

# HPLC 检测人血浆头孢丙烯及其药动学研究

丁细桃<sup>1a</sup>, 徐雪姑<sup>1b</sup>, 邱相君<sup>2</sup>, 胡国新<sup>1b</sup> (1.温州医学院, a.机能实验教学中心; b.药学院药理学教研室, 温州 325027; 2.河南科技大学医学院药理学教研室, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 目的 建立人血浆头孢丙烯检测的高效液相色谱方法, 研究头孢丙烯分散片的人体药动学。方法 血浆经高氯酸沉淀, 采用 ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub> 色谱柱; 流动相为乙腈-0.1%三氟乙酸-水(15:40:45), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 282 nm。10 名健康志愿者单剂量口服 500 mg 头孢丙烯分散片后, 不同时间点抽取静脉血。用该方法检测血浆中头孢丙烯浓度, 用 DAS 程序计算药动学参数。结果 头孢丙烯浓度在 0.10~20.00 mg·L<sup>-1</sup> 内线性关系良好( $r=0.9999$ ); 高、中、低 3 个浓度的相对回收率分别为(99.20±4.41)%, (98.07±3.94)%和(100.07±1.69)%; 日内 RSD 分别为 5.28%, 5.19%和 1.97%, 日间 RSD 分别为 4.38%, 3.95%和 1.33%。头孢丙烯在人体内符合一级吸收的一室模型,  $C_{\max}$  为(8.79±1.09)mg·L<sup>-1</sup>,  $t_{1/2(ke)}$  为(1.06±0.29) h。结论 本方法简便、快速、准确可靠, 可满足药动学研究的要求。

**关键词:** 头孢丙烯; 药动学; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R969.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)11-1124-04

## Determination of Cefprozil by HPLC in Human Plasma and Its Pharmacokinetics

DING Xitao<sup>1a</sup>, XU Xuegu<sup>1b</sup>, QIU Xiangjun<sup>2</sup>, HU Guoxin<sup>1b</sup> (1. Wenzhou Medical College, a. Lab and Teaching Center of Functional Science; b. Department of Pharmacology, Wenzhou 325035, China; 2. Department of Pharmacology, Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a high performance liquid chromatography method for the determination of cefprozil in human plasma and to study its pharmacokinetics. **METHODS** The human plasma samples were precipitated by perchloric acid. The analytical column was ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub>. The mobile phase was acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid-water(15 : 40 : 45) and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The UV detection wavelength was 282 nm. **RESULTS** Excellent

作者简介: 丁细桃, 女, 实验师 Tel: 13819715630 E-mail: dxt616@tom.com

liner relationship was obtained in the range of 0.10–20.00 mg·L<sup>-1</sup>( $r=0.9999$ ). The relative recoveries were (99.20±4.41)%, (98.07±3.94)%, and (100.07±1.69)% respectively at three concentrations. The intra-day RSD were 5.28%, 5.19%, and 1.97% and inter-day RSD were 4.38%, 3.95%, and 1.33% respectively. Cefprozil was fit to the one-compartment model with first absorption,  $C_{max}$  was (8.79±1.09)mg·L<sup>-1</sup>,  $t_{1/2(ke)}$  was (1.06±0.29) h. **CONCLUSION** The method was simple, rapid, and accurate. It can be used to determine the cefprozil concentration in human plasma and to study of its pharmacokinetics.

**KEY WORDS:** cefprozil; pharmacokinetics; HPLC

头孢丙烯为第2代头孢菌素类药物, 具有广谱抗菌作用, 其杀菌机制是阻碍细菌细胞壁合成。头孢丙烯为顺反式异构体混合物, 顺式和反式异构体的化学稳定性和抗G<sup>+</sup>菌活性相似, 但顺式头孢丙烯的抗G<sup>-</sup>菌如大肠埃希杆菌、肺炎克雷伯菌、奇异变形杆菌、淋病奈瑟菌和流感嗜血杆菌活性为反式异构体的6~8倍, 主要用于敏感菌所致的轻、中度感染。

