

兔血浆及脏器中西沙必利薄层扫描测定法

郭琦¹, 张兰芬², 李钊¹, 歧琳¹ (1. 西安交通大学药学院, 陕西 西安 710061; 2. 西安杨森制药有限公司, 陕西 西安 710043)

摘要:目的 建立薄层扫描法测定血浆中西沙必利浓度。方法 样品经醋酸乙酯提取后, 乙醇定容, 点样于硅胶 GF₂₅₄-硅胶 G (5: 3)板后, 以二氯甲烷-甲醇 (10: 0.8)为展开剂, 展开, 斑点于岛津 CS-930扫描仪 $\lambda_s = 307\text{nm}$, $\lambda_r = 360\text{nm}$ 处进行扫描。结果 标准曲线在 0.20~10.0 μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为 97.92%, RSD = 3.8% ($n = 9$)。用此法测定了家兔灌胃西沙必利后的血浆浓度, 绘制了药时曲线。结论 本法灵敏、易行, 可用于药代动力学研究及临床监测。

关键词: 西沙必利; 薄层扫描法; 血药浓度; 脏器

中图分类号: R917.7.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)02-0155-02

Determination of cisapride concentration in rabbit plasma and organs by TLC scanning

GUO Qi¹, ZHANG Lan-fen², LI Zhao¹, Qi Lin¹ (1. College of Pharmacy, Xian Jiaotong University, Xian 710061, China; 2. Xian-Janssen Pharmaceutical Ltd., Xian 710043, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a TLC scanning method for the determination of cisapride (CSP) in plasma and organs. **METHOD** Samples were extracted with ethyl acetate and the extracts were redissolved in alcohol. The separation was performed on silica GF₂₅₄-silica G (5: 3) plate with dichloromethane-methanol (10: 0.8) as the developer. The developed plate was then scanned immediately with a TLC scanner CS-930 at $\lambda_s = 307$, $\lambda_r = 360\text{nm}$. **RESULTS** Standard curve of CSP was linear in the range from 0.20 μg to 10.0 μg . Average recovery was 97.92% with RSD = 3.8%. Plasma concentrations in rabbits after oral administration CSP were determined. Plasma concentration-time curve was drawn. **CONCLUSION** The method is simple, sensitive and can be used for CSP pharmacokinetic study and clinical monitoring.

KEY WORDS: cisapride; TLC scanning; plasma concentration; organs

西沙必利 (Cisapride, CSP) 是一种胃肠道动力药, 它可加强并协调胃肠道运动, 防止食物的滞留与反流。主要用于反流性食管炎、慢性功能性 (非溃疡性) 消化不良、胃轻瘫、假性肠梗阻和便秘。为了进行药动学研究以及临床药物检测, 本实验研究了应用薄层扫描法测定其浓度, 该方法快速、简便、灵敏度高。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 CS-930 薄层扫描仪 (日本); 82-1 型电动离心机 (江苏响水医疗器械厂); 2537 Å 紫外分析仪 (上海顾村光电仪器厂)。

1.2 试剂

西沙必利对照品和西沙必利片 (西安杨森制药有限公司); 硅胶 G、硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 羧甲基纤维素钠 (上海试剂供应站试剂厂); 二氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯等均为分析纯。

2 实验方法

2.1 标准溶液的制备

精密称取一定量的西沙必利对照品, 用乙醇制成浓度为 1.0 mg/mL 的对照品贮备液。准确吸取该贮备液适量, 分别置 10 mL 量瓶中, 用乙醇稀释成浓度为 0.020, 0.040, 0.10, 0.20, 0.70, 1.0 mg/mL 的标准溶液。

2.2 生物样品中西沙必利的萃取

准确取血浆或脏器匀浆上清液适量,用醋酸乙酯 6mL 提取 3 次(每次 2mL),混匀 1min,离心 5min(3000r/min),合并提取液于 80℃水浴挥去溶剂,用乙醇定容供点样用。

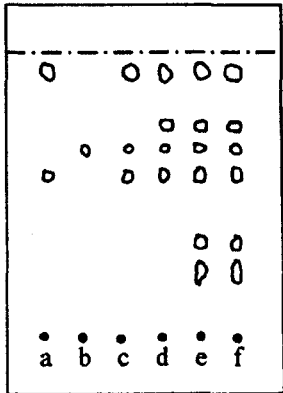


图 1 薄层色谱图

Fig 1 Chromatogram of TLC

a.空白血浆; b.西沙必利对照品; c.对照品 + 血浆; d.兔血浆; e.胃; f.肠

a. blank plasma; b. CSP standard; c. standard + plasma; d. plasma sample; e. stomach; f. intestine

