

## 气相色谱法测定人血浆中非洛地平浓度及药代动力学

杨丽莉 袁倚盛 戴晓莉\*

(南京军区南京总医院仪器分析室, 南京 210002)

**摘要** 采用气相色谱—电子捕获检测法测定人血浆中非洛地平浓度, 研究中国男性正常人口服该药的药代动力学规律, 为临床用药提供依据。血浆样品经乙醚—正己烷(2:1)萃取浓缩后进行测定。结果表明非洛地平浓度在  $0.5 \sim 10 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$  范围内线性良好( $\gamma=0.9991$ )。此法简便易行, 精密度好, 日内、日间的 RSD 分别小于 5.09% 及 8.62%。回收率平均为  $97.3\% \pm 4.0\%$ 。测定了 10 名健康者单次口服非洛地平 10 mg 后不同时间的血药浓度并计算了相应的药代动力学参数。

**关键词** 非洛地平; 气相色谱—电子捕获; 药代动力学

非洛地平(felodipine)为第 2 代二氢吡啶类钙拮抗剂, 主要用于治疗高血压, 1988 年在丹麦上市后, 迅速占领国际市场。非洛地平可抑制小动脉平滑肌细胞外钙的内流, 通过对外周血管的松弛作用, 降低血压, 增加心输出量, 并有轻度的利尿和尿钠增多的作用<sup>[1~3]</sup>。由于口服药量少, 肝脏首过作用大, 生物利用度低, 因此血药浓度很低。文献报道的测定方法大都提取步骤繁琐、耗时长、回收率也不高<sup>[4~6]</sup>。本文采取混和溶剂提取, 方法简单, 杂质少, 无干扰而且回收率高, 重现性好。用本方法测定了 10 名健康志愿者单次口服非洛地平片后的血药浓度, 并根据体内血药浓度数据拟合了药代动力学参数, 研究了国内该药的开发和临床用药提供了依据。

## 材 料 与 方 法

**仪器与试剂** 1001 型气相色谱仪-<sup>63</sup>Ni 电子捕获检测器(上海分析仪器厂)。非洛地平标准对照品(扬州制药厂); 非洛地平片(扬州制药

厂, 批号 960401); 内标尼莫地平(中国药科大学), 其他试剂均为分析纯级, 所有水溶液均用二次蒸馏水配制。

**标准溶液配制** 精密称取非洛地平适量, 用乙酸乙酯溶解定容, 配成浓度为  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  储备液, 4℃ 冰箱保存, 临用时用乙酸乙酯稀释成  $0.25 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。内标尼莫地平用乙酸乙酯精密配成  $2.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  溶液, 4℃ 冰箱保存。

**色谱条件** 色谱柱:  $2 \text{ m} \times 3 \text{ mm}$  (ID) 硅烷化玻璃柱, 内填 5% SE-30, 担体 Chromosorb W DMCS(80~100 目)。温度: 检测器 310℃, 气化室 290℃, 柱箱 270℃。载气: 氮气(99.999%)。流量:  $25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 。检测器: <sup>63</sup>Ni 电子捕获检测器。脉冲电流: 1.0 nA。

**血浆样品的处理与测定** 取肝素抗凝血浆 2.0 ml, 精密加入内标溶液 10.0  $\mu\text{l}$  (20 ng), 饱和 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 100  $\mu\text{l}$ , 用乙醚—正己烷(2:1, v/v) 3.5 ml 提取两次, 振荡 1 min, 离心(3000 r·min<sup>-1</sup>, 5 min), 取上清液在空气流下 35℃ 吹干。残留物以乙酸乙酯 50  $\mu\text{l}$  溶解, 进样 2.0  $\mu\text{l}$ 。

**药代动力学研究** 健康青年男性志愿者 10 名, 年龄  $23.1 \pm 1.0$  岁, 体重  $61.4 \pm 5.1 \text{ kg}$ , 均经体检证实肝、心、肾功能正常, 试验前 1 周

及受试期间,受试者不得服用其他药物。受试者晨起空腹一次 po 非洛地平片 10 mg, 于服药前及服药后 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0 h 各抽血 5 ml, 分离血浆, -20℃ 冰箱保存, 供血药浓度测定用。

