骨化三醇软胶囊在中国健康志愿者体内的药动学及生物等效性

钱　红[1,2,3]，边　静[1,2,3]，陈阳生[4]，杜昌余[4]，张怀征[4]，徐智儒[1,2,3]*

（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 200437；3. 上海市生物物质成药性评价专业技术服务中心，上海 200437；4. 正大制药（青岛）有限公司，山东青岛 266071）

摘要：建立了高灵敏度的 LC-MS/MS 法检测人血浆中骨化三醇的含量，定量下限达到 20 pg/mL，能够满足临床检测的需求。采用随机、开放、三周期、三交叉的试验设计，对骨化三醇的受试制剂与市售参比制剂在 36 名中国健康志愿者体内的药动学特征进行比较，考察二者的生物等效性。健康志愿者空腹单次口服给予骨化三醇软胶囊（4.0 μg），受试制剂与参比制剂的主要药动学参数 t_{max} 分别为（3.46±1.33）和（2.92±1.47）h；$t_{1/2}$ 分别为（8.14±3.22）和（7.70±2.32）h；c_{max} 分别为（160.68±52.41）和（169.00±50.26）pg/mL。并且，受试制剂与参比制剂的血浆药物浓度变化趋势一致，主要药动学参数几何均值比 90％置信区间均在 80.00％～ 125.00％，表明受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

关键词：骨化三醇软胶囊；空腹；药物动力学；生物等效性

中图分类号：R969.1；R977.2+4　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2024）09-1236-08

引用：钱　红，边　静，陈阳生，等．骨化三醇软胶囊在中国健康志愿者体内的药动学及生物等效性［J］．中国医药工业杂志，2024, 55（9）: 1236-1243．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.09.010

Pharmacokinetic and Bioequivalence Studies of Calcitriol Soft Capsules in Healthy Chinese Volunteers

QIAN Hong[1,2,3], BIAN Jing[1,2,3], CHEN Yangsheng[4], DU Changyu[4], ZHANG Huaizheng[4], XU Zhiru[1,2,3]*

(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 200437; 3. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Druggability Evaluation, Shanghai 200437; 4. Qingdao Chia Tai Haier Pharmaceutical Co., Ltd., Qingdao 266071*)

ABSTRACT: A highly sensitive LC-MS/MS method was established for detecting calcitriol content in human plasma, with a lower limit of quantification of 20 pg/mL, which could meet the clinical detection needs. A randomized, open, three cycles, triple crossover design was used to investigate and compare the pharmacokinetic characteristics and bioequivalence between the tested preparation and the commercially available reference preparation of calcitriol in 36 healthy Chinese volunteers who were given a single oral administration of calcitriol soft capsules (at a dose of 4.0 μg) on an empty stomach. The results showed that the main pharmacokinetic parameters of the tested preparation and the reference preparation were as follows: t_{max} were (3.46±1.33) and (2.92±1.47) h, $t_{1/2}$ were (8.14±3.22) and (7.70±2.32) h, c_{max} were (160.68±52.41) and (169.00±50.26) pg/mL, respectively. The variance in plasma concentrations of the tested and the reference preparations showed the same trend. The geometric mean ratios of the main pharmacokinetic parameters were within the 90% confidence interval of 80.00% − 125.00% , indicating that the test and reference formulations were bioequivalent.

Key Words: calcitriol soft capsule; fasting; pharmacokinetics; bioequivalence

骨化三醇（calcitriol，**1**）是维生素 D_3 的重要活性代谢产物，由维生素 D_3 在肝脏和肾脏中经 2 次羟化得到，通过激活维生素 D 受体（vitamin D receptor，VDR）来调控骨骼、钙、磷酸盐代谢及免疫系统中数百个人类基因的表达[1—2]。当甲状旁腺上的钙敏感受体（calcium sensing receptor，CaSR）检测到低血清钙浓度时，会触发 G 蛋白偶联受体甲状旁腺激素（parathyroid hormone，PTH）分泌，从而激活 **1** 合成[3]。**1** 是目前临床治疗骨质疏松、低钙血症等疾病的常用药物，可与肾脏、肠道和骨骼中的 VDR 结合，通过促进肠道吸收、肾脏肾小管重吸收和骨骼释放来增加血钙水平，从而改善骨代谢、促进骨形成、增加骨密度[4—5]。此外，近年来研究发现，**1** 作为维生素 D_3 的活性产物对心肌梗死[6]、高血压[7]、肿瘤[8—9]等多种疾病也具有重要作用。**1** 可以降低细胞周期蛋白 D1（cyclin D1）和 *c-MYC* 基因的表达，以及人结直肠癌细胞中葡萄糖转运蛋白 1（glucose transporter 1，GLUT1）和关键糖酵解酶的表达，从而降低细胞外酸化率、增加耗氧率，抑制人结直肠癌细胞的生长[10]。有文献[11]报道 **1** 可通过调节自噬和 SITR1/NF-κB 通路，在鱼藤酮诱导的帕金森病 SD 大鼠模型中诱导神经保护和恢复作用。

