

苯扎贝特在不同性别健康人体内的药动学研究

李忠亮*, 张治然, 袁荣刚(解放军第210医院药学部, 辽宁大连 116021)

中图分类号 R972*.6;R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)06-0524-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.06.17

摘要 目的:研究健康男、女志愿者单剂量口服苯扎贝特片的药动学。方法:健康志愿者20名(其中男、女各半),单剂量口服苯扎贝特片400 mg,采用高效液相色谱法测定血浆中苯扎贝特的浓度。用DAS软件程序进行数据处理,用SPSS软件对不同性别药动学参数进行统计分析。结果:男、女受试者单剂量口服苯扎贝特片400 mg的主要药动学参数分别为: c_{max} (11.41±3.24)、(11.06±3.06) μg/ml, t_{max} (1.93±0.29)、(2.07±0.38)h, $t_{1/2}$ (2.06±0.33)、(2.03±0.27)h, AUC_{0-12h} (35.46±9.26)、(39.36±9.63) μg·h/ml, $AUC_{0-∞}$ (40.34±10.35)、(39.57±9.28) μg·h/ml。结论:健康志愿者单剂量口服苯扎贝特片的体内药动学过程符合二室开放模型。经统计学分析,本品在健康志愿者体内药动学过程不存在性别差异。

关键词 苯扎贝特;高效液相色谱法;药动学;性别因素

Study on Pharmacokinetics of Bezafibrate in Healthy Volunteers of Different Genders

LI Zhong-liang*, ZHANG Zhi-ran, XI Rong-gang (Dept. of Pharmacy, No. 210 Hospital of PLA, Liaoning Dalian 116021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the pharmacokinetics of Bezafibrate tablets after a single oral dose in healthy male or female volunteers. METHODS: 10 healthy male volunteers and 10 healthy female volunteers were involved in the study. Each subject received a single dose of Bezafibrate tablets 400 mg. The plasma concentration of bezafibrate was determined by HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated by DAS software and were statistically analyzed by SPSS software. RESULTS: The main pharmacokinetic parameters of a single dose of Bezafibrate tablets 400 mg in male volunteer vs. female volunteers were as follows: c_{max} (11.41±3.24) μg/ml vs. (11.06±3.06) μg/ml; t_{max} (1.93±0.29) h vs. (2.07±0.38) h; $t_{1/2}$ (2.06±0.33) h vs. (2.03±0.27) h; AUC_{0-12h} (35.46±9.26) μg·h/ml vs. (39.36±9.63) μg·h/ml; $AUC_{0-∞}$ (40.34±10.35) μg·h/ml vs. (39.57±9.28) μg·h/ml. CONCLUSION: The results show that the plasma concentration-time curves of bezafibrate are fitted to a two-compartment open model and the main pharmacokinetic parameters of bezafibrate have no significant differences between male and female volunteers.

KEY WORDS Bezafibrate; HPLC; Pharmacokinetics; Gender factor

苯扎贝特(Bezafibrate)是氯贝丁酸衍生物类血脂调节药,能够降低升高了的血清甘油三酯、总胆固醇以及极低密度脂蛋白-胆固醇的水平,从而使高脂血症患者的脂质正常化。其作用机制有2个方面:(1)抑制羟甲基戊二酸单酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶而减少胆固醇的合成;(2)增加脂蛋白酯酶和肝酯酶的活性而加快甘油三酯的清除以及增加高密度脂蛋白-胆固醇的水平。本药还可以轻度降低血糖,适用于糖尿病伴高脂血症患者。国内关于苯扎贝特在健康人体内的药动学研究数据并不充分,本试验开展苯扎贝特在不同性别健康人体内的药动学研究,从而为临床合理应用提供数据参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-10ATvp 高压液相色谱仪,包括Sil-10ADvp 自动进样

