

盐酸多奈哌齐胶囊及片剂的人体生物等效性研究

郝歆愚¹, 丁黎^{1*}, 李丽敏², 卞晓洁¹, 张胜强¹

(1. 中国药科大学 药物分析教研室, 江苏 南京 210009;

2. 南京医科大学 基础医学院临床药理研究所, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 建立人血浆中盐酸多奈哌齐的 HPLC-MS (quadrupole) 测定方法, 研究盐酸多奈哌齐在正常人体内的药代动力学行为, 评价其两种制剂的生物等效性。方法 人体实验采用双交叉设计, 20 名健康受试者交叉口服国产盐酸多奈哌齐胶囊和进口片剂, 服药后 0.5 - 192 h 内间隔取血。血样加入内标(盐酸非洛普)经预处理后用 HPLC-MS (quadrupole) 法测定, 检测离子为 m/z 380 (多奈哌齐)、 m/z 344 (内标), 裂解电压为 120 V。计算主要药动学参数, 并以片剂为参比制剂, 估算国产胶囊的相对生物利用度, 判断生物等效性。结果 国产及进口盐酸多奈哌齐制剂的生物半衰期分别为 (63 ± 10) h 和 (57 ± 9) h, 达峰时间分别为 (3.3 ± 0.4) h 和 (3.4 ± 1.0) h, 峰浓度分别为 (8.5 ± 0.4) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 (8.1 ± 1.0) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以进口制剂为对照, 用 AUC_{0-192} 计算的国产胶囊相对生物利用度为 102% ± 11%。结论 本实验建立的分析方法灵敏、准确、简便, 统计学结果表明两种制剂生物等效。

关键词: 多奈哌齐; 药代动力学; 生物等效性; 高效液相色谱-质谱联用

中图分类号: R917.1.01 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2003)05 - 0392 - 03

Bioequivalence of donepezil capsule and tablet in human

HAO Xin-yu¹, DING Li^{1*}, LI Li-ming², BIAN Xiao-jie¹, ZHANG Sheng-qi-ang¹

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Clinic Pharmacology Institute, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: **Aim** To develop an HPLC-MS assay for determination of donepezil in human plasma and to investigate the pharmacokinetics and bioequivalence of donepezil capsule in healthy volunteers. **Methods** A randomized crossover design was performed in 20 healthy volunteers. In the two study periods, a single 5 mg dose of either capsule or tablet was administered to each volunteer. After spiked with the internal standard (phenoprolamine) and treated with saturated sodium bicarbonate, plasma was extracted with ethyl acetate and separated with a C_{18} reversed phase column. LC-ESIMS was used in the selected ion monitoring (SIM) mode with target ions at m/z 380 for donepezil and m/z 344 for phenoprolamine. The fragmentor voltage was 120 V. The main pharmacokinetic parameters of donepezil and the bioequivalence of its two preparations were calculated. **Results** The main pharmacokinetic parameters $T_{1/2}$, T_{max} and C_{max} were (63 ± 10) h, (3.3 ± 0.4) h and (8.5 ± 0.4) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for the capsule; (57 ± 9) h, (3.4 ± 1.0) h and (8.1 ± 1.0) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for the tablet, respectively. The relative bioavailability of the donepezil capsule was 102% ± 11%. **Conclusion** The assay was shown to be sensitive, accurate and convenient. The two preparations of donepezil were bioequivalent.

Key words: donepezil; pharmacokinetics; bioequivalence; HPLC-MS

盐酸多奈哌齐 (donepezil hydrochloride) 为可逆性乙酰胆碱酯酶抑制剂 (AChEI), 与他克林相比具有

选择性高, 药效强, 安全性和耐受性好的特点, 临床用于阿尔茨海默症 (senile dementia of Alzheimer type) 的治疗。本文建立了盐酸多奈哌齐的 HPLC-MS 测定法, 最低定量限为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与文献^[1-3]报道的测定方法相比, 该法简便、快速、灵敏, 适用于盐酸

多奈哌齐的临床监控、药代动力学和生物利用度研究。对 20 名健康受试者口服国产盐酸多奈哌齐胶囊和进口盐酸多奈哌齐片(商品名:安理申)后的体内过程进行了研究,计算主要药动学参数,为临床用药提供参考。以安理申片为参比制剂,以血药浓度-时间曲线下面积 AUC_{0-192} 计算国产胶囊的相对生物利用度为 $102\% \pm 11\%$ 。统计学结果表明两种制剂生物等效。