临床上 **1** 的检测常使用 LC-MS/MS 法[12]、放射免疫分析法[13]与酶联免疫分析法[14]。由于人血浆中内源性 **1** 含量较低（20 ～ 80 pg/mL[13,15—16]），故 LC-MS/MS 检测前大多需要衍生化以提高灵敏度。而放射免疫分析法与酶联免疫分析法的准确度均不及 LC-MS/MS 法，且放射免疫分析法具有一定的放射性危害，对检测人员及试验场所的要求较高。

本研究建立了一种无需衍生化的 LC-MS/MS 法测定人血浆中 **1** 的含量，并以正大制药（青岛）有限公司研制的 **1** 软胶囊为受试制剂、瑞士罗氏制药公司［Roche Pharma（Schweiz）AG］生产的 **1** 软胶囊（商品名 Rocaltrol®）为参比制剂，考察 2 种制剂在中国健康志愿者体内的药动学特征并评价生物等效性，以期为其临床用药指导提供数据依据及试验支持。

收稿日期：2024-02-19

作者简介：钱 红（1997—），女，硕士研究生，专业方向：药物代谢动力学。

通信作者：徐智儒（1978—），女，博士，研究员，从事药物代谢动力学研究。

E-mail：xuzhiru@sinopharm.com

1 仪器与试药

ACQUITY Class 型超高效液相系统和 Xevo TQ-S 型质谱检测器（美国沃特世公司）；CP225D 型分析天平（德国赛多利斯公司）；MD200-2 型氮吹仪（江苏盛蓝仪器制造有限公司）。

1 软胶囊［受试（T）制剂，正大制药（青岛）有限公司，规格 0.5 μg，批号 1906151；参比（R）制剂（商品名为罗钙全 /Rocaltrol®），瑞士罗氏制药公司，规格 0.5 μg，批号 B2087B07］；**1** 对照品（European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care European Pharmacopoeia，批号 C0225000）；**1**-d_6［内标，加拿大 Toronto Research Chemicals 公司，化学纯度 95%，同位素纯度 96.2%，批号 16-UPA-68-2］；牛血清白蛋白［bovine serum albumin（BSA），国药集团化学试剂有限公司，批号 20151130］；脂肪乳剂（四川科伦药业股份有限公司）；硫酸锌七水合物、乙酸锂、氨水、异丙醇、乙酸、磷酸均为分析纯，甲醇为色清纯，水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱（2.1 mm×100 mm，1.7 μm）；流动相 A 为水（含 0.38 mmol/L 乙酸锂），B 为甲醇（含 0.38 mmol/L 乙酸锂），梯度洗脱（0—2 min，B 70 %；2—5.2 min，B 70%—100%；5.2—5.5 min，B 100%；5.5—5.6 min，B 100 % —70 %；5.6—7 min，B 70 %）；流速 0.25 mL/min；柱温 40 ℃；进样量 10 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子化源（ESI），多反应监测（multiple reaction monitorin，MRM）模式，正离子检测；源温度 120 ℃；雾化气体温度 400 ℃；毛细管电压 3.5 kV；用于定量分析的监测离子对 *m*/*z* 423.36→*m*/*z* 369.25（**1**），*m*/*z* 429.36→*m*/*z* 374.36（**1**-d_6）。

2.2 溶液配制及样品制备

稀释剂：90%甲醇水溶液。

对照品贮备液：精密称取 **1** 对照品适量，以甲醇溶解，用稀释剂稀释至 **1** 质量浓度为 1.0 mg/mL，

作为对照品贮备溶液。

校准工作液及质控工作液：取上述对照品贮备液，用稀释剂继续稀释得到 **1** 质量浓度为 2、5、10、15、20、50、80 ng/mL 的校准工作液及质量浓度为 4、24、64 ng/mL 质控工作液，置（－70±10）℃保存。

内标贮备液及内标工作液：取同位素内标 **1**-d_6 0.5 mg，加入稀释剂 2 mL 溶解并混匀，得内标贮备液，再用稀释剂稀释至 100 ng/mL，得内标工作液，分装后，置（－70±10）℃冷冻保存。

