

· 论 著 ·

超快速液相色谱法研究厄贝沙坦的
药代动力学管晓音¹, 孙文明², 赵春花¹, 周玉梅³

[摘要] 目的 研究厄贝沙坦在比格犬体内的药代动力学。方法 给比格犬口服厄贝沙坦片, 用超快速液相色谱法检测厄贝沙坦的浓度。结果 主要药代动力学参数如半衰期、峰浓度、 AUC_{0-48} 分别为: (13.96 ± 3.26) h、 (2582.85 ± 1265.69) ng/ml、 (7951.13 ± 2794.07) ng·h/ml。结论 该方法灵敏、准确, 能快速检测比格犬血浆中厄贝沙坦浓度。

[关键词] 厄贝沙坦; 超快速液相色谱; 药代动力学

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)02-0102-03

Pharmacokinetic studies of irbesartan in beagle dog plasma by ultra-fast liquid chromatography

GUAN Xiao-yin¹, SUN Wen-ming², ZHAO Chun-hua¹, ZHOU Yu-mei³. 1. Clinic, Zhengjiang Watercraft College, Zhengjiang, Jiangsu 212003, China; 2. Division of Health, Department of Joint Logistics, Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210016, China; 3. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhengjiang, Jiangsu 212003, China

[Abstract] **Objective** To analyze the pharmacokinetics of irbesartan tablet in beagle dogs. **Methods** Six healthy subjects received a single oral dose of 300 mg irbesartan tablet. The plasma concentrations of irbesartan were determined using ultra-fast liquid chromatography. **Results** The main pharmacokinetics parameters of irbesartan were: $t_{1/2}$ 13.96 ± 3.26 h, C_{max} 2582.85 ± 1265.69 ng/ml, AUC_{0-48} 7951.13 ± 2794.07 ng·h/ml. **Conclusion** The method established in this study allows for highly sensitive, selective and accurate determination of plasma concentration of plasma irbesartan in dogs.

[Key words] irbesartan; ultra-fast liquid chromatography; pharmacokinetics

厄贝沙坦(Irbesartan)为血管紧张素Ⅱ(AngiotensinⅡ, AngⅡ)受体抑制剂(ARB)^[1-2]。国内外报道厄贝沙坦血药浓度测定方法有高效液相色谱法(HPLC)-荧光检测法^[3-5]、毛细管高效液相色谱^[6]。本文研究参考了相关文献,建立了测定血浆中厄贝沙坦浓度的超快速液相色谱-荧光法,并应用于比格犬口服厄贝沙坦片后体内血药浓度测定和药代动力学研究。

1 材料与方法

1.1 仪器 岛津超快速液相色谱仪、LC-20AD 高压输液泵、SIL-20AD 自动进样器、CTO-20AS 柱温

箱、RF-10A 荧光检测器、LCsolution 色谱软件(Shimadzu, Japan)。

1.2 药品和试剂 厄贝沙坦化学对照品和缬沙坦化学对照品(含量 $\geq 99\%$)由上海家化医药科技有限公司提供。厄贝沙坦片由杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药有限公司提供。甲醇、乙腈为德国 Merck 公司生产的色谱纯试剂,三乙胺、磷酸为中国医药(集团)上海化学试剂公司生产的分析纯试剂,水为二次蒸馏水。

1.3 对照品和内标溶液 精密称取厄贝沙坦标准对照品 10.15 mg,置于 10 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 1015.00 $\mu\text{g/ml}$ 的标准贮备液,再配成浓度为 10.15 $\mu\text{g/ml}$ 、1.015 $\mu\text{g/ml}$ 和 101.50 ng/ml 的标准溶液。精密配制浓度为 2000 ng/ml 缬沙坦甲醇溶液作为工作内标溶液。

1.4 实验动物 成年、健康比格犬 6 条,雌雄兼有,体重 6.0~8.0 kg,由苏州西山中科实验动物有限公

作者简介: 管晓音(1964-),女,江苏镇江人,大专,主管药师,从事药事工作

作者单位: 1. 212003 江苏镇江,镇江陆军船艇学院门诊部;
2. 210016 江苏南京,南京军区联勤部卫生部;
3. 212003 江苏镇江,江苏大学附属医院

司提供,犬的编号分别为 A、B、C、D、E、F。

1.5 给药方法 分别给比格犬单剂量灌胃给药厄贝沙坦片 300 mg, 给药前禁食 8 h, 给药后 3 h 方可进食, 整个实验期间自由饮水。

1.6 试样收集及处理 分别于给药前和给药后 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0 和 48.0 h 从一侧后肢静脉取血 3 ml, 置肝素化的离心管内, 12 000 r/min (离心半径 8.5 cm) 离心 10 min 分离血浆, 置于 -20°C 冰箱保存待测。静脉血样置于 10 ml 玻璃离心管中 (加肝素抗凝), 3500 r/min (离心半径 10.4 cm) 离心 5 min 分离血浆。取血浆 100 μl 置于 1.5 ml 塑料离心管中, 加入甲醇 200 μl (含 2000 ng/ml 内标溶液), 涡旋振荡 1 min, 于 12 000 r/min (离心半径 8.5 cm) 高速离心 5 min, 取上清液 10 μl 进样, 峰面积内标法定量分析。

