

人血浆中非诺贝特酸的测定及其药动学研究

邱 枫,肇丽梅*,何晓静,孙亚欣

(中国医科大学附属盛京医院药剂科,辽宁 沈阳 110004)

摘要: 目的 建立测定血浆中非诺贝特酸的方法。方法 采用 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 5.0 mm, 5 μm), 以乙腈 - 0.01 mol·L⁻¹ 枸橼酸溶液 (65:35) 为流动相, 萘普生为内标, 检测波长为 288 nm。结果 非诺贝特酸 0.2~20.0 μg·mL⁻¹ 与峰面积的线性良好 ($r=0.9979$), 平均回收率为 102.7%, 日内、日间精密度的 RSD 为 4.37%~9.04%。结论 所建方法操作简便、快速、重复性好、准确可靠, 适用于临床血药浓度的监测及药动学研究。

关键词: 高效液相色谱法; 非诺贝特酸; 血浆; 药物动力学

中图分类号: R917, R969

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2008)03-0308-02

Determination of fenofibric acid in human plasma by HPLC and study on the pharmacokinetics

Q U Feng, ZHAO Li - mei*, HE Xiao - jing, SUN Ya - xin

(Department of Pharmacy, Shengjing Hospital of Chinese Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a method for the determination of fenofibric acid in human plasma. **METHODS** HPLC was adopted. The Hypersil BDS C₁₈ column was used as analytical column. The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.01 mol·L⁻¹ citric acid (65:35). Flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The internal standard was naproxen (200 μg·mL⁻¹ in methanol), the detection wavelength was 288 nm. **RESULTS** The linear range of fenofibric acid was 0.2 - 20 μg·mL⁻¹ ($r=0.9979$). The average recovery was 102.7% with the RSD of 6.79%. The RSDs of intra-day and inter-day precisions were 4.37% - 9.04%. **CONCLUSION** The HPLC method is rapid, accurate, precise and repeatable. It could be used to determine the concentration of fenofibric acid in human plasma and to study its pharmacokinetics.

Key words: HPLC; Fenofibric acid; Plasma; Pharmacokinetics

CLC number: R917, R969

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2008)03-0308-02

非诺贝特 (Fenofibrate, FNBT) 是氯贝特类调节血脂的药物, 通过抑制极低密度脂蛋白和甘油三酯的生成而起降血脂的作用。非诺贝特口服后在体内迅速被组织和血浆水解为代谢物非诺贝特酸, 体内原形药物浓度极低, 因此, 常用其代谢物非诺贝特酸来评价其体内过程。参考文献^[1,2], 作者采用 HPLC 法测定血浆中的非诺贝特酸, 并考察了非诺贝特胶囊 (力平之) 在人体内的动力学过程。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与研究对象

HP1100 系列高效液相色谱仪 (美国安捷伦)。非诺贝特酸对照品 (浙江爱生药业有限公司, 含量 99.8%); 非诺贝特胶囊 (法国利博福尼制药公司, 每粒 200 mg, 批号: 85416); 萘普生 (NPX, 内标, 中国药品生物制品检定所); 空白人血浆 (中国医科大学附属盛京医院输血科)。选择 20 名健康男性志愿者, 试验前经体格检查均正常, 由本人签署知情同意书, 经医院医学伦理委员会批准。

作者简介: 邱枫 (1975 -), 女, 主管药师, 从事临床药理学工作。

* 通讯作者 (Correspondent author), E-mail: zhaozm@cmu2h.com

1.2 方法与结果

1.2.1 给药及样品的采集 受试者空腹 12 h 后, 给予 200 mg 非诺贝特胶囊。于服药前和服药后 1、2、3、4、5、6、7、9、12、24、36、48、60、72 h, 取 4 mL 前臂静脉血, 置肝素化试管中, 离心 10 min, 分离血浆于塑料试管中, 保存于 -20℃ 冰箱中。

