

· 新药临床试验 ·

盐酸帕洛诺司琼注射液在健康受试者体内的
药代动力学研究朱仲玲^① 佟仲生^① 司端运^② 董伟林^③ 阎昭^①

摘要 目的:评价盐酸帕洛诺司琼注射液在健康受试者体内的药动学特征。**方法:**31例健康受试者分成3组,单次静脉注射盐酸帕洛诺司琼剂量分别为0.125,0.25和0.5 mg。采用超高效液相-串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定人血浆中帕洛诺司琼浓度,采用DAS 2.1药动学软件进行药动学参数的分析和计算。**结果:**单剂量静脉注射0.125,0.25和0.5 mg的盐酸帕洛诺司琼注射液后,AUC_{0-168h}分别为(7.5±2.5)、(15.2±4.0)、(34.8±9.7) μg·h·mL⁻¹;消除半衰期 $t_{1/2}$ 分别为(27.2±9.5)、(27.2±6.5)、(31.4±5.6)h。AUC_{0-168h}与剂量呈正相关,相关系数为0.998。受试者在研究期间未发生重度以上不良事件。**结论:**本研究建立的检测方法简单、快速、准确、灵敏度高,适合盐酸帕洛诺司琼人体药代动力学研究。单次静脉注射盐酸帕洛诺司琼后,受试者耐受良好。在0.125~0.5 mg剂量范围内,帕洛诺司琼在健康受试者体内表现为线性药动学特征。

关键词 帕洛诺司琼 药代动力学 超高效液相色谱-串联质谱法

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20131398

Pharmacokinetic study of palonosetron hydrochloride in healthy
volunteers

Zhongling ZHU¹, Zhongsheng TONG¹, Duanyun SI², Weilin DONG³, Zhao YAN¹

Correspondence to: Zhao YAN, E-mail: yanzhaotj@126.com

¹Gcp Center, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital National Clinical Research Center of Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin, Tianjin 300060, China

²Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

³Tianjin Medical University, Tianjin 300000, China

Abstract Objective: To evaluate the pharmacokinetics of palonosetron hydrochloride in healthy volunteers. **Methods:** Thirty-one healthy volunteers were grouped into three palonosetron hydrochloride dosage regimens of 0.125, 0.25, and 0.5 mg. The plasma concentrations of palonosetron were determined by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). DAS 2.1 software was applied to assess the plasma concentration-time data. **Results:** After intravenous injection of 0.125, 0.25, and 0.5 mg palonosetron to the subjects, the AUC_{0-168h} values of palonosetron were (7.5±2.5), (15.2±4.0), and (34.8±9.7) μg·h·mL⁻¹. The $t_{1/2}$ values were (27.2±9.5), (27.2±6.5), and (31.4±5.6) h. Palonosetron exposure increased proportionally with the dose range of 0.125 mg to 0.5 mg. The correlation coefficient was 0.998. No grade 3 or grade 4 toxicity was observed during the study. **Conclusion:** A rapid, sensitive, and selective UPLC-MS/MS method for palonosetron quantification in human plasma was developed and validated. All the participants indicated high tolerance throughout the study. Our data showed that palonosetron exhibits linear pharmacokinetics over the the dose range of 0.125 mg to 0.5 mg.

Keywords: palonosetron, pharmacokinetics, UPLC/MS/MS

恶心、呕吐是肿瘤患者接受某些化学药物治疗过程中最常见的不良反应之一^[1]。化疗导致恶心、呕吐是由于小肠嗜铬细胞释放5-羟色胺(5-HT),刺激传入迷走神经5-HT₃受体引发呕吐反射所致。盐酸帕洛诺司琼(palonosetron hydrochloride)属高选择性第二代5-HT₃受体拮抗剂,具有高亲和力和长血浆

消除半衰期的特点^[2-4]。该药最早由瑞士 Helsinn Healthcare 公司研制,2003年上市用于预防中、重度致吐性化疗所致的急性及延迟性恶心呕吐,是目前唯一用于延迟性恶心呕吐的选择性5-HT₃受体拮抗剂^[5]。本研究建立了超高效液相-串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定血浆帕洛诺司琼浓度,旨在评价

