

·药学·

孟鲁斯特钠咀嚼片在健康人体内药动学和生物等效性

李文淑¹ 刘树红² 孙 斌¹ 郭晓东¹ 魏振满^{1△}

(1 解放军第 302 医院新药临床实验中心 北京 100039 2 解放军第 302 医院病理诊断与研究中心 北京 100039)

摘要 目的:研究两种(仿制新药与市售)孟鲁司特钠咀嚼片在人体内生物等效性。方法:采用单中心、随机、开放、双周期自身交叉试验设计,20 名健康男性志愿者分 2 周期分别口服受试制剂和参比制剂各 10 mg, HPLC 法测定血浆中孟鲁司特钠咀嚼片的浓度,用 DAS2.1.1 软件计算人体药动学参数并进行生物等效性评价。结果:受试制剂和参比制剂两药的主要药代动力学参数 AUC_{0-t} 分别为 $(17.94 \pm 6.19) \mu\text{g h/ml}$ 和 $(17.37 \pm 4.73) \mu\text{g h/ml}$, $AUC_{0-\infty}$ 分别为 $(18.26 \pm 6.16) \mu\text{g h/ml}$ 和 $(17.64 \pm 4.66) \mu\text{g h/ml}$, C_{max} 分别为 $(5.58 \pm 1.95) \mu\text{g/ml}$ 和 $(5.54 \pm 1.65) \mu\text{g/ml}$, T_{max} 分别为 $(2.03 \pm 0.97) \text{h}$ 和 $(1.93 \pm 0.69) \text{h}$, $t_{1/2}$ 分别为 $(1.20 \pm 0.17) \text{h}$ 和 $(1.19 \pm 0.13) \text{h}$ 。受试制剂的平均相对生物利用度为 $(101.5 \pm 6.56)\%$ 。结论:受试制剂和参比制剂具有生物等效性。

关键词 孟鲁司特钠咀嚼片;高效液相色谱;药动学;生物等效性

中图分类号:R735.35 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)02-337-04

Study On Bioavailability of Montelukast Sodium Chewable Tablets

LI Wen-shu¹, LIU Shu-hong², SUN Bin², GUO Xiao-dong¹, WEI Zhen-man^{1△}

(1 Center of New Drug and Clinical Research, 302 Hospital of PLA, 100039, Beijing, China;

2 Department of Pathology and Hepatology, 100039, Beijing, China)

ABSTRACT Objective: To study the bioavailability in two kinds of Montelukast sodium chewable tablets. **Methods:** In a randomized crossover study, 20 healthy male volunteers were given a single oral dose of 10 mg test and reference formulations. The plasma concentration of Montelukast sodium was determined by an HPLC method. The pharmacokinetic parameters were calculated and the bioequivalence of two formulations were evaluated by DAS 2.1.1 software. **Results:** The main pharmacokinetic parameters in the test and reference preparations of cefalexin were as follow: AUC_{0-t} were $(17.94 \pm 6.19) \mu\text{g h/ml}$ and $(17.37 \pm 4.73) \mu\text{g h/ml}$, $AUC_{0-\infty}$ were $(18.26 \pm 6.16) \mu\text{g h/ml}$ and $(17.64 \pm 4.66) \mu\text{g h/ml}$, C_{max} were $(5.58 \pm 1.95) \mu\text{g/ml}$ and $(5.54 \pm 1.65) \mu\text{g/ml}$, T_{max} were $(2.03 \pm 0.97) \text{h}$ and $(1.93 \pm 0.69) \text{h}$, $t_{1/2}$ were $(1.20 \pm 0.17) \text{h}$ and $(1.19 \pm 0.13) \text{h}$. The relative bioavailability of the test tablets was $(101.5 \pm 6.56)\%$. **Conclusion:** The test and reference preparations are bioequivalent.

