

文章编号:1008-9926(2005)04-0277-04 中图分类号:R969.1 文献标识码:A

利巴韦林片在健康人体的药代动力学及生物等效性

赵磊,文爱东,杨志福,吴寅,沈彤,陈平君,谢黎

(中国人民解放军第四军医大学西京医院 药剂科 陕西 西安 710032)

摘要:目的 研究利巴韦林片在健康人体的药代动力学特征及其相对生物等效性。方法 24名男性健康志愿者以标准二阶段交叉设计自身对照试验法,分别单剂量口服2种利巴韦林片,采用液相色谱-串联质谱法测定受试者服药后72h内血浆中利巴韦林的浓度。结果 受试品和参比品利巴韦林主要的药代动力学参数 T_{max} 分别为 3.55 ± 3.06 、 2.84 ± 2.89 h, C_{max} 分别为 214.12 ± 89.21 、 $223.89 \pm 116.83 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{AUC}_{(0-72\text{h})}$ 为 5252.63 ± 1896.66 、 $5239.36 \pm 708.07 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$,受试品的相对生物利用度为 110.5%。结论 2种利巴韦林制剂在健康志愿者体内具有生物等效性。

关键词:利巴韦林;液相色谱-串联质谱法;药代动力学;生物等效性

Pharmacokinetics and Bioequivalence of Ribavirin in Healthy Volunteers

ZHAO Lei, WEN Ai-Dong, YANG Zhi-Fu, WU Yin, SHEN Tong, CHEN Ping-Jun, XIE Li

(Department of Pharmacy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi China)

ABSTRACT: **Aim** To study the pharmacokinetics and bioequivalence of ribavirin tablets in healthy volunteers. **Methods** A single oral dose of two kinds of ribavirin was given to 24 healthy volunteers in a randomized two-period crossover study. The concentrations of ribavirin in plasma were determined by the liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) method. **Results** The main pharmacokinetic parameters of test and reference were as follows: T_{max} was 3.55 ± 3.06 and 2.84 ± 2.89 h, C_{max} 214.12 ± 89.21 and $223.89 \pm 116.83 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{(0-72\text{h})}$ 5252.63 ± 1896.66 and $5239.36 \pm 708.07 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The relative bioavailability of the tested drug was 110.5%. **Conclusion** The two kinds of ribavirin were bioequivalent in healthy volunteers.

定方法见 2.1.1,结果见表 8。

表 8 复方阿司匹林\双嘧达莫缓释片的释放度重现性结果

Tab 8 Reproducibility of compound aspirin - dipyridomole sustained release tablets

时间 (h)	释放度 (%)						\bar{x}	s
	020401	020402	020403	020404	020405	020406		
1(a)	96.8	98.9	100.6	99.7	94.5	97.7	98.0	2.2
1(d)	21.1	23.2	23.6	24.5	22.1	20.1	22.4	1.7
2(d)	30.6	33.7	31.6	35.4	30.2	32.6	32.4	2.0
3(d)	48.9	49.6	50.8	51.3	48.6	52.6	50.3	1.5
5(d)	65.6	65.3	65.4	64.2	63.1	64.5	64.7	1.0
7(d)	79.6	81.7	82.6	84.5	82.3	78.1	81.5	2.3
12(d)	99.4	100.6	100.5	99.2	102.0	101.9	100.6	1.2

注:(a)阿司匹林(d)双嘧达莫

从上表可见,按照本处方制得的样品的释放度的重现性、均一性良好,说明处方工艺可行。

3 讨论

以微晶纤维素和淀粉按照一定比例作为稀释剂,片剂不但制造成本低而且美观。以交联羧甲基

纤维素钠作为崩解剂,药物释放完全,同时不影响缓释效果。实验表明,主药与 HPMC 在一定比例范围内比单独应用 HPMC 释药效果好,加入十八醇作为阻滞剂释药效果良好。本文在单因素考察的基础上,采用正交设计优化了处方工艺,制备了复方阿司匹林\双嘧达莫双层缓释片,实验表明处方设计合理,均一性和重现性良好,达到了设计要求,与国外参比制剂^[3]Aggrenox;(复方阿司匹林\双嘧达莫缓释胶囊)相比释放度无显著差异。

参考文献:

