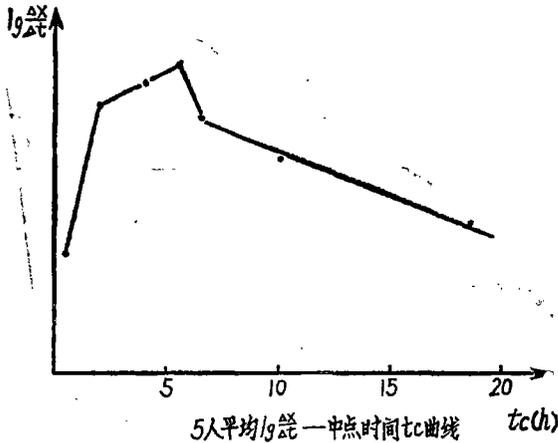


五、药代动力学参数(K、 $t_{1/2}$)的计算

根据表3数据以 $\lg \frac{\Delta x}{\Delta t} - tc$ 作图可得到一条二项指数型曲线。附图。



根据测定结果计算得到的主要动力学参数(K、 $t_{1/2}$)见表4。计算方法如下: K是由 $\lg \frac{\Delta x}{\Delta t} - tc$ 图的后段直线回归求出的斜率所得; $t_{1/2}$ 由K换算。

六、讨 论

1. 整个操作中均需用重蒸馏水, 以防荧光杂质的干扰。

2. Kohn原法所用尿液0.01ml, 本法采用0.1ml, 乙酸乙酯用量原法3.00ml, 本法改为5.00ml。这是仪器灵敏度及样品池尺寸不同的缘故。

3. 糖衣中黄色素影响测定, 故应用无

表4 5名受试者口服单剂四环素后药代动力学参数

受试者	K (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)
A	0.099	7.0
B	0.064	10.9
C	0.076	9.1
D	0.051	13.7
E	0.087	7.9
\bar{X}	0.075	9.7
\pm SD	0.019	2.7

色素糖衣片或去糖衣片。

4. 本文报道的人体尿药法测得的四环素平均半衰期为9.7, 与文献《新编药理学》(第12版)一书中所记载的9.0及《TDM的理论与实践(陈刚主编)》一书中所记载的 9.9 ± 1.5 相接近。

△本室董秀、刘自义、刁云华三同志参加部分工作。

参 考 文 献

1. 南京药学院药物分析教研室主编. 体内药物分析. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 267~271
2. 屠锡德等主编. 生物药剂学, 第一版. 江苏科学技术出版社, 1981: 231~248
3. 陈刚主编. TDM的理论与实践. 南京: 晨光实业公司出版, 1985: 37~38
4. 奚念朱等. 药学通报 1985; 20(4): 216

高效液相色谱法同时测定苯巴比妥、苯妥英和卡马西平的血清浓度

解放军202医院药剂科 嵇扬 李国秀 高小平 王玉鹏* 蒋东**

提要: 苯巴比妥(PB)苯妥英(PHT)和卡马西平(CBZ)是临床常用的抗癫痫药物。本文采用二步预处理; Shim-Pack CLC-TMS柱; 以非那西丁为内标; 甲醇-水

*上海第二军医大学药学院89级实习生

**天津第二医学院药系89级实习生

(47/53V/V)为流动相,在UV240nm处检测,可同时测定三种药物的血清浓度。绘制标准曲线,回归方程为PB: $A_s/A_{is} = 0.02502 + 0.03199C$ $\gamma = 0.9997$; PHT: $A_s/A_{is} = -0.01077 + 0.02508C$ $\gamma = 0.9998$; CBZ: $A_s/A_{is} = -0.04729 + 0.2251C$ $\gamma = 0.9992$; 每药4种浓度5日中重复5次实验,平均回收率分别为: $\bar{X}_{PB} = 99.95 \pm 4.39\%$ $\bar{X}_{PHT} = 101.15 \pm 3.30\%$ $\bar{X}_{CBZ} = 100.7 \pm 2.89$; 变异系数小于5.3%,满足临床监测需要。