器、SPD-10Avp 紫外检测器、Class-VP 色谱工作站(日本岛津公司);TGL-16M 台式高速冷冻离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);XW-80A 微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器有限公司);TG328A 型分析天平(上海精密科学仪器有限公司);Delta 320 型精密 pH 计(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司);MTN-2800W 氮吹浓缩装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

苯扎贝特片(阿贝他,江苏天力士贝特制药有限公司,规格:每片200 mg,批号:06050103);苯扎贝特对照品(批号:100627-200801,纯度:98.0%,0.98 mg/1 mg)、格列吡嗪(内标,批号:100285-200604,纯度:99.9%,0.999 mg/1 mg)均由中国食品药品检定研究院提供;甲醇为色谱纯,冰乙酸、正己烷、无水乙醚、无水乙酸钠、四丁基溴化铵均为分析纯;水为二次蒸

3 讨论

在摸索流动相体系的过程中,我们考察了流动相中甲醇的不同体积分数(70%、66%、60%)及流动相的不同 pH 值(5.0、4.5、4.0、3.5、3.0、2.5)对分析结果的影响,通过比较,选择本流动相效果最佳。在此条件下,杂质峰对样品峰干扰小,保留时间适宜,坎地沙坦和内标缬沙坦保留时间分别为5.9 min 和8.9 min,与文献报道相比均有所提前,既节省进样时间又节省试验经费。样品处理时考虑到操作的方便性,采用盐酸沉

淀蛋白后直接用乙醚提取,坎地沙坦提取回收率较高,且不受内源性物质的干扰,同时还提高了测定灵敏度,定量下限为0.98 ng/ml。试验结果表明,本法可用于该药的血浆含量测定及制剂的生物等效性研究。

参考文献

[1] Stenhoff H, Per-Olof Lagerström, Andersen C. Determination of candesartan cilexetil, candesartan and a metabolite in human plasma and urine by liquid chromatography and fluorometric detection[J]. *Journal of Chromatography B*, 1999, 731(9):411.

(收稿日期:2012-07-01 修回日期:2012-11-01)

* 主管药师,硕士研究生。研究方向:药动学。电话:0411-39847085。E-mail:lizhongliang210@126.com

馏水;空白人血浆由解放军第210医院输血科提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.01 mol/L乙酸钠缓冲液(用冰乙酸调pH为4.0)-0.5 mol/L四丁基溴化铵(65:35:0.2, V/V/V);流速:1.2 ml/min;紫外检测波长:232 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μl。在此色谱条件下,药物、血浆中内源性杂质和内标分离完全,峰形良好,其色谱图见图1。内标格列吡嗪的保留时间约为7.2 min,苯扎贝特的保留时间约为10.5 min,分离度>1.5。

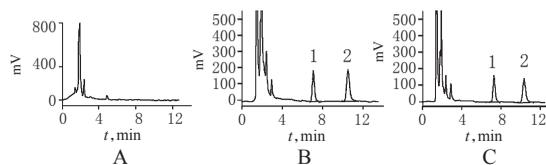


图1 高效液相色谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆+苯扎贝特标准溶液+内标溶液; C. 受试者血浆样品+内标溶液; 1. 格列吡嗪; 2. 苯扎贝特

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+bezafibrate standard solution+internal standard; C. plasma sample of volunteers+ internal standard; 1. gliclazide; 2. bezafibrate

2.2 受试者选择

选择健康志愿者20名,其中男、女各10名,年龄为(26.4±1.3)岁,体质量为(55.8±5.5)kg,身高为(168.3±2.6)cm。体格检查示肝、肾功能无异常,不吸烟、不嗜酒。女性健康志愿者受试时间避开月经、妊娠及哺乳期。试验前2周内未服用任何其他药物。受试者均签署知情同意书。临床试验方案经解放军第210医院医学伦理委员会批准。

