反相高效液相色谱法测定人血浆中头孢泊肟浓度

袁虹,孙凌,周权,阮邹荣(浙江大学医学院附属第二医院临床药理室,浙江 杭州 310009)

摘要:目的 建立测定人血浆中头孢泊肟的反相高效液相色谱检测法。方法 血浆样品用高氯酸溶液沉淀后上清液直接进样。色谱柱为 C_{18} 柱,150 mm × 4.6 mm,5μm,流动相为 1.50 mmol·L^{-1} 高氯酸溶液-乙腈(85∶15),流速为 1.20 mL·min^{-1},紫外检测波长:254nm。外标法峰面积定量。结果 测定方法在 0.10 ~ 6.00 mg·L^{-1} 内具良好的线性关系,回收率为 98.0 %~110.0 %,日内、日间 RSD 小于 13 %,最低检测浓度为 0.10 mg·L^{-1}。结论 本测定方法具灵敏、准确、快速的优点,适用于头孢泊肟酯片剂的药代动力学和生物利用度研究。

关键词:头孢泊肟;血药浓度;高效液相色谱法
中图分类号:R978.11;R917.01 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)01-0051-03

Determination of cefpodoxime in human plasma by RP-HPLC with UV detection

YUAN Hong, SUN Ling, ZHOU Quan, RUAN Zou-rong(*Department of Clinical Pharmacology, Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou* 310009, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a simple, sensitive and rapid RP-HPLC method for the determination of cefpodoxime in human plasma. **METHOD** The plasma samples were extracted with 1.25 mol × L^{-1} perchloric acid. The analysis involved a 150 mm × 4.6 mm ID column packed with C_{18} (5μm). The mobile phase consisted of 1.50 mmol·L^{-1} perchloride acid solution-acetonitrile (85∶15) with a flow rate of 1.20 mL·min^{-1}. The UV detector were set at 254nm. **RESULTS** A good linearity was obtained in the rang of 0.10 ~ 6.00 mg·L^{-1} (r = 0.9999). The recovery was between 98.0 % ~ 110.0 %. The relative standard deviation of within-day and between-day were less than 13 % (n = 6). The minimal detectable concentration in plasma was 0.10 mg·L^{-1}. **CONCLUSION** The established method is sensitive, accurate and simple for the determination of cefpodoxime levels in human plasma. It is suitable for the pharmacokinetics and bioavailability study of cefpodoxime proxetil.

KEY WORDS: cefpodoxime; plasma drug levels; RP-HPLC

头孢泊肟酯(cefpodoxime Proxetil; CPDX-PR)是日本三共制药株式会社研制开发的第三代口服头孢菌素,1989年首次在日本上市,商品名为 Banan。头孢泊肟酯几乎无抗菌活性,口服给药后,经肠壁酯酶水解为头孢泊肟(Cefpodoxime; CPDX)而显示抗菌活性。头孢泊肟对革兰氏阳性菌和阴性菌均有广谱抗菌作用,对 β-内酰胺酶稳定,广泛应用于细菌性肺炎、呼吸道感染、妇产科感染性疾病、化脓性中耳炎等各种感染。本品的耐受性良好,主要的不良反应为胃肠道反应[1]。为开展头孢泊肟酯在我国人体的药代动力学及其制剂的生物利用度研究,本实验建立了一种灵敏、准确、简便快速测定血浆中头孢泊肟含量的 RP-HPLC 紫外检测法,并将此法应用于健康受试者口服头孢泊肟酯片剂的药代动力学和生物利用度研究。

1 材料与方法

1.1 试药与仪器

头孢泊肟酯标准品(纯度:含头孢泊肟 70.4 %,由中国药品生物制品检定所测定,浙江康乐药业有限公司提供)。乙腈(HPLC 级,美国 Fisher 公司);高氯酸和磷酸二氢钠均为国产市售分析纯试剂;市售纯化水。

美国 Beckman HPLC 仪:125 型泵,7725i 型进样阀;166 紫外检测器;Beckman Gold system 色谱数据处理系统,HP 5-166 微机。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

ODS C_{18} 色谱柱 150 mm × 4.6 mm,5μm (Alltech Inc., U.S.A.);流动相为 1.50 mmol·L^{-1} 高氯酸溶液:乙腈(85∶15),流速为 1.20 mL·min^{-1},紫外检测波长为 254nm,进样量为 50μL。

2.2 样品预处理

血浆 0.20 mL,加 1.25 mol·L^{-1} 高氯酸溶液 0.10 mL,混匀,离心 20 000 r·min^{-1},4 ℃,15 min,取上清液 50μL 进样。

2.3 色谱图

在本实验的色谱条件下,头孢泊肟与血浆中的杂质分离较好,保留时间(RT)为 5.5 min,血浆中的杂质及代谢产物均不干扰分析测定,空白血浆、头孢泊肟加入空白血浆和血浆样品的色谱图见图 1。

