

# HPLC法测定人尿液中奥拉西坦的浓度<sup>Δ</sup>

刘秀菊\*, 张志清#, 孙倩, 亢泽坤(河北医科大学第二医院, 石家庄 050000)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)02-0121-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.02.10

**摘要** 目的:建立测定人尿液中奥拉西坦浓度的方法,为奥拉西坦代谢途径的研究提供参考。方法:尿液以甲醇沉淀蛋白后,以高效液相色谱法进样测定,其中色谱柱为Symmetry shield<sup>TM</sup> RP18柱,流动相为乙腈-水(5:95),流速为0.5 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为40℃,进样量为20 μl,内标为阿昔洛韦。结果:奥拉西坦尿药浓度在20~2 400 mg/L范围内线性关系良好;低、中、高3种浓度尿液样品的绝对回收率分别为(90.38±4.93)%、(93.71±3.54)%、(95.04±2.31)%,方法回收率分别为(98.32±1.96)%、(104.99±1.74)%、(103.4±2.43)%;日内RSD分别为3.40%、4.76%、1.04%,日间RSD分别为2.82%、3.64%、1.90%;试验数据显示人口服奥拉西坦胶囊(1 600 mg)24 h内尿液中排出原型药32.89%。结论:本方法简便、准确、灵敏度高,可用于人尿液中奥拉西坦药动学的研究。

**关键词** 奥拉西坦;高效液相色谱法;尿药浓度;药动学

## Determination of Oxiracetam in Human Urine by HPLC

LIU Xiu-ju, ZHANG Zhi-qing, SUN Qian, KANG Ze-kun(The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the determination of oxiracetam in human urine, and to provide reference for the study of metabolic pathways of oxiracetam. METHODS: After precipitated with methanol, HPLC method was adopted for the content determination. With acyclovir as an internal standard, a Symmetry shield<sup>TM</sup> RP18 column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-water (5:95) at the flow rate of 0.5 ml/min. The column temperature was 40℃ and the detection wavelength was set at 210 nm. The injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear ranges of oxiracetam were 20-2 400 mg/L. Absolute recoveries of urine at low, middle and high concentrations were (90.38±4.93)%, (93.71±3.54)% and (95.04±2.31)%, and the method recoveries were (98.32±1.96)%, (104.99±1.74)% and (103.4±2.43)%. The intra-day RSDs of urine at three concentrations were 3.40%, 4.76% and 1.04%, and inter-day RSDs were 2.82%, 3.64% and 1.90%, respectively. Trial data showed that 32.89% original drug discharged in 24 h after oral administration of Oxiracetam capsules (1600 mg). CONCLUSION: The method is simple, accurate, sensitive, and can be used for the pharmacokinetic study of oxiracetam in urine.

**KEY WORDS** Oxiracetam; HPLC; Urine concentration; Pharmacokinetics

奥拉西坦(Oxiracetam)是环γ-氨基丁酸(GABA)类促智药,化学名为4-羟基-2-酮-1-吡咯酰胺(4-hydroxy-2-oxo-1-pyrrolidine acetamide)。研究表明,它能提高学习速度,促进和增强记忆,对脑功能障碍有一定的改善作用<sup>[1-2]</sup>;它促进脑代谢,对磷酸酰胆碱和磷酸酰乙醇胺的合成的促进作用强于吡拉西坦。奥拉西坦在体内广泛分布,主要以肾脏、肝脏和肺内浓度最高。有国内文献报道正常中青年和老年受试者1次口服奥拉西坦(2 000 mg)24 h内排出32.78%~37.3%的原型药<sup>[3]</sup>;另有国外文献报道4名健康志愿者口服奥拉西坦(2 000 mg)6 h内排出50%的原型药<sup>[4]</sup>。鉴于以上研究的不一致性,本试验拟建立测定人尿液中奥拉西坦浓度的高效液相色谱(HPLC)法<sup>[5-6]</sup>,并且测定8名健康志愿者口服奥拉西坦(1 600 mg)24 h内的排出率,为临床合理用药提供参考。

Δ基金项目:河北省自然科学基金资助项目(No.C2011206186)

\* 硕士研究生,主管药师。研究方向:药物相互作用。电话:0311-66002778。E-mail:liuxiujv@sohu.com

# 通信作者:主任药师,博士。研究方向:药物相互作用。电话:0311-66002771。E-mail:zhangzhq@medmail.com.cn

## 1 材料

### 1.1 仪器

高效液相色谱系统,包括515泵、486紫外检测器、Empower Application操作平台(美国Waters公司);GL-20G-II冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);XW-80A涡旋混合器(上海医科大学仪器厂);低温冰箱(日本三洋公司);HZF-B1200/0.1g电子天平(美国华志公司);CPA225D电子分析天平(德国Sartorius公司)。

