

毛细管气相色谱法测定人体血清中槐定碱浓度

谭炳炎 郑文晖 汤丽芬 李章旺 赵香兰 冯霞

(中山大学中心实验室 广州 510089)

(中山大学临床药理教研室 广州 510089)

提要 采用毛细管色谱柱,槐胺碱作内标,以气相色谱法建立了一种测定人体血清中槐定碱浓度的方法。最低检出浓度为0.05mg/L,绝对回收率大于91.7%,日内和日间变异系数小于8.9%。建立的方法已应用在肿瘤病人滴注槐定碱药物的药代动力学研究中。

关键词 毛细管气相色谱法,槐定碱,人血清

1 前言

槐定碱具有抗癌^[1]、抗菌和兴奋中枢神经系统^[2]的作用,对动物体内槐定碱的研究已有报道^[3,4]。为了研究该药物在人体中的药代动力学,本实验采用毛细管气相色谱法,以槐胺碱为内标物,建立了一种测定该药物在人体血清中浓度的方法。

2 仪器和试剂

仪器:GC-9A气相色谱仪,氢火焰离子化检测器,C-R3A积分仪。试剂:所有试剂均为分析纯级,其中三氯甲烷必须重蒸。

3 方法

3.1 色谱条件

弹性石英毛细管色谱柱,25m×0.22mm,内涂OV-101固定液。载气为高纯氮气,流速35mL/min,分流比31:1。氢气压力4.9kPa,空气压力3.9kPa。汽化室温度290℃,检测器温度290℃,柱温260℃。在上述条件下,槐定碱保留时间为3.6min,槐胺碱(内标)保留时间为4.7min。

3.2 血样处理

精确吸取1mL血清于10mL离心管中,加入0.6g/L槐胺碱10μL,振荡混匀。再加入1mL三氯醋酸沉淀蛋白,振荡1min,离心10min,取上清液置于另一15mL离心管中,加入20%氢氧化钠1mL,振荡30s。再加入7mL三氯甲烷,在旋涡混合器上振荡5min,离心10min。将上层水相用吸管吸弃,加入1g无水硫酸钠,在旋涡混合器上振荡1min,将三氯甲烷

吸出到另一离心管中,用1mL三氯甲烷洗无水硫酸钠,合并抽提液,放入80℃的真空干燥器中真空抽干。以10μL三氯甲烷溶解残渣,进样1μL分析。

4 结果与讨论

4.1 标准曲线绘制

取8份1mL空白血清,每份加入0.6g/L槐胺碱10μL,再以0.1,0.5,1.0,2.0,4.0,8.0,15.0,30.0mg/L的浓度加入槐定碱,按3.2项操作,然后上机分析。以样品峰面积与内标峰面积的比值为横坐标,以浓度(mg/L)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $Y = 8.25X + 0.28 (r = 0.999)$ 。

4.2 回收率实验

精确吸取含0.1,4.0,30μg的槐定碱溶液,直接上机分析,平衡操作5次。再吸取同样含量的溶液,分别加入到1.0mL空白血浆中,每个浓度配置5管,按3.2项处理后上机分析。用峰面积计算回收率,结果分别为92.3%±2.1%,91.7%±1.1%,96.5%±0.8%。用同样方法处理,得最低检出浓度为0.05mg/L($S/N > 3$)。

4.3 精密度实验

按标准曲线样品配制方法,分别配制0.1,4.0,30.0mg/L三个浓度组的血样,按3.2项处理,测定各浓度的日内和日间变异系数,结果见表1。

表1 精密度试验结果(n=5)
Table 1 Precision of the test(n=5)

浓度 Concentration (mg/L)	日内测定值 Data of within day X ± SD (mg/L)	CV (%)	日间测定值 Data of between day X ± SD (mg/L)	CV (%)
0.1	0.111±0.009	8.1	0.089±0.008	8.9
4.0	4.003±0.075	1.8	3.883±0.106	2.7
30.0	29.636±0.519	1.7	29.886±0.491	1.6

