

匹伐他汀钙片在健康人体内的生物等效性研究

马跃海*,唐思,张世良,杨瑞,董晓茜,夏素霞[#](辽宁省中医药研究院临床药理实验室,沈阳 110034)

中图分类号 R969.1;R972*.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)26-2426-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.26.10

摘要 目的:评价两种匹伐他汀钙片在中国健康受试者体内的生物等效性。方法:24名健康受试者随机分为两组,采用双周期交叉单剂量口服匹伐他汀钙片受试制剂(国产)或参比制剂(进口)2 mg后,用液-质联用(LC-MS/MS)法测定匹伐他汀的血药浓度,并计算其药动学参数,比较二者的人体生物等效性。结果:口服受试制剂与参比制剂血浆中匹伐他汀药动学参数分别为: $t_{1/2}$ (13.06±7.20)、(12.89±9.49)h, c_{max} (49.90±22.93)、(48.18±19.70)μg/L, t_{max} (0.64±0.34)、(0.77±0.25)h, AUC_{0-48h} (118.16±54.60)、(118.08±44.50)μg·h/L。受试制剂的相对生物利用度为(99.86±24.34)%。结论:两种匹伐他汀钙片在中国健康受试者体内具有生物等效性。

关键词 匹伐他汀;液-质联用法;药动学;生物等效性

Bioequivalence Study of Pitvastatin Calcium Tablet in Healthy Volunteers

MA Yue-hai, TANG Si, ZHANG Shi-liang, YANG Rui, DONG Xiao-qian, XIA Su-xia (Laboratory of Clinical Pharmacology, Liaoning Province Academy of TCM, Shenyang 110034, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the bioequivalence of 2 kinds of Pitvastatin calcium tablets in Chinese healthy volunteers. METHODS: 24 healthy volunteers were randomized into 2 groups. In double-cycle self-cross study, the patients were given single oral dose of Pitvastatin calcium test preparation (domestic) or reference preparation (imported) 2 mg, and the plasma concentration of pitvastatin was determined by LC-MS/MS. The main pharmacokinetic parameters were calculated, and the bioequivalence of two preparations were compared. RESULTS: The main pharmacokinetic parameters of test preparation vs. reference preparation were as follows: $t_{1/2}$: (13.06±7.20) h vs. (12.89±9.49) h; c_{max} : (49.90±22.93) μg/L vs. (48.18±19.70) μg/L; t_{max} : (0.64±0.34) h vs. (0.77±0.25) h; AUC_{0-48h} : (118.16±54.60) μg·h/L vs. (118.08±44.50) μg·h/L. The relative bioavailability of test reference was (99.86±24.34)%. CONCLUSIONS: The results demonstrate that the two preparations are bioequivalent.

KEYWORDS Pitvastatin; LC-MS/MS; Pharmacokinetics; Bioequivalence

匹伐他汀钙片在临床上主要适用于高胆固醇血症和家族性胆固醇血症。人口服匹伐他汀钙,主要吸收部位是十二指肠和大肠,吸收后在人体内的血浆蛋白结合率在96%以上,选择性地分布在肝脏,在全身其他组织中的药物浓度较血浆低或与之相近。匹伐他汀钙主要在肝脏、肾脏、肺、心脏、肌肉中代谢,代谢物浓度比药物原型浓度低,经粪便排出体外,尿中也有少量药物排泄,总排泄率几乎达到100%。本试验评价健康受试者口服四川维奥制药有限公司研制的匹伐他汀钙片(受试制剂)的血药浓度经时过程,计算其相应的药动学参数,以Kowa Company, Ltd., Nagoya Factory生产的匹伐他汀钙片

为参比制剂,估算受试制剂的相对生物利用度,对两种制剂的生物等效性进行评价,为临床用药提供参考数据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 6410型液-质联用(LC-MS/MS)仪,包括电喷雾离子源(ESI), Quantitative Analysis version B.01.04数据处理系统(美国Agilent公司); XW-80A微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂); XS105分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); SIGMA3-18k低温高速离心机(德国Sigma公司)。

1.2 药品与试剂

[4] 陈铁洋. I类切口手术预防性使用抗菌药物分析[J]. 临床合理用药, 2011, 4(9): 142.

