

3 讨论

3.1 影响维U 颠茄铝胶囊中颠茄浸膏质量稳定的关键因素, 在于制备工艺中β- 环糊精的用量及其包合时间.

3.2 优化方案对应的制备工艺简单易行, 适用于实际生产.

3.3 有待于通过对该样品的长期稳定性考察, 探讨延长其有效期的可能性.

HPLC法测人血浆对乙酰氨基酚浓度及其药代动力学研究

谭广山¹, 王本杰, 郭瑞臣

(山东大学齐鲁医院临床药理研究所, 山东 济南 250012; ¹ 聊城市人民医院, 山东 聊城 252000)

摘要:目的 建立 HPLC 法测人血浆中对乙酰氨基酚浓度, 并进行药代动力学研究. 方法 血浆样品采用液-液萃取法萃取, UltimateTM XB- C₁₈(250mm×4.6mm, 5μm) 色谱柱分离; 流动相为乙腈: 水(10: 90, V/V), 流速: 1.0mL·min⁻¹; 检测波长 237nm. 结果 对乙酰氨基酚血药质量浓度在 0.025~25μg·mL⁻¹ 内的线性关系良好($r = 0.9989$), 血浆中低、中、高 3 种浓度(0.05, 5, 20μg·mL⁻¹) 的相对回收率在 92.9%~92.1% 之间; 日内 RSD ≤ 5.77%, 日间 RSD ≤ 4.24%. 结论 本法操作简便、准确、灵敏, 适用于乙酰氨基酚的药代动力学研究.

关键词: 对乙酰氨基酚 氨酚氢可酮片 药代动力学 HPLC

中图分类号: R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-7738(2007)08-0496-03

Determination of Paracetamol in human plasma by HPLC and its pharmacokinetic studies

TAN Guang-shan¹, WANG Ben-jie, GUO Rui-cheng

(Institute of Clinical Pharmacology, Qilu Hospital of Shandong University, Jí nan 250012;

¹ Liaocheng People's Hospital, Liaocheng, 252000)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a HPLC method for determination of paracetamol in human plasma, and investigate its pharmacokinetic characteristics in healthy volunteers. **METHODS** The plasma sample was liquid-liquid extracted, separated on a UltimateTM XB-C₁₈(250mm×4.6mm, 5μm) analytical column with mobile phase of acetonitrile-water(10: 90) at a flow rate of 1.0mL·min⁻¹ and the detection occurred at 237 nm. **RESULTS** The excellent linearity was obtained in the range of 0.025~25μg·mL⁻¹ ($r = 0.9989$). The relative recoveries of low, medium and high concentrations(0.05, 5, 20μg·mL⁻¹) were within 92.9%~92.1%. The intra-day and inter-day RSD were not more than 5.77% and 4.24%, respectively. **CONCLUSION**

The analysis method is simple, accurate, sensitive and suitable for paracetamol pharmacokinetic studies

KEY WORDS: Paracetamol; Paracetamol and Hydrocodone Bitartrate Tablet; pharmacokinetics; HPLC

对乙酰氨基酚为乙酰苯胺类解热镇痛药, 是非那西丁在体内的活性代谢物, 通过抑制下丘脑体温调节中枢前列腺素合成酶, 减少前列腺素 PEG1 合成和释放, 导致外周血管扩张、出汗而发挥解热作用, 强度与阿司匹林相似; 通过抑制前列腺素 PEG1、缓激肽和组胺等的合成与释放, 提高痛阈而引起镇痛作用, 作用较阿司匹林弱, 仅对轻、中度疼痛有效. 对乙酰氨基酚血浆蛋白结合率为 25%, 90%~95% 于肝脏代谢, 主要与葡萄糖醛酸、硫酸及半胱氨酸结合. 本研究建立了高效液相色谱测定法, 对健康男性受试者口服氨酚氢可酮片后对乙酰氨基酚的药代动力学特性进行了研究, 旨在为新药报批及其临床应用提供试验依据.

1 材料与方 法

1.1 药品、试剂与仪器 试验制剂氨酚氢可酮片(济南永宁制药有限公司提供). 试验制剂溶出度、重量差异等各项检查结果符合规定. 对乙酰氨基酚标准品(纯度 99.7%, 济南永

宁制药有限公司提供). 甲醇、乙腈、三氯甲烷、异丙醇, 色谱纯, 美国 J.T. Baker 公司, 批号分别为 LOT C13E70、LOT C13802、LOT B31B36 和 LOT B20E53; 水为市售娃哈哈纯净水, 批号 20060816.

