

盐酸曲唑酮缓释片人体药动学研究

朱荣华^{1,2}, 戴立波^{1,2}, 李焕德¹, 王峰¹, 张觅^{1,2}, 楼江, 彭文兴¹

(1. 中南大学湘雅二医院临床药学研究室 长沙 410011 ;2. 中南大学药学院,长沙 410001)

摘要 目的：建立测定人血浆中曲唑酮浓度的 HPLC 法，研究中国健康志愿者单次和多次口服盐酸曲唑酮缓释片的药动学特征。**方法：**单次药动学试验 12 名健康受试者，男女各半，拉丁方设计。交叉单次口服 25、75、150mg 盐酸曲唑酮缓释片。多次药动学试验 12 名健康受试者，男女各半，多次口服 75mg 盐酸曲唑酮缓释片。受试者血浆样品经液液萃取，曲唑酮的血浆浓度采用高效液相色谱-荧光法检测。**结果：**高效液相色谱-荧光法检测血浆中曲唑酮浓度在 5.0-2486.0 ng·mL⁻¹ 范围内线性关系良好。单次口服 25、75、150 mg 的盐酸曲唑酮缓释片后 T_{max} 分别为 2.2±0.9、2.8±0.8 和 4.2±1.0 h，150 mg 剂量的达峰时间迟于 25、75mg 剂量的(P<0.05)；C_{max} 分别为 350.4±90.8、877.3±285.6 和 1428.6±270.2 ng·mL⁻¹，AUC₀₋₆₀ 分别为 3440.3±732.0、9373.6±2555.0 和 17621.4±2641.7ng·h·mL⁻¹，AUC_{0-∞} 分别为 3522.8±735.2、9528.9±2601.1 和 17969.3±2642.2 ng·h·mL⁻¹。t_{1/2} 分别为 10.9±1.9、10.3±0.7 和 10.2±1.9 h；多次口服 75 mg 缓释片，稳态 T_{max} 为 2.9±1.1 h；C_{max}^{ss} 为 793.5±185.1 ng·mL⁻¹；C_{min}^{ss} 为 120.7±61.2ng·mL⁻¹；C_{av} 为 339.7±91.2 ng·mL⁻¹；AUC₀₋₆₀ 为 10073.0±3257.0ng·h·mL⁻¹，AUC_{0-∞} 为 10309.7±3437.4 ng·h·mL⁻¹；t_{1/2} 为 10.6±1.8 h；DF 为 2.0±0.3。**结论：**所建立的方法灵敏，准确，快捷，适合于盐酸曲唑酮缓释片临床药动学研究。所研究的 75、150mg 两种盐酸曲唑酮缓释片在 25~150mg 剂量范围内，呈现线性药动学特征；缓释片每 24h 给药一次，多次给药后无蓄积现象。缓释片在单次给药、多次给药时性别间药动学参数无明显差异。在 25-150mg 剂量范围内、盐酸曲唑酮缓释片符合线性药动学特征，健康受试者能安全耐受。

关键词 曲唑酮；缓释片；高效液相色谱法；药动学

作者简介：朱荣华，男，主管药师，主要从事 I 期药物临床试验和生物药物分析工作，Tel：(0731) 85292098，E-mail：ubillow@yeah.net

Study on pharmacokinetics of trazodone extended-release tablets in Chinese healthy volunteers

Zhu Ronghua^{1, 2}, Li Huande¹, Dai Libo^{1, 2}, Wang Feng¹, Zhang Mi^{1, 2}, Lou Jiang^{1, 2}, Peng WenXing¹

