

HPLC 法测定血液中溴莫普林

刘拥军 栾 杨 姚庆强 时岩鹏(济南 250062 山东省医学科学院药物研究所)

摘要 目的: 建立了高效液相色谱测定血浆中溴莫普林的分析方法。方法: 色谱条件: 色谱柱 Nova-Pak C18(150mm×3.9mm I.D.); 流动相为乙腈/0.3% HAc+5mM SDS(63/37); 检测波长 275nm; 流速为 0.5mL/min; 乙萘酚做内标。结果: 该方法直线回归方程 $Y = 0.231X - 0.0189$, 相关系数 $r = 0.9991$, 三浓度水平的血样加标绝对提取回收率为 87~98%, 相对提取回收率为 97~120%。日内、日间变异系数均小于 7%, 最低检测限 0.15 μ g/mL(进样 10 μ L)。结论: 该方法准确性好, 操作简便。

关键词 溴莫普林; 高效液相色谱; 血浆

Determination of brodimoprim in human plasma by HPLC

Liu Yongjun, Luan Yang, Yao Qingqiang, Shi Yanpeng(*Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Science* 250062)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A HPLC method to determine Brodimoprim in human plasma was described. **METHOD:** The detection wavelength was set at 275 nm, mobile phase was acetonitrile/0.3% HAc+5mM SDS (63: 37) with a flow rate of 0.5 mL/min; ethyl naphthol was used as the inner standard. **RESULTS:** Linear equation was $Y = 0.231X - 0.0189$, $r = 0.9991$. The absolute recovery was 87~98%, the relative recovery was 97~120% (RSD was less than 7%). **CONCLUSION:** This method was simple and accurate.

KEY WORDS Brodimoprim; HPLC; Plasma

溴莫普林(Brodimoprim, BDP), 化学名为 2, 4-二氨基-5- (4-溴-3, 5-二甲氧苄基) 嘧啶, 其结构与甲氧苄胺嘧啶相似,

是具有较好抗菌活性的二氨基嘧啶衍生物。用于上呼吸道感染、慢性气管炎的急性细菌性加重发作、细菌性胃肠道感染等疗效显著。该药目前在国内处于开发阶段。

1 实验与方法

1.1 仪器与试剂:

1.1.1 Waters 2960 HPLC System, 996 二极管阵列检测器, 515 高压泵, Nova-Pak C18(150mm × 3.9mm I.D.) 色谱柱 (Waters 公司), Waters 2010 色谱工作站。乙腈(色谱纯), 乙酸乙酯, 乙酸, 十二烷基硫酸钠(SDS)(均为分析纯)。

1.1.2 溴莫普林标准液- 精密称取溴莫普林标准品 50mg, 以甲醇/0.4% HAC (50/50) 配成 1.0mg/ml 的储备液, 临用时再稀释成 25μg/ml 的应用液。

1.1.3 乙萘酚内标液- 精密称取乙萘酚 50mg, 同上操作, 临用时配成 10μg/ml 的应用液。

1.2 分析方法

1.2.1 色谱条件: 紫外检测器波长 275nm, 色谱柱, Nova-PakC18(150mm × 3.9mm I.D.); 流动相, 乙腈/0.3% HAC + 5mM SDS (63/37); 流速, 0.5ml/min; 进样量, 10μl。

1.2.2 血样处理: 取 0.5ml 空白血浆(山东省血液中心提供), 加入 100μl 乙萘酚内标液(10μg/ml), 4.0ml 乙酸乙酯, 振荡提取, 离心后取上清液 3ml, 于 80℃ 水浴氮气吹干, 加入 100μl 流动相溶解残渣, 即为样品液。

