

· 药剂学 ·

HPLC 法测定胺碘酮在人体血浆中的浓度

周莹 阮邹荣 (浙江医科大学附属二院临床药理研究室, 杭州 310009)

茅涵文 (浙江省医学科学院, 杭州 310013)

摘要 运用反相 HPLC 法测定人体血浆中的胺碘酮浓度。用乙腈直接沉淀血浆蛋白在 HPLC 上直接进样, 具有操作步骤简便的优点。0.5~10.0 ug/ml 范围内, 日内变异系数 4.5~6.1%, 日间变异系数 5.3~9.6%, 最低检测限 0.03 ug, 胺碘酮保留时间 6.08 min。

关键词 高效液相色谱法 胺碘酮 人体血浆 浓度

胺碘酮(amiodarone)又名乙胺碘呋酮, 是一种广泛用于治疗室上性及室性心律失常的第Ⅲ类抗心律失常药物。经肝脏代谢后的主要代谢产物为 N-去乙基胺碘酮(NDEA)和双 N-去乙基胺碘酮及另外三种代谢物^[1]。它的生物半衰期很长(约 50 d), 治疗范围很窄^[2], 会引起一系列的副作用^[1]。因此对其血药浓度的监测很有必要。本法采用 HPLC 反相色谱法, 具有取血量少, 预处理简便, 在 8min 内测定胺碘酮等优点。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Bio-Rad HPLC 仪, 1705 型 UV 检测器, 日本岛津 C—R3A 数据积分仪。XW-80 型漩涡混合器(上海第一医学院仪器厂); 80—1 型离心机(上海手术器械厂)。

1.2 试剂 色谱纯乙腈, 二次重蒸水。其它所用试剂均为 AR 级。

1.3 药品 胺碘酮标准品(法国进口)

2 方法与结果

2.1 胺碘酮标准液制备

精密取胺碘酮标准品, 用甲醇稀释, 配成 1 mg/ml 贮备液备用。

2.2 色谱条件

大连化物所 C₁₈ 5 μm, φ4.6×250 mm 色谱柱; 流动相为乙腈: 0.01M NaAc; 三乙胺(84:16:0.1 V/V) (pH=3.3); 流速 2.0 ml/min; 柱温 50℃; 衰减 3; 纸速 2 mm/min; 进样 20 μl; 波长

242 nm。

2.3 测定方法

样品预处理: 取血浆 50 μl 于离心管中, 加 100 μl 乙腈, 混旋 5 S, 4000 rpm 离心 5 min, 取上清液进样 20 μl。

2.4 线性关系

标准曲线: 取上述胺碘酮标准贮备液, 用空白血浆配成 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 ug/ml 血浆, 按“样品预处理”操作, 量取峰高 H 对浓度 C 作标准曲线, 见图 1, $H = 296.65 C + 18.74$, $r = 0.9999$ 。

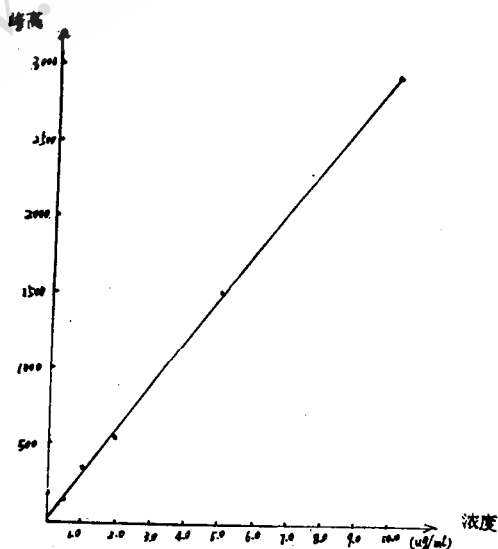


图1 人体血浆中胺碘酮的标准曲线

2.5 精密度与回收率

分别取空白血浆,精密加入上述胺碘酮标准贮备液,配成低,中,高0.5, 2.0, 10.0 ug/ml三个浓度,按“样品预处理”操作,结果见表1,表2。

2.6 最低检测限测定

表1 人体血浆中胺碘酮的精密度(n=5)

