临床研究 文章编号:0253-3626(2009)09-1250-04

盐酸纳美芬注射液药代动力学

章 成,黄文祥,罗 涛,范 琦,袁 佩
(重庆医科大学附属第一医院感染科 重庆市传染病寄生虫病学重点实验室,重庆 400016)

【摘要】目的:研究健康受试者接受单剂量和多剂量注射国产盐酸纳美芬后的人体药代动力学。方法:30 名志愿者按照随机原则分为 3 组,每组分别静脉推注 0.5、1、2mg 盐酸纳美芬注射液,采用 LC-MS/MS 以纳络酮为内标测定其血浆和尿药物浓度。用 3P87 软件进行数据处理,求出药代动力学参数。结果:其 Cmax 分别为(1.74 ± 0.48) μg/L、(4.17 ± 1.08) μg/L、(7.88 ± 2.89) μg/L,$t_{1/2}\beta$ 分别为(12.83 ± 3.98) h、(12.6 ± 6.4) h、(10.58 ± 3.74) h,V 分别为(3.45 ± 0.16) L/kg、(4.11 ± 0.0716) L/kg)、(4.25 ± 0.56) L/kg;CL 分别为(0.81 ± 0.11) L/(h·kg)、(0.85 ± 0.15) L/(h·kg)、(0.87 ± 0.11) L/(h·kg);$AUC_{0-\infty}$ 分别为 (21.62 ± 9.34) (ng/L)*h、(24.89 ± 8.52) (ng/L)*h、(35 ± 11.2) ng/L)*h;尿药累计排泄率分别为(78 ± 21)%、(71 ± 29)%、(78 ± 19)%。结论:国产注射用盐酸纳美芬在健康人体内的药代动力学符合二房室模型特征。在静脉推注 0.5 ~ 2.0 mg 剂量范围内药物体内过程呈线性动力学特征。

【关键词】盐酸纳美芬;药动学;液相色谱 - 串联质谱法;光谱法,电喷雾电离
【中国图书分类法分类号】R969.1; R978.11 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-04-03

Pharmacokinetics of Nalmefene hydrochloride in healthy volunteers

ZHANG Cheng, et al
(*Key Laboratory of Infection and Parasitic Diseases of Chongqing City, Department of Infectious Diseases, the First Affiliataed Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the phamacokinetics of Nalmefene hydrochloride. *Methods*: 30 healthy Chinese volunteers were assigned to 3 groups according to randomized design, and each group were given respectively a single intravenous administration dose of 0.5 mg, 1mg and 2mg of Nalmefene hydrochloride. The electrospray ionization positive selected reaction monitoring detections for Nalmefene hydrochloride and allyln-oroxymorphone (the internal standard) in the plasma and in the urine were used. The pharmaceutical parameters were calculated by 3P87 software. *Results*: The limit of the detection for Nalmefene hydrochloride was 0.0008 ng/ml in plasma and 0.0003 ng/ml in urine. There were good linear relationship range from 0.04 to 625ng/ml in plasma and 0.2 to 625 ng/ml in the urine. The variation coefficient in day and days, and the recoveries fitted the clinical pharmacokinetic study requirements. After a single intravenous administration of 0.5 mg, 1mg, and 2mg of Na-lmefene hydrochloride, the obtained pharmacokinetic parameters were respectively as follows: Cmax were (1.74 ± 0.48) μg/L, (4.17 ± 1.08) μg/L, (7.88 ± 2.89) μg/L; $t_{1/2}\beta$ were (12.83 ± 3.98) h, (12.6 ± 6.4) h, (10.58 ± 3.74) h; V were (3.45 ± 0.16) L/kg; (4.11 ± 0.0716) L/kg、(4.25 ± 0.56) L/kg; CL were (0.81 ± 0.11) L/(h·kg), (0.85 ± 0.15) L/(h·kg), (0.87 ± 0.11) L/(h·kg); $AUC_{0-\infty}$ were (21.62 ± 9.34) (ng/L)*h, (24.89 ± 8.52) (ng/L)*h, (35 ± 11.2) ng/L)*h; the urine accumulatived exc-retory rate were (78 ± 21)%, (71 ± 29)%, (78 ± 19)%. *Conclusion*: The determination method for Nalmefene hydro-chloride in the plasma and in the urine by the electrosprayionization positive selected reaction monitoring detections is exclusive, accurate, sensitive and suitable. Pharmacokinetic characteristics in 3 groups of human treated with intravenous administration were described by a two-compartment model. The pharmaceutical characteristics of doxycycline hydrochloride in human body were linear in the range of 0.5~2.0 mg.