作者单位:①天津医科大学肿瘤医院国家药品临床试验机构,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤防治重点实验室(天津市300060);②天津药物研究院;③天津医科大学药学院

通信作者:阎昭 yanzhaotj@126.com

江苏奥赛康药业有限公司研制的盐酸帕洛诺司琼注射液在健康人体内的药动学特征,为指导临床用药提供依据。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂

盐酸帕洛诺司琼注射液由江苏奥赛康药业有限公司提供,规格0.25 mg(批号:20071001)。盐酸帕洛诺司琼标准品由江苏奥赛康药业有限公司提供(批号:080601)。盐酸格拉司琼标准品购于中国药品生物制品检定所(批号:100558-200602)。甲醇、乙酸乙酯为色谱纯购于天津康科德科技有限公司,氢氧化钠为分析纯购于天津凯信化学工业有限公司。空白人血浆购于天津市血液中心。

1.2 仪器

Waters ACQUITY 超高效液相色谱-串联质谱仪,配有UPLC泵、自动进样器、ESI源、三重四极杆质谱仪和Masslynx V4.1软件系统为美国Waters公司产品。涡旋混和器和XW-80A型振荡器由上海沪西分析仪器厂有限公司生产。KH-851型涡旋混和器,由上海环宇仪器厂出品。B600型低速自动平衡离心机由白洋离心机厂生产。G16型医用高速离心机由白洋离心机厂生产。TurboVAP浓缩仪为美国Caliper公司生产。AB54-S型电子天平为瑞士METTLER TOLEDO公司生产。

1.3 方法

1.3.1 研究对象 本研究经国家食品药品监督管理局批准,并经天津医科大学肿瘤医院医学伦理委员会审评通过,在天津医科大学肿瘤医院招募受试者,所有受试者试验前均签署知情同意书。受试者入选标准包括:男性;年龄18~45岁,同批受试者年龄相差不超过10岁;体质量不应低于50 kg,按体质指数=体质量(kg)/身高(m²)计算,一般为19~24;无类似药物过敏史;经过全面体检,身体健康,无心、肝、肾、消化道、神经系统、精神异常及代谢异常等病史;体格检查显示血压、心率、心电图、呼吸状况、肝、肾功能和血象无异常;研究始两周前至试验期间不服用其他任何药物,试验期间禁止吸烟、饮酒及饮用含咖啡因的饮料;受试者无烟、酒嗜好,并在试验期间禁忌烟酒;依从性好,试验期间服从试验人员和监护医师的要求。排除标准包括:妊娠或哺乳期妇女;处于生育期而未采取有效避孕措施者;AIDS或HIV病毒感染者;近3个月内献血或作为其他临床试验的受试者被采样者;近两周内服用过各种药物者。

1.3.2 给药方法和血样采集 受试者试验前1日入住I期病房,晚餐统一进清淡饮食,然后禁食1 h、不禁水过夜。试验期间在I期病房内监护受试者,避

免剧烈运动,禁服茶、咖啡及其他含咖啡或醇类的饮料,并禁止吸烟。受试者遵循随机原则分为I、II、III 3组,I组受试者为低剂量组,帕洛诺司琼给药剂量为0.125 mg;II组受试者为中剂量组,帕洛诺司琼给药剂量为0.25 mg,III组受试者为高剂量组,帕洛诺司琼给药剂量为0.5 mg。盐酸帕洛诺司琼注射液使用10 mL 0.9%氯化钠注射液稀释后静脉推注,注射时间为1 min。受试者分别于给药前15 min,给药后1、5、15、30 min,1、2、4、6、12、24、48、72、120、144 h和168 h采集静脉血。每次采集静脉血4 mL加入肝素化试管,600 g,4℃低温离心10 min,收集上层血浆密封置-80℃冰箱保存待测。

