

进食对健康受试者口服盐酸艾咪朵尔片剂药动学的影响

时正媛^{1,2}, 李扬^{2*}, 李可欣², 胡欣², 毕开顺¹, 陈晓辉¹ (1. 沈阳药科大学, 沈阳 110016 2. 卫生部北京医院临床药理室, 北京 100730)

摘要:目的 比较研究在进食和空腹状态下中国健康受试者口服盐酸艾咪朵尔的药动学。方法 采用随机交叉给药方案, 10名健康受试者进食或空腹单剂量口服 400 mg 盐酸艾咪朵尔, 用高效液相色谱-串联质谱法测定血浆中艾咪朵尔的浓度, 用 DAS2.0 软件计算其主要药动学参数, t 检验比较组间差异。结果 空腹和餐后单剂量给药的药时曲线均符合二室模型, 10名健康受试者在进食和空腹状态下单次口服盐酸艾咪朵尔 400 mg 的主要药动学参数峰浓度 ρ_{\max} 分别为 (472.59 ± 455.09) 和 (1 163.78 ± 557.67) ng · mL⁻¹, 达峰时间 t_{\max} 分别为 (1.3 ± 1.1) 和 (0.73 ± 0.22) h, 消除半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 (12.02 ± 7.51) 和 (7.44 ± 3.39) h, 药-时曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 (945.5 ± 711.44) 和 (1 636.93 ± 706.34) ng · mL⁻¹ · h⁻¹。进食状态下的 ρ_{\max} 和 $AUC_{0-\infty}$ 分别为空腹状态的 40.61% 和 57.75%, 而 t_{\max} 、 $t_{1/2}$ 无显著性差异。结论 进食影响艾咪朵尔的吸收量, 临床使用该药物时空宜空腹服用。

关键词: 盐酸艾咪朵尔; 药动学; 食品药物相互作用; 液质联用法

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2011)22-1749-04

Influence of Food Intake on Pharmacokinetics of Imidol Hydrochloride Tablet in Healthy Subjects

SHI Zheng-yuan^{1,2}, LI Yang^{2*}, LI Ke-xin², HU Xin², BI Kai-shun¹, CHEN Xiao-hui¹ (1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Department of Clinical Pharmacology Beijing Hospital Beijing 100730, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the differences of pharmacokinetics of imidol hydrochloride administered with food and in fasted state in healthy Chinese volunteers. **METHODS** Ten healthy volunteers were given imidol hydrochloride tablet 400 mg with food or in fasted state by a random crossover study design. The concentration of imidol in human plasma was determined by HPLC-MS/MS. The main pharmacokinetic parameters were calculated with DAS2.0 software. **RESULTS** The concentration-time profile of imidol fitted to two compartment model and the pharmacokinetic parameters were: ρ_{\max} (472.59 ± 455.09) and (1 163.78 ± 557.67) ng · mL⁻¹, t_{\max} (1.3 ± 1.1) and (0.73 ± 0.22) h, $t_{1/2}$ (12.02 ± 7.51) and (7.44 ± 3.39) h, $AUC_{0-\infty}$ (945.5 ± 711.44) and (1 636.93 ± 706.34) ng · mL⁻¹ · h⁻¹, respectively. ρ_{\max} and $AUC_{0-\infty}$ of imidol administered with food were 40.61% and 57.75% of that in fasted state, respectively. **CONCLUSION** Food affects the exposure of imidol. It is suggested that imidol should be taken in fasted state.

KEY WORDS: imidol hydrochloride; pharmacokinetics; food-drug interactions; HPLC-MS/MS

盐酸艾咪朵尔(Imidol Hydrochloride)是新型抗病毒药物,它对体外及实验性感染动物体内的乙型肝炎病毒(HBV)有较强的抑制作用^[1]。在完成所有临床前药理学、药理、毒理、药代等方面的研究后,经国家食品药品监督管理局批准进行盐酸艾咪朵尔的I期临床试验。