【Key words】Nalmefene hydrochloride; Pharmacokinetics; HPLC -MS -MS; Spectroscopy; Elaectrospray ionization(ESI)

盐酸纳美芬注射液于 1995 年经美国 FDA 批准,纳美芬可以用于手术后逆转阿片类药物引起的不良反应如呼吸抑制、血压降低等,至今已在临床应用 10 年,临床疗效好,但该药国内尚未使用,成都博瑞医药科技开发有限公司和中国人民解放军军事医学科学院生物药物研究所研制的盐酸纳美芬注射液,经国家食品药品监督管理局批准同意进

作者介绍:章 成(1976-),男,硕士,
研究方向:药代动力学研究。
通讯作者:黄文祥,男,教授,E-mail: wenxiang_huang@163.com。

行临床研究。本试验的目的是通过对在健康志愿者中盐酸纳美芬注射液单次给药药代动力学研究，了解药物在人体内代谢、分布、消除的规律，为该药制定合理给药方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂

盐酸纳美芬注射液：成都博瑞医药科技开发有限公司研制，规格：0.1 mg/ml，批号：20050901，密闭保存，有效期：2 年（2005/09–2007/09）。测定盐酸纳美芬血浆和尿浓度时，内标物为纳洛酮，批号：20051001，由成都博瑞医药科技开发有限公司提供，乙氰、醋酸为色谱纯，正己烷 – 二氯甲烷为分析纯。

1.2 仪器

高效液相质谱仪 2010A，色谱柱：shimadzu shim-pack VP-ODS（150 mm × 2.0 mm，5 μm），紫外检测器，漩涡混合器，高速台式离心机等。

1.3 试验对象

健康志愿者 33 名签署知情同意书后分为 0.5、1.0、2.0 mg 3 个剂量组，每个剂量组具体情况见后（结果）。男女各半；年龄 20 ~ 31 岁，受试者年龄相差 10 岁以内；每组的平均年龄、平均身高、平均体重情况如表 1。秩和检验之间没有显著性差异。

实验前进行全身体格检查，血、尿常规，肝、肾功能、心电图检查，结果均正常。实验前 2 周及实验期间未服用其他药物。实验前均签署知情同意书。

1.4 试验设计

1.4.1 给药剂量 参照文献[1,6]，30 名志愿者分为静脉推注 0.5、1.0、2.0 mg 剂量进行试验。

1.4.2 试验方法 3 个剂量组中每 10 名受试者静脉推注盐酸纳美芬 0.5、1.0、2.0 mg。受试者于试验前 1 d 入住Ⅰ期病房，晚饭后禁食 12 h 以上，于次日空腹 1 min 内静脉推注药物。推药后 2 h 后方可饮水进食。整个实验在医师的监测下进行。

1.4.3 生物样本的采集 于用药前 0 h，用药后 5、7、10、15、30 min、1、2、4、8、12、24、36 h 采集前臂静脉血，每次 4 ml，分离血浆；同时收集用药后 0 ~ 1、1 ~ 2、2 ~ 4、4 ~ 6、6 ~ 8、8 ~ 12、12 ~ 24、24 ~ 48 h 的尿液，充分混合后测量其体积并取 10 ml 尿液保存备用。以上样本均贮于 –70℃冰箱备检。