1. Clinical Pharmacy and Pharmacology Research Institute, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011

2. School of Pharmacy, Central South University, Changsha 410083

Abstract Objective: To develop a HPLC method for determination of trazodone and in human plasma, and to study the pharmacokinetics of trazodone in Chinese healthy volunteers. **Methods:** For single-dose study, a single oral dose of 25, 75 or 150 mg trazodone extended-release tablets was given to 12 healthy volunteers in an open randomized latin design. For multi-dose study, a repeated oral dose of 75 mg trazodone extended-release tablets was given to 12 healthy volunteers in an open randomized crossover design. Plasma concentrations of trazodone were determined by HPLC. **Results:** The liner range of analysis method was among 5.0-2486.0 ng·mL⁻¹ for trazodone in plasma. The main pharmacokinetic parameters of trazodone after single 25, 75 and 75 mg dose of trazodone were as follows: T_{max} was 2.2±0.9、 2.8 ±0.8 and 4.2±1.0 h; C_{max} was 350.4±90.8、 877.3±285.6 and 1428.6 ±270.2 ng·mL⁻¹; AUC₀₋₆₀ was 3440.3 ±732.0、 9373.6±2555.0 and 17621.4± 2641.7ng·h·mL⁻¹ , AUC_{0-∞} was 3522.8±735.2 、 9528.9±2601.1 and 17969.3±2642.2 ng·h·mL⁻¹; The steady state pharmacokinetic parameters of benazeprilat after multi 75 mg dose of benazepril were as follows: T_{max} was 2.9±1.1 h, C_{max}^{ss} was 793.5± 185.1 ng·mL⁻¹, C_{min}^{ss} was 120.7± 61.2ng·mL⁻¹, C_{av} was 339.7±91.2 ng·mL⁻¹, AUC₀₋₆₀ was 10073.0± 3257.0ng·h·mL⁻¹, AUC_{0-∞}was 10309.7±3437.4 ng·h·mL⁻¹, t_{1/2} was 10.6±1.8 h, DF was 2.0±0.3. **Conclusion:** The established HPLC method was simple, rapid, sensitive and accuracy, and suit for study of clinical trazodone pharmacokinetics. There was linear pharmacokinetics of trazodone between 25 and 150 mg single oral doses of trazodone extended-release tablets in healthy subjects. trazodone extended-release tablets was well tolerated.

KEY WORDS: trazodone; extended-release tablets; HPLC; pharmacokinetics

曲唑酮是三唑吡啶类抗抑郁药，选择性地阻断 5-HT 的再吸收，并可有微弱的阻止去甲肾上腺素重吸收的作用，但对多巴胺、组胺和乙酰胆碱无作用，亦不抑制脑内单胺氧化酶的活性，还具有中枢镇静作用和轻微的肌肉松弛作用。其抗抑郁作用相似于三环类和单胺氧化酶抑制剂，但对心血管系统毒性小，无抗胆碱副作用，较适用于老年或伴有心血管疾病的抑郁症病人。口服吸收良好，吸收后较多分布于肝、肾中，经肝脏代谢，普通释放片 $t_{1/2}$ 平均约为 4.1-6.0 小时，缓释片 $t_{1/2}$ 约为 10 小时。盐酸曲唑酮缓释片已经在意大利和美国等国家上市，临床使用显示具有较好的疗效和安全性，其适应症是“用于治疗抑郁症和伴随抑郁症状的焦虑症”。

目前，国内已有企业研制并生产盐酸曲唑酮片剂，尚无企业生产盐酸曲唑酮缓释片。本文建立一种 HPLC-荧光法检测人血浆曲唑酮，应用该方法我们研究了中国健康志愿者单次和多次口服进口盐酸曲唑酮缓释片的药动学特征。

1 仪器与试剂

1.1 岛津高效液相色谱仪 (LC-10ADvp)，配 LC-10ADvp 荧光检测器，Class-VP 6.1 化学工作站 (Shimadzu，日本)；SCX 色谱柱 (250mm×4.6mm，5.0 μm ，SHISEIDO 日本资生堂)；3-18K 冷冻高速离心机 (SIGMA，美国)；AG285 电子分析天平 (METTER-TOLEDO，瑞士)。

