

合光谱的双组分定量分析软件进行褶合分析, 得各组分最佳测试条件, 褶合光谱图见图 2、3, 回收率和 RSD 见表 1。

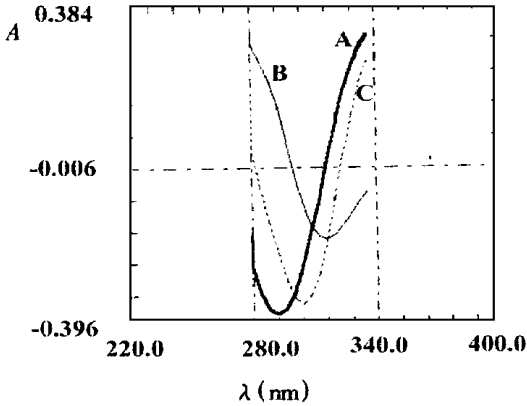


图 2 醋酸氯己定的最佳褶合光谱

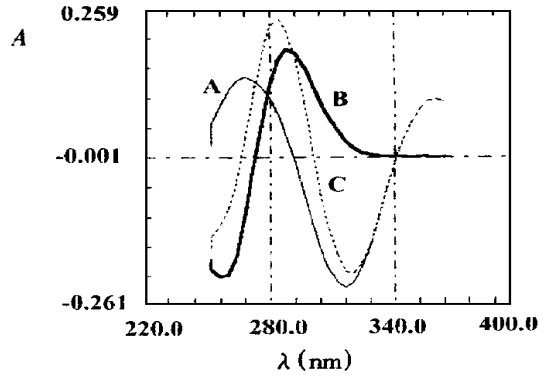


图 3 替硝唑的最佳褶合光谱  
5 样品测定

按处方配制 3 批样品, 各精密量取 5ml, 置 100ml 容量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 按回收率试验项下操作, 测定含量, 结果见表 2。

表 1 替硝唑、醋酸氯己定的回收率测定结果

样品	替硝唑			醋酸氯己定		
	加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)	加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)
1	0.9324	0.9341	100.18	0.9702	0.9642	99.38
2	0.9842	0.9911	100.70	1.0241	1.0288	100.46
3	1.0360	1.0232	98.76	1.0780	1.0825	100.42
4	1.0878	1.0654	99.77	1.1319	1.1242	99.32
5	1.1396	1.1432	100.31	1.1858	1.1864	100.05
$\bar{X}$			99.95			99.93
RSD (%)			0.74			0.55

表 2 样品含量测定结果 (标示量%)

批号	替硝唑	醋酸氯己安
970921	98.98	99.01
970928	99.42	99.74
971006	99.53	99.05

## 6 讨论

为获得最佳的测定结果, 在进行褶合光谱

分析时, 将测得的吸收曲线进行波长范围的截取和波长间隔的选择是非常重要的。本文经试验选取波长 220~ 400nm, 间隔 4nm, 结果满意。

本法所有数据均实行计算机自动化处理, 与紫外吸收光谱法比较, 操作简单, 灵敏快速。

(收稿: 1998-08-25)

## HPLC 法测定人血清中头孢拉定浓度

袁荣刚 王晓波 邢山闽 (解放军第 210 医院药剂科 大连 116021)

**摘要** 目的: 建立测定人血清中头孢拉定浓度的高效液相色谱法(HPLC)。方法: 血清经高氯酸处理后进样, 采用 Bio-Rad- C<sub>18</sub> 不锈钢柱, 以甲醇-醋酸盐缓冲液(25: 75, v/v) 为流动相, 茶碱为内标, 在波长 254nm 处测定。结果: 头孢拉定的线性范围为 5~ 100mg/L, 平均回收率为(100.3 ± 2.3)%, 日内、日间精密密度 RSD 均小于 3%。结论: 本法简便、可靠、适用于临床监测。

**关键词** 头孢拉定; 高效液相色谱; 血药浓度

头孢拉定系第一代头孢菌素类抗生素,对溶血性链球菌、草绿色链球菌、沙门氏菌和痢疾杆菌有较强的抗菌活性。它既可口服,又可注射,且用药后血中浓度高,有效血药浓度为 12~46mg/L<sup>[1]</sup>。其 95%~99% 以肾小球滤过的形式从尿中排出<sup>[2]</sup>。虽然毒性较小,但对肾功能不全者应调整剂量。头孢拉定的血药浓度测定,国内、外均有报道<sup>[3,5]</sup>。根据本实验室的条件,建立了用 HPLC 法测定人血清中头孢拉定浓度的方法,以适应临床监测的需要。

