

## 吹扫捕集-气相色谱-质谱联用测定试验犬体内全氟丙烷血药浓度

杨莉\*, 陈志良, 王新亚

(南方医科大学 南方医院 药学部, 广东 广州 510515)

**摘要:** 目的 建立对一种新型的包裹全氟丙烷气体的白蛋白微囊超声造影剂静脉给药后直接测定全氟丙烷血药浓度的方法, 研究全氟丙烷在试验犬体内的药代动力学行为。方法 试验犬麻醉后静脉给药, 给药剂量  $0.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 取全血样品, 直接进样。应用 Tekmar 3000 吹扫捕集-气相色谱质谱组合分析仪对全氟丙烷血药浓度进行定量分析, 用非室模型计算药代动力学参数。结果 全氟丙烷测定的线性范围为  $0.0168 - 4.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。主要药代动力学参数平均滞留时间 (MRT) 为  $(63 \pm 5) \text{ s}$ ,  $T_{1/2}$  为  $(44 \pm 4) \text{ s}$ ,  $T_{\text{max}}$  为  $30 \text{ s}$ ,  $C_{\text{max}}$  为  $(2.20 \pm 0.20) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}$  为  $(96 \pm 11) \text{ mg} \cdot \text{s} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 该法简便、快速、灵敏度高、精密度高。可用于包裹氟碳类气体的微囊类超声造影剂的药代动力学研究。

**关键词:** 吹扫捕集-气相色谱-质谱联用法; 超声造影剂; 全氟丙烷; 血药浓度; 药代动力学

中图分类号: R917.101 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2005)04-0358-03

## Determination of perfluoropropane in canine whole blood by purge and trap concentrator-GC-MS

YANG Li\*, CHEN Zhi-liang, WANG Xin-ya

(Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** **Aim** To develop a method for direct determination of perfluoropropane in canine whole blood and to study its pharmacokinetics after a suspension of perfluoropropane-containing albumin microcapsules was administered intravenously. **Methods** Perfluoropropane-containing albumin microcapsule suspension was administered intravenously to anesthetized canines at the dosage of  $0.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Whole blood samples were collected and added directly into the purging glass tube in Tekmar 3000 Purge and Trap Concentrator coupled with a GC-MS for the determination of perfluoropropane. The pharmacokinetic parameters of perfluoropropane were calculated by non-compartment model statistics. **Results** The linear range was  $0.0168 - 4.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The main pharmacokinetic parameters of perfluoropropane was obtained as follows: mean residence time (MRT) was  $(63 \pm 5) \text{ s}$ ,  $T_{1/2}$  was  $(44 \pm 4) \text{ s}$ ,  $T_{\text{max}}$  was  $30 \text{ s}$ ,  $C_{\text{max}}$  was  $(2.20 \pm 0.20) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{AUC}_{0-\infty}$  was  $(96 \pm 11) \text{ mg} \cdot \text{s} \cdot \text{L}^{-1}$ . **Conclusion** The method is sensitive, specific and simple. It can be used to determine fluorocarbon contained in microcapsule ultrasound contrast agents for studying its pharmacokinetics.

**Key words:** purge and trap concentrator-GC-MS; ultrasound contrast agent; perfluoropropane; whole blood drug concentration; pharmacokinetics

包裹低血液溶解性氟碳类气体的微囊类超声造影剂在体内稳定性好, 经静脉注射进入体循环后, 出现多重气液界面, 有较强的回波反射性能, 可用于观察组织器官血流灌注情况, 具有良好的超声造影增

强效果, 目前被认为是最好的人体微管内的声学造影材料之一, 有重要的开发价值及广阔的应用前景。本文以新药研发为目的, 以全氟丙烷 ( $\text{C}_3\text{F}_8$ ) 为被包裹气体, 白蛋白为囊材, 采用超声冷冻干燥法制得含气微囊冻干制剂—全氟丙烷白蛋白微囊冻干制剂, 建立了将 Tekmar 3000 型吹扫捕集浓缩仪与气相色谱-质谱仪联用的方法来检测全氟丙烷白蛋白微囊冻干制剂组分—全氟丙烷的血药浓度, 并用于

收稿日期: 2004-07-08.