1.2 试剂

对照品：盐酸曲唑酮对照品 (含量 100.0%，ANGELINI，批号 RS 01/09)；哌啶对照品 (含量 99.9%，中国药品生物制品检定所)。乙腈、甲醇 (色谱纯，Burdick/Jackson，美国)。磷酸铵、磷酸 (分析纯)，二重蒸馏水 (自制)。盐酸曲唑酮缓释片，规格 75mg/片 (批号 000000297)，150mg/片 (批号 000000731)，Aziende Chimiche Riunite Angelini Francesco ACRAF S.p.A. 公司生产，兆科药业 (合肥) 有限公司提供。

2 方法

2.1 试验设计

单次给药药动学试验采用三周期、3 交叉 (3×3) 双拉丁方设计，入选受试

者 12 人 (男女各半), 随机分成 6 个次序组, 每组男 1 人、女 1 人。每个受试者按指定的次序在三个周期上处理, 设定 25mg、75mg、150mg 三个给药剂量组, 周期间清洗期为 7 天。多次给药药动学试验入选受试者 12 人 (男女各半), 每日口服 1 片试验药 (75mg/片), 连服 7 天; 给药前一天晚上 10 点到次日早晨给药前禁食。各剂量组早 8:00 点给药, 给药后 4、10h 进标准餐。试验期间受试者均在监护室内, 避免剧烈活动, 禁止饮茶、咖啡等饮料, 禁止使用其他药物。单次给药药动学试验采血点为给药前 (0) 及给药后 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0、12.0、16.0、24.0、36.0、48.0、60.0 小时。多次给药药动学试验采血点为第 1 天给药前 (0); 第 4、5、6、7 天给药前; 第 7 天给药后按单次药动学试验采血点采血。各取血点经静脉留置针取静脉滴注部位的对侧前臂静脉血 4.0 mL, 置肝素抗凝试管中, 离心, 分离血浆, 保存于-70 冰箱中冷冻待测。

2.2 受试者

本试验经湘雅二医院伦理委员会批准, 志愿者在试验前签署知情同意书。志愿者不吸烟、不嗜酒。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, 试验前经过全面体检, 检测血压、心率、心电图、呼吸状况、肝肾功能, 血、尿常规正常或异常无临床意义者; 包括艾滋病病毒抗体 (抗-HIV)、乙肝表面抗原 (HbsAg) 和女性尿妊免试验均为阴性。试验前两周内未服用任何其他药物。对试验药无过敏史。受试者一般情况见表 1。

表1 受试者基本情况表

Tab 1 Description of subjects

指标 (index)	单次试验		多次试验	
	男性 (male) n=6	女性 (female) n=6	男性 (male) n=6	女性(female) n=6
年龄 (age)/year	24.4±0.5	24.1±1.1	23.5±1.4	26.0±3.5
身高 (Height)/cm	171.2±5.8	161.7±2.4	168.0±3.9	159.7±3.0
体重 (Body weight)/Kg	65.2±7.8	52.5±3.8	64.7±4.3	53.5±3.3
BMI	22.2±1.9	20.1±1.5	22.8±1.1	21.0±1.4

数据表为: 均值±标准差

2.3 曲唑酮血药浓度分析方法

2.3.1 标准液的配制

曲唑酮标准液配制：精密称取盐酸曲唑酮对照品 21.0mg，置 50mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，制成 $420.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸曲唑酮标准液，扣除盐酸根，相当于曲唑酮浓度为 $382.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液。取储备液用甲醇稀释，制成 3 所需的曲唑酮工作液。

内标标准液配制：精密称取哌唑嗪对照品 5.0 mg，置 50mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，制成 $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液。取储备液 2.5mL 置于 500ml 容量瓶中，甲醇定容至刻度，制成 $0.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标工作液。

2.3.2 色谱条件

柱温 35 ；流动相为乙腈: $80\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸铵溶液 (pH 6.0)=(60:40, V/V)，流速 $1.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；检测器：荧光 EX=320nm，EM=440nm