浓 度 (ug/ml)	日 内 差			日 间 差		
	$\bar{x}$	s	CV%	$\bar{x}$	s	CV%
0.5	0.502	0.03	6.1	0.475	0.05	9.6
2.0	1.921	0.08	4.5	1.932	0.10	5.3
10.0	9.880	0.51	5.2	10.065	0.56	5.6

表2 人体血浆中胺碘酮的回收率(n=5)

浓 度 (ug/ml)	0.5	2.0	10.0
回 率 收 (%)($\bar{x} \pm s$)	100.40 $\pm$ 0.03	96.05 $\pm$ 0.08	98.80 $\pm$ 0.51

当 S/N = 2 时,胺碘酮的最低检测限为 0.03 ug/ml。

3 结果与讨论

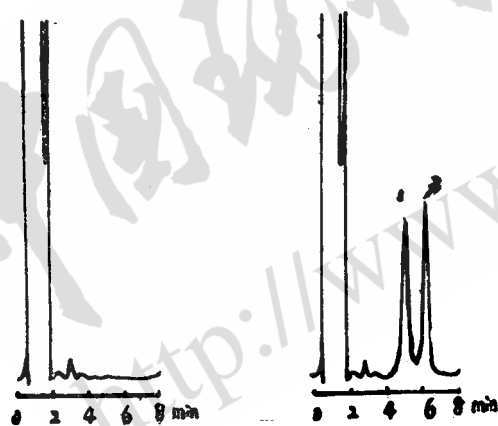


图2

色谱图(a)空白人体血浆,(b)血浆中的胺碘酮进样量20 ul。峰:1=代谢物 DEA 保留时间4.9 min
2=胺碘酮保留时间6.8 min

本法取血量少,只需 50 nl,有些报道需取血 1.0 ml^[4]。样品预处理步骤简单,用乙腈直接沉淀血浆蛋白^[5],减少了用有机溶剂提取的复杂步骤^[4],且提高了样品回收率,国外报道的方法大多采用内标法^[4,5],这里用外标法也同样具有较好的准确性和精确性,还能很好地分离出代谢物 N-去乙基胺碘酮,保留时间4.9 min,见图2。分析时间短^[6],适用于临床血药浓度监测。

参 考 文 献

- 1 李家秦主编. 临床药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1991, 687.
- 2 Latini R, Tognoni G and Kates RE, et al. Clinical Pharmacokinetics of amiodarone. Clin Pharmacokinet, 1984, 9, 136.
- 3 Plomp TA, Engles M, Robles de Medina EO, et al. Simultaneous determination of amiodarone and its major metabolite desethylamiodarone in Plasma, Urine and tissues by high-chromatography, J. Chromatogr, 1983, 273:379.
- 4 Ou CN, Rognerud CL, Duong LT, et al. Liquid-chromatographic [Determination of Amiodarone and N-Desethylamiodarone in Serum. Clin Chem, 1990, 36(3):523.
- 5 Weir SJ, and Ueda CT. et al. Rapid Liquid Chromatographic Assay for the Determination of Amiodarone and Its N-Deethyl Metabolite in Plasma, Urine and Bile. J. Pharm. Sci., 1985, 74:460.
- 6 Trivier JM, Pommery T. et al. High-performance liquid chromatographic assay for amiodarone N-deethylation in microsomes of rat liver. J. Chromatography, 1992, 579:269.

收稿日期: 1994-09-30

HPLC Assay for Amiodarone in Human Plasma

Zhou Ying Ruan Zourong

(The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Medical University, Hangzhou 310009)

Mao Hanwen

(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013)

Abstract A reversed-phase high performance liquid chromatographic assay is described for the determination of amiodarone in human plasma. The advantage of the method is its simple precipitation of plasma protein with acetonitrile to prepare the samples for HPLC injection. In the ranges of 0.5—10.0 $\mu\text{g/ml}$, the within-day CV was 4.5—6.1%, and the between-day CV 5.3—9.6%. The limit detection of amiodarone is 0.03 μg and the retention time is 6.08 min.

Key words Drug assay Monitoring therapy HPLC Amiod

(on page 25)