本试验采用高效液相串联质谱法测定艾咪朵尔的血药浓度,比较进食和空腹状态下单剂量口服盐酸艾咪朵尔的药动学差异,为临床合理用药提供依据。

1 仪器与试剂

艾咪朵尔对照品(天津金泰源生物医药科技开发有限公司,纯度 99.7%,批号 20090801-1);内标物:左黄皮酰胺(中国医学科学院药物研究所,纯度 100%,批号 2002-4-01);受试制剂盐酸艾咪朵尔片(规格 100 mg,天津金泰源生物医药科技开发有限公司,含量:104.9%,批号 20090901)。乙腈、甲醇为色谱纯,乙酸为质谱专用,超纯水由 Milli Q® A10 Synthesis 纯化系统制备(美国 Millipore 公司)。Alliance HT2795 高效液相色谱仪(美国 Waters

基金项目: 十一五科技重大专项“重大新药创制”资助项目(2008ZX09312-005)

作者简介: 时正媛,女,博士研究生 研究方向: 体内药物分析 * 通讯作者: 李扬,女,主管药师 研究方向: 临床药理学研究 Tel/Fax: (010) 85133632 E-mail: zhengyuan1234@yahoo.com.cn

公司); Mricromass Quattro Premier 电喷雾串联四极杆质谱仪; Masslynx™4.1 数据处理系统(美国 Waters 公司); BAKER spe-12G 固相萃取系统 Waters Oasis® HLB 固相萃取小柱(30 mg); CM-100 涡旋混合器(日本 EYELA 公司); D-37520 Biofuge 高速离心机(德国 Kendro 公司); GS-6KR 低温离心机(美国 Beckman 公司); AT201 分析天平(瑞士 METTLER-TOLEDO 公司); 超低温冰箱(美国 Revco 公司)。色谱柱:美国 Waters 公司 Xbridge™C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm 3.5 μm)。

2 方法与条件

2.1 色谱条件

美国 Waters 公司 Xbrige 色谱柱(2.00 mm × 50 mm 3.5 μm), 采用梯度流动相: A: 0.1% 乙酸的乙腈; B: 0.1% 乙酸的水。梯度洗脱程序: 0~2 min 时间段时, A: B(以下同) 从 20:80 比例曲线上升至 95:5(曲线系数为 3); 2~4 min 时间段时, 维持 95:5 比例不变; 4~8 min 时间段时, 维持 20:80 比例不变。整个分析时间 8 min, 梯度流速恒定为 0.25 mL · min⁻¹。

2.2 质谱条件

ESI 离子源, 正离子扫描; 毛细管电压 3.5 kV; 离子源温度 110 °C; 脱溶剂气为氮气, 温度为 450 °C, 流速为 600 L · h⁻¹; 雾化气也使用氮气, 流速为 50 L · h⁻¹; 碰撞气(Ar) 流速 0.24 mL · min⁻¹; 采用多反应离子监测(MRM) 模式, m/z 517.8 → m/z 325(艾咪朵尔), m/z 298 → m/z 174(左黄皮酰胺, 内标)。

2.3 对照品溶液的配制

精密称取艾咪朵尔对照品 20 mg, 置于 100 mL 棕色量瓶中, 滴加甲醇使其完全溶解, 然后用甲醇定容至刻度, 得质量浓度为 200 μg · mL⁻¹ 的艾咪朵尔储备液。精密量取储备液适量, 用乙腈-水(1:4) 作为稀释溶液, 将此储备液稀释成各浓度的标准系列溶液, 置 4 °C 冰箱中储存。

精密称取左黄皮酰胺 2 mg, 置于 100 mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 得质量浓度为 20 μg · mL⁻¹ 储备液, 用乙腈-水(1:4) 将此储备液稀释成 400 ng · mL⁻¹ 的内标溶液, 置 4 °C 冰箱中储存。

2.4 血浆样品的处理

向每 500 μL 血样中加入 400 ng · mL⁻¹ 的内标溶液 20 μL, 涡旋 30 s 混匀, 13 000 r · min⁻¹ 离心 5 min 备用。用 Waters OASIS® HLB 固相萃取小柱进行生物样品的预处理。固相萃取小柱临用前依次

用甲醇 1 mL 和水 1 mL 进行淋洗活化, 精密取 500 μL 上述备用样品上样, 然后用 5% 甲醇溶液 1 mL 淋洗, 弃去, 最后采用 90% 的甲醇水溶液(含 1% 乙酸) 500 μL 洗脱, 收集的洗脱液放置在 4 °C 的自动进样器中进样, 进样体积为 10 μL。

