

离子对液相色谱法测定人血浆中替米沙坦的浓度及药动学研究

缪海均¹, 余佳红², 恽芸蕾¹, 刘皋林¹ (1. 第二军医大学长征医院药学部, 上海 200003; 2. 第二军医大学新药评价中心, 上海 200433)

摘要:目的 建立测定人血浆中替米沙坦浓度的高效液相色谱方法,并用该法研究替米沙坦片在健康人体内的药动学。方法 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS(150mm×4.6mm),流动相为乙腈-0.05% 戊磺酸钠-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾(50:25:25),荧光检测,激发波长为 305nm,发射波长为 365nm。结果 血浆样品在 3.05~610.0μg·L⁻¹内线性相关($r=0.9999, n=5$)。平均绝对回收率为 85.1%(RSD=1.63%),相对回收率大于 95.0%,日间和日内相对标准差小于 10.0%。10 名男性健康志愿者单次口服 80mg 替米沙坦片后,其药代动力学参数分别为: $t_{1/2}$ (19.8±5.66)h, $c_{\max}$ (310.7±91.6)μg·L⁻¹, $t_{\max}$ (1.01±0.40)h。结论 此方法准确,灵敏,适于体内药物分析;药动学参数为临床合理用药提供理论依据。
关键词 替米沙坦;高效液相色谱法;药动学
中图分类号:R969.11 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)06-0479-03

Ion-pair HPLC determination and pharmacokinetic study of telmisartan in human plasma

MIAO Hai-jun¹, SHE Jia-hong², YUN Yun-lei¹, LIU Gao-lin¹ (1. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. New Drug Evaluation Center, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of telmisartan concentration in plasma, and to investigate the pharmacokinetics of telmisartan in Chinese healthy volunteers. **METHODS** The chromatographic separation was achieved on a Shim-pack VP-ODS (150mm×4.6mm), the mobile phase was consisted of acetonitrile - 0.05% pentanesulfonate - 0.05 mol·L⁻¹potassium dihydrogen phosphate (50:25:25), fluorescence detection (excitation at 305 nm, emission at 365 nm) was used for quantitation. **RESULTS** A good linearity was obtained from 3.05 to 610.0μg·L⁻¹($r=0.9999, n=5$). The mean recovery of plasma extraction was 85.1% (RSD=1.7%), relative recovery was more than 95%, the within-day and between-day RSD were less than 10.0%. The pharamacokinetic analysis of telmisartan after oral administration of 80 mg telmisartan tablets was studied. Its pharmacokinetic parameters were as follow: $t_{1/2}$ (19.8±5.66) h, $c_{\max}$ (310.7±91.6) μg·L⁻¹, $t_{\max}$ (1.01±0.40) h. **CONCLUSION** The method is rapid, simple and accurate. The pharmacokinetics of telmisartan in human provided a useful index for clinical trial.
KEY WORDS:telmisartan; HPLC; pharmacokinetics

替米沙坦(telmisartan)是一种新型的口服非肽 Ang II 受体拮抗剂。它选择性、不可逆地拮抗 Ang II 的 AT1 受体而不影响包括心血管调节的其他系统^[1,2]。自 1997 年上市以来,国内外的临床应用都证实了本品的安全性和有效性。

对于替米沙坦血药浓度的测定在国外只提及采用柱切换液相色谱,但未作详细报道^[3];在国内还未见报道。为此笔者建立了一种简便、灵敏、快速检测人体中替米沙坦浓度的高效液相色谱分析方法,可用于人体内替米沙坦血药浓度的测定及药动学研究。

1 仪器和试剂

Shimadzu-10Advp 高效液相色谱仪, RF-10A_{XL} 荧光检测器, CTO-10Asvp 柱温箱。替米沙坦对照品(含量 99.3%, 上海医药工业研究院)。替米沙坦片(美卡素, Micardis®, 规格:80mg, 批号:202020); 乙腈为色谱纯, 戊磺酸钠、盐酸、磷酸二氢钾、乙醚均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