Key words: Montelukast sodium chewable tablets; HPLC; Pharmacokinetics; Bioequivalence

Chinese Library Classification(CLC): R735.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)02-337-04

前言

孟鲁司特具有口服吸收迅速而完全、生物利用度高、代谢完全等特点^[1-3]。研究表明,食物对孟鲁司特的长期使用无重要的临床影响,在健康成人中孟鲁司特的平均血浆清除率为 45 mL/min ^[4-6]。临床适用于成人和儿童哮喘的预防和长期治疗,其中包括预防白天和夜间的哮喘症状,治疗对阿司匹林敏感的哮喘患者以及预防运动引起的支气管收缩^[7-9]。

本文对北京信东联创生物技术有限公司研制的孟鲁斯特钠咀嚼片(受试制剂,临床批件号:2010L01931)和市售默沙东制药有限公司生产的孟鲁司特钠咀嚼片(参比制剂)进行了生物等效性试验研究,评价两种药品的质量差异,为新研制的孟鲁司特钠咀嚼片临床的合理用药提供可能依据。生物等效性试验

由中国人民解放军第 302 医院国家药物临床试验机构实施,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪,包括 G1310A 单元泵, G1313A 自动进样器和 G1321A 二极管阵列荧光检测器(美国安捷伦公司);K15 高速离心机(美国 Sigma 公司);YKH-II 型液体快速混合器(江西医疗器械厂);LIBROR L-200SM 型天平(日本岛津公司);J210 型超声振荡仪(美国 Branson 公司)。

1.2 试药与试剂

受试制剂:孟鲁司特钠咀嚼片(台湾信东生技股份有限公司研制,北京信东联创生物技术有限公司提供,规格:5mg/片,批号:6BP0882);参比制剂:孟鲁司特钠咀嚼片(顺尔宁,默沙东制药有限公司生产,规格:5mg/片,批号:09533);孟鲁司特钠对照品(台湾 Biotech 有限公司提供,批号:WS99034,纯度 98.67%);乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);磷酸二氢钠为分析

作者简介 李文淑,本科,副高级职称,主要研究方向:从事计划免疫及新药临床研究。电话:010-66933260,

E-mail: shuhongliu1210@yahoo.com.cn

△通讯作者 魏振满,主任医师, E-mail: weizhenman@sina.com

(收稿日期:2011-10-06 接受日期:2011-10-30)

纯(北京化学试剂公司) ,水为重蒸水 ,空白人血浆来自于健康受试者(中日友好医院检验科提供)。

1.3 受试者的选择

20 名男性健康志愿受试者 ,平均年龄(24 ± 3)岁(20~30 岁) ,平均身高(1.71 ± 4.68)m(1.60~1.80m) ,平均体重(63.75 ± 6.80)kg (52.0~78.0kg) , 体 质 指 数 (21.77 ± 1.80)kg/m² (18.91~24.22) ,均为汉族。试验前进行病史询问和体格检查 ,血压、肝功能、肾功、血糖、心电图、胸片检查、血常规、尿常规检查均属正常。受试者了解试验目的、意义及可能发生的不良反应后 ,签署知情同意书。本试验方案经 302 医院伦理委员会批准。

1.4 试验设计及血样采集

20 名受试者随机分为两组 ,采用单剂量双周期交叉试验 ,间隔时间为 1 周。受试者于试验前 12 h 吃清淡晚餐后禁食 ,次日分别空腹口服受试制剂或参比制剂 10mg ,用 200 mL 温开水送服。2 h 后方可饮水 ,给药 4 h 后统一进食标准餐。试验过程中 ,禁用其他药物或含咖啡因类成分的饮料 ,禁止吸烟、饮酒 ,按时休息 ,避免剧烈活动。受试者分别于给药前 0h 和给药后 0.5h、1h、1.5h、2h、2.5h、3h、3.5h、4h、5h、6h、8h、10h、12h、24h 于肘静脉取血约 3.5ml ,离心(3000rpm)5min ,收集血浆 ,立即置

-70℃ 冰箱中保存备测。间隔 1 周后交换服用另一种孟鲁司特钠咀嚼片 ,按上述方法采血、备用。

1.5 血药浓度的测定方法

1.5.1 对照品溶液配制 精确称取孟鲁司特钠对照品适量 ,加乙腈溶解 ,并稀释制成每 1ml 含 8.6 μg 的溶液 ,4℃ 避光保存备用。质量控制(QC)样本制备 取空白血浆 200 μl ,分别加入一定量的对照品溶液 ,制备孟鲁司特钠低、中、高 3 个浓度分别为 21.5、86.0、344.0 ng/ml 的 QC 样本。

1.5.2 血浆样品处理 精密吸取待处理血浆 200 μl ,置 1.5 mL 锥形离心管中 ,加乙腈 400 μl ,涡旋混匀 0.5 min ,12000 rpm 离心 10min ,取上层清液 80 μl ,进样 HPLC 分析。

