

# 血浆中吡格列酮的测定及其在人体内的药动学研究

邱枫, 孙亚欣, 何晓静, 肇丽梅\*

(中国医科大学附属第二医院药剂科, 辽宁 沈阳 110004)

**摘要:** 目的 建立测定血浆中吡格列酮的方法。方法 采用 Diamosil C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈 - pH5.8 磷酸盐缓冲液 (55:45) 为流动相, 安定为内标, 检测波长 225 nm。结果 吡格列酮在 0.02 ~ 2.00 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内, 线性良好 ( $r=0.9968$ ), 平均回收率为 105.3%, 日内、日间的 RSD 为 4.23% ~ 18.40%。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; 吡格列酮; 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(2007)03-0308-03

## Determination of Pioglitazone in the plasma by HPLC and its application in pharmacokinetic studies

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

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

**Abstract:** **OBJECTIVE** To establish a method for determination of Pioglitazone in human plasma. **METHODS** Using HPLC for determination of Pioglitazone in human plasma, the Diamosil C<sub>18</sub> column was taken as analytical column, the mobile phase consisted of acetonitrile - phosphate buffer (55:45), flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The internal standard was Diazepam (2 μg·mL<sup>-1</sup> in methanol). The detection wavelength was 225 nm. **RESULTS** The linear range of Pioglitazone was 0.02 - 2.00 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.9968$ ). The average recovery was 105.3% with the RSD of 7.09%. The intra day and inter - day precisions expressed as RSD ranged from 4.23% - 18.40%. **CONCLUSION** The HPLC method is quick, accurate, precise and repeatable. It can be used to determine the concentration of Pioglitazone in human plasma and applied in pharmacokinetic studies.

**Key words:** HPLC; Pioglitazone; Plasma; Pharmacokinetics

**CLC number:** R917, R969

**Document code:** A

**Article ID:** 1006-0103(2007)03-0308-03

吡格列酮是继曲格列酮之后的一种胰岛素增敏剂, 属噻唑烷酮类降糖药, 临床上用其盐酸盐。盐酸吡格列酮可降低外周组织以及肝脏的胰岛素抵抗, 增加外周组织葡萄糖的利用, 从而改善 2 型糖尿病患者的糖代谢及脂代谢状况。有关吡格列酮的测定方法已有报道<sup>[1-3]</sup>, 在此基础上, 建立了血浆中吡格列酮的 HPLC 法, 并研究其在人体内的药物动力学。

## 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 (美国安捷伦公司)。吡格列酮对照品 (赤峰利诚科技有限责任公司, 含量 99.8%); 欧迪贝 (盐酸吡格列酮片, 大连远大制药有限公司, 每片含盐酸吡格列酮 15 mg, 批号: 041001); 安定 (内标, 中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯; 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾为分析纯; 空白人血浆 (中国医科大学附属第二医院输血科)。

健康男性志愿者 18 名, 23.3 ± 0.6 岁、1.71 ± 0.06 m、65.1 ± 6 kg, 试验前经体格检查, 心电图、肝、肾功能等各项指标均正常, 由本人签署知情同意书, 经医学伦理委员会批准。

### 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 30 mg 盐酸吡格列酮片。于服药前和服药后 0.5、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、6.0、9.0、12.0、24.0、36.0、48.0 h, 取 4.0 mL 前臂静脉血, 置肝素化试管中, 离心 10 min, 分离血浆, 保存于 -20 °C 冰箱中待测。

**1.2.2 色谱条件** 采用 Diamosil C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈 - pH5.8 磷酸盐缓冲液 (55:45); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 225 nm; 柱温 30 °C; 进样量 50 μL。

**1.2.3 血浆样品的预处理** 取血浆样品 0.5 mL 置 10 mL 具塞试管中, 加入 50 μL 内标溶液 (安定 2 μg·mL<sup>-1</sup> 的甲醇溶液), 补加 50 μL 甲醇混匀, 加 4 mL 乙醚 - 二氯甲烷 (4:1), 混匀, 往复振摇 20 min, 3.5 ×