代基质（10％ BSA 溶液）：取 BSA 10 g，加水溶解，制得总体积为 100 mL 的水溶液（每次配制设置批号，不同时刻配制的代基质为不同批号）。

标准曲线及质控样品制备：取代基质 500 μL，加入内标工作液 5 μL，然后分别加入不同质量浓度的校准工作液（2、5、10、15、20、50、80 ng/mL）5 μL，混匀后即得不同质量浓度（20、50、100、150、200、500、800 pg/mL）的标准曲线样品；取人空白血浆（在志愿者服药前采集的未服用 **1** 的人空白血浆）500 μL，分别加入不同质量浓度（4、24、64 ng/mL）的质控工作液 5 μL，混匀后即得不同质量浓度（40、240、640 pg/mL）的质控样品，每次试验均于临用前配制。

选择性试验相关样品制备：空白代基质样品即代基质 500 μL；含内标的空白代基质样品为代基质 500 μL 中加入内标工作液 5 μL；定量下限（lower limit of quantification，LLOQ）样品为代基质 500 μL 加入内标工作液 5 μL，再加入 **1** 校准工作液（2 ng/mL）5 μL；不含内标的定量上限（upper limit of quantitation，ULOQ）样品为代基质 500 μL 中加入 **1** 校准工作液（80 ng/mL）5 μL；人空白血浆样品即人空白血浆 500 μL；含内标的人空白血浆样品为人空白血浆 500 μL 加入内标工作液 5 μL。

高脂血浆及溶血血浆：高脂血浆使用正常血浆加入脂肪乳剂配制（2％，体积比），溶血血浆使用正常血浆加入溶血的全血配制（2％，体积比）。

2.3　血浆样品的采集和处理

采用静脉留置针从受试者前臂静脉采集血样，每次采血 4 mL，所采全血样品置含肝素钠的采血管中，轻柔颠倒混匀，放置在避光的样品盒内，样品盒放置在碎冰上。血样应在采集后 1 h 内，4 ℃离心（4 300×*g*）10 min 收集血浆样品，所得血样于（－70±10）℃保存待测。

样品前处理时采用 2 mL 离心管，依次加入血浆 500 μL、水 5 μL、内标工作液 5 μL，混合 5 s；再加入 4％磷酸和 0.2 mol/L 硫酸锌的混合水溶液 500 μL，混合 2 min；离心（18 500×*g*）5 min，取上清液 950 μL，上样至已活化的 WCX SPE 小柱（规格 30 mg，美国沃特世公司）进行固相萃取（固相萃取柱预先采用甲醇 1 mL 与水 1 mL 活化与平衡），依次以 5％氨水、40％甲醇水溶液淋洗，再以乙酸、异丙醇和甲醇（体积比 1.5 ∶ 12.5 ∶ 37.5）的混合溶液洗脱，收集洗脱液，于 40 ℃氮气流吹干后用“**2.2**”项下的稀释剂 80 μL 复溶，再旋涡混匀，超声 10 min，离心（18 500×*g*）5 min，取上清液按“**2.1**”项下色谱和质谱条件进样分析。

2.4　数据统计

软件 UNIFY（版本 1.7.1.022）用于质谱检测数据的采集和处理；MaS（版本 1.5.2.14）用于计算药动学参数及生物等效性；血浆药物浓度 - 时间曲线采用 GraphPad Prism（版本 8.4.2）绘制。