1.2.2 色谱条件 色谱柱为 Hypersil BDS C₁₈ (150 mm × 5.0 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 - 0.01 mol·L⁻¹ 枸橼酸溶液 (65:35), 流速为 1 mL·min⁻¹, 检测波长为 288 nm, 柱温为 30℃, 进样量 20 μL。

1.2.3 血浆样品的预处理 取 0.5 mL 血浆样品, 置 10 mL 具塞试管中, 加入 50 μL 内标溶液 (200 μg·mL⁻¹ 萘普生的甲醇溶液)、补加 50 μL 甲醇后混匀, 加 100 μL 1 mol·L⁻¹ 盐酸溶液、4 mL 氯仿 - 乙醚 (1:2), 往复振摇 20 min, 3.5×10^3 r·min⁻¹ 离心 10 min。吸取有机相, 置另一具塞试管中, 在 50℃ 恒温水浴下空气吹干, 用 200 μL 甲醇溶解残渣, 涡旋 30 s 后, 取 20 μL 上清液进样分析。

1.2.4 方法的专属性 在“1.2.2”项色谱条件下,

空白血浆、空白血浆加对照品及受试者服药后血浆的色谱图见图 1。从图 1 可见,血浆中内源性物质不干扰盐酸非诺贝特酸和萘普生的测定,其保留时间分别为 4.5、3.2 min。

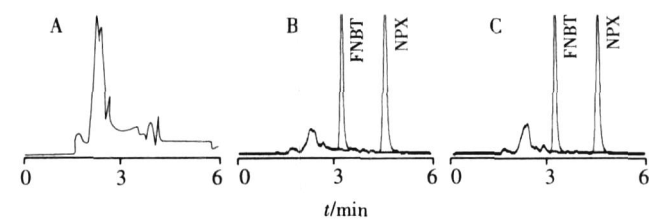


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加对照品 (B) 和受试者服药后血浆样品 (C) 溶液的色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of blank plasma solution (A), blank plasma spiked with standard solutions (B) and plasma sample solution of volunteer (C)

1.2.5 标准曲线的制备 取 0.5 ml 空白血浆,置 10 ml 具塞试管中,依次加入 50 μ l 非诺贝特酸对照系列溶液,配制相当于血浆药物浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μ g $\cdot$ ml⁻¹ 的血浆样品,加入 50 μ l 内标溶液 (200 μ g $\cdot$ ml⁻¹ 萘普生的甲醇溶液)。按“1.2.3”项下操作,以血浆中非诺贝特酸的浓度为横坐标、非诺贝特酸与内标的峰面积比为纵坐标,用加权最小二乘法进行回归计算,求得标准曲线方程为: $Y = 0.267X - 0.002$ ($r = 0.9979$)。线性范围 0.2~20 μ g $\cdot$ ml⁻¹;最低检测浓度为 0.2 μ g $\cdot$ ml⁻¹。

1.2.6 回收率试验 取 0.5 ml 空白血浆,按“1.2.5”项下操作,分别配制高、中、低 (0.5、2.0、10.0 μ g $\cdot$ ml⁻¹) 浓度的血浆样品。按“1.2.3”项下操作,测定各样品的浓度,与配制的浓度对照,计算相对回收率。结果平均相对回收率为 102.7% $\pm$ 6.79%;将高、中、低浓度的血浆样品中非诺贝特酸与相同量的非诺贝特酸对照溶液的峰面积进行对照,计算绝对回收率,平均绝对回收率为 66.6% $\pm$ 7.9% (表 1)。

表 1 方法的回收率结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Recoveries of the HPLC method ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)			
Added/ μ g $\cdot$ ml ⁻¹	Detected/ μ g $\cdot$ ml ⁻¹	Relative recovery/%	Absolute recovery/%
0.50	0.50 $\pm$ 0.03	101.0 $\pm$ 6.8	66.4 $\pm$ 7.9
2.00	2.06 $\pm$ 0.16	103.2 $\pm$ 7.8	64.9 $\pm$ 6.2
10.00	10.34 $\pm$ 0.56	103.8 $\pm$ 5.8	68.6 $\pm$ 10.1