2.5 方法的专属性

分别取 6 名受试者的空白血浆 500 μL, 除不加内标外, 其他按“2.4”项下操作, 进样 10 μL; 将一定浓度下的标准溶液和内标加入空白血浆中, 按“2.4”项下操作。取一受试者给药后 2 h 的血浆样品, 按“2.4”项下进行操作。

2.6 线性关系考察

于 1.5 mL 离心管中依次加入人空白血浆 450 μL、标准工作液 50 μL, 得到含艾咪朵尔标示质量浓度分别为 0.2, 0.5, 2, 5, 10, 20, 100, 200, 500 ng · mL⁻¹ 的模拟血浆样品。按“2.4”项下处理后进样分析, 建立标准曲线。

2.7 绝对回收率与基质效应

以空白血浆配制 0.5, 20, 100, 400 ng · mL⁻¹ 4 种质量浓度的艾咪朵尔模拟生物样品, 每个浓度各 5 份, 按“2.4”项下样品前处理项处理后进样, 得到峰面积设为 C; 另取空白基质适量按“2.4”项下样品前处理项处理后, 加入艾咪朵尔标准工作液适量配制成各 QC 浓度的样品溶液后进样, 得到峰面积设为 B; 再取流动相溶液适量, 加入艾咪朵尔标准工作液适量配制成各 QC 浓度的样品溶液后进样, 得到峰面积设为 A。计算艾咪朵尔在血浆的绝对回收率 = C/B × 100%, 基质效应 = B/A × 100%。

2.8 准确度与精密度

用空白血浆配制 0.5, 20, 100, 400 ng · mL⁻¹ 4 种浓度的艾咪朵尔模拟生物样品, 按“2.4”项下方法处理后进样, 由标准曲线求出各样品的浓度, 各点浓度测定 5 次, 将求得的浓度与已知加入浓度相比, 计算相对回收率。连续测定 5 d(n=5), 计算日内、日间精密度。

2.9 稳定性考察

冻融稳定性: 在空白血浆中精密加入艾咪朵尔储备液适量, 使成 0.5, 20, 100, 400 ng · mL⁻¹ 4 个质量浓度的对照品血浆, 放入 -70 °C 冰箱中, 分别在 0, 24, 48, 72 h 取出, 融化, 按“2.4”方法处理进样。

自动进样器温度(4 °C) 下稳定性: 在空白血浆中精密加入艾咪朵尔储备液适量, 使成 0.5, 20, 100, 400 ng · mL⁻¹ 4 个浓度的对照品血浆, 按“2.4”方法处理, 放置于自动进样器中, 分别在 0, 4, 8, 16,

24 h 测定。

2.10 稀释方法学

取空白血浆并精密加入艾咪朵尔标准工作液使成 $1\ 000\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品。精密吸取 $1\ 000\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品以空白血浆分别稀释 10 倍,使成 $100\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品 5 份。按“2.4”项处理后进样,由标准曲线求出各样品的浓度,将测得的浓度与已知加入浓度相比,考察用空白基质稀释样本的准确性和可行性。

2.11 药动学研究

年龄 18~40 岁的健康受试者 10 人,采用随机交叉试验设计,随机分为 2 组,每组 5 人,体重指数 (BMI) 在 19~25 之间, $\text{BMI} = \text{体重}(\text{kg}) / \text{身高}^2(\text{m}^2)$ 。试验前均接受全面体检,各项检查均属正常。试验前 2 周内未服用过任何其他处方药或非处方药。试验期间禁烟、酒及含咖啡因的饮料,避免剧烈运动,所有受试者均签写了知情同意书。试验方案经伦理委员会批准。

10 名受试者于试验前 12 h 开始禁食。试验当日清晨给药,一组空腹服药,另一组给药前 30 min 给予高脂营养早餐(鸡蛋 120 g,花生油 20 g,面包 75 g,酱牛肉 50 g,黄油 20 g,稻米 15 g),用 200 mL 温开水送服,服药后 4 h 进统一餐。清洗 2 周后 2 组交叉进行。所有受试者服药后至少 4 h 受试者应坐立休息而不能躺卧休息或做剧烈运动。