- [1] Diener HC, Cunha L, Forbes C, et al. European Stroke Prevention Study. 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke[J]. *Neurol Sci*, 1996, 143(1-2): 1
- [2] 刘小军,李志华,姜东辉.阿司匹林与潘生丁能否合用[J].西北药理学杂志,1997,12(5):234
- [3] Aggrenox (Aspirin and dipyridamole) [P]. <http://www.U.S.FDA>

(收稿日期:2004-10-25;修回日期:2005-04-20)

(本文编辑 梁爱君)

作者简介:赵磊(1974-),女,陕西西安人,主管药师。研究方向:临床药理学。Tel(029)83375475-8403

KEY WORDS : Ribavirin ;Liquid chromatography-tandem mass spectrometry ;Pharmacokinetics ;Bioequivalence

利巴韦林(Ribavirin)系广谱抗病毒药,为单磷酸次黄嘌呤核苷脱氢酶抑制剂,抑制IMB转变为鸟苷酸,阻碍病毒核酸合成,阻止病毒复制和传播,从而达到抗病毒的作用。对多种RNA和DNA病毒均有明显的抑制作用,对HIV病毒也有较强的抑制作用。临床上不仅用于病毒性上呼吸道感染、病毒性肺炎、带状疱疹、乙型肝炎,而且对乙型肝炎、甲型肝炎和出血热也有一定疗效。为保证药品质量及临床疗效,使临床用药安全有效,我们采用二阶段交叉、随机、自身对照的方法,以液相色谱-串联质谱法测定受试者服药后72h内血浆中利巴韦林的浓度。比较受试品利巴韦林片和参比品利巴韦林片在健康受试者体内的药代动力学过程,并对2种制剂的生物等效性做出评价,为临床合理应用提供依据。

1 材料

1.1 仪器 MS/MS系统:TSQ Quantum Ultra 三重四极杆串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)以及Xcalibur 1.4 数据处理系统软件(均为美国Finnigan公司);液相色谱输液泵(日本岛津公司,LC-10ADvp泵);进样器(日本岛津公司SIL-HT型自动进样器)。
1.2 试药与试剂 受试品利巴韦林片(0.05g/片,石家庄制药集团欧意药业有限公司,批号030602),参比品利巴韦林片(0.1g/片,上海华氏制药有限公司,批号030401)。利巴韦林对照品(中国药品生物制品检定所);拉米夫定对照品(内标物)(由东北制药总厂研究院提供)。甲醇和乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱为Diamondsil-C₁₈柱,5μm粒径,200mm×4.6mm I.D.(北京迪马公司);预柱为C₁₈保护柱,4mm×3.0mm I.D.(美国Phenomenex公司);流动相为甲醇-水-甲酸(20:80:0.5,v/v/v);流速为0.50ml/min;进样量为20μl;柱温为室温。

2.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子源(ESI源);喷射电压为3.8kV;加热毛细管温度为320℃;鞘气(N₂)压力30Arb;辅助气(N₂)流量6Arb.;碰撞气(Ar)压力1.2mTorr;碰撞诱导解离(CID)电压为20eV;正离子方式检测;用于定量分析的离子反应分别为m/z 245 → m/z(96+113)(利巴韦林)和m/z 230 → m/z112(内标拉米夫定);扫描时间为0.3s。

2.3 血浆样品测定 取血浆0.25ml,分别加入50μl甲醇和50μl内标溶液(2mg L⁻¹的拉米夫定乙腈溶液),混匀;加入0.20ml乙腈,涡流混合1min,离心5min(3 500 r/min),取上清液20μl进行LC/MS/MS色谱分析。

2.4 方法的专属性 利巴韦林和内标拉米夫定在ESI离子化方式下,主要生成[M+H]⁺准分子离子峰,分别为m/z245和m/z230。选择性对准分子离子峰[M+H]⁺进行二级质谱分析,利巴韦林生成的主要碎片离子为m/z96和m/z113,为提高检测灵敏度,定量分析时同时对其进行监测。内标拉米夫定生成的主要碎片离子为m/z112,定量分析时将其作为监测的产物离子。本方法具有较高的专属性。在试验条件下测得的空白血浆、利巴韦林标准溶液和内标溶液、受试者给药后的血浆样品的色谱图,见图1,利巴韦林和内标拉米夫定的保留时间分别为5.19min和4.35min。结果表明,空白血浆中的内源性物质不干扰利巴韦林和内标拉米夫定的测定。