1.2.7 精密度试验 取 0.5 ml 空白血浆,按照“1.2.5”项下操作,分别配制 0.5、2.0、10.0 μ g $\cdot$ ml⁻¹ 的质控样品。按“1.2.3”项下操作,测定各样品中非诺贝特酸高、中、低浓度的日内、日间 (3 d) 精密度分别为 6.32%、7.84%、5.66% 和 9.04%、4.37%、4.61% ($n = 6$)。

1.2.8 稳定性试验 对 24 h 室温放置后的质控样

品 (0.5、2.0、10.0 μ g $\cdot$ ml⁻¹, 每个浓度为 6 个样本) 进行稳定性考察。结果显示,室温放置 24 h 后,测定值与添加值的相对偏差 (RE%) 分别为 7.19%、1.88%、0.57%。将血浆样品经 3 次反复冻融后,考察稳定性。结果显示,冻融后测定值与添加值的 RE% 分别为 -0.19%、-0.59%、9.94%。

1.2.9 血浆样品的测定 按“1.2.3”项下方法处理血浆样品,进样后记录峰面积。以样品/内标峰面积比,由标准曲线求得血浆中非诺贝特酸。

1.2.10 药物动力学 按“1.2.3”项下方法测定受试者的血浆样品。20 名受试者口服非诺贝特胶囊后,平均血药浓度-时间曲线见图 2。根据血药浓度数据,计算药物动力学参数为: $t_{max} = 6.4 \pm 1.1$ h, $C_{max} = 4.03 \pm 2.17$ μ g $\cdot$ ml⁻¹, $t_{1/2} = 26.2 \pm 14.3$ h, $Ke = 0.150 \pm 0.056$ h⁻¹, AUC_{0-} 和 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 108.7 ± 44.0 μ g $\cdot$ h $\cdot$ ml⁻¹ 和 132.6 ± 64.0 μ g $\cdot$ h $\cdot$ ml⁻¹。

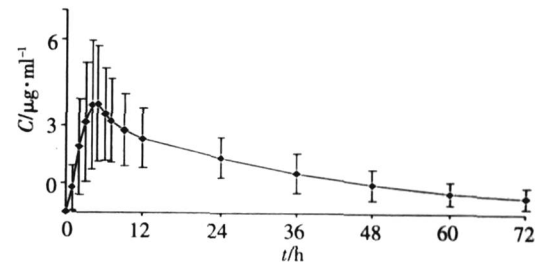


图 2 20 名受试者口服盐酸非诺贝特酸的药-时曲线

Fig 2 Mean plasma concentration - time curve of fenofibric acid after po fenofibric acid

2 讨论

参考文献^[1,2],作者分别考察了甲基叔丁基醚、正己烷-乙酸乙酯 (9:1) 和氯仿-乙醚 (1:2) 提取液,发现对甲基叔丁基醚和氯仿-乙醚 (1:2) 为提取液优于正己烷-乙酸乙酯 (9:1) 提取液,但是对甲基叔丁基醚提取回收率较低。因此,文中采用氯仿-乙醚 (1:2) 萃取。

实验所获得的药物动力学参数与相关文献基本一致,但 AUC 与文献^[1] 有明显差异。药动学参数的差异可能与个体差异和药物制剂有关。

参考文献:

[1] 高志伟,李中东,焦正,等. 人血浆中非诺贝特酸的 HPLC 测定及药动力学研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37 (1): 32 - 34.
[2] Streeb B, Hubert P, Ceccato A. Determination of fenofibric acid in human plasma using automated solid - phase extraction coupled to liquid chromatography [J]. J Chromatogr, 2000, 742 (2): 391 - 400.

收稿日期: 2007 - 03