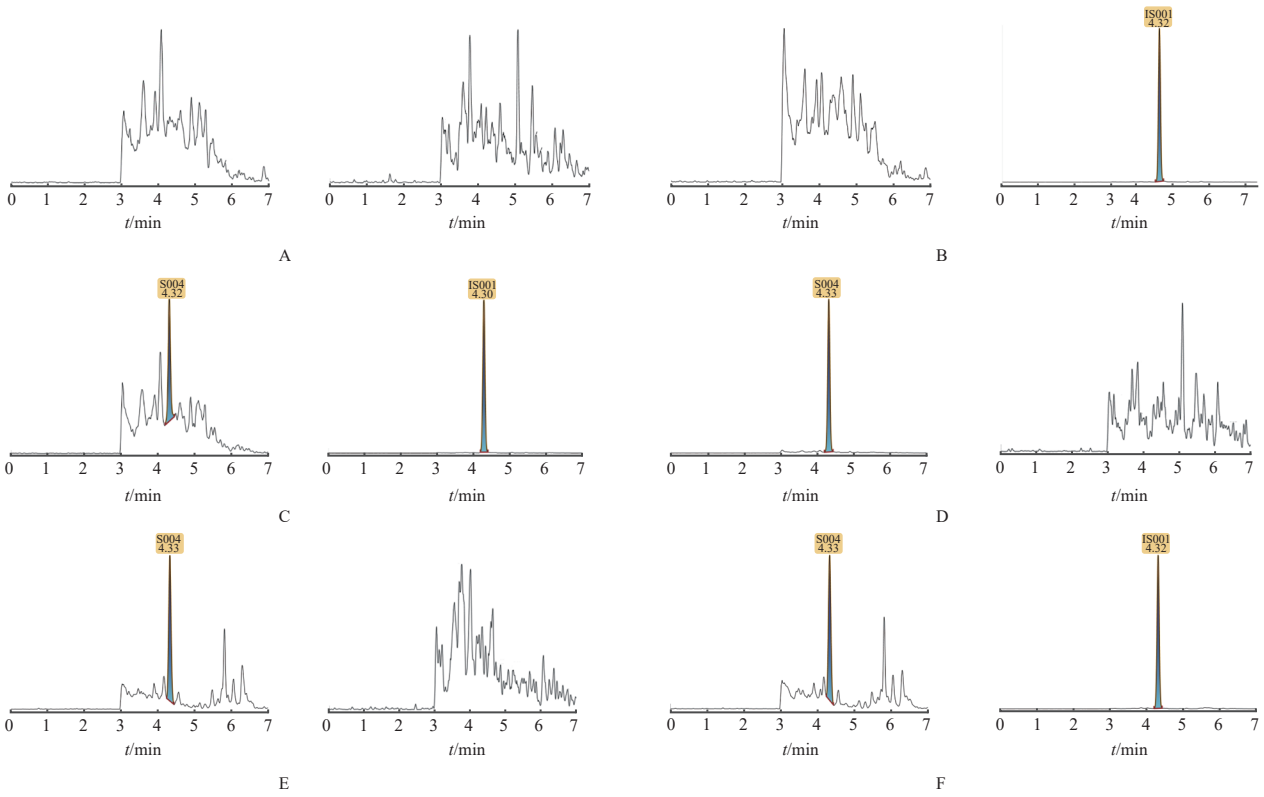
2.5　方法学验证

2.5.1　选择性试验

通过测定 6 个不同批号代基质（10％ BSA 溶液）分别配制的空白代基质样品，考察代基质对待测物与内标的干扰情况。并且，对含内标的空白代基质样品进行检测，以考察内标对待测物的干扰；对不含内标的 ULOQ 样品进行检测，以考察待测物对内标的干扰。另外取 6 份不同个体来源的人空白血浆，分别加入或不加内标，照“**2.3**”项下方法进行处理后再照“**2.1**”项下色谱质谱条件进样分析。结果如图 1 所示，6 个批号的代基质选择性良好，对待测物及内标均无干扰，6 份空白人血浆内标通道无干扰，待测物峰与干扰峰能够良好分离，表明该方法适用于人血浆中 **1** 的测定。

2.5.2　线性试验

取“**2.2**”项下标准曲线样品，按“**2.3**”项下



A—空白代基质样品；B—含内标的空白代基质样品；C—含内标的 LLOQ 样品；D—不含内标的 ULOQ 样品；E—人空白血浆样品；F—含内标的人空白血浆样品。

图 1 不同样品中 1（左）及内标（右）的色谱图

Fig.1 Chromatograms of Calcitriol (Left) and Internal Standard (Right) in Different Samples

方法处理后进样分析。以待测物质量浓度（c）为横坐标、待测物与内标物色谱峰的峰面积比值（R）为纵坐标，用加权最小二乘法进行回归运算（权重为 $1/c^2$），求得直线回归方程，即为标准曲线。

结果显示，人血浆中 **1** 质量浓度在 20～800 pg/mL 内线性关系良好，标准曲线回归方程为 R=0.001 24c+0.005 1（R^2=0.996 2）。

2.5.3 精密度和准确度

按“**2.2**”项下方法制备 LLOQ（20 pg/mL）及质控低、中、高质量浓度（40、240 和 640 pg/mL）的样品。每个分析批、每个浓度平行处理 5 份，LLOQ 样品采用代基质配制，质控低、中、高质量浓度样品采用人血浆配制。

批内准确度通过每个分析批内的样品进行评价；批间准确度通过 3 个独立分析批中的样品进行评价。准确度计算方法为回算质量浓度（LLOQ 样品的回算质量浓度为实测浓度，质控低、中、高质量浓度样品的回算质量浓度采用实测质量浓度扣除平行处理

表 1 批内准确度和精密度试验结果（n=5）

Tab.1 Results of Intra-accuracy and Intra-precision Tests (n=5)