2.3 薄层条件

点样于硅胶 GF₂₅₄ 硅胶 G(5: 3)薄板(20cm × 15cm)上,以二氯甲烷-甲醇(10: 0.8)为展开剂,饱和 55min 后,上行展开约 10cm,取出凉干,在 254nm 紫外灯下检测定位,样品及对照品展开情况如图 1 所示,西沙必利在亮绿色荧光背景下呈现明显的暗斑, R_f 值约为 0.5。

2.4 薄层扫描条件

测定波长 λ_s 为 307nm,参比波长 λ_r 为 360nm,线性化参数 SX = 3,反射锯齿扫描,狭缝 1.2mm × 1.2mm,扫描速度 20mm/min。

3 实验结果及讨论

3.1 线性范围测定

准确吸取一定量的西沙必利标准溶液,分别点于同一薄层板上,按“2.3”项进行实验,薄层扫描测定,结果,点样量在 0.2~10.0μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好,见表 1。

表 1 西沙必利线性范围

Tab 1 Linear range of cisapride

点样量 (μg)	回归方程	r
0.2 - 2.4	Y = - 0.1926 + 4.357 × 10 ⁻⁵ X	0.9991
2.4 - 10.0	Y = - 2.1362 + 7.634 × 10 ⁻⁵ X	0.9998

3.2 回收率实验

精密吸取不同浓度的西沙必利标准溶液 10μL 置离心管中,水浴挥干溶剂后各加空白血浆 1.0mL,摇匀。萃取、点样、展开后扫描,同时做随行标准,计算回收率,结果表明,血浆中西沙必利平均回收率为 97.92%, RSD = 3.8% (n = 9)。

3.3 精密度实验

精密吸取一定量的西沙必利标准溶液,置离心管中,加入 1.0mL 空白兔血浆,按“2.2”操作。分别在同一薄板和不

同薄板上点样,测定板内和板间精密度,结果表明板内和板间精密度分别为 RSD = 3.1% (n = 6)和 RSD = 5.4% (n = 5)。

3.4 稳定性实验

取“3.3”项下样品溶液,点于薄板上,饱和、展开、定位,薄板于室温、避光放置。在 24h 内不同时间对同一斑点进行扫描,结果表明西沙必利在 24h 内较稳定 RSD = 1.57% (n = 5)。

3.5 兔血浆及脏器中西沙必利浓度测定

取健康家兔 2 只,禁食 24h 后灌胃西沙必利片 (10mg/kg 和 20mg/kg),服药后分别于 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5, 8, 10, 12h 耳动脉插管取血,按“2.2 项”萃取、依法操作,测定血浆药物浓度,血药浓度-时间曲线见图 2。

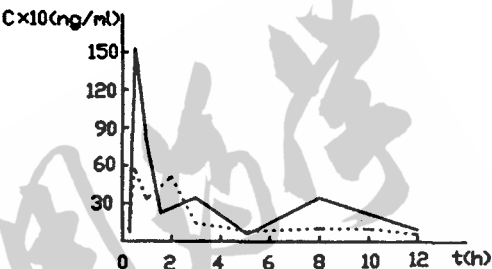


图 2 西沙必利药-时曲线

Fig 2 Plasma concentration-time curve of cisapride - 给药量 20mg/kg;给药量 10mg/kg
- - - dose 20mg/kg; dose 10mg/kg

健康家兔禁食 24h 后,灌胃西沙必利片 (10mg/kg),于服药后 1.5h 将其处死,取胃、肠,用生理盐水冲洗三次,分别称重,加入适量生理盐水浸泡 24h,制取匀浆,依法进行测定。经计算胃中药物含量为 0.18μg/g,肠中药物含量为 0.49μg/g。

3.6 讨论

3.6.1 薄层色谱展开剂选择 本实验曾对下列溶剂系统进行了考察:丙酮-丙酮-氨水、氯仿-乙醇-氨水、环己烷-乙醇-氨水、二氯甲烷-乙醇、不同比例的二氯甲烷-甲醇、二氯甲烷-丙酮-甲醇等,结果,以本实验所选展开剂二氯甲烷-甲醇(10: 0.8)效果最好,斑点集中, R_f 值合适。

3.6.2 血浆样品提取溶剂的选择 曾选用三氯甲烷、二氯甲烷、醋酸乙酯、环己烷、乙醚、二氯甲烷-甲醇(2: 1)、二氯甲烷-甲醇(10: 3)作为血浆样品提取溶剂,结果表明,用醋酸乙酯作提取溶剂没有乳化现象,斑点颜色深而集中,因而选用醋酸乙酯作为提取溶剂。

3.6.3 在西沙必利脏器浓度测定中,曾取心、肝、肾、肠、脾、胃六种脏器制成匀浆,结果心、肝、肾、脾均未测出西沙必利。

3.6.4 该法简便、灵敏度高,完全适合于西沙必利药代动力学研究。

收稿日期: 2003-12-16