关键词: 苯巴比妥 苯妥英 卡马西平 HPLC法 血清浓度监测

PB、PHT、CBZ是临床常用的抗癫痫药物。由于它们的安全范围窄;血药浓度个体差异大,且疗效和毒副作用与之密切相关;长期用药、合并用药时呈现药酶诱导和自身诱导,因而需要监测,同时测定这三种药物的方法,国内尚无报道。国外有高效液相色谱法和气-质联用二种方法。本文所报告的方法加强了样品预处理,改进了流动相组成,因而具有取样量少、检出灵敏、分析成本低、利于延长色谱仪与色谱柱使用寿命的特点。方法学的各项指标均显示,本法能完全满足药代动力学研究和临床监测的需要。

材料与方 法

一、仪器

日本岛津高效液相色谱仪LC-6A系列,包括LC-6A型泵,SPD-6AV紫外检测器,CR-3A色谱数据处理机、Rheodyne7125型进样阀等。

二、试剂

1. 标准品:苯巴比妥,苯妥英和非那西丁药典品,沈阳克达制药厂提供;卡马西平药典品,上海第一制药厂提供。

2. 试剂:甲醇、乙腈、氯仿和乙醚均为国产分析纯试剂,经重蒸馏后使用。重蒸馏水、沈阳康利药厂提供。

正常人血清:本院血库提供。

三、试液配制

1. 标准品贮备液:室温下配制10

mg/ml苯巴比妥甲醇液、1 mg/ml苯妥英甲醇液,1 mg/ml卡马西平甲醇液,密封于4℃冰箱中可保存二个月以上。

2. 内标贮备液:室温下配制20 μ g/ml非那西丁甲醇液,密封于4℃冰箱中可保存半年以上。

3. 含内标的乙腈液:取内标贮备液140 μ l。置于10ml容量瓶中,加乙腈至刻度。

4. 提取液:氯仿和乙醚以2:1的体积比混合而成。

5. 磷酸盐缓冲液(pH=6.5):按《中国药典》85版附录配制。

四、样品预处理

100 μ l血清(空白、标准药物、病人血清)加入100 μ l含内标的乙腈液,混匀、离心(4000转/分)5分钟,取出上清液140 μ l加入缓冲液140 μ l。提取液2.0ml、振荡30秒,离心(4000转/分)5分钟,取出有机层1.80ml,于40℃恒温水浴中通氮气蒸干,取100 μ l流动相加入上述蒸干的试管中,20 μ l进样。

五、色谱条件

分析柱: Shim-Pack CLC-TMS (15cm \times 6mm); 流动相: 甲醇/水(47/53 v/V); 流速: 1ml/min; 检测波长: UV240nm; 满量程吸光度0.01AUFs; 柱温: 室温; 纸速: 0.3cm/min。

结 果

一、色谱行为

苯巴比妥、苯妥英、卡马西平和内标非那西丁的保留时间分别为5.8min, 8.4min, 9.4min, 6.7min体内体外试验峰位一致, 且空白血清在5min后无干扰峰出现。

二、线性试验

1. 标准曲线绘制: 以各药有效血药浓度范围为依据, 配制系列标准血清 I、II、III、IV (见表1)

表1 标准血清中各药浓度 ($\mu\text{g/ml}$)

药物	标准品血清系列				有效血浓度范围
	I	II	III	IV	
PB	10	20	40	60	15~40
PHT	7	10	20	40	10~20
CBZ	2	8	12	18	6~12

各取三管, 按“四”法处理, 进样后得各药及内标的峰面积数据, 以各药与内标峰面积比 A_s/A_{is} (均值) 对各药血清浓度 (C) 作图 (见图1)、并进行线性回归, 得回归方程:

$$\text{PB: } A_s/A_{is} = 0.02502 + 0.03199C \\ \gamma = 0.9997$$

$$\text{PHT: } A_s/A_{is} = -0.01077 \\ + 0.02508C \quad \gamma = 0.9998$$

$$\text{CBZ: } A_s/A_{is} = -0.04729 + \\ 0.2251C \quad \gamma = 0.9992$$

2. 最低检出浓度: 配制标准血清, 其

浓度为: PB $2.5\mu\text{g/ml}$, PHT $5.0\mu\text{g/ml}$, CBZ $0.5\mu\text{g/ml}$ 按“四”法处理, 进样后得各药及内标的峰面积, 由标准曲线方程求得各药血药浓度和回收率, (见表2)

