论著

文章编号:1000-5404(2009)11-1112-03

人血浆中屈昔多巴的测定及药代动力学研究

钟 玲[1],邱妍川[2],尚京川[1] ([1]重庆医科大学药学院药物分析教研室,重庆 400016;[2]重庆医药高等专科学校药剂教研室,重庆 400030)

摘 要:目的 建立测定人血浆中屈昔多巴的方法,并应用于药代动力学研究。**方法** 12例健康受试者单剂量口服屈昔多巴胶囊200 mg后,血样经高氯酸沉淀蛋白,通过HPLC-荧光检测法测定屈昔多巴的浓度,并运用3P87分析软件计算其药代动力学参数。**结果** 屈昔多巴测定的线性范围为0.025~2 μg/ml,其主要的药动学参数$T_{1/2}$(108.50±30.78)min,曲线下峰面积(AUC)(185.74±26.41)μg·ml^{-1}·min^{-1},消除率(CL)(1.08±0.08)ml/min,T_{max}(99.90±10.05)min,C_{max}(0.74±0.08)μg/ml,服药10 h后屈昔多巴几乎从血液中完全消除。**结论** 本方法灵敏度高,重现性好,操作简便,可用于血浆样品中屈昔多巴的定性定量检测;屈昔多巴在体内的药代动力学过程符合二室模型。

关键词: 屈昔多巴;血药浓度;药代动力学;高效液相色谱法
中图法分类号: R927.2; R969.1; R977.1 **文献标识码:** A

Determination of droxidopa in human plasma and pharmacokinetic features

ZHONG Ling[1], QIU Yan-chuan[2], SHANG Jing-chuan[1] ([1] Department of Drug Analysis, School of Pharmaceutical Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016; [2]Department of Pharmaceutics, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 400030, China)

Abstract: Objective To propose a method for the determination of droxidopa concentration in human plasma by HPLC method for the study of the pharmacokinetics of droxidopa. Methods After a single oral dose of 200 mg droxidopa capsule was administered to 12 healthy Chinese male volunteers, we used perchloric acid to precipitate proteinum and then determined the droxidopa concentration in plasma by HPLC. The pharmacokinetic parameters of droxidopa were calculated by 3P87 software. Results The linear range was 0.025 – 2 μg/ml. Pharmacokinetic parameters were: $T_{1/2}$(108.50±30.78)min, AUC (185.74±26.41) μg·ml^{-1}·min^{-1}, CL (1.08±0.08)ml/min, T_{max}(99.90±10.05)min, C_{max}(0.74±0.08)μg/ml. At 10 h after administration, droxidopa was eliminated from the blood almost completely. Conclusion The method we proposed is sensitive, reproducible, and easy to operate. Pharmacokinetics of droxidopa *in vivo* is fitted to two-compartment model.

Key words: droxidopa; plasma concentration; pharmacokinetics; high performance liquid chromatography

屈昔多巴(droxidopa)是去甲肾上腺素的前体药,可由L-芳香氨基酸脱羧酶生成自然形式去甲肾上腺素(1-NE)[1]。研究表明,屈昔多巴能缓解晚期帕金森症患者因去甲肾上腺素缺失所致的步态僵直和直立性头晕等症状,对家族性淀粉样多神经病(FAP)NE-缺乏(NE-D)所致体位性低血压具有明显疗效[2]。屈昔多巴作为治疗多系统萎缩症或帕金森病的新型药物,目前国内外检测方法的相关文献报道较少,本研究建立了HPLC-荧光法测定人血浆中屈昔多巴的浓度,并对其进行了人体药代动力学研究。

作者简介:钟 玲,男,四川省成都市人,硕士研究生,药剂士,主要从事生物样品分析方面的研究。电话:(023)68485048, E-mail: zhongling1981@126.com
通信作者:尚京川,E-mail:sjc20@126.com
收稿日期:2008-07-14;修回日期:2008-10-21

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

屈昔多巴对照品(threo-dihydroxyphenylserine,纯度99.7%,由重庆圣华曦药业有限公司提供),乙腈为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司),其余所用试剂均为分析纯,试验用水均为超纯水。

