

文章编号: (2009)03-0127-08

利培酮渗透泵片在 Beagle 犬体内的药动学

吴小伟¹, 苏昕¹, 梅兴国²

(1. 沈阳药科大学 生命科学与生物制药学院, 辽宁 沈阳 110016 ; 2. 军事医学科学院 毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: **目的** 液相色谱-质谱联用方法测定 Beagle 犬血浆中利培酮及其代谢产物 9-羟基利培酮的浓度并进行 Beagle 犬体内的药动学研究。**方法** 以甲基利培酮为内标, 测定血浆中利培酮及其代谢产物 9-羟基利培酮的浓度。液相分析柱: Agilent Zorbax SB- C₁₈ (2.1 mm×30 mm, 3.5 μm), 流动相: 乙腈-水-甲酸 (体积比为 60.0 40.0 0.1), 流速: 0.4 mL·min⁻¹, 柱温: 25。质谱: ESI 正离子模式, 干燥气流速: 9 L·min⁻¹, 干燥气温度: 350, 毛细管电压: 4 000 V, 裂解电压: 160 V, 以选择离子反应监测 (SRM) 方式进行检测。**结果** 利培酮与 9-羟基利培酮的定量限均为 1 μg·L⁻¹, 提取回收率均大于 86%; 利培酮渗透泵片和普通片血浆中利培酮的 *t*_{1/2} 分别为 (1.83±0.61) 和 (0.76±0.19) h, *ρ*_{max} 分别为 (31.37±7.68) 和 (179.20±28.91) nmol·L⁻¹; *t*_{max} 分别为 (3.67±0.52) 和 (0.71±0.10) h。9-羟基利培酮的 *t*_{1/2} 分别为 (9.92±1.75) 和 (5.07±0.96) h, *ρ*_{max} 分别为 (201.65±14.61) 和 (470.25±69.61) nmol·L⁻¹, *t*_{max} 分别为 (9.17±0.41) 和 (0.71±0.10) h, 利培酮和 9-羟基利培酮的相对生物利用度分别为 (89.74±21.79)% 和 (98.80±16.51)%。**结论** 利培酮渗透泵片血药浓度平稳, 可较长时间保持血药浓度。

关键词: 药剂学; 利培酮; 9-羟基利培酮; 液相色谱-质谱联用; 渗透泵片

利培酮 (risperidone, RSP) 为苯并异噁唑类抗精神分裂药物, 是选择性的单胺能拮抗剂, 对多巴胺 D₂ 受体和 5-HT₂ 受体都具有很强的拮抗作用, 主要用于精神分裂及精神疾病的治疗。在对精神病人的临床试验表明利培酮可有效治疗精神病的阳性、阴性症状, 减轻与精神分裂症相关的情感症状^[1-3]。口服给药后, 利培酮在胃肠道内吸收迅速、完全, 主要活性代谢产物为 9-羟基利培酮 (9-hydroxyrisperidone, 9-OH-RSP), 该代谢产物与利培酮具有相似的药理活性, 二者共同构成抗精神病的活性成分^[4]。

本文作者采用液相色谱-质谱联用方法对自制的利培酮渗透泵片进行了 Beagle 犬体内的药动学研究, 以利培酮普通片作为对照, 计算相应的药动学参数, 并对利培酮渗透泵片的生物利用度作出评价。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 系列高效液相色谱仪 (美国 Agilent Technologies 公司), Agilent 6410 Triple Quad LC/MS 质谱仪 (美国 Agilent Technologies 公司), QL-901 旋涡混合器 (江苏海门市麒麟医用仪器厂), Sigma 3K15 高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司)。

利培酮渗透泵片 (自制, 4 mg, 批号 20071221), 维思通 (利培酮片, 2 mg, 西安杨森制药有限公司), 利培酮对照品 (纯度质量分数 > 98.5%, RSP) 9-羟基利培酮对照品 (纯度质量分数 > 98.0%, 9-OH-RSP) 甲基利培酮对照品 (内标, 纯度质量分数 > 98.0%, MRSP) (北京高博医药化学技术有限公司), 乙腈和水 (美国 Honeywell 公司), 其余试剂为分析纯。

