

献<sup>[13~15]</sup>采用氯化镍为内标,本文选用尿苷为内标,具有试剂来源方便,质量稳定,峰形好的优点。

(二)卡铂水溶液的稳定性 文献<sup>[6]</sup>报道水分的存在是影响卡铂稳定性的主要因素,光线亦有一定的影响;卡铂水溶液有见光分解的特性,卡铂水溶液在光的作用下发生水解反应,生成有害的水解产物<sup>[16]</sup>。因此在进行注射用卡铂含量分析时,卡铂对照品溶液与供试品溶液应临时配制,且应避免光保存并免受高热,在每次分析前应同时测定校正因子。

(三)注射用卡铂的稳定性试验 注射用卡铂在室温( $< 40^{\circ}\text{C}$ )和冷藏( $4^{\circ}\text{C} \sim 10^{\circ}\text{C}$ )且避光条件下存放两年,经分析其含量均未发生明显改变,表明注射用卡铂在上述条件下存放,其质量是稳定的。

#### 参考文献

[1] Galvert AH, Harland SJ, Newell DR, et al. Early clinical studies with cis - diammine - 1, 1 - cyclooctane dicarboxylate platinum II. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1980; 9: 140

[2] Trump DL, Grem TL, Tutsch KD, et al. Platinum analogue combination chemotherapy: cisplatin and carboplatin a phase I trial with pharmacokinetic assessment of the effect of cisplatin administration on carboplatin excretion. *J Clin - ical Oncology*, 1987; 5: 1281

[3] Graft AW and Pearson ADJ. Three decades of chemotherapy for

childhood cancer: form cure at any cost to cure at least cost. *Cancer Survveys*. 1989; 3: 605

[4] Riccardi R, Riccardi AD, Roccit, et al. Carboplatin fluid pharmacokinetics of carboplatin in children with brain tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1992; 30: 21

[5] 王皓, 蒋雪清, 杨悦武, 等. 白蛋白微球中卡铂的络合分光光度法测定. *药物分析杂志*, 1995; 15(1): 41

[6] 宋深敏. 二阶导数光谱法预测注射用卡铂稳定性及影响因素. *中国医药工业杂志*, 1991; 22(12): 53

[7] 陈东玲, 姜丰, 朱金娜. 碳铂颈动脉给药的临床前药理. *中华神经外科杂志*, 1993; 9(5): 281

[8] 涂乾坤, 孟玉春, 杨晓东, 等. 卡铂用于腹腔化疗的药代动力学测定. *中华妇产科杂志*, 1995; 30(4): 212

[9] 彭彬, 赵兰香, 姜文奇, 等. 卡铂的 I 期临床药理学研究. *癌症*, 1990; 9(6): 452

[10] Harland SJ, Nevell OR, Siddik ZH, et al. Pharmacokinetics of cisplatin - 1, 1 - cyclobutane dicarboxylate platinum( II ) in patients with normal and impaired renal function. *Cancer Research*. 1984; 44: 1693

[11] Gaver RC, Deeb G. High - performance liquid chromatographic procedures for the analysis of carboplatin in human plasma and urine. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1986; 16: 201

[12] 高振宏, 罗岱宁. 高效液相色谱法测定卡铂及其制剂的含量. *药物分析杂志*, 1991; 11(2): 98

[13] 王龙贵, 刘晓梅, 李润沼, 等. 细胞内微量铂络合物的测定. *中国药理学杂志*, 1993; 28(8): 487

[14] 张可文, 周际昌, 籍秀娟. 碳铂的临床药理学. *中华肿瘤杂志*, 1991; 13(2): 120

[15] 王娟, 陈峻青. 卡铂腹腔化疗的药代动力学实验研究. *中华肿瘤杂志*, 1994; 16(3): 196

[16] 刘伟平, 厥振寰, 杨一昆, 等. 卡铂水溶液的光分解产物. *药学报*, 1996; 31(1): 72

## 反相高效液相色谱法 测定对乙酰氨基酚血药浓度

陈 坚 方维军 张灯玲 丁宗政 陈 睿  
(上海松江中心医院 上海 201600)

