰大、分析时间长的缺陷, 为体内样本的分析提供了简便、快速、可靠的高通量测定方法。

3) 有关氯雷他定和硫酸伪麻黄碱复方制剂的药代动力学研究目前报道甚少。本文根据两者的结构特点, 摸索建立了液液萃取的血浆样品处理方法, 高效液相色谱分离、质谱选择性离子检测的体内药物定量分析方法, 并应用所建立的方法首次研究了国产复方氯雷他定缓释微丸胶囊在中国健康

受试者体内的药代动力学过程。结果表明, 试验胶囊中氯雷他定和硫酸伪麻黄碱两组分的主要药代动力学参数与文献报道相似, 但其中的缓释成分硫酸伪麻黄碱 c_{\max} 降低, t_{\max} 和 MRT 延长, DF 较小, 较参比片具有更为明显的缓释特征, 验证了该处方的设计目标, 并为本品的质量评价和临床合理用药提供了依据。

参 考 文 献

- [1] Teddy KP, Elaine RP, Vijay KB, *et al.* Pharmacokinetics of loratadine and pseudoephedrine following single and multiple doses of once-versus twice-daily combination tablet formulations in healthy adult males[J]. *Clin Ther*, 1997, **19**(5): 1 002 - 1 011.
- [2] 钟国平 (Zhong GP), 王雪丁 (Wang XD), 张选红 (Zhang XH), 等. 氯雷他定片在健康志愿者的药代动力学与生物等效性研究[J]. *中国临床药理学杂志 (Chin J Clin Pharmacol)*, 2002, **18**(2): 105 - 108.
- [3] 钟明康 (Zhong MK), 施孝金 (Shi XJ), 张静华 (Zhang JH), 等. 盐酸伪麻黄碱缓释片的相对生物利用度和稳态药代动力学[J]. *中国临床药理学杂志 (Chin J Clin Pharm)*, 2000, **9**(5): 286 - 289.