1.3.3 血浆样品浓度测定 1)血浆样品处理:准确量取血浆0.5 mL,加入内标格拉司琼溶液(25 ng·mL⁻¹)50 μL,加入0.2% NaOH溶液100 μL,混匀后加入乙酸乙酯3 mL,涡旋振荡1 min,12 000 g离心5 min,取有机相2.5 mL,4℃下氮气干燥,测定时残留物加100 μL流动相复溶,48 000 g离心5 min后进样5 μL。2)液相色谱-串联质谱分析条件:色谱柱ACQUITY UPLC BEN C18,1.7 μm,(50 mm×2.1 mm,L×ID),柱温40℃,进样器温度10℃。流动相:甲醇:0.1%甲酸为70:30(v/v);流速:0.2 mL/min;ESI离子源,正离子方式检测;毛细管电压:2.2 kV;锥孔电压:55 V;源温度:110℃;蒸发温度:350℃;雾化气500 L/h,气帘20 L/h;碰撞气0.13 mL/min。用于定量分析的离子反应分别为帕洛诺司琼m/z 297.24→110.02和格拉司琼m/z 313.1→138.1(图1)。

1.4 药代动力学参数计算及统计处理

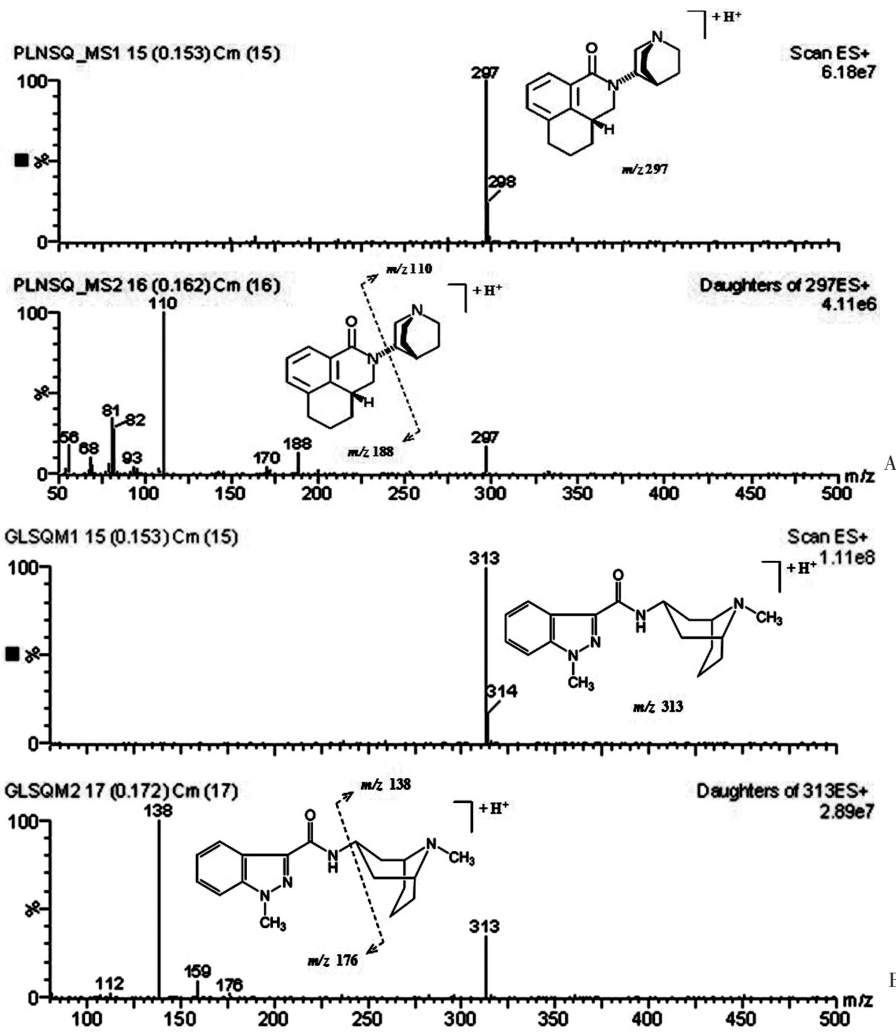
采用SPSS 16.0软件进行数据统计分析。采用DAS2.1(Drug and Statistics)药动学分析软件进行药动学参数的分析和计算。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 血浆帕洛诺司琼分析方法学确证