材料与方 法

仪器与试药 高效液相色谱及质谱联用系统: Agilent 1100 型液相色谱-质谱联用仪,安捷伦化学工作站(美国安捷伦公司)。盐酸多奈哌齐对照品(南京晟翔医药化工研究所);盐酸非洛普对照品(phenoprolamine hydrochloride,内标,中国药科大学有机化学教研室);盐酸多奈哌齐胶囊(南京晟翔医药化工研究所及贵州圣济堂制药有限公司,批号:990418,规格:5 mg/粒,以下简称国产胶囊);安理申(盐酸多奈哌齐片,日本卫材苏州分公司,批号:19002,规格:5 mg/片,以下简称进口片剂);甲醇(HPLC级,美国 Tedia);三重蒸馏水;其余试剂均为分析纯。

实验设计 20 名健康男性受试者,体重(65 ± 7) kg,年龄 19~23 岁,经生化检验证实肝、肾功能正常,心电图检查正常,精神状态良好。实验前一周及实验期间未用其他任何药物,禁烟酒,实验期间统一饮食。

采用随机双交叉试验设计方案,即 20 名男性受试者,按体重随机分成甲、乙两组,随机一组先口服国产胶囊,另一组先口服进口片剂,剂量均为 5 mg。服药方式:于早晨 7 时空腹服药,用温开水 200 mL 送服,服药 4 h 后统一进食。于服药前及服药后 0.5,1,2,3,4,6,8,12,24,48,96,144 和 192 h 各采血 4 mL 于肝素化试管中,分离出血浆,-16 °C 保存待测。间隔 3 周进行交叉试验。

分析方法 取血浆样品 1 mL 置离心管中,加内标溶液 50 μ L,以饱和 NaHCO_3 溶液 1 mL 碱化,乙酸乙酯 5 mL 提取,于 4 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min。分取有机相,于 50 °C 水浴中以氮气流吹干。残渣用流动相 100 μ L 溶解,16 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,吸取上清液转移至自动进样器样品管中,样品以 HPLC-MS 进行分离分析,采用 Hypersil ODS 色谱柱(5 μ m, 250 mm \times 4.6 mm ID, JONES Chromatography, US),甲醇-水

-三乙胺-冰醋酸(70:30:0.3:0.3)为流动相;以质谱(离子化方式:电喷雾;质量分析器:四极杆)作为检测手段,采用选择离子检测方式(SIM)分别在 m/z 380 和 m/z 344 对多奈哌齐和内标进行检测。以多奈哌齐和内标的峰面积比值代入标准曲线计算血浆样品浓度。

本法的最低定量限为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,提取回收率为 87.52%~90.91%,0.2,2 和 20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 日间 RSD 分别为 9.84%,3.53%和 2.10%。

药代动力学数据计算及统计分析

实验测定的是盐酸多奈哌齐胶囊(T)的相对生物利用度,以日本卫材苏州分公司生产的安理申片(S)为标准对照。相对生物利用度计算公式为:

$$F = \frac{D_S \times AUC_{(0-\infty)T}}{D_T \times AUC_{(0-\infty)S}} \times 100\% \quad (1)$$