2.3.3 样品处理

血浆样品室温解冻，漩涡振摇后 $12000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5min，取 $300\mu\text{L}$ 于 5ml 玻璃离心管中，加入 $60\mu\text{L}$ 的内标 ($0.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 哌唑嗪)， $20\mu\text{L}$ 氨水， $1500\mu\text{L}$ 叔丁基甲醚，立即漩涡振摇 3 min 后 $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5min。取上清液 $1200\mu\text{L}$ 置于另一干净的 5ml 玻璃离心管中， $40\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴下氮气挥干，残留物 $300\mu\text{L}$ 流动相复溶， $40\mu\text{L}$ 进样测定。

2.3.4 方法专属性

图 1 (A、B、C) 分别为空白血浆色谱图、空白血浆加入曲唑酮和内标对照品色谱图、受试者服药后血样的色谱图。曲唑酮的保留时间约为 6.2min，内标的保留时间为 9.5min。血浆内源性物质及其它杂质不干扰样品的分离测定。

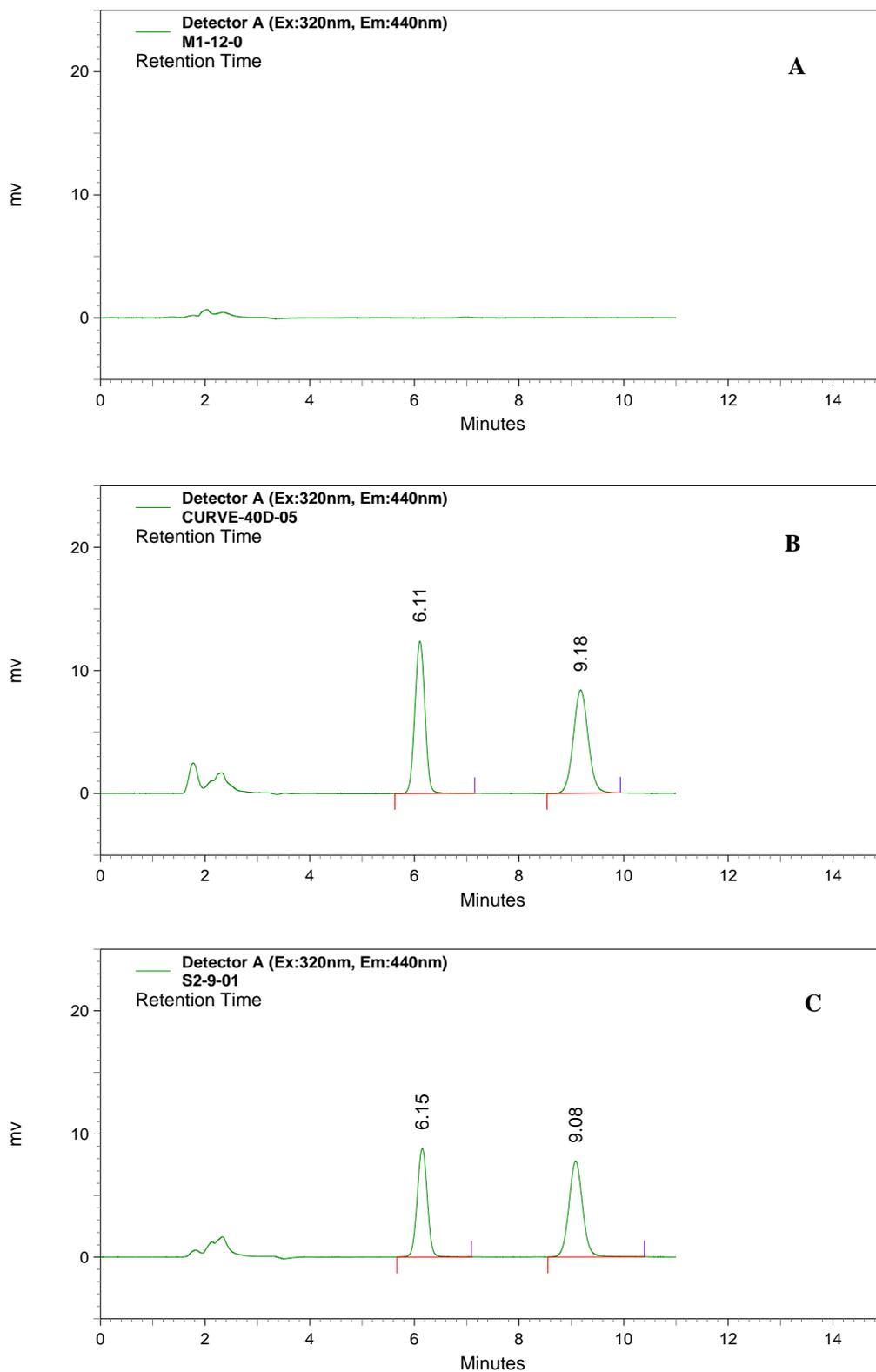


图 1 曲唑酮和内标色谱图。 A: 空白血样 ; B: 空白血样加曲唑酮和内标 ; C: 受试者给药后血样 ; 曲唑酮 $t_R=9.1$ min , 内标 $t_R=6.1$ min。

Fig 1 Chromatograms of trazodone and IS. A: blank plasma; B: blank plasma spiked with trazodone and IS; C: clinical plasma sample ; trazodone $t_R=9.1$ min, IS $t_R=6.1$ min.

