

• 药物分析 •

HPLC 法测定脑脊液中去甲万古霉素的浓度

徐俊¹, 王钦敏²(1. 无锡 101 医院药械科, 无锡 214044; 2. 山东新华制药股份有限公司医药部, 淄博 255005)

摘要: 目的: 建立 HPLC 法测定人脑脊液中去甲万古霉素浓度。方法: 采用 ODS-hypersil C18 柱, 甲醇 0.05mol/L-KH₂PO₄(16:84, pH=5.0) 为流动相, 检测波长 280nm, 以替硝唑为内标对去甲万古霉素进行定量测定。结果: 脑脊液中去甲万古霉素在 1~60mg/ml 范围内浓度与峰面积具良好线性 ($r=0.9993$), 平均回收率为 98.70% ± 2.65%, 日内及日间 RSD 分别为 1.73%~1.95% 和 3.62~6.78%。

关键词: 去甲万古霉素; 脑脊液; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2000)06-0379-02

Determination of norvancomycin in cerebrospinal fluid by HPLC

XU-Jun¹, WANG-Qinmin²(1. No. 101 Hospital of PLA, Wuxi, 214044; 2. Shandong Xinhua Pharmaceutical Co. LTD)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To establish a HPLC method for the determination of norvancomycin in cerebrospinal fluid. **METHODS:** With tinidazole as the internal standard, the content of norvancomycin was assayed on a ODS-hypersil C18 column with a mobile phase composed of methanol-phosphate buffer solution (16:84, pH=5.0). The detection wavelength was 280nm. **RESULTS:** Concentration compared with the peak area ratio, the linearity was obtained over the range of 1~60 μg. mL⁻¹ ($r=0.9993$). The average recovery was 98.70% ± 2.65% and the intra-day and the inter-day RSD were within 1.73%~1.95% and 3.62~6.78% respectively.

KEY WORDS: norvancomycin, cerebrospinal fluid, HPLC

去甲万古霉素是我国研制成功的多肽类抗生素, 与万古霉素结构相似, 作用相近, 临床上多用于治疗开放性脑外伤患者颅内感染, 特别是多重耐药葡萄球菌感染^[1]。为了保证达到治疗浓度并避免耳中毒和肾中毒, 需要进行血药浓度监测。去甲万古霉素不易透过正常脑脊髓膜至脑脊髓液中, 但对于血脑屏障不完整患者的脑脊液中药物浓度的研究, 未见报道。本文报道一种 HPLC 法, 快捷、灵敏准确, 适用于临床监测脑脊液药物浓度。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

去甲万古霉素化学对照品(中国药品生物制品检定所); 盐酸去甲万古霉素粉针剂(华北制药集团有限责任公司 991111); 替硝唑化学对照品(中国药品生物制品检定所); 甲醇、乙腈

为色谱纯, 磷酸二氢钾、三氯乙酸为分析纯; 所用水为二次重蒸馏水。

1.2 溶液的配制

精密称取去甲万古霉素适量, 配制成 400mg/L 的溶液为标准贮备液, 另精密称取替硝唑适量, 配制成 260mg/ml 的溶液为内标溶液。

1.3 仪器与色谱条件

仪器: 美国惠普 HP1100 型液相色谱仪。日本岛津 UV-2401(PC) S 型紫外分光光度仪。80-2 离心沉淀机(上海手术器械厂)。XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂)。

色谱条件: ODS-hypersil C18 (4.6 × 200mm, 5μm), 以甲醇-0.05mol/L KH₂PO₄(16:84, pH=5.0) 为流动相, 流速 1.5 ml/min, 检测波长 280nm, 灵敏度 0.001 A UFS, 进样量 20μl。

1.4 样品的处理

取脑脊液 0.4ml 加入 50 μ l 内标溶液和 0.2ml 10% 三氯乙酸, 旋涡混匀 2min, 离心 (3500r/min, 5min), 取上清液 20 μ l 直接进样; 同法制备空白脑脊液溶液。

