

伊曲康唑在健康人体内的药动学研究

李忠亮 王晓波 张治然 袭荣刚

[摘要] 目的 研究健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊的药动学。方法 健康志愿者 20 名,男、女各半,单剂量口服伊曲康唑胶囊 200 mg,采用 HPLC 法测定血浆中伊曲康唑的含量。用 DAS2.0 软件处理数据,用 SPSS10.0 软件对不同性别受试者药动学参数进行统计分析。结果 受试者单剂量口服 200 mg 伊曲康唑的主要药动学参数: $C_{\max}$ 为 $(0.18 \pm 0.05) \mu\text{g/ml}$, $t_{\max}$ 为 $(3.81 \pm 0.35) \text{h}$, $t_{1/2}$ 为 $(16.82 \pm 1.92) \text{h}$, $\text{AUC}_{0-72\text{h}}$ 为 $(2.63 \pm 2.41) \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(3.16 \pm 2.19) \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, Ke 为 $(0.14 \pm 0.05) \text{h}$ 。结论 健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊的体内药动学过程符合一室模型。不同性别受试者的主要药动学参数 $C_{\max}$, $t_{1/2}$, Ke 均无显著性差异。

[关键词] 伊曲康唑; HPLC; 药动学

[中图分类号] R969.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1008-9926(2012)01-029-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2012.01.07

Study on Pharmacokinetics of Itraconazole in Healthy Volunteers

LI Zhong-liang, WANG Xiao-bo, ZHANG Zhi-ran, XI Rong-gang

Department of Pharmacy, Hospital 210 of PLA, Dalian 116021, China

[Abstract] **Objective** To study the pharmacokinetics of itraconazole capsules after a single oral dose in healthy volunteers. **Methods** Ten healthy male volunteers and ten healthy female volunteers were involved in the study. Each subject received a single dose of 200 mg itraconazole capsules. The plasma concentration was determined by HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.0 software and statistically analyzed by SPSS 10.0 software. **Results** The main pharmacokinetic parameters were as follows: $C_{\max}$ was $(0.18 \pm 0.05) \mu\text{g/ml}$, $t_{\max}$ was $(3.81 \pm 0.35) \text{h}$, $t_{1/2}$ was $(16.82 \pm 1.92) \text{h}$, AUC_{0-72} was $(2.63 \pm 2.41) \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ was $(3.16 \pm 2.19) \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ and Ke was $(0.14 \pm 0.05) \text{h}$. **Conclusion** The plasma concentration-time curve of itraconazole conformed to one-compartment model. The main pharmacokinetic parameters of $C_{\max}$, $t_{1/2}$ and Ke were not significantly different between male and female volunteers.

[Key words] itraconazole; HPLC; pharmacokinetics

伊曲康唑具有广谱的抗菌活性,它通过抑制真菌细胞膜的必需成分麦角固醇的合成而抑制真菌生长。正常情况下麦角固醇的前体羊毛甾醇在真菌细胞色素 P450(CYP)催化下,进行 14α -去甲基代谢。伊曲康唑在基底结合部和真菌 CYP 交互作用,阻断其去甲基作用,使羊毛甾醇、 14α -甲基甾醇蓄积在细胞膜上。麦角固醇合成受损导致真菌细胞膜的通透性改变,致使其细胞膜上酶的活性和壳多糖合成受阻^[1]。

本文采用 HPLC 法测定健康人群血浆中伊曲康唑的含量,并进行药动学研究,从而为临床应用提供药动学参考数据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-10ATvp 高效液相色谱仪,包括 Sil-10ADvp 自动进样器,SPD-10Avp 紫外检测器,Class-VP 色谱工作站(均为日本岛津制作所),Kromasil C₁₈柱(瑞典 AKZO NOBEL 公司);TGL-16M 台式高速冷冻离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器有限公司);TG328A 型分析天平(上海精密科学仪器有限公司);MTN-2800W 氮吹浓缩装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