4.4 肿瘤病人滴注槐定碱后血液中药物浓度的测定

肿瘤病人滴注槐定碱后, 按下列时间点取血: 滴注前, 滴注停止, 5m in, 15m in, 30m in, 1h, 2h, 4h, 6h, 9h, 12h, 24h。血液样本在 2 500r/m in 下离心 10m in, 分离出血清, 在 - 25℃ 下保存至测定。9 例肿瘤病人滴注药物后的平均药-时曲线见图 1。

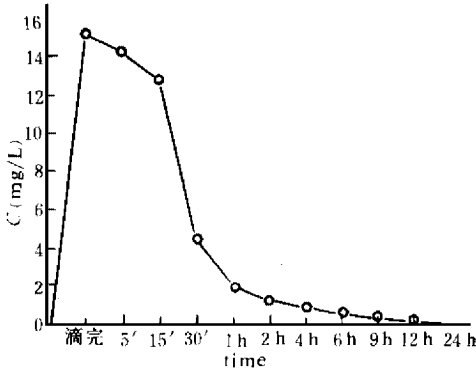


图 1 9 例肿瘤病人滴注槐定碱后的平均药-时曲线

Fig. 1 Mean concentration-time curve after infusions of intravenous sophoridine to 9 cancer patients

4.5 讨论

从图 2-a 可以看出, 在 3.6m in 和 4.7m in 处无杂峰干扰。从图 2-b 可见, 样品峰和内标峰分离良好。本实验使用毛细管柱进行分离测定, 具有分离效果好、峰形不拖尾、分析时间短等优点。在分析肿瘤病人血清中的药物浓度时, 未发现杂质峰对本实验造成影响, 见图 2-c。从实验结果看, 本方法的各项指

标均能符合临床药物分析对分析方法的要求。但在处理样品时, 所用的抽提溶剂必须重蒸纯化, 否则很容易造成干扰, 影响分析结果。

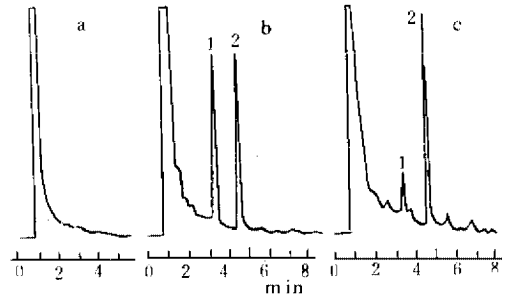


图 2 人体血清色谱图

Fig. 2 Chromatogram of human serum

- a. 空白血清, b. 空白血清加入标准和内标,
 - c. 服用药物后的病人血清。1. 槐定碱, 2. 内标。
- a. blank serum, b. serum with standard and internal standard, c. serum of cancer patients after infusions of intravenous sophoridine. 1. sophoridine, 2. internal standard.

参 考 文 献

- 1 李雪梅, 吴运光, 陈绍励等. 中国药理学报, 1987; 8(2): 153
- 2 仲仁田. 苦豆子的研究及其应用. 银川: 宁夏人民出版社, 1983: 6
- 3 刘晓东, 袁惠南, 黄圣凯. 南京药学院学报, 1986; 17(4): 309
- 4 刘晓东, 黄圣凯. 南京药学院学报, 1986; 17(3): 222

Determination of Sophoridine in Human Serum by Capillary Gas Chromatography

Tan Bingyan, Zheng Wenhui, Tang Lifen and Li Zhangwang

(The Central Laboratory, Sun-Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

Zhao Xianglan and Feng Xia

(Department of Clinical Pharmacology, Sun-Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

Abstract An effective capillary gas chromatographic method for determination of sophoridine in human serum was established. Sophoridine was used as internal standard. The minimum detectable limit of the method was 0.05 mg/L. The calibration curve was linear from 0.1 to 30mg/L for sophoridine in serum. Recoveries exceeded 91.7% in serum. The coefficients of variation of within day and between day assay were less than 8.9%. The present method has been applied to the sophoridine pharmacokinetics study of cancer patients.

Key words capillary gas chromatography, sophoridine, serum