1.5 检测方法

1.5.1 色谱条件 色谱柱：shimadzu shim-pack VP-ODS（150 mm × 2.0 mm，5 μm），流动相：乙氰 –0.5%醋酸（pH6.05）（30∶70，V/V），流速 0.2 ml/min；柱温 30℃；进样量 5 μl。

1.5.2 质谱条件 电喷雾离子化（ESI），曲型脱溶剂装置温度 250℃，曲型脱溶剂装置电压 25 V，离子源电压 4.5 kV，检测电压 1.4 kV，雾化气体（N_2）流速 1.5 L/min，干燥气体（N_2）流速 2.0 L/min，选择性离子检测（SIM），检测离子：m/z[M+H]+：纳洛酮 328、纳美芬 340 。

1.5.3 样品处理

1.5.2.1 血浆样品 取待测血浆 0.4 ml，加入内标（纳洛酮）水溶液 0.1 ml，混匀，加入 pH 为 10 的碳酸缓冲液 0.6 ml 混匀，加入正己烷 – 二氯甲烷（1∶1）4 ml 振荡提取 3 min，离心，吸取有机层，挥干溶剂，残渣用 pH 为 3 的醋酸溶液 0.05 ml 解，高速离心（13 000 r/min）5 min，取上清液 5 μl 进样测定。

1.5.2.2 尿样品 取待测尿样品 1.0 ml，加入内标（纳洛酮）水溶液 0.1 ml，混匀，加入 pH 为 10 的碳酸缓冲液 1.0 ml，混匀，加入正己烷 – 二氯甲烷（1∶1）4 ml，振荡提取 3 min，离心，吸取有机层，挥干溶剂，残渣用 pH 为 3 的醋酸溶液 0.1 mL 溶解，高速离心（13 000 r/min）5 min，取上清液 5 μl 进样测定。

1.6 方法学评价

1.6.1 色谱行为 在上述色谱条件下，纳美芬与纳诺酮分离良好，保留时间分别为 3.2 min（340）和 3.9（328）min，血和尿中内源性物质不干扰样品测定（见图 1、2）。

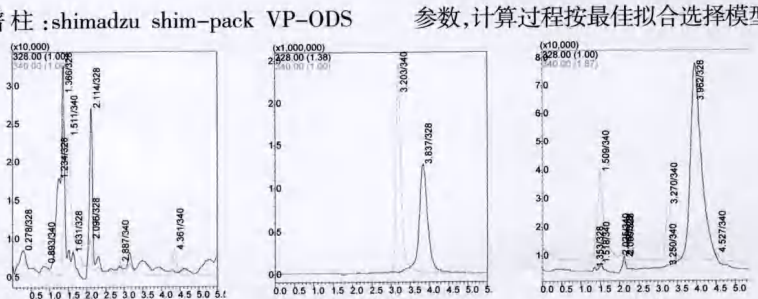
1.6.2 标准曲线的建立 取空白血浆 0.4 ml、加入纳美芬标准溶液（5 μg/ml）适量，使成为 1 000 ng/ml，再依次用空白血浆稀释成 625、312.5、187.5、62.5、25、5、2、0.6、0.2、0.08、0.04 ng/ml 系列的浓度，按样品处理方法处理后进样测定。

取空白尿液加入纳美芬标准甲醇液（100 μg/ml）适量，使成为 1 000 ng/ml，再依次用空白尿液稀释成 625、312.5、187.5、62.5、25、5、2、0.6、0.2 ng/ml 系列的浓度，按样品处理方法处理后进样测定。