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

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

$10^3 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 吸取有机相置另一具塞试管内, 在 55 ~ 60 恒温水浴下氮气吹干, 用  $200 \mu\text{l} 0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸溶液溶解残渣, 涡旋 30 s 后, 取上清液  $50 \mu\text{l}$ , 进样分析。

**1.2.4 方法的专属性** 在“1.2.2 项条件下, 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。血浆中内源性物质不干扰盐酸吡格列酮和安定峰, 其保留时间分别为 5.3、6.6 min。

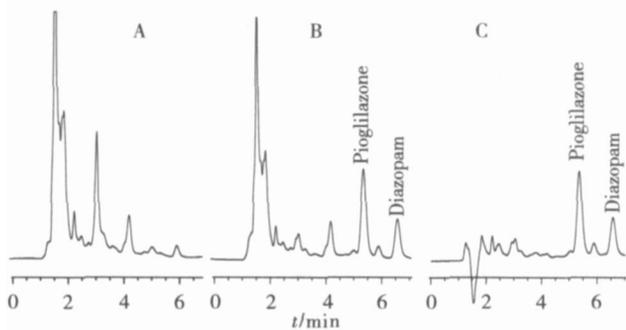


图 1 空白血浆 (A)、空白血浆加对照品 (B) 和受试者服药后血浆样品 (C) 溶液的色谱图

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

**1.2.5 标准曲线的制备** 取空白血浆  $0.5 \text{ ml}$  置  $10 \text{ ml}$  具塞试管中, 依次加入  $50 \mu\text{l}$  吡格列酮对照品溶液, 配制相当于血浆药物浓度为  $0.02, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的血浆样品, 加入  $50 \mu\text{l}$  内标溶液 (安定  $2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的甲醇溶液)。按“1.2.3 项下操作, 以血浆中吡格列酮的浓度为横坐标, 以吡格列酮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:  $Y = 1.89X - 0.01$  ( $r = 0.9968$ ); 线性范围为  $0.02 \sim 2.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; 最低检测浓度为  $0.02 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

**1.2.6 回收率试验** 取空白血浆  $0.5 \text{ ml}$ , 按“1.2.5 项下操作, 分别配制高、中、低 ( $0.05, 0.25, 1.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) 3 种浓度的血浆样品。按“1.2.3 项下操作, 测定各样品的浓度, 与配制的浓度对照, 计算平均相对回收率为  $105.30\% \pm 7.09\%$ 。3 种浓度的血浆样品中, 吡格列酮与相同量的吡格列酮对照品溶液的峰面积对照, 计算平均绝对回收率为  $93.9\% \pm 17.0\%$  (表 1)。

**1.2.7 精密度试验** 取空白血浆  $0.5 \text{ ml}$ , 按“1.2.5 项下操作, 分别配制高、中、低 ( $0.05, 0.25, 1.00 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) 3 种浓度的质量控制样品。按“1.2.3 项操作, 测定各样品中吡格列酮的浓度, 进行日内和日间 (3 d) 精密度考察。结果测得吡格列酮 (高、中、低 3 种浓度) 的日内和日间精密度分别为  $4.23\%, 4.72\%, 7.26\%$  和  $9.63\%, 4.90\%, 18.4\%$  ( $n = 6$ )。

**1.2.8 血浆样品的测定** 血浆样品按“1.2.3 项处理, 进样后记录峰面积。以峰面积比 (吡格列酮 / 内标) 和标准曲线求得血浆中吡格列酮的浓度。

表 1 方法的回收率 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 1 Recoveries of HPLC method ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Added/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	Detected/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	Relative recovery/%	Absolute recovery/%
0.05	$0.05 \pm 0.01$	$103.4 \pm 9.6$	$92.0 \pm 19.7$
0.25	$0.26 \pm 0.01$	$105.1 \pm 5.0$	$95.8 \pm 19.9$
1.00	$1.07 \pm 0.06$	$107.4 \pm 5.6$	$93.9 \pm 13.9$