2 实验方法

2.1 色谱分离条件

色谱柱:Shim-pack VP-ODS 5μm 150×4.6mm ID(日本

岛津公司);流动相:乙腈-0.05% 戊磺酸钠-0.05mol·L⁻¹磷酸二氢钾(50:25:25),流速 1.0 mL·min⁻¹;荧光检测(发射波长 365 nm,激发波长 305 nm),柱温 35℃。

2.2 受试者与试验设计

10 名男性健康志愿者,年龄(22.1±1.32)岁,体重(68±3.6)kg,在禁食 12 h 后,于次日晨空腹口服替米沙坦片 80 mg,于给药前及给药后 0.25,0.5,0.75,1.0,1.5,2.0,4.0,8.0,12.0,24.0,36.0 和 48.0 h 于静脉取血 3 mL,3500 r/min 离心 10 min,分离血浆置 -20℃ 冰箱保存。

2.3 血浆样品预处理

取血浆 1.0 mL 置于 10 mL 离心管中,加入 0.4mol·L⁻¹盐酸 50μL,无水乙醚 5 mL,涡旋振荡 5 min,于 3000 r·min⁻¹ 离心

10 min,取乙醚层 4 mL,在 45℃ 水浴下通氮气挥干,加 200μL 流动相溶解,取上清液 50μL 进样,峰面积外标法定量分析。

2.4 药动学参数

采用统计矩法计算药动学参数, c_{max} , t_{max} 采用实测值;AUC 采用梯形面积法计算; λ_z 为末端相消除速率常数,用末端相浓度对数与时间回归直线求得; $t_{1/2}=0.693/\lambda_z$ 。

3 结果

3.1 色谱行为

空白血浆、空白血浆添加对照品及受试者服药后的血浆样品色谱图见图 1。由图可见,在本实验条件下替米沙坦片的保留时间约为 9.2min,血浆内源性物质均不干扰体内替米沙坦片的分离测定。

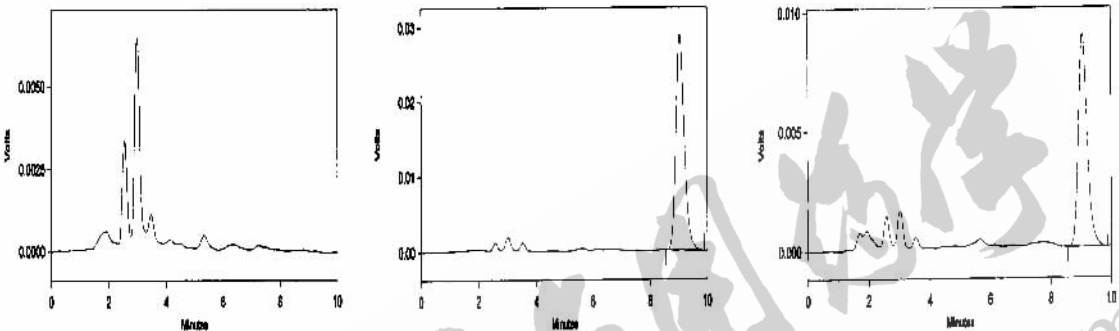


图 1 替米沙坦的高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of telmisartan

A. 空白血浆 B. 添加的对照品血浆 C. 实测血浆样品 1. 替米沙坦
A. blank plasma B. blank plasma spiked with standard C. plasma sample 1. telmisartan

3.2 线性范围

在空白血浆中加入替米沙坦对照品,分别配制浓度为 3.05,6.10,30.5,61.0,122.0,305.0 和 610.0μg·L⁻¹ 的对照品血浆,按“2.3”项下方法操作,以对照品的峰面积(Y)对相应的浓度(C)进行线性回归得标准曲线,回归方程为:Y=37325.9C+735.8, $r=0.9999$ ($n=5$),线性范围 3.05~610.0μg·L⁻¹。最低定量限为 3.05μg·L⁻¹。

3.3 精密度试验

配制 6.10,61.0,305.0μg·L⁻¹ 三种浓度的对照品血浆,按“2.3”项下方法操作。测定日间和日内 RSD,结果见表 1。

表 1 血浆中替米沙坦的精密度测定($n=5$)