2.3 试验方案

试验采用单剂量给药。受试者于试验前1日晚餐后,开始禁食不禁水;于试验日晨空腹口服给药400 mg,以温开水200 ml吞服,服药2 h后,可自由饮水;4 h后,进统一清淡低脂饮食。服药期间禁烟、酒和含咖啡因类饮料,避免剧烈运动和长时间卧床。

2.4 血样采集

受试者于服药前(0 h)和服药后的0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0、12.0 h时于肘静脉取血5 ml,置肝素化试管中,3.5×10³ r/min离心(离心半径为15 cm)10 min,分离血浆,置-70 ℃冰箱保存待测。

2.5 样品预处理

精密量取血浆200 μl,置10 ml离心管中,加入甲酸40 μl,加入内标溶液(25 μg/ml格列吡嗪)40 μl,加入1 mol/L盐酸50 μl,涡旋1 min,加入乙醚-正己烷(2:1)提取液2 ml,振荡混合2 min,4×10³ r/min离心(离心半径为15 cm)10 min,取有机层,置5 ml离心管中,于37 ℃水浴中氮气流吹干,残渣用流动相300 μl溶解,涡旋1 min,移至1.5 ml离心管中,1.5×10⁴ r/min离心(离心半径为15 cm)5 min,取上清液20 μl进样分析。

2.6 标准溶液的配制

准确称取苯扎贝特对照品102.4 mg,置1 000 ml量瓶中,用甲醇溶解定容,制成100.0 μg/ml苯扎贝特储备液。精密量取0.5、1.5、5.0、12.5、25.0、50.0、100.0 ml置100 ml量瓶中,用甲醇定容,即得0.5、1.5、5.0、12.5、25.0、50.0、100.0 μg/ml系列质量浓度标准溶液。另准确称取格列吡嗪对照品25.0 mg,置

1 000 ml量瓶中,用甲醇溶解定容,制成25 μg/ml格列吡嗪内标溶液。

2.7 标准曲线的制备

精密量取空白血浆200 μl,置10 ml离心管中,分别精密加入上述苯扎贝特系列标准溶液各40 μl,制成血浆中含苯扎贝特为0.1、0.3、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 μg/ml的血浆样品,按“2.5”项下方法处理血浆样品,进行色谱分析,记录色谱。以苯扎贝特的峰面积与内标峰面积比(R)对浓度(c)进行线性回归,得血浆标准曲线方程: $R=0.27548c-0.12549$ ($r=0.9993$),结果表明,苯扎贝特血药浓度在0.1~20.0 μg/ml范围内线性关系良好。本法测定血浆中苯扎贝特的定量下限为0.1 μg/ml。

2.8 精密性及回收率试验

按“2.7”项下方法配制苯扎贝特低、中、高(0.250、2.038、13.333 μg/ml)3个质量浓度的血浆样品,按“2.5”项下方法处理后进行色谱分析,将所得的药物峰面积与内标峰面积的比值代入标准曲线方程,计算方法回收率。将测定值与相应浓度对照品溶液直接进样所得结果比较,计算提取回收率。取上述各浓度血样于同一天内分别测定5次,连测5 d,计算日内和日间RSD。精密性及回收率试验结果见表1。

表1 精密性及回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of precision and recovery tests (n=5)

浓度,mg/ml	日内RSD,%	日间RSD,%	方法回收率,%	RSD,%	回收率,%	RSD,%
0.250	6.9	7.1	96.1±3.4	9.8	95.3±8.77	9.2
2.083	5.1	5.3	100.3±1.5	8.4	96.2±7.79	8.1
13.333	7.3	7.7	104.6±3.2	8.2	93.8±7.41	7.9

2.9 稳定性试验

同“2.8”项下方法配制低、中、高3个质量浓度血浆样品,每个浓度3份。1份按“2.5”项下方法操作,在室温放置24 h,考察血浆样品在室温条件下的稳定性;1份于-70 ℃冰箱冷冻,反复冻融3次,按“2.5”项下操作,考察血浆样品经反复冻融的稳定性;1份于-70 ℃冷冻保存1个月,按“2.5”项下操作,考察血浆样品在长期冷冻条件下的稳定性。结果显示RSD均<10%(n=3),表明苯扎贝特在室温、反复冻融以及长期冷冻条件下稳定性均较好。