基金项目: 国家重点科技攻关项目 (969010588).

\* 通讯作者 Tel: 86 - 20 - 61641888 - 87236,

Fax: 86 - 20 - 87701797, E-mail: nfyang@126.com

其药代动力学研究,本方法在国内外相关资料中未见报道。

## 材料与方 法

**仪器与试剂** Tekmar 3000 吹扫捕集浓缩仪(美国 Tekmar 公司); HP 5972 气相色谱-质谱联用仪(美国惠普公司);全氟丙烷对照品为天津核工业理化工程研究院提供;全氟丙烷白蛋白微囊冻干制剂为自制(冻干前 3 mL/皮,用前加 3 mL 注射用水溶解配成混悬液,微囊直径 3.07  $\mu\text{m}$ ,微囊浓度  $1.42 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,全氟丙烷含量  $310 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

**仪器条件** Tekmar 3000 吹扫捕集浓缩仪吹扫气体:氦气;吹扫时间:5 min;捕集管吹扫温度:35  $^{\circ}\text{C}$ ;脱附温度:225  $^{\circ}\text{C}$ ;脱附时间:4 min;捕集管烘烤温度:180  $^{\circ}\text{C}$ ;烘烤时间:10 min。HP5972 气相色谱-质谱联用仪色谱柱为 HP-VOC(30 m  $\times$  0.3 mm ID);柱温初温 40  $^{\circ}\text{C}$  保持 5 min 后,以 15  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 220  $^{\circ}\text{C}$  保持 3 min;载气:氦气;电离方式 EI,能量 50 eV,选择离子监测(SIM  $m/z$  69- $\text{CF}_3^+$ , 169- $\text{C}_3\text{F}_7^+$ )。

## 结果

### 1 方法专属性

分别取空白全血及给药后的全血样品直接进样,色谱图见图 1,全氟丙烷保留时间为 4.69 min。由图可见,空白和给药后的血样中基本无内源性物质干扰全氟丙烷的测定。

### 2 标准曲线的制备

首先用高纯氮气将全氟丙烷对照品纯气稀释成  $0.1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  及  $3 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  两个浓度,然后取空白全血 0.500 mL,置吹扫捕集浓缩管的吹扫管,用气密性取样针分别加入  $0.1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  标准气体  $10.0 \mu\text{L}$

及  $3 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  标准气体 20.0, 40.0, 60.0, 80.0  $\mu\text{L}$ , 配制成相当于全氟丙烷全血质量浓度为 0.016 8, 1.01, 2.01, 3.02 和 4.03  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的样品,进行全氟丙烷定量分析。以质量浓度  $C(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$  为横坐标,以峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标进行线性回归。线性方程为  $Y = 3.00 \times 10^7 X + 2 \times 10^6$ ,  $r = 0.997 4$ 。全氟丙烷质量浓度在  $0.016 8 - 4.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。全氟丙烷定量下限为  $0.016 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 3 方法回收率与精密度试验

按“标准曲线的制备”项下配制低、中、高 3 个浓度(全氟丙烷质量浓度分别为 0.016 8, 2.01 和  $4.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的质量控制样品,每个浓度进行 5 个样本分析,连续进行 3 d,以当日标准曲线计算质控样品的测得浓度,将结果进行方差分析,计算方法平均回收率与精密度。方法平均回收率为 100.9%, 100.1% 和 98.8%。日内精密度分别为 3.6%, 2.6% 和 3.2%;日间精密度分别为 4.1%, 1.7% 和 1.5%。

### 4 样品的稳定性

将给药后的全血样品 4 mL 分成 4 份置含肝素密闭塑料管中,于 -20  $^{\circ}\text{C}$  冷冻保存,分别于 0, 24, 48 和 72 h 进样测定。结果表明,血样在冷冻条件下可稳定保存 3 d,能满足试验要求。