2.3.5 线性范围和定量下限浓度

用空白血浆将曲唑酮标准液稀释成 5.0、12.0、31.0、69.0、172.0、421.0、1033.0、2486.0 ng·mL⁻¹ 的系列浓度样品，按“血浆样品的处理”项下操作，以盐酸曲唑酮与内标峰的面积比值（X）对药物浓度（Y）作线性回归，得回归方程 $Y=166.952x+0.0281883$ ， $r^2=0.999762$ ，权重为 $1/\text{Amount}$ ，线性范围 5.0~2486.0 ng·mL⁻¹，最低定量限为 5.0 ng·mL⁻¹（准确度为 98.4%，RSD 为 7.5%，n=5）。

2.3.6 回收率及精密度

配制浓度为 12.0、172.0、2486.0 ng·mL⁻¹ 的曲唑酮血浆样品标准管，按“血浆样品的处理”项下操作，测定曲唑酮和内标的峰面积。用 40%乙腈配制 12.0、172.0、2486.0 ng·mL⁻¹ 曲唑酮标准溶液，各含内标标准液 100ng·mL⁻¹，立即旋涡振摇 1min 即为曲唑酮标准对液，直接进样 40μL，测定曲唑酮和内标的峰面积。比较同浓度的血浆样品和对照样品的峰面积，结果曲唑酮提取回收率在 72.6%~88.3% 之间，内标提取回收率在 66.6%。

2.3.7 方法回收率和精密度

配制浓度为 12.0、172.0、2486.0 ng·mL⁻¹ 的曲唑酮血浆样品标准管，按“血浆样品的处理”项下操作，测定峰面积，按回归方程计算浓度，分别在同一天内测定 5 次和每天 5 次连续测定 3 天，考察方法的批内、批间精密度和回收率。结果批内 RSD 为 2.9%~3.7% (n=5)；批间 RSD 为 3.4%~3.5% (n=15)。方法回收率 98.4%~104.2% 之间。结果见表 2。