2.4 标准曲线制备

用空白血浆配制的头孢泊肟浓度为 0.10,0.20,0.50,1.00,3.00,6.00 mg·L^{-1} 的标准曲线工作液,按上述血浆样品预处理方法操作,在上述色谱条件下测定头孢泊肟的峰

面积。以浓度(C)为横坐标,头孢泊肟的峰面积(A)为纵坐标,线性回归后,回归方程为: $A = 0.97034\ C + 0.01697$($n = 6$, $r = 0.9999$),表明线性关系良好,血浆中头孢泊肟的最低检测浓度为 0.10 mg·L^{-1}。

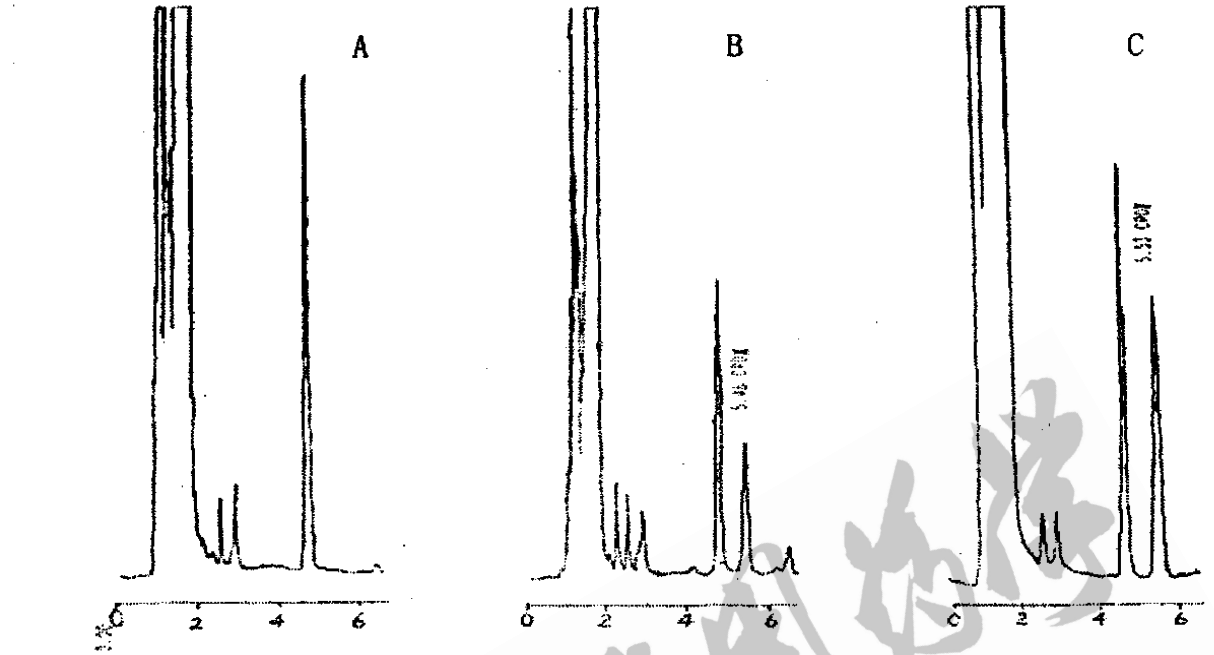

图 1 头孢泊肟的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of cefpodoxime

A. 空白血浆;B. 头孢泊肟加到空白血浆中;C. 受试者口服头孢泊肟酯片剂 200 mg 后 2 h 的血浆样品;1. 头孢泊肟:($t_R = 5.53$ min)

A. blank plasma; B. cefpodoxime in blank plasma; C. plasma sample of volunteer after 2.0 h oral administration of 200 mg cefpodoxime proxetil tablets; 1. cefpodoxime, ($t_R = 5.53$ min)

2.5 回收率和精密度

在血浆头孢泊肟浓度为 0.20 ~ 6.00 mg·L^{-1}范围内,方法回收率为 98.00 % ~ 110.00 %。以 0.20,1.00,6.00 mg·L^{-1} 3 种浓度进行日内测定和日间测定,考察方法的准确度和重现性,结果见表 1。对含头孢泊肟 0.20,1.00,6.00 mg·L^{-1} 3 个浓度的血浆样品按上述测定方法测定 3 次,平均峰面积与相同浓度未经处理的头孢泊肟水溶液峰面积比较,求得头孢泊肟的绝对回收率分别为 99.73 %,95.96 %,90.43 %。

表 1 回收率与精密度($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Recovery and precision of the assay($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