2.10 药动学参数

20名健康志愿者单剂量口服苯扎贝特片400 mg后,苯扎贝特平均药-时曲线见图2。用DAS 2.1程序软件进行处理,以赤池信息量准则(AIC)值作为模型识别指标,结果符合二室开放模型。

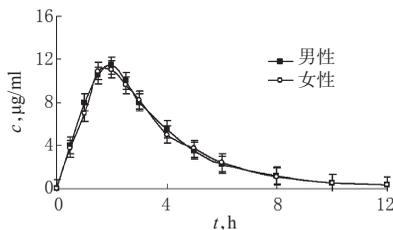


图2 健康志愿者单剂量口服400 mg苯扎贝特片后平均药-时曲线($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of Bezafibrate tablets 400 mg in healthy volunteers after oral single dose($\bar{x} \pm s, n=10$)

2.11 不同性别受试者药动学参数的比较

不同性别健康志愿者单剂量口服苯扎贝特片400 mg的药动学参数见表2。采用梯形法计算AUC_{0-12h}值, t_{max} 和 C_{max} 均为实测值。主要药动学参数经对数转换后采用SPSS软件进行

建立同时测定人血浆中拉莫三嗪和奥卡西平的HPLC法

朱雪萍^{1*}, 陈晓萌², 秦玉花², 赵宁民², 马爱玲², 赵淑娟², 蔡海霞²(1. 郑州大学第五附属医院, 郑州 450052; 2. 郑州大学河南省人民医院, 郑州 450002)

中图分类号 R969.1; R971*.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)06-0526-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.06.18

摘要 目的: 建立同时测定人血浆中拉莫三嗪和奥卡西平的方法。方法: 采用高效液相色谱法进行测定。以氯唑沙宗为内标, 色谱柱为Dikma C₁₈, 流动相为甲醇-水-三氟乙酸(40:60:0.000 5), 流速为1 ml/min, 检测波长为240 nm。结果: 拉莫三嗪、奥卡西平血药浓度均在0.5~50 μg/ml范围内线性关系良好(r 分别为0.994 0、0.992 5), 提取回收率分别为92.50%~95.33%、88.78%~93.12%。拉莫三嗪、奥卡西平3种质量浓度(25、10、2 μg/ml)的5个平行样品连续测定的RSD分别为4.01%、6.15%、4.64%和3.05%、4.27%、9.01%。结论: 本方法操作简单、回收率高、精密度好, 可以同时用于测定拉莫三嗪和奥卡西平的血药浓度。

关键词 拉莫三嗪; 奥卡西平; 高效液相色谱法; 血药浓度

Establishment of HPLC Method for Simultaneous Determination of Lamotrigine and Oxcarbazepine in Human Plasma

ZHU Xue-ping¹, CHEN Xiao-meng², QIN Yu-hua², ZHAO Ning-min², MA Ai-ling², ZHAO Shu-juan², CAI Hai-xia²(1. The Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of plasma concentrations of lamotrigine and oxcarbazepine. METHODS: HPLC method was adopted using chlorzoxazone as internal standard. The determination was performed on Dikma C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water-trifluoroacetic acid (40:60:0.0005) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was 240 nm. RESULTS: The linear ranges of lamotrigine and oxcarbazepine were both 0.5-50 μg/ml ($r=0.994\ 0$ and $r=0.992\ 5$); extraction recoveries were 92.50%-95.33% and 88.78%-93.12%. RSD of continuous sampling for 5 parallel samples of three concentrations of lamotrigine and oxcarbazepine (25, 10, 2 μg/ml) were 4.01%, 6.15%, 4.64% and 3.05%, 4.27%, 9.01%, respectively. CONCLUSION: The method is simple, with high recovery and good precision. It is suitable for the determination of lamotrigine and oxcarbazepine concentration in plasma.