D 为给药剂量。

所得参数 AUC 、 C_{\max} 进行自然对数转换后先用双交叉实验设计的方差分析,再用双向单侧 t 检验进行生物等效性评价。

参数 T_{\max} 采用非参数检验法进行统计。

若 AUC 和 C_{\max} 均生物等效, T_{\max} 经非参数法检验无差异,则认定受试制剂与参比制剂生物等效。

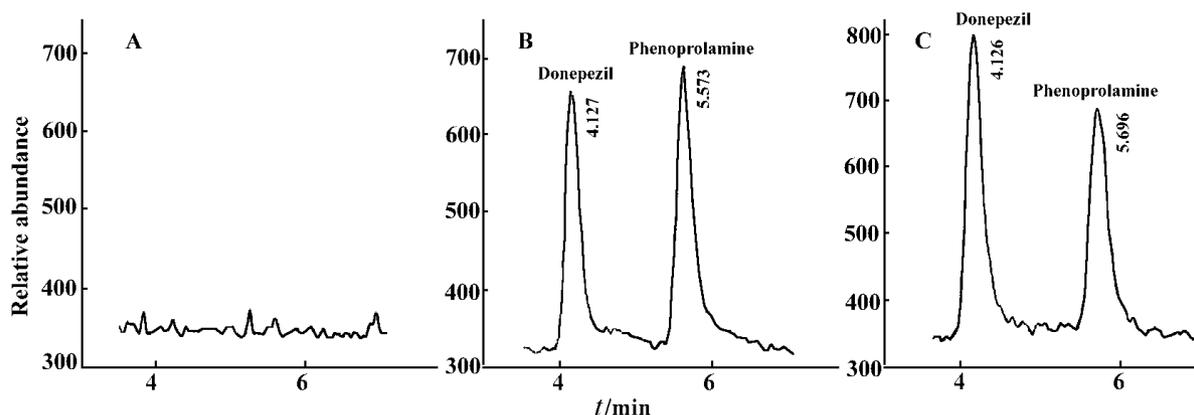
结果与讨论

1 色谱行为

在本实验所采用的色谱条件下,多奈哌齐出峰时间在 4.1 min 左右,内标出峰时间在 5.6 min 左右(图 1)。多奈哌齐和内标峰形良好,无杂峰干扰测定,基线平稳。

2 药代动力学研究

采用中国药科大学药代中心编写的 BAPP2.0 软件计算 20 名健康受试者口服两种盐酸多奈哌齐制剂后的主要药动学参数,结果见表 1。国产胶囊及进口片剂给药后的平均血药浓度-时间曲线见图 2。以进口片剂为参比制剂,用(1)式算得国产胶囊的相对生物利用度为 $102\% \pm 11\%$ 。用双单侧 t 检验分析两制剂的 C_{\max} 和 AUC_{0-192} ,高、低侧 t 检验均有显著性差异($P < 0.05$), $1-2\alpha$ ($\alpha = 0.05$) 置信区间分别为 $100.73\% \sim 109.22\%$ 和 $97.79\% \sim 105.41\%$,表明两制剂的 C_{\max} 和 AUC_{0-192} 均生物等效($\alpha = 0.05$)。 T_{\max} 非参数检验结果(Wilcoxon 方法)表明 $S = 12 > S_{0.05}(7) = 2$, $P > 0.05$,受试制剂与参比制剂无显著性差异。以上结果表明两制剂生物等效。



A: Blank plasma ; B: Plasma spiked with donepezil and phenoprolamine ; C: Plasma obtained from a volunteer after oral administration of a 5 mg dose of donepezil

Figure 1 Typical chromatograms

Table 1 Pharmacokinetic parameters of the two preparations of donepezil following a single 5 mg oral dose ($\bar{x} \pm s$)

Preparation	C_{max} / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	T_{max} / h	$T_{1/2}$ / h	MRT / h	AUC_{0-192} / $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	$AUC_{0-\infty}$ / $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	(V/F) / L	(Cl/F) / $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$
Tablet	8.1 ± 1.0	3.4 ± 1.0	57 ± 9	76 ± 11	361 ± 75	400 ± 86	1072 ± 239	13.1 ± 2.8
Capsule	8.5 ± 0.4	3.3 ± 0.4	63 ± 10	80 ± 14	368 ± 86	413 ± 106	1148 ± 305	13 ± 3

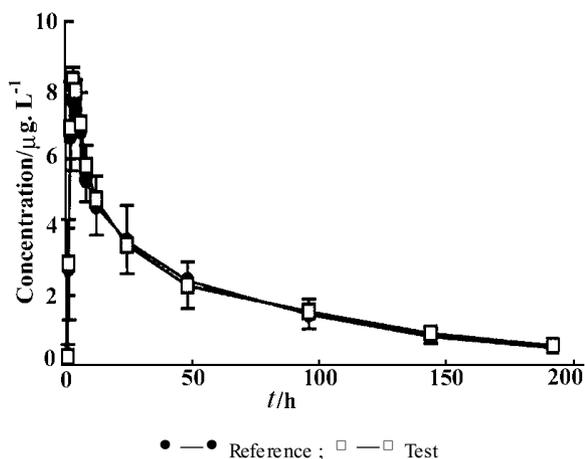


Figure 2 Plasma concentration-time relationships of donepezil observed after administration of a single 5 mg dose in 20 human volunteers ($\bar{x} \pm s$)

References :

[1] Kenji M, Yoshiya O, Hiroshi O, *et al.* Direct determination of E2020 enantiomers in plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and column-switching techniques [J]. *J Chromatogr A*, 1995, **694**(1) :209 - 218 .
 [2] Akihiro O, Mitsuo M, Hirotohi K, *et al.* Comparison of the pharmacokinetics of E2020 , a new compound for alzheimer's disease, in healthy young and elderly subjects [J]. *J Clin Pharmacol*, 1993, **33**(11) :1086 - 1091 .
 [3] Lu YH, Wen HM, Li W, *et al.* Determination of donepezil in human plasma by HPLC-MS [J]. *Acta Pharm Sin*(药 学 学 报), 2003, **38**(3) :203 - 206 .