1.5.3 色谱条件 色谱柱 Kromasil 100-5 C8 分析柱 ,150mm 4.6mm SN E52597 流动相 :乙腈 -0.05M NaH₂PO₄ 水溶液 (三乙胺调 pH 至 3.0)(70:30) ;流速 :1.0 mL/min ;荧光激发波长 358nm ,荧光发射波长 :400nm。

1.6 方法学考察

1.6.1 方法的特异性 在上述色谱条件下 ,血浆样品中孟鲁司特钠的保留时间为 7.6 min ,峰形和分离度良好 ,空白血浆内源性物质亦不干扰孟鲁司特钠的测定 ,方法的特异性好。详见图 1

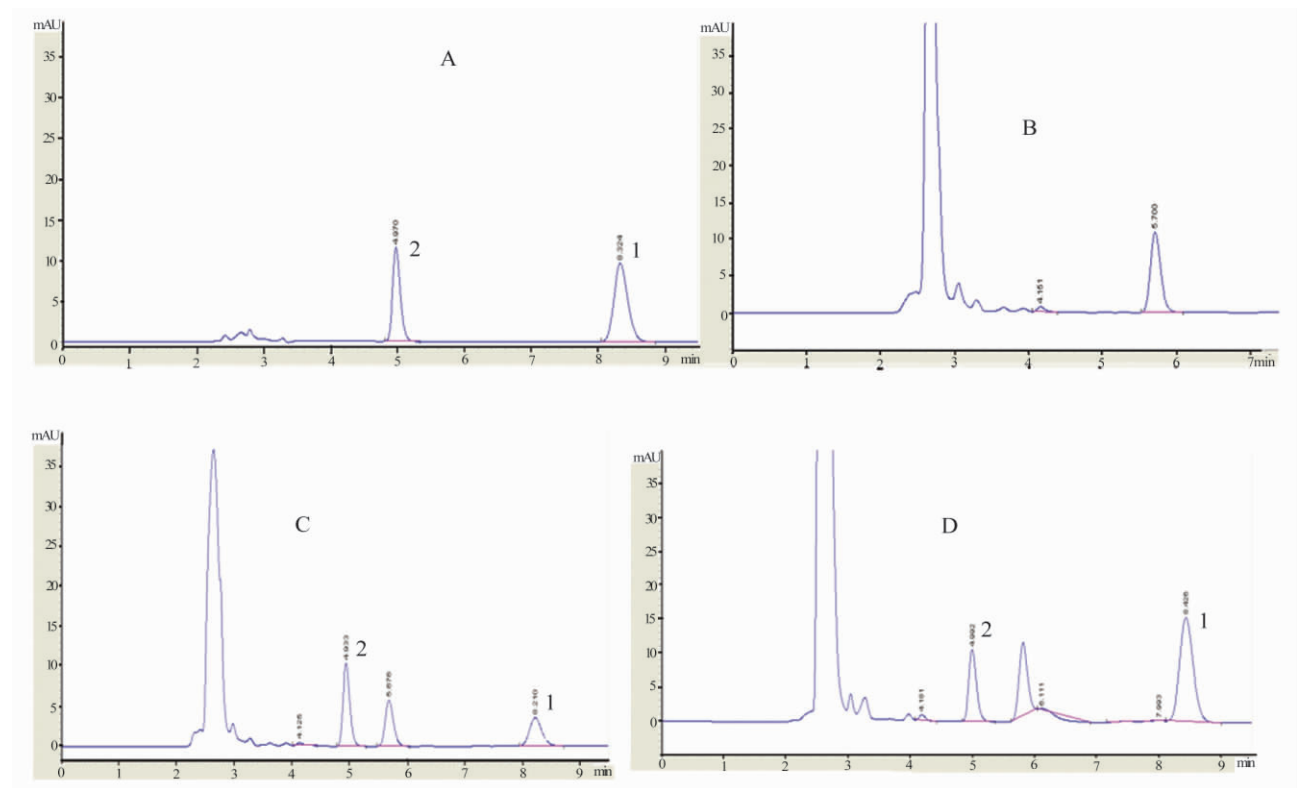


图 1 典型 HPLC 色谱图

A. 标准空白血浆 ; B. 空白血浆 + 孟鲁司特钠对照品(172.0 ng/mL) ; C. 受试者空白血浆 ; D. 受试者服药后 2 h 血浆; 1. 孟鲁司特钠

Fig. 1 HPLC Chromatogram

A. standard blank plasma; B. blank plasma + Montelukast sodium; C. subjects blank plasma; D. plasma sample at 2.0h after medication; 1 Montelukast sodium