[5] 董杰, 相秀英, 尹玉磊, 等. 我院实施抗菌药物专项整治和药学干预的效果分析[J]. 中国药房, 2012, 23(30): 2 813.

[6] 王永玲, 王清理, 张建华, 等. I类清洁手术围手术期预防

用抗菌药物调查[J]. 中国药物应用与监测, 2012, 2(9): 43.

[7] 井春梅, 肖爱丽, 鄢琳, 等. 我国4城市抗菌药物使用调研与分析[J]. 中国药物警戒, 2011, 8(4): 216.

[8] 王兰, 龙宁, 龙锐. 干预措施对内分泌外科清洁手术预防用抗菌药物的影响[J]. 重庆医学, 2012, 41(12): 1 176.

[9] 陈英, 危华玲, 杨周生. 我院3种清洁切口手术围术期抗菌药物应用分析[J]. 中国药房, 2011, 22(46): 4 336.

(收稿日期: 2014-03-21 修回日期: 2014-04-21)

* 助理研究员, 硕士。研究方向: 临床药理学。电话: 024-86803302。E-mail: lnzyjy115@126.com

[#] 通信作者: 研究员, 硕士研究生导师。研究方向: 临床药理学。电话: 024-86803043。E-mail: xiasuxiazfq@163.com

受试制剂:匹伐他汀钙片(四川维奥制药有限公司,规格:2 mg/片,批号:120901);参比制剂:匹伐他汀钙片(力清之,Kowa Company, Ltd., Nagoya Factory, 规格:2 mg/片,批号:FQ20);匹伐他汀钙对照品(合肥合源医药科技股份有限公司,批号:20111229,含量:99.53%);内标:伏立康唑标准品(中国食品药品检定研究院,批号:100862-200701);乙腈、甲酸为色谱纯;水为自制超纯水。

2 方法

2.1 受试对象选择与试验方案

24名受试者均为男性健康志愿者,年龄(25.3±2.4)岁,体质量(65.0±7.2)kg,体质量指数(21.27±1.62)kg/m²。所有受试者均无药物过敏史,无烟酒嗜好。试验前所有受试者经血压、脉搏等生命特征检查、心电图检查及血、尿常规和肝、肾功能等检查,均在正常值范围内。试验前2周至试验结束前停用任何其他药物。受试者试验前应签署知情同意书。本试验方案经本院伦理委员会审批后通过。

24名受试者(男、女各半)分成2组,每组各12人,分别双周期交叉单剂量口服匹伐他汀钙片受试制剂或参比制剂2 mg(1片)。受试者从给药前10 h开始禁食(禁水至少1 h),给药开始后2 h后按需饮水,给药4 h后统一进标准餐。分别于服药前(0 h)和给药后10、20、30、45 min及1、1.5、2、4、6、8、15、24、36、48 h采集肘静脉血4 ml,置于肝素化的试管中,立即在低温4℃条件下以离心半径为8 cm、3 500 r/min离心10 min,分离血浆,于-70℃以下冷冻保存。

2.2 色谱与质谱条件

色谱柱:Agilent poroshell 120 SB-C₁₈(75 mm×4.6 mm, 2.7 μm);流动相:乙腈-0.2%甲酸水溶液(65:35);流速:0.3 ml/min;柱温:40℃;进样量:10 μl。