## 结 果

### 1 色谱行为

所选定的色谱条件, 非洛地平及内标尼莫地平与血浆中杂质分离良好, 非洛地平及内标尼莫地平的保留时间分别为 4.95 min 和 9.69 min(图 1)。

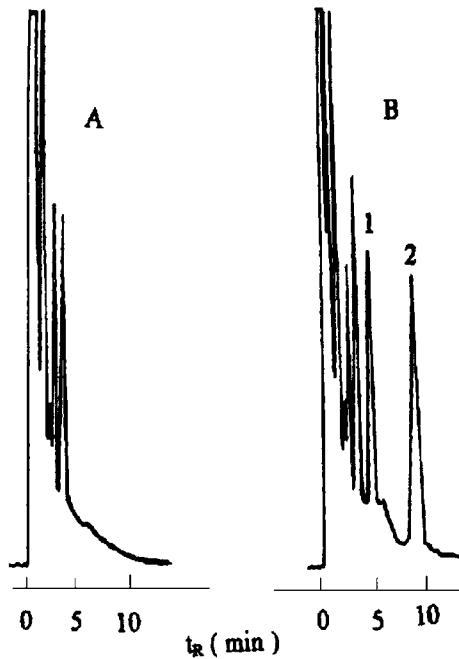


Fig 1 Chromatograms of felodipine in human plasma. A. Blank plasma; B. Plasma sample after oral administration of 10 mg felodipine tablets. Peak 1. Felodipine; Peak 2. Internal standard (nimodipine).

### 2 非洛地平的血浆标准曲线

准确配制浓度为 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 ng•ml<sup>-1</sup> 的血浆标准品, 按样品处理项下操作及色谱分离, 计算样品峰高与内标峰高之比, 以

峰高比  $Y(H_s/H_i)$  为纵坐标, 样品浓度  $C$  (ng•ml<sup>-1</sup>) 为横坐标进行回归, 得血浆中标准曲线:  $Y = 0.0871 + 0.0549C$ ,  $r = 0.9991$ , 最低检测限为 0.25 ng•ml<sup>-1</sup>。

### 3 方法回收率

在空白血浆 2.0 ml 中精密加入不同量的非洛地平标准液, 并分别加入内标 10 μl (20 ng), 使非洛地平血浆浓度分别为 1.0, 2.5, 10.0 ng•ml<sup>-1</sup>, 按前述方法处理测定后, 与同浓度的标准对照品进行比较。结果非洛地平的回收率分别为 92.8%, 99.1%, 100.1%; 平均回收率为 97.3 ± 4.0%。

### 4 精密度试验

配制含非洛地平为 1.0, 2.5, 10.0 ng•ml<sup>-1</sup> 血浆样品 5 份, 重复 5 d, 按“血浆样品的处理与测定”项下操作, 测得日内 RSD% 分别为 4.7%, 5.1%, 2.9% ( $n = 5$ ), 日间 RSD% 分别为 8.62%, 6.7%, 7.9% ( $n = 5$ )。

### 5 药代动力学研究

测定 10 名健康志愿者 po 非洛地平片 10 mg 后的血药浓度, 所得药—时数据用 3P87 程序按口服二房室模型进行处理, 平均药—时曲线见图 2, 其药代动力学参数见表 1。从图 2 及表 1 可看出  $T_{1/2\beta}$  为 16.09 ± 6.07 h,  $C_{max} = 4.78 \pm 0.89$  ng•ml<sup>-1</sup>,  $T_{max} = 2.01 \pm 0.63$  h。

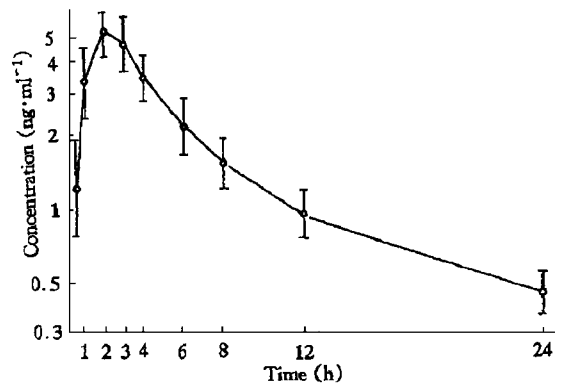


Fig 2 Mean drug plasma concentration—time curve of felodipine in ten healthy volunteers after oral administration of 10 mg.

**Tab 1 Pharmacokinetic parameters of felodipine following a single oral dose of 10 mg in healthy volunteers ( $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )**

Subjects	$K_a$ ( $h^{-1}$ )	$T_{1/2\alpha}$ (h)	$T_{1/2\beta}$ (h)	$T_{max}$ (h)	$C_{max}$ ( $ng \cdot ml^{-1}$ )	$AUC_{0-\infty}$ ( $h \cdot ng \cdot ml^{-1}$ )
1	0.43	0.81	17.79	2.10	4.34	47.48
2	0.64	0.74	9.17	2.10	3.79	48.63
3	0.28	1.47	11.69	3.30	4.61	72.76
4	0.59	0.67	10.73	1.80	6.03	45.81
5	0.31	0.96	19.31	2.70	3.64	42.34
6	0.57	0.27	12.25	1.20	5.80	40.09
7	0.59	0.74	28.45	1.80	5.64	32.24
8	0.26	0.22	22.90	1.20	4.69	30.99
9	0.84	0.77	13.22	1.80	3.86	40.47
10	0.43	0.90	15.42	2.10	5.40	50.85
$\bar{x} \pm s$	$0.49 \pm 0.18$	$0.76 \pm 0.35$	$16.09 \pm 6.07$	$2.01 \pm 0.63$	$4.78 \pm 0.89$	$45.17 \pm 11.72$

