

茴拉西坦分散片在健康人体内的药动学研究

刘兴才*,王琳(南通医学院附属东台市人民医院,江苏东台 224200)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)46-4360-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.46.14

摘要 目的:建立测定人血浆中茴拉西坦浓度的方法。方法:采用高效液相色谱法测定人血浆中茴拉西坦的浓度,色谱柱为 ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-冰乙酸(45:55:0.075),检测波长为 250 nm,内标为对羟基苯甲酸甲酯。结果:茴拉西坦血药浓度在 0.40~12.0 μg/ml 范围内线性关系良好($r=0.999\ 8$);回收率>80%,日内和日间 RSD 均<10%。结论:本方法简便、快速、准确,适用于茴拉西坦分散片药动学研究及血药浓度监测。

关键词 茴拉西坦;高效液相色谱法;药动学

Pharmacokinetics Study of Aniracetam Dispersible Tablets in Healthy Volunteers

LIU Xing-cai, WANG Lin(The Affiliated Dongtai People's Hospital of Nantong Medical College, Jiangsu Dongtai 224200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the concentration determination of aniracetam in healthy volunteers. METHOD: HPLC method was adopted. The determination was performed on ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with methanol-water-glacial acetic acid (45:55:0.075) as mobile phase. The detection wavelength was set at 250 nm, and methyl parahydroxybenzoate was taken as internal standard. RESULTS: The linear range of aniracetam were 0.40-12.0 μg/ml ($r=0.999\ 8$) with recovery above 80%. RSDs of intra-day and inter-day were below 10%. CONCLUSIONS: The method is convenient, rapid, accurate and suitable for the pharmacokinetic study and plasma concentration monitoring of Aniracetam dispersible tablets.

KEY WORDS Aniracetam; HPLC; Pharmacokinetics

茴拉西坦(Aniracetam)是2-吡咯烷酮的衍生物,通过血脑屏障选择性作用于中枢神经系统,能对抗缺氧引起的记忆减退,有效改善某些原因引起的记忆障碍。临床主要用于治疗脑血管病后的记忆减退及中老年人的记忆减退、老年性痴呆症等^[1-3]。本文参考有关文献,建立茴拉西坦血药浓度测定方法,对茴拉西坦分散片进行健康人体药动学研究,为临床合理用药提供科学理论依据。

1 材料

1.1 仪器

Aglient 1200 高效液相色谱系统,配备 G1313A 自动进样器、G1315B 二极管阵列检测器、G1311A 四元梯度泵、G1316A 柱温箱(美国安捷伦科技有限公司);TGL 216G 台式高速离心机(上海安亭科学仪器厂);精密天平(沈阳龙腾电子有限公司);GL-88B 微型涡旋混合仪(上海沪西仪器厂有限公司);YGL 系列氮吹仪(成都雅源科技有限公司);CLAUVFM 纯水机(英国 ELGA 公司)。

1.2 药品与试剂

茴拉西坦分散片(西安海欣制药有限公司,批号:20100811,规格:100 mg/片);茴拉西坦对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号:110711-200802);内标:对羟基苯甲酸甲酯(天津市博迪化工有限公司,批号:110714-200907);乙腈为色谱纯,高氯酸、磷酸及其他试剂均为分析纯,水为自制重蒸水。

2 方法^[4-5]

2.1 色谱条件

色谱柱:ODS C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰乙酸(45:55:0.075),流速:1 ml/min;柱温:40 ℃;检测波长:250 nm。

2.2 血浆样品预处理

* 副主任药师。研究方向:临床药理学。电话:0515-85253855。E-mail:dtlxc@163.com

精密吸取上层血浆 500 μl、内标对羟基苯甲酸甲酯(10 mg/ml) 50 μl,加入乙腈 1 ml,涡旋 1 min,13 000 r/min 离心(离心半径 8 cm,下同)5 min,采用移液枪吸取上清液,转移至尖嘴离心管中,40 ℃氮气流吹干,再用流动相 100 μl 溶解残渣,进样 80 μl,记录色谱峰面积。

2.3 标准贮备液的制备

准确称取茴拉西坦对照品 20 mg,置于 1 ml 量瓶中,以乙腈溶解定容成 20 mg/ml 标准贮备液,于 4 ℃冰箱中保存。准确称取内标对羟基苯甲酸甲酯 10 mg,置于 1 ml 量瓶中,以乙腈溶解定容成 10 mg/ml 内标贮备液,于 4 ℃冰箱中保存备用。

2.4 受试者选择

筛选后入选的受试者 8 名,均为男性,年龄 22~24 岁,体质量 55~75 kg。于试验前接受全身体格检查、血常规、肝肾功能、心电图检查,并经医学伦理委员会批准,签署知情同意书。