**摘要** 建立了反相高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚血浆中浓度的方法。方法使用 YWGC18 柱(4.6  $\times$  250mm, 10 $\mu\text{m}$ ); 流动相为甲醇: 醋酸 - 醋酸钠: 二乙胺(20: 80: 0.5); 以茶碱为内标物; 血清处理用甲醇沉淀蛋白; 紫外检测波长 244nm; 流动相流速 1.5ml/min; 最低检出浓度 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。对乙酰氨基酚血药浓度在 0.25 ~ 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内线性关系良好( $r = 0.9999$ )。本方法适用于对乙酰氨基酚的血药浓度测定。

**关键词** 对乙酰氨基酚;反相高效液相色谱法;血药浓度

## Determination of paracetamol in human serum by HPLC

Chen Jian, Fang Weijun, Zhang Dengling, Ding Zongzheng, Chen Rui

(Shanghai Songjiang Center Hospital, Shanghai 201600)

**ABSTRACT** An assay for paracetamol in human serum was developed using reverse phase high - performance liquid chromatographic with UV detection at 244nm. Analytical column of YWG C<sub>18</sub> is used. The mobile phase consisted of a mixture of methanol:acetic acid - sodium acetate buffer solution:diethylamine (20:80:0.5) at the flow rate of 1.5ml/min. Theophylline is used as internal standard. Methanol is used for the sedimentation of protein. And minimum detective concentration 0.05μg/ml. The standard curve is linear in the rang of 0.25 ~ 25μg/ml, the correlation coefficient is 0.9999. The method is suitable for the determination of human serum paracetamol and pharmacokinetic reserches.

**KEY WORDS** paracetamol, HPLC, plasma concentration

对乙酰氨基酚是当前应用广泛的解热镇痛药之一。本实验所建立的反相高效液相色谱内标法测定体内对乙酰氨基酚血药浓度的分析方法,血清样品用甲醇直接沉淀,方法简便、迅速,流动相价廉易得,内标物系一般化学物茶碱,检测灵敏度高,适用于临床监测及药动学研究。

### 一、仪器与方法

#### (一)仪器、试剂与药品

1. 仪器: KONTRON322 型高效液相色谱仪, KONTRON332 型可变紫外检测器, KONTROND450 数据处理系统, TGL - 16G 台式高速离心机(上海医用分析仪器厂), H-92 微型混合器(西巴斯生物技术开发公司)。

2. 药品 对乙酰氨基酚(由中美上海施贵宝制药有限公司提供,符合美国药典标准),茶碱(中国三联医药技术服务部)。

3. 试剂 甲醇(色谱纯);醋酸、醋酸钠、二乙胺均为国产分析纯试剂;重蒸馏水。

(二)色谱条件 色谱柱: YWGC<sub>18</sub>(4.6 × 250mm 10μm); 检测波长 244nm; 流动相: 甲醇:醋酸 - 醋酸钠:二乙胺(20:80:0.5); 流速: 1.5ml/min; 进样量 20μl; 灵敏度: 0.02AUFS

#### (三)血清样品处理及血药标准曲线的制

备

1. 血清样品的处理 精密取血清 0.2ml 置 1.5ml 聚氟乙烯塑料离心管内,加入甲醇溶液 0.4ml(内含内标物茶碱 25μg/ml),在漩涡混和器上漩涡 30s, 14000r/min, 离心 15min,用微量进样器吸取上清液 20μl 进样。空白血清图谱见图 1,标准血清图谱见图 2。

最低检出浓度 0.05μg/ml。对乙酰氨基酚的保留时间为 4.38min,内标物茶碱的保留时间为 6.70min。

2. 标准曲线制备 配制含对乙酰氨基酚标准浓度为 0.78, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25μg/ml 的系列标准血清样品 6 份,精密取血清 0.2ml,按血清样品处理项下处理,以血清标准管的浓度为 X,样品峰面积与内标峰面积之比为 Y,进行线性回归,作标准曲线。在 0.78 ~ 25μg/ml 范围内,得回归方程为:

$$Y = 0.2900 + 6.3534X \quad r = 0.9999$$

### 二、结果与讨论

#### (一)测定方法的考察

1. 线性关系 按标准曲线制备方法在 1wk 内连续制作 5 条标准曲线,相关系数(r)均大于 0.9995,斜率变异均值(RSD)为 2.67%(见表 1)