1.2 试药 伊曲康唑胶囊(规格:0.1 g/粒,西安杨森制药有限公司,批号:060315986);伊曲康唑标准品、联苯标准品内标物(均由中国药品生物制品检定所提供);甲醇和乙腈为色谱纯,其余均为分析纯,水为二次重蒸水;空白人血浆(由本院输

作者简介:李忠亮,硕士,主管药师。研究方向:药代动力学。E-mail: lizhongliang210@126.com

作者单位:116021 辽宁大连,解放军 210 医院药剂科

血科提供)。

2 方法和结果

2.1 受试者选择 选择健康受试者 20 名,男、女各半,平均年龄为 (23.1 ± 1.3) 岁,平均体质量为 (58.4 ± 3.3) kg,平均身高为 (159.8 ± 3.5) cm。体格检查示肝、肾功能无异常,不吸烟、不嗜酒。女性健康志愿者受试时间避开月经、妊娠及哺乳期。试验前 2 周内未服用任何其他药物。受试者均签署知情同意书,临床试验方案经解放军 210 医院医学伦理委员会批准。

2.2 给药方案 采用单剂量给药。受试者于试验前一天晚餐后开始禁食不禁水,于试验日晨,空腹口服伊曲康唑胶囊 200 mg,温开水 200 ml 送服,服药 2 h 后,可自由饮水;4 h 后,进统一清淡低脂饮食。服药期间禁烟、酒和含咖啡因类饮料,避免剧烈运动和长时间卧床。

2.3 血样采集 受试者于服药前(0 h)和服药后 0.5、1、2、3、4、5、6、8、12、24、48、72 h 于肘静脉取血 5 ml,置肝素化试管中,3500 r/min(离心半径为 15 cm)离心 10 min,分离血浆,置 -70°C 冰箱保存待测。

2.4 血药浓度测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(10:55:35, V:V:V);流速:1.0 ml/min;紫外检测波长:263 nm;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μl 。

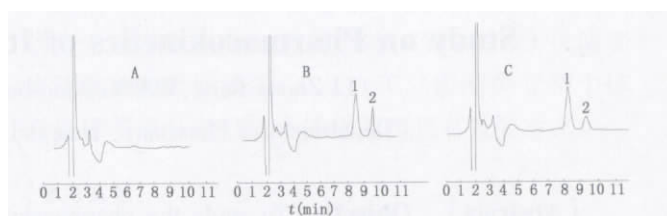
2.4.2 溶液的制备 (1) 内标溶液 精密称取联苯对照品 1.0 mg,置 500 ml 量瓶中,加乙腈-水溶液(70:30, V:V)定容,制成 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 内标溶液,置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。(2) 伊曲康唑贮备液 精密称取伊曲康唑对照品 10.0 mg,置 100 ml 量瓶中,用甲醇定容,制成 100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 伊曲康唑贮备液。精密量取伊曲康唑贮备液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、5.0、20.0 ml 置 100 ml 量瓶中,用甲醇定容,即得 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、5.0、20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 系列浓度标准品溶液。

2.4.3 样品预处理 精密量取血浆 500 μl ,置 10 ml 离心管中,精密加入 1 mol/L 磷酸氢二钾溶液 100 μl 与内标溶液 100 μl ,涡旋 30 s,再加入正己烷-二氯甲烷溶液(70:30, V:V) 3 ml,振荡混合 8 min,离心 10 min(4000 r/min,离心半径为 15 cm),提取有机层,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气流吹干,残渣用乙腈-水溶液(70:30, V:V) 150 μl 复溶,离心

3 min(1.0×10^4 r/min,离心半径为 15 cm),取上清液 20 μl 进行分析。

2.5 数据处理 采用 SPSS 10.0 软件进行 t 检验和配对 t 检验,用 DAS 2.0 程序计算其主要药动学参数,以 AIC 值作为模型识别指标。采用梯形法计算 $\text{AUC}_{0-72\text{h}}$ 值, t_{max} 和 C_{max} 均为实测值。以 $P < 0.05$ 为具有显著性差异。