2.5 试验方案

8 名受试者试验当日晨空腹口服茴拉西坦分散片 2 片(200 mg),以 200 ml 温开水送服并做记录,整个试验在医师监护下进行。受试者于服药前及服药后 0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、8、10 h 时分别抽取静脉血 3 ml,置于肝素化试管中,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,保存于-40 ℃冰箱中待测。受试者于服药后 2 h 可自由饮水(不可饮含咖啡因及乙醇的饮料),并于用药后 4 h 统一进标准餐。

2.6 数据处理

通过标准曲线方程,计算每一点的血药浓度,由计算机模拟确定模型,用 DAS 2.1 软件计算药动学参数。

3 结果

3.1 专属性考察

血样按“2.2”项下方法操作处理,同法处理空白血浆和空白血浆加对照品和内标的血浆样品,再按照“2.1”项的色谱条

件进样分析。结果茴拉西坦和对羟基苯甲酸甲酯(内标)的峰形良好,保留时间分别为12.6、6.8 min,且空白血浆样本在相应位置处基本上未出现内源性物质的干扰,见图1。

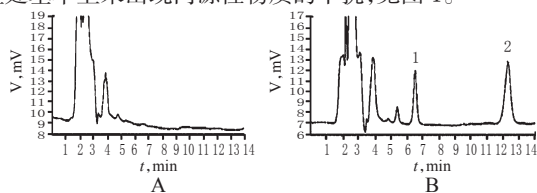


图1 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆+茴拉西坦标准溶液+内标溶液;1.对羟基苯甲酸甲酯;2.茴拉西坦

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma + aniracetam standard + internal standard; 1. methyl parahydroxybenzoate; 2. aniracetam

3.2 标准曲线的制备及最低检测限度

取空白血浆与茴拉西坦标准储备液(20 mg/ml)适量涡旋混合,配置成25 μg/ml的血浆样本溶液,再加入适量空白血浆,配成茴拉西坦质量浓度分别为0.4、0.8、1.5、2.5、4、8、12.0 μg/ml的系列标准血样,再按“2.2”项下处理并进样测定,记录色谱。以测得的茴拉西坦峰面积(A)对血浆药物浓度(c)进行线性回归,得回归方程为: $A=0.0087c-0.015453$ ($r=0.9998$)。结果表明,茴拉西坦血药浓度在0.4~12.0 μg/ml范围内呈良好的线性关系,最低检测限度为50 ng/ml。

3.3 回收率及精密度试验

于空白血浆中,加入适量的茴拉西坦标准溶液,配制成质量浓度分别为0.8、6、10 μg/ml的茴拉西坦质控(QC)样本,按“2.2”项下方法操作,测定茴拉西坦的浓度(A_1);另取等量的茴拉西坦标准溶液,配制浓度为0.8、6、10 μg/ml,按照QC样品的血浆样品处理方法操作,记录茴拉西坦面积为 A_2 。以 A_1/A_2 之比乘以100%,计算回收率,并计算日内RSD;以同样的方法连续测定5 d,计算日间RSD,结果见表1。结果日内及日间RSD均小于10%,可见本方法精密度良好,符合生物样本测定方法的要求。

表1 回收率及精密度试验结果

Tab 1 Results of recovery and precision tests

血药浓度, μg/ml	日内测得量, μg/ml	RSD, %	日间测得量, μg/ml	RSD, %	回收率, %
0.8	0.76 ± 0.05	6.8	0.77 ± 0.04	7.4	82.9 ± 6.4
6	5.7 ± 0.3	7.7	5.6 ± 0.4	7.8	81.8 ± 7.5
10	9.7 ± 0.4	7.9	9.8 ± 0.3	8.2	84.3 ± 7.4

3.4 稳定性考察

采用空白血浆与适量的茴拉西坦标准溶液混匀,配制0.8、6、12 μg/ml的QC样品,按“2.2”项下方法处理,于室温下放置,分别在0.9、18、24 h时测定,比较不同时间测定的浓度。茴拉西坦的浓度变化<5%,表明血浆样品在24 h内稳定性良好,见表2。

3.5 多次冻融试验结果

取上述3种QC血浆样品,即时测定;另一40℃冷冻保存,解冻测定,连续3次,计算经3次冻融后茴拉西坦测得质量浓度的变化。结果茴拉西坦的质量浓度变化<10%,表明血样经3次冻融后稳定性较好,结果见表2。

