

HPLC 法测定国产尼美舒利血浆浓度

李 红 汪平君(芜湖 241001 皖南医学院弋矶山医院药剂科)

摘要 目的:建立了人血浆中尼美舒利浓度的 HPLC 测定法。方法:以对羟基联苯为内标,甲醇-水-乙酸(60:40:1)为流动相,紫外检测波长为 230nm。结果:实验表明,尼美舒利与内标分离良好,血浆中尼美舒利平均回收率 97%,日内、日间 RSD 小于 12%,血浆尼美舒利浓度在 0.1~20 μ g/ml 范围内线性关系良好, $r=0.9998$ 。本法的最低检测浓度为 20ng/ml。结论:该法操作简便、结果可靠,适用于尼美舒利血药浓度的测定。

关键词 尼美舒利;血浆浓度;HPLC

Determination of Nimesulide in plasma by HPLC

Li Hong(Li H), Wang Pingjun(Wang PJ) (Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A rapid, simple and sensitive reversed - phase HPLC method was established for the determination of nimesulide in human plasma. **METHOD:** The mobile phase consisted of methanol - water - acetic acid(60 : 40: 1). The detection wave length was 230nm and flow rate was 1 ml/ min. Internal standard was p - hydroxy - biphenyl. **RESULTS:** The retention time of nimesulide and p - hydroxy - biphenyl was 6.07 and 8.10 min, respectively. The mean recovery of nimesulide was 102%. The within day and day - to - day of variations were all less than 10%. The detection limit of nimesulide was 20ng/ml in plasma. Nimesulide and propafenone were separated well. The assay linearity was determined over the range of 0.1 ~ 20 μ g/ml in plasma ($r = 0.9997$). **CONCLUSION:** The method is sensitive with constant result. It is good for the determination of nimesulide concentration.

KEY WORDS nimesulide, plasma concentration, HPLC

尼美舒利(Nimesulide)是一种新型非甾体抗炎、镇痛和解热药,为磺酰胺基化合物。临床用于风湿性关节炎、软组织损伤、呼吸道炎症、泌尿系统炎症、术后疼痛及各种发烧等疾病,其胃肠道副作用小^[1]。该原料

药国内已成功合成。关于尼美舒利的血药浓度测定国内文献报道较少^[2,3],而且操作较繁琐。为了进行该药的药物动力学和生物利用度测定,我们建立了简便、快速的人血浆中尼美舒利 HPLC 测定法。

1 材料与方 法

1.1 仪器 药品及试剂

高效液相色谱仪(Perkin Elmer 公司);超声波清洗器(上海必能信股份有限公司);旋涡振荡器;尼美舒利标准品(安徽中医学院);尼美舒利片(天津药物研究院药业有限责任公司,批号:971105);对羟基联苯;甲醇;二氯甲烷。

1.2 标准溶液及内标溶液的配制

1.2.1 尼美舒利标准贮备液:精密称取尼美舒利标准品 10 mg,溶于甲醇并稀释至 25 ml 刻度量瓶中,配成浓度为 0.4 mg/ml 的标准储备液,置 4℃ 冰箱保存。

1.2.2 内标储备液:精密称取对羟基联苯 12.5 mg,溶于甲醇并稀释至 25 ml 刻度量瓶中,配成浓度为 500 μg/ml 的内标储备液,置 4℃ 冰箱保存。

1.3 色谱条件

色谱柱:ODS - C₁₈ 柱(4.6 × 150 mm);检测波长:230 nm;流动相:甲醇 - 水 - 乙酸(60:40:1);流速:1.0 ml/min。

1.4 样品预处理

取内标液 20 μl 置具塞试管中,氮气吹干后,加血浆 0.5 ml,0.5 mol/L HCl 溶液 0.1 ml,摇匀,加重蒸乙醚 6 ml,旋涡 1.0 ml,离心(3000 r/min) 5 min,精取乙醚层 5.0 ml,于 40℃ 水浴氮气吹干,用 0.1 ml 甲醇溶解,进样 20 μl 进行色谱分析。

2 结 果

2.1 尼美舒利及内标色谱图

用上述色谱条件及提取方法得到血浆色谱图。结果显示,尼美舒利及内标完全分离,保留时间分别为 6.07 及 8.10 min。

2.2 血浆中标准曲线的制备

取尼美舒利标准贮备液用甲醇稀释配制不同浓度(200,100,50,20,10,4 及 1 μg/ml)的标准系列使用液;取内标贮备液适量,用甲醇稀释制成 50 μg/ml 的标准内

