维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)06-0724-02

兔血浆中顺式阿曲库铵的 HPLC-荧光法测定

周定利[1],钟 玲[1],邱妍川[1],雷光洪[2],尚京川[1,3]

(1. 重庆医科大学药学院药物分析教研室,重庆 400016;2. 重庆青阳药业有限公司,重庆 400025;
3. 重庆医科大学医药研究所,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立以反相高效液相色谱 - 荧光法测定兔血浆中顺式阿曲库铵(Cisatracurium)浓度的方法。方法:色谱柱为 Agilent Hypersil ODS-C_{18} 柱(5μm,4.0mm×125mm),流动相为 50mmol/L 磷酸二氢钾缓冲液(pH3.0)- 乙腈(50:50),荧光检测的激发波长 200nm、发射波长 320nm。结果:顺式阿曲库铵检测浓度在 25~2 000ng/ml 线性关系良好,r=0.999 2。最低检测限为 25ng/ml,日内精密度 RSD≤2.56%,日间精密度 RSD≤3.68%;提取回收率为 85.2%~86.1%(n=5),加样回收率为 93.4%~98.8%。结论:本方法简便,灵敏度高,重现性好,可满足药代动力学研究的需要。

【关键词】顺式阿曲库铵;血药浓度;药代动力学;高效液相色谱
【中国图书分类法分类号】R927.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-13

Determination of cisatracurium in the plasma of rabbits by HPLC coupled with fluorescence detection

ZHOU Ding-li, et al

(*Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmaceutical Science, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To determinate the concentration of Cisatracurium in the plasma of an rabbit via a proposed HPLC method. *Methods*: A C18 column was used, the mobile phase was made up of 50mmol/L dipotassium hydrogen phosphate(pH=3.0) and acetonitrile(50:50), and examination and emission wavelengths are 200nm and 320nm, respectively. *Results*: the linear range was 25~2 000ng/ml, the limit of detection(LOD) is 25ng/ml, the intra- and inter-precisions(RSD) were lower than2.56% and 3.68%, respectively. Besides, the recovery of extraction was 85.2%~86.1%(n=5) and the recovery of addition was 93.4%~98.8%. *Conclusion*: The proposed method proved to be accurate and repetitive.

【Key words】 Cisatracurium; Plasma concentration; Pharmacokinetics; HPLC

顺式阿曲库铵是一种较新的中时效非去极化肌松药,它是阿曲库铵的同分异构体,具有与阿曲库铵相似肌松效应和代谢方式,但其效价约为阿曲库铵的 3 倍,并且不释放组胺、心血管反应小,无蓄积作用,适用于肝、肾功能障碍和心血管手术病人[1]。作者参考国外文献[2,3],建立了兔血浆中顺式阿曲库铵浓度的测定方法,该方法简单、灵敏、准确,适合顺式阿曲库铵血药浓度的检测和药动学研究。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

顺式阿曲库铵对照品(重庆青阳药业有限公司,纯度>99.5%),顺式阿曲库铵注射液(重庆青阳药业有限公司,批号:20061206);乙腈(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司);其余所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器

美国 Agilent 1100 高效液相色谱系统(配 G1321A 型荧光检测器,G1313A 型自动进样器及 G2070-60069 色谱管理软件,Agilent 公司);色谱柱:Agilent Hypersil BDS-C_{18} 柱(5μm,4.0mm×125mm);SK30 型低温离心机(SIGMA 公司);SK-1 型快速混匀器(上海沪西分析仪器厂);KQ-3200E 型超声仪(江苏医疗仪器厂);BS210S 电子分析天平(Sartorious 公司);LD-50G-D 型超纯水处理器(重庆利迪实验仪器设备有限公司)。

1.3 动物

雄性新西兰大白兔,2 月龄,2~2.5kg,由重庆医科大学动物实验中心提供。

1.4 色谱条件

色谱柱:Agilent Hypersil ODS-C_{18} 柱(5μm,4.0mm×

作者介绍:周定利(1975-),女,硕士,研究方向:药物分析。
通讯作者:尚京川,男,副教授,E-mail:sjc20@126.com。

维普资讯 http://www.cqvip.com

125mm);流动相:50mmol/L 磷酸二氢钾(pH3.0)- 乙晴(50:50);流速:0.5ml/min;柱温:30℃,荧光检测:激发波长 200nm,发射波长 320nm。

1.5 受试对象与实验设计

成年健康大白兔 6 只,实验前禁食 12h,采用静脉给药 0.1mg/kg,分别在给药前和给药后 2、4、6、8、10、15、30、60、90、120min 静脉采血 1ml,各置加有肝素的 EP 管内,以 6 000 r/min 转速离心 5min,分离血浆,加入 pH3.0 硫酸 40μl 酸化血浆,置 -20℃冰箱保存待测。

1.6 血浆样品的处理

精密量取兔血浆样品 0.5ml 于 1.5mlEP 管中,加入 pH 3.0 硫酸 40μl,乙腈 0.8ml,混匀 1min,12 000r/min 离心 15 min,取上清液 100μl 按"1.4"项下色谱条件分离,记录色谱图。