表 2 曲唑酮方法回收率及日内、日间精密度

Tab 2 Methodology recovery and precision of trazodone

浓度 (Concentration) ng·mL ⁻¹	日内 intra-day (n=5)		日间 intra-day (n=15)	
	方法回收率(methodology Recovery) %	RSD/%	方法回收率(methodology recovery) %	RSD/%
12.0	103.3	2.9	104.2	3.4
172.0	98.4	3.7	96.7	3.4
2486.0	98.7	3.2	98.5	3.5

2.3.8 样品稳定性

制备曲唑酮低、中、高三个浓度（12.0、172.0、2486.0 ng·mL⁻¹）的标准血浆样品。样品处理液存放自动进样器（10）内 0、1、2、6 和 12h 后进样分析；血浆样品在室温条件放置 0、1、2、6、12、24 h；血浆样品经反复冻融 0、1、

2, 3, 4次; 血浆样品于-70℃冰冻条件下储藏60天再进行测定。按“血浆样品的处理”项下避光操作, 测定峰面积, 按回归方程计算浓度, 结果表明在这些考察条件下曲唑酮是稳定的。

2.3.9 数据处理与统计方法

C_{max} 、 T_{max} 均为实测值, $t_{1/2}=0.693/\lambda_z$ (λ_z 为末端消除速率常数)。AUC 用梯形面积法计算, $AUC_{0-\infty}=AUC_{0-t} + C_t/\lambda_z$ (C_t 为最后一个可测得时间点的血药浓度)。 $AUMC=\sum(t_i C_i+t_{i-1} C_{i-1})(t_i-t_{i-1})/2+C_t(t/\lambda+1/\lambda_z^2)$, $MRT=AUMC/AUC$, $CL/F=D/AUC$, $V/F=CL/\lambda_z$ 。

采用SPSS13.0统计软件进行药动学参数分析, 显著性水平为 $P<0.05$ 。AUC(经对数转换)、 C_{max} (经对数转换)、 CL/F 、 $t_{1/2}$ 、 MRT 等药动学参数采用三因素方差检验或 t 检验, T_{max} 采用非参数检验。

3 结果

3.1 临床观察结果

试验过程中, 部分受试者出现头晕、头痛、恶心、嗜睡不良事件, 但均能耐受, 未给予特殊处理, 随后自行缓解。各部分试验采样结束后, 受试者进行试验完成后体检, 体检结果均无异常。

3.2 血药浓度-时间曲线和药动学参数

受试者单次口服盐酸曲唑酮缓释片 25、75、150mg 平均血药浓度-时间曲线见图 2, 受试者多次口服盐酸曲唑酮缓释片 75mg 平均血药浓度-时间曲线图见图 3, 受试者单次和多次口服曲唑酮缓释片的药动力学参数分别见表 3。