## 1 实验仪器和材料

### 1.1 实验仪器

美国 Bio-Rad500 型高效液相色谱仪; Bio-Rad500 系统控制器(USA), Bio-Rad 不锈钢微保护柱 ODS-5S(4.6mm×30mm), Bio-Rad-C<sub>18</sub> 不锈钢柱(4mm×150mm), 7125 型进样阀, Bio-Rad1706 紫外可变波长检测器(Japan), 长城 530046DVT 计算机, Js-3030 色谱工作站; SK-1 型液体快速混合器(江苏国华仪器厂生产); LD5-2A 型快速离心机(北京医用离心机厂制造)。

### 1.2 药品与试剂

注射用头孢拉定(海门制药厂生产,批号为 970910); 茶碱对照品(中国药品生物检定所提供); 甲醇(沈阳试剂厂生产,批号为 960101); 醋酸铵、冰醋酸、高氯酸均为分析纯; 水为去离

子水。

### 1.3 标准溶液配制

精密称取注射用头孢拉定 100.0mg, 置于 100ml 容量瓶中, 加水至刻度, 即为 1g/L 的贮备液, 于 4℃ 冰箱中保存。

### 1.4 内标液配制

精密称取茶碱 25.0mg, 置于 25ml 容量瓶中, 加水配成 1g/L 的贮备液, 稀释成 100mg/L 的工作液, 于 4℃ 冰箱中保存。

## 2 实验方法和结果

### 2.1 色谱条件

Bio-Rad-C<sub>18</sub> 不锈钢色谱柱: 4mm×150mm, 粒径 10μm; 流动相: 甲醇-醋酸铵缓冲液(25:75, v/v。取醋酸铵 77g, 加水 500ml 溶解后, 加冰醋酸 60ml, 再加适量水成 1000ml, 得 pH4.5 的醋酸铵缓冲液); 流速: 0.7ml/min; 紫外检测波长: 254nm; 灵敏度: 0.64AUFs; 柱温: 室温; 进样量: 20μl。

### 2.2 样品的处理

取血清 1.0ml, 加 15% 高氯酸 0.4ml, 涡旋混合 1min, 以 3000r/min 离心 10min, 取上清液 20μl 进样。

### 2.3 色谱图形

色谱图形见图 1。头孢拉定与内标茶碱的保留时间分别为 8.2min 和 5.8min, 血样经处理后无杂质干扰。

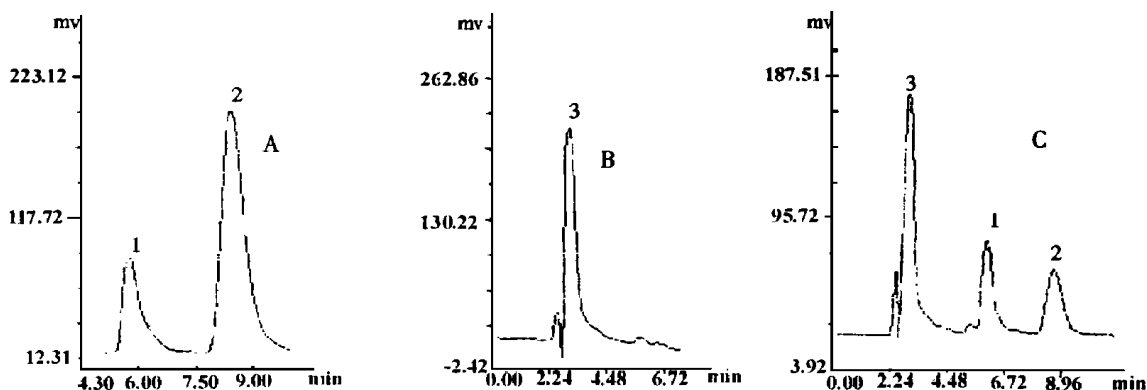


图 1 头孢拉定及内标茶碱的色谱图

A- 样品; B- 空白血清; C- 血清样品; 1- 茶碱峰; 2- 头孢拉定峰; 3- 血清杂质峰

### 2.4 标准曲线制备

分别取头孢拉定贮备液 5、10、20、40、60、

80、100μl, 各加内标工作液 8μl, 分别加健康人血清至 1ml, 使血药浓度分别为 5、10、20、40、

60、80、100 $\mu\text{g/ml}$ ，同“样品处理”项下操作，所得数据经回归计算，得标准曲线方程。血药浓度( $c$ )与峰面积比( $A$ )的关系为：