Waters515 高效液相色谱仪, 2487 紫外检测器, 717 自动进样器(美国沃特斯公司). XW-80A 型旋涡混合器(上海精科实业有限公司); ABO TT 高速离心机(美国雅培公司); PK514BP 超声清洗器(德国 BANDEL); 梅特勒-托利多 AX-205 Delta Range 电子天平(瑞士梅特勒公司).

1.2 受试者选择 男性, 年龄 20~35 岁, 体重 64~69kg; 不嗜烟酒, 身体健康, 无心、肝、肾、消化道、代谢异常等病史, 心电图、血压、肝、肾、肺功能等常规体检正常; 无药物过敏史和神经系统疾病史; 心率 60~90 次·min⁻¹; 两周前至试验期间未服用其他药物.

1.3 实验方法 标准溶液配制: 精密称取对乙酰氨基酚标准

品 0.01015g, 置 10mL 容量瓶中, 以流动相为溶剂配成 $1\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准品储备液. 取空白人血浆 0.5mL 置 10mL 具塞试管中, 然后精密吸取适量标准品储备液分别配成含对乙酰氨基酚 0.025、0.05、0.1、0.5、1、5、10、25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准空白血浆系列溶液 4°C 冷藏备用. 低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 三个浓度的质控对照品溶液. 血样处理: 取血浆样品 0.5mL, 加 5mL 提取液 (三氯甲烷-异丙醇=4:1), 涡旋混合 2min, 4000r $\cdot \text{min}^{-1}$, 离心 10min, 取下层萃取液 3.5mL, 45°C 水浴 N_2 吹干, 200 μL 流动相溶解, 吸取 10 μL 样品提取液进样分析. 色谱条件: 月旭 XB-C₁₈ (250mm \times 4.6mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相为乙腈-水 (10:90, V/V), 用前经 0.45 μm 微孔滤膜过滤并经超声脱气; 流速: 1.0mL $\cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 室温; 检测波长: 237nm; 进样量 10 μL .

2 结果

2.1 方法专属性 取对乙酰氨基酚 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准溶液直接进样, 得标准品色谱图 (A); 取空白血浆 0.5mL, 按“血样处理”项下操作, 得空白血浆色谱图 (B); 将一定浓度对乙酰氨基酚加入空白血浆, 按“血样处理”项下操作, 得对乙酰氨基酚 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 提取后标准品色谱图 (C); 取志愿者血浆样品, 按“血样处理”项下操作, 得志愿者 T-2-2 血浆样品色谱图 (D), 如图 1 所示. 对乙酰氨基酚保留时间为 7.263min, 血浆内源性物质不干扰测定.

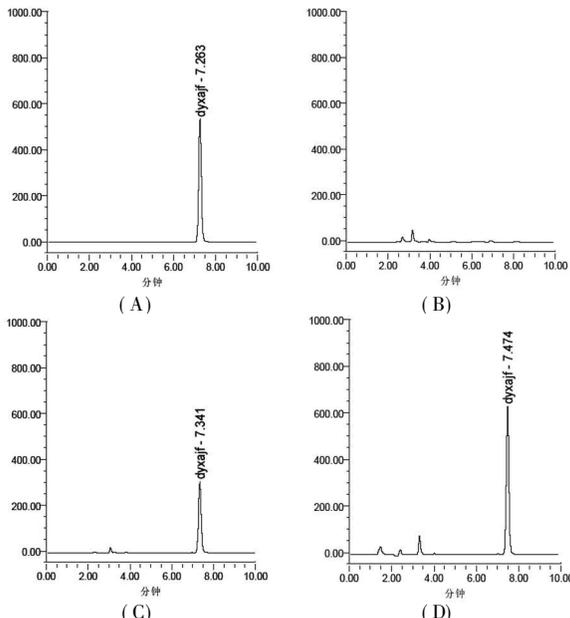


图 1 对乙酰氨基酚标准 (A)、空白血浆 (B)、

空白血浆+标准 (C)、志愿者血样提取后 (D) 色谱图

2.2 标准曲线制备 取空白人血浆 0.5mL 置 10mL 具塞试管中, 加入对乙酰氨基酚, 分别配成浓度为 0.025、0.05、0.1、0.5、1、5、10、25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准空白血浆系列溶液. 按“血浆样本处理”项下提取, 进样测定. 以待测物对乙酰氨基酚浓度为横坐标, 待测物峰面积与内标的比值为纵坐标, 进行线性回归, 计算直线回归方程, 为 $Y = 536809.204 X - 404.73778$, $r = 0.9989$. 结果表明, 对乙酰氨基酚在 0.25~25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 血浆最低定量限为

0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 符合试验要求.