离子源:ESI源;干燥气流速:7.5 L/min;温度:350℃;喷雾气压力:45 psi;毛细管电压:4 000 V;正离子方式检测,扫描方式:选择反应监测(MRM)。用于定量的离子分别为匹伐他汀:母离子 *m/z* 422.1,子离子 *m/z* 290.2,碎裂电压:210 V,碰撞能:30 V;伏立康唑:母离子 *m/z* 350.2,子离子 *m/z* 127.1,碎裂电压:120 V,碰撞能:37 V;扫描时间均为200 ms。

2.3 血浆样品处理

根据文献报道^[1-3],匹伐他汀样品处理过程需在避光冰水浴下进行。精密量取血浆100 μl,依次精密加入内标(伏立康唑)溶液10 μl,涡旋混匀,加入乙腈200 μl,涡旋混匀2 min,以离心半径为8 cm、14 000 r/min离心10 min,取上清液10 μl进样分析。

2.4 方法学验证

2.4.1 专属性考察:在所建立的色谱条件下,匹伐他汀、内标与内源性杂质分离良好,匹伐他汀和内标保留时间分别为3.4、3.9 min左右。典型色谱图见图1。

2.4.2 标准曲线的制备:精密量取不同浓度的匹伐他汀标准溶液各10 μl,加入空白血浆100 μl配成血浆中药物浓度分别为0.26、0.65、1.29、2.58、64.45、128.90、193.35 μg/L的样品,再按“2.3”项方法操作进行检测,记录匹伐他汀色谱峰面积(*A_s*)与内标峰面积(*A_i*)。以峰面积比 $y(y=A_s/A_i)$ 为横坐标、待测物浓度(*x*)为纵坐标,用最小加权法进行回归计算,求得标准曲线方程为 $y=0.003x+0.036(r=0.9910)$ 。结果表明,匹伐他汀血浆浓度在0.26~193.35 μg/L范围内线性关系良好,最低检测浓度为0.258 μg/L。

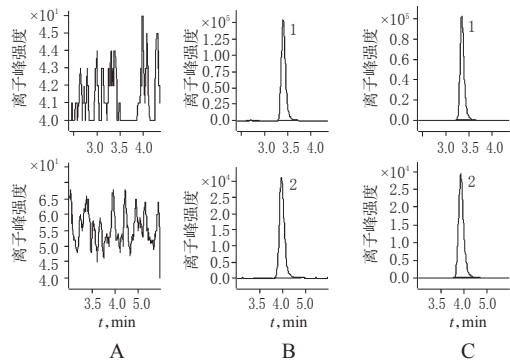


图1 典型色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+匹伐他汀对照品+内标;C.血浆样品+内标;1.匹伐他汀;2.伏立康唑

Fig 1 Typical chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma + pitvastatin + voriconazole; C. plasma samples + voriconazole; 1. pitvastatin; 2. voriconazole

2.4.3 精密性及回收率试验:配制低、中、高(0.52、12.89、154.68 μg/L)3种质量浓度的匹伐他汀血浆样品,各6份,再按“2.3”项方法操作后进行检测。于同日内测定,连续测定3 d,计算日内、日间精密性RSD及方法回收率,结果见表1。同法,取低、中、高(0.52、12.89和154.68 μg/L)3种质量浓度的匹伐他汀血浆样品,再按“2.3”项方法操作后进行检测,与对应质量浓度的标准样品进样所得峰面积相比,计算绝对回收率,结果见表1。

表1 回收率及精密性试验结果

Tab 1 Results of recovery and precision test

| 质量浓度 | | 精密性 | | 回收率 | |
|-----------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| 加入量, μg/L | 测得量, μg/L | 日内RSD, % | 日间RSD, % | 提取回收率, % | 方法回收率, % |
| 0.516 | 0.49±0.02 | 4.84 | 9.56 | 100.23 | 83.01 |
| 12.890 | 12.88±0.23 | 1.81 | 6.28 | 87.64 | 102.90 |
| 154.680 | 167.03±5.49 | 3.28 | 9.32 | 101.24 | 100.83 |

