

奥扎格雷钠口服溶液人体尿药浓度研究

王珍¹, 金锐¹, 孙考祥², 杜智敏^{1*} (1. 哈尔滨医科大学附属第二医院临床药学药物研究所, 哈尔滨 150086; 2. 烟台大学, 山东 烟台 264005)

摘要:目的 建立测定人尿中奥扎格雷钠浓度的 HPLC 方法; 通过测定 12 名健康受试者单次 po 200 mg 奥扎格雷钠口服溶液后体内的尿药浓度, 考察奥扎格雷钠体内代谢过程。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 磷酸盐缓冲液 (pH = 3.0)-乙腈 (94:6) 为流动相, 流速为 1.5 mL · min⁻¹, 咖啡因作为内标, 紫外检测波长为 276 nm。结果 奥扎格雷钠在 0.01~10 mg · L⁻¹ 内线性关系良好, r = 0.996 2。健康受试者服药后 12 h 内有 (41.77 ± 15.47)% 的奥扎格雷钠从尿中排出。结论 此方法灵敏、准确、稳定, 可用于奥扎格雷钠体内代谢研究; 奥扎格雷钠主要以原型从尿中排出。

关键词: 奥扎格雷钠; 高效液相色谱法; 尿药浓度

中图分类号: R969 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494(2007)20-1567-03

Study on Ozagrel in Human Urine

WANG Zhen¹, JIN Rui¹, SUN Kao-xiang², DU Zhimin¹ (1. Institute of Clinical Pharmacy and Drug, Second Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086 China; 2. Yantai University, Yantai 264005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC assay for determining ozagrel in urine and to investigate the metabolism of ozagrel in human urine. **METHODS** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of phosphate buffer (pH = 3.0)-acetonitrile (94:6) with a flow rate of 1.5 mL · min⁻¹. Caffeine was used as the internal standard, the detection wavelength was at 276 nm. **RESULTS** The good linearity was obtained over the range of 0.01~10 mg · L⁻¹ with good correlation coefficient (r = 0.996 2). (41.77 ± 15.47)% ozagrel was eliminated from body in 12 h. **CONCLUSION** The method was sensitive, accurate and stable. Ozagrel was eliminated in urine from body as drug prototype.

KEY WORDS ozagrel; HPLC; urine drug level

奥扎格雷钠是世界上第一个上市的血栓素合成酶抑制剂, 在临床上主要用于治疗急性血栓性脑梗死和脑梗死所伴随的运动障碍和支气管哮喘^[1]。奥扎格雷钠尿药代谢过程国内未见报道。本试验建立 HPLC 测定人尿中奥扎格雷钠浓度的方法, 通过监测健康受试者口服奥扎格雷钠后尿药浓度的经时过程, 考察奥扎格雷钠体内代谢过程, 为进一步研究奥扎格雷钠体内代谢机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂

奥扎格雷钠口服溶液 (长春精优药业股份有限公司, 规格: 200 mg · 10 mL⁻¹, 批号: 20040201); 奥扎格雷钠标准品 (含量: 99.85%, 长春精优药业股份有限公司); 内标物: 咖啡因 (含量 99.6%, 中国药品生物制品检定所)。

乙腈、甲醇均为色谱; 纯磷酸二氢钠、盐酸为

- [2] ESSOCK S M, COVELL N H, JACKSON C T. Antipsychotic drugs and schizophrenia [J]. *N Eng J Med*, 2006, 354(3): 298-300.
- [3] KECK P E, STRAWN JR, MCELROY S L. Pharmacologic treatment considerations in co-occurring bipolar and anxiety disorders [J]. *J Clin Psychiatry*, 2006, 67(Suppl 1): 8-15.
- [4] NEMEROFF C B, KNKEAD B, GOLDSTEIN J. Quetiapine preclinical studies: pharmacokinetics, drug interactions, and dosing [J]. *J Clin Psychiatry*, 2002, 63 (Suppl 13): 5-11.
- [5] DEVANE C L, NEMEROFF C B. Clinical pharmacokinetics of quetiapine, an atypical antipsychotic [J]. *Clin Pharmacokin*, 2001, 40(7): 509-522.