1.6.2 线性范围与定量限 取空白血浆 200μl ,分别精密加入孟鲁司特钠对照品溶液适量 ,制成相当于孟鲁司特钠血浆浓度分为 10.75、21.5、43.0、86.0、172.0、344.0、688.0 ng/ml 的标准系列

溶液 ,按 " 血浆样品处理 " 项下方法操作 ,以血浆中孟鲁司特钠浓度为横坐标 ,孟鲁司特钠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^[4] ,计算回归方程。结果表

明, 血浆中孟鲁司特钠浓度在 10.75~688.0 ng/ml 浓度范围内, 线性关系良好, 回归方程为 $Y=0.1503x+0.0006$ $r=0.9998(n=7)$; 最低检测质量浓度为 10.75 ng/ml。

1.6.3 精密度和准确度 取孟鲁司特钠低、中、高 3 个浓度(分别为 21.5、86.0、344.0 ng·ml⁻¹)的 QC 样本各 6 份, 分别于当日及

连续 3d 内, 按 " 血浆样品处理 " 项下操作, 并按当日回归方程求出对应浓度, 以此计算其日内和日间变异。结果表明, 每一浓度水平样品的日内及日间精密度(RSD)均 <15.0%, 准确度(RE)均在± 10%以内。结果见表 1。

表 1 血浆中孟鲁司特钠的回收率与精密度试验结果
Tab. 1 Recoveries and Precision of Montelukast sodium in human plasma(x± s)

理论浓度(ng/ml)	回收率(%)	日内 RSD(%)	日间 RSD(%)
Theoretical concentration	Recovery rate(%)	RSD within day(%)	RSD between day (%)
21.5	97.9± 6.7	5.34	5.23
86.0	101.9± 7.2	3.51	5.38
344.0	97.3± 7.5	1.27	6.95

1.6.4 提取回收率试验 按 " 血浆样本处理 " 项下操作, 处理孟鲁司特钠低、中、高 3 个浓度(分别为 21.5、86.0、344.0 ng/ml)的 QC 样本, 每浓度 6 样本, 获得孟鲁司特钠的峰面积; 取空白血浆 200μl, 按 " 血浆样本处理 " 项下操作, 最后残渣复溶分别加入上述低、中、高 3 个浓度的 QC 溶液, 复溶并测定获得孟鲁司特钠的峰面积。由当日标准曲线计算各样品的浓度, 以每一浓度两种方法的测定比值, 计算其提取回收率。结果表明, 高、中、低 3 个浓度血浆样品中孟鲁司特钠的提取回收率分别为(97.3 7.5)%、(101.9 7.2)%和(97.9 6.7)%。结果见表 1。

1.6.5 稳定性考察 取孟鲁司特钠低、中、高 3 个浓度(分别为 21.5、86.0、344.0 ng/ml)的 QC 样本, 各平行 3 份, 分别考察其在 4℃ 放置、室温放置、-80℃ 冻融 5 次以及 -80℃ 长期冷冻条件下的稳定性, 以当日随行标准曲线计算血浆样品中孟鲁司特钠的浓度, 将测定浓度的平均值与理论浓度对照, 结果相对偏差 RE 均 ≤± 10%, 表明血浆样品在 4℃ 放置 31 天、室温放置 24h、-80℃ 冻融 5 次以及 -80℃ 长期冷冻放置 6 天的条件下稳定性良好。

1.6.6 未知血浆样本的测定和质量控制 按 " 血浆样本处理 " 项下操作, 分别连续测定 7 个分析批 20 名受试者单剂量双周期交叉试验不同时间点血浆样品的测定, 每个分析批制备一条工作曲线, 以同一分析批的工作曲线计算未知样本的浓度。

每个分析批随行低、中、高(分别为 21.5、86.0、344.0 ng/ml) 3 个浓度的 QC 样本。3 个浓度的 QC 样本为一组, 每个分析批测定 2 组 QC 样本(共 6 个), 均匀分布于未知样本的测定过程中, 以同一分析批的工作曲线计算 QC 样本的浓度。5 个分析批的 QC 样本测定结果总质控数为 48, 占所测样本(600)的 8.0% >5%。超限质控 5 个(斜体), 占总质控的 10.4% <33%。结果表明, 质控结果符合要求, 所测样品数据可用于两药的生物等效性统计分析。