2.1.1 特异性 帕洛诺司琼和内标格拉司琼在(+)ESI电离方式下,主要生成[M+H]⁺峰,分别为m/z 297和313。选择性对[M+H]⁺峰进行产物离子全扫描质谱分析,主要碎片离子分别为m/z 110和138。

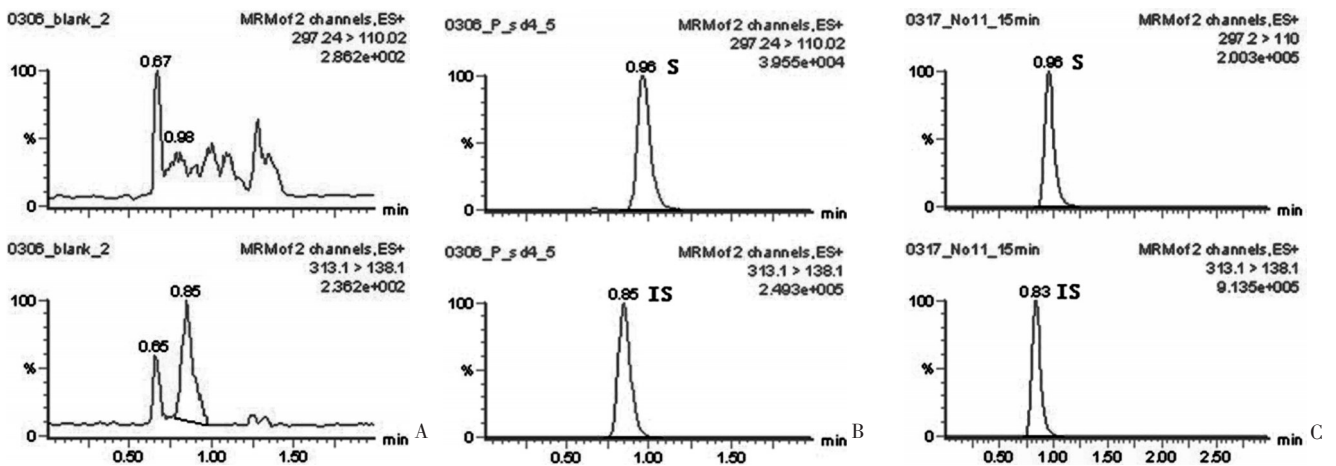
取空白血浆0.5 mL,除不加内标外,其他按1.3.3项操作,进样得色谱图(图2A);将一定浓度的帕洛诺司琼对照品溶液和内标溶液加入空白血浆中,同法操作得色谱图(图2B);帕洛诺司琼和内标格拉司琼的保留时间分别为0.96和0.84 min。取受试者给药后的血浆样品,同法操作得色谱图(图2C)。结果表明,空白血浆中的内源性物质不干扰帕洛诺司琼和内标格拉司琼的测定。



A: Full mass spectra of palonosetron. B: Full mass spectra of granisetron

图1 帕洛诺司琼和内标格拉司琼的全扫描质谱图

Figure 1 Electrospray ionization mass spectra of palonosetron and granisetron (IS)



A: Representative chromatogram of control blank plasma. B: Representative chromatogram of a standard sample containing 1 ng·mL⁻¹ palonosetron. C: Representative chromatogram of a subject (No. 11) sample collected 15 min after administration of palonosetron

图2 人血浆 UPLC-MS/MS 色谱图(S:帕洛诺司琼, IS:内标)

Figure 2 UPLC-MS/MS chromatograms of human blood samples

2.1.2 校正曲线及线性范围 取健康人空白血浆加入帕洛诺司琼系列工作液,使血浆浓度分别为0.02、0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 ng·mL⁻¹。分别取上述浓度的含药血浆0.5 mL,按“血浆样品处理方法”项操作,进行UPLC/MS/MS分析,以待测物浓度为横坐标X,以待测物和内标的峰面积比值为纵坐标Y,用加权最小二乘法(权重为1/χ²)进行回归运算,所得的直线回归方程即为校正曲线。校正曲线为Y=0.1761X+0.0007109(r=0.997),表明帕洛诺司琼在浓度0.02~10.00 ng·mL⁻¹范围内,样品和内标的峰面积比与浓度具有良好的线性关系。