1.7 血浆样品测定方法学研究

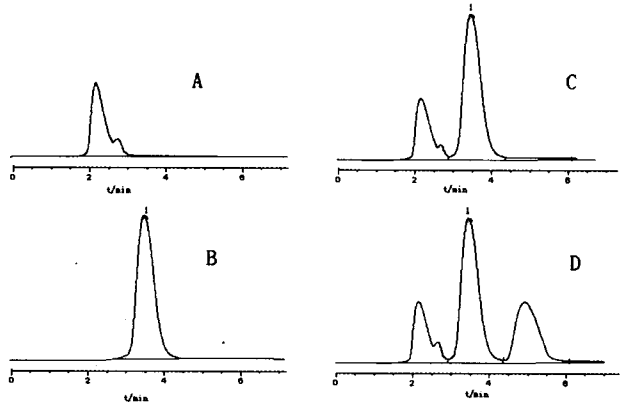
1.7.1 对照品溶液配制 精密称取顺式阿曲库铵对照品 5mg,以 pH3.0 的硫酸溶液溶解并定容至 5ml,得 1mg/ml 的对照品溶液,4℃避光保存。

1.7.2 专属性试验 取顺式阿曲库铵对照品溶液进样,按"1.4"项下方法进行色谱分离,得顺式阿曲库铵对照品色谱峰。另分别取空白血浆、空白血浆 + 顺式阿曲库铵对照品、顺式阿曲库铵血浆样品,按"1.6"项下方法操作,按"1.4"项下色谱条件进行色谱分离,记录色谱图。

1.7.3 标准曲线的绘制 取空白兔血浆 0.5ml,共 6 份,分别加入顺式阿曲库铵对照品溶液制得浓度为 25、50、100、500、1 000、2 000ng/ml 的标准血浆样品,按"1.6"项下方法操作,按"1.4"项下方法进行色谱分离,记录色谱峰,得峰面积为(A),以 A 对 C 回归,得回归方程。

1.7.4 回收率测定 取高、中、低 3 种浓度的顺式阿曲库铵血浆样品 5 份,按"1.6"项下方法操作,按"1.4"项下色谱条件进行色谱分离,记录色谱图。得峰面积为(A),将 A 代入标准曲线方程,测得浓度(C),计算顺式阿曲库铵血浆样本回收率。

1.7.5 精密度测定 按"1.7.3"方法配制顺式阿曲库铵高、中、低 3 种浓度的血浆样品,照"1.6"项下方法处理血浆样品及按"1.4"项下色谱条件进行色谱分离,记录色谱图峰(A),分别于 1d 内测定 5 次和 5d 内测定 5 次,计算日内和日间测得浓度(C),求出日内和日间 RSD。



A.空白血浆; B.对照品; C.空白血浆 + 对照品; D.样品;1.顺式阿曲库铵

图 1 顺式阿曲库铵专属性色谱图

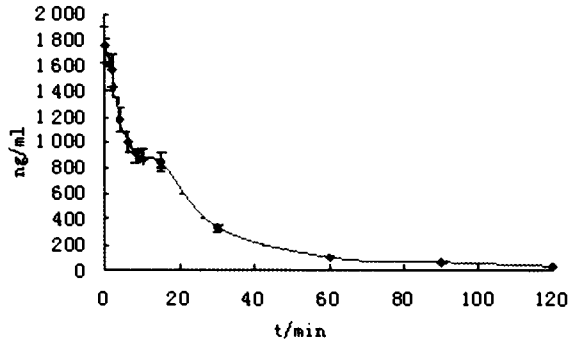


图 2 平均药时曲线(n=6)

1.7.6 血浆样品测定 取"1.5"项下储备的血浆样品,按"1.6"和"1.4"项下方法操作,得色谱峰面积(A),代入顺式阿曲库铵标准曲线,得血浆样品浓度。

1.7.7 稳定性试验 将兔血浆样品置 -20℃冰箱保存 14d、反复冻融 3 次及预处理后置 4℃冰箱保存 10h 按"1.6"和"1.4"项下方法操作。

2 结 果

2.1 方法的专属性

顺式阿曲库铵的色谱峰形良好,保留时间约为 3.47min,兔血浆中内源性物质不干扰顺式阿曲库铵的测定,见图 1。

2.2 标准曲线

以峰面积 A 对血浆中顺式阿曲库铵浓度 C 作线性回归,得回归方程为 A=0.398 6C+2.626,r=0.999 2。表明在 25~2 000ng/ml 浓度范围内线性关系良好,最低检测限为 25ng/ml。

2.3 回收率

提取回收率分别为 85.2%、85.4%, 86.1%,RSD 分别为 3.20%、4.28%和 2.14%;加样回收率分别为 93.4%、94.2%和 98.8%,RSD 分别为 3.41%、2.08%和 3.90%(n=5)。