3.6 药动学研究结果

8例健康志愿者空腹单剂量口服茴拉西坦分散片200 mg后的平均药-时曲线见图2。

采用DAS 2.1软件对茴拉西坦的药-时曲线进行拟合,结

表2 稳定性试验结果

Tab 2 Results of stability tests

血浆质量浓度, μg/ml	进样各时间百分浓度, %				冻融稳定性	
	0 h	9 h	18 h	24 h	测得质量浓度, μg/ml	RSD, %
0.8	100	99.7	98.4	97.5	0.77 ± 0.03	7.6
6	100	99.6	98.0	97.5	5.92 ± 0.08	6.7
10	100	99.7	98.7	97.2	9.83 ± 0.21	7.5

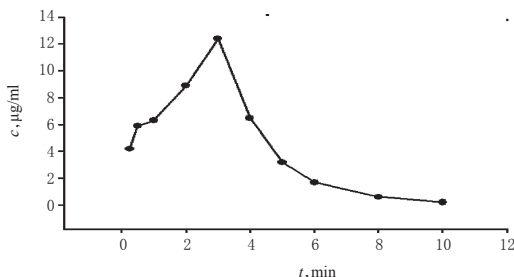


图2 健康人单剂量口服茴拉西坦分散片20 mg后的平均药-时曲线(n=22)

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of aniracetam in healthy volunteers after single oral dose of Aniracetam dispersible tablets 20 mg (n=22)

果表明茴拉西坦分散片的药-时曲线符合二室模型,所求算出的主要药动学参数见表3。

表3 健康人单剂量口服茴拉西坦分散片200 mg后的平均药动学参数结果

Tab 3 Pharmacokinetic parameters of aniracetam in healthy volunteers after single oral dose of Aniracetam dispersible tablets 200 mg

药动学参数	结果
$t_{1/2}$, h	2.87 ± 0.51
c_{max} , μg/ml	12.5 ± 0.7
t_{max} , h	3.48 ± 0.57
$AUC_{0-\infty}$, μg·h/ml	5 737 ± 114
AUC_{0-1} , μg·h/ml	4 063 ± 102

4 讨论

茴拉西坦血药浓度测定多采用HPLC法,由于极性问题的生物样品预处理与色谱分离困难。以前的分析方法具有灵敏度不高、制备血浆样品过程烦琐等严重问题。而本研究采用的高效液相色谱法,能快速提取血浆中大部分的茴拉西坦,且空白血浆样本中内源性物质不干扰本成分的测定,适合临床低浓度血药的监测。且该方法样品回收率高,分析时间短,日内、日间精密度试验结果也显示,该方法稳定、灵敏、准确。

通过试验数据可以看出,茴拉西坦分散片的体内代谢药-时曲线符合二室模型,具有吸收快、达峰时间短、在血浆中游离度较低等特点。这可能与药物的肝脏首关效应较强、血浆蛋白结合率较高及生物转化速度有关,这恰好可以迅速缓解临床上脑血管病后遗精神行为障碍。鉴于该药在临床上的优势,其在防治精神行为障碍方面值得推广。

参考文献

- [1] 王红梅,曹玉瑗.茴拉西坦治疗老年脑器质性记忆障碍的临床观察[J].中国实用神经疾病杂志,2009,12(18):2.
- [2] 傅琼,储苏平.茴拉西坦治疗老年性痴呆的临床观察[J].老年医学与保健,2010,16(1):48.
- [3] 张红燕,邓炳焱,孙红霞.茴拉西坦改善精神分裂症患者认知功能的对照研究[J].中国民康医学,2010,22(9):1 105.

GC-MS法同时检测人尿液中10种常见安眠药物

袁 焯*, 郭巍巍, 李 军, 于天晓, 杨 硕(河北省儿童医院儿科研究所, 石家庄 050011)

中图分类号 R969.1;R971*.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)46-4362-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.46.15

摘要 目的:建立同时检测人尿液中10种常见安眠药物的方法。方法:采用乙醚提取,气-质联用(GC-MS)法检测。系统地对比体系pH值、提取时间等样品预处理条件以及色谱柱等GC-MS分析条件进行考察优化。运用选择离子模式(SIM)进行检测,每种成分选择2~3个特征离子。所选离子分别为:巴比妥 m/z 156、141(定量离子)、185, 苯巴比妥 m/z 204(定量离子)、117, 异戊巴比妥 m/z 156(定量离子)、141、227, 司可巴比妥 m/z 168(定量离子)、195、239, 地西洋 m/z 256(定量离子)、283, 硝西洋 m/z 264、280(定量离子), 阿普唑仑 m/z 273、308(定量离子), 咪达唑仑 m/z 310(定量离子)、325, 氯丙嗪 m/z 58(定量离子)、318, 氯氮平 m/z 326、256(定量离子)。结果:在选定的试验条件下,10种安眠药物在相应范围内线性关系良好,方法回收率在92.6%~97.3%之间,RSD在2.46%~5.19%之间,检出限为0.02~0.30 $\mu\text{g/ml}$ 。结论:本法简便、快速、灵敏、可靠,可应用于患者尿液样品中药物成分的分析检测。