- [6] GEFVERT O, BERGSTROM M, LANGSTROM R *et al*. Time course of central nervous dopamine-D₂ and 5-HT₂ receptor blockade and plasma drug concentrations after discontinuation of quetiapine (Seroquel) in patients with schizophrenia [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1998, 135(2): 119-126.
- [7] LI K Y, CHENG Z N, LIX, *et al*. Simultaneous determination of quetiapine and three metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2004, 25(1): 110-114.

(收稿日期: 2006-08-21)

作者简介: 王珍, 女, 主管药师, 硕士 Tel: (0451) 86605362 * 通讯作者: 杜智敏, 女, 教授, 博士生导师 Tel: (0451) 86605353

分析纯;水为超纯水。

1.2 色谱条件

仪器:美国 Waters 高效液相色谱系统(510泵,996二极管阵列检测器,2010 Millennium 色谱管理系统)。

色谱条件: Diamonsil C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),柱温为 50 °C;SPE 固相萃取小柱(C₁₈填料,规格为 200 mg · 5 mL⁻¹,中国科学院大连化学物理研究所)。

流动相:磷酸盐缓冲液(pH = 3.0)-乙腈(94:6);流速为 1.5 mL · min⁻¹;检测波长为 276 nm。

1.3 受试者的选择

12名健康男性受试者年龄范围(23.5 ± 1.08)岁,体重指数在 19~24内,受试者在试验前查血、尿常规,肝、肾功能以及心电图、血压等检查均正常,受试者试验前 1 周及试验期间未服用过任何其他药物,试验期间禁烟、酒及含咖啡因的饮料。试验前签署知情同意书,并经哈尔滨医科大学附属第二医院伦理委员会批准。

1.4 实验方案和采集

受试者在试验开始前 1 d 进入监护病房,晚上进统一清淡饮食,然后禁食(不禁水)过夜。次日早上空腹 po 奥扎格雷钠口服溶液 200 mg 同时用 250 mL 温开水送服,服药 1 h 后适量饮水,2~4 h 后进统一清淡饮食。在服药前及服药后收集 0~4、4~8、8~12、12~24 h 的尿液并记录尿量。尿液样品于 -20 °C 冷冻保存,待测。

1.5 尿样品处理

甲醇 2 mL 和水 2 mL 依次通过固相萃取小柱,真空抽干,对固相萃取柱进行活化。然后吸取尿液样品 1.0 mL(经过适当稀释),加入 100 μL 内标液(咖啡因,100 mg · L⁻¹)和 1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液 10 μL,混匀,将其全部移入已活化的固相萃取柱,先用水 2 mL 洗脱,弃去,再用甲醇 2 mL 洗脱,收集甲醇洗脱液,在 70 °C 水浴中于氮气流下吹干,残渣用流动相 150 μL 溶解,离心后取上清液 50 μL 进样测定。

1.6 标准曲线的制备

取空白尿 1 mL,分别加入不同浓度的奥扎格雷钠标准品系列溶液,配制成相当于奥扎格雷钠浓度为 10、5、1、0.5、0.1、0.05、0.01 mg · L⁻¹ 尿样,按“1.5”项下操作,进样 50 μL,记录色谱图,以待测浓度为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标,进行加权线性回归。

1.7 回收率与精密度试验

1.7.1 回收率试验 取人空白尿 1 mL,分别配制成低、中、高 3 个质量浓度(奥扎格雷钠浓度分别为 0.05、0.5、5 mg · L⁻¹)的尿样品,按“1.5”项下操作,进样 50 μL,以测得量和添加量之比计算方法回收率。

1.7.2 精密度试验 取人空白尿 1 mL,分别配制成低、中、高 3 个质量浓度(奥扎格雷钠质量浓度分别为 0.05、0.5、5 mg · L⁻¹)的尿样品,按“1.5”项下操作,进样 50 μL,于同日内测定后计算日内变异,5 d 内测定后计算日间变异。