健康 Beagle 犬 6 只 (军事医学科学院动物实验中心, 合格证号: [SCXK-(军)2007-017], 雄性, 质量 (10.6 ± 1.3) kg。

收稿日期: 2008-07-04

作者简介: 吴小伟 (1982-), 男 (汉族), 内蒙古赤峰人, 硕士研究生, E-mail dfbb2008@yahoo.cn; 苏昕 (1966-), 女 (汉族), 辽宁沈阳人, 副教授, 从事微生物教学与科研工作, Tel 024-23986400, E-mail suxin1966@163.com。

2 生物样品测定方法

2.1 色谱条件

分析柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈(2.1 mm×30 mm, 3.5 μm), 流动相: 乙腈-水-甲酸(体积比为60.0:40.0:0.1), 流速: 0.4 mL·min⁻¹, 柱温: 25℃, 进样量: 10 μL。

2.2 质谱条件

ESI正离子模式, 干燥气流速: 9 L·min⁻¹, 干燥气温度: 350℃, 雾化气压力: 206.85 kPa, 毛细管电压: 4 000 V, 裂解电压: 160 V, 通过电喷雾电离源(ESI), 以选择离子反应监测(SRM)方式进行检测: m/z 411.2 m/z 191.2(RSP)、 m/z 427.0 m/z 207.0(9-OH-RSP)和 m/z 425.3 205.2(MRSP)。

2.3 血浆样品处理

取血浆 100 μL, 加入甲基利培酮内标溶液(20 μg·L⁻¹) 10 μL, 涡旋混合 30 s, 加入乙腈 250 μL, 涡旋混合 2.5 min, 4℃ 14 000 r·min⁻¹离心 5 min, 取上清液进样 10 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

2.4 方法专属性

利培酮、9-羟基利培酮及内标甲基利培酮的特征离子图谱见图 1。在色谱质谱条件下测得空白血浆、空白血浆加对照品及内标和受试动物给药后 2 h 的血浆色谱图见图 2。由图 2 可见, 通过选择离子监测, 血浆中内源性杂质不干扰药物、活性代谢产物及其内标物的测定。