关键词 气-质联用法;尿液;安眠药物

Simultaneous Determination of 10 Kinds of Common Hypnagogues in Human Urine by GC-MS

YUAN Ye, GUO Wei-wei, LI Jun, YU Tian-xiao, YANG Shuo(Institute for Pediatric Research, Hebei Children's Hospital, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for simultaneous determination of 10 kinds of hypnagogues in human urine. METHODS: Drugs were extracted with ethyl ether and detected by GC-MS. The effects of pH and the extraction time were studied and the GC operating conditions were optimized. GC-MS selective ion monitoring (SIM) mode was used to detect the 2-3 characteristic ions. The characteristic ions were: barbital m/z 156, 141 (quantitative ion) and 185; phenobarbitone m/z 204 (quantitative ion), 117; amobarbital m/z 156 (quantitative ion), 141 and 227; secobarbital m/z 168 (quantitative ion), 195 and 239; diazepam m/z 256 (quantitative ion), 283; nitrazepam m/z 264, 280 (quantitative ion); alprazolam m/z 273, 308 (quantitative ion); midazolam m/z 310 (quantitative ion), 325; chlorpromazine m/z 58 (quantitative ion), 318; clozapine m/z 326, 256 (quantitative ion). RESULTS: A good linearity of 10 kinds of hypnagogues was obtained at the corresponding concentration range. The recoveries were between 92.6%~97.3%, and the relative RSD were between 2.64%~5.19%. The detection limits were 0.02~0.30 $\mu\text{g/ml}$. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, sensitive and reliable, and it can be used for the determination of the hypnagogues in human urine.

KEY WORDS GC-MS; Urine; Hypnagogues

安眠药物在临床上广泛应用于镇静、催眠和抗焦虑,但超过正常治疗剂量或长期使用正常治疗剂量可形成对此类药物的依赖^[1]。如不慎过量使用则会出现头昏、嗜睡、注意力下降、记忆减退等现象,而用药量过小又不能达到治疗效果^[2]。因此,在临床上对常见安眠药物进行体内药物浓度监测具有重要意义。目前文献报道的对此类药物的分析检测方法主要有气相色谱(GC)法^[3]、高效液相色谱(HPLC)法^[4]、毛细管电泳(CZE)法^[5]、气-质联用(GC-MS)法^[6]、液-质联用(LC-MS)^[7]法等,但在较短时间内同时检测多种安眠药物的方法却鲜有报道。本研究建立了检测人尿液中10种常见安眠药物的GC-MS法,系统地研究了体系pH值、超声提取时间以及GC-MS分析条件等因素对这10种药物色谱行为的影响,获得了满意的分离效果。10种药物在18 min内即可完成,耗时大大减少,同时灵敏度也有所提高。本试验为医院患者的中毒诊断和药物监测提供了一个新的有效的方法。

1 材料

[4] 姜慧芳,陈斌艳,魏志军,等. 茴拉西坦胶囊在中国健康志愿者体内的生物等效性[J]. 中国临床药学杂志,2005,14

* 副主任技师。研究方向:临床检验诊断学。电话:0311-85911389。E-mail:yuanye1389@163.com

1.1 仪器

Agilent 7890A/5975C气相色谱-质谱仪,配有电子轰击离子源(EI)及化学工作站(美国Agilent公司);氮吹仪、离心机、超声波发生器均购于大连依利特分析仪器有限公司。

1.2 药品与试剂

巴比妥对照品、苯巴比妥对照品、异戊巴比妥对照品、司可巴比妥对照品、地西洋对照品、硝西洋对照品、阿普唑仑对照品、咪达唑仑对照品、氯丙嗪对照品、氯氮平对照品购自上海司法部司法鉴定中心。10种药物用无水甲醇均配成1.00 g/L的标准贮备液,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏,使用时再逐级稀释。甲醇、乙醚等均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

色谱柱:HP-5MS型毛细管柱(30 m \times 0.25 mm,0.25 μm);进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度:280 $^{\circ}\text{C}$;色谱柱程序升温:初温100 $^{\circ}\text{C}$ 保持1.5 min,以25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 程序升温至280 $^{\circ}\text{C}$,保持

(3):155.

[5] 曼鱼,堡兰梦,张霞. 茴拉西坦血药浓度测定及药代动力学研究[J]. 中国药学杂志,2000,35(12):825.

(收稿日期:2013-10-01 修回日期:2013-10-30)