### 1.2 药品与试剂

奥拉西坦对照品[石药集团中诺药业(石家庄)有限公司,批号:128101207,纯度:99.60%];奥拉西坦胶囊[石药集团中诺药业(石家庄)有限公司,批号:059110101];内标:阿昔洛韦标准品(湖北易泰药业有限公司,批号:20080620,纯度:100.7%);甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Symmetry shield<sup>TM</sup> RP18(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(5:95);流速:0.5 ml/min;检测波长:210 nm;

柱温:40℃;进样量:20 μl。

## 2.2 受试者选择

健康男性志愿者8名,年龄(20±2)岁,身高(170±10)cm,体重(60±10)kg。所有受试者在试验前、后均进行常规体检、心电图和血液生化检查,受试者心、肝、肾功能未见异常。试验经河北医科大学第二医院伦理委员会审批通过。经体检合格后,受试者对试验过程及可能发生的不良反应表示理解并签约知情同意书。受试者受试前2周及试验期未用过任何其他药物并禁烟酒。用药2h后自由饮水,4h后给予低脂肪饮食。

## 2.3 尿液样品处理

取冷冻尿液室温自然解冻,5 000 r/min离心5 min,取上清液100 μl置于带塞离心管中,加内标溶液(600 mg/L)100 μl,混匀后加甲醇1 800 μl沉淀蛋白,涡旋振荡1 min,10 000 r/min离心5 min,取上清液500 μl,于40℃恒温水浴下氮气吹干,残渣以500 μl蒸馏水溶解,取上清液20 μl进样分析。

## 2.4 专属性试验

以奥拉西坦对照品溶液、内标(阿昔洛韦)溶液直接进样,另取空白尿液、模拟尿液样品及给药后尿液样品分别按“2.3”项下方法处理并测定,记录色谱。结果表明,在“2.1”项色谱条件下,奥拉西坦和阿昔洛韦峰形良好,保留时间分别为5.43 min和8.63 min,尿液中内源性物质及其他杂质均不干扰奥拉西坦的测定。色谱见图1。

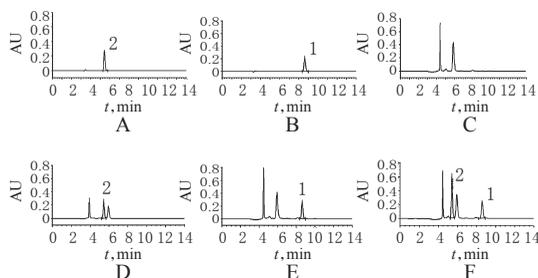


图1 高效液相色谱图

A. 奥拉西坦对照品溶液; B. 内标溶液; C. 空白尿液; D. 空白尿+奥拉西坦对照品; E. 空白尿液+内标; F. 给药后尿样+内标; 1. 阿昔洛韦; 2. 奥拉西坦

Fig 1 HPLC chromatograms

A. oxiracetam control; B. internal standard; C. blank urine; D. blank urine+oxiracetam control; E. blank urine+internal standard; F. urine sample after given drug+ internal standard; 1. acyclovir; 2. oxiracetam

## 2.5 标准曲线的制备

准确称取奥拉西坦对照品约600 mg,置于50 ml容量瓶中,蒸馏水定容制备成质量浓度为12 g/L的奥拉西坦贮备液。准确称取阿昔洛韦标准品约60 mg,置于100 ml容量瓶中,蒸馏水定容制备成质量浓度为0.6 g/L的阿昔洛韦内标溶液。分别精密量取奥拉西坦贮备液适量,制备成24 000、12 000、6 000、3 000、2 000、1 000、200 mg/L的奥拉西坦对照品溶液。取上述各溶液100 μl,分别置于3 ml带塞离心管中,加入空白尿液900 μl,制成质量浓度为2 400、1 200、600、300、200、100、20 mg/L的模拟尿液样品,按“2.3”项下方法处理并测定,记录色谱。以奥拉西坦与内标阿昔洛韦峰面积的比值(Y)对尿液药物浓度(X)进行线性回归,得标准曲线方程 $Y=0.0008X+0.0027$ ( $r=0.9990, n=7$ )。结果表明,奥拉西坦检测质量浓度在20~2 400 mg/L范围内线性关系良好,最低检出质量浓度为