### 5 试验犬药代动力学研究

选取 18 - 21 kg 的试验犬 3 只,颈静脉插管供静脉注射麻醉剂(3% 戊巴比妥钠)及受试药物(全氟丙烷白蛋白微囊混悬液),每只试验犬给予两次受试药物注射(两次给药时间间隔 15 min),每次给药剂量均为  $0.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,分别于第一次给药后 5, 30, 60 和 120 s 和第二次给药后 15, 45, 90 和 150 s 于股静脉抽血 1 mL 置含肝素密闭塑料管中于 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存,3 d 内测定。测定时将样品取出解冻后直接进样 0.5 mL 进行全氟丙烷含量分析。采用本法测

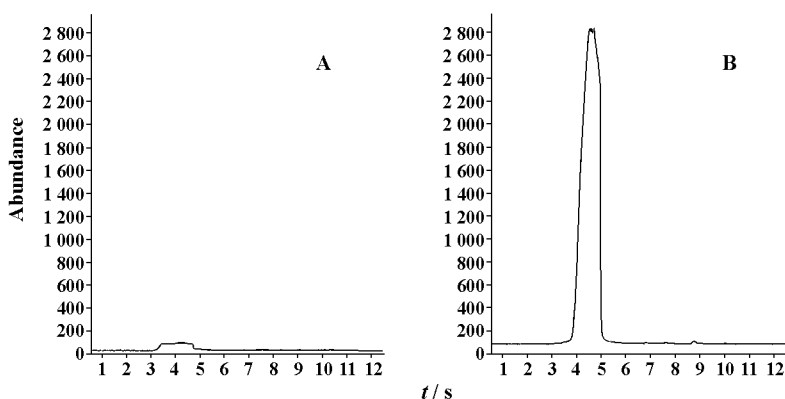


Figure 1 Chromatograms of canine blank whole blood (A) and the canine whole blood after intravenous administration of perfluoropropane-containing albumin microcapsules (B)

定的试验犬药时曲线见图 2。将每例试验犬血药浓度-时间曲线数据用 Winnonlin 软件 (Winnonlin Standard Edition, Version 1.5, Scientific Consulting, Inc) 进行统计矩分析, 求得药代动力学参数见表 1。

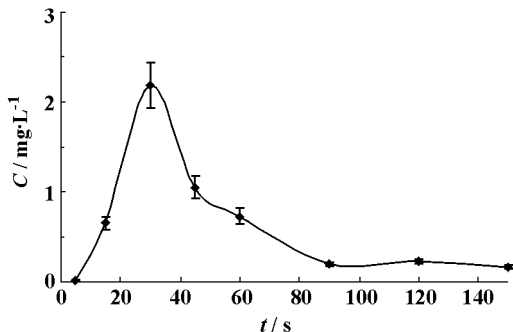


Figure 2 Concentration-time curve of perfluoropropane in canine venous blood after iv perfluoropropane-containing albumin microcapsules ( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Pharmacokinetic parameters for blood  $C_3F_8$  levels in canines using statistic moment analysis ( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

Parameter	Value
MRT/s	63 ± 5
$T_{1/2}$ /s	44 ± 4
$T_{max}$ /s	30
$C_{max}$ /mg·L <sup>-1</sup>	2.20 ± 0.20
AUC/mg·s·L <sup>-1</sup>	96 ± 11
CL/L·s <sup>-1</sup>	(30 ± 8) × 10 <sup>-3</sup>
$V_{SS}$ /L	2.1 ± 0.7

