

# 高效液相色谱法测定血清头孢唑肟浓度

艾又生,徐楚鸿,陈华庭

(华中科技大学同济医学院附属协和医院临床药学研究室,武汉 430022)

**[摘要]** 目的 建立高效液相色谱(HPLC)法测定血清头孢唑肟浓度。方法 色谱柱为  $\mu$ bondapar C<sub>18</sub> (7.8 mm × 300 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 甲醇-0.01 mol · L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾 (20 : 80), 内标为丙酮, 检测波长: 254 nm, 柱温: 室温, 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>。结果 头孢唑肟的血药浓度在 10 ~ 20  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> 范围内与峰面积比有良好的线性关系。血清中头孢唑肟在 24 h 内约降解 60.0%。结论 该方法简单, 快速, 准确, 为头孢唑肟的血清浓度监测提供了分析方法。

**[关键词]** 头孢唑肟; 血药浓度; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R978.11; R927.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2006)07-0632-02

## Determination of Serum Ceftizoxime Concentration by HPLC

AI You-sheng, XU Chu-hong, CHEN Hua-ting (Department of Pharmacy, Union Hospital Affiliated with Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

**ABSTRACT Objective** To set up high performing liquid chromatography (HPLC) method for determining the serum concentration of ceftizoxime. **Methods** The chromatographic column was a  $\mu$ bondapar C<sub>18</sub> (7.8 mm × 300 mm, 5  $\mu$ m), the mobile phase consisted of methanol-0.01 mol · L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate (20 : 80), the detecting wave-length was 254 nm, the flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, and the column was kept at the room temperature. **Results** The determination limit was 0.1  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup>. The linear relationship was fairly good with the amount of ceftizoxime within the range of 10 - 20  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> ( $r=0.9995$ ). The average rate of recovery was no more than 6.8%. **Conclusion** The HPLC method is simple, rapid, and accurate for determining the serum concentration of ceftizoxime.

**KEY WORDS** Ceftizoxime; Blood concentration ; HPLC

头孢唑肟作为第3代头孢菌素类抗生素,目前在临床上广泛应用,测定血清头孢唑肟的浓度,并根据实验结果调整临床用药方案很有必要<sup>[1~3]</sup>。为了配合其临床合理使用以及临床药理学等研究,笔者建立高效液相色谱(HPLC)法测定人血清头孢唑肟浓度,该方法简便、快速、准确,报道如下。

### 1 材料

**1.1 药品与试剂** 头孢唑肟对照品(中国药品生物制品检定所提供,含量:87.2%),丙酮(湖北大学化工厂,分析纯),甲醇、磷酸二氢钾等均为分析纯。

**1.2 仪器与色谱条件** Waters 高效液相色谱仪:510 泵, 486 紫外检测器; 色谱柱:  $\mu$ bondapard C<sub>18</sub> (7.8 mm × 300 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 甲醇-0.01 mol · L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾 (20 : 80), 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长: 254 nm, 进样量: 20  $\mu$ L, 内标: 含 2% 丙酮的甲醇溶液。

### 2 方法与结果

**2.1 头孢唑肟对照储备液的配制** 精密称取头孢唑肟对照品 60 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水溶解并定容至刻度, 配成 1 200  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> 的对照储备液, 将

该对照储备液稀释成一系列浓度的对照标准液。

**2.2 血样预处理** 取待测血清 500  $\mu$ L 加内标溶液 50  $\mu$ L, 甲醇 500  $\mu$ L, 旋涡震动 5 min, 3 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液用针头过滤后, 进样分析。

**2.3 系统适应性实验** 按上述样品处理方法, 取适量血清样品, 在“1.2 项”色谱条件下测定血清色谱图, 结果显示头孢唑肟和内标完全分离, 空白血清对测定无干扰见图 1。

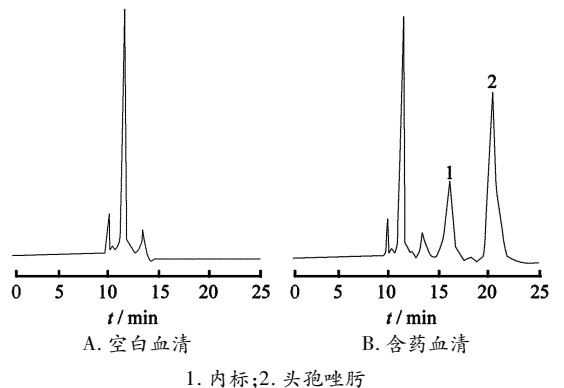


图1 空白血清和样品血清的 HPLC 色谱图

**2.4 线性关系考察** 取健康人空白血清 450  $\mu$ L, 分别加入头孢唑肟对照液 50  $\mu$ L, 使血清药物浓度为 10, 20, 40, 60, 120  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup>, 加甲醇 500  $\mu$ L, 内标 50  $\mu$ L, 按样品预处理方法处理, 取 20  $\mu$ L 清液进样分析, 以血清中头孢唑肟浓度 (C) 为横坐标, 以头孢唑肟与内标

**[收稿日期]** 2006-01-20

**[作者简介]** 艾又生(1967-),男,湖北红安人,主管药师,学士,主要从事医院药学工作。电话:027-85726449, E-mail: aysjd@hotmail.com。

的峰面积比(A)为纵坐标,进行线性回归,得血清标准曲线: $A = 0.0817C - 0.0621$  ( $r = 0.9995$ )。最小检测浓度为  $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,结果表明,血清头孢唑肟浓度在  $10 \sim 120 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  呈良好的线性关系。