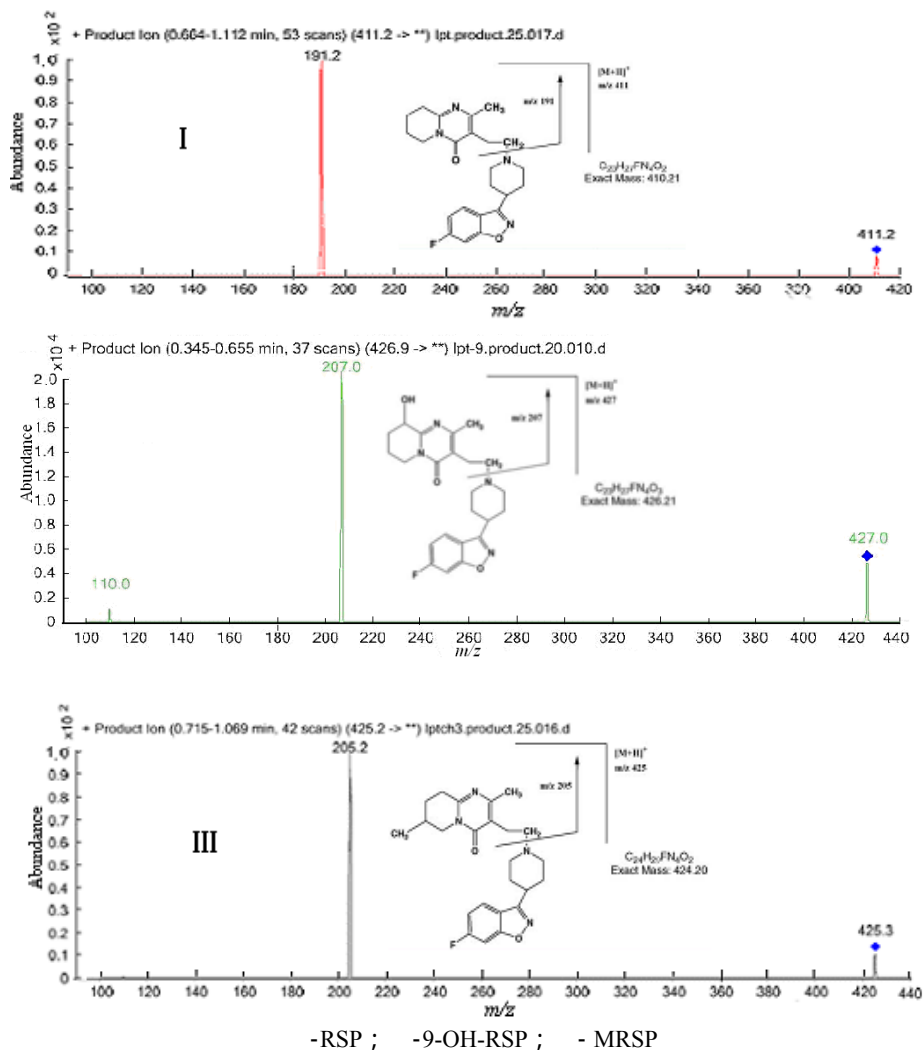
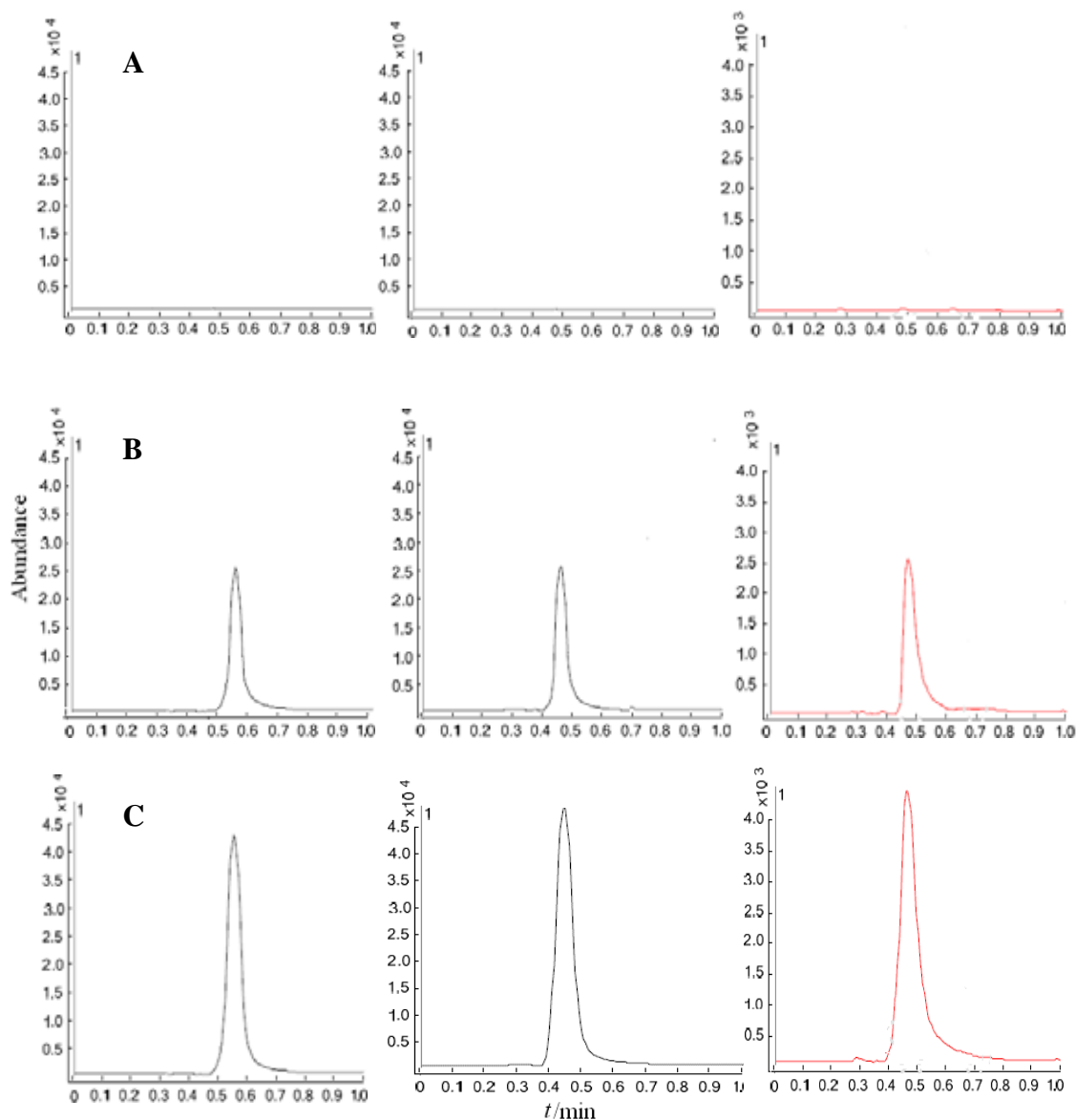