加入量 (mg·L^{-1})	日内 实测值 (mg·L^{-1})	日内 RSD (%)	日内 回收率 (%)	日间 实测值 (mg·L^{-1})	日间 RSD (%)	日间 回收率 (%)
0.20	0.20 ±0.02	10.49	100.00	0.22 ±0.03	12.87	110.00
1.00	0.98 ±0.02	2.29	98.00	1.05 ±0.05	5.05	105.00
6.00	5.88 ±0.19	3.22	98.00	6.15 ±0.08	1.23	102.50

2.6 稳定性试验

血浆样品放置在 - 20 ℃冰箱内 14d, 经测定,结果稳定, $RSD < 20$ %。

2.7 方法应用

20 名男性健康志愿受试者禁食 12 h 后空腹口服头孢泊肟酯片剂 2 片(200 mg),于服药前和服药后 0.50,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,5.0,6.0,8.0,12.0 h 取上臂静脉血每次 2.0 mL, 用 EDTA 钾抗凝,静置 10 min 后离心分离出血浆,用本法测定服药后血浆中头孢泊肟浓度。20 名健康志愿者空腹口服受试和参比头孢泊肟酯片剂 200 mg 后的平均血药浓度-时间曲线见图 2。

20 名中国健康受试者单剂量口服两种头孢泊肟酯片剂 200 mg 的血药浓度经时变化趋势基本相似,服药后吸收达峰时间为 2 ~ 3 h,分布相短暂,消除较快,血药浓度存在个体差异,见表 2。两制剂主要药代动力学参数经方差分析,单、双侧 t 检验,其比率的 90 %的可信限均落在规定范围内,两制剂在人体内生物等效。

表 2 20 名志愿者口服 200 mg 头孢泊肟酯片剂后主要药代动力学参数($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The pharmacokinetic parameters of 20 volunteers after single oral administration of 200 mg cefpodoxime proxetil tablets($\bar{x} \pm s$)

制剂	T_{max} (h)	C_{max} ($mg \cdot L^{-1}$)	$t_{1/2}$ (h^{-1})	lz (h^{-1})	$AUC_{0-\infty}$ ($mg \cdot L^{-1}$)	F(%) ($AUC_{0-\infty}$)
T	2.53 ±0.62	2.26 ±0.59	2.40 ±0.49	0.299 ±0.053	12.727 ±3.215	100.87 ±22.63
R	2.30 ±0.57	2.36 ±0.47	2.11 ±0.34	0.335 ±0.047	12.787 ±2.875	

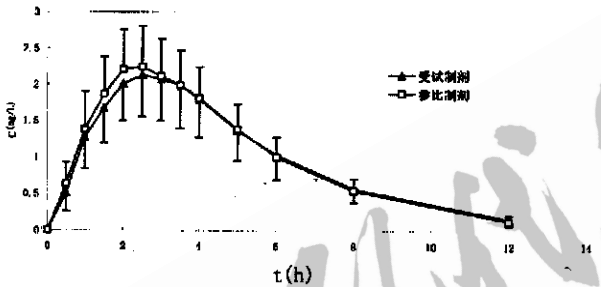

图 **2** 20 名健康志愿者口服两种头孢泊肟酯片剂 200 mg 后头孢泊肟的药时曲线

Fig 2 Mean drug plasma concentration-time curve of cefpodoxime in 20 healthy volunteers after oral administration of 200 mg cefpodoxime proxetil tablets(test and reference)

3 讨论

头孢泊肟在酸性溶液中(pH 4.0)较稳定。

本实验采用 ODS C_{18} 色谱柱,乙腈和高氯酸溶液作为流动相。实验中我们发现,高氯酸溶液浓度对头孢泊肟的峰形有显著影响,应用 1.50 $mmol \cdot L^{-1}$ 的高氯酸溶液作为流动相可得到最佳峰形。有机相采用乙腈与甲醇相比头孢泊肟易与血浆中内源性杂质分离、有机相用量比例低、出峰快,且柱压较低。

本实验建立的 RP-HPLC 紫外检测测定血浆中头孢泊肟方法与文献报道的测定方法[2,3]相比,具样品用量少、灵敏度高、准确性和精密度好,操作简单等特点,可满足头孢泊肟酯药代动力学和生物利用度的研究。

参考文献

[1] Frampton JE, Brogden RN, Langtry HD, *et al*. Cefpodoxime proxetil: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potential[J]. Drugs, 1992, 44(4): 889.

[2] Borin MT, Hughes GS, Patel RK, *et al*. Pharmacokinetic and tolerance studies of cefpodoxime after single- and multiple-dose oral administration of cefpodoxime proxetil[J]. J Clin Pharmacol, 1991, 31(4): 1137.

[3] Steenwyk RC, Brewer JE, Royer ME, *et al*. Reversed-phase liquid chromatographic determination of cefpodoxime in human plasma[J]. J Liq Chromatogr, 1991, 14(20): 3641.

收稿日期:2002-06-19