1.5 标准曲线的制备

在 1.5ml 带塞塑料离心管中, 分别加入不同体积的去甲万古霉素贮备液, 再加入正常人脑脊液使成 0.4ml, 使脑脊液含去甲万古霉素浓度为 0.5、1、2、10、20、40、60mg/ml, 涡旋混匀

1min, 余照“样品处理”项下操作, 测定药物与内标物峰面积比, 以去甲万古霉素浓度为横坐标, 药物与内标物的峰面积比为纵坐标绘制标准曲线。

2 结果

2.1 色谱行为

在上述色谱条件下, 空白脑脊液对去甲万古霉素和内标物色谱峰无干扰, 去甲万古霉素和内标物分离良好, 结果见图 1。

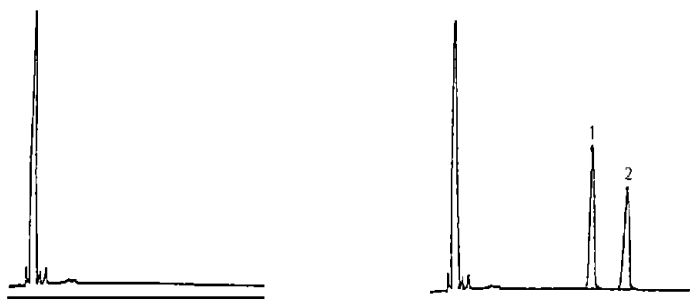


图 1 去甲万古霉素的 HPLC 色谱图

- a 空白脑脊液
1. 替硝唑内标
- b 脑脊液中的去甲万古霉素
2. 去甲万古霉素

2.2 线性关系

脑脊液中去甲万古霉素标准曲线经最小二乘法计算, 得线性回归方程为 $C = 64.7982X + 0.03617$ ($r = 0.9993$), $n = 8$ 线性范围 1~60mg/ml。

2.3 精密度试验

按脑脊液标准曲线的制备项下操作, 取浓度为 2、10、40 mg/ml 的去甲万古霉素脑脊液样品, 处理后置冰箱 4 $^{\circ}$ C 保存, 分别在 1 天内测定 6 次, 1 周内测定 6 次, 其日内、日间的 RSD 分别为 1.73%~1.95% 和 3.62%~6.78%。

2.4 回收率试验

取含去甲万古霉素 2、10、40 mg/ml 的脑脊液样品, 将所得药物与内标物峰面积比代入回归方程, 求算其浓度, 并计算回收率, 结果为 98.70% \pm 2.65%。

3 讨论

3.1 去甲万古霉素是对多重耐药葡萄球菌有效的多肽类抗生素, 但存在着耳中毒和肾中毒

等毒副作用, 需要进行血药浓度监测^[2]。对于开放性脑外伤的患者, 血脑屏障受损, 药物能够进入脑脊液, 对于去甲万古霉素鞘内给药的安全性和有效性, 目前尚无定论, 因此有必要对开放性脑外伤患者的脑脊液药物浓度进行监测。

3.2 弱酸、弱碱类药物, 其紫外吸收往往随着溶液 pH 的改变而变化, 去甲万古霉素在 pH 值为 3~5 范围时比较稳定, 因此选择流动相缓冲液的 pH 值为 5。为了增加样品检测的灵敏度, 选择去甲万古霉素最大紫外吸收波长 280nm 作为检测波长, 在该波长附近, 脑脊液样品的紫外吸收较小, 对测定干扰小。

3.3 该方法的线性范围包括了去甲万古霉素临床治疗的常用有效浓度, 简便、灵敏、准确, 适用于临床脑脊液中去甲万古霉素的浓度测定。

参考文献:

- [1] Cunha BA. Vancomycin [J]. Med Clin North Am, 1995, 79(4): 817.
- [2] 吴莱文. 治疗药物监测 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 410.