

血浆中盐酸氟桂嗪的荧光分光光度测定法

郭琦 刘海静¹ 明新² 张阿慧 杨云 陈慧娟 (西安医科大学药学院, 西安 710061)

摘要 建立了血浆样品中盐酸氟桂嗪的荧光分光光度测定法。血浆样品经碱化用正己烷提取, 水浴挥干正己烷后, 用0.1 mol/L HCl 定容, 在激发波长 260 nm、发射波长310 nm 处测定荧光强度。最低检出浓度10 ng/ml。线性范围2.0—30.0 $\mu\text{g/ml}$ ($r = 0.9907$)。平均回收率为100.08%, RSD 为5.03% ($n = 9$), 日内、日间精密密度分别为1.63%~3.28%和1.94%~5.95%。方法简便、快速、准确。

关键词 盐酸氟桂嗪 荧光法 血药浓度

盐酸氟桂嗪 (Flunarizine hydrochloride) 商品名为西比灵 (Sibelium) 是一选择性的钙离子拮抗剂, 可阻滞各种病因刺激下过量的钙离子跨膜进入细胞内而造成细胞损伤或死亡, 对心脏的收缩

和传导没有影响。临床上主要用于预防偏头痛发作, 减轻脑和外周血管循环障碍的症状^[1]。本文建立了血浆中盐酸氟桂嗪的荧光检测法。方法简便、快速、结果准确可靠。

1 陕西省药品检验所 2 本校96届毕业生

1 仪器和材料

1.1 仪器 RF-540荧光分光光度计(日本), SK-1 型快速混匀器, 82-1 型离心机。

1.2 材料 盐酸氟桂嗪标准品(西安杨森制药有限公司提供), 盐酸氟桂嗪胶囊市售品(批号 920324286)。人血浆(西安市中心血站), 实验用家兔(本校实验动物中心), 甲醇、正己烷等试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 标准溶液的制备 取一定量盐酸氟桂嗪95%乙醇贮备液(1 mg/ml), 制成浓度为100 $\mu\text{g/ml}$ 的盐酸氟桂嗪标准溶液。

2.2 荧光测定条件 盐酸氟桂嗪在0.1 mol/L HCl 溶液中的最佳激发波长/发射波长($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$)为260 nm/310 nm, 狭缝为3/3, 信号增益为4。

2.3 血浆样品预处理 取血浆1.0 ml, 依次加入甲醇1.0 ml, 4.0 mol/L NaOH 2.0 ml, 正己烷3.0 ml, 旋涡混合30 s, 离心(3000 r/min) 3 min。取有机层; 用2.0 ml 正己烷复提一次, 二次有机层合并, 置75°C恒温水浴上挥干, 残留物用0.1 mol/L HCl 3.0 ml 溶解后上机测荧光强度(F)。

3 结果和讨论

3.1 荧光光谱及测定波长的选择 取一定量的盐酸氟桂嗪标准溶液, 用0.1 mol/L HCl 配成浓度为20 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液, 上机测绘激发与发射光谱(图略)。

3.2 血浆样品提取溶剂的选择 取一定量的盐酸氟桂嗪标准溶液于1.0 ml 空白血浆中, 分别用3.0 ml 乙酸乙酯、乙醚、正己烷和环己烷进行提取, 均按“2.3”项下进行操作, 同时做空白对照。结果以正己烷提取液的 ΔF 最大。

3.3 介质碱度对血浆样品提取率的影响 在1.0 ml 空白血浆中, 分别加入一定量盐酸氟桂嗪标准溶液和不同量的4.0 mol/L NaOH 溶液, 使成4.3 ml, 以正己烷为提取溶剂, 按“2.3”项下进行操作, 同时做空白对照。测定F值, (图略)

3.4 不同量提取溶剂对血浆样品提取率的影响 血浆样品按“2.3”项下操作, 分别以不同量正己烷提取二次, 同时做空白对照, 测定F值, 结果见表1。

3.5 标准曲线与检测限 分别取不同量的盐酸氟桂嗪标准溶液, 制成浓度为2.0、5.0、10.0、15.0、20.0、30.0 $\mu\text{g/ml}$ 的系列标准溶液。分别在1.0 ml

表1 正己烷用量对血浆样品提取试验(n=3)