理论浓度 /（pg·mL^{-1}）	批内 -1			批内 -2			批内 -3		
	回算质量浓度 /（pg·mL^{-1}）	RSD/%	准确度 /%	回算质量浓度 /（pg·mL^{-1}）	RSD/%	准确度 /%	回算质量浓度 /（pg·mL^{-1}）	RSD/%	准确度 /%
20	18.10±1.93	10.66	90.50	18.43±2.26	12.26	92.15	20.23±2.36	11.66	101.15
40	37.91±3.54	9.34	94.78	39.34±5.01	12.74	98.35	41.96±5.16	12.30	104.90
240	223.44±6.65	2.98	93.10	211.13±8.99	4.26	87.97	259.92±13.62	5.24	108.30
640	658.30±13.02	1.98	102.86	631.28±46.67	7.39	98.64	663.65±44.16	6.65	103.70

的 3 份人空白血浆样品中存在的内源性 **1** 质量浓度均值）与理论质量浓度的比值。以相对标准差（RSD）表示精密度，以相对回收率表示准确度。结果如表 1、2 所示。批内及批间质控低、中、高质量浓度样品均值的准确度在理论质量浓度的 85%～ 115%，LLOQ 样品的准确度在理论质量浓度的 80%～ 120%，且 RSD 在 15%以内，表明该方法准确度高、重复性好。

表 2　批间准确度和精密度试验结果（*n*=15）

Tab.2　Results of Inter-accuracy and Inter-precision Tests (*n*=15)

理论浓度 / ($pg·mL^{-1}$)	批间		
	回算质量浓度 / ($pg·mL^{-1}$)	RSD/%	准确度 /%
20	18.92±2.25	11.89	94.60
40	39.74±4.62	11.62	99.35
240	231.50±23.42	10.12	96.46
640	651.08±37.99	5.83	101.73

2.5.4　基质效应和提取回收率

取 6 份不同个体来源的健康人血浆，按“**2.2**”项下方法分别配制低、高质量浓度质控样品及人空白血浆样品进行基质效应试验，每个浓度水平平行处理 5 份进行验证。分别扣除健康人血浆中内源性 **1** 后，与无基质样品峰面积比较计算基质效应。另取溶血血浆与高脂血浆，分别配制低、高质量浓度质控样品及空白样品进行基质效应试验，每个浓度水平平行处理 5 份进行验证，考察特殊基质的基质效应情况。

结果显示，正常血浆与溶血血浆、高脂血浆样品，在低、高质量浓度情况下内标归一化的基质效应因子 RSD（*n*=5）均小于 15%，表明无明显基质效应影响。

配制低、中、高质量浓度质控样品及人空白血浆样品进行提取回收率试验。分别扣除人空白血浆中内源性 **1** 后，与基质处理后添加样品测得的峰面积比较，计算提取回收率。结果显示，低、中、高质量浓度样品的加样提取回收率的 RSD（*n*=5）均小于 15%。

2.5.5　稳定性试验

按“**2.2**”项下方法制备低、高质量浓度质控样品（分别记作 LQC 和 HQC），各 5 份，考察样品处理前与处理后于室温［即（22.5±2.5）℃］放置 4 h 时、冻融循环 3 次、（－70±10）℃冻存 60 d 的稳定性。结果显示，各质量浓度的 RSD（*n*=5）均不超过 15%，均值准确度在理论质量浓度的 85%～ 115%，表明在以上条件下 **1** 在样品中稳定性良好，数据如表 3 所示。

2.6　药动学及生物等效性研究

2.6.1　试验设计

有 36 名健康志愿者参与试验，年龄 18 ～ 65 周岁，性别不限，男性体质量≥ 50 kg，女性体质量≥ 45 kg，且体质量指数为 19 ～ 26 kg/m^2（含边界值），生命体征、体格检查、心电图和实验室检查结果均在正常值范围。本试验通过华中科技大学药物临床试验伦理委员会的审查批准并取得伦理批件，伦理批件号为［2019］伦审字（161）号；受试者了解试验目的、试验用药物的性质、试验的可能风险及自己的权益，自愿参加本试验，并自愿签署知情同意书。

基于前期预试验结果，参比制剂个体内变异大于 30%，正式试验设计采用参比制剂标度的平均生物等效性（reference-scaled average bioequivalence，RSABE）法。本研究采用随机、开放、半重复、三周期、三交叉设计，将受试者随机分 3 组，三周期分别以受试制剂（T）/ 参比制剂（R）/ 参比制剂（R）或 R/T/