Fig.1 ESI product ion mass spectra for the precursor ions



A-Blank plasma of dog ; B- Blank plasma with standard ; C-Beagle dog plasma at 2 h after oral administration ;

-RSP (m/z 411.2 \rightarrow m/z 191.2) ; -9-OH-RSP(m/z 427.0 \rightarrow m/z 207.0) ; -MRSP (m/z 425.3 \rightarrow m/z 205.2)

Fig.2 Chromatography of risperidone and 9-hydroxyrisperidone

2.5 标准曲线和定量下限

取空白血浆100 μL ，加利培酮及9-羟基利培酮标准系列溶液10 μL ，配制成相当于质量浓度为1、2、5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的模拟血浆样品，照“2.3”条方法操作，进样10 μL ，记录色谱图。以血浆样品中待测物质量浓度 ρ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标，待测物与内标物的峰面积之比(A)为纵坐标，进行加权回归，得回归方程，利培酮： $A=0.029\ 0\rho+0.006\ 7$ ， $r=0.999\ 8$ ；9-羟基利培酮： $A=0.008\ 0\rho+0.006\ 9$ ， $r=0.999\ 6$ ；权重系数 $w=1/\rho^2$ ；表明在1.0~200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内二者线性关系良好，最低定量限均为1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.6 方法精密度与准确度

取空白血浆100 μL ，照“2.5”条方法制备低、中、高3个质量浓度（分别为2、20、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ）

的质量控制(QC)样品和随行标准曲线, 每批各5个样品, 连续测定3批(分别于3 d内完成)。用随行的标准曲线计算各批的测得质量浓度, 求得本法的精密度, 并与制备质量浓度比较求得方法的准确度, 结果显示精密度与准确度均符合样品测定要求(见表1)。

Table 1 The precision and accuracy of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma ($n=5, \bar{x} \pm s$)

Analyte	$\rho(\text{conc.added})/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Relative recovery/%	RSD/%	
			Intra-day	Inter-day
Risperidone	2	104.21 \pm 5.84	7.98	3.84
	20	98.15 \pm 4.56	1.58	0.47
	100	99.68 \pm 3.51	0.55	3.15
9-Hydroxyrisperidone	2	103.58 \pm 5.14	5.98	2.99
	20	97.08 \pm 5.52	3.22	1.89
	100	98.11 \pm 5.55	1.29	5.24

2.7 提取回收率及样品稳定性

取空白血浆100 μL , 按“2.5”条方法分别配制低、中、高3个质量浓度(分别为2、20、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的QC样品, 并与相应质量浓度的未经处理的溶液比较, 计算方法的提取回收率, 结果见表2。