**2.5 回收率实验** 取 3 种浓度的对照品标准液  $50 \mu\text{L}$ ,分别加入  $450 \mu\text{L}$  空白血清中,使其对应的血清药物浓度为  $10, 60, 120 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,操作同标准曲线制备,在同一天内分别测定 3 次,计算回收率,结果见表 1。

**表 1 头孢唑肟血清样品回收率结果**  $\bar{x} \pm s, n = 9$

头孢唑肟浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	测得浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	回收率/ %	RSD/ %
10	$10.08 \pm 0.03$	$102.8 \pm 6.8$	6.9
60	$58.02 \pm 0.29$	$96.0 \pm 5.4$	6.4
120	$117.50 \pm 0.28$	$98.0 \pm 3.4$	5.8

**2.6 血清药物的稳定性** 用浓度为  $10, 60, 120 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准液分别置于  $450 \mu\text{L}$  的空白血清中,操作方法同“2.4 项”,同一样品在 24 h 内不同时间测 4 次,观察血药浓度的变化,结果显示头孢唑肟血清药物浓度不稳定(表 2),说明头孢唑肟在血液中有降解作用。

### 3 讨论

影响头孢唑肟色谱分离的因素比较多,主要有流动相各成分的比例、柱温、流速,根据  $\mu\text{bondapakC}_{18}$  柱分离特点,有机溶剂的比例不能太大,柱温不宜高,否

**表 2 血清药物的稳定性实验结果**  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

头孢唑肟浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	0 h	4 h		8 h		24 h	
		含量	%	含量	%	含量	%
10	9.96	9.75	97.5	7.14	71.4	6.18	61.8
60	58.78	55.00	91.7	53.80	89.7	43.68	72.8
120	118.38	111.12	92.6	84.58	70.5	73.32	61.1

则样品中的蛋白质沉淀变性。笔者选择了室温和 20% 的有机溶剂比例,血清中内源性干扰物质在 16.8 min 内被洗脱,内标在 17.6 min 出现峰值,头孢唑肟约在 23 min 出现峰值,三峰完全分离,互不干扰。本法采用了丙酮以甲醇溶解作为内标,简便易得,保留时间适宜,分离较好。由于头孢菌素类药物在血清的稳定性差,在 24 h 内变异很大,低浓度药物在 24 h 后约降至 60%,所以血药浓度测定最好在 4 h 内完成。

#### [参考文献]

- [1] Servais H, Tulkens P M. Stability and compatibility of ceftazidime administered by continuous infusion to intensive care patients [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45 (9): 2643 - 2647.
- [2] 王晓燕, 刘红星, 王霞琴. 高效液相色谱法测定大鼠血中头孢他啶浓度的实验 [J]. *中国医院药学杂志*, 1997, 17 (8): 341 - 343.
- [3] 艾又生, 徐楚鸿, 陈华庭, 等. 高效液相色谱法测定血清中头孢他啶的浓度 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2004, 4(33): 512 - 514.

## 恶性淋巴瘤患者血清甲氨蝶呤的浓度监测

曹丽芝, 李坤艳, 曾东向

(湖南省肿瘤医院临床药理学室, 长沙 410006)

**[摘要]** 目的 建立反相高效液相色谱法监测恶性淋巴瘤患者血清中甲氨蝶呤(MTX)浓度,为临床合理用药提供依据。方法 色谱柱 HWG-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 200 mm, 5 μm), 柱温: 35 °C, 流动相为甲醇-磷酸盐缓冲液 (19 : 81, V/V), 检测波长: 306 nm, 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 血浆样品经高氯酸沉淀蛋白后进样 20 μL。结果 血清 MTX 浓度在 0.01 ~ 10.00 和 10.00 ~ 100.00 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性良好, 平均回收率为 92.00%, 日内及日间 RSD 均 < 6.00%。结论 该法简便、准确、灵敏, 适用于应用大剂量 MTX 患者血药浓度的监测。

**[关键词]** 甲氨蝶呤; 恶性淋巴瘤; 血药浓度; 高效液相色谱法, 反相

**[中图分类号]** R979.1; R969.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2006)07-0633-02

恶性淋巴瘤是一组高度异质性疾病,目前仍以化学药物治疗(化疗)为主要治疗手段,其最好的方案中均已包括大剂量甲氨蝶呤(MTX) 1 ~ 3 g · (m<sup>2</sup>)<sup>-1</sup> 静脉滴注<sup>[1]</sup>。MTX 的疗效、毒性均与剂量有关,且体内代谢有个体差异<sup>[2]</sup>,笔者采用反相高效

液相色谱(RP-HPLC)法进行恶性淋巴瘤患者体内 MTX 血药浓度监测,并改进检测方法,快速为临床提供用药依据。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 岛津 LC-10A 型高相液相色谱仪, CTO-10AVP 柱温箱, SPD-10AVP 二极管阵列检测器(日本岛津公司), HW-2000 色谱工作站。

**1.2 试剂** MTX 对照品(含量为 96%, 中国药品生物制品检定所提供)。甲醇为色谱纯(Tedia 公司), 高氯酸、磷酸二氢钠、

**[收稿日期]** 2005-10-08

**[作者简介]** 曹丽芝(1964 -), 女, 湖南长沙人, 主管药师, 学士, 主要从事临床药学工作。电话: 0731 - 8651632, E-mail: caolizhi\_88@126.com。