

# 高效液相色谱法测定吲达帕胺的血药浓度

金慧萍,丁俊杰,李中东,焦正,韩冰,施孝金(复旦大学附属华山医院临床药理学研究室,上海 200040)

**摘要:**目的 建立测定吲达帕胺血药浓度的方法。方法 选择以乙腈-(pH=2.8)磷酸缓冲液(32:68)为流动相,格列吡嗪为内标,血浆样品以重蒸乙醚为提取溶剂,经 Diamonsil C<sub>18</sub>(150mm×4.6mm,5μm)柱分离后,在紫外吸收波长 240nm 处进行 40μL 检测。结果 吲达帕胺血浆样品在 25~500ng/mL 的范围内线性关系良好( $r=0.9996$ , $n=6$ ),绝对回收率>67%,相对回收率>92%日内日间的 RSD<6%。结论 本法简便、准确、灵敏、重现性好,可用于吲达帕胺的药物动力学的研究。

**关键词:** 吲达帕胺;高效液相;血药浓度

中图分类号:R917.1;R983.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2005)03-0231-02

## Determination of indapamide in human plasma by HPLC method

JIN Hui-ping, DING Jun-jie, LI Zhong-dong, JIAO Zheng, HAN Bing, SHI Xiao-jin (Clinical Pharmacy Laboratory Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai. 200040, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a method for determination of indapamide in plasma. **METHODS** RP-HPLC was applied to quantitative analysis. Plasma samples were extracted with ethylether. 40μL of extraction was injected and separated by Diamonsil C<sub>18</sub> (150mm×4.6mm,5μm) column. The mobile phase was composed of acetonitrile-(pH=2.8) phosphoric acid buffer (32:68). glipizide was used as internal standard. The UV detective wavelength was 240nm for indapamide. **RESULTS** A good linearity within the range of 25-500ng·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.9996$ ) for indapamide was obtained. The absolute recovery was higher than 67% and the relative recovery was higher than 92%. The inter-day and intra-day RSD were less than 6%. **CONCLUSION** This method is simple, accurate, sensitive and reproducible.

**KEY WORDS:** indapamide; HPLC; plasma concentration

吲达帕胺(indapamide)为非噻嗪类利尿降压药,具有扩血管、利尿、降压与钙拮抗作用。它具有选择性地浓集于血管壁,引起血管平滑肌的扩张,进而使外周阻力降低,血压下降。口服吸收迅速,达峰时间为 0.5~1.0h,消除半衰期为 13~18h。该药是目前使用的抗高血压药中重要的首选药之一,并需长期给药,给药方式常以 2.5~5mg, qd 或稳态后 2.5mg, qd, 剂量超过 5mg/d, 加大剂量可能不再增强降压作用。现我们研究并建立了一种简便、准确、灵敏的 HPLC 法,用来测定吲达帕胺的血药浓度,以满足药物动力学研究的需要。

### 1 仪器与试剂

美国 Waters 2690 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, Millennium 32 色谱工作站。

吲达帕胺对照品由中国生物制品检定所提供,格列吡嗪内标品由中国生物制品检定所提供,肝素针规格:12500u,上海第一生化药业,批号:030301。甲醇、乙腈为进口色谱纯,

磷酸二氢钾、磷酸、乙醚(重蒸)为国产分析纯,水为二次蒸馏水,健康人空白血浆。

### 2 分析方法

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>柱(150mm×4.6mm,5μm),流动相:乙腈-(pH=2.8)的磷酸缓冲液(32:68),紫外检测波长 240nm,柱温 25℃,流速为 1.5mL/min,色谱分析时间:25min。

#### 2.2 样品处理及测定

取血浆 950μL,置 10mL 具塞塑料离心管中,加入 50μL 浓度为 5μg/mL 的格列吡嗪内标液,涡旋 30s 混匀后,再加入乙醚 5mL,封口后涡旋 3.0min,于 4000r/min 离心 10min。吸取上层醚层,在 40℃水浴中氮气挥干。残留物用 100μL 甲醇涡旋溶解,离心后取 40μL 上清液进样分析。

### 3 结果

#### 3.1 色谱图

作者简介:金慧萍,女,37岁,浙江医科大学药学专业,副主任药师,原在浙江省台州市立医院药剂科,现在上海复旦大学附属华山医院临床药理学室进修,联系电话:013806597898。

吲达帕胺在 10.7m in 出峰,内标格列吡嗪在 15.2m in 出峰,不受血浆中内源性物质干扰。

3.2 标准曲线制备

取空白血浆准确加入吲达帕胺标准液,分别配置成吲达帕胺浓度为 25, 50, 125, 250, 375, 500ng/mL 的血浆标准品,各取 950μL 依“样品处理”项下,进行血样处理,进样,得到结果,以吲达帕胺峰面积 Y 对浓度 X 作回归,得到回归曲线。吲达帕胺在 25 ~ 500ng/mL 范围内成线性关系,  $r = 0.9996$  ( $n = 6$ ),线性方程为  $Y = 0.0097X - 0.0603$ 。最低检测浓度为 10ng/mL。