表2 回收率 ($\mu\text{g/ml}$)

	PB	PHT	CBZ
加入量	2.5	5	0.5
测得量	2.8	5.3	0.6
回收率%	112	106	120

3. 线性范围: 配制标准血清, 其浓度为 PB $80\mu\text{g/ml}$, PHT $60\mu\text{g/ml}$, CBZ $20\mu\text{g/ml}$, 按“四”法处理, 进样后得各药及内标的峰面积, 由标准曲线方程求得各药血药浓度和回收率 (见表3)

表3 线性范围

	PB	PHT	CBZ
加入量	80	60	20
测得量	78.7	58.6	19.5
回收率%	98.4	97.7	97.5

由表2、表3可知, 本法线性范围可达: PB $2.5\sim 80\mu\text{g/ml}$ PHT $5\sim 60\mu\text{g/ml}$ CBZ $0.5\sim 20\mu\text{g/ml}$ 。

三、回收率和精密度试验

一日内取 I、II、III、IV 标准血清各三管; 分别在五日内取 I、II、III、IV 标准血清各一管, 按标准曲线绘制所述方法处理并测定结果, 结果见表4、5。

表4 精密度测定

Drug	Mean \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	CV % (n = 3)	Mean \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	CV % (n = 5)
	within-day		day-to-day	
PB	10.46 \pm 0.83	7.93	10.44 \pm 0.06	0.57
	19.78 \pm 0.39	1.97	19.24 \pm 0.98	5.09
	39.29 \pm 0.24	0.61	38.96 \pm 0.72	1.85
	60.47 \pm 0.31	0.51	57.95 \pm 2.19	3.78

PHT	7.32±0.16	2.19	7.49±0.23	3.07
	9.85±0.26	2.64	10.04±0.50	4.98
	19.71±0.40	2.03	20.00±0.54	2.5
	40.12±0.76	1.89	39.55±2.06	5.21
CBZ	2.31±0.03	1.41	2.09±0.07	3.35
	7.94±0.19	2.39	7.83±0.17	2.17
	11.69±0.32	2.74	11.97±0.26	2.17
	16.23±0.26	1.60	15.58±0.58	3.72

表5 血清药物回收率

Drug	Amt added ($\mu\text{g/ml}$)	recovery (n=5) %
PB	10	106.5
	20	97.3
	40	97.7
	60	98.3
PHT	7	106.1
	10	99.6
	20	99.4
	40	99.5
CBZ	2	105.0
	8	99.8
	12	98.9
	16	99.1

配制标准蒸馏水液、标准血清液，其浓度为PB20 $\mu\text{g/ml}$ ，PHT10 $\mu\text{g/ml}$ ，CBZ8 $\mu\text{g/ml}$ ，按“四”法处理，进样后得各药及内标的峰面积数据，见表6

四、干扰试验

对服一种药物(PB或PHT或CBZ)病人血清进行的分析表明，色谱峰是单一的。表明被分析药物之间，被分析药物与内标之间，被分析药物的代谢物与内标之间、一药的代谢物与他药之间不存在干扰。但由于没有药物代谢物的标准品，因而药物代谢物是否干扰原型药物尚无定论。体内内源性生物成分不干扰测定。

临床癫痫病人常合用的丙戊酸钠、安定、硝基安定、氯硝基安定及异丙嗪、氯丙

表6 绝对回收率测定结果

	PB	PHT	CBZ	内标
峰面积(水管)	96075	7112	181604	106229
峰面积(血管)	69908	6514	173538	100318
峰面积(血/水)	72.76	91.59	95.56	94.44
回收量(血/水)	76.40	97.40	101.16	

嗪、利眠宁、佳乐定、苯噻啉、奋乃静等对测定无干扰。

服用含有非那西丁的复方制剂如APC，去痛片、撒利痛、优散痛、干扰测定。

讨论

一、血清样品的预处理：参照国外报道⁽¹⁾，我们曾选择甲醇、丙酮、乙腈等沉淀剂，使用沉淀法预处理样品，结果是国产

丙酮、乙腈本底较高干扰测定；试蒸干沉淀后的上清液，以流动相再溶解后分析，但蒸干速度慢(40 $^{\circ}\text{C}$ ，血清/沉淀剂1/2)进样分析仍见干扰组分；甲醇沉淀效果差。我们也将仅用提取法与二步预处理样品相比较，发现后者有更高的提取率，且样品净化程度高，可以预计这将大大延长色谱柱使用寿命。本文探讨了血清pH值对回收率的影响