2.4.4 稳定性考察:经对匹伐他汀低、中、高3种质量浓度血浆样品考察发现,血浆样品避光冰水浴放置6 h、血浆样品预处理后避光在低温下放置24 h、反复冻融3次及在-70℃长期冷冻30 d,在本试验条件下均保持稳定且RSD<15%,符合方法学要求。

2.4.5 数据处理:用DAS 3.2.5软件进行数据处理。

3 结果

3.1 药-时曲线

24名健康受试者口服匹伐他汀钙片受试制剂与参比制剂2 mg后的平均药-时曲线见图2。

3.2 药动学参数

24名健康受试者口服匹伐他汀钙片受试制剂与参比制剂2 mg后的主要药动学参数见表2。

3.3 安全性评价

24名受试者在临床试验过程中,耐受性良好,受试者服药前后的血压、心电图和血常规、血生化检验均在正常范围内,未发现药品不良反应。

4 讨论

本文参考文献报道^[1-4],为了更适于临床药动学及生物等效性的大样本分析,保证血浆样本的稳定性、结果可靠性,本试验从受试者血浆采集开始,使整个试验过程操作均在低温

避光下进行,血浆样本处理采用乙腈沉淀蛋白,采用LC-MS/MS法测定人血浆中匹伐他汀浓度。本方法操作简便,灵敏度高,重复性好。

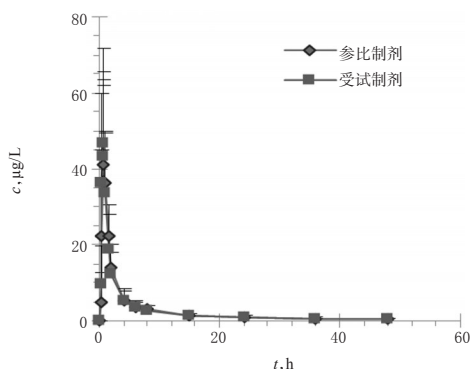


图2 24名健康受试者单剂量口服匹伐他汀钙片受试制剂与参比制剂2 mg后的平均药-时曲线

Fig 2 Main concentration-time curves of pitavastatin test preparation vs. reference preparation after single oral dose

表2 24名健康受试者单剂量口服匹伐他汀钙片受试制剂与参比制剂2 mg后的主要药动学参数($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of pitavastatin test preparation vs. reference preparation after single oral dose($\bar{x} \pm s$)

| 药动学参数 | 受试制剂 | 参比制剂 |
|---------------------------|----------------|----------------|
| C_{max} , µg/L | 49.90 ± 22.93 | 48.18 ± 19.70 |
| t_{max} , h | 0.64 ± 0.34 | 0.77 ± 0.25 |
| $t_{1/2}$, h | 13.06 ± 7.20 | 12.89 ± 9.49 |
| AUC_{0-48h} , µg·h/L | 118.16 ± 54.60 | 118.08 ± 44.50 |
| $AUC_{0-\infty}$, µg·h/L | 125.75 ± 56.37 | 126.74 ± 47.02 |
| F , % | 99.86 ± 24.34 | |

血药浓度数据经DAS 3.2.5软件统计分析,受试制剂与参比制剂在健康人体内的过程基本相似,血浆中的匹伐他汀的主

要药动学参数和文献^[3]所报道的结果相似,但不完全一致,Wen J等^[5]对18例中国健康受试者口服匹伐他汀进行血药浓度测定,突变组和野生组各9人,结果两组受试者的 C_{max} 、 AUC_{0-48h} 、 CL/F 有明显的统计学差异,OATP1B1A388G突变对匹伐他汀的代谢有明显的影。亚洲人中最常见的突变为A388G(74%)和T521C(14%),而中国人群的研究中这2个突变的发生率分别为73.4%和14.0%^[6],有可能A388G突变存在地区和种族的差异,故导致试验结果出现差异。