将纳美芬峰面积（A）和内标纳诺酮峰面积比值（Y）对浓度（C）进行回归，得回归方程：①血样 y = 0.0148x + 0.0055，r=0.9990，n=11。线性范围 0.04 ~ 625 ng/ml，最低检测浓度为 0.0008 ng/ml （以 S/N≥3 计）。②尿样 y = 0.0514x – 0.0059，r=0.9999，n=9。线性范围 0.2 ~ 625 ng/ml，最低检测浓度为 0.0003ng/ml（以 S/N≥3 计）。

1.6.3 回收率和精密度 所建立方法的回收率、日内变异系数和日间变异系数见表 1、表 2，从结果中可见血清、尿回收率范围为 92% ~ 109%变异系数和回收率均符合测试要求。

1.6.4 数据处理 试验数据经 3P97 程序处理求得药代动力学参数，计算过程按最佳拟合选择模型，并计算药代动力学参数。



（A） （B） （C）

A. 空白血浆色谱图 B. 纳美芬和内标对照品色谱图 C. 空白血浆 + 纳美芬和内标色谱图

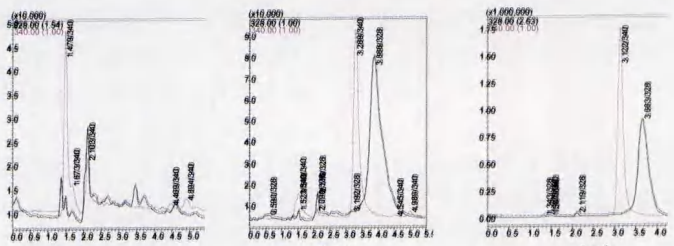
图 1 纳美芬和内标对照品血浆色谱图

表 1　人血清纳美芬的精密度和回收率（n=5）

理论浓度(ng/ml)	日内			日间		
	测定浓度(ng/ml)	平均回收率 ± SD(%)	RSD(%)	测定浓度(ng/ml)	平均回收率 ± SD(%)	RSD(%)
187.5	188.1 ± 6.32	103.0 ± 3.37	3.36	188.28 ± 5.96	100.41 ± 3.17	3.17
25.0	25.76 ± 1.46	103.04 ± 5.82	5.65	25.66 ± 1.53	102.64 ± 6.10	5.95
0.04	0.039 2 ± 0.003	98.00 ± 8.37	8.54	0.039 4 ± 0.003 6	98.5 ± 8.94	9.08

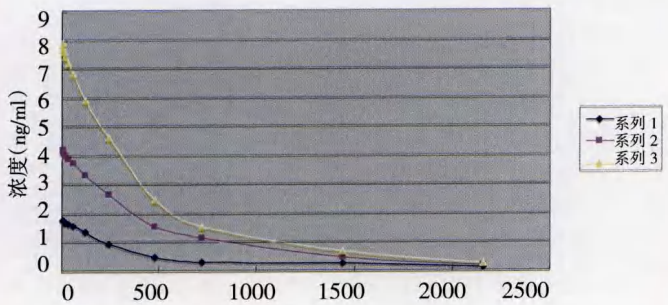
表 2　尿液纳美芬的精密度和回收率（n=5）

理论浓度(ng/ml)	日内			日间		
	测定浓度(ng/ml)	平均回收率 ± SD(%)	RSD(%)	测定浓度(ng/ml)	平均回收率 ± SD(%)	RSD(%)
187.5	187.3 ± 4.29	99.89 ± 2.29	2.29	187.4 ± 4.69	99.9 ± 2.50	2.50
25	25.64 ± 1.22	102.56 ± 4.89	4.77	25.70 ± 1.33	102.8 ± 5.32	5.18
0. 2	0.197 ± 0.015	98.5 ± 7.62	7.74	0.20 ± 0.016 8	100 ± 8.41	8.15