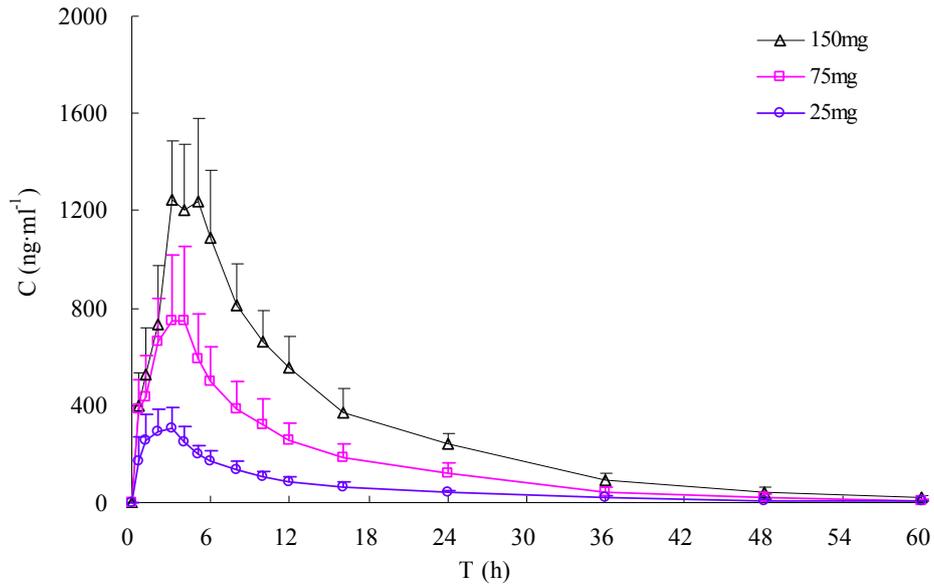


图2 受试者单次口服 25、75、150mg 盐酸曲唑酮缓释片后
曲唑酮平均血药浓度-时间曲线 (n=12)

Fig2 Mean plasma concentration-time curves of trazodone in healthy volunteers after single oral administration of 25、75、150mg of trazodone extended-release tablets (n=12)

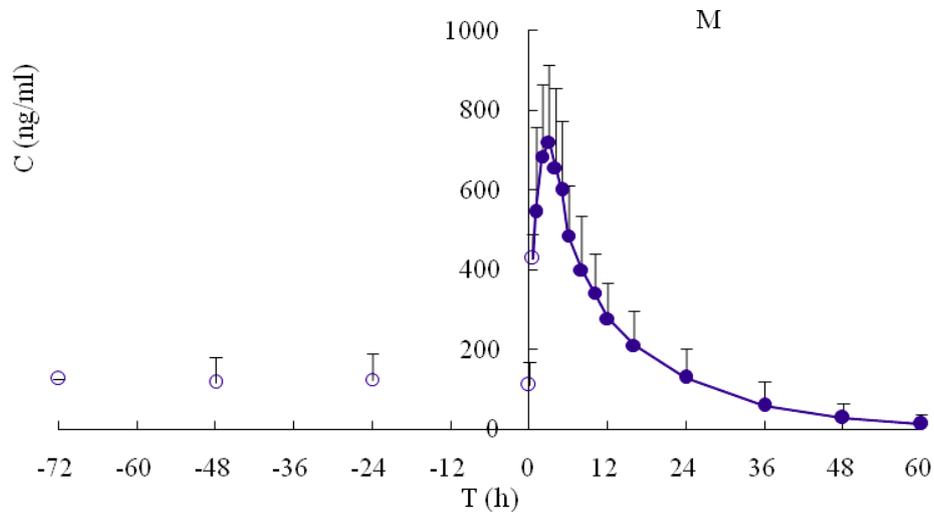


图3 受试者单次和多次口服 75mg 盐酸曲唑酮缓释片后
曲唑酮平均血药浓度-时间曲线 (n=12)

Fig 3 Mean plasma concentration-time curves of trazodone in healthy volunteers after multi oral administration of 75mg of trazodone extended-release tablets (n=12)

表 3 受试者单次和多次口服盐酸曲唑酮缓释片后
曲唑酮主要药动学参数 (n=12)

Tab 3 Main pharmacokinetic parameters of trazodone in healthy volunteers (n=12)

药动学参数(parameter)	单次			多次
	25 mg	75mg	150 mg	75 mg
AUC _{0-τ} (ng·h·ml ⁻¹)				8152.5±2189.2
AUC ₀₋₆₀ (ng·h·ml ⁻¹)	3440.3±732.0	9373.6±2555.0	17621.4 ±2641.7	10073.0±3257.0
AUC _{0-∞} (ng·h·ml ⁻¹)	3522.8±735.2	9528.9±2601.1	17969.3±2642.2	10309.7±3437.4
C _{max} (ng·ml ⁻¹)	350.4±90.8	877.3±285.6	1428.6±270.2	793.5±185.1
C _{min} (ng·ml ⁻¹)				120.7±61.2
C _{av} ^{ss} (ng·mL ⁻¹)				339.7±91.2
DF				2.0±0.3
T _{max} (h)	2.2±0.9	2.8 ±0.8	4.2 ±1.0*	2.9 ±1.1
t _{1/2} (h)	10.9±1.9	10.3±0.7	10.2±1.9	10.6 ±1.8
CL (L·h ⁻¹)	7.4±1.7	8.5±2.7	8.5±1.3	10.0±3.4
V (L)	116.6±35.9	126.6±43.8	126.7 ±35.3	152.5±59.7
MRT (h)	13.5 ±2.6	13.6±2.2	14.8±2.2	