表 1 精密度和准确度

Tab 1 Precision and accuracy

加入量	日 内			日 间		
	测得量 (ng·mL <sup>-1</sup> )	相对回收率 (%)	RSD (%)	测得量 (ng·mL <sup>-1</sup> )	相对回收率 (%)	RSD (%)
50	47.20 ±2.53	94.41 ±5.05	5.36	46.07 ±2.31	92.15 ±4.61	5.01
125	119.24 ±2.79	95.39 ±2.23	2.34	119.53 ±3.22	95.63 ±2.57	2.69
375	372.57 ±15.64	99.35 ±4.17	4.23	384.10 ±9.95	102.42 ±2.65	2.59

3.4 临床血浆样品测定 选择高血压门诊病人 2 例,均为老年男性。1 例口服吲达帕胺片剂 2.5mg, qd 达 35d,于第 35d 服药后 1 h 取血样,另 1 例口服吲达帕胺片剂 2.5mg, qd,于第 4d 服药后 1 h 取血样,置于 5mL 肝素管中,离心分离血浆。按上述血浆样品预处理步骤操作后进行分离分析,代入标准曲线计算,得到病人口服吲达帕胺后的血药浓度分别为 315.52ng/mL 和 103.62ng/mL。

4 讨论

4.1 流动相和检测波长的选择 按文献<sup>[1]</sup>采用乙腈-PH = 3.72 磷酸缓冲液 (45:55),而文献<sup>[2]</sup>采用乙腈-PH = 3.5 的三乙胺水溶液 (63:37)。经过多次实验对比,本实验选择了乙腈-磷酸缓冲液配比 (32:68),并将 pH 调到 2.8,流速调到 1.5 mL/min,柱温调至 25℃后,经实验验证在该流动相下吲达帕胺出峰尖锐,将血浆杂质峰分离出,干扰少。

检测波长文献<sup>[2,3]</sup>报道为 254nm 处,文献<sup>[3]</sup>选择 240nm,本实验经对比采用 240nm 进行测定,吸收峰较好。

4.2 提取方法和内标的选择 吲达帕胺的提取方法有液-液提取法、固相萃取法等,其中液-液提取法是最常用和廉价的。液-液提取法文献采用醋酸乙酯等。经反复验证,本实验采用重蒸乙醚提取法,绝对回收率 > 67%,较稳定且快速、简洁。

文献中采用地西洋、磺胺等为内标,因地西洋保留时间较短,磺胺对照品较难得到,本实验采用格列吡嗪为内标,出

3.3 回收率测定

取空白血浆准确加入吲达帕胺标准液,配制成血浆浓度分别为 50, 125, 375ng/mL 的低、中、高 3 个浓度的样品,取 950μL 依“样品处理”项下处理后进样,测得 3 种浓度的吲达帕胺标准血浆样品绝对回收率分别为 68.46%, 67.47%, 67.48%, 相对回收率日内日间分别为 94.41%, 95.39%, 99.35% 和 92.15%, 95.63%, 102.42%。同法配制上述 3 种浓度的吲达帕胺标准血浆样品,1d 内进行血样处理与色谱分析 5 次,得日内 RSD 分别为 5.36%, 2.34%, 4.2%;连续测定 5d,得日间 RSD,分别为 5.01%, 2.69%, 2.59%。见表 1。

峰尖锐且保留时间较理想。

4.3 本法对临床上 2 例病人的血浆药物浓度进行了测定,测得浓度分别为 315.52ng·mL<sup>-1</sup> 和 103.62ng·mL<sup>-1</sup>,与文献<sup>[4]</sup>报道的浓度范围相符,且方法重现性好,其它药物无干扰。因此该方法快速、简便、准确、灵敏,可用于吲达帕胺的药物动力学研究。

参考文献

[1] 陈端霞,游凯,傅如男,等.人血清中吲达胺的高效液相色谱法测定[J].中国医学科学院学报,1990,12(4):286.

[2] Zendelovska D, Stafilov T, Stefova M. Optimization of a solid-phase extraction method for determination of indapamide in biological fluids using high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2003, 788(1): 199.

[3] Grebow PE, Treiman JA, Barry EP, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of indapamide A new antihypertensive drug[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1982, 22(4): 295.

[4] Schiavi P, Jochemsen R, Guez D. Pharmacokinetics of sustained and immediate release formulations of indapamide after single and repeated oral administration in healthy volunteers[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2000, 14(2):139.

收稿日期:2004-01-06