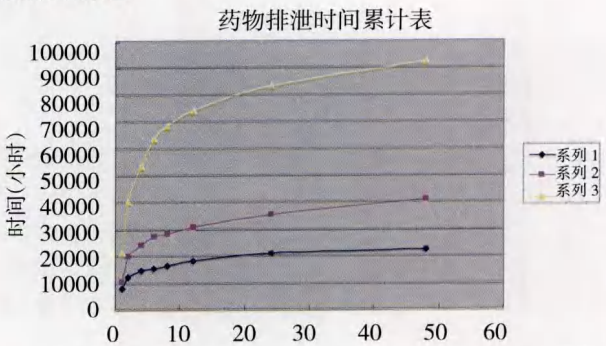
A. 空白尿样色谱图　B. 纳美芬和内标对照品色谱图　C. 空白尿样 + 纳美芬和内标色谱图

图 2　纳美芬和内标对照品尿样色谱图



系列 1. 0.5 mg 组；系列 2.1.0 mg 组；系列 3. 2.0 mg 组

图 3　均血药浓度-时间曲线



系列 1. 0.5 mg 组；系列 2. 1.0 mg 组；系列 3. 2.0 mg 组

图 4　尿药排泄时间累积表

2　结　果

2.1　血药浓度测定的结果

每组 10 名健康受试者给予不同剂量的平均药物浓度-时间曲线图。见图 3。

2.2　尿累积排泄百分率结果

结果显示：给药后 24 h 内分别有(78±21)%、(71±29)%、(78±19)%的盐酸纳美芬从尿排除。

2.3　药代动力学参数结果

30 名志愿者的血药浓度-时间数据经 3P97 药动学软件自动拟合后，符合二室模型，具体药代动力学参数。见表 2。

2.4　单剂静脉滴住纳美芬药动学分析

受试者单剂静脉推注纳美芬各剂量组药动力学参数($T_{1/2}\alpha$、$T_{1/2}\beta$、VC 、CL)无显著差异，C_{max}、$AUC_{0\sim\infty}$随剂量增加而增加。以 $AUC_{0\sim\infty}$/剂量和剂量进行线形回归，并对回归系数作 t 检验，回归方程为：Y=2.2243X+16.945（Y 为 $AUC_{0\sim\infty}$/dose，X 为dose），r^2=0.9723，差异无统计学意义（P>0.05），表明 $AUC_{0\sim\infty}$/剂量(Y)与剂量(X)之间有线性关系。

2.5　安全性和耐受性

所有受试者均无明显不适，无嗜睡，恶心、呕吐、心动过速、高血压和烦躁不安等不良反应。实验室检查各参数未发现明显异常，受试者心电图检查均无异常发现。

表 3 不同剂量盐酸纳美芬药代动力学主要参数

参数	单位	0.5 mg		1 mg		2 mg	
		均数($\bar{x}$)	标准差(s)	均数($\bar{x}$)	标准差(s)	均数($\bar{x}$)	标准差(s)
AUC0 ~ ∞	(mg/L)*h	21.62	9.34	24.89	8.52	35	11.2
$T_{1/2}\alpha$	h	4.61	3.98	3.091	2.394	3.021	2.450
$T_{1/2}\beta$	h	12.83	3.98	12.600	5.411	10.58	3.74
K1/2	1/h	0.21	0.31	0.359 8	0.534 9	0.319 0	0.378 1
K10	1/h	0.093	0.024	0.109	0.032	0.114	0.031
K12	1/h	0.058 9	0.100	0.069	0.109	0.082 8	0.084 5
VC	(mg)/(mg/L)	3.45	0.16	4.11	0.072	4.25	0.145
CLS	mg/h/(mg/L) h	0.81	0.11	0.85	0.15	0.87	0.11
MRT	h	9.11	1.46	11.817	2.17	13.231	8.423
C_{max}	mg/L	1.74		4.17		7.88	