所有血样通过插在前臂的留置插管收集。每次抽取血样 4 mL。单次给药组取血时间点如下:服药前及服药后 0.17, 0.25, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 h 共 14 个取血点。每一管血样抽取后应立即轻轻颠倒几次以确保管内物的混合。将血样管垂直放在试管架上,并于 30 min 内将血样在 $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心分离 10 min。将约 1.5 mL 血浆转移至离心管中,储存在 $\leq -70\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中待分析。血药浓度数据用统计软件 DAS2.0 处理,SPSS11.5 用于统计分析、*t* 检验、方差分析。

表 1 艾咪朵尔回收率、基质效应及精密度结果, $n = 10\ \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Recovery, matrix effect and precision of imidol, $n = 10\ \bar{x} \pm s$

Added / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	Relative recovery /%	Absolute recovery /%	Matrix effect /%	Precision RSD/%	
				Intra-day	Inter-day
0.5	94.00 \pm 9.27	64.39 \pm 7.00	93.34 \pm 4.96	9.87	7.53
20	93.82 \pm 5.27	81.42 \pm 7.38	98.86 \pm 4.40	5.62	5.3
100	90.78 \pm 5.06	76.35 \pm 3.30	80.71 \pm 2.81	5.57	6.59
400	91.26 \pm 4.09	68.73 \pm 7.46	83.02 \pm 1.92	4.48	7.55

3 结果

3.1 方法的专属性

在“2.1”, “2.2”条件下,艾咪朵尔出峰时间在 2.51 min 左右,左黄皮酰胺出峰时间在 2.72 min 左右,峰形良好,空白血浆中杂质对两者的测定无干扰,色谱图见图 1。

3.2 线性关系考察

以样品与内标峰面积比 (*R*) 对样品的质量浓度 (ρ) 以加权最小二乘法进行线性回归,求得艾咪朵尔的典型回归方程为: $R = 0.067\ 9\rho + 0.002\ 5$, $r = 0.997\ 4$ 。结果表明,艾咪朵尔血药浓度在 $0.2 \sim 500\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好,定量下限为 $0.2\ \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3.3 绝对回收率与基质效应

绝对回收率与基质效应结果见表 1。基质效应值 80.71%~98.86%,不影响试验的样品测定。

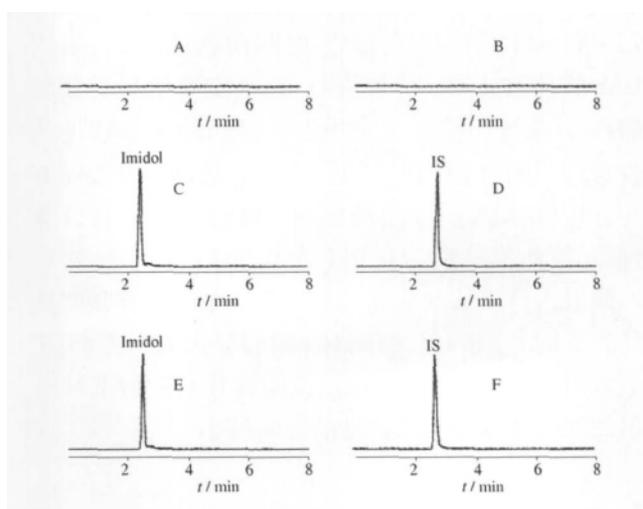


图 1 人血浆中艾咪朵尔和左黄皮酰胺(内标)色谱图

A, B - 空白血浆; C, D - 空白血浆加艾咪朵尔和内标; E, F - 受试者服药后 2 h 血浆样品图

Fig. 1 Chromatograms of imidol and (-)-clausenamide (IS) in human plasma

A, B - chromatograms of blank plasma; C, D - blank plasma spiked with imidol and (-)-clausenamide (IS); E, F - plasma sample collected 2 h after the administration of imidol hydrochloride

3.4 准确度与精密度

精密度与相对回收率结果见表 1。

3.5 稳定性考察

冻融稳定性: 4 种浓度下 5 次测定的 RSD 分别为 5.47%、5.86%、4.06%、5.76%。

自动进样器温度(4 °C)下稳定性: 4 种浓度下 4 次测定的 RSD 分别为 6.69%、2.54%、1.96%、3.64%。可见, 对照品血浆的冰冻稳定性及自动进样器温度下的稳定性较好, 能够满足样品测定的需要。