0.01 mg/L。

## 2.6 回收率试验

取空白尿液15份,分为3组,每组5份,分别制备低、中、高(100、300、1 200 mg/L)3种质量浓度的奥拉西坦模拟尿液样品,按“2.3”项下方法处理并测定。以奥拉西坦峰面积与等量奥拉西坦对照品溶液直接进样的峰面积相比,即得奥拉西坦的绝对回收率;根据标准曲线计算药物浓度,以测得药物浓度与已知药物浓度之比,计算方法回收率。另取空白尿液5份,按“2.3”项下方法处理并测定,以阿昔洛韦峰面积与等量阿昔洛韦标准溶液直接进样的峰面积相比,即得阿昔洛韦的绝对回收率。结果,低、中、高浓度模拟尿液样品中奥拉西坦的绝对回收率分别为(90.38±4.93)%、(93.71±3.54)%、(95.04±2.31)%,方法回收率分别为(98.32±1.96)%、(104.99±1.74)%、(103.4±2.43)%;阿昔洛韦模拟尿液样品的提取回收率为(96.10±1.29)%( $n=5$ ),RSD值为1.34%。

## 2.7 精密度试验

按“2.6”项下方法制备低、中、高3种浓度的奥拉西坦模拟尿液样品,分别放置0、1、2、3、4 h,按“2.3”项下方法处理并测定。同日测定5次,计算日内RSD;另每日测定1次,连续测定5 d,计算日间RSD。精密度试验结果见表1。

表1 精密度试验结果( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Tab 1 Results of precision tests( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

质量浓度, mg/L	日内精密度		日间精密度	
	实测值,mg/L	RSD, %	实测值,mg/L	RSD, %
100	105.88±3.60	3.40	101.00±2.84	2.82
300	310.88±14.79	4.76	307.29±11.18	3.64
1 200	1 282.03±13.39	1.04	1 240.53±23.53	1.90

## 2.8 稳定性试验

取空白尿液,按“2.5”项下方法制备成质量浓度为300 mg/L的奥拉西坦模拟尿液样品,按“2.3”项下方法处理,处理时间分为即刻、-40℃低温保存30 d后、反复冻融3次后,然后进行测定,考察尿液样品低温保存稳定性与反复冻融稳定性;另即刻处理后,分别放置0、1、2、3、4 h后进样测定,考察尿液样品处理后放置稳定性。结果表明,奥拉西坦尿液样品低温保存反复冻融稳定性均良好,尿液样品处理后放置4 h稳定性良好。

## 2.9 药动力学试验

健康志愿者试验前禁食12 h,试验当日排空膀胱后空腹一次口服奥拉西坦胶囊1 600 mg(用100 ml水服下),用药2 h后自由饮水,收集给药后24 h尿液,-40℃低温保存待测。冷冻尿液样品按“2.3”项下方法处理并测定。结果,口服奥拉西坦胶囊在人体内12 h尿中排出原型药29.91%,24 h尿中排出原型药32.89%。

## 3 讨论

奥拉西坦是一种极性很强的小分子物质,水溶性很大,在有机溶剂中的分配系数很小。试验中采用耐水的Waters C<sub>18</sub>色谱柱,增加流动相中极性成分的比例并降低流速<sup>[1]</sup>;样品预处理时,反复试验甲醇和乙腈分别沉淀蛋白,最后认为甲醇容易吹干,效果较好。

试验表明本法色谱分离良好,线性关系亦良好。该方法简便、灵敏、可靠、专属性强,可用于人尿液中奥拉西坦药动学的研究。

奥拉西坦口服后主要以原型药物的形式由尿排泄。本试

# HPLC法测定胃癌患者卡培他滨血药浓度及其药动学研究<sup>Δ</sup>

余俊先<sup>1\*</sup>, 孟化<sup>2</sup>, 王康里<sup>2</sup>, 史丽敏<sup>1</sup>, 王汝龙<sup>1</sup>(1.首都医科大学附属北京友谊医院药剂科, 北京 100050; 2.首都医科大学附属北京友谊医院普外科, 北京 100050)

中图分类号 R969.3; R978.1; R287 文献标志码 C 文章编号 1001-0408(2013)02-0123-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.02.11

**摘要** 目的:建立卡培他滨的血药浓度测定方法并对其在胃癌患者体内的药动学进行初步探讨。方法:入组4例胃癌患者,其血浆以替硝唑为内标,以叔丁基甲醚进行提取后进样测定,色谱柱为Eclipse C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(26:74),检测波长为310 nm,流速为1.0 ml/min。血药浓度数据用DAS药动学计算机程序处理。结果:卡培他滨与内标替硝唑分离良好,保留时间分别为8.15、3.15 min,卡培他滨血药浓度在0.05~8.00 μg/ml范围内线性关系良好;日内、日间RSD均<7%,提取回收率在77.04%~87.53%范围内;卡培他滨的药动学参数 $c_{max}$ 、 $t_{max}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 、 $AUC_{0-6h}$ 分别为(5.42±2.90)μg/ml、(1.0±0.71)h、(1.01±0.50)h和(9.54±5.32)mg·h/L。结论:胃癌患者口服卡培他滨后吸收迅速,消除半衰期短,个体之间生物利用度差异显著。