表 3　样品稳定性试验结果（$\bar{x}\pm s$，*n*=5）

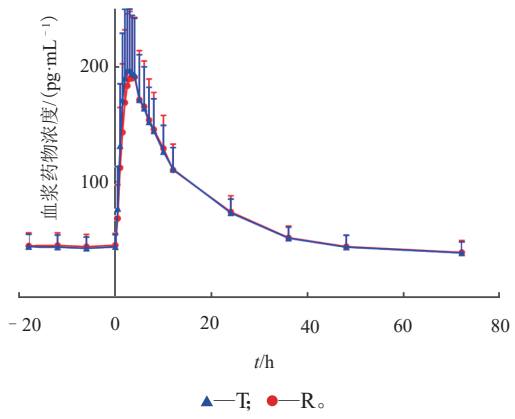
Tab.3　Stability Results of the Samples ($\bar{x}\pm s$, *n*=5)

数据类别	处理前室温放置 4 h		处理后室温放置 4 h		进样器放置 24 h		冻融循环 3 次		（－70±10）℃冻存 60 d	
	LQC	HQC	LQC	HQC	LQC	HQC	LQC	HQC	LQC	HQC
回算浓度 / ($pg·mL^{-1}$)	37.30±2.59	601.36±30.30	37.46±2.57	602.85±33.99	34.12±2.91	568.56±17.31	35.58±1.50	588.09±44.90	34.97±4.89	619.48±42.44
RSD/%	6.94	5.04	6.86	5.64	8.53	3.04	4.22	7.63	13.98	6.85
回收率 /%	93.25	93.96	93.65	94.20	85.30	88.84	88.95	91.89	87.42	96.79

R 或 R/R/T 服药，单次空腹口服 4.0 μg(8 粒)，服药前 －18、－12、－6、0 h 和服药后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、5、6、7、8、10、12、24、36、48、72 h 采集静脉血 4 mL。取 －18、－12、－6、0 h 时血浆中 **1** 的平均值为基线值，各时间点药物质量浓度实测值减去基线值即为服药后的血药浓度，当差值小于零时取零。试验流程设计如图 2 所示。

2.6.2 药动学试验结果

各制剂三周期血浆药物浓度 - 时间曲线如图 3 所示，主要药动学参数采用 MaS(版本 1.5.2.14) 非房室模型计算，结果如表 4 所示。受试制剂与参比制剂血浆药物浓度变化趋势一致。



▲—T; ●—R。

图 3 2 种制剂平均血浆药物浓度 - 时间曲线图

[T(*n*=36)，R(*n*=72)]

Fig.3 Mean Plasma Drug Concentration-time Curves of Two Formulations[T(*n*=36), R(*n*=72)]

表 4 2 种制剂的主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Main Pharmacokinetic Parameters of the Two Formulations ($\bar{x}\pm s$)

参数	R(*n*=72)	T(*n*=36)
t_{max}/h	3.46±1.33	2.92±1.47
$t_{1/2}$/h	8.14±3.22	7.70±2.32
c_{max}/(pg·mL^{-1})	160.68±52.41	169.00±50.26
$AUC_{0\to t}$/(h·pg·mL^{-1})	2 064.08±568.25	2 128.42±491.63

2.6.3 生物等效性结果

参比制剂主要药动学参数的个体内变异小于 30%，所以本次分析采用平均生物等效(average bioequivalence，ABE)方法评价生物等效性(等效界值 80%～125%)。主要药动学参数(c_{max}、AUC)经对数转换后进行方差分析，采用 MaS(版本 1.5.2.14)计算受试制剂与参比制剂主要药动学参数的几何均值比率的 90%置信区间。36 名健康志愿者分别服用受试与参比制剂后，主要药动学参数 c_{max} 和 $AUC_{0\to t}$、$AUC_{0\to\infty}$几何均值比的 90%置信区间在 80%～125%，表明受试制剂与参比制剂具有生物等效性，结果如表 5 所示。

3 讨论

1 为内源性物质，健康人体内水平为 20～80 pg/mL[13,15—16]。为了保证方法的准确度，本法设置最低定量限为 20 pg/mL。同时，为了消除内源性物质的干扰，常采用替代基质法或替代分析物法[17]。