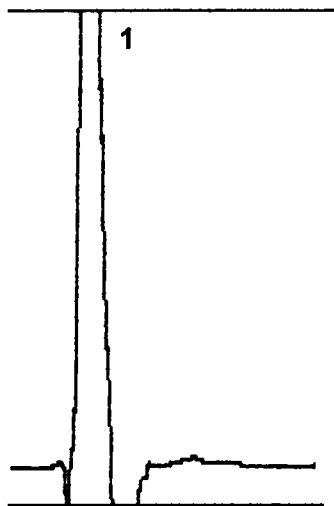


图1 空白血清图谱

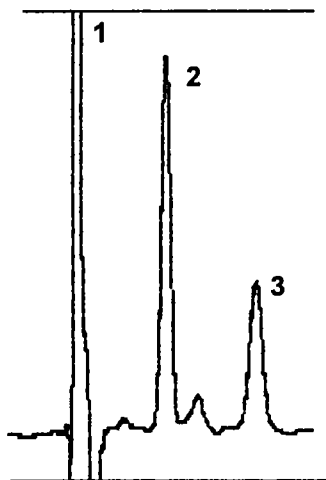


图2 标准血清图谱

1. 血浆峰 2. 对乙酰氨基酚 4. 茶碱

表1 标准曲线的线性关系

标准曲线	r	斜率	截距
1	0.9999	6.3534	0.2900
2	0.9997	6.7134	0.4744
3	0.9995	6.3254	-0.6382
4	0.9999	6.3639	0.0804
5	0.9999	6.2994	-0.6743

2. 精密度 日内精密度( $n=5$ ):对乙酰氨基酚血浆浓度为 1.56, 6.25, 25 $\mu\text{g/ml}$  时 RSD 值分别为 4.40%, 0.32%, 0.25%; 日间精密度( $n=5$ ): 以上述同样浓度测得 RSD 值分别为 3.61%, 1.95%, 0.88%。

3. 回收率 准确配制对乙酰氨基酚系列标准浓度 1.56, 6.25, 25 $\mu\text{g/ml}$ , 按血清样品处理项下操作, 然后进样分析测定浓度。测定浓度与实际浓度之比即为方法回收率, 结果见表 2。

表2 对乙酰氨基酚的血清回收率( $n=5$ )

加入浓度 (ng/ml)	测得浓度(ng/ml) ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )	回收率(%) ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )	RSD(%)
1.56	1.55 $\pm$ 0.06	99.36 $\pm$ 3.59	3.61
6.25	6.20 $\pm$ 0.14	99.10 $\pm$ 1.93	1.95
25	24.90 $\pm$ 0.22	99.58 $\pm$ 0.88	0.88

4. 专一性 考虑到临床监测及药动学研究的干扰情况, 选择了几种可能合用的药物进样, 结果保留时间(min)分别为咖啡因 12.11, 麻黄碱 7.73, 普鲁卡因 5.11, 安定 13.71, 胃复安 2.75, 而对乙酰氨基酚的保留时间为 4.38, 内标物茶碱的保留时间为 6.70, 可见以上药物均不干扰本实验, 空白血清杂质也不干扰本实验。

(二) 讨论 据有关文章报道血清样品处理用氯仿:异丙醇(4:1)提取<sup>[1]</sup>, 本实验采用了直接沉淀法, 简便、快速、回收率高。然而为了使蛋白沉淀完全必须注意离心时的转速及时间。

有报道用反相高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚的流动相为甲醇-水(40:60)<sup>[1]</sup>, 为了得到较好的峰型及良好的分离效果, 本实验对流动相的组分比例进行了探讨, 在流动相中加了扫尾剂二乙胺及醋酸-醋酸钠缓冲液, 然而二乙胺的碱性对色谱柱的损坏很大, 所以加入的量要适宜, pH 应控制在偏酸性, 保持中性以下。

在本色谱条件下, 对乙酰氨基酚的保留时间(min)为 4.38, 茶碱的保留时间为 6.70。故整个过程只需 8min 完成, 达到了简便、快速的目的。

#### 参考文献

[1] 彭文兴等. 对乙酰氨基酚凝胶在人体的药动学和生物利用度. 中国医院药学杂志, 1997; 17(2): 58