

# 反相高效液相色谱法测定人体血浆中奥美拉唑含量

田书霞<sup>1</sup> 蒋 晔<sup>1</sup> 赵 静<sup>1</sup> 任进民<sup>2</sup> 王淑梅<sup>2</sup>

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2. 河北医科大学第二医院药剂科, 河北 石家庄 050017)

**摘要:**目的 建立反相高效液相色谱法测定血浆中奥美拉唑浓度的方法。方法 血浆经碱化后以乙酸乙酯-氯仿(4:1)为提取溶剂,以液-液萃取法处理血浆样品。采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,流动相为 pH=6.8 的甲醇-异丙醇-0.5% 三乙胺水溶液(37:10:53),流速为 1.0 mL/min,内标为硝苯地平,检测波长为 302 nm。结果 该法血药浓度在 7.98~2.024×10<sup>3</sup> ng/mL 范围内线性关系良好( $r=0.9998$ ),最低检测限为 2 ng/mL,精密度的日内 RSD<3.2%,日间 RSD<3.7%,平均提取回收率为 84.6%,平均方法回收率为 99.6%。结论 该方法快速、准确,适用于奥美拉唑的临床药代动力学研究和血药浓度检测。

**关键词:** 奥美拉唑;反相高效液相色谱法;血药浓度

中图分类号 R969.1;R975+.6

文献标识码 A

文章编号 1006-4931(2006)04-0050-02

## Determination of Omeprazole in Human Plasma by RP-HPLC

Tian Shuxia<sup>1</sup>, Jiang Ye<sup>1</sup>, Zhao Jing<sup>1</sup>, Ren Jinmin<sup>2</sup>, Wang Shumei<sup>2</sup>

(1. Institute of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050017;

2. Department of Pharmacy, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050017)

**Abstract:** **Objective** To establish RP-HPLC method for determination of omeprazole in human plasma. **Methods** Plasma sample was extracted with ethylacetate-chloroform (4:1). After evaporation of organ layer. The Diamonsil C<sub>18</sub> column was used. The mobile phase consisted of methanol-isopropanol-0.5% triethylamine(37:10:53). The detective wavelength was 302 nm. Nifedipine was used as internal standard. Flow rate was 1.0 mL/min. **Results** The linearity was obtained from 7.98 to 2.024×10<sup>3</sup> ng/mL, and the detective limit of concentration was 2 ng/mL. The inter-day RSD and intra-day RSD were less than 3.2% and 3.7%, respectively. The average extraction recovery was 84.6%. The absolute recovery was 99.6%. **Conclusion** This method is sensitive and accurate for drug monitor of omeprazole.

**Key words:** omeprazole RP-HPLC serum concentration of drug

奥美拉唑是苯并咪唑类衍生物,临床上主要用于治疗胃溃疡、反流性食管炎等疾病。由于奥美拉唑性质不稳定,在酸、光照、高温、高湿条件下易分解<sup>[1]</sup>,故其血浆样品的预处理较困难。文献中奥美拉唑血浆样品预处理多采用碱化后单一有机溶剂萃取<sup>[2]</sup>,提取回收率较低。笔者采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC法)测定了人血浆中奥美拉唑浓度,考察了多种有机溶剂的提取效果,选用了提取效率高的混合有机溶剂,同时考察了奥美拉唑在血浆样品中的稳定情况,并且优化了色谱条件,缩短了分析周期,该法专属性强,灵敏度高,适于临床血药浓度的监测。

### 1 仪器与试剂

SP 8810 型高效液相色谱仪(美国光谱物理),配 SP 8450 紫外检测器,南京千谱色谱工作站, TG 332A 型微量分析天平(湘仪天平仪器厂),奥美拉唑对照品(批号为 100367-200301,含量为 99.6%,河北制药厂);内标硝苯地平批号为 10117-9903,中国药品生物制品检定所)。甲醇(色谱纯,迪马公司),异丙酮(分析纯,北京益利精细化学品有限公司,批号为 990928)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:用磷酸调节 pH=6.8 的甲醇-异丙醇-0.5% 三乙胺水溶液(37:10:53);流速:1.0 mL/min,紫外检测器检测波长 302 nm,柱温:室温。

#### 2.2 标准溶液配制

精密称取奥美拉唑对照品 10 mg,置 50 mL 棕色量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。取贮备液 5 mL 至 10 mL 棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,为 1 号工作液。取 1 号工作液 5 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,得 2 号工作液,依法倍比稀释得 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 号工作液,即得浓度分别为 1.021×10<sup>4</sup>, 5.105×10<sup>3</sup>, 2.552×10<sup>3</sup>, 1.276×10<sup>3</sup>, 6.382×10<sup>2</sup>, 3.191×10<sup>2</sup>, 1.596×10<sup>2</sup>, 79.80, 39.90 ng/mL 的标准溶液。