**关键词** 高效液相色谱法;卡培他滨;药动学;胃癌

## Determination of Plasma Concentration of Capecitabine in Patients with Gastric Cancer and Its Pharmacokinetics Study

YU Jun-xian<sup>1</sup>, MENG Hua<sup>2</sup>, WANG Kang-li<sup>2</sup>, SHI Li-min<sup>1</sup>, WANG Ru-long<sup>1</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2.Dept. of General Surgery, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of plasma concentration of capecitabine, and to explore its pharmacokinetics in gastric carcinoma subject. METHODS: 4 gastric carcinoma subjects were enrolled. Using tinidazole as internal standard, plasma was extracted with tert-butyl methyl ether. The determination was performed on Eclipse C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (26:74) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 310 nm. The plasma concentration of capecitabine was processed by DAS computer program. RESULTS: Capecitabine was well-separated from tinidazole, and the retention time of them were about 8.15 min and 3.15 min, respectively. Linear range of capecitabine was 0.05-8.00 μg/ml. RSD of intra-day and inter-day were lower than 7% and extraction recoveries were 77.04%-87.53%; pharmacokinetic parameters of capecitabine were as follows:  $c_{max}$  was (5.42±2.90)μg/ml;  $t_{max}$  was (1.0±0.71)h;  $t_{1/2\beta}$  was (1.01±0.50)h;  $AUC_{0-6h}$  was (9.54±5.32)mg·h/L, respectively. CONCLUSION: Capecitabine in gastric carcinoma subjects is quickly absorbed and eliminated, elimination half life is short and inter-subject bioavailability difference is notable.

**KEY WORDS** HPLC; Capecitabine; Pharmacokinetics; Gastric carcinoma

胃癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,其病死率位列癌症死亡率的第2位<sup>[1]</sup>。卡培他滨(Capecitabine, Cap)系靶向抗肿瘤药,为氟尿嘧啶的氨基甲酸酯形式,能特异性在肿瘤组织部位集聚并转化为氟尿嘧啶。2008年在我国获批用于治疗中晚期胃癌,疗效与氟尿嘧啶注射剂相近,且给药方便、毒副作用较轻、化疗时间短<sup>[2]</sup>。临床观察发现,同一分期、同一病理类型

的胃癌即使采用相同的卡培他滨(XELOX方案),患者的疗效与生存期也可能截然不同,也可能是源于其在体内代谢的差异。笔者应用高效液相色谱(HPLC)法测定卡培他滨血浆药物浓度,并初步探讨其在胃癌患者体内的代谢规律。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

验数据显示,人口服奥拉西坦胶囊在24 h内尿中排出32.89%,这一数据与国内文献报道正常中青年和老年受试者一次口服奥拉西坦24 h内排出32.78%~37.3%的原型药基本一致。

### 参考文献

- [1] 刘秀菊,张志清,杨秀岭,等.HPLC法测定大鼠血浆中奥拉西坦的浓度[J].中国药房,2012,23(5):403.
- [2] 刘治军,胡欣.促智药奥拉西坦的临床和基础研究[J].中华神经外科疾病研究杂志,2005,4(3):286.

- [3] 於东晖,焦效兰,周玉娟,等.国产奥拉西坦胶囊的人体耐受性及药代动力学研究[J].中国临床药理学杂志,1997,13(1):11.
- [4] 焦效兰,於东晖,邹安庆,等.高效液相色谱法测定人血清及尿中奥拉西坦的浓度[J].药学学报,1994,29(8):570.
- [5] 刘治军,李可欣,阴继爱,等.奥拉西坦注射液在中国健康受试者体内的药动学[J].中国医院药学杂志,2005,25(5):404.
- [6] 闫小燕,胡欣.高效液相色谱法测定奥拉西坦氯化钠注射液中药物的含量[J].中国药房,2006,17(8):618.

(收稿日期:2012-01-25 修回日期:2012-05-11)

Δ 基金项目:北京市卫生局青年科学研究资助项目(No.QN2010-006)  
\* 副主任药师,博士。研究方向:临床药理学。电话:010-63138515。E-mail: yujunxian@sohu.com