

HPLC 法测定阿昔洛韦的血药浓度

中国人民解放军大连医高专药学教研室(大连 116013)

贺蕊 陈雨安 王征

大连市卫生防疫站理化测试中心(大连 116013)

祁广建

阿昔洛韦为抗病毒药,临床用于治疗带状疱疹等病毒感染类疾病效果良好。国外文献报道用放射免疫法^[1]检测阿昔洛韦较为灵敏,但测定人血浆浓度时可能遇到抗血清的交叉反应。笔者参考文献^{[2][3][4]}并做了改进,采用高效液相色谱法(HPLC法)测定血浆中的阿昔洛韦浓度,结果线性关系良好,最低检出限度为50 ng/ml。本方法灵敏、准确、可为指导临床用药提供依据。

一、仪器与药品

高效液相色谱仪:岛津 LC-3A;SPD-2 A 紫外检测器;CR-1B 数据处理机。阿昔洛韦(温州第三制药厂);阿昔洛韦片剂(上海黄河制药厂);阿昔洛韦胶囊(自制);庚烷磺酸钠(温州第三制药厂提供);醋酸钠、氢氧化钡、硫酸铝、甲醇(分析醇);重蒸馏水。

二、实验方法

1. 空白血浆与加样血浆的 HPLC 测定

分别精取含抗凝剂的人体血浆 0.5 ml 2 份,分别置于 A、B 2 支离心管中。A 管为空白, B 管中加入一定量的阿昔洛韦标准液。A、B 两管分别精密加入 5% (w/w) 硫酸铝溶液 100 μl, 混匀后再加入新鲜配制的 0.15 mol/ml 氢氧化钡 200 μl, 混匀加盖, 4℃ 以下放置过夜, 10℃ 以下离心 10 min (8000 r/min), 吸取上清液 10 μl 注入色谱仪。色谱柱为 μ-Bondpark-C₁₈ φ4.0 × 300 mm; 流动相为甲醇:水 (2:93), 内含 2.5 mmol/L 庚烷磺酸钠和 5 mmol/L 醋酸钠;流速, 1.0 ml/min; 柱温 30℃; 检测波长 254 nm; 外标法。经测定结果如图 1、图 2。

2. 线性范围



图1 空白血浆



图2 加样血浆

精密吸取空白血浆 7 份, 分别精密加入一定量的阿昔洛韦, 使浓度自 0.05 μg/ml—2 μg/ml 配成标准溶液。同上法处理后, 分别进行 HPLC 测定, 以血浆中药物浓度 (μg/ml) 对峰高 H (mm) 作线性回归, 求得回归方程, $H(\text{mm}) = 38.26C(\mu\text{g}/\text{ml}) + 0.4490$, $r = 0.9990$, 最低检出限度为 50 ng/ml。血浆中阿昔洛韦标准曲线见图 3。

3. 回收率测定

取阿昔洛韦标准液同上法处理后测定回收率及精密度,结果见表1、表2。

表1 阿昔洛韦回收率试验结果

浓度(μg/ml)	回收率(%)	$\bar{X} \pm SD$ (%)
0.205	93.50	94.53±3.35
	92.53	
	90.00	
	90.74	
	94.86	
0.512	96.55	98.18±3.00
	93.10	
	98.20	
	100.81	
	102.23	
1.024	104.01	98.99±4.55
	92.14	
	97.26	
	101.53	
	100.04	
平均回收率		97.23%

表2 阿昔洛韦精密度试验结果

浓度(μg/ml)	RSD(%)	
	日内误差(n=5)	日间误差(n=4)
0.205	3.56	3.79
0.512	3.66	3.55
1.024	4.59	5.37
平均	3.94	4.24

4. 阿昔洛韦胶囊及片剂的血药浓度测定

8名受试者口服阿昔洛韦胶囊和片剂后

定时取静脉血按1法处理后经HPLC测得其血药浓度-时间曲线见图4。从平均血药浓度-时间曲线下面积(AUC)代表吸收总量所求得阿昔洛韦胶囊对片剂的相对生物利用度为103.5%。

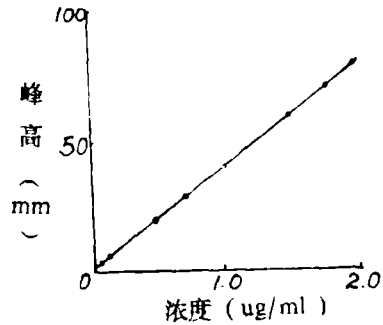


图3 阿昔洛韦的标准曲线

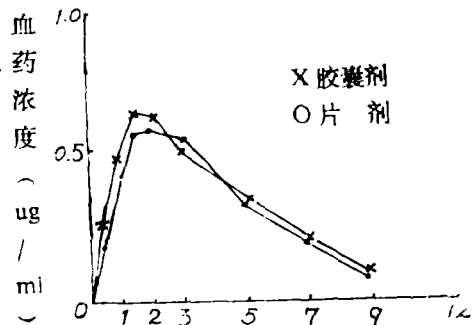


图4 阿昔洛韦胶囊及片剂的药-时曲线

参考文献

- [1] Quinn RP et al. Anal Biochem, 1979, 98: 319
- [2] Land G et al. J Chromatog, 1981, 224: 51
- [3] 管瑞琴等 医药工业 1986, 17(7):309
- [4] D.M.Richards et al. Drugs, 1983, 26: 401