**1.2.9 药物动力学研究** 按“1.2.3 项制备的受试者血浆样品。18 名受试者口服盐酸吡格列酮片后, 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  $t_{\max} = 1.83 \pm 0.57 \text{ h}$ ,  $C_{\max} = 1.39 \pm 0.40 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $t_{1/2} = 10.6 \pm 5.71 \text{ h}$ ,  $Ke = 0.085 \pm 0.045 \text{ h}^{-1}$ ,  $AUC_{0-\infty}$  和  $AUC_{0-t}$  分别为  $12.2 \pm 4.52 \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$  和  $13.1 \pm 4.97 \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

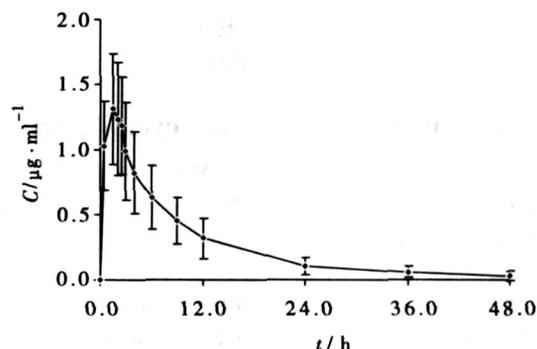


图 2 18 名受试者口服盐酸吡格列酮的平均药 - 时曲线

Fig 2 The mean plasma concentration - time curve of Pioglitazone after po Pioglitazone tablets

## 2 讨论

通过考察提取液和流动相, 优化出一种绝对回收率高、干扰少、分离度合适、峰形对称的测定方法。我们曾采用乙醚 - 二氯甲烷 (4:1)、乙酸乙酯和正己烷 - 异丙醇 - 二氯甲烷 (64:3:33) 3 种提取液的血浆样品的处理, 结果发现, 用乙醚 - 二氯甲烷 (4:1)、乙酸乙酯提取时其回收率高、杂质少, 故用其处理血浆样品。由于吡格列酮含有氮杂环, 在反相  $C_{18}$  柱上易出现拖尾现象, 因此, 用乙腈 - pH5.8 磷酸盐缓冲盐 (55:45) 作为流动相, 内源性物质对测定无干扰, 分离度适宜, 峰形对称, 且分析周期短。

18 名受试者口服  $30 \text{ mg}$  盐酸吡格列酮片后, 吡格列酮的主要药物动力学参数与文献报道<sup>[4]</sup>的 ( $t_{\max}$  为  $1.9 \pm 0.5 \text{ h}$ ,  $C_{\max}$  为  $1.50 \pm 0.30 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,  $AUC_{0-\infty}$  为  $13.9 \pm 3.10 \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) 基本一致, 但  $t_{1/2}$  与文献报道 (3 ~ 7 h) 有差距。

参考文献:

[1] Xue YJ, Kenneth C Turner, Jeff B Meeker, *et al* Quantitative determination of pioglitazone in human serum by direct - injection high - performance liquid chromatography mass spectrometry and its application to a bioequivalence study [J]. *J Chromat B*, 2003, 795: 215 - 226.  
[2] 李珍, 宋洪杰, 唐世新, 等. 盐酸吡格列酮片的人体药代动力学研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2002, 18 (5): 368 - 370.

[3] 周燕文, 李新春, 杨玉芳, 等. 盐酸吡格列酮胶囊的人体相对生物利用度 [J]. *中国医院药学杂志*, 2004, 24 (10): 598 - 600.  
[4] Yamazaki H, Suzuki M, Tane K, *et al* *In vitro* inhibitory effects of toglitazone and its metabolism on drug oxidation activities of human cytochrome P450 enzyme: comparison with pioglitazone and rosglitazone [J]. *Xenobiotica*, 2000, 30: 61 - 70.