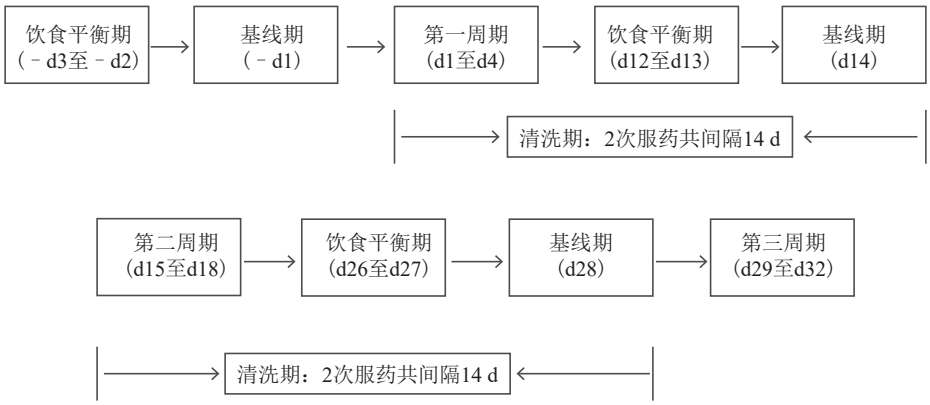


图 2 试验流程图

Fig.2 Test Flow Chart

表 5　c_{max}、AUC 经对数转化后的（1 – 2α）置信区间

Tab.5　The（1 – 2α）Confidence Intervals of c_{max} and AUC after Logarithmic Conversion

参数	T 的各参数均值	R 的各参数均值	T 与 R 的比率 /%	90%置信区间		R 参数的个体内变异 /%
				下限 /%	上限 /%	
c_{max}	159.20 pg/mL	149.58 pg/mL	106.43	100.47	112.73	19.18
$AUC_{0\rightarrow t}$	2 059.43 h·pg·mL^{-1}	1 968.61 h·pg·mL^{-1}	104.61	99.24	110.28	19.36
$AUC_{0\rightarrow \infty}$	2 138.18 h·pg·mL^{-1}	2 052.97 h·pg·mL^{-1}	104.15	99.39	109.14	17.37

本研究中采用替代基质法。根据文献[18—20]报道，内源性物质检测中 BSA 常用于血浆样品替代基质；经过试验探索，最终采用 10%　BSA 溶液为替代基质配制标准曲线样品。质控样品则使用正常人血浆，准确度采用标准曲线计算浓度扣除空白样品计算浓度后与标示值的比值来表示。

1 的 LC-MS/MS 测定通常采用乙酸铵[21]、甲酸[21—23]、乙酸锂[24—25]为流动相添加剂。本方法开发中评估了甲酸铵、乙酸铵、甲酸和乙酸锂作为流动相添加剂的灵敏度、选择性和色谱重现性，观察到将乙酸锂添加到 **1** 醇溶液中，在 ESI 模式下得到更稳定的加合锂离子的母离子和更高的离子响应。因此，流动相使用乙酸锂作为添加剂，并对乙酸锂的浓度进行优化，发现乙酸锂的最佳浓度为 0.38 mmol/L。

1 软胶囊的生物等效性研究结果显示，2 种制剂主要药动学参数几何均值比（受试制剂 / 参比制剂）及 90%置信区间均在 80%～ 125%，表明中国健康志愿者口服受试制剂（4 μg）与参比制剂 Rocaltrol®（4 μg）达到了生物等效性标准，且安全性和耐受性均较好。温清等[26]曾研究过 **1** 胶丸与市售罗钙全的生物等效性，与本研究使用同样的参比制剂，且给药剂量一致。对比 2 项研究可见，单次口服参比制剂后的达峰时间较为一致，均为 3 ～ 4 h，但 2 项研究中 c_{max}、$AUC_{0\rightarrow t}$ 相差较大，可能是检测方法不同所致。本研究使用 LC-MS/MS 检测血浆药物浓度，相较放射免疫测定法具有更高的准确度。

参考文献：

[1]　律立红，徐智儒．疾病的发生发展与骨化三醇体内水平间的相互影响及其相关机制［J］．世界临床药物，2018, **39**(10)：699-704．

[2]　OLSZEWSKA A M, SIERADZAN A K, BEDNARCZYK P, *et al*．Mitochondrial potassium channels: a novel calcitriol target［J］．*Cell Mol Biol Lett*, 2022, **27**(1)：3．

[3]　DONATI S, PALMINI G, AURILIA C, *et al*．Rapid nontranscriptional effects of calcifediol and calcitriol［J］．*Nutrients*, 2022, **14**(6)：1291．

[4]　杨盼盼，胡　俊，叶小青，等．骨化三醇联合骨疏康胶囊对骨质疏松症患者血清 OPG、BGP 水平的影响［J］．检验医学与临床，2023, **20**(22)：3383-3385．

[5]　LIAO R, YU M, JIANG Y, *et al*．Management of osteoporosis with calcitriol in elderly Chinese patients: a systematic review［J］．*Clin Interventions Aging*, 2014, **9**: 515-526．

[6]　YANG S, WANG C, RUAN C, *et al*．Novel insights into the cardioprotective effects of calcitriol in myocardial infarction［J］．*Cells*, 2022, **11**(10)：1676．