1.2.3 血样测定: 按以上色谱条件吸取 10μl 样品液进行分析, 内标法定量。

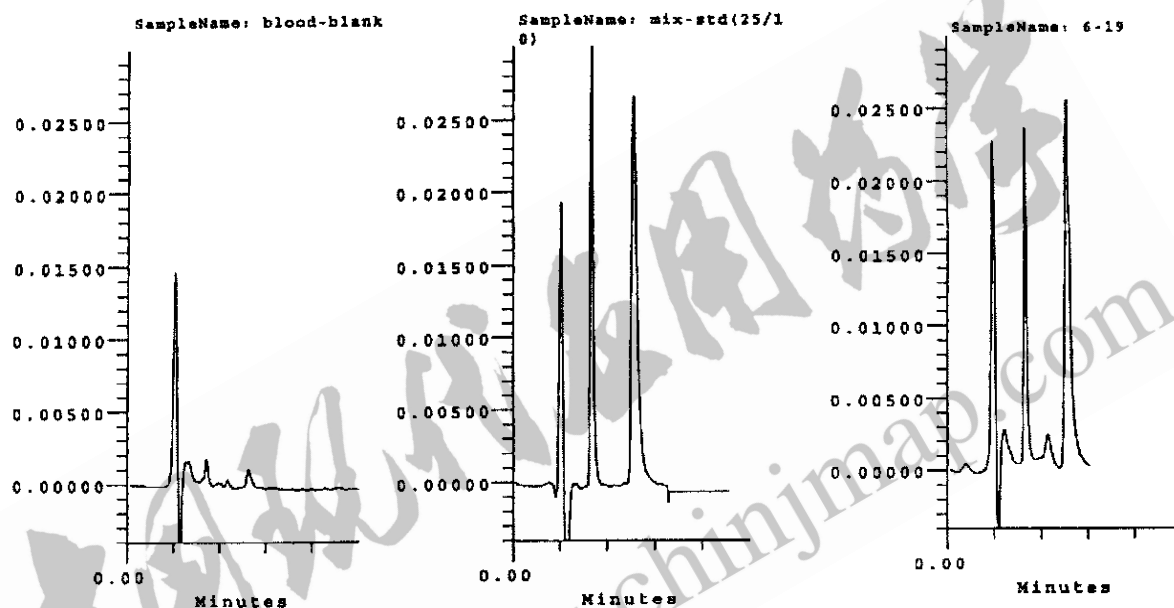


图1 HPLC 色谱图

1. 血液空白 2. 溴莫普林(3.3min)与内标乙萘酚(5.3min)标准谱图 3. 实际样品

2 结果与讨论

2.1 标准曲线及最低检测限

取 0.5ml 空白血浆加入溴莫普林配成血浆浓度分别为 0.50, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0μg/ml 的标准系列, 各加 100μl 内标液, 按上述方法提取, 测得各标准系列管的 $A_{\text{标}}/A_{\text{内标}}$ 比值分别为 0.129, 0.207, 0.427, 0.656, 0.912 和 1.152, 以溴莫普林浓度为横坐标, 以 $A_{\text{标}}/A_{\text{内标}}$ 比值为纵坐标绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 0.231X - 0.0189$, 相关系数 $r = 0.9991$, 最低检测限 0.15μg/ml (进样 10μl)。

2.2 回收率试验

2.2.1 绝对回收率: 配制 0.5, 1.5 和 2.0μg/ml 三种浓度的溴莫普林血浆标准溶液各 3 份, 不加内标, 测得绝对回收率分别为 98.0%, 87.0% 和 89.5%, 其 RSD 分别为 4.49%, 2.76% 和 3.80%。

2.2.2 相对回收率: 配制 1.0, 3.0 和 5.0μg/ml 三种浓度的溴莫普林血浆标准溶液各 3 份, 加入 100μl 内标液, 测得相对

回收率分别为 120.0%, 97.4% 和 100%, 其 RSD 分别为 7.58%, 3.49% 和 3.00%。

低浓度的回收率明显大于高浓度的回收率, 可能是血液或提取过程中带进的微量杂质造成的。

2.3 精密度的试验: 配制 1.0, 3.0 和 5.0μg/ml 三种浓度的溴莫普林标准系列血浆溶液, 加入 100μl 内标液, 当日测定 6 次, 其 RSD 分别为 5.81%, 2.47% 和 2.57%。隔日测定 3 次, 其 RSD 分别为 6.69%, 2.52% 和 3.73%。

参考文献

- 1 林木荣, 廖联安. 新苯基嘧啶类抗菌药溴莫普林. 中国新药杂志, 1998, 7(5): 345.
- 2 Gaspari F, Taicchi L, Pochobradsky M-G et al. J-Chromatogr. 1992, 577(1): 123.

收稿日期: 2000-10-12