2.1.3 绝对回收率 按“血浆样品处理方法”项下操作,采用0.05、0.50、5.00 ng·mL⁻¹ 3个浓度进行人血浆中帕洛诺司琼的回收率测定。以药物在血浆中经过处理后的测定值,与相应浓度的标准工作液直接吹干用流动相复溶的测定值相比,计算其绝对回收率。内标的绝对回收率采用相同方法计算。0.05、0.50、5.00 ng·mL⁻¹ 3个浓度帕洛诺司琼回收率分别为78.8%,75.1%和69.5%,内标回收率为69.5%。

2.1.4 精密度与准确度 按血浆中帕洛诺司琼的测定方法,进行0.05、0.50和5.00 ng·mL⁻¹ 3个不同浓度的准确度与精密度分析。每个分析批每一浓度各做6个样品,共做3批。0.05、0.50和5.00 ng·mL⁻¹ 3个浓度帕洛诺司琼日内精密度分别为5.39%、4.97%和4.26%,日间精密度分别为1.34%、-2.19%和-2.07%。

2.1.5 基质效应 采用0.05、0.5、5ng·mL⁻¹ 3个浓度进行人血浆中帕洛诺司琼的基质效应考察,每个浓度各做6个样品。帕洛诺司琼和内标的基质效应为80%~125%,而且RSD<10%。

2.1.6 稳定性考察 按血浆中盐酸帕洛诺司琼的测定方法,进行0.05、0.5和5.00 ng·mL⁻¹浓度在室温存放8、24 h,冻融1次和冻融3次及冰冻3个月的稳定性分析,表明帕洛诺司琼的血浆样品在存放及分析试验条件下稳定。

2.2 受试者基本情况

31例健康男性受试者,经过全面体检,无心、肝、肾、消化道、神经系统、精神异常及代谢异常等病史,体格检查显示血压、心率、心电图、呼吸状况、肝、肾功能和血象无异常。0.125,0.25和0.5 mg 3个剂量组受试者的年龄、身高以及体质量均无显著性差异,3组资料具有可比性,结果见表1。

2.3 受试者单次静脉注射帕洛诺司琼的药动学

31例受试者单次静脉注射帕洛诺司琼后平均血浆浓度-时间曲线见图3,主要药动学统计矩参数见表2。3个剂量的消除半衰期t_{1/2}分别为(27.2±9.5)、(27.2±6.5)、(31.4±5.6) h;血药浓度-时间曲线下面积AUC_{0-168h}(7.51±

2.5)、(15.2±4.0)、(34.8±9.7) ng·h·mL⁻¹。

2.4 安全性评价

受试者单剂量静脉推注0.125、0.25、0.5 mg 盐酸帕洛诺司琼注射液后,未发生Ⅲ度以上不良事件。Ⅰ度不良事件表现为总胆红素升高5例。Ⅱ度不良事件表现为总胆红素升高1例,谷丙转氨酶升高。以上不良事件均未处理,自行缓解。

表1 健康受试者基本情况

Table 1 Characteristics of the healthy volunteers (x̄±s)

Parameter	Dosage of administration (mg)		
	0.125	0.25	0.5
Cases	10	11	10
Age (years)	21.9±1.0	21.6±1.6	21.1±0.9
Hight (cm)	172.0±5.8	175.4±6.0	172.6±4.6
Body weight (kg)	65.4±10.8	68.2±7.3	70.2±14.3
Body mass index	22.1±3.6	22.3±3.5	23.5±4.4