1.2 仪器

美国Agilent公司1100高效液相色谱系统(配G1321A型荧光检测器,G1313A型自动进样器及G2070-60069色谱管理软件),色谱柱:美国Agilent公司Hypersil BDS-C18柱(5 μm,4.0 mm×125 mm),SK30型低温离心机(Sigma公司),SK-1型快速混匀器(上海沪西分析仪器厂),KQ-3200E型超声仪(江苏医疗仪器厂);BS210S电子分析天平(精度0.000 1 g,Sartorius公司)。

1.3 方法

1.3.1 血样预处理 取样品血浆0.6 ml,加15%高氯酸

0.4 ml,旋涡振荡 1 min 后,12 000 r/min 4 ℃低温离心 10 min,吸取上清液于 2 ml 的玻璃进样瓶中,取 100 μl 进样分析。

1.3.2　血浆标样的制备　　取 1.5 ml EP 管 6 支,分别加入空白血浆 0.6 ml,再各加入不同浓度的标准溶液 50 μl,配制成浓度为 2.0、1.0、0.50、0.10、0.050、0.025 μg/ml 的血浆标样。

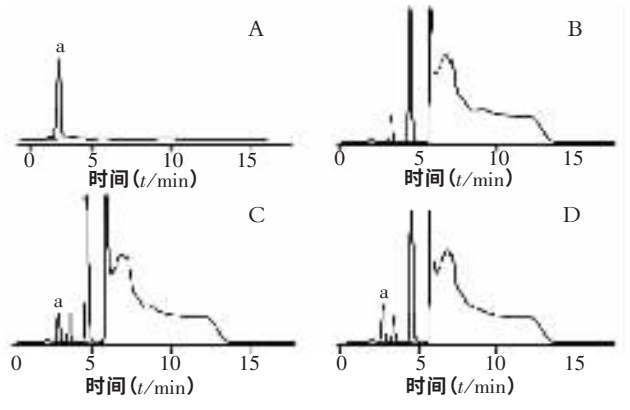
1.3.3　色谱条件　　色谱柱:Agilent Hypersil BDS-C18 柱(5 μm,4 mm×125 mm);流动相:水-乙腈;流速和流动相比例采用梯度洗脱,0 ~ 3 min(99.2∶0.8),流速 0.6 ml/min,3 ~ 9 min(60∶40),流速 1.0 ml/min,9 ~ 9.5 min(99.2∶0.8),流速 0.6 ml/min;激发波长:280 nm,发射波长:330 nm;柱温:30 ℃。

1.3.4　药代动力学研究　　临床试验在第三军医大学大坪医院野战外科研究所临床药理基地进行,12 例健康受试者,男性,年龄(24.0 ± 1.5)岁,经病史询问,并经肝肾功能、血尿常规和心电图检查证实为健康者。受试者在 1 个月内未服用其他药物,并在规定试验期间不服用其他任何药物。受试者在受试前签署知情同意书。受试者于试验前 12 h 禁食。试验日清晨空腹口服 200 mg 屈昔多巴胶囊,分别在给药前和给药后 15、30、60、90、120、150、180、240、360、480、600 min 静脉采血 3 ml,各置加有肝素的 EP 管内,离心(6 000 r/min) 5 min,分离血浆,置 -20 ℃冰箱保存待测。

2　结果

2.1　方法可行性考察

在选定的色谱条件下,考察了对照品、空白血浆,空白血浆 + 对照品(0.5 μg/ml)及实测样品的色谱分离情况,HPLC 测得屈昔多巴色谱图(图 1)。由图可知,屈昔多巴与血浆杂质达到基线分离(R > 1.5),峰形对称。



A:对照品;B:空白血浆;C:空白血浆 + 对照品;D:样品　　a:屈昔多巴

图 1　屈昔多巴 HPLC 色谱分析

2.2　标准曲线

取浓度为 2.0、1.0、0.50、0.10、0.050、0.025 μg/ml 的血浆标样,按 1.3.1 处理,100 μl 进样,测定样品的峰面积,以峰面积 y 对血浆浓度 x 进行线性回归,即得标准曲线回归方程:$y = 349.8x + 6.065$ ($r = 0.999\ 4$),其线性范围为 0.025 ~ 2.0 μg/ml。血浆中屈昔多巴定量下限为 0.025 μg/ml。