[7]　XU M L, YU X J, ZHAO J Q, *et al*．Calcitriol ameliorated autonomic dysfunction and hypertension by down-regulating inflammation and oxidative stress in the paraventricular nucleus of SHR［J］．*Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, **394**: 114950．

[8]　SELVARAJ N B, SWAROOP A K, MARIAPPAN E, *et al*．Effect of calcitriol in inhibiting the cancer cell growth and promoting apoptosis in ErbB2-positive breast cancer cells［J］．*Anticancer Agents Med Chem*, 2023, **23**(18)：2056-2071．

[9]　XING W, ZHANG Z, XU S, *et al*．Calcitriol inhibits lipopolysaccharide-induced proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells through suppressing STAT3 signal activation［J］．*Int Immunopharmacol*, 2020, **82**: 106346．

[10]　HUANG C Y, WENG Y T, LI P C, *et al*．Calcitriol suppresses warburg effect and cell growth in human colorectal cancer cells［J］．*Life*, 2021, **11**(9)：963．

[11]　MAGDY A, FARRAG E, HAMED S M, *et al*．Neuroprotective and therapeutic effects of calcitriol in rotenone-induced Parkinson's disease rat model［J］．*Front Cell Neurosci*, 2022, **16**: 967813．

[12]　SATOH M, ISHIGE T, OGAWA S, *et al*．Development and

validation of the simultaneous measurement of four vitamin D metabolites in serum by LC-MS/MS for clinical laboratory applications [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, **408**(27): 7617-7627.

[13] MUINDI J R, PENG Y, POTTER D M, *et al*. Pharmacokinetics of high-dose oral calcitriol: results from a phase 1 trial of calcitriol and paclitaxel [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2002, **72**(6): 648-659.

[14] JIN S, PARK J, KIM C. Pharmacokinetics of oral calcitriol in healthy human based on the analysis with an enzyme immunoassay [J]. *Pharm Res*, 2009, **60**(1): 57-60.

[15] KARRAS S N, SHAH I, PETROCZI A, *et al*. An observational study reveals that neonatal vitamin D is primarily determined by maternal contributions: implications of a new assay on the roles of vitamin D forms [J]. *Nutrition*, 2013, **12**(1): 77.

[16] BAILIE G R, JOHNSON C A. Comparative review of the pharmacokinetics of vitamin D analogues [J]. *Semin Dial*, 2002, **15**(5): 352-357.

[17] JENKINS R G. Accuracy: a potential quandary in regulated bioanalysis of endogenous analytes [J]. *Bioanalysis*, 2016, **8**(23): 2393-2397.

[18] YIN F, LING Y, MARTIN J, *et al*. Quantitation of uridine and L-dihydroorotic acid in human plasma by LC-MS/MS using a surrogate matrix approach [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, **192**: 113669.

[19] JIANG H, HSU F, FARMER M S, *et al*. Development and validation of LC-MS/MS method for determination of very long acyl chain (C22:0 and C24:0) ceramides in human plasma [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, **405**(23): 7357-7365.

[20] PENA I A, MARQUES L A, LARANJEIRA A B A, *et al*. Simultaneous detection of lysine metabolites by a single LC-MS/MS method: monitoring lysine degradation in mouse plasma [J]. *SpringerPlus*, 2016, **5**(1): 172.

[21] BEN-ELTRIKI M, HASSONA M, MECKLING G, *et al*. Pharmacokinetic interaction of calcitriol with 20(*S*)-protopanaxadiol in mice: determined by LC/MS analysis [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, **130**: 173-180.

[22] JENKINSON C, TAYLOR A E, HASSAN-SMITH Z K, *et al*. High throughput LC-MS/MS method for the simultaneous analysis of multiple vitamin D analytes in serum [J]. *J Chromatogr B*, 2016, **1014**: 56-63.

[23] STRATHMANN F G, LAHA T J, HOOFNAGLE A N. Quantification of 1alpha, 25-dihydroxy vitamin D by immunoextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Clin Chem*, 2011, **57**(9): 1279-1285.

[24] MAHLOW J, BUNCH D R, WANG S. Quantification of 1,25-dihydroxyvitamin D_2 and D_3 in serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, **1378**: 291-300.

[25] YUAN C, KOSEWICK J, HE X, *et al*. Sensitive measurement of serum 1α,25-dihydroxyvitamin D by liquid chromatography/tandem mass spectrometry after removing interference with immunoaffinity extraction [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, **25**(9): 1241-1249.

[26] 温 清, 王本杰, 郑秀英, 等. 骨化三醇人体生物等效性研究 [J]. 山东大学学报 (医学版), 2002, (6): 495-496.