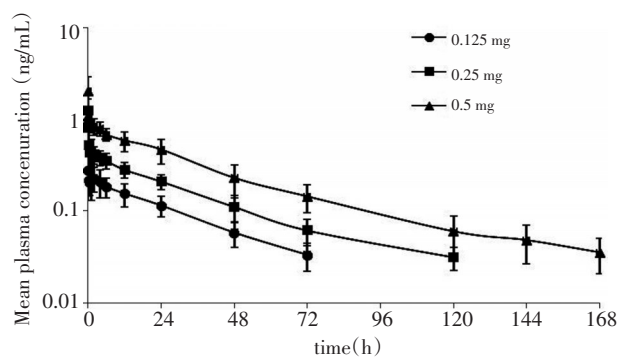


图3 健康受试者分别单次静脉推注0.125、0.25、0.5 mg 盐酸帕洛诺司琼注射液后平均血浆药物浓度-时间曲线

Figure 3 Mean plasma concentration versus time after intravenous administration of 0.125, 0.25, and 0.5 mg palonosetron

表2 受试者单次静脉注射3个剂量的药代动力学参数

Table 2 Main single dose pharmacokinetic parameters (x̄±s)

Parameter	Dosage of administration (mg)		
	0.125	0.25	0.5
t _{1/2} (h)	27.2±9.5	27.2±6.5	31.4±5.6
Vd(L)	588.0±166.0	579.0±108.0	599.0±75.0
CL(L·h ⁻¹)	15.7±4.6	15.3±3.6	13.8±3.7
MRT(h)	26.2±9.2	31.3±8.3	38.7±5.0
AUC _(0-168h) (ng·h·mL ⁻¹)	7.5±2.5	15.2±4.0	34.8±9.7
AUC _(0-∞) (ng·h·mL ⁻¹)	8.7±3.0	16.5±4.0	37.0±10.7

3 讨论

UPLC是一种新型的基于小颗粒填料的分析色谱技术,色谱柱填料粒径仅1.7μm^[6]。因此,使用UPLC技术不仅可以获得超高的分离度和灵敏度,而且可以缩短分析时间。本次研究药物帕洛诺司琼血

药浓度偏低,大多数时间点均在 $1.00\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以下,高剂量组平均血药峰浓度仅 $2.03\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。故本试验采用UPLC/MS/MS方法测定帕洛诺司琼血药浓度,该方法简单快速(每个样品分析时间 $<1.5\text{ min}$)、灵敏度高,且帕洛诺司琼和内标的提取回收率高、准确度高、精密度高,可以满足帕洛诺司琼的人体药代动力学研究的要求。

31例受试者单剂量静脉推注 0.125 、 0.25 、 0.5 mg 盐酸帕洛诺司琼注射液后,受试者耐受良好,未发生Ⅲ度以上不良事件。血药浓度-时间数据由DAS 2.1药代动力学计算软件统计矩法计算所得。 $\text{AUC}_{0-168\text{h}}$ 分别为 (7.5 ± 2.5) 、 (15.2 ± 4.0) 、 $(34.8\pm 9.7)\text{ ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$,结果显示该药 $\text{AUC}_{0-168\text{h}}$ 与剂量呈正相关($r=0.998$),且3个剂量帕洛诺司琼的消除半衰期相近,表明药代动力学参数呈现一级动力学特征,与文献报道一致^[7]。

既往研究报道,受试者给予昂丹司琼 0.15 mg/kg ,格拉司琼 $40\text{ }\mu\text{g/kg}$ 或多拉司琼 1.8 mg/kg 后,消除半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 6.5 、 $5\sim 8$ 和 6 h ^[8-10]。本研究及国内外研究^[7,11-13]表明,帕洛诺司琼在人体内分布广,消除缓慢, $t_{1/2}$ 明显延长。Stoltz等^[3]报道,日本健康受试者静脉推注 $3\sim 90\text{ }\mu\text{g/kg}$ 帕洛诺司琼,消除半衰期 $t_{1/2}$ 为 $30.8\sim 36.8\text{ h}$,且 $t_{1/2}$ 、CL和Vd无剂量依赖性,与本次研究结果基本一致,而美国健康受试者静脉推注 $0.3\sim 90\text{ }\mu\text{g/kg}$ 帕洛诺司琼,消除半衰期 $t_{1/2}$ 为 $33.7\sim 54.1\text{ h}$,稍长于本次研究结果。长半衰期特点使得盐酸帕洛诺司琼在预防和治疗延迟性呕吐方面有着较大的优势。大型国际多中心Ⅲ期临床研究结果已经证实帕洛诺司琼不仅对急性呕吐疗效确切,而且帕洛诺司琼还可有效防治延迟性呕吐^[14-15]。