## 讨 论

非洛地平在血浆中的治疗浓度很低( $1.1 \sim 7.5 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ )<sup>[2,3]</sup>,而且血中杂质多,选择一种提取率高、杂质少、无干扰的提取剂非常重要。分别试验了环己烷—二氯甲烷、乙醚—二氯甲烷、乙醚—正己烷、正己烷—二氯甲烷的提取情况,结果以乙醚—正己烷(2:1,  $v/v$ )为提取剂时提取率最高且杂质最少。提取时加入  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH,提取率下降;加入大量饱和  $\text{K}_2\text{CO}_3$  溶液,则容易引起乳化。故选择加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  溶液  $100 \mu\text{l}$  碱化血浆,效果良好。

选择与非洛地平结构相似的尼莫地平为内标,在柱恒温状态下进行分析,分析周期短,定量准确,适合于体内药物浓度测定。

对 10 名健康志愿者单次 po 非洛地平的药代动力学研究表明,非洛地平片 po 后吸收较迅速,平均 2.01 h 达峰值,平均峰值浓度  $4.78 \pm 0.89 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,非洛地平在人体内迅速分布, $T_{1/2\alpha}$  仅为 0.76 h 左右,而  $T_{1/2\beta}$  较长,平均为 16.09 h。动力学行为规则符合二房室模型,与文献<sup>[4,6]</sup>报道相近。但比文献<sup>[5]</sup>报道的 po 20 mg 非洛地平缓释片后的半衰期为

$10.3 \pm 2.8 \text{ h}$  较长,说明非洛地平在不同人种中有差异。

## 参 考 文 献

- 徐晋. Felodipine-新型降压药. 中国药理学通报, 1990, 6:52
- 刘皋林, 刘静, 沈文娟. 新型钙通道阻滞剂非洛地平的药理和临床应用. 国外医药合成药生化药制剂分册, 1991, 12:96
- 徐积恩. 非洛地平. 中国新药杂志, 1992, 1:26
- Nishioka R, Umeda I, Qi Nb. Determination of felodipine and its metabolites in plasma using capillary gas chromatography with electron-capture detection and their identification by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1991, 565:237
- Soos PA, Roosemalen MCM, Breimer DD. Enantioselective determination of felodipine and other chiral dihydropyridine calcium entry blockers in human plasma. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1990, 528:343
- Dru JD, Hsieh JY, Matuszewski BK, et al. Determination of felodipine, its enantiomers, and a pyridine metabolite in human plasma by capillary gas chromatography with mass-spectrometric detection. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1995, 666:259

## DETERMINATION OF FELODIPINE CONCENTRATION IN HUMAN PLASMA BY GC-ECD AND STUDY OF ITS PHARMACOKINETICS

Yang Lili(Yang LL), Yuan Yisheng(Yuan YS) and Dai Xiaoli(Dai XL)

(*Department of Instrumental Analysis, Nanjing General Hospital of PLA, Nanjing 210002*)

**ABSTRACT** A rapid, accurate and sensitive gas chromatographic method using electron-capture detector (GC-ECD) was developed for the determination of felodipine concentration in human plasma. Nimodipine was used as internal standard. The plasma samples were extracted using a mixture of ethyl ether and n-hexane (2:1) to give mean recoveries of 97.3% of felodipine. The extracts were separated by a 5% SE-30 glass packed column (2 m×3 mm). The detection limits for felodipine was 0.25 ng•ml<sup>-1</sup>. The precisions (RSD%, n=5) of within-day and day-to-day were less than 5.09% and 8.62%, respectively. The pharmacokinetic parameters of felodipine in ten men were investigated by this method. The concentration-time curve was fitted to a two-compartment model. Its main pharmacokinetic parameters were:  $T_{1/2\alpha}=0.76$  h,  $T_{1/2\beta}=16.09$  h,  $C_{\max}=4.78$  ng•ml<sup>-1</sup>,  $T_{\max}=2.01$  h,  $AUC=45.2$  h•ng•ml<sup>-1</sup>.

**KEY WORDS** Felodipine; GC-ECD; Pharmacokinetics