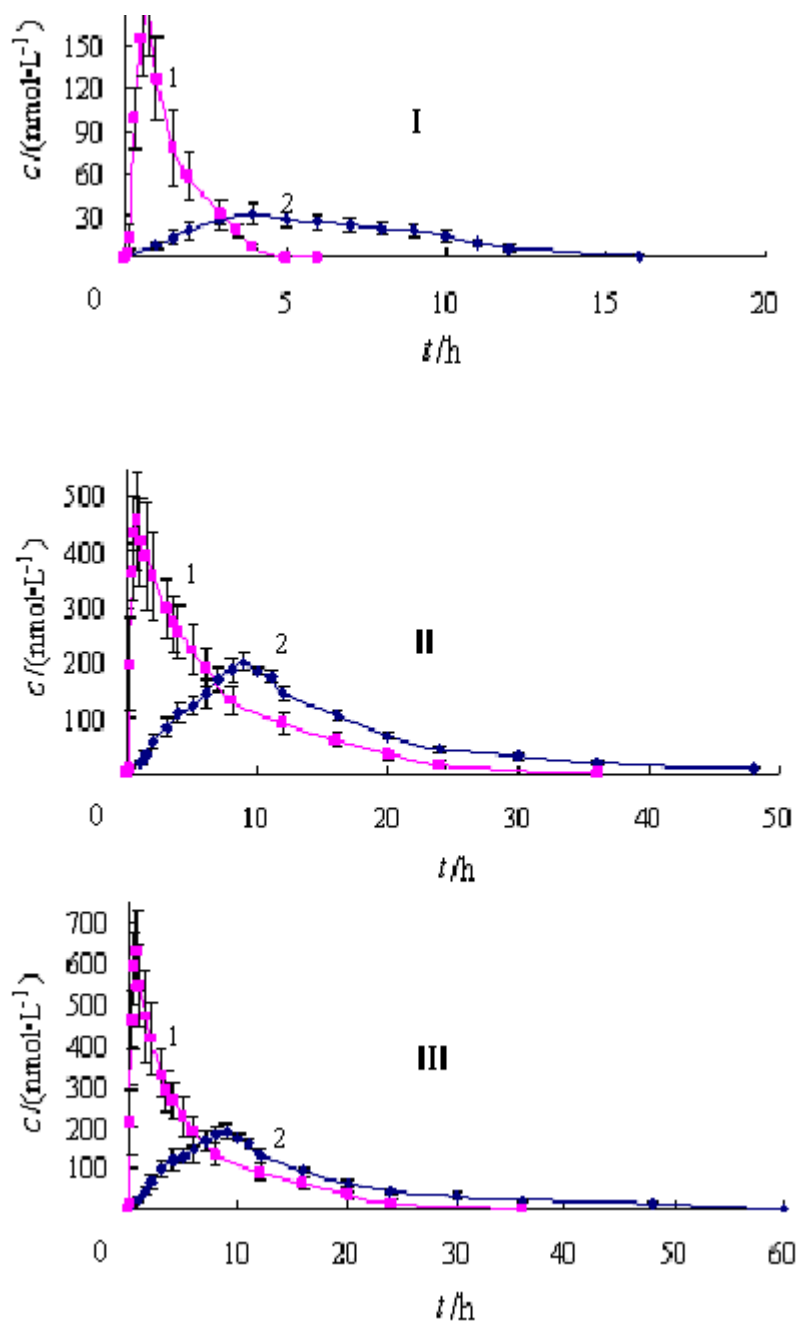
Table 2 Recovery of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma($n=5, \bar{x} \pm s$)

$\rho(\text{conc.added})/$ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Risperidone		9-Hydroxyrisperidone	
	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
2	88.08 \pm 4.55	5.16	86.18 \pm 5.33	6.18
20	95.31 \pm 3.70	3.88	93.25 \pm 4.10	4.39
100	98.40 \pm 3.48	3.54	97.56 \pm 4.20	4.31

已有文献[5]报道, 利培酮血浆样品在-20 $^{\circ}\text{C}$ 长期冷冻放置9个月及室温放置72 h稳定, 经历3次冻融后稳定。本试验根据测定需要考察了低、中、高3个质量浓度(分别为2、20、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的QC样品在室温条件下放置24 h及冻融2次的稳定性。低、中、高3个质量浓度在室温放置24 h: 利培酮的RSD分别为4.07%、2.23%、1.54%; 9-羟基利培酮的RSD分别为3.11%、1.96%、1.12%。冻融2次: 利培酮的RSD分别为5.18%、4.43%、1.35%; 9-羟基利培酮的RSD分别为4.16%、3.14%、1.03%。结果表明, 样品在室温放置24 h及冻融2次条件下稳定, 可满足测定要求。