2.4 精密度

计算得 3 个浓度的日内精密度分别为 2.17%、2.57%和 0.89%(n=5),日间精密度 RSD 分别为 3.68%、3.59%和 2.68%(n=5)。

2.5 稳定性

结果表明顺式阿曲库铵在上述条件下均无明

(下转第 757 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

所用时间较长，表明诺和锐 30 较诺和灵 30R 控制血糖更为迅速、理想、稳定。与诺和灵 30R 相比，诺和锐 30 中的游离门冬胰岛素具有快速起效快速达峰、快速回落的特点，而其中鱼精蛋白结晶的门冬胰岛素则起到了基础胰岛素的作用，二者结合更好地模拟了生理胰岛素的分泌。即诺和锐 30 既能保持原有预混制剂使用方面的优点，又能更好地控制 2 型糖尿患者的血糖，减少低血糖以及并发症的发生率。

诺和锐 30 是一种治疗糖尿病的有效且安全，起效快，有效降低餐后血糖的预混胰岛素剂型。

参 考 文 献

[1] UK Prospective Diabetes Study Group.Quality of life in type diabetes patients is affected by complications but not by intensive policies to improve blood glucose or pressure control(UKPDS)[J]. DiabetesCare,1999;22(5):1125.

[2] 邓尚平，主编.临床糖尿病学[M]. 成都：四川科学技术出版社 2000.210.

[3] Wrightt A,Burden AC,Paisey RB,et al. Sulfonylurea in adequacy:efficacy of addition of insulin over 6 years in patients with type 2 diabetes in the UKPDS 57[J]. Diabetes Care,2002;2(25):330-336.

[4] IDF Clinical Guidelines Task Foree. Global guidelines for type 2 diabetes[J]. Brussels;International Diabetes Federation,2005;7(6):256-258.

[5] Skak K,Gotfredsen CF,Lundagaard D,et al. ImProved beta-cell survival and reduced insulitis in a type 1diabetic rat model after treatment with a beta-cell-selective K(ATP)[J]. Diabetes Care,2004;6(53):1089-1095.

[6] Kilo C,Mezitis N,Jain R,et al. Staking Patients with type 2 diabetes on insulin therapy using once-daily injections of basic insulin as part 70/30,basic human insulin 70/30,or NPH insulin in combination with metformin[J]. Diabetes Complications,2003;17(9):307-313.

(责任编辑：关蕴良)

(上接第 725 页)

显变化。

2.6 样品浓度

平均药时曲线见图 2，以 $3P_{87}$ 软件计算，得药动力参数为 $t_{1/2}$(23.6 ± 4.7)min，AUC(34 013 ± 745) ng/min/ml，CL(3.5 ± 0.9)ml/(kg·min)。

3 讨 论

顺式阿曲库铵常温下不稳定易分解，检测过程易受分解产物及杂质影响，因此预处理过程中先酸化血浆，可以减少其分解。血样处理时采用了乙腈直接去除蛋白取上清液进样，简化了操作步骤。流动相中加入 PBS 缓冲盐较好地改善了峰形。顺式阿曲库铵在紫外可见光范围也有吸收，但灵敏度较低，本方法采用荧光检测较紫外检测灵敏度有较大的提高，且干扰小，该方法简单、灵敏、准确，适合顺式阿曲库铵的检测和药动学研究。

参 考 文 献

[1] 莫利求，黄文起，谭洁芳，等. 新的中效肌松药 - 顺式阿曲库铵[J].《国外医学》麻醉学与复苏分册，2000;21(3):170-172.

[2] Weindlmayr-Goettel M,Kress HG,Hammerschmidt F,et al. In vitro degradation of atracurium and cisatracurium at pH7.4 and 37℃ depends on the composition of the incubating solutions[J]. British fournal of anaesthesia,1998;81(3):409-414.

[3] Tran TV,Fiset P,Varin F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics Of cis-atracurium after a short infusion in patients under propofol anesthesia[J]. International anesthesia research society,1998;87(5):1158-1163.

(责任编辑：谭乐勤)

(上接第 740 页)

[2] Walsh PC,Retik AB,Vaughan ED,et al. Campbell's urology[M]. Seventh edition,2001.524-528.

[3] Shoskes DA,Hanbury D,Cranston D,et al.Urological complications in 1000 consecutive renal transplant recipients[J]. J Urol,1995;153(1):18-21.

[4] 马俊杰，于立新，王进义，等.移植肾输尿管梗阻的开放手术治疗[J]. 临床泌尿外科杂志，2003;18(9):540-542.

[5] Noble VE,Brown DF. Renal ultransound[J]. Emerg Med Clin North Am,2004;22(3):641-659.

[6] Nankivell BJ,Cohn DA,Spicer ST,et al. Diagnosis of kidney transplant obstruction using Mag3 diuretic renography[J]. Clin Transplant,2001;15(1):11-18.

[7] Streem SB,Noviek AC,Steinmuller DR,et al.Long-term efficacy of ureteral dilation for transplant ureteral stenosis[J]. J Urol,1988;140(1):32-35.

(责任编辑：关蕴良)