本文对匹伐他汀的主要药动学参数进行对数转换,方差分析表明,受试制剂与参比制剂间无显著性差异;经双向单侧 t 检验和 $[1-2\alpha]$ 置信区间检验,匹伐他汀的 C_{max} 、 AUC_{0-48h} 均落在标准置信区间范围内,表明两种制剂具有生物等效性。

参考文献

- [1] 田蕾,黄一玲,韩璐璐,等.高脂餐对匹伐他汀及其内酯代谢物的人体药动学影响[J].中国新药与临床杂志,2009,28(6):435.
- [2] 周华,郑恒,钱振宇,等.2种匹伐他汀钙片在人体内的生物等效性[J].中国医院药学杂志,2011,31(13):1087.
- [3] 王琳玲,陈笑艳,宋波,等.液相色谱-串联质谱法测定人血浆中匹伐他汀[J].中国新药与临床杂志,2007,26(11):805.
- [4] 陈楚雄,李国成,温预关.LC-ESI-MS/MS快速测定人血浆中匹伐他汀浓度[J].中国现代应用药学,2010,27(7):642.
- [5] Wen J, Xiong Y. OATP1B1 388A>G polymorphism and pharmacokinetics of pitavastatin in Chinese healthy volunteers[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2010, 35(1):99.
- [6] Xu LY, He YJ, Zhang W, et al. Organic anion transporting polypeptide-1B1 haplotypes in Chinese patients[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(10):1693.

(收稿日期:2014-01-16 修回日期:2014-02-16)

卫生计生监督网络培训平台正式上线运行

本刊讯 2014年6月4日,卫生计生监督网络培训平台正式开通运行。国家卫生和计划生育委员会副主任陈啸宏出席开通仪式,并就进一步做好卫生计生监督网络培训工作作了重要讲话。综合监督局局长薛晓林主持开通仪式,委办公厅等司局和卫生监督中心领导参加了活动。

陈啸宏副主任充分肯定了卫生计生监督网络培训平台建设所取得的成绩,他指出,卫生计生监督工作直接关系到人民群众身体健康,涉及到卫生计生相关法律法规的落实,责任重大。努力培养和造就一支政治素质优、业务能力强、执法水平高的卫生计生监督队伍,为促进卫生计生监督事业的发展提供人才保证和智力支持,是一项重要的工作。

陈啸宏副主任强调,卫生计生监督执法工作重心在基层,落实靠基层,不断提高基层卫生计生综合监督执法人员业务能力和执法水平是培训工作的重点。建设卫生计生监督网络培训平台,开展网络培训,是解决基层培训经费不足、优秀师资缺乏等困难的好办法,是加强卫生计生监督队伍建设和人才培养的有力举措。几年来,综合监督局和卫生监督中心根据《2011—2015年全国卫生监督培训规划》要求,在平台建

设、课程资源开发和组织管理等方面做了大量工作,试运行验证了该平台具有管理规范、资源丰富、技术可靠等特点,同时网络培训具备的广覆盖、可持续、低成本、高水平的优势,为加强基层监督队伍建设和人才培养奠定了坚实的基础。

陈啸宏副主任要求,要切实加强网络培训工作的组织领导,加强基础建设,提高培训质量和效果。要积极争取加大对卫生计生监督培训工作的经费投入,争取对卫生计生监督信息化建设特别是网络培训平台建设的立项,改善硬件条件,优化网络环境,保障网络培训工作的顺利开展。

国家卫生和计划生育委员会综合监督局和卫生监督中心按照整体规划、分布实施、逐步完善的原则,开发建设了卫生计生监督网络培训平台。目前已累计开发卫生计生监督网络培训课程362门,共计412学时,网络培训工作已覆盖全国省、市、县三级监督机构,注册人数达到7.9万余人。试运行以来,累计上网培训的监督员超过300万人次,日均在线学习人数近8000人,实时在线学习人数平均2500余人,完成课程学习累计达到150万多学时,取得了良好的经济效益和社会效益。