2.3　精密度与回收率实验

配制浓度为 2.0、0.50、0.050 μg/ml 的血浆标样各 5 份,于同日或分 3 d 内按 1.3.1 血浆样品处理方法处理后,进样 100 μl,测定样品峰面积,按回归方程求出对应浓度,计算其日内和日间变异系数(表 1)。计算得日内精密度 RSD 分别为 2.20%、2.41%、3.92%,日间精密度 RSD 分别为 3.64%、0.87%、1.96%。高、中、低浓度屈昔多巴在血浆中的加样回收率分别为 100.2%、91.3%、102.8%,RSD 分别为 2.20%、2.44% 和 4.96%。提取回收率分别为 92.10%、90.80%、76.70%。

表 1　屈昔多巴精密度测定结果($n = 5$)

血浆浓度	日内变异		日间变异	
(μg/ml)	测得值(μg/ml)	RSD(%)	测得值(μg/ml)	RSD(%)
2.0	2.003 ± 0.044	2.20	1.990 ± 0.072	3.64
0.5	0.457 ± 0.011	2.41	0.460 ± 0.004	0.87
0.050	0.051 ± 0.002	3.92	0.052 ± 0.001	1.96

2.4　稳定性实验

分别考察了血浆样品预处理后置 4 ℃冰箱保存 24 h 内的稳定性及置 -20 ℃冰箱保存 22 d、反复冻融 3 次的稳定性,结果见表 2、3,表中显示 RSD < 15%,表明屈昔多巴在上述条件下均符合规定。

表 2　屈昔多巴在 24 h 内的稳定性实验结果($n = 5$)

血浆浓度 (μg/ml)	0 h	4 h	8 h	14 h	20 h	24 h	$\bar{x} \pm s$	RSD (%)
2.0	2.0	2.0	2.1	2.0	2.0	2.0	2.000 ± 0.042	2.07
0.50	0.46	0.47	0.47	0.45	0.45	0.46	0.460 ± 0.009	1.96
0.050	0.049	0.049	0.044	0.057	0.059	0.056	0.052 ± 0.006	11.54

表 3　屈昔多巴在 22 d 内的冻融稳定性实验结果($n = 5$)

血浆浓度 (μg/ml)	0 d	4 d	8 d	15 d	22 d	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
2.0	2.1	2.0	2.0	2.0	2.0	2.000 ± 0.031	1.57
0.50	0.45	0.45	0.44	0.47	0.450	0.450 ± 0.005	1.11
0.050	0.050	0.050	0.051	0.049	0.048	0.049 ± 0.002	4.08

2.5　药代动力学研究

受试者单剂量口服屈昔多巴胶囊 200 mg 后,平均药时曲线见图 2。以 3P87 药代动力学分析软件计算药代动力学主要参数,$T_{1/2}$(108.50 ± 30.78) min,曲线下峰面积(AUC)(185.74 ± 26.41) μg · ml^{-1} · min^{-1},消除率(CL)(1.08 ± 0.08) ml/min,T_{max}(99.90 ± 10.05) min,C_{max}(0.74 ± 0.08) μg/ml。10 h 后不能从血液中测出屈昔多巴,表明药物几乎从血液中完全消除。

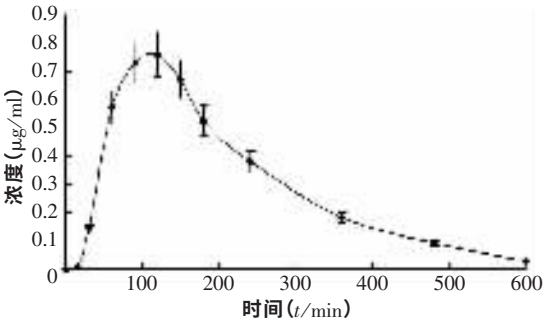


图 2　受试者口服屈昔多巴后平均药时曲线($n = 12$)

3 讨论

本实验在血样处理时曾采用加1倍量甲醇去除蛋白,但结果并不理想,得到的图谱中杂质较多,而后采用加15%高氯酸沉淀蛋白,低温下离心,得到的上清液澄清透明,且杂质峰少,色谱分离效果好。实验中还采用了梯度洗脱,大大缩短了检测时间,色谱峰对称性好,峰宽较窄,且血浆内源性物质对于屈昔多巴没有干扰。该方法简单、快速、灵敏、准确,可以用于血浆样品中屈昔多巴的定性定量检测。

本研究数据表明,屈昔多巴在体内的药代动力学过程符合二室模型。成年健康志愿者在口服200 mg屈昔多巴后,1.5~2 h时可达到最大血药浓度,且10 h后不能从血液中测出屈昔多巴,表明药物几乎从血液中完全消除。国外有研究表明,患者在单剂口服屈昔多巴后,2~3 h达峰浓度,且$T_{1/2}$ 2~3 h[3],与健康受试者相比,药物达峰时间和半衰期延长,可能是由于健康受试者与患者间存在一定生理差异引起。

参考文献:

[1] Yohei T, Yoshitada T, Koji I, *et al*. One case that droxidopa was effective for medicine which we developed during treatment of schizophrenia-related parkinson's syndrome[J]. Journal of New Remedies and Clinics, 2006, 55(7): 1176-1179.