Tab 1 Precision of telmisartan determination in plasma

浓度(concentration) (μg·L ⁻¹)	RSD(%)	
	日内(intra-day)	日间(inter-day)
6.10	9.72	10.0
61.0	1.61	7.36
305.0	5.10	7.95

3.4 回收率试验

配制 6.10,61.0,305.0μg·L⁻¹ 三种浓度的对照品血浆,按“2.3”项下方法操作。测得的色谱峰面积与相应浓度直接进样所得峰面积相比得提取回收率,其结果分别为 83.6%,86.3%,85.5%;RSD 分别为 4.87%,5.01%,3.29%($n=5$);测得的色谱峰面积代入标准曲线方程计算测得量与加入量

的比值得相对回收率,其结果分别为 97.5%,99.0%,109.2%;RSD 分别为 9.72%,1.61%,5.10%($n=5$)。

3.5 药动学研究

10 名健康志愿者口服替米沙坦片后,按照“2.2”和“2.3”项操作,以高效液相色谱法测定血药浓度。用 3P87 程序拟合为二室开放模型结果,得到的主要药动学参数 $t_{1/2}$ (19.8±5.66)h,MRT(18.7±5.53)h,Cl/F(53.3±15.2)L·h⁻¹, c_{max} (310.7±91.6)μg·L⁻¹, t_{max} (1.01±0.40)h,AUC₀₋₄₈(1461.7±537.1)μg·h·L⁻¹,平均血药浓度-时间曲线见图 2。

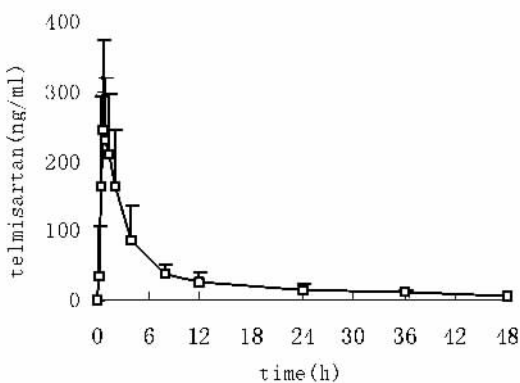


图 2 健康志愿者口服 80mg 替米沙坦片后的平均血药浓度-时间曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve after a single oral dose 80 mg

4 讨论

本试验用高效液相色谱-荧光检测法测定血浆中替米沙坦的药物浓度,样品经液-液萃取后进样,具有灵敏度高、准确性和精密度好、操作简便、色谱峰分离优良、回收率高等特点,检测的灵敏度完全能满足体内药物浓度测定、人体药代动力学研究。

10 名健康志愿者单剂量口服 80 mg 替米沙坦后,从药代动力学参数可以看出,口服吸收迅速,达峰时间在 1h 左右。而体内消除较慢,半衰期达 20 h,其主要药代动力学参数与文献报道一致^[3~5]。10 名健康志愿者在试验中无不良反应出现。

参考文献

[1] McClellan KJ, Markham A. Telmisartan[J]. Drugs, 1998, 56(6):1039.

- [2] Wienen W, Haeucl N, Van MJCA, *et al.* Pharmacological characterization of the novel nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, BIBR 277[J]. Br J Pharmacol, 1993, 110(9):245.
- [3] Yong CL, Dias VC, Stangier J. Multiple-dose pharmacokinetics of Telmisartan and of hydrochlorothiazide following concurrent administration in healthy subjects[J]. J Clin Pharmacol, 2000, 40(Suppl):1323.
- [4] Stangier J, Schmid J, Turck D, *et al.* Absorption, Metabolism, and Excretion of Intravenously and Orally Administered [¹⁴C] Telmisartan in Healthy Volunteers[J]. J Clin Pharmacol, 2000, 40(Suppl):1312.
- [5] van Heiningen PNM, van Lier JJ, de Bruin H, *et al.* Single dose study on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the angiotensin II antagonist BIBR0277SE[J]. Pharmacy World Science, 1994, 16(Suppl):4.

收稿日期:2004-05-10