KEY WORDS Lamotrigine; Oxcarbazepine; HPLC; Plasma concentration

统计分析, 比较不同性别受试者的药动学参数, 结果 c_{max} 、 $t_{1/2}$ 等差异均无显著性($P>0.05$)。

表2 健康志愿者单剂量口服400 mg苯扎贝特片后主要药动学参数($\bar{x} \pm s, n=20$)

Tab 3 Main pharmacokinetic parameters of Bezafibrate tablets 400 mg in healthy volunteers after oral single dose ($\bar{x} \pm s, n=20$)

药动学参数	男性	女性	平均数值
$t_{1/2}$, h	2.06 ± 0.33	2.03 ± 0.27	2.05 ± 0.31
C_{max} , μg/ml	11.41 ± 3.24	11.06 ± 3.06	11.24 ± 3.15
t_{max} , h	1.93 ± 0.29	2.07 ± 0.38	2.02 ± 0.36
V_d/F , L/kg	0.25 ± 0.06	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.05
CL/F, L/(h·kg)	7.73 ± 0.41	7.52 ± 0.28	7.68 ± 0.31
AUC _{0-12h} , μg·h/ml	35.46 ± 9.26	39.36 ± 9.63	37.54 ± 9.45
AUC _{0-∞} , μg·h/ml	40.34 ± 10.35	39.57 ± 9.28	39.46 ± 9.82

2.12 安全性评价

20名健康受试者中, 未发生明显不良反应, 说明受试者在试验期间对单次口服苯扎贝特片耐受良好。

3 讨论

参考文献^[1-3], 生物样品的提取回收率一般较低, 本试验考查了苯扎贝特的多种提取方法, 比如高氯酸等蛋白沉淀剂等, 最终选择乙醚-正己烷(2:1)为提取液, 较好地保证了苯扎贝特具有较高的提取回收率。最终确立的色谱检测条件和血浆提取

* 副主任药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药物分析、药品不良反应监测。电话: 0371-55615758。E-mail: 1296647908@qq.com

方法操作简便快速、准确性高、专一性强、成本低、检测灵敏度理想、回收率高、最低定量下限为0.1 μg/ml, 适合苯扎贝特的人体药动学研究。

参考文献^[1-4], 苯扎贝特在碱性条件下非常容易发生降解, 在氧化和酸性条件下也会发生降解。经筛选, 采用甲醇-0.01 mol/L 乙酸钠缓冲液(用冰乙酸调pH为4.0)-0.5 mol/L 四丁基溴化铵(65:35:0.2, V/V/V)作为本次试验的流动相, 可以有效地抑制苯扎贝特解离, 同时又保证苯扎贝特与内标和血浆内源物的分离度符合要求, 减少色谱峰拖尾。

20名健康志愿者单剂量口服400 mg苯扎贝特片后, 血药浓度经DAS程序软件进行处理, 以AIC值作为模型识别指标, 结果符合二室开放模型; 药动学参数与国内外文献报道基本相符, 性别因素对本品药动学无明显影响($P>0.05$)。

参考文献

- [1] Castoldi D, Monzani V, Tonfanetti O. Determination of bezafibrate in human plasma and urine by high performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogo Biomed Appl*, 1985, 344(8): 259.
- [2] 肖峰, 吴成义, 陶春蕾, 等. 苯扎贝特胶囊的人体生物利用度和生物等效性研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13(3): 315.
- [3] 谭力, 钱峰, 张杰, 等. 国产苯扎贝特片人体相对生物利用度的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2000, 16(4): 292.
- [4] 黄春森, 黄东. 苯扎贝特样品的稳定性探讨[J]. *中国医疗前沿*, 2008, 3(21): 103.

(收稿日期: 2012-04-21 修回日期: 2012-12-01)