3 讨 论

国内外对纳美芬的药代动力学测定基本上都是采用 HPLC 来测定,很少有质谱的报道。本试验也显示了其明显的优势, 概括既往 HPLC 报道的最底检测限和线性范围, 最理想的结果分别为:0.02 ng/ml 和 21~126 μg/ml, 对低浓度的检测显得有些不够灵敏和精确[1-3]。而本试验的线性范围 0.04~625 ng/ml, 最低检测浓度为 0.000 8 ng/ml。可以将灵敏度提高 1 000 倍以上。本方法灵敏度高,消耗的成本很低,样品处理以及色谱分析时间短, 虽然 HPLC-MS 仪器昂贵, 但应用 HPLC-MS 可作进一步的分析和其他的物质分析,适合有条件的单位开展此项工作。

纳美芬游离碱不溶于水,而易于溶于二氯甲烷、乙腈等有机溶剂,因此在血样处理中,先碱化血浆,使盐酸纳美芬转化为纳美芬游离碱,以便于提取,且提高回收率。药物提取的回收率可以达到 92%以上。

盐酸纳美芬具有酸性和碱性基团,正负离子均可检测得到,但以正离子方式检测时间相应较强,故本文采用正离子方式进行检测。

由于 ESI 电离效率易受电压、氮气流速、溶剂组分、样品基质等多种因素影响,通常不加内标很难进行定量分析。好的内标需要有相同的或接近的保留时间。纳洛酮在本色谱条件下保留时间接近,并与纳美芬具有类似的结构,是个较好的内标。

本试验建立的人血浆和尿液盐酸纳美芬浓度的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)测定方法专属、准确、灵敏度适宜;静脉推注 0.5、1、2 mg 单次给药体内消除动力学过程呈线性动力学特征, 药-时曲线符合二室开放模型;V 值较大,说明该药在体内分布较广;$t_{1/2}\beta$ 短,说明该药从体内消除快;该药尿排率大,在肾功能不全时易于在体内蓄积,引起过高血药浓度而产生不良反应,因此临床上应用该药时在肾功能不全者应减量或延长给药间隔;与国外的研究结果:"纳美芬在肾功能不全的病人的消除半衰期,和机体总清除率是明显延长的;而 Vdss 是增高的"是一致的[2]。AUC、V 和 $t_{1/2}\beta$ 的变异系数(标准差/均数)均在 50%以内,说明该药体内代谢的个体差异不是很大。与文献报道相近[1-5]。

而本研究的国外同类药物药动学报道,在单次给药剂量为 1 mg 时,Cmax 为 3.7 ng/ml, $t_{1/2}\beta$ 10.8h, AUC 为 16.6,Vc 为 3.9 L/kg。本研究血药 Cmax、$t_{1/2}\beta$ AUC、Vc 相较与国外文献报道相似[6],数值略为偏高,考虑为人种差异有关和试验方法不同的关系。

参 考 文 献

[1] 钟 武,郑志兵,肖 军,等.HPLC 法测定盐酸纳美芬的含量及其有关物质[J], 中国新药杂志, 2006, 11(11):895-898

[2] Matzke G R, Frye R F, Alexander A G, et al. The effect of renal insufficiency and hemodialysis on the pharmacokinetics of nalmefene[J]. J Clin Pharmacol, 1996, 36( ):144 -151.

[3] Dixon R, Gentile J, Hsu H B, et al. Nalmefene: safety and kinetics after single and multiple oral doses of a new opioid antagonist[J]. J Clin Pharmacol, 1987, 27:233 - 239.

[4] Chou J Z, Albeck H, Kreek M J. Determination of nalmefene in plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection and its application in pharmacokinetic studies[J]. J Chromatogr, 1993, 613(2):359-364

[5] Dixon R, Howes J, Gentile J, et al. Nalmefene: intravenous safety and kinetics of a new opioid antagonist[J]. Clin Pharmacol Ther, 1986, 39 (1):49-53.

[6] Product Information: REVEX, nalmefene hydrochloride injection[M]. Ohmeda Pharmaceutical Products, Liberty Corner, NJ, USA, 1995.

(责任编辑:冉明会)