2.8 利培酮渗透泵片及利培酮普通片体内血药浓度

6只Beagle犬单剂量口服利培酮渗透泵片和利培酮普通片后各时间点血药浓度的平均值与时间的关系见图3。



1-Reference formulation; 2-Test formulation ; -RSP; -9-OH-RSP; -Active moiety(RSP+9-OH-RSP)

Fig.3 Mean plasma concentration-time curve of 6 healthy beagle dogs after oral administration of the test or reference formulation

2.9 主要药动学参数

由测得的血药浓度数据，利用专业软件DASver.2.0进行药动学参数的计算，结果见表3。

Table 3 Pharmacokinetic parameters after a single dose of tested and reference formulation ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Tested	Reference
Risperidone		
$\rho_{\max}/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$	31.37±7.68	179.20±28.91
t_{\max}/h	3.67±0.52	0.71±0.10
$t_{1/2}/\text{h}$	1.83±0.61	0.76±0.19
$\text{AUC}_{(0-t)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	236.64±48.56	270.50±57.75
$\text{AUC}_{(0-\infty)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	247.00±49.19	282.81±59.43
$\text{MRT}_{(0-t)}/\text{h}$	5.96±0.51	1.33±0.03
$\text{MRT}_{(0-\infty)}/\text{h}$	6.31±0.56	1.44±0.06
$F/\%$	89.74±21.79	
9-Hydroxyrisperidone		
$\rho_{\max}/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$	201.65±14.69	470.25±69.61
t_{\max}/h	9.17±0.41	0.71±0.10
$t_{1/2}/\text{h}$	9.92±1.75	5.07±0.96
$\text{AUC}_{(0-t)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 182.71±293.05	3 222.50±390.61
$\text{AUC}_{(0-\infty)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 308.12±331.74	3 396.36±401.43
$\text{MRT}_{(0-t)}/\text{h}$	14.98±0.20	6.43±0.54
$\text{MRT}_{(0-\infty)}/\text{h}$	16.87±0.67	7.54±0.55
$F/\%$	98.80±16.51	
Active moiety		
$\rho_{\max}/(\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1})$	225.35±17.17	623.10±91.54
t_{\max}/h	9.00±0.63	0.71±0.10
$t_{1/2}/\text{h}$	9.92±1.75	5.07±0.97
$\text{AUC}_{(0-t)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 487.68±341.15	3 553.16±435.99
$\text{AUC}_{(0-\infty)}/(\text{nmol}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1})$	3 615.47±381.42	3 730.34±452.06
$\text{MRT}_{(0-t)}/\text{h}$	14.39±0.25	6.04±0.51
$\text{MRT}_{(0-\infty)}/\text{h}$	16.17±0.59	7.08±0.47
$F/\%$	98.31±16.33	

3 讨论

a. 本文作者参照有关文献[6-7], 采用LC-MS/MS测定血浆中利培酮及其活性代谢产物9-羟基利培酮的含量, 样品仅需乙腈沉淀后, 即可进样测定, 方法学考察表明操作方法简便可行, 省时省力。由于采用二级质谱测定, 可消除血浆中其它杂质的干扰, 方法灵敏度符合实验要求, 最低定量限为

$1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

b. 目前临床常用的利培酮普通片血药质量浓度波动较大，容易产生较强的副反应，制成渗透泵控释制剂后，可明显延长药物的作用时间，避免产生较大的血药浓度波动。实验结果表明渗透泵片的血药质量浓度平稳， ρ_{max} 明显低于普通制剂， t_{max} 明显增长， $t_{1/2}$ 明显延长，而生物利用度与普通片相当。

c. 利培酮在体内经肝中CYP2D6酶的羟化作用很快被代谢为9-羟基利培酮，该代谢产物与利培酮具有相似的药理活性。本文作者参照国外实验将二者血药质量浓度加和起来分析将更有临床意义，因二者共同构成抗精神病的活性成分。