国内已有关于高效液相色谱法检测血浆头孢丙烯的报道<sup>[1-3]</sup>。本试验根据已有的报道, 建立了以左氧氟沙星为内标、血浆直接沉淀测定人血浆头孢丙烯的高效液相色谱检测方法并研究头孢丙烯在人体中的药动学过程。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪为Agilent1100系列, 包括G1322A 在线脱气机, G1311A 四元泵, G1313A自动进样器, G1316A 温控箱, G1315B二极管阵列检测器, 和Agilent 化学工作站Rev A.10.02.[1757] (美国安捷伦公司)。AB204-A电子分析天平[梅特勒-托利多(上海)仪器公司, 灵敏度0.1 mg]; XK96-B涡旋混合器(姜堰市新康医疗器械有限公司); TGL-16G台式高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 试剂和药品

头孢丙烯标准品(中国药品生物制品检定所, 批号: 130567-200701, 纯度: 98.5%); 左氧氟沙星对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 130455-200202, 含量: 97.2%)。头孢丙烯分散片(广州白云山制药总厂, 批号: 20081231, 规格: 250 mg·片<sup>-1</sup>); 甲醇和乙腈为一级色谱纯, 三氟乙酸、高氯酸、冰醋酸均为分析纯。实验用水为纯净水。

### 1.3 受试者选择

选取10名健康男性志愿者, 年龄21~24岁, 体重55~77 kg。受试者无烟酒嗜好, 无精神异常及代谢异常等病史, 血尿常规、肝肾功能及ECG等检查均正常, 身体状况良好。受试前2周至整个试验期间禁烟、酒和禁服其他任何药物。受试者均签

署知情同意书, 试验方案经医学伦理委员会批准。

### 1.4 给药方法与样品采集

10名受试者于研究前一天进入I期临床试验病房, 晚上统一清淡饮食。分别于次日清晨7:00口服头孢丙烯分散片500 mg, 200 mL温开水送服, 服药2 h后方可再饮水, 4 h后进统一餐。服药前取空白血, 服药后分别于0.25, 0.50, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 h取静脉血3 mL, 注入肝素化的试管, 3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min, 取血浆, -65 °C冰冻保存备用。

### 1.5 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub>(4.6 mm×75 mm, 3.5 μm); 保护柱: XDB-C<sub>8</sub>保护柱(4.6 mm×12.5 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% TFA-水(15:40:45); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 30 °C; 检测波长: 282 nm。

### 1.6 血浆样品的处理方法

准确吸取待测血浆样品0.5 mL于1.5 mL EP管中, 加入100 mg·L<sup>-1</sup>左氧氟沙星内标应用液35 μL, 再加入35%高氯酸40 μL, 旋涡振荡20 s后, 12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min。取上清液300 μL于自动进样器的样品瓶中, 设定20 μL进样检测。

## 2 结果

### 2.1 HPLC 图谱

血浆中头孢丙烯峰形良好, 分离完全, 无杂质峰干扰。见图1。

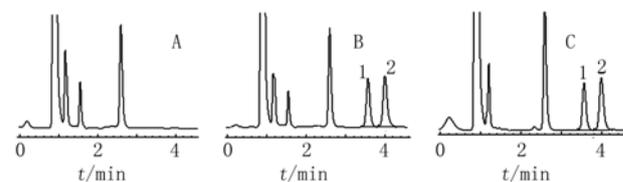


图1 头孢丙烯的高效液相色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆加头孢丙烯(10 mg·L<sup>-1</sup>)及内标; C-样品; 1-头孢丙烯; 2-内标

**Fig 1** HPLC chromatograms of cefprozil in human plasma A-blank plasma; B-blank plasma spiked with cefprozil (10 mg·L<sup>-1</sup>) and internal standard; C-sample; 1-cefprozil; 2-internal standard

### 2.2 线性关系及定量下限

配成浓度相当于0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 2.50,

5.00, 10.00, 20.00 mg·L<sup>-1</sup>的头孢丙烯血浆标准品溶液, 再按“1.6”项下方法处理后检测, 测定头孢丙烯峰面积  $A_s$ 、内标峰面积  $A_i$ , 以  $A_s/A_i$  为纵坐标  $Y$ , 以所对应各点浓度( $X$ )为横坐标绘制标准曲线(浓度加权)。头孢丙烯的标准曲线回归方程为  $Y=0.0774X+0.0031$  ( $r=0.9999$ )。取标准曲线的最小浓度值 0.10 mg·L<sup>-1</sup> 为血浆头孢丙烯的定量下限 (RSD=3.43%,  $n=6$ )。