响。初步观察表明：当pH = 6.5时，内标和药物有较高的回收率；当pH < 6时，苯巴比妥、苯妥英的回收率升高，卡马西平下降；当pH > 7.4时，苯巴比妥，苯妥英回收率下降，卡马西平回收率稍有上升。结果与卓海通等⁽³⁾报道基本一致。因此，我们选择在pH = 6.5的磷酸盐缓冲液中进行提取。

本文在采用乙腈沉淀和pH = 6.5的条件下，考察了常用的提取溶剂CH₂Cl₂，CHCl₃，乙醚、醋酸乙酯等的提取效果，确定了氯仿-乙醚（2：1）二元溶剂为提取液。从而兼顾了提高提取率，克服血清内源性组分干扰，减少乳化，便于操作、缩短蒸干时程等诸项要求、结果满意。

二、色谱条件选择

1. 流动相：许多文献⁽¹⁻⁵⁾报道都采用乙腈和磷酸盐缓冲液（pH 3 ~ 8）作为流动相组分。我们认为：这种组成除分析成本高外，盐类的使用还对管路和柱的清洗提出了较高的要求，因而大大延长了非分析占机时间。经实验，我们采用的甲醇-水（47/53 v/v）流动相既克服了上述缺点，又获得了理想的分析效果。

2. 色谱柱：Tjaded等⁽⁶⁾认为甲基硅烷键合相对巴比妥类药物的分离效果优于C₈或C₁₈柱。据此，我们考察了C₃、C₁₈、TMS对三种药物及内标的分离效果，以TMS柱的分离效果和分析时间最为满意。

3. 检测波长：国外报道的检测波长大都在195~210nm^(12/14)⁽¹⁾。我们对210、220、230、240、254nm几个波长进行了考察，结果表明230nm以下处，基线不够

平稳，血清空白值较大；254nm处检出灵敏度较低。因而选择240nm做为检测波长。

三、样品稳定性考察表明：药物血清I、II、III、IV在-15℃保存24小时各药平均回收率分别是：PB 99.63 ± 4.12%，PHT 102.82 ± 3.98%，CBZ 96.82 ± 2.29%；48小时、72小时测定结果，回收率下降。因此取样后应置于-15℃冰箱内，并于24小时内完成测定。

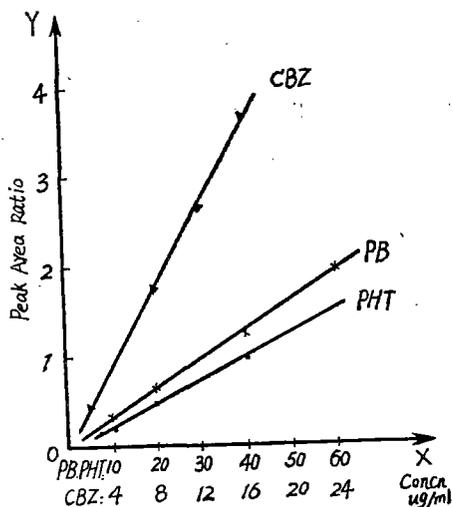


图1 线性关系回线

参考文献

1. 于宝成：国外药学（合成药、生化药、制剂分册）1988；5：296
2. 吴莱文等：中华医学检验杂志 1985；8：90
3. 卓海通等：南京军区药专业委员会第一次会议论文摘要汇编 P7
4. Adam RF. et al: clin chem 1976；22:25
5. Kabra PM. et al: clin chem 1977；23：1284
6. Tjaded UR et al: J chromatogr 1977；143：183

羟乙基淀粉及其注射液的分光光度测定法

总后卫生部药品仪器检验所 刘志邦

羟乙基淀粉属多糖类化合物，其注射液有增加并维持血液胶体渗透压、增加血浆容

量、维持血压等作用。临床上用于治疗出血性休克、创伤性休克及烧伤休克等。原料药