1.7 测定方法 采用超快速液相色谱法。色谱分析采用 Shimadzu UFLCTM C18 column (2.2 μm, 50 mm × 2.0 mm) 色谱柱; 色谱保护柱 (Supelco, 美国); 流动相组成为: 乙腈: 0.5% 三乙胺 (65: 35, V: V), pH 3.6; 流速为 0.5 μl/min; 进样量为 10 μl; 荧光检测激发波长 250 nm, 发射波长 375 nm; 柱温 35°C。

1.8 标准曲线的制备 配制成含厄贝沙坦 10.15、20.30、50.72、101.50、203.00、507.20、1012.00、2030.00、5072.00 ng/ml 的标准血浆样品。以厄贝沙坦标准对照品与内标的峰面积比 (A, Y) 对相应的浓度 (C, ng/ml) 进行最小二乘法线性回归 (1/x), 厄贝沙坦血浆标准曲线方程为:

$$Y = 10.463C + 1.531, r = 0.999$$

线性范围 10.34 ~ 5170.00 ng/ml。本法测定血浆中厄贝沙坦的最低检测浓度为 10.15 ng/ml (S/N > 2)。

1.9 数据处理 由于口服给药体内厄贝沙坦血药浓度个体差异大, 采用非房室模型法计算药代动力学参数: $t_{1/2}$ (半衰期)、MRT (体内驻留时间)、Cl/F (清除率)、 C_{max} (最大血药浓度)、 t_{max} (达峰时间)、AUC (药-时曲线下面积)。

2 结果

2.1 回收率和精密度实验 配制 30.45、304.50、3045.00 ng/ml 低、中、高三种不同浓度的厄贝沙坦血浆质量控制样品, 通过测得量与加入量的比值求得厄贝沙坦相对回收率。经色谱分析, 测得相对提取回收率均大于 90%。

2.2 药-时曲线及药动学参数 见图 1 和表 1。

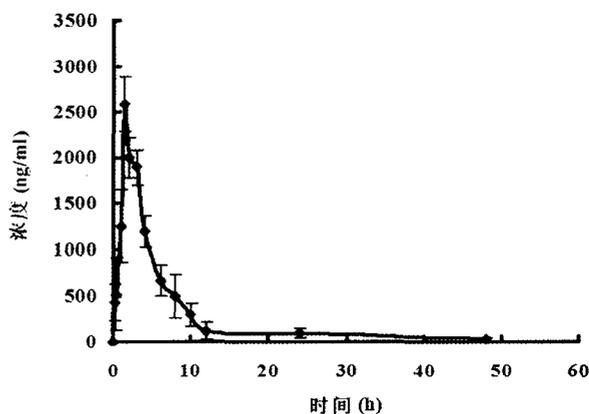


图 1 比格犬单剂量口服给药厄贝沙坦片 300 mg 后的药-时曲线 (n=6)

表 1 比格犬口服厄贝沙坦片 300 mg 后的主要药动学参数

| 分组 | $t_{1/2}$ (h) | MRT (h) | Cl/F (L/h) | C_{max} (ng/ml) | t_{max} (h) | AUC_{0-48} (ng · h/ml) | $AUC_{0-\infty}$ (ng · h/ml) |
|-----------|------------------|------------|---------------|----------------------|------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| A | 14.48 | 13.39 | 59.69 | 732.16 | 1.5 | 4674.44 | 5025.59 |
| B | 15.03 | 9.95 | 43.25 | 3602.42 | 1.0 | 6603.96 | 6935.94 |
| C | 19.59 | 14.32 | 25.94 | 4010.41 | 1.5 | 10 495.48 | 11 567.05 |
| D | 12.75 | 8.26 | 23.87 | 3063.08 | 1.0 | 12 157.90 | 12 568.99 |
| E | 11.32 | 8.01 | 41.30 | 2634.93 | 1.0 | 7044.61 | 7263.58 |
| F | 10.57 | 8.82 | 43.36 | 1454.11 | 1.5 | 6730.38 | 6918.19 |
| \bar{x} | 13.96 | 10.46 | 39.57 | 2582.85 | 1.3 | 7951.13 | 8379.89 |
| s | 3.26 | 2.73 | 13.18 | 1265.69 | 0.3 | 2794.07 | 2980.79 |

3 讨论

厄贝沙坦血药浓度血浆样品处理方法有固相萃取^[7,8]和液液萃取^[9], 但这两种方法成本高, 有机溶

剂消耗大, 操作繁琐。本方法具有操作简单、成本低、精密度和回收率高等特点, 适用于药物分析和临床药代动力学研究。本文所建立的血浆样品中厄贝沙坦的超快速液相色谱测定方法, (下转第 106 页)