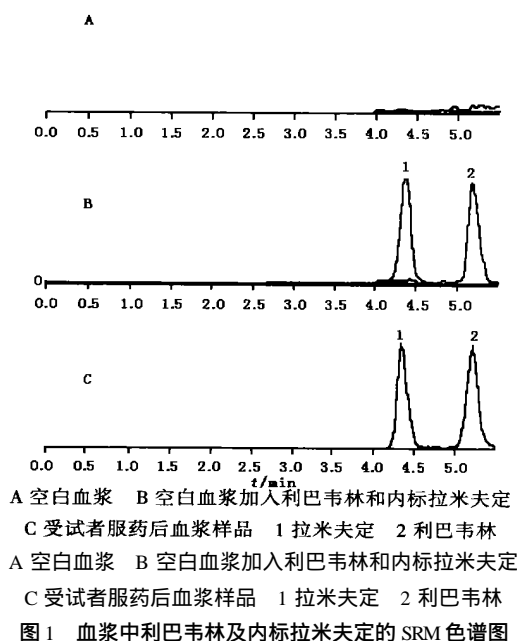


Fig 1 Chromatograms of ribavirin and internal standard by selected reaction monitoring(SRM) scan mode

2.5 标准曲线的制备 取空白血浆0.25ml,加适量利巴韦林标准溶液,配制成相当于利巴韦林血浆浓度为10、25、80、200、500、1 000、2 000、5 000μg L⁻¹的溶液,按2.3项下操作,记录色谱图;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/x²)最小二乘法进行回归运算,求得回归方程为:

$$Y = 2.06 \times 10^{-4} + 4.48 \times 10^{-4} C, r = 0.995$$

血浆中利巴韦林的最低定量限为 $10 \mu\text{g L}^{-1}$, 线性范围 $10 \sim 5000 \mu\text{g L}^{-1}$ 。

2.6 方法精密度 取空白血浆加入适量的利巴韦林标准溶液, 分别配成低、中、高 3 个浓度的样品 ($25, 500, 4000 \mu\text{g L}^{-1}$), 按样品测定方法日内重复测定 6 次, 日内 RSD 分别为 4.8%、8.2% 和 6.8%。同法配制的 3 个浓度样品连续测定 3d, 每一浓度重复测定 6 次, 日间 RSD 分别为 4.3%、8.5% 和 4.9%。

2.7 回收率 取空白血浆加入适量的利巴韦林标准溶液, 分别配成低、中、高 3 个浓度的利巴韦林 ($25, 500, 4000 \mu\text{g L}^{-1}$), 按样品测定方法重复测定 6 次, 以实测值与理论值之比计算回收率分别为 92.9%、92.0% 和 90.9%, 平均回收率为 $(91.90 \pm 1.0)\%$, RSD 为 1.09%。

2.8 质量控制 为确保血浆样品测定结果的有效可信准确, 在每批血样测定时均随机加入并平行测定低、中、高 3 个浓度 ($25, 500, 4000 \mu\text{g L}^{-1}$) 的标准质控样品各 2 份, 共测试了 9 个分析批样品, 每一分析批质控测定结果误差百分率均小于 $\pm 15\%$, 符合体内药物分析要求。

2.9 受试者及试验方案 24 名男性健康受试者, 均为汉族, 年龄 (24.1 ± 2.1) 岁, 体重 $64.3 \pm 3.0 \text{kg}$, 身高 $171.2 \pm 3.1 \text{cm}$; 血尿常规、肝肾功能及心电图等指标均正常, 受试者实验前 2 周及实验期间未用过其它任何药物, 无药物过敏史, 实验期间禁烟、酒及含药物、乙醇的饮料等, 并签署知情同意书。实验采用标准二阶段交叉设计自身对照法, 将 24 名受试者随机分为 2 组, 每组 12 人, 分别单剂量口服受试品或参比品 300mg, 经 2 周清洗期后, 试验 2 组再交叉服用。每次服药前禁食 12h, 于试验当日晨空腹用 250ml 温开水吞服药物, 服药后的第 5、10、25、29、34、49、53、58h 进食统一低蛋白、低脂肪标准餐。受试者分别在服药前 (0h) 和服药后 0.3、0.6、1、1.5、2、4、6、8、12、24、48、72h 分别采静脉血 5ml, 置经肝素处理的离心试管中, 离心分离血浆置 -20°C 冰箱中保存至测定。