## 2.3 回收率试验

**2.3.1 相对回收率试验** 配制低、中、高3种浓度(0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>)的头孢丙烯血浆标准品溶液, 每一个浓度6份样品, 再按“1.6”项下方法处理后测定, 依据标准曲线计算检测浓度。以检测浓度与加入浓度的比值计算相对回收率, 结果见表1。

表1 血浆头孢丙烯的回收率及精密度( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Recoveries and precisions of cefprozil in human plasma ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

加入量/ mg·L <sup>-1</sup>	检测量/ mg·L <sup>-1</sup>	血标峰面积/ mAU·s	纯标峰面积/ mAU·s	相对 回收率/%	绝对 回收率/%	精密度 RSD/%	
						日内	日间
0.25	0.248±0.011	4.796±0.421	6.440 8	99.20±4.41	74.46±6.54	5.28	4.38
5.00	4.903±0.197	93.820±5.510	126.512 3	98.07±3.94	74.16±4.36	5.19	3.95
15.00	15.011±0.254	291.317±9.832	386.622 6	100.07±1.69	75.35±2.54	1.97	1.33

## 2.5 样品稳定性

**2.5.1 冻融条件下血浆样品的稳定性** 配制低、中、高3个浓度(0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>)的头孢丙烯血浆标准溶液, 每个浓度 2 mL; 放置-65 °C 冰箱 2 h, 取出解冻后再次放入-65 °C 冰箱中, 2 h 取出解冻后再次放入-65 °C 冰箱中。经历 3 次冰冻-解冻循环后, 各取 0.5 mL 检测, 考察其稳定性。3 个浓度的 RSD 分别为 3.55%, 1.88%, 0.84%。结果显示冻融条件对血浆样品的检测结果没有明显的影响。

**2.5.2 室温放置血浆样品的稳定性** 配制低、中、高(0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>)3 个浓度的头孢丙烯血浆标准样品溶液, 在室温下放置 4 h 后再按“1.6”项下方法处理后进样检测, 记录结果。室温下放置 4 h 后 3 个浓度的 RSD 分别为 2.63%, 1.47%, 0.62%。结果显示头孢丙烯血浆样品在室温放置 4 h 以内较稳定。

## 2.6 血浆药-时曲线

10 名健康志愿者单剂量口服 500 mg 头孢丙烯分散片后, 用建立的 HPLC 条件测定不同时间的

**2.3.2 绝对回收率试验** 配制低、中、高3种浓度(0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>)的头孢丙烯血浆标准品溶液, 每一个浓度6份样品, 再按“1.6”项下方法处理后测定, 记录头孢丙烯的峰面积, 为血浆标准峰面积。再分别配制浓度为0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>头孢丙烯纯标准品溶液, 直接20 μL进样检测, 记录相应的峰面积、该浓度纯标准品峰面积。计算血浆标准峰面积与纯标准品峰面积的比值, 即为绝对回收率, 结果见表1。

## 2.4 精密度试验

配制低、中、高3种浓度(0.25, 5.00, 15.00 mg·L<sup>-1</sup>)的头孢丙烯血浆标准品溶液, 每一个浓度6份样品, 再按“1.6”项下方法处理。各浓度分别在同一日内测定, 计算日内精密度; 连续3 d内测定, 计算日间精密度。结果见表1。

头孢丙烯平均血浆药物浓度-时间曲线见图 2。

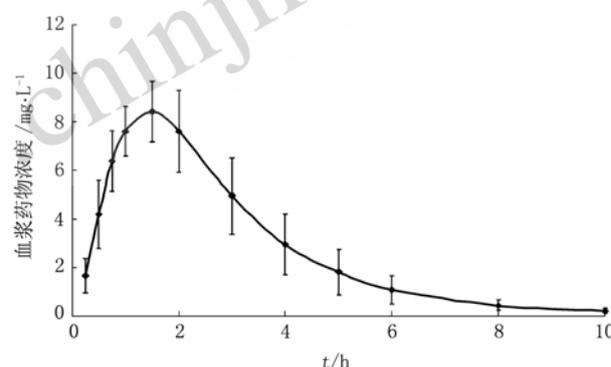


图2 10名健康志愿者单剂量口服 500 mg 头孢丙烯分散片后平均药-时曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curve of cefprozil after a single dose of 500 mg cefprozil dispersible tablets administration to 10 healthy volunteers

