

们各有不足之处,有些需要大量的样品,有些用正相层析法。

本文介绍反相高效液相层析法来分析血浆中的胃复安。此法具有必要的灵敏度、操作简单重复性好,是适于常规使用的一个方法。

#### 材料和方法

用甲醇来配制0.1mg/ml的盐酸甲氧氯普胺液和0.1mg/ml的硫酸奎尼丁为内标液,再用水分别将它们的浓度稀释成0.5 $\mu$ g/ml和10 $\mu$ g/ml。把待测的胃复安加入血浆内配制成5 ng/ml到1  $\mu$ g/ml的标准溶液。

#### 一、提取过程

在1 ml的血浆标准液中加入含1  $\mu$ g 硫酸奎尼丁内标液。样品用1 M NaOH 0.1ml,再用含有10%乙腈(V/V)的氯丁醇5 ml缓冲。混合后充分振摇1分钟,并以2,500转/分离心5分钟,然后把有机相移入锥形试管中与0.1M HCl 0.1ml混合1分钟,再以2,500转/分离心5分钟,去除有机相,取20 $\mu$ l的酸化水相注入层析柱。

#### 二、高效液相层析

检测设备由Constametric III 高压溶剂传递系统组成,配有7010 Rheodyne型阀连接自动进样器,备有Sphersorb CN柱(250 $\times$ 4.55mm i.d, 颗粒大小为5  $\mu$ m),使用可变波长检测器,在275nm测定吸光度,满幅吸光度(AUFS) 0.005,流动相是0.02M磷酸二氢钾, pH为3.0,乙腈(60:40),流速2 ml/min,甲氧氯普胺和奎尼丁保留时间分别为4.6和5.8分钟。

#### 结 果

通过血浆中加入已知量的奎尼丁和甲氧氯普胺由它们的峰高比对甲氧氯普胺的浓度绘制成5 ng/ml到1  $\mu$ g/ml血浓度范围的标准曲线,检测限度为3 ng/ml。

#### 一、回收率

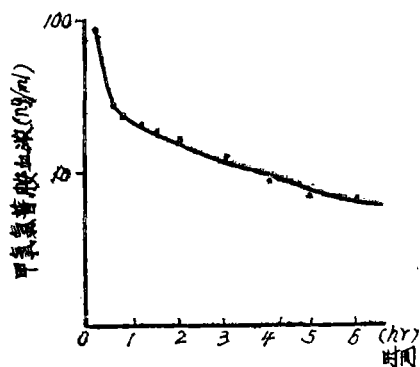
用直接注入甲氧氯普胺或内标后产生的峰值同相同浓度甲氧氯普胺或内标加入血液中提取出的峰值比较来计算回收率。甲氧氯普胺回收率是92%,奎尼丁为85%。

#### 二、日内、日间分析数据的变异性

在浓度分别为5.50和500mg/ml的标准血清中,测定日内分析数据变异性分别是6.5, 4.8和6.0%。日间变异性用变异系数表示。在5 ng/ml为12.9% (N=7), 500ng/ml为3% (N=7)

#### 三、药代动力学研究

对健康志愿者静脉注入甲氧氯普胺5mg后测得6小时的药时曲线如附图,血浆测得浓度结果同其它研究者相同。



健康男性受试者静脉注射甲氧氯普胺5 mg后的6小时血药半对数曲线图

[TDM《治疗药物监测》, 12: 293~296, 1990 (英文)]

## 反相高效液相色谱法测定人血中卡马西平浓度

白求恩国际和平医院药械科

肖大伟 房桂珍 吴俊平

卡马西平(CBZ)为临床常用抗癫痫药物,其有效血药浓度范围2~8  $\mu$ g/ML<sup>(1)</sup>

治疗指数范围窄,个体差异大,易发生毒性反应。为既保持血中浓度,又减少毒副反应,

测定卡马西平的血药浓度已成为临床合理使用该药的重要依据。用非那西汀为内标,在280nm检测CBZ,灵敏度高,重现性好,线性范围2~12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,最低检测限0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

### 一、仪器与试剂

岛津LC-4 A高效液相色谱仪, SPD-2 AS紫外检测器, SU~1 A 进样阀, CR2A-X微处理器。

卡马西平、非那西汀(石家庄第一制药厂)。

其余试剂均为分析纯、优级纯。

### 二、色谱条件

25CM $\times$ 4.6ID不锈钢柱,内填YWG-G810 $\mu$ , 5CM $\times$ 4.6ID, O、D、S予柱,柱压140P,柱温30 $^{\circ}\text{C}$ 流速1.30ml/min, 0.16AUFS(检测器衰减8),纸速3.0mm/min, UV-280nm检测波长。进样量10 $\mu\text{l}$ 。

流动相: CHCN: CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O (20:30:50) V/V。内含0.01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH7.6。

### 三、实验方法

采用上述色谱条件CBZ与非那西汀完全分离、非那西汀Rt3.4min, CBZRt5.6min。

1. 供试液制备,内标非那西汀与CBZ对照品经105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥,精密称定,甲醇定容于100ML容量瓶中(1mg/ml)备用。

2. 标准样品制备,取正常人血清100 $\mu\text{l}$ ,分别加入不等量的卡马西平,再加入蛋白沉淀剂(HClO<sub>4</sub>: CH<sub>3</sub>CN 50/50 V/V内含10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 内标物)。使总量为200 $\mu\text{l}$ ,即2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 $\mu\text{g}/\text{ML}$ 标准系列。涡流混合15sec,离心3min(8000 rpm),取上清液置另一试管中,-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置30min,离心(12000rpm),取上清液10 $\mu\text{l}$ 进样,连续三次,以内标面积与CBZ面积之比,对内标重量与CBZ重量比求得回归方程。精密密度试验见表2。回收