标使用液。取 10 ml 具塞试管 7 支,分别加不同浓度的尼美舒利标准系列使用液 50 μl,内标液 20 μl,并于 40℃ 水浴氮气吹干。再分别加 0.5 ml 血浆,0.5 mol/L HCl 0.1 ml,摇匀,加重蒸乙醚 6 ml,旋涡 1.0 ml,离心,精取乙醚层 5.0 ml,于 40℃ 水浴氮气吹干,用 0.1 ml 甲醇溶解,进样 20 μl 进行色谱分析。根据尼美舒利对内标的峰面积比与尼美舒利浓度进行统计学处理,得回归方程 $y = 0.069x + 0.00672$, $r = 0.9998$ ($n = 7$)。线性范围 0.1 ~ 20 μg/ml,最小检出浓度为 20 ng/ml ($S/N = 3$)。

2.3 回收率 精密度及准确度

绝对回收率按尼美舒利及内标对羟基联苯提取后测定之面积与未经提取等量的标准品甲醇溶液直接进样测定之峰面积比计算,尼美舒利及内标在血浆中的绝对回收率为 82.5%。血浆尼美舒利在 0.5,2.0 及 10 μg/ml 3 个浓度水平进行准确度和精密度试验,日内精密度按上述 3 个浓度各 5 管在同一天按“样品预处理”操作,日间精密度按上述 3 个浓度各 5 管在 2 周内不同天间检测,结果见表 1。

表 1 血浆尼美舒利准确度、精密度和回收率 ($n = 5$)

	加入量 (μg/ml)	测得浓度均值 (μg/ml)	标准差	变异系数 (%)	相对回收率 (%)
日内	0.1	0.1041	0.0057	5.5	104.1
	2.0	1.9523	0.597	3.1	97.6
	10.0	9.7589	0.0964	1.0	97.6
日间	0.1	0.0895	0.0106	11.8	89.5
	2.0	1.9840	0.0935	4.7	99.2
	10.0	9.3330	0.2227	2.4	93.3

2.4 健康人血药浓度的测定

健康志原者 5 人,男性,年龄 21 ~ 23 岁,体重 55 ~ 65 kg。单剂量口服法于早晨 8:00 空腹服药 200 mg (2 × 100 mg),用 200 ml 温开水送服。于服药后 0.0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,4.0,6.0,8.0,12.0 和 24.0 h 肘静脉取血 3.0 ml,置肝素化试管中,3000 r/min 离心 5 min,取 0.5 ml 血浆供 HPLC 法分析,结果见表 2。

表 2 血浆尼美舒利浓度测定结果(μg/ml)

	时间(h)										
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	6.0	8.0	12.0	24.0
1	4.29	6.58	9.60	11.54	11.42	12.08	12.24	11.81	8.25	4.90	0.49
2	2.49	3.93	3.64	5.00	6.83	7.39	9.46	5.80	3.63	1.43	0.29
3	1.53	2.51	2.51	3.43	4.59	6.37	8.74	9.22	7.99	6.86	2.07
4	0.26	1.63	1.46	2.11	3.78	2.98	7.77	8.99	9.10	4.53	0.24
5	1.11	5.47	7.47	9.00	8.99	9.23	10.91	7.94	5.67	2.91	1.71
\bar{X}	1.94	4.02	4.94	6.22	7.12	7.61	9.83	8.75	6.93	4.13	0.96
s	1.54	2.04	3.46	3.94	3.15	3.38	1.78	2.18	2.24	2.06	0.86

3 讨论

3.1 内标的选择:文献报道采用外标法或甲苯碘丁脲为内标物。本实验选择对羟基联苯为内标物,在本文实验条件下,尼美舒利、内标及血浆内源性杂质之间具有良好的分离度。

3.2 流动相组成:本文选择甲醇-水-乙酸(60:40:1)组成的流动相,可获得较好的洗脱效果,保留时间短,色谱峰峰性对称,为较理想的流动相组成。

3.3 萃取溶媒的选择:文献报道在酸性条件下采用甲苯作萃取溶媒,试验表明,经甲苯提取的样本其内源性杂质峰较多,干扰测定结果。我们选用重蒸乙醚作为

萃取剂,提取的杂质较少,溶媒易吹干,且具有较高的提取回收率。

参考文献

- 1 裘军,陈邦银,张进芳,等.国产尼美舒利的药效学研究.中国药理学通报,1993,9(6):68.
- 2 李俊,陈学广,张远芳,等.国产尼美舒利片剂的药代动力学和生物利用度研究.中国临床药理学杂志,1994,10(2):106.
- 3 王晓燕,李淑芳,赵洁生,等.HPLC测定血浆中尼美舒利浓度.中国药理学杂志,1998,33(5):295.

收稿日期:1998-10-04