

高效液相色谱法测定司巴沙星血药浓度

方红梅 范 辉(杭州 310016 浙江大学附属邵逸夫医院药剂科)

摘要 目的:建立血清中司巴沙星浓度的 HPLC 测定法。**方法:**0.02mol/L 磷酸二氢钾 - 乙腈(70:30), 内含 0.1% 二乙胺, 磷酸调 pH3.0 为流动相, 替硝唑为内标, 检测波长 298nm, 最低检测浓度为 0.005mg/L。采用 Shimpack - CLC ODS C₁₈柱(150mm × 6mm, 5μm), 加 YGW C₁₈ 预柱。**结果:**选择浓度 0.2, 0.8 和 1.6mg/L, 回收率分别为 95.92%, 99.87%, 和 97.90%, 日内 RSD 分别为 9.04%, 8.05% 和 3.45%, 日间 RSD 分别为 1.08%, 3.86% 和 1.36%。**结论:**本法快速、简便、准确性好, 灵敏度高。适用于药动学、药效学及药物相互作用方面的研究。

关键词 司巴沙星; 高效液相色谱法; 血药浓度

A high - performance liquid chromatography assay for sparfloxacin in human serum

Fang Hongmei(Fang HM), Fan Hui(Fan H)(Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310016)

ABSTRACT OBJECTIVE: A high - performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of sparfloxacin in human serum has been determined and evaluated. **METHOD:** The drug and the internal standard (Tinidazole) were eluted from Shimpack - CLC ODS C₁₈ column with a YGW C₁₈ pre - column. The mobile phase was 0.02% potassium dihydrogen phosphate - acetonitrile(70:30) consisting of 0.1% diethylamine, its pH value was adjusted to 3.0 with phosphoric acid. The eluent was monitored at 298nm. The lowest determination limit was 0.005mg/L. **RESULTS:** The concentrations of 0.2, 0.8, 1.6mg/L were chosen, the RSD in day were 9.04%, 8.05%, 3.45% relatively and the RSD day to day were 1.08%, 3.86%, 1.36%, the recoveries were 95.92%, 99.87%, 97.90% relatively. **CONCLUSION:** This method is rapid, simple, accurate and sensitive, it is suitable for the research of clinical

pharmacokinetics, pharmacology and drug interactions.

KEY WORDS sparfloxacin, high - performance liquid chromatography, serum concentration

司巴沙星(Sparfloxacin)是一种新型喹诺酮类抗菌药,有抗菌谱广,抗菌活性强,吸收良好,血药浓度高,组织分布广,半衰期长等优点^[1]。笔者建立了简便易行的血清司巴沙星浓度的 HPLC 测定方法,适用于司巴沙星的临床药动学、药效学及药物相互作用方面的研究。

1 仪器和试剂

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪, 515 泵, 996 二极管阵列检测器, 7725 进样阀, Millennium 32 v.3.05 色谱管理系统。

1.2 试剂: 司巴沙星对照品(海正药业), 替硝唑用原料, 甲醇, 乙腈为色谱纯, 磷酸二氢钾为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 实验与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Shimpack - CLC ODS C₁₈ 柱 (150mm × 6mm, 5μm), 加 YGW C₁₈ 预柱(大连物化所); 流动相 0.02mol/L 磷酸二氢钾 - 乙腈 (70:30), 其中含 0.1% 二乙胺, 并以磷酸调 pH 值 3.0, 流速为 1ml/min, 检测波长为 298nm, 检测器分辨率为 1.2nm, 扫描范围为 200 ~ 400nm, 扫描速度为 1spc/s, 峰面积积分域值为 50。色谱图见图 1, 2。

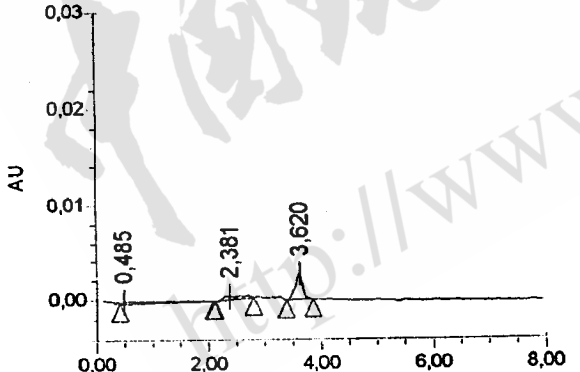


图 1 空白色谱图

2.2 标准品、内标配制: 取司巴沙星对照品及内标替硝唑分别以甲醇配成 100mg/L 的储备液, 备用。

2.3 样品处理: 取血清 0.5ml, 置具塞试管中, 加内标液 10μl, 旋涡混匀, 加二氯甲烷 5ml, 水平振荡 3min, 4000r/min 离心 10min, 精密吸取有机层 4ml, 置尖底试管中, 40 ~ 50℃ 水浴蒸干, 残渣加流动相 0.1ml 溶解后, 进样 20μl。