率试验系采用3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 9.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的不同浓度CBZ液,操作同标准样品制备步骤。结果见表3。

表1 标准曲线

AI <sub>s</sub> /A <sub>s</sub>	1.079	0.530	0.344	0.241	0.174	0.160
WI <sub>s</sub> /W <sub>s</sub>	5	2.5	1.667	1.25	1	0.83

$$\text{回归方程: } \text{AI}_s/\text{A}_s = 4.4851 \frac{\text{WI}_s}{\text{W}_s} + 0.1589$$

$$r = 0.9997$$

AI<sub>s</sub> A<sub>s</sub>分别为内标, CBZ的峰面积。

WI<sub>s</sub> W<sub>s</sub>分别为内标, CBZ的样品重量。

表2 精密密度试验

ng	日 间 (n=6)			日 内 (n=9)		
	$\bar{X}$	SD	CV%	$\bar{X}$	SD	CV%
20	19.78	0.34	1.72	20.14	0.30	0.99
40	39.81	1.67	4.19	39.12	1.39	3.55
60	59.94	2.42	4.04	59.30	2.83	4.77
80	79.94	3.38	4.26	78.92	5.46	6.91
100	99.23	3.16	3.80	96.96	3.24	3.34
120	117.42	4.72	4.02	119.32	4.98	4.17

表3 回收率试验

ng	测 得 量 (ng)	回 收 率 (%)
30	28.94	96.47
50	49.63	99.26
90	93.55	103.94

3. 病人血清中CBZ浓度测定,采病人血0.2ml,离心分离血清,后面操作同标准样品制备步骤。

4. 干扰试验:根据病人服药情况作了维生素B<sub>1</sub>、B<sub>6</sub>、C、安定、r-氨酪酸、苯妥英钠干扰试验,上述药物对CBZ检测无干扰。

### 讨 论

1. 卡马西平的主要体内代谢物10, 11-环氧CBZ<sup>(2)</sup>,在体内有一定的活性,因未找到标准品故未对其进行测定。

2. 本法测定CBZ线性范围2~12 $\mu\text{g}$

/ML, 最小检测灵敏度 $0.1\mu\text{g/ml}$ , 6分钟可检测一个血样, 具有检测灵敏度高, 快速之优点。

3. 本法取样量仅需 $0.2\text{ML}$ 、血浆经蛋白沉淀后可直接进样, 可成为常规检测CBZ血浓度的手段。

## 参 考 文 献

- (1) 陈新谦等: 新编药理学, 第12版 第262页
- (2) Frigerio A; Advance in Neurology, 11, 295-308, ElSeviter, New York Press, 1975
- (3) George Gotelii et al; Clin Chem 23 (6): 959, 1977

## 安体舒通及其代谢物对血清地高辛含量测定的影响

周 静译 张紫洞校

其它循环类固醇是否干扰诊断用免疫分析药盒对地高辛的测定进行了许多研究。说明书叙述了交叉反应率, 分析家都曾经认为其它类固醇的存在并不干扰分析。

我们实验室在测定服用安体舒通的病人血样地高辛水平时发现, 该药使未服地高辛的病人地高辛水平达 $0.4\text{ng/ml}$ , 然后进行了安体舒通对地高辛测定的影响。不过, 这些测定均为体内研究, 本文讨论了安体舒通体内及体外对地高辛测定的影响以及对烯甾丙内酯(Carbone)体外的影响。

材料和方法: 用Gamma Coat<sup>125</sup>I药盒的放射免疫分析法和 Abbott TDX 药盒的荧光极化免疫分析法进行测定。由有经验的分析家按厂家说明书进行测定, 每种方法均用厂家的质量对照血清及其它方法的对照血清进行测试。质量对照血清含有低于治疗、治疗和毒性量的地高辛浓度, 两种药盒与质量对照血清对比结果与所阐述的数值相差 $< 5\%$ 。

所用药盒有关安体舒通的干扰规定如下: Gamma Coat 盒: 交叉反应性的百分率为 $0.016$ 。Abbott TDX 盒: 如添加 $10\text{g/ml}$ , 平均交叉反应率为 $0.025\%$ 。

体内研究: 三个健康男性口服一片剂量

为 $25\text{mg}$ 的安体舒通。服药后分别在2、6和24h抽血取样, 并用上述两种药盒测定血清中地高辛水平。一周以后, 上述志愿者口服剂量为 $0.25\text{mg}$ 地高辛一片, 服药后分别在2和6h抽取血样, 依上述方法测定。一周后再使这些志愿者同时服一片安体舒通和一片地高辛。服后2、6和24h抽取血样, 依上述方法测定。

体外研究: 自血库取空白血清, 预先测定了地高辛含量为零, 并依下法加入安体舒通和烯甾丙内酯。将一片纯安体舒通( $18.4\text{mg}$ )粉碎, 用氯仿稀释成 $100\text{ml}$ 。再取此液 $1\text{ml}$ 用氯仿稀释至 $100\text{ml}$ , 结果使溶液含 $18.4\mu\text{g/ml}$ 。用此液与 $10\text{ml}$ 空白血清混合。再用两种免疫分析药盒测地高辛的浓度。

将一份含 $200\text{mg}$ 烯甾丙酸钾溶于 $2\text{ml}$ 水中, 取此液与 $10\text{ml}$ 空白血清混合, 用上述两种免疫分析药盒测地高辛的浓度。

实验结果: 所得结果参见表1(体内)及表2(体外)。

讨论: 体内研究清楚表明安体舒通的存在影响血清地高辛的测定。

体外研究采用各种不同量的的安体舒通和烯甾丙内酯, 因为实验目的并非比较两者, 而是观察它们对地高辛含量测定的影响。实