2.10 数据分析处理 24 名健康受试者的血浆中利巴韦林浓度-时间原始数据用 3P97 处理, 求算药代动力学参数。以梯形法求算 AUC, T_{\max} 和 C_{\max} 均采用实测值, 用 NDST21W 统计学软件, 将 2 种制剂中利巴韦林的 $\text{AUC}_{(0-72\text{h})}$ 、 $\text{AUC}_{(0-\text{inf})}$ 、 C_{\max} 经对数转换后进行配对双单侧 t 检验, T_{\max} 采用非参数 Wilcoxon 法统计处理, 进行生物等效性评价。

2.11 血药浓度测定 采用 LC-MS-MS 法测定 24 名受试者口服 2 种利巴韦林片后不同时间血浆中的利巴韦林浓度, 受试品与参比品利巴韦林的浓度-时间变化趋势基本一致, 但 2 种制剂个体间血药浓度值存在一定的差异, 平均药时曲线, 见图 2。

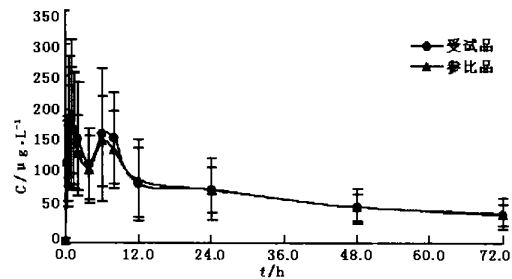


图2 健康志愿者口服 300mg 利巴韦林片后药时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

Fig 2 Ribavirin concentration in plasma after a single oral dose of 300mg ribavirin tablets ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

2.12 药动学研究 24 名健康受试者交叉口服 2 种利巴韦林片后的血药浓度-时间数据经统计处理, 2 种制剂在人体内的代谢过程基本一致, 其主要药代动力学参数, 见表 1, 2 种制剂的药动学参数间均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 1 24 名健康志愿者口服 300mg 利巴韦林片后药代动力学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

Tab 1 Ribavirin pharmacokinetics parameters after a single oral dose of 300mg ribavirin tablets ($\bar{x} \pm s, n = 24$)

参数	利巴韦林(受试品)	利巴韦林(参比品)
C_{\max} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	214.12 \pm 89.21	223.89 \pm 116.83
T_{\max} (h)	3.55 \pm 3.06	2.84 \pm 2.89
$T_{1/2\text{ke}}$ (h)	50.81 \pm 17.09	48.40 \pm 12.96
$\text{MRT}_{(0-72\text{h})}$ (h)	26.66 \pm 3.32	26.89 \pm 2.27
$\text{MRT}_{(0-\text{inf})}$ (h)	69.29 \pm 23.57	66.60 \pm 17.74
$\text{AUC}_{(0-72\text{h})}$ ($\mu\text{g h L}^{-1}$)	5252.63 \pm 1896.66	5239.36 \pm 2708.07
$\text{AUC}_{(0-\text{inf})}$ ($\mu\text{g h L}^{-1}$)	8106.34 \pm 2987.57	8114.00 \pm 4714.71

2.13 等效性分析 将 2 种利巴韦林片梯形法计算的 $\text{AUC}_{(0-72\text{h})}$ 、 $\text{AUC}_{(0-\text{inf})}$ 及实测的 C_{\max} 、 T_{\max} 经统计分析, 求得受试品利巴韦林片相对于参比品利巴韦林片的相对生物利用度为 110.5%。结果表明, 2 种制剂在人体内具有生物等效性。

3 讨论

3.1 有关血浆中利巴韦林的测定方法 国内外文献报道有高效液相色谱-质谱-质谱、高效液相色谱紫外检测、同位素标记及高效液相色谱-质谱等方法^[1~6], 我们采用高效液相色谱-串联质谱 (LC-MS-MS) 方法测定血浆样品中的利巴韦林, 并进行了方法确证, 血浆样品经沉淀蛋白后, 采用 ESI 源, SRM 扫描方式, 以准分子离子 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 为母离子, 利用生成的主要碎片离子进行定量分析, 血浆中的内源

文章编号:1008-9926(2005)04-0280-04 中图分类号:R917 文献标识码:A

近红外漫反射光谱法定量模型稳定性的研究

朱 斌,史 勇,马淑艳,刘荔荔

(中国人民解放军第 97 医院 药剂科 江苏 徐州 221004; 中国人民解放军第二军医大学药学院 上海 200433)