2.3 回收率 用空白血浆配制低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 三个浓度的对乙酰氨基酚标准系列溶液, 每个浓度 5 份, 按“血样处理”项下操作, 记录色谱图, 得提取后样品峰面积 A_t , 取相应浓度的对乙酰氨基酚标准溶液直接进样, 得峰面积 A_0 , 以 A_t/A_0 计算绝对回收率, 分别为 $55.7 \pm 4.1\%$, $56.8 \pm 0.5\%$ 和 $55.6 \pm 1.6\%$.

用空白血浆配制低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 三个浓度对乙酰氨基酚标准系列溶液, 每个浓度 5 份, 按“血样处理”项下操作, 计算对乙酰氨基酚浓度, 以测得值与加入值比值计算相对回收率, 分别为 $95.2 \pm 2.3\%$, $107.8 \pm 1.8\%$ 和 $90.4 \pm 1.7\%$.

2.4 批内和批间精密密度 用空白血浆配制低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 三个浓度的对乙酰氨基酚标准系列溶液, 按“血样处理”项下操作, 每个浓度平行测定 5 份样本, 此为一个分析批; 连续三天, 每天测定一个分析批, 分别用当日标准曲线计算测得浓度. 计算批内和批间的相对标准偏差, 评价方法的精密密度. 结果低、中、高浓度的批内 RSD 分别为 5.04%、1.19% 和 5.77%; 批间 RSD 分别为 8.15%、2.12% 和 4.24%.

2.5 血浆样品稳定性考察 用空白血浆配制低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 三个浓度的对乙酰氨基酚标准系列溶液各 3 份, 每个浓度均进行 5 样本分析, 一份反复冻融两次, 另两份于 -20°C 存放 24h 和一周, 考察冻融及 -20°C 冷冻存放时间对对乙酰氨基酚稳定性的影响. 结果表明, 对乙酰氨基酚血浆样本在上述条件下均较稳定, 低、中、高三个浓度血浆样品冻融 1 次和冻融 2 次的相对回收率分别为 90.8% 和 100%, 109.14% 和 106.14%, 89.71% 和 89.66%; 冷冻 24h 和冷冻 7 天的相对回收率分别为 93.6% 和 94%, 105.36% 和 99.87%, 90.76% 和 88.94%, RSD 均小于 5%.

2.6 质控 在每批血浆样品测定时随行标准曲线及其质控样品同时测定, 结果标准曲线线性良好, 在未知样品测定过程中, 随行测定低、中、高 (0.05、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 浓度的质控样品的标准偏差小于 15%, 符合体内药物分析要求, 本试验血浆样品的测定结果准确、可靠.

2.7 健康人血浆中对乙酰氨基酚浓度 试验方案经山东大学齐鲁医院伦理委员会批准, 受试者签署知情同意书. 20 名健康志愿者单次口服 2 片氨基酚可酮片, 每片含对乙酰氨基酚 500mg, 于药前 (0h) 和药后 0.17、0.33、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24h 取肘静脉血 4mL, 离心取血浆, 取 0.5mL 血浆按“血样处理”项下操作, 测定血浆中对乙酰氨基酚浓度, 20 例志愿者血浓度均值-时间曲线见图 2.

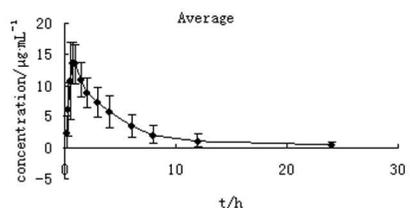


图 2 健康人血浆对乙酰氨基酚浓度均值-时间曲线

2.8 对乙酰氨基酚主要药代动力学参数 用 DAS 软件计算对乙酰氨基酚药动学参数. 结果如下: $t_{1/2}$ 为 $3.900 \pm 1.926h$, T_{max} 为 $0.775 \pm 0.197h$, C_{max} 为 $15.932 \pm 3.695 \mu g \cdot mL^{-1}$, AUC_{0-24} 为 $64.270 \pm 26.625 \mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 为 $67.716 \pm 33.219 \mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$ 和 $67.661 \pm 33.150 \mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$.