的产生。酸中毒还可以导致脑毛细血管扩张,通透性增加,引起脑水肿^[7]。本实验结果也显示小鼠缺氧性脑缺血后与正常小鼠相比血乳酸浓度和皮层中乳酸浓度显著升高,DECB 可显著降低缺氧性脑缺血后的血液和皮层内乳酸浓度。可能是 DECB 激活了环腺苷酸磷酸二酯酶和腺苷酸环化酶,促进葡萄糖的利用,使无氧酵解向有氧氧化转化,使酸性物质减少,从而减轻酸中毒;同时产生大量 ATP 以供能,从而延长细胞生存时间和改善机体内环境^[8]。

由于 DECB 可以改善葡萄糖耐量而不影响胰岛素水平,而且能够活化有氧通路,降低病理性增高的乳酸和丙酮酸,因此临床上新近还将 DECB 用于治疗慢性外周性血管闭塞性疾病、椎基底动脉型颈椎病性眩晕和糖尿病及其并发症等^[9]。

【参考文献】

[1] 范 华. 小牛血去蛋白提取物治疗缺血性脑梗死 40 例临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(16): 39-40.
 [2] 奚新胜, 胡昌武, 全 茜. 血活素针剂治疗不稳定型心绞痛临

床观察[J]. 医学理论与实践, 2004, 17(6): 655-656.

[3] 王红波. 小牛血去蛋白提取物注射液治疗急性脑血管病 80 例[J]. 现代医药卫生, 2008, 24(9): 1372.
 [4] 郭东宇, 赵红梅, 卢 欢. 一种小牛血去蛋白提取物注射液及其制备方法[J]. 中医药管理杂志, 2007, 15(2): 110.
 [5] 韩永卿, 于洪儒, 王洪新, 等. 小牛血去蛋白提取物对体外培养心肌细胞的增生作用[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(5): 232-235.
 [6] 潘晓锋, 林聪丽, 叶潇雨. 爱维治的临床新用[J]. 药学实践杂志, 2006, 24(5): 275-277.
 [7] 王 欣, 鞠 洋, 骆 勤, 等. 红毛五加总苷对小鼠的抗缺氧作用及其机制[J]. 兰州大学学报(医学版), 2008, 34(4): 41-43.
 [8] 邹愿平. 小牛血去蛋白提取物治疗新生儿硬肿症的体会[J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14(1): 56-57.
 [9] 刘秀金, 张 伟. 小牛血去蛋白提取物注射液治疗椎基底动脉型颈椎病性眩晕[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(20): 3157.

(收稿日期: 2009-09-15; 修回日期: 2009-12-07)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)

(上接第 103 页) 血浆内源性物质及其他物质均不干扰厄贝沙坦样品峰, 相对回收率大于 90%, 血浆中厄贝沙坦的最低定量限为 10.15 ng/ml, 线性范围为 10.34 ~ 5170.00 ng/ml。说明该方法符合生物样品的分析要求, 可以用于厄贝沙坦片的临床前药代动力学研究。

【参考文献】

[1] 江培霞. 浅析厄贝沙坦的临床应用与疗效[J]. 医学理论与实践, 2008, 21(8): 906-907.
 [2] 陈文丽. 厄贝沙坦对原发性高血压的疗效观察[J]. 中国实用医刊, 2008, 35(17): 79.
 [3] 黄晓晖, 裘福荣, 李 俊. 厄贝沙坦在健康志愿者体内的药代动力学-药效学结合模型[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(6): 712-715.
 [4] Chang SY, Whigan DB, Vachharajani NN, et al. High-performance liquid chromatographic assay for the quantitation of irbesartan (SR 47436/BMS-186295) in human plasma and urine [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1997, 702(1-2): 149-155.

[5] Nevin Erk. Simultaneous determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in human plasma by liquid chromatography [J]. J Chromatogr B, 2003, 784(9): 195-201.
 [6] 丁一冰, 樊夏雷, 沈建平. Cap-HPLC 测定人血浆中厄贝沙坦和氢氯噻嗪浓度及其复方制剂的生物等效性研究[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(6): 551-555.
 [7] Ferreiros N, Iriarte G, Alonso RM, et al. Development of a solid phase extraction procedure for HPLC-DAD determination of several angiotensin II receptor antagonists in human urine using mixture design [J]. Talanta, 2007, 73(5): 748-756.
 [8] Jing N, Min Z, Yi F, et al. Biocompatible in-tube solid-phase microextraction coupled to HPLC for the determination of angiotensin II receptor antagonists in human plasma and urine [J]. J Chromatogr B, 2005, 828(10): 62-69.
 [9] Ashok KS, Yusuf MA, Omran MOA. Liquid chromatographic determination of irbesartan in human plasma [J]. J Chromatogr B, 2007, 848(11): 245-250.

(收稿日期: 2009-08-30; 修回日期: 2009-10-08)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)