#### 2.3 血浆样品处理

取 1 mL 空白血浆,在避光条件下加入 pH=7.2 的缓冲盐 0.5 mL,内标硝苯地平 50 μL,混合有机溶剂乙醚-氯仿(4:1) 4 mL,漩涡 3 min 后,离心(3 000 r/min)15 min。取上层有机溶剂 3 mL,在 50℃ 条件下用氮气吹干,置冰箱中冷冻储存备用,进样前加 100 μL 流动相漩涡振荡 1 min,取 20 μL 进样。

### 3 实验结果

#### 3.1 方法专属性考察

在紫外检测波长为 302 nm 及上述流动相条件下,奥美拉唑及内标色谱峰不受代谢产物和内源性杂质的干扰。标准溶液、空白血浆及血浆样品色谱图见图 1。

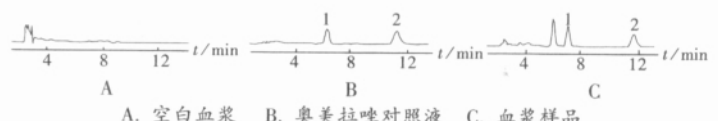


图 1 奥美拉唑色谱图

#### 3.2 标准曲线的制备

取空白血浆 1 mL,共 9 份,分别加入 1~9 号奥美拉唑工作液 20 μL,使血浆终浓度分别为 1.021×10<sup>3</sup>, 5.105×10<sup>2</sup>, 2.553×10<sup>2</sup>, 1.276×10<sup>2</sup>, 63.80, 31.90, 15.95, 7.980 ng/mL,按 2.3 项下方法操作,测定奥美拉唑和内标硝苯地平的峰面积,以两者的峰面积比(A)对血浆浓度比(C)进行回归,标准曲线方程为 A=0.06429C-0.0047, r=0.9996。结果表明血浆中奥美拉唑在 7.980~2.042×10<sup>3</sup> ng/mL 的浓度范围内线性关系良好。

#### 3.3 定量下限和最低检测限

取空白血浆 1 mL,共 5 份,加入最低浓度的奥美拉唑标准溶液,按 2.3 项下方法操作,取 20 μL 进样,记录色谱峰面积,用标准曲线法计算含量,测得定量下限为 7.98 ng/mL,准确度为

(112.05 ± 3.3)% (n = 5), RSD 为 2.86%。取最低浓度的奥美拉唑标准溶液, 倍比稀释后按 2.3 项下方法操作, 取 20 μL 进样, 按 S/N > 3 计, 确定最低检测限为 2.00 ng/mL。

### 3.4 提取回收率

取空白血浆 1.0 mL, 加入奥美拉唑标准溶液, 按 2.3 项下方法操作, 配制相当于血药浓度约为 31.9, 255.3, 1 021 ng/mL 的样品溶液, 每个浓度配制 5 份, 测定样品峰面积; 另取同量的奥美拉唑标准溶液, 于 50℃ 水浴氮气缓缓吹干, 残渣用 100 μL 流动相溶解, 取 20 μL 进样, 记录峰面积, 作为对照, 计算奥美拉唑的提取回收率。结果低、中、高 3 种浓度的提取回收率分别为 (85.32 ± 2.9)%, (84.22 ± 4.1)%, (84.26 ± 2.4)%, (n = 5), 平均为 84.60%。

### 3.5 精密度和准确度

取空白血浆 1.0 mL, 加入奥美拉唑标准溶液, 按 2.3 项下方法操作, 配制相当于血药浓度约为 31.9, 255.3, 1 021.0 ng/mL 的样品溶液, 每个浓度制备 5 份, 测得准确度和日内精密度。在不同天连续制备并测定 4 个分析批, 测得日间精密度。结果见表 1。

表 1 奥美拉唑回收率和日内、日间精密度测定结果 ( $\bar{x} \pm s$ , n = 5)

加入浓度 (ng/mL)	测得浓度 (ng/mL)	方法回收率(%)	RSD(%)	
			日内	日间
31.9	31.6	99.1 ± 2.6	3.2	3.7
255.3	245.9	96.4 ± 1.6	1.8	1.6
1 021.0	1 056.0	103.4 ± 1.3	1.3	1.3

### 3.6 稳定性试验

#### 3.6.1 室温稳定性

取空白血浆 1.0 mL, 共 4 份, 分别加入奥美拉唑工作液 20 μL, 配制相当于血药浓度约为 255.3 ng/mL 的样品溶液, 在室温避光条件下放置, 分别于第 0, 2, 4, 8 h 时取样, 按 2.3 项下方法操作, 考察血浆样品的稳定性。结果表明含药血浆在室温条件下 4 h 内稳定 (RSD = 1.3%) 8 h 时已有部分降解。

#### 3.6.2 冷冻稳定性

同上述方法, 另外配制 4 份相当于血药浓度约为 255.3 ng/mL 的样品, 在冷冻条件下放置, 于 0, 2, 4, 8, 10, 12 h 时取样, 按 2.3 项下方法操作, 考察含药血浆的稳定性。结果表明含药血浆在冷冻条件下 8 h 内稳定 (RSD = 0.78%), 10 h 时已有部分分解。