摘要:目的 采用近红外漫反射光谱技术,以西咪替丁为样本考查定量模型稳定性的影响因素。方法 在淀粉辅料中掺入不等量西咪替丁(含量范围为 40%~80%),建立校正样品组,采集近红外光谱,运用偏最小二乘法建立数学模型,通过改变激光波长及光圈采集光谱建立预测样品组并进行预测,以考查模型的稳定性。结果 校正样品决定系数(R^2)=99.77;对照品:波长漂移 4cm^{-1} 时的决定系数(R^2)=99.86;波长漂移 8cm^{-1} 时的决定系数(R^2)=99.76;在 poly 光圈下的决定系数(R^2)=99.81。结论 近红外漫反射光谱定量模型相对稳定,为模型转移提供一定的理论基础。

关键词:近红外漫反射光谱;模型稳定性;西咪替丁

The Study on the Stability of the Quantitative Model of NIRDRS

ZHU Bin, SHI Yong, MA Shu-Yan, LIU Li-Li

(Department of Pharmacy, 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu, China)

(Center of Analysis & Test, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: **Aim** To study the factors influencing the stability of the quantitative model by near-infrared diffuse reflectance spectrometry (NIRDRS), and then validated by cimetidine. **Methods** The calibration set was created by adding unequal cimetidine to starch (content range: 40%~80%) and the test set by excursion of wavelength and change of

性物质不干扰待测物的测定,检测的线性范围可达到 $10 \sim 5000\mu\text{g L}^{-1}$ 。本方法具有快速、准确、专一性强、灵敏度高的特点,可确保测定血浆中微量利巴韦林浓度的准确性和可靠性。

3.2 24 名健康受试者交叉口服 300mg 利巴韦林片的主要药动学参数显示,2 种利巴韦林制剂在人体内的处置基本一致,但 2 种利巴韦林制剂的血药浓度个体间差异较大,与文献相符^[7],提示临床用药应采取个体化给药,根据患者具体情况确定给药方案,确保患者用药安全有效。比较 2 种利巴韦林制剂中 T_{max} 、 C_{max} 和 AUC,受试品 AUC、 T_{max} 略高于参比品, C_{max} 略低于参比品,但各参数之间均无统计学差异($P > 0.05$)。受试品利巴韦林片相对于参比品利巴韦林片的相对生物利用度为 110.5%,表明 2 种制剂在人体内具有生物等效性。本研究中 24 名受试者在试验期间均未发生任何药物不良反应。

参考文献:

[1] Lin CC, Yeh LT, Lau JY. Specific, sensitive and accurate liquid chromatographic tandem mass spectrometric method for the measurement of

ribavirin in rat and monkey plasma [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2002, 779(2):241

[2] Yeh LT, Nguyen M. A Sensitive and Specific Method for the Determination of Total Ribavirin in Human Red Blood Cells by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. *J. chromatogr sci*, 2003, 41(5-6):255

[3] 唐 星,刘 洋,何海冰,等.利巴韦林鱼腥草素钠粉针剂在大鼠体内的药代动力学[J].沈阳药科大学学报,2004,21(3):161

[4] 于海翔,郭 俊,李 宁,等.利巴韦林脂质体在大鼠体内的药物动力学及其生物利用度[J].沈阳药科大学学报,2001,18(5):320

[5] Preston SL, Drusano CL, Gue P, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ribavirin in healthy volunteers as determined by stable-isotope methodology [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(10):2451

[6] Gue P, Schenker S, Gupta S, et al. The single dose pharmacokinetics of ribavirin in subjects with chronic liver disease [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2000, 49(5):417

[7] 丁晨光,陈雨安,祁广建,等.利巴韦林胶囊剂的人体生物利用度研究[J].中国临床药理学杂志,1994,10(3):177

[8] 徐文跃,陈幼亭.利巴韦林颗粒剂的相对生物利用度研究[J].中国新药杂志,2000,9(9):626

(收稿日期:2004-12-22)

(本文编辑 宋金斗)

基金项目:上海市科学技术发展基金资助项目, No. 98441906

作者简介:朱 斌(1974-),男,黑龙江齐齐哈尔人,硕士,主管药师。研究方向:NIRDRS 在药物分析中的应用。Tel:(0516)3349313