2.4 标准曲线: 取空白健康人血清 0.5ml, 分别加入不同量的司巴沙星储备液, 使其终浓度为 0.04, 0.2, 0.4,

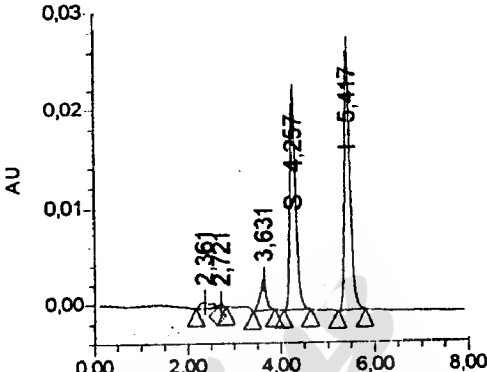


图 2 样品色谱图

S - 司巴沙星; 1 - 替硝唑

0.8, 1.6 和 3.2mg/L, 旋涡混匀, 按样品处理方法操作, 测定司巴沙星和内标的峰面积, 以二者峰面积比 (R) 对司巴沙星血清浓度 (c) 回归, 得回归方程 $c = 0.8466R - 0.0222$, $r = 0.9999$, 方法检测限为 0.005mg/L。空白血清未见有干扰物 ($R = 0.0968, 0.2318, 0.4893, 0.9532, 1.8792, 3.7301$)。

2.5 回收率测定: 精密吸取司巴沙星储备液一定量, 加入到 0.5ml 血清中配成浓度为 0.2, 0.8 和 1.6mg/L 的 3 种浓度, 按样品处理方法测定, 计算方法回收率。

投入量 (mg/L)	测得值 $\bar{X}$, $n = 3$	回收率 (%)
0.196	0.188 ± 0.017	95.92
0.784	0.783 ± 0.063	99.87
1.568	1.535 ± 0.054	97.90

2.6 精密度测定: 配置浓度为 0.2, 0.8 和 1.6mg/L 的司巴沙星血清各 3 份, 于同一天内进行样品处理和测定, 每份进样 3 次, 计算日内差 RSD, 同时每一浓度于同一天内测 3 次, 连续 3d, 计算日间差 RSD。

日内 $n = 3$			日间 $n = 3$		
	测得量	RSD (%)		测得量	RSD (%)
0.196	0.188	9.04	0.186	1.08	
0.784	0.783	8.05	0.794	3.68	
1.568	1.535	3.45	1.513	1.36	

3 讨论

3.1 本文建立了血清中司巴沙星浓度的 HPLC 测定方法, 本法简便易行, 准确性好, 灵敏度高, 适用于药动学、药效学及药物相互作用方面的研究。国外有文献报导^[2,3], 用柱切换法和蛋白沉淀法测定司巴沙星血药浓度, 但对仪器设备要求高, 操作较繁琐。

3.2 国内有文献报道^[4],用蛋白沉淀法测定司巴沙星血药浓度,其最低检测浓度为 0.04mg/L,本法最低检测浓度为 0.005mg/L,灵敏度大大提高。

3.3 本文用二氯甲烷提取,选择性好,避免了血清中水溶性成分的干扰。

参考文献

1 Montay G. Pharmacokinetics of sparfloxacin in healthy volunteers and patients: a review. J Antimicrob Chemother,

1996,37 Suppl A:27.

2 Montay G, Bruno R, Vergniol JC, *et al.* Pharmacokinetics of sparfloxacin in humans after single oral administration at doses of 200,400,600 and 800mg. J Clin Pharmacol, 1994,34(11): 1071.

3 Yousry M, El - Sayed. A simple high - performance liquid chromatographic assay for sparfloxacin in human plasma. Analytical letter, 1995,28(2):279.

4 胡鹏,邹启园,王其南,等. 国产司帕沙星在人体内的药物动力学研究. 中国抗生素杂志, 1999,24(2):152.