1.8 样本测定

按“1.5”项下操作,将奥扎格雷钠与咖啡因峰面积比值代入标准曲线方程,计算尿药浓度。如果测定尿样品浓度超出标准曲线范围,尿样稀释 10~100 倍后按“1.5”项下操作、检测。测定比值代入标准曲线后得到的浓度值乘以稀释倍数即为该时间段的平均药物浓度。

1.9 尿药排率

各时间段样品中测得的奥扎格雷钠浓度值与该时间段累积尿体积的乘积,即为该时间段尿药排量。累积 24 h 尿药总排量与摄入奥扎格雷钠药量的比值即为尿药排率。

2 结果

2.1 色谱图

在“1.2”色谱条件下,分别取空白尿、含药尿(空白尿加入奥扎格雷钠标准溶液)以及受试者服药后 4~8 h 的尿 1 mL,按“1.5”依法操作,进样分析,得到色谱图见图 1。结果表明,奥扎格雷钠和内标峰分离良好,内源性物质不干扰奥扎格雷钠和内标的测定。奥扎格雷钠保留时间约为 6.9 min 左右,内标物保留时间为 16.4 min 左右。

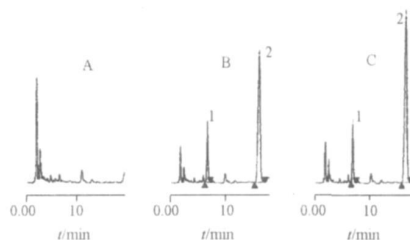


图 1 奥扎格雷钠尿样色谱图

A-空白尿;B-标准品;C-受试者尿样;1-奥扎格雷钠;2-内标

Fig 1 HPLC chromatograms of ozagrel

A- blank urine B- ozagrel standard C- urine sample 1- ozagrel 2- internal standard

2.2 标准曲线

以待测奥扎格雷钠浓度为横坐标,奥扎格雷钠

与内标的峰面积的比值为纵坐标, 进行加权线性回归, 回归方程为 $Y = 0.3682X - 0.0033$ $r = 0.9962$ 奥扎格雷钠在 $0.01 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内线性关系良好。本方法最低检测质量浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (信噪比优于 3)。

2.3 回收率与精密度试验

结果见表 1, 2

表 1 回收率试验结果, $n = 5, \bar{x} \pm s$

Tab 1 Recovery of ozagrel $n = 5, \bar{x} \pm s$

Added/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Found/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Recovery/%	RSD/%
0.050	0.052 ± 0.005	104.57 ± 10.95	10.47
0.500	0.456 ± 0.018	91.17 ± 3.58	3.92
5.000	4.818 ± 0.300	96.35 ± 6.00	6.23

表 3 尿药排率, $n = 12, \bar{x} \pm s$

Tab 3 Excretion ratio of ozagrel in urine $n = 12, \bar{x} \pm s$

Parameter	0~4 h	4~8 h	8~12 h	12~24 h
Urine volume/mL	374.1 ± 190.6	341.67 ± 184.83	229.2 ± 103.3	524.17 ± 185.69
Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	277.62 ± 161.64	7.77 ± 4.58	1.31 ± 1.20	Not determined
Cumulated discharging of ozagrel in urine/ mg	81.50 ± 30.87	83.49 ± 30.93	83.54 ± 30.94	83.54 ± 30.94
Excretion ratio of ofozagrel in urine/%				41.77 ± 15.47

3 讨论

本试验建立了人尿中奥扎格雷钠 HPLC 测定方法。选用 C_{18} 固相萃取小柱经活化后甲醇洗脱来处理尿样, 具有专属性强, 精确、灵敏、重复性好等特点, 适于奥扎格雷钠的生物样本研究。

据文献报道^[1], 奥扎格雷钠原型与葡萄糖醛酸的缀合物在尿中的排率极低, 故本试验尿样测定未进行酶解。人体药理学试验表明, 单次口服奥扎格雷钠口服溶液剂 8~12 h 后, 血中奥扎格雷钠浓度未测出, 故本试验收集尿液至服药后 24 h 测得