3.6 稀释方法学

测定的 RE% 与 RSD% 均在 ±5% 之内, 准确度与精密度符合方法学要求, 超过标准曲线最高定量限的受试者血浆样品可用空白血浆稀释后进行测定。

3.7 药动学研究

10 名健康受试者进食和空腹口服盐酸艾咪朵尔 400 mg 的平均血药浓度-时间曲线见图 2。采用 DAS 软件对药动学参数进行拟合, 空腹组与进食组的药-时曲线均符合二室模型。对药动学参数进行自身对照配对 *t* 检验, 结果见表 2。药动学参数经方差分析后, AUC_{0-t} 、 ρ_{max} 经配对 *t* 检验显示均有显著性差异 (*P* 值分别为 0.011 和 0.004), 提示食物可以降低人体对盐酸艾咪朵尔的吸收量。进食和空腹状态下的 t_{max} 和 $t_{1/2}$, 经配对 *t* 检验显示均无差异 (*P* 值分别为 0.179 和 0.055), 说明食物对盐酸艾咪朵尔的吸收速度和消除速度的影响较小。

4 讨论

盐酸艾咪朵尔片剂是化学药品 1.1 类新药, 本试验按《化学药品临床药代动力学研究指导原则》的要求^[2], 建立了测定人血浆中艾咪朵尔的 HPLC-MS/MS 方法, 在健康受试者中考察了进食对盐酸艾咪朵尔片剂药动学的影响。

在整个药动学研究过程中, 没有发现严重不良反应。所有的单剂量药动学研究过程中的安全性与其他耐受性试验得到的结果基本一致, 并进一步验

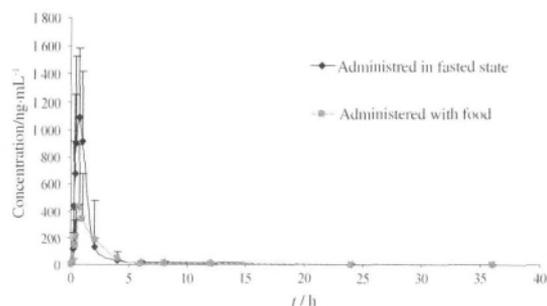


图 2 受试者进食和空腹口服艾咪朵尔 400 mg 的平均血药浓度-时间曲线. $n = 10 \bar{x} \pm s$

Fig. 2 The mean plasma concentration-time curves of imidol hydrochloride tablets administered with food and in fasted state. $n = 10 \bar{x} \pm s$

表 2 受试者空腹或餐后口服艾咪朵尔 400 mg 的平均药动学参数. $n = 10 \bar{x} \pm s$

Tab. 2 Main pharmacokinetic parameters of imidol hydrochloride tablets administered with food and in fasted state. $n = 10, \bar{x} \pm s$

Parameter	Administered in fasted state	Administered with food	<i>P</i>
$\rho_{max} / \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	1 163.78 ± 557.67	472.59 ± 455.09	< 0.01
t_{max} / h	0.73 ± 0.22	1.3 ± 1.1	> 0.05
$t_{1/2z} / \text{h}$	7.44 ± 3.39	12.02 ± 7.51	> 0.05
$AUC_{0-t} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	1 636.93 ± 706.34	945.5 ± 711.44	< 0.05
$AUC_{0-\infty} / \text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	1 648.44 ± 709.33	961.36 ± 707.73	< 0.05

证了本药的安全性。

本试验结果显示, 进食影响盐酸艾咪朵尔体内药动学特征, 进食后给药其药动学参数偏低并标准差变大, 引起 ρ_{max} 和 AUC 降低为 40.61% 和 57.75%, 提示临床应用此药时宜空腹服用。这种影响是否会引引起临床疗效上的差异, 有待进一步的深入研究。

REFERENCES

- [1] GONG P, ZHAO Y F. 5-hydroxyindole-3-carboxylate derivatives and uses: China 05714831.4 [P]. 2005-09-22.
- [2] SFDA. GCL1-2 (化学药物临床药代动力学研究技术指导原则) [S]. 2005: 2-11.

(收稿日期: 2011-03-02)

《中国药理学杂志》为我国中文核心期刊