参考文献：

- [1] PEUSKENS J, VAN BAELEN B, DE SMEDT C, et al. Effects of risperidone on affective symptoms in patients with schizophrenia[J]. *Int Clin Psychopharmacol*, 2000, 15(6): 343-349.
- [2] CONLEY RR, MAHMOUD R. A randomized double-blind study of risperidone and olanzapine in the treatment of schizophrenia or schizoaffective disorder[J]. *Am J Psychiatry*, 2001, 158(5): 765-774.
- [3] CSERNANSKY JG, MAHMOUD R, BRENNER R, et al. A comparison of risperidone and haloperidol for the prevention of relapse in patients with schizophrenia[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(1): 16-22.
- [4] HE H, RICHARDSON JS. A pharmacological, pharmacokinetic and clinical overview of risperidone, a new antipsychotic that blocks serotonin 5-HT₂ and dopamine D₂ receptors[J]. *Int Clin Psychopharmacol*, 1995, 10(1): 19-30.
- [5] LLERENA A, BEREZ R, DORADO P, et al. Determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma by liquid chromatography. Application to the evaluation of CYP2D6 drug interactions[J]. *J Chromatogr B*, 2003, 783(1): 213-219.
- [6] BHATT J, SUBBAIAH G, SINGH S. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of risperidone and its active metabolite 9-hydroxyrisperidone in human plasma[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(14): 2109-2114.
- [7] FLARAKOS J, LUO W, AMAN M, et al. Quantification of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma and saliva from adult and pediatric patients by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1026(1-2): 175-183.

Pharmacokinetics of risperidone osmotic pump tablet in Beagle dogs

WU Xiao-wei¹, SU Xin¹, MEI Xing-guo²

(1.School of Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2.Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Objective To measure risperidone (RSP) and its active metabolite 9-hydroxyrisperidone (9-OH-RSP) in Beagle dog plasma with a LC/MS/MS method and investigate the pharmacokinetics in Beagle dogs. **Methods** Methyl risperidone (MRSP) was used as the internal standard for RSP and 9-OH-RSP. The analytical column was Agilent Zorbax SB-C₁₈(2.1 mm×30 mm,3.5 μm). A mobile phase consisting of acetonitrile and 1% formic acid ($V/V=60:40$) was delivered at a flow rate of 0.4 mL·min⁻¹. The column temperature was 25 °C. Mass spectra was equipped with an electrospray ionization (ESI) source in the positive ion mode. The drying gas flow rate was 9 L·min⁻¹ and the temperature was 350 °C, capillary voltage was 4 000 V, clearance voltage was 160V. The mass spectrometer was operated in the selected reaction monitoring(SRM) mode. **Results** The limits of quantitation for both RSP and 9-OH-RSP were 1 μg·L⁻¹, the extraction recovery was more than 86% for both substance ; The main pharmacokinetic parameters of the two risperidone preparations, the osmotic pump tablets and the reference tablets, were as follows: $t_{1/2}$ (1.83±0.61) and (0.76±0.19) h ; ρ_{\max} (31.37±7.68) and (179.20±28.91) nmol·L⁻¹; t_{\max} (3.67±0.52) and (0.71±0.10) h, respectively. The main pharmacokinetic parameters of 9-hydroxyrisperidone of the two preparations were as follows: $t_{1/2}$ (9.92±1.75) and (5.07±0.96) h ; ρ_{\max} (201.65±14.61)和(470.25±69.61) nmol·L⁻¹; t_{\max} (9.17±0.41) and (0.71±0.10) h, respectively. The relative bioavailability of risperidone and 9-hydroxyrisperidone were (89.74±21.79)% and (98.80±16.51)%, respectively. **Conclusion** Plasma concentration of risperidone osmotic pump tablets are constant and effective plasma drug concentration can be maintained for a long time.

Key words: pharmaceutics; risperidone; 9-hydroxyrisperidone; LC/MS/MS; osmotic pump tablet

(责任编辑 曹霞)