$$A = 0.004522 + 0.01065c (\mu\text{g/ml})$$

$$r = 0.9995$$

### 2.5 回收率试验

测定配制的已知头孢拉定浓度的标准血样，测定浓度与实际浓度之比为方法回收率。在 15、50、90 $\mu\text{g/ml}$  3 个不同浓度水平上测得头孢拉定的回收率见表 1。

### 2.6 精密度试验

测定已知头孢拉定浓度的血样多份，计算所测浓度的  $RSD$ ，结果见表 2。

表 1 头孢拉定回收率测定结果

实际浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	测定浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	回收率(%)
15.0	15.02	100.16
15.0	14.89	99.27
15.0	15.03	100.20
50.0	49.67	99.33
50.0	51.23	102.46
50.0	48.85	97.70
90.0	92.34	102.60
90.0	90.34	100.38
90.0	90.81	100.90

平均回收率为：(100.3 $\pm$ 2.3)%

### 2.7 干扰试验

取临床常用药品(均为本品合用药)进行干扰试验，结果未见干扰，见表 3。

表 2 头孢拉定精密度测定结果

浓度( $\mu\text{g/ml}$ )	标准差(%)	
	日内	日间
15.0	1.9	2.1
50.0	1.4	1.8
90.0	1.2	1.3

表 3 头孢拉定与合用药物( $\mu\text{g/ml}$ ) 干扰试验

药物	浓度	药物	浓度
利多卡因	4	氨苄青霉素	5
地高辛	0.0015	SMZ	0.8
安定	0.5	维拉帕米	0.25
庆大霉素	8	硝苯地平	0.05
丁胺卡那	20	尼莫地平	0.04
头孢氨苄	15	乙胺碘呋酮	2.0

## 3 讨论

### 3.1 本法的优点

用反相高效液相色谱法测定头孢拉定在血清中的浓度，回收率高，重现性好，最小检测限为 0.5 $\text{mg/L}$ ，样品预处理简便，血清成分对头孢拉定不干扰，方法简便可靠，适用于临床监测。

### 3.2 内标的选择

张文柏，李红<sup>[5]</sup>曾用水杨酸作内标，其稳定性差，其水溶液放置后易产生干扰，结合本实验室条件，经对安定、硝苯地平、苯巴比妥、非那西丁、麝香草酚、茶碱、头孢唑啉等内标物的选择，考虑保留时间、分离度与内标物的纯度，选择了茶碱作为内标物。

### 3.3 流动相的选择

选择流动相是分离度好坏的关键。使用高效柱的 ODS 柱，流动相用 60% 的甲醇，虽柱效高，但头孢拉定水溶液及内标茶碱的保留时间较早，不能与血清中杂质有效分离，影响测定。按参考文献<sup>[5]</sup>，在甲醇中加入醋酸盐缓冲液，并改变甲醇的比例，结果大大提高了分离效果，能使各组分有效分离，不产生干扰。

### 3.4 沉淀剂的用量

本实验参考文献<sup>[4]</sup>，采用 15% 高氯酸与血清 1:4 的关系除蛋白，较文献<sup>[2]</sup>报道的 1:8 的关系除蛋白，蛋白沉淀更加完全，无杂质峰干扰从而对保护柱子有利。

#### 参考文献

- 戴自英. 临床抗菌药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 156
- 陈新谦, 金有豫. 新编药理学. 第十二版. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 86~ 87
- 张荣富. 分析头孢菌素类的高效液相色谱法. 国外药学(抗生素分册), 1986, 7(1): 81
- 陈刚. 治疗药物监测理论与实践. 北京: 人民军医出版社, 1988. 132
- 张文柏, 李红. HPLC 法测定先锋 6 号血药浓度. 药物分析杂志, 1992, 12(5): 303

(收稿: 1998- 09- 24)