### 讨论

全氟丙烷为无毒物质, 常温下为无色无味气体, 早在 20 世纪 60 年代曾作为气体麻醉剂用于临床, 80 年代作为玻璃体替代物辅助治疗复杂性视网膜脱离。国外文献<sup>[1,2]</sup>报道对全氟丙烷进行体内动力学观察试验, 分析方法均为气相色谱法, 测定前需将全血样品保温孵化数小时, 使全氟丙烷自溶液转移至上层气体空间后再取气体样本进样。将氟碳类气体以适宜的材料包裹制成超声造影剂, 工艺研究仍在不断完善之中。目前国外唯一已上市的包裹全氟丙烷气体的微囊类超声造影剂产品 OPTISON, 在动物药代动力学研究中测定全氟丙烷血药浓度时采用 GC 法<sup>[3]</sup>, 该分析方法采血量较大, 每个时间点需采集全血 8 mL, 先置室温下于旋涡混合器上孵化 4 h, 使全氟丙烷自血中转移至 2 mL 空气中后再进气体样品, 样品预处理过程繁琐, 测试过程耗时。

吹扫捕集-气相色谱-质谱联用技术可用于水性介质中挥发性有机物的定性定量分析<sup>[4]</sup>。本试验采用此联用技术来测定给药后全氟丙烷的血药浓

度, 生物样品可直接进样, 无需预处理, 因全氟丙烷在血中溶解度极低 (约 0.4 μL·mL<sup>-1</sup>, 37 °C), 亨利常数为 800<sup>[5]</sup>。在本测定方法的吹扫条件下, 全氟丙烷可迅速完全地自血样中逸出, 经捕集浓缩后进入气质联用仪进行自动定量分析, 大大提高了样品测试速度, 缩短了样品分析周期。

此外本法所需全血样品用量仅为 0.5 mL, 在动物试验取样时间间隔短的情况下, 更利于实际操作。全氟丙烷白蛋白微囊经静脉注射给药后, 全氟丙烷自体内消除速度非常快, 本试验中其  $T_{1/2}$  为 44 s。这就要求测定生物样品中全氟丙烷的浓度时, 需要分析方法有更宽的线性范围和更高的灵敏度。本文建立的吹扫捕集-气相色谱-质谱联用的方法, 在全氟丙烷质量浓度为 0.0168 - 4.03 mg·L<sup>-1</sup>, 方法平均回收率较好且稳定, 可满足测定的需要。

本文所制备的全氟丙烷白蛋白微囊在试验犬体内 MRT 为 63 s, 与国外同类产品 OPTISON<sup>[3]</sup> MRT 42 s 比较, 在体内滞留时间较长, 更能满足临床实际应用的需要。

### 结论

本文首次采用吹扫-捕集浓缩仪与气质联用仪联用的方法来测定全氟丙烷的血药浓度。方法专属性好, 灵敏度高, 样品处理简单。对于包裹其他氟碳类气体的微囊类超声造影剂产品的药代动力学研究, 也可借鉴本法。

### References

- [1] Ben S, Chortkoff MD, Michael J, *et al.* Pharmacokinetics do not explain the absence of an anesthetic effect of perfluoropropane or perfluoropentane [J]. *Anesth Analg*, 1994, 79(2): 234 - 237.
- [2] Eger EI, Liu J, Koblin DD, *et al.* Molecular properties of the ideal inhaled anesthetic studies of fluorinated methanes, ethanes, propanes, and butanes [J]. *Anesth Analg*, 1994, 79(2): 245 - 251.
- [3] Joseph CH, Hoan ML, Paige MM, *et al.* Physiologically based pharmacokinetic model for fluorocarbon elimination after the administration of an octafluoropropane-albumin microsphere sonographic contrast agent [J]. *J Ultrasound Med*, 1999, 18(1): 1 - 11.
- [4] Xiao XM, Wang XM, Liu ZF, *et al.* Study on volatile organic compounds in some bottled water for drinking produced in China [J]. *Res Environ Sci (环境科学研究)*, 2001, 14(1): 61 - 64.
- [5] Anne LK, Paige MM, Paul AZ, *et al.* Tissue distribution of <sup>125</sup>I-labeled albumin in rat and whole blood and exhaled elimination kinetics of octafluoropropane in anesthetized canines, following intravenous administration of OPTISON (FS069). *Int J Toxicol*, 1999, 18(1): 49 - 63.