收稿日期: 2006 - 02

## 姜油树脂 / $\beta$ -环糊精包合物的稳定性考察

刘丽萍<sup>1</sup>, 毛威<sup>2</sup>, 王秀珍<sup>1</sup>, 楼琼瑜<sup>1</sup>

(1. 绍兴文理学院化学化工学院, 浙江 绍兴 312000; 2. 绍兴市药品检验所, 浙江 绍兴 312000)

**摘要:** 目的 考察姜油树脂 /  $\beta$ -环糊精 (  $\beta$ -CD) 包合物的稳定性。方法 分别对姜油树脂 /  $\beta$ -CD 包合物和混合物进行 10 d 高温 (40、60、80)、高湿 (RH 75%、92.5%) 和强光 ( $4 \times 10^3$  lx) 的实验。用紫外分光光度法测定总姜酚的残留量。结果 在温度、湿度和光照的条件下, 包合物中总姜酚的含量显著高于混合物, 配对 *t*-检验表明, 二者具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。结论 姜油树脂形成包合物后稳定性显著提高。

**关键词:** 姜油树脂;  $\beta$ -环糊精; 包合物; 稳定性

中图分类号: R913

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103 (2007) 03 - 0310 - 02

### Stability of Ginger oleoresin / $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex

LIU Li-ping<sup>1</sup>, MAO Wei<sup>2</sup>, WANG Xiu-zhen<sup>1</sup>, LOU Qiong-yu<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaoxing University, Shaoxing 312000, China; 2. Shaoxing Institute for Drug Control, Shaoxing 312000, China)

**Abstract:** **OBJECTIVE** To compare the stability of Ginger oleoresin /  $\beta$ -CD inclusion complex with Ginger oleoresin. **METHODS** The stability experiment was carried under the storage conditions of high temperature (40, 60, 80), high humidity (RH 75%, 92.5%) and high light ( $4 \times 10^3$  lx). The contents of total gingerol were measured by ultraviolet spectrophotometry. **RESULTS** When they were stored under above conditions for 10 days, the stability of Ginger oleoresin /  $\beta$ -CD inclusion complex was obviously higher than that of mixture, and exhibited significant difference by paired sample *T*-test ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION** The  $\beta$ -CD inclusion complex could obviously increase the stability of Ginger oleoresin.

**Key words:** Ginger oleoresin;  $\beta$ -cyclodextrin; Inclusion complex; Stability

CLC number: R913

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103 (2007) 03 - 0310 - 02

姜油树脂是棕黄色黏稠油状液体, 主要的活性成分为姜酚, 具有降血脂、健胃抗溃疡及止吐等多种功效<sup>[1]</sup>, 姜酚可作为评价生姜药品品质的主要指标<sup>[2]</sup>。由于姜酚在常温下易氧化、味辛辣, 在水中溶解度小, 因此, 特以  $\beta$ -环糊精 ( $\beta$ -CD) 对姜油树脂进行了分子水平的包合, 并进一步考察了姜油树脂 /  $\beta$ -CD 包合物的稳定性。

### 1 实验部分

#### 1.1 药品与仪器

姜油树脂 (南阳张仲景现代中药发展有限公司, 批号: 2005001021);  $\beta$ -环糊精 ( $\beta$ -CD, 国药集

团化学试剂有限公司); 其余试剂为分析纯。SK3200HP型超声波清洗器 (上海科导超声仪器公司); SP-756P型紫外可见分光光度计 (上海光谱仪器有限公司); SHH-100GD型药品强光照箱 (重庆市永生实验仪器厂)。

#### 1.2 方法与结果

**1.2.1 姜油树脂 /  $\beta$ -CD 包合物的制备及总姜酚的含量测定** 采用饱和水溶液法, 将姜油树脂 /  $\beta$ -CD 按质量投料比为 1/7, 包合温度 65, 在 800 r·min<sup>-1</sup> 的速度下搅拌包合 1 h, 取出放至室温, 再冷藏 24 h 后抽滤。沉淀用蒸馏水洗涤, 于 40 真空干燥, 求得平均包合率为 95.20%  $\pm$  0.31%, 载药量为

基金项目: 浙江省教育厅 (No: 20041229)、绍兴市科技局 (No: 2005162) 基金资助

作者简介: 刘丽萍 (1965 - ), 女, 四川自贡, 博士, 副教授, 从事药剂学的教学与科研工作。E-mail: lp@zscas.edu.cn