## 2.7 药动学参数

血浆药物浓度经 DAS 2.0 程序处理, 用房室模型估算药动学参数; 其中  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  为实测值。10 名健康志愿者单剂量口服 500 mg 头孢丙烯分散片后, 血浆头孢丙烯的主要药动学参数见表 2。

表2 10名健康志愿者单剂量口服头孢丙烯分散片的主要药动学参数

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of cefprozil after a single dose of 500 mg cefprozil dispersible tablets administration to 10 healthy volunteers

参数	$\bar{x} \pm s$
$C_{\max}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.79±1.09
$T_{\max}/\text{h}$	1.58±0.37
$t_{1/2}(\text{ke})/\text{h}$	1.06±0.29
$\text{Ke}/\text{h}^{-1}$	0.69±0.17
V1/F/L	27.88±9.85
CL/F/L·h <sup>-1</sup>	18.20±3.33
$\text{Ka}/\text{h}^{-1}$	1.31±0.74
$t_{1/2}(\text{Ka})/\text{h}$	0.63±0.22
Tlag/h	0.25±0.11
$\text{AUC}_{(0-10)}/\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	27.96±5.65
$\text{AUC}_{(0-\infty)}/\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	28.40±5.81

### 3 讨论

血浆头孢丙烯的检测常采用高效液相色谱紫外检测的方法,采用的定量方法有内标法<sup>[2,4]</sup>,也有外标法<sup>[1,3,5]</sup>。本研究建立的采用左氧氟沙星做内标的HPLC检测血浆头孢丙烯的方法,专属性高,分离完全,成本较低廉;检测时间短,4.5 min能完成一个样品的检测,特别适合大批量样品的自动化检测工作;方法回收率高,日内、日间精密度RSD均<10%,符合药动学研究的要求。由于头孢丙烯在弱碱性条件下不稳定<sup>[1]</sup>,而血浆样品在室温放置4 h内较稳定,故血浆样品解冻后应立即进行处理。同时本试验采用高氯酸沉淀血浆蛋白的样品处理方法,提供了酸性条件,保证预处理后血浆样品的稳定。

本试验显示,健康志愿者单剂量口服500 mg头孢丙烯分散片后,在1.58 h左右达到8.79 mg·L<sup>-1</sup>左右的峰浓度,吸收半衰期为0.63 h,消除半衰期为1.06 h;表观分布容积为27.88 L,清除率为18.20 L·h<sup>-1</sup>;主要药动学参数符合一级吸收的一室模型。主要药动学参数 $C_{\max}$ 与文献[1-3]报道的接近,但与文献[4]有较大的差异,清除率与文献[3]报道的接近。由于本研究采用房室模型估算药动学参数,其消除半衰期与非房室模型计算的半衰期相比较短,仅有1.06 h左右,与文献[5]报道的半衰期较接近。

### REFERENCES

- [1] GONG J J, PANG S Q, LI Z, et al. Determination of plasma level of cefprozil by HPLC and its pharmacokinetics in human body [J]. China Pharm(中国药房), 2008, 19(8): 592-594.
- [2] TAN H Y, OUYANG D S, LIU C, et al. Determination of cefprozil in human plasma with HPLC [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2008, 20(1): 78-80.
- [3] TANG S X, LI Z, JIANG H M, et al. Determination of plasma concentrations of cefprozil by HPLC method and its application to pharmacokinetic [J]. Pharm Care Res(药学服务与研究), 2008, 8(1): 46-48.
- [4] SU M X, DI BIN, YU F, et al. Study of pharmacokinetics and bioequivalence about cefprozil granules in healthy volunteers [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2005, 10(12): 1412-1415.
- [5] LING H J, ZHANG X, YANG P H, et al. Pharmacokinetics and bioequivalence of the 3 kinds of cefprozil preparations in healthy volunteers [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2008, 24(1): 43-46.

收稿日期: 2010-02-26