*P<0.05, 有统计学差异:

将单次给药低、中、高剂量组的 AUC₀₋₆₀、AUC_{0-∞}、C_{max} 与给药剂量之间进行线性回归, 得回归系数 (r²) 分别为 0.887、0.8891、0.7875 (P<0.05)。低、中、高三种剂量之间的 t_{1/2}、CL/F、V/F、MRT 差异无统计学意义 (P>0.05)。150 mg 剂量的达峰时间迟于 25、75mg 剂量的 (P<0.05)。

75mg 单次给药 AUC_{0-∞} 与 75mg 多次给药 AUC_{0-τ} 之间无统计学差异 (P>0.05); 两者的其他药动学参数 T_{max}、C_{max}、t_{1/2}、CL/F、V/F 均无统计学差异 (P>0.05)。

各试验组男女受试者之间的药动学参数 T_{max}、AUC_{0-t}、AUC_{0-τ}、AUC_{0-∞}、C_{max}、C_{min}、C_{av}、t_{1/2}、CL/F、V/F、MRT 均无统计学差异 (P>0.05)。

4 讨论

本试验缓释片单次或多次给药时, T_{max} 在 2.2-4.2h 之间, 与意大利 Marzo 等^[1]研究所得的 3.6-4.5h 比较接近。但最近 Karhu 等^[2]报道的曲唑酮缓释囊片和速释片的 T_{max} 中位数为 9.0 h 左右, 明显迟于其他研究者的报道和本研究数据,

估计与其制剂工艺类型不一样有关。

本试验未发现性别之间盐酸曲唑酮的药动学参数存在显著差别,这与文献^[3-6]报道一致。

本试验表明缓释片的单次与多次药动学参数之间没有明显差别;缓释片每24h给药一次,多次连续给药不发生明显蓄积,这与给药间隔时间接近或大于消除半衰期有关。

小结

所研究的75、150mg两种盐酸曲唑酮缓释片在25~150mg剂量范围内,呈现线性药动学特征;缓释片多次连续规律给药4天后达到稳态。缓释片24h给药一次,多次给药后无蓄积现象。缓释片在单次给药、多次给药时性别间药动学参数无明显差异。在所研究得25~150mg剂量范围内,缓释片的安全性较好。

参考文献

1. Marzo A, Uhr M.R, Crestani S, Dionisio P. A four-way, crossover, single dose study on trazodone hydrochloride administered as immediate- and controlled-release tablets (fasting and fed) 非公开发表资料
2. Karhu D, Gossen ER, Mostert A, Cronjé T, Fradette C. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of once-daily trazodone extended-release caplets in healthy subjects. *Int J of Clin Pharm and Therap.* 2011, 49 (12): 730-743
3. Anker SI, Martin BK, Rogers MS, Carpenter PK, Graham C. Trazodone-a new assay procedure and some pharmacokinetic parameters. *Br J Clin Pharmacol.* 1981, 11(5): 505-9.
4. Bayer AJ, Pathy MS, Anker SI. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of trazodone in the elderly. *Br J Clin Pharmacol.* 1983, 16(4): 371-6.
5. Nilsen OG, Dale O. Single dose pharmacokinetics of trazodone in healthy subjects. *Pharmacol Toxicol.* 1992, 71(2): 150-3.
6. Monteleone P, Delrio G. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of a controlled-release formulation of trazodone versus the conventional formulation in healthy volunteers. *Ital J Neurol Sci.* 1993, 14(6): 443-9.