#### 3.6.3 样品吹干后冻存稳定性

样品在室温及冷冻条件下放置的稳定性不能满足奥美拉唑药代动力学研究的要求, 因此考察了样品吹干后冻存稳定性。同上述方法, 另外配制 4 份相当于血药浓度约为 255.3 ng/mL 的样品, 按 2.3 项下方法操作, 将样品吹干后冻存, 于第 1, 2, 3, 5 d 时取样测定。结果表明样品吹干后在冷冻条件下 5 d 内稳定 (RSD = 0.58%), 可满足奥美拉唑药代动力学研究的要求。

### 3.7 血样测定

采用本法测定了 22 名男性健康受试者交叉服用 40 mg 奥美拉唑片剂及参比制剂后的血浆样品, 以当日的标准曲线计算各时间点样本中的奥美拉唑浓度, 同时测定质控样本 (3 个浓度, 30 个样

本) 以保证结果的可靠性。在避光条件下取样后迅速处理, 样品吹干后冷冻储存, 进样前加 100 μL 流动相漩涡振荡 1 min, 取 20 μL 进样。22 名受试者口服奥美拉唑片剂和参比制剂后的平均药-时曲线见图 2。

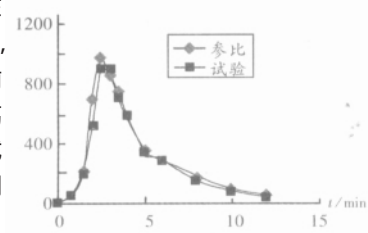


图 2 22 名健康志愿者口服 40 mg 奥美拉唑后的平均药-时曲线

### 4 讨论

#### 4.1 笔者建立的 RP-HPLC 法测定血浆药物浓度的方法简便, 灵敏度高, 最低检测浓度达 2 ng/mL, 最低定量浓度为 7.98 ng/mL, 适于药代动力学及临床血药浓度检测的需要。

4.2 采用固相萃取奥美拉唑<sup>[3]</sup>, 耗时且分析成本高, 故多采用液-液萃取法。奥美拉唑易溶于氯仿和二氯乙烷等有机溶剂, 但这些有机溶剂密度较大, 萃取后在血浆下层不易取出。而用乙醚、乙酸乙酯等密度较小的有机溶剂萃取时, 则提取回收率较低 (< 50%)。采用氯仿-乙醚 (1:4) 混和溶剂作提取剂时, 有机层在血浆上层, 易取出, 且提取回收率达到了要求 (84.6%)。

4.3 奥美拉唑在酸性条件下易分解, 在中性、碱性条件下较稳定。因此流动相的 pH 值不能太低, 但 pH 值太高 (pH > 7.0) 则易损坏色谱柱, 故本试验流动相的 pH 值采用 6.8。曾采用甲醇-0.5% 三乙胺、乙腈-0.5% 三乙胺作流动相, 虽然奥美拉唑峰和内标峰都能很好地分离, 但分析样品的时间相对较长。在流动相中加入一定比例的异丙醇, 改变流动相的选择性, 可以缩短分析时间, 通过考察异丙醇的加入量, 采用在流动相中加入 10% 异丙醇的方法。

4.4 奥美拉唑极其不稳定, 在酸性及光照条件下易分解变质, 因此在样品处理时先在样品中加入 0.5 mL pH = 7.2 的缓冲盐以提供一个弱碱性环境, 保证其在处理过程中不分解, 其次在整个样品处理过程中采用避光操作。试验结果表明, 在不避光的条件下操作, 提取回收率只有 40%, 而在避光条件下操作, 提取回收率达到了 80% 以上。通过稳定性试验考察了样品在不同条件下的稳定性, 结果表明, 样品在有机溶剂提取后用氮气吹干, 再置于冰箱中放置时较稳定。

通讯作者: 蒋晔, 教授, 硕士生导师, 主要从事药物分析化学教学与研究, (电话) 0311-86266069 (电子信箱) jiangye@sina.com, jiangye@hebm.edu.cn。

#### 参考文献:

- [1] 王平全, 安富荣, 刘振, 等. 奥美拉唑肠溶胶囊人体相对生物利用度[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(8): 453-456.
- [2] 霍保方, 邱枫, 肇丽梅, 等. HPLC 法测定血浆中奥美拉唑及其人体药代动力学研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(5): 337-339.
- [3] 孙华, 裘福荣, 陈波, 等. 单剂量口服奥美拉唑胶囊的人体药代动力学和相对生物利用度[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 18(4): 112-115.

(收稿日期 2005-07-22)

## 本刊加入 CMCC, CMCI 的声明

本刊已被中国人民解放军医学图书馆《中文生物医学期刊文献数据库 (CMCC)》及《中国生物医学期刊引文数据库 (CMCI)》全文收录, 收录证书号为 No.1003。CMCC, CMCI 为国内著名

数据库, 影响广泛。本刊所付稿酬包含上述数据库的使用报酬, 不再另付, 特此声明。

《中国药业》编辑部