综上所述,本研究评价了国产帕洛诺司琼经单次静脉推注后在健康人体内分布消除的药代动力学特征。研究结果表明,该药在人体内表现为线性药代动力学特征,受试者耐受良好。

参考文献

- Kris MG, Hesketh PJ, Herrstedt J, et al. Consensus proposals for the prevention of acute and delayed vomiting and nausea following high-emetic-risk chemotherapy[J]. Support Care Cancer, 2005, 13(2):85-96.
- Wong EH, Clark R, Leung E, et al. The interaction of RS 25259-197, a potent and selective antagonist, with 5-HT₃ receptors, in vitro[J]. Br J Pharmacol, 1995, 114(4):851-859.
- Stoltz R, Cyong JC, Shah A, et al. Pharmacokinetic and safety evaluation of palonosetron, a 5-hydroxytryptamine-3 receptor antagonist, in U.S. and Japanese healthy subjects[J]. J Clin Pharmacol, 2004, 44(5):520-531.
- Piraccini G, Stolz R, Tei M, et al. Pharmacokinetic features of a novel 5-HT₃-receptor antagonist: Palonosetron (RS-25259-197)[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2001: 400a.
- Navari RM. Palonosetron: a second generation 5-hydroxytryptamine 3 receptor antagonist[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009, 5(12):1577-1586.
- Wren SA, Tchelitcheff P. Use of ultra-performance liquid chromatography in pharmaceutical development[J]. J Chromatogr A, 2006, 1119(1):140-146.
- Shah A, DeGroot T, Apseloff G. Pharmacokinetic evaluation and safety profile of a 15-minute versus 30-second infusion of palonosetron in healthy subjects[J]. J Clin Pharmacol, 2006, 46(10): 1139-1145.
- Coppes MJ, Yanofsky R, Pritchard S, et al. Safety, tolerability, anti-emetic efficacy, and pharmacokinetics of oral dolasetron mesylate in pediatric cancer patients receiving moderately to highly emetogenic chemotherapy[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 1999, 21(4):274-283.
- Blum RA, Majumdar A, McCrea J, et al. Effects of aprepitant on the pharmacokinetics of ondansetron and granisetron in healthy subjects[J]. Clin Ther, 2003, 25(5):1407-1419.
- Janicki PK, Schuler HG, Jarzembowski TM, et al. Prevention of postoperative nausea and vomiting with granisetron and dolasetron in relation to CYP2D6 genotype[J]. Anesth Analg, 2006, 102(4): 1127-1133.
- 陈艳,丁莉坤,孟玲燕,等.盐酸帕洛诺司琼注射液人体药理学研究[J].中国新药杂志,2007,16(10):806-809.
- 孙军,李珍,张逸凡,等.盐酸帕洛诺司琼在健康人体的药理学研究[J].药学服务与研究,2012,12(6):465-468.
- Hunt TL, Gallagher SC, Cullen MT, et al. Evaluation of Safety and Pharmacokinetics of Consecutive Multiple-Day Dosing of Palonosetron in Healthy Subjects[J]. J Clin Pharmacol, 2005, 45(5):589-596.
- Eisenberg P, Figueroa-Vadillo J, Zamora R, et al. Improved prevention of moderately emetogenic chemotherapy-induced nausea and vomiting with palonosetron, a pharmacologically novel 5-HT₃ receptor antagonist[J]. Cancer, 2003, 98(11):2473-2482.
- Gralla R, Lichinitser M, Van Der Veeg S, et al. Palonosetron improves prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting following moderately emetogenic chemotherapy: results of a double-blind randomized phase III trial comparing single doses of palonosetron with ondansetron[J]. Ann Oncol, 2003, 14(10):1570-1577.

(2013-05-23收稿)

(2013-09-20修回)

(本文编辑:郑莉)