2 结果与分析

2.1 血药浓度 - 时间曲线

20 名受试者口服单剂量受试制剂和参比制剂后血浆中孟鲁司特钠平均浓度 - 时间曲线见图 2。

2.2 药代动力学参数

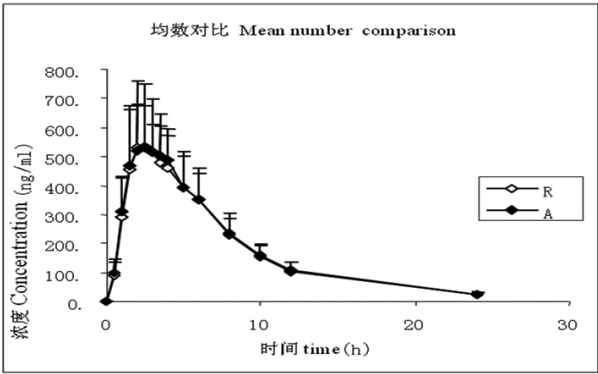


图 2 20 名受试者交叉口服单剂量受试制剂(T)和参比制剂(R)后血浆中孟鲁司特钠浓度平均浓度 - 时间曲线
Fig. 2 Mean plasma concentration- time curves of Montelukast sodium after a single oral dose of 10 mg test and reference formulations in 20 healthy volunteers

采用 DAS2.1.1 软件, 非房室模型方法计算 20 名受试者口服单剂量受试制剂和参比制剂后血浆中孟鲁司特钠的药代动力学参数。结果见表 2。

2.3 主要药动学参数统计分析

2.3.1 相对生物利用度 / 生物等效性 相对生物利用度(F)=(AUC 受试制剂 /AUC 参比制剂)*100%。

以上述公式计算 20 名受试者口服单剂量受试制剂的相对生物利用度, 受试制剂的平均相对生物利用度为 (101.5± 6.56)% (以 AUC_{0-t} 计)、(104.51± 20.01)% (以 AUC_{0-∞} 计)。

2.3.2 生物等效性统计分析 采用 DAS2.1.1 软件, 受试制剂和参比制剂的 AUC_{0-t}、AUC_{0-∞}、AUC 和 C_{max} 对数转换后进行方差分析、双向单侧 t 检验和 90%置信区间计算。方差分析, 结果表明受试制剂和参比制剂间 AUC_{0-t}、AUC_{0-∞}、C_{max} 差异无统计学意义(P>0.05); 双向单侧 t 检验, 结果表明受试制剂没有超过规定的参比制剂的高限和低限, 拒绝无效假设, 90%置信区间计算, 结果表明受试制剂均数在高方向没有大于或等于参比制剂均数的 125%(P>0.05), 在低方向也没有小于或等于参比制剂均数的 80%(P>0.05)。受试制剂和参比制剂的 T_{max} 采用非参数法检验, 结果表明受试制剂和参比制剂间 T_{max} 差异无统计学意义(P<0.05)。综合结果分析, 两药具有生物等效性。

表 2 20 名健康受试者口服单剂量孟鲁司特钠咀嚼片后的药代动力学参数($\bar{x} \pm s$, n=20)

Tab. 2 Main pharmacokinetic parameters of Montelukast sodium in 20 healthy volunteers after oral administration of Montelukast sodium chewable tablets($\bar{x} \pm s$, n=20)

参数 Parameters	受试制剂 Tested preparation	参比制剂 Reference preparation
$T_{max}(h)$	2.55± 1.06	2.85± 1.25
$C_{max}(\mu g/ml)$	624.7± 122.9	622.1± 162.7
$t_{1/2}(h)$	4.06± 0.95	4.05± 1.02
$AUC_{0-4}(\mu g \cdot h/ml)$	4415.5± 900.0	4296.8± 893.3
$AUC_{0-\infty}(\mu g \cdot h/ml)$	4533.2± 928.7	4412.1± 900.5