2.6 方法专属性 依据 2.4.1 项下色谱条件,药物、血浆中内源性杂质和内标物分离完全,峰形良好,无拖尾现象,见图 1。其中伊曲康唑保留时间约为 8.3 min,内标联苯的保留时间约为 9.5 min,分离度大于 1.5。



A: 空白血浆; B: 空白血浆 + 伊曲康唑标准品 + 内标联苯;

C: 受试者血浆样品 + 内标联苯; 1: 伊曲康唑; 2: 联苯

图 1 血浆中伊曲康唑 HPLC 图

2.7 标准曲线制备及定量下限 分别精密量取 2.4.2(2) 项下伊曲康唑系列标准溶液 100 μl ,按 2.4.3 项下方法制成血浆中含伊曲康唑分别为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0 和 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血浆样品,进行 3 样本色谱分析,以伊曲康唑的峰面积与内标峰面积比(R)对浓度(C)进行线性回归,得血浆标准曲线方程为:

$$R = 0.8929 C - 0.0105, r = 0.9992$$

线性范围为 0.05 ~ 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。按上述条件测得血浆中伊曲康唑的定量下限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.8 回收率与精密度试验 精密量取空白血浆 500 μl 9 份,均分为 3 组,每组分别精密加入 0.25、2.5、20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 伊曲康唑标准溶液 100 μl ,制成相当于伊曲康唑血浆浓度分别为 0.05、0.50 和 4.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的低、中、高 3 个浓度样品,将血样按 2.4.3 项下方法处理后作高效液相色谱分析,每一浓度进行 5 样本分析,将所得的药物峰面积与内标峰面积的比值代入标准曲线方程,计算方法回收率。取上述各浓度血样于日内分别测定 5 次,连续 5 d,计算日内和日间精密度,结果见表 1。

2.9 稳定性试验 同 2.8 项下方法配制低、中、高 3 个浓度(0.05、0.50 和 4.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 血浆样品,每个浓度 3 份,分别考察其在室温放置 24 h;在 -70°C

表 1 精密度及回收率试验结果($\bar{x} \pm s$ $n = 5$)

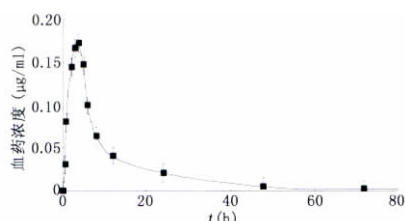
浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	精密度 RSD(%)		方法回收率 (%)	RSD (%)
	日内	日间		
0.05	4.31	4.07	94.1 $\pm$ 3.3	4.6
0.50	3.77	3.25	89.3 $\pm$ 1.9	4.8
4.00	2.75	2.84	105.6 $\pm$ 3.7	3.7

冰箱冷冻,反复冻融 3 次; -70°C 冷冻保存 17 d 的稳定性。按 2.4.3 项下方法操作,结果显示 RSD 均小于 10%,见表 2,表明血浆中伊曲康唑在室温、反复冻融以及长期冷冻条件下稳定性均较好。

表 2 血浆中伊曲康唑稳定性试验($\bar{x} \pm s$ $n = 3$)

浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	室温放置 24h		反复冻融 3 次		冷冻 30d	
	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g/ml}$)	RSD (%)	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g/ml}$)	RSD (%)	$\bar{x} \pm s$ ($\mu\text{g/ml}$)	RSD (%)
0.050	0.0439 $\pm$ 0.004	4.41	0.0513 $\pm$ 0.047	3.73	0.0550 $\pm$ 0.002	4.13
0.500	0.5084 $\pm$ 0.025	3.91	0.4916 $\pm$ 0.043	4.35	0.5357 $\pm$ 0.030	2.68
4.000	3.8530 $\pm$ 0.168	4.37	3.9164 $\pm$ 0.072	3.88	4.0158 $\pm$ 0.039	0.97

2.10 血药浓度-时间曲线 20 名健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊 200 mg 后,伊曲康唑的平均血药浓度-时间曲线见图 2。

