

HPLC 测定人血浆中阿替洛尔的浓度

黄一玲 樊朝美 陈 妍(北京 100037 中国医学科学院阜外心血管病医院)

阿替洛尔(atenolol, 简称 ate)为水溶性 β 受体阻断剂,临床上常用于治疗高血压、心绞痛及心律失常等疾病。近年来的研究表明,阿替洛尔的血药浓度与临床疗效有关,故有必要建立该药的血药浓度测定方法。有关阿替洛尔的 HPLC 测定方法国外已有报道,国内目前采用荧光分光光度法测定,但其灵敏度低、特异性差,本文旨在建立简单、灵敏、准确的 HPLC 测定方法,以利于临床开展该药的血药浓度监测及药代动力学研究。

1 材料和方法

1.1 药品及试剂:盐酸阿替洛尔及索他洛尔(sotalol, 简称 SOT)标准品(百时美施贵宝有限公司)。甲醇、正

丁胺、磷酸等均为分析纯(北京化工厂)。乙腈为色谱纯(北京昌化精细化工厂)。

1.2 储备液:分别精密称取 100mg 阿替洛尔及索他洛尔标准品,溶于甲醇中并稀到 100ml,配成浓度为 1mg/ml 标准储备液,密封,置 4℃ 冰箱保存。

1.3 主要仪器:色谱系统为 Waters6000A 泵、Rheodyne 六通进样阀及 Varian 荧光检测器,大华 XWT-204 记录仪。

2 实验方法

2.1 HPLC 色谱条件:色谱柱为 NovPak CN 分析柱($5\mu\text{m}$, 75mm $\times$ 8mm, ID),流动相为乙腈-甲醇-磷酸-正丁胺(60:40:0.01:0.005, v/v),流速为 2.0ml/min,

中国现代应用药学杂志 1998 年 8 月第 15 卷增刊

荧光检测的激发及发射波长分别为 220 及 313nm,衰减为 1,记录纸速为 4mm/min。

2.2 样品预处理:于 5ml 具塞玻璃试管内,加入含阿替洛尔血浆 0.5ml,依次加入 50 μ l 饱和碳酸钠溶液、5ml 提取剂(氯仿-异丙醇,4:1, v/v, 含内标索他洛尔 50mg/ml),振荡混合 3min,离心 10min(3000r/min),弃去水相,将有机相移至 5ml 尖底试管内,氮气流热水浴(50~90℃)中吹干。残留物用 50 μ l 甲醇溶解 25 μ l 入 HPLC 分析。

3 结果

3.1 阿替洛尔及内标色谱图:用上述色谱条件及萃取方法获得阿替洛尔和索他洛尔色谱图。结果表明血浆中无内源性物质干扰测定,阿替洛尔及索他洛尔完全分离,其保留时间分别为 3.0 和 4.1min。

3.2 标准曲线及检测下限:用人血浆配制浓度为 20, 80, 100, 200, 500 和 1000ng/ml 的标准浆,按上述方法进行测定,以阿替洛尔浓度为横坐标,阿替洛尔与内标的峰高比为纵坐标进行线性回归,结果表明:血浆中阿替洛尔浓度在 20~1000ng/ml 范围内线性关系良好,线性回归方程为: $Y = 0.01156 + 0.003022X$ ($r = 0.9999$)。按信噪比 2:1 计,其检测下限为 5ng/ml。

3.3 精密度的:配制阿替洛尔浓度为 50, 300 和 800ng/ml 的标准血浆若干样品,于一日内进行测定,配制阿替洛尔浓度为 50, 300 和 800ng/ml 的标准血浆若干样品,在一个月内进行测定,日内及日间差异结果见附表。

附表 阿替洛尔的日内及日间精密度的 ($n = 6$)

加入量(ng/ml)		测定浓度(ng/ml)	
		$\bar{x} \pm s$	RSD (%)
日内差异	50	51 $\pm$ 3	5.9
	300	285 $\pm$ 8	2.8
	800	790 $\pm$ 17	2.2
日间差异	50	50 $\pm$ 4	8.1
	300	284 $\pm$ 14	4.9
	800	803 $\pm$ 22	2.7

3.4 回收率:阿替洛尔及内标索他洛尔的回收率按提取后测定之峰高与未经提取的等量标准品直接进样测定之峰高比计算,阿替洛尔在 50, 200 和 500ng/ml 等 3 个浓度水平中的平均回收率分别为 98.4%, 98.4% 和 98.5%,索他洛尔在 50 和 200ng/ml 的平均回收率分别为 92.0% 和 90.5%。

4 讨论

我们在寻找最佳色谱条件时发现,当流动相组份为甲醇-10%磷酸-10%正丁胺(100:0.2:0.1, v/v)时,阿替洛尔及内标的容量因子 k 分别为 3.38 及 2.99,两峰重叠,当流动相组份为乙腈-甲醇-10%磷酸-10%正丁胺(75:25:0.2:0.1, v/v)时,阿替洛尔及内标的容量因子 k 分别为 4.38 及 5.81,两者得到良好的分离,从上述数据可见乙腈对阿替洛尔和内标的分离起着相当重要的作用。