3 讨论

采用高效液相色谱法测定人体血浆中孟鲁司特钠的质量浓度是相关文献报道的主要分析方法^[10-11],该方法可靠,本研究采用该方法进行相关研究,方法学论证结果表明,此方法科学可靠,能够满足孟鲁司特钠咀嚼片人体药代动力学及生物等效性研究的需要。

采用 DAS2.1.1 软件生成随机表,依据受试者入组顺序将受试者随机分为 2 组,一组先服用受试制剂,一周后服用参比制剂;另一组先服用参比制剂,一周后服用受试制剂,试验方案设计科学合理。参比制剂选择了市售良好、疗效确切的默沙东制药有限公司生产孟鲁司特钠咀嚼片,具有很好的可比性。

孟鲁司特钠临床上主要用于成人和儿童哮喘病的预防和长期治疗^[12-15],其成功的仿制在保证疗效的前提下,可以有效的减少国内哮喘病患者的经济负担。本试验结果显示,受试制剂北京信东联创生物技术有限公司研制的孟鲁司特钠咀嚼片和参比制剂市售默沙东制药有限公司生产的孟鲁司特钠咀嚼片的主要药代动力学参数均无显著性差异($P>0.05$),体内吸收程度和速度相当,统计分析表明两药具有生物等效性。一定程度上为临床合理应用北京信东联创生物技术有限公司研制的孟鲁司特钠咀嚼片提供依据。

参考文献(References)

[1] Montelukast Sodium Chewable Tablets Instruction
[2] Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, et al. Clinical, Physiological and Anti-Inflammatory Effect of Montelukast in Patients with Cough Variant Asthma[J]. Respiration, 2011, Nov 17[Epub ahead of print]
[3] Visitsunthorn N, Chirdjirapong V, Santadilog S, et al. The effect of montelukast on bronchial hyperreactivity and lung function in asthmatic children aged 6-13 years [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2011, 29(2):127-133
[4] Peroni DG, Pescolliderung L, Sandri M, et al. Time-effect of montelukast on protection against exercise-induced bronchoconstriction [J]. Respir Med, 2011, 105(12):1790-1797

[5] Amlani S, Nadarajah T, McIvor RA. Montelukast for the treatment of asthma in the adult population [J]. Expert Opin Pharmacother, 2011,12(13):2119-2128
[6] Castanedo-Tardan MP, González ME, Connelly EA, et al. Systematized contact dermatitis and montelukast in an atopic boy[J]. Pediatr Dermatol, 2009,26(6):739-743
[7] Yazıcı ZM, Sayın I, Bozkurt E, et al. Effect of montelukast on quality of life in subjects with nasal polyposis accompanying bronchial asthma[J]. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg, 2011 ,21(4):210-214
[8] Papadopoulos NG, Philip G, Giezek H, et al. The efficacy of montelukast during the allergy season in pediatric patients with persistent asthma and seasonal aeroallergen sensitivity [J]. J Asthma, 2009,46 (4):413-20
[9] Al Omari MM, Zoubi RM, Hasan EI, et al. Effect of light and heat on the stability of montelukast in solution and in its solid state [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007,45(3):465-471
[10] De Benedictis FM, del Giudice MM, Forenza N, et al. Lack of tolerance to the protective effect of montelukast in exercise-induced bronchoconstriction in children[J]. Eur Respir J, 2006 ,28(2):291-295
[11] Alsarra I, Khalil NY, Sultan M,et al. Spectrofluorometric determination of montelukast in dosage forms and spiked human plasma [J]. Pharmazie, 2005 , 60(11):823-826
[12] Bisgaard H. Study Group on Montelukast and Respiratory Syncytial Virus. A randomized trial of montelukast in respiratory syncytial virus postbronchiolitis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003 ,1, 167(3): 379-383
[13] Hoang TH, Farkas R, Wells C, et al. Application of pressurized liquid extraction technology to pharmaceutical solid dosage form analysis [J]. J Chromatogr A, 2002,968(1-2):257-261
[14] Knorr B, Franchi LM, Bisgaard H, et al. Montelukast, a leukotriene receptor antagonist, for the treatment of persistent asthma in children aged 2 to 5 years[J]. Pediatrics, 2001,108(3):E48
[15] Knorr B, Holland S, Rogers JD, et al. Montelukast adult (10-mg film-coated tablet) and pediatric (5-mg chewable tablet) dose selections[J]. J Allergy Clin Immunol, 2000 , 106(3 Suppl):S171-178