图 2 健康志愿者单剂量口服 200 mg 伊曲康唑胶囊后平均血药浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s$ $n = 20$)

2.11 药动学参数 不同性别健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊 200 mg 后的药动学参数见表 3。结果表明,不同性别受试者的药动学参数 $C_{\max}$, $t_{1/2}$, K_e 均无显著性差异($P > 0.05$), K_a 存在显著性差异($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 血药浓度测定方法的建立^[2] 目前在不同色谱条件下测定血浆中伊曲康唑浓度的 HPLC 法国内外均有较多报道,本文方法操作简便快速,准确性高,成本低,可重复性强,检测灵敏度高,最低检测浓度为 0.05 $\mu\text{g/ml}$,适合于伊曲康唑的人体药动学研究。

3.2 流动相的选择 采用乙腈和磷酸盐缓冲液(1000 ml 水、1 ml 三乙胺和 750 μl 磷酸): 乙腈

表 3 健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊 200 mg 后的药动学参数($\bar{x} \pm s$ $n = 20$)

药动学参数	均值	男性	女性
$t_{1/2}$ (h)	16.82 $\pm$ 1.92	16.69 $\pm$ 1.82	16.95 $\pm$ 2.02
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	0.18 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.06	0.20 $\pm$ 0.04
$t_{\max}$ (h)	3.81 $\pm$ 0.35	3.93 $\pm$ 0.33	3.68 $\pm$ 0.37
K_a (/h)	1.80 $\pm$ 0.10	1.62 $\pm$ 0.09	1.98 $\pm$ 0.11 ^c
K_e (/h)	0.14 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.07
Vd/F (L/kg)	15.67 $\pm$ 3.03	14.84 $\pm$ 2.81	16.49 $\pm$ 3.25
CL/F [$\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{h})$]	125.91 $\pm$ 37.65	118.94 $\pm$ 39.48	132.87 $\pm$ 35.82
AUC _{0-72h} ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	2.63 $\pm$ 2.41	2.59 $\pm$ 2.78	2.67 $\pm$ 2.03
AUC _{0-∞} ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	3.16 $\pm$ 2.19	3.01 $\pm$ 2.28	3.30 $\pm$ 2.09

注: 与男性受试者比较, ^c $P < 0.01$ 。

(66:34, V:V) 等系列流动相进行试验,结果待测组分保留时间过长,伊曲康唑与内标物的分离度不符合要求。经筛选,采用甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液(10:55:35, V:V:V) 作为流动相,可有效减少色谱峰拖尾现象,分离度良好。

3.3 血浆提取方法的确定 分别采用甲基叔丁基醚和正己烷-二氯甲烷处理血浆样品,结果显示,用甲基叔丁基醚提取血浆样本,检出灵敏度稍低;而采用正己烷-二氯甲烷提取血浆样品的待测组分,回收率高、检出灵敏度理想、内源性物质无干扰。

3.4 药动学特征 20 名健康志愿者单剂量口服伊曲康唑胶囊 200 mg 后,血药浓度经 DAS 2.0 程序软件进行处理,以 AIC 值作为模型识别指标,结果符合一级吸收开放性一室模型(权重系数为 $1/C^2$)。本文结果显示, K_a 存在显著性差异($P < 0.01$),提示口服伊曲康唑胶囊 200 mg 后,男性、女性在药物吸收速率上存在一定差异。这种差异可能由于生理差异而引起的药物在体内的药动学过程和药理效应^[3]。受试者中未发生明显不良反应。

[参考文献]

- [1] 苗彩云,陈江飞. 抗真菌药依曲康唑的药代动力学研究概况[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14(9): 1074-1080
- [2] 缪海均,刘皋林,辉芸蕾,等. 盐酸伊曲康唑胶囊的人体生物等效性研究[J]. 中国药房, 2006, 17(1): 42-43
- [3] 杨积平,许善初. 性别对药动学的影响[J]. 中国药房, 2005, 16(15): 1188

(收稿日期: 2011-02-16; 修回日期: 2011-06-10)

(本文编辑 金杨红)