正己烷(ml) (a+b)	2+0	2+1	3+1	3+2	4+2	4+3	5+3
ΔF	14.9	22.6	30.3	43.6	43.8	41.5	42.6

注: a 为第一次加入正己烷的体积。

b 为复提一次加入正己烷的体积。

空白血浆中加入系列标准溶液1.0 ml, 样品经预处理后上机测F值。以F为横坐标, 样品浓度为纵坐标作图得标准曲线, 盐酸氟桂嗪浓度在2.0~30.0 $\mu\text{g/ml}$ 呈良好的线性关系, 回归方程为 $C = 4.08F + 1.659$, $r = 0.9907$ 。最低检出极限为10 ng/ml。

3.6 回收率试验 按“3.5”项下制备三种不同浓度的样品, 经处理后测定F值, 计算回收率, 结果见表2。

表2 回收率试验(n=3)

加入量 (ug)	测得量 $\bar{x} \pm S$ (ug)	回收率 (%)	RSD (%)
5.0	5.282 ± 0.238	105.63	4.51
15.0	14.493 ± 0.237	96.62	1.63
20.0	19.600 ± 0.468	98.00	2.38

3.7 精密度试验 配制含有盐酸氟桂嗪三个浓度的血浆样品数份, 经处理后测F值, 得日内及日间平均标准偏差, 结果见表3。

表3 精密度试验(n=3)

浓 度 (ug/ml)	日内精密度		日间精密度	
	$\bar{x} \pm s$ (ug/ml)	RSD %	$\bar{x} \pm s$ (ug/ml)	RSD %
10	9.88 ± 0.23	2.33	9.75 ± 0.58	5.95
15	14.49 ± 0.24	1.63	14.40 ± 0.78	1.94
30	28.68 ± 0.94	3.28	28.98 ± 1.43	4.93

3.8 初步应用 家兔血浆样品的测定: 取体重2.4 kg 家兔一只, 空腹24 h, 按1 mg/kg 剂量以灌胃方式给予盐酸氟桂嗪胶囊。给药后于0.5 h 和2 h 由耳缘动脉取血, 肝素抗凝, 离心取血浆1.0 ml, 按“2.3”项下进行操作, 测得血药浓度分别为2.87 $\mu\text{g/ml}$ 和4.49 $\mu\text{g/ml}$ 。

4 讨论

4.1 在荧光光谱及测定波长的选择时, 由于盐酸氟

桂嗪在甲醇、氯仿及0.1mol/L HCl-50%乙醇(1:1)中有较好的溶解度,曾分别用此三种溶剂配制20 $\mu\text{g/ml}$ 的盐酸氟桂嗪溶液进行光谱扫描,终因其 $\lambda_{\text{em(max)}}$ 与 $\lambda_{\text{ex(max)}}$ 较接近及发射光谱强度较低而不如在0.1 mol/L HCl中最佳 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$ 是260 nm 310 nm作测定波长好。

4.2 血浆样品的碱化曾用过氨试液,但效果不如用NaOH。

4.3 本法操作简单、成本低、结果准确可靠,可以定量测定人和动物的血浆药物浓度,为药代动力学及生物利用度研究提供一个有效可行的检测方法。

参 考 文 献

- 1 李杰有、全壬午、王国显等. 盐酸氟桂嗪的用途, 中国药 学杂志. 1994, 29(4): 229.

收稿日期: 1996—08—06

Determination of Flunarizine Hydrochloride in Human Plasma by Fluorometry

Guo Qi, Liu Haijin, Ming Xin, Zhang Ahui, Yang Yun, Chen Huijuan.

College of Pharmacy Xi'an Medical University (Xi'an 710061)

Abstract A fluorometric method was established for the determination of flunarizine hydrochloride in human plasma. The drug was extracted from alkalized plasma into nhexane. Organic extractant was dried under bath water. The residue was dissolved in 0.1 mol/L HCl. Fluorescence was measured under the conditions which excitation and emission wavelengths were set 260 nm and 310 nm. The lowest detective concentration of flunarizine hydrochloride was 10ng/ml. Linear calibration curve for flunarizine hydrochloride was measured with a range of 2.0 to 30.0 ug/ml (with the correlation coefficient of 0.9907). The average recovery was 100.08%, the RSD was 5.03% (n=9). The RSD of within-day and between-day were 1.63% to 3.28% and 1.94% to 5.95%, respectively. The method is simple, fast and accurate.

Key words flunarizine hydrochloride, fluorometry, plasma concentration.