[2] Kaufmann H, Saadia D, Voustianiouk A, *et al*. Norepinephrine precursor therapy in neurogenic orthostatic hypotension[J]. Circulation, 2003, 108(6): 724-728.

[3] Goldstein D S, Holmes C, Kaufmann H, *et al*. Clinical pharmacokinetics of the norepinephrine precursor L-threo-DOPS in primary chronic autonomic failure[J]. Clin Auton Res, 2004, 14(6): 363-368.

(编辑 吴培红)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2009)11-1114-01

中西医结合治疗肝硬化腹水35例疗效观察

谢 颖 (重庆市永川区中医院内3科,重庆 402160)

肝硬化是一种临床常见病,腹水是其主要并发症之一,它的形成与门静脉高压、血浆白蛋白水平低、体内激素水平紊乱及代谢异常有关,病因机制较为复杂。腹水一旦形成,治疗起来比较困难,预后差,单纯西医或单纯中医治疗效果不佳。2003年3月至2007年12月,我院在西医治疗的基础上配合中医治疗35例肝硬化腹水患者,并进行对照观察,取得较好疗效,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

69例均为我院住院患者,按完全随机分组法分为2组,治疗组35例,男性23例,女性12例;年龄28~76岁,平均48.36岁;病程最短6个月,最长8年,平均3.64年;肝功能均异常;B超显示脾肿大32例;腹水重度14例,中度17例,轻度4例;首次腹水者8例,2次以上腹水者27例。对照组34例,男性22例,女性12例;年龄31~78岁,平均47.92岁;病程最短8个月,最长7年6个月,平均3.58年;肝功能均异常;B超显示脾肿大29例;腹水重度13例,中度18例,轻度3例;首次腹水者7例,2次以上腹水者27例。2组病例的年龄、性别、病程等资料经统计学处理,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 疗效标准

疗效标准参照《肝硬化中西医结合诊治方案诊断标准(共识意见)》[1]执行。分显效、有效和无效。腹水程度分级按《肝脏病学标准》[2]中相关标准执行。

1.3 治疗方法

对照组在以休息为主,合理饮食,限制水盐摄入的基础上,根据肝功能状况,保肝、支持、对症治疗,分别给予硫普罗宁、还原型谷胱甘肽、利尿剂和白蛋白等药物,合并腹水感染者选用抗生素。治疗组在对照组治疗的基础上,给予静脉注射丹参,并加服以消症利水汤为主的中药(柴胡9 g、猪苓20 g、茯苓20 g、泽泻20 g、白术20 g、茵陈30 g、丹参20 g、莪术15 g、党参20 g、黄芪20 g、淫羊藿15 g、鳖甲30 g、五味子30 g、大腹皮20 g、白茅根30 g)。中药每天1剂,水煎,分3次口服。对照组和治疗组均以15 d为1个疗程,连续观察3~4个疗程。如果治疗期间有其他合并症出现,2组均作同样处理。

1.4 统计学方法

计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验,计数资料采用χ^2检验。

2 结果

2.1 临床疗效

治疗组显效18例,有效14例,无效3例,总有效率91.43%,对照组显效9例,有效16例,无效9例,总有效率73.53%,2组有效率比较差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2 治疗前后肝功能改善情况

治疗组谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白蛋白在治疗前后差异均有统计学意义($P<0.01$);同时治疗后治疗组与对照组比较,谷丙转氨酶、谷草转氨酶差异有统计学意义($P<0.01$,表1)。

(下转1117页)

作者简介:谢 颖,女,重庆市人,主治医师,主要从事中西医结合治疗肝病及各种疑难杂症方面的研究。电话:(023)49998918, E-mail: xy710816@163.com

收稿日期:2008-08-26;修回日期:2008-09-16