表 2 精密度试验结果, $n = 5, \bar{x} \pm s$

Tab 2 Precision of ozagrel $n = 5, \bar{x} \pm s$

Added/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Intra-day		Inter-day	
	Found/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD/%	Found/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	RSD/%
0.050	0.052 ± 0.005	10.47	0.051 ± 0.008	14.74
0.500	0.456 ± 0.018	3.92	0.444 ± 0.020	4.57
5.000	4.818 ± 0.300	6.23	4.509 ± 0.298	6.60

2.4 尿药排率

12名健康男性受试者 *po* 奥扎格雷钠口服溶液 200 mg 后, 24 h 内有 $(41.77 \pm 15.47)\%$ 的奥扎格雷钠以原型的形式从尿中排出, 其中绝大部分在 8 h 内排出, 而 4 h 内排出量最大, 约占总排泄量的 97.3%, 见表 3。

的实验结果与文献报道基本一致^[1-3]。

REFERENCES

- [1] SEKIH, KUROMAKI, TAKEDA S, *et al.* Trial of prophylactic administration of TXA2 synthetase inhibitor ozagrel hydrochloride for preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 1999, 18(2): 157-164
- [2] OGISO T, WAKIM, HARA Y, *et al.* Pharmacokinetics of ozagrel and its metabolites after intravenous and oral administrations [J]. *Pharm Sci*, 1997, 86(10): 1111-1114
- [3] ZHENG N X, SATO H, KOBAYASHI F, *et al.* Rectal absorption of ozagrel from a suppository containing its commercial tablet in healthy human subjects [J]. *BioPharm Bull*, 1997, 20(3): 282-284.

(收稿日期: 2006-07-25)

原创药物 苯酞作用机制学术研讨会在京召开

2007年9月21日下午, 由中国药学会主办的原创药物丁苯酞作用机制学术研讨会在北京召开。中国药学会理事长桑国卫院士, 中国药学会副理事长、中国医学科学院药物研究所所长王晓良, 中国工程院院士刘耕陶与来自首都医科大学、北京协和医院、北京友谊医院、北京军区总医院、北京天坛医院、海军总医院、河北医科大学、石药集团的有关专家参加了本次学术研讨会, 会议由中国药学会学术部主任王爱国主持。桑理事长在会议讲话中强调指出, 在新的历史时期, 党和政府对学会工作寄予厚望, 学会作为国家创新体系的重要组成部分, 负有孕育创新思想、激发创造活力的重要功能。充分调动广大科技工作者投身创新型国家建设的积极性、主动性和创造性, 加快构建社会主义和谐社会, 也必须充分发挥学会的重要功能和作用。中国药学会要认清形势, 把握机遇, 着眼党和国家事业发展的大局, 切实肩负起新时期学会工作的重要使命, 全面履行桥梁和纽带职责, 着力加强学术建设, 引领学科发展, 增强自主创新能力, 为我国医药自主创新和可持续发展做出重要贡献。丁苯酞是中国医学科学院和石药集团多年合作的结晶, 也是我国自主研发的第一个脑血管类原创药物。丁苯酞拥有 17 项国内及国际 PCT 专利, 是我国“十五”期间最重要的创新药物之一, 经 IV 期临床验证治疗缺血性脑血管病总有效率为 78.2%, 已被列入《中国脑血管病防治指南》指导用药, 丁苯酞也是我国第一个通过专利授权走向国际市场的原创药物。鉴于丁苯酞是一个全新化学结构的药物, 不同于我国现有的脑血管用药领域的用药类别, 因此中国药学会通过组织国内知名药学、医学相关专家, 对丁苯酞作用机制进行研讨, 集思广益, 界定其用药类别, 指导临床合理使用药物。本次研讨会, 与会专家分别从专业角度对丁苯酞的药理学、药效学等进行了研讨, 基本认同丁苯酞是一个全新的化学结构药物, 拥有全新的作用机制, 是一种新型的改善脑功能的原创药物。因为丁苯酞是一种全新的药物, 对丁苯酞的认识还需要进一步提高。会后, 中国药学会将对各位专家的研讨结果认真进行总结, 并及时向各位专家和有关政府部门反馈。

[本刊讯]