3 讨论

文献^[1]报道流动相选择 $0.01 mol \cdot L^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(用磷酸调节 pH 至 2.6 ± 0.1)- 甲醇(70: 30), 因磷酸盐易在色谱柱中结晶, 不易冲洗, 没有选择. 文献^[2-3]报道流动相选择分别为甲醇- 水(45: 55) 和甲醇- 乙腈- 水(2: 8: 90), 本实验研究选择乙腈- 水(10: 90) 为流动相. 文献^[4]采用乙酸乙酯提取, 回收率低, 改用乙腈或 3% 的高氯酸提取, 存在杂质峰多. 而异丙醇有沉淀蛋白作用, 与三氯甲烷配成 1: 4 的提取液, 在波长 237nm 处峰形良好, 保留时间为 7.426min.

健康受试者服用氨酚氢可酮片适量后, 对乙酰氨基酚浓度- 时间曲线符合一级吸收, 该药吸收迅速, 达峰时间为 $0.775 \pm 0.197h$, C_{max} 为 $15.932 \pm 3.695 \mu g \cdot mL^{-1}$, AUC_{0-24}

为 $64.270 \pm 26.625 \mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$, $AUC_{0-\infty}$ 为 $67.716 \pm 33.219 \mu g \cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$. 上述结果与文献^[5]所述基本接近.

利用高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚浓度操作简便、结果准确、方法灵敏. 整个试验过程顺利, 未见不良反应发生.

参考文献

[1] 陈晓玲, 熊灿琼, 郭艳华, 等. 高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚栓的含量. 时珍国医国药, 2006; 17(7): 1208

[2] 伏光华, 刘梅娟, 韩静, 等. 高效液相色谱法同时测定复方氯唑沙宗片中两组分血药浓度. 中国药理学杂志, 2000; 35(11): 763

[3] 郭红英, 王曼丽, 赵志刚, 等. 对乙酰氨基酚栓剂人体相对生物利用度和生物等效性. 中国新药杂志, 2004; 13(9): 831

[4] 王川平, 任进民, 亢泽坤, 等. 复方对乙酰氨基酚片在健康人体的药代动力学和相对生物利用度. 中国临床药理学杂志, 2006; 22(2): 131

[5] 王玉, 张喆, 陈西敬, 等. 高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚片的血药浓度及其生物利用度. 中国临床药理学杂志, 2002; 11: 97

丹参滴丸的制剂工艺研究

李菁, 马全龙¹, 程明²

(山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250002; 1. 济南华清医药有限公司, 山东 济南 250100; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250012)

摘要:目的 确立丹参滴丸的最佳成型工艺. 方法 采用正交试验法, 从基质, 冷却剂的种类, 提取物与基质的用量配比等方面进行考察. 结果 聚乙二醇- 6000, 冷却温度 10~ 15℃ 时, 丹参滴丸质量最好. 结论 证明此工艺是可行的.

关键词: 丹参滴丸 聚乙二醇 正交试验

中图分类号: TQ460.6 文献标识码: A 文章编号: 1672- 7738(2007)08- 0498- 02

Study on preparation process for Danshen Dropping Pills

LI Jing, MA Quan-long¹, CHENG Ming²

(Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Jinan 250002; 1. Jinan Huaqing Medicine Co., LTD, Jinan 250100; 2 Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the optimum preparation process for Danshen Dropping Pills. **METHODS** The preparation conditions, such as the different kind of base, cooling agent, the proportion between the extracts and base, etc., were studied with $L_9(3^4)$ orthogonal design. **RESULTS** Under the condition of using polyglycol-6000, and processing temperature at 10~ 15℃, the quality of Danshen Dropping Pills is good. **CONCLUSION** The process is feasible.

KEY WORDS: Danshen Dropping Pill; polyglycol; orthogonal design

滴丸剂溶解快, 吸收好, 生物利用度高, 是一种高效, 快速的中药剂型. 我们将载于国家药品监督管理局出版的《国家中成药标准汇编》(内科心系分册) 丹参合剂改制成滴丸. 实验证明, 滴丸可增强药物稳定性, 便于运输和贮藏, 患者服用方便. 临床用于胸痹引起的心痛、心悸、胸闷、乏力以及轻

度冠心病、胸闷心绞痛等症.

1 药材提取

为提取丹参主要成分, 去除杂质, 浓缩精华, 以适应滴丸剂型的特点^[1], 我们对丹参的提取方法进行了优选. 结果表明, 丹参以水提、醇沉法提取所得干膏中的原儿茶醛含量最