

HPLC 法测定地西洋和艾司唑仑的血药浓度

叶美娣 滕彦¹ 汪东海(湖州 313000 湖州市第一人民医院; ¹杭州 310009 浙江大学附属第二医院)

摘要 目的:建立 HPLC 法同时测定地西洋和艾司唑仑血药浓度。方法:以 Ultrasphere-ODS 5 μ m 4.6 mm \times 25 cm 色谱柱为分离柱,流动相:甲醇-乙腈-水(40:20:40);检测波长为 254 nm,以外标法峰面积定量。结果:地西洋和艾司唑仑的血浓度分别在 0.214 ~ 2.568 μ g/ml, 0.258 ~ 3.096 μ g/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系,日内及日间差均小于 10%,平均回收率分别为 98.37%, 99.19%。结论:本法可用于临床血药浓度测定。

关键词 HPLC;地西洋;艾司唑仑

Determination of diazepam and estazolam in human plasma by HPLC

Ye Meidi(Ye MD), Ten Yan(Ten Y), Wang Donghai(Wang DH) (*The First Hospital of Huzhou, Huzhou 313000*)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a HPLC method for the determination of diazepam and estazolam in human plasma. **METHOD:** A Ultrasphere-ODS column (5 μ m, 4.0 mm \times 25 cm) was used with a mobile phase of methanol-acetonitrile-water (40: 20: 40). The detection wavelength was 254 nm. **RESULTS:** The linear range of diazepam and estazolam were of 0.214 ~ 2.56 μ g/ml, 0.258 ~ 3.096 μ g/ml respectively. The relative standard deviations for within-day and between-days assays were all less than 10%. The relative recoveries of diazepam and estazolam were 98.37% and 99.19% respectively. **CONCLUSION:** The method is suitable for clinical monitor of diazepam and estazolam in human plasma.

KEY WORDS HPLC, diazepam, estazolam

地西洋(diazepam)和艾司唑仑(estazolam)是临床常用的苯二氮草类镇静药,疗效肯定,副作用小。但大剂量也会引起中毒,甚至昏迷。在急诊抢救病例中,如能迅速查明药物品种并测定血药浓度对确定诊断、判明

病情、估计预后和进行抢救有很大帮助。本文采用 HPLC 法同时测定地西洋和艾司唑仑,为地西洋或艾

叶美娣,女,35岁。1987年毕业于浙江医科大学药学系,主管药师

司唑仑中毒的病人赢得抢救时间,同时处理地西洋或艾司唑仑中毒病人的血样,既方便又经济。本实验已为临床急诊抢救提供一定的指导作用。

1 实验方法

1.1 药品与试剂 地西洋对照品,艾司唑仑对照品;甲醇,乙腈均为色谱纯,水为重蒸馏水。

1.2 仪器与色谱条件 美国 Beckman 公司 HPLC 仪(125 双泵,166 检测器),分析柱为 Ultrasphe- ODS 5 μ m 4.0 mm \times 25cm,流动相为甲醇-乙醇-水(40: 20: 40),流速 1 ml/min,检测波长 254nm,常温操作。

1.3 样品处理 取 0.5 ml 血浆加氯仿 2 ml,手摇 1 min,离心 3500r/min,15 min,取下层 1 ml 于水浴上蒸干,残渣加 100 μ l 流动相溶解进样 20 μ l,以峰面积外标法定量。

2 结果

2.1 色谱行为 按样品处理方法分别提取空白血浆,空白血浆加对照品,中毒病人血浆进样测得色谱图如图 1。

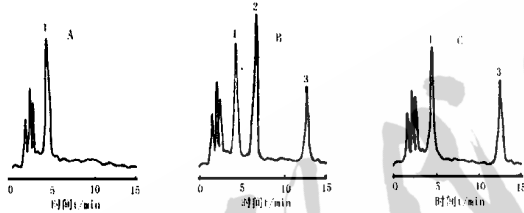


图 1 色谱图

A- 空白血浆色谱图;B- 空白血浆加对照品艾司唑仑和地西洋色谱图;C- 地西洋中毒病人血浆色谱图;1- 血浆杂质峰;2- 艾司唑仑峰;3- 地西洋峰

2.2 线性关系 配制地西洋和艾司唑仑的混合标准液,含地西洋 21.4 μ g/ml,艾司唑仑 25 μ g/ml。在 0.5 ml 空白血浆中分别加入系列混合标准液 5,10,20,30,40 和 60 μ l 按样品处理方法操作。得浓度 C 与峰面积 A 回归方程,地西洋: $C = 0.48884 A + 0.060879$, $r = 0.9997$ ($n = 3$),线性范围为 0.214 ~ 2.568 μ g/ml;艾司唑仑: $C = 0.418006 A + 0.001983$, $r = 0.9993$ ($n = 3$),线性范围为 0.258 ~ 3.096 μ g/ml。

2.3 回收率试验 配制含地西洋和艾司唑仑为高、中、低 3 种浓度的血浆样品各 5 份,参照样品处理方法操作,计算回收率,结果见表 1。

2.4 精密度试验 配制含地西洋和艾司唑仑为高、中、低 3 种浓度的血浆样品各 5 份分别于同一天及 5 d 内每天测定,结果见表 2。

3 临床应用

本法应用于临床中毒病人,监测结果见表 3。

4 讨论

表 1 地西洋和艾司唑仑回收率试验结果 ($n = 5$)

药 物	理论值 / μ g \cdot ml $^{-1}$	测得值 / μ g \cdot ml $^{-1}$	平均回收 率/ %	RSD / %
地西洋	0.214	0.208 \pm 0.015	97.20	7.21
	0.856	0.847 \pm 0.032	98.95	3.78
	1.712	1.694 \pm 0.063	98.95	3.72
艾司唑仑	0.258	0.253 \pm 0.011	98.06	4.35
	1.032	1.030 \pm 0.042	99.81	4.07
	2.064	2.058 \pm 0.057	99.71	2.77

表 2 地西洋和艾司唑仑精密度试验结果 ($n = 5$)

药 物	理论值 / μ g \cdot ml $^{-1}$	日内实测值		日间实测值	
		$\bar{x} \pm s$ / μ g \cdot ml $^{-1}$	RSD/ %	$\bar{x} \pm s$ / μ g \cdot ml $^{-1}$	RSD/ %
地西洋	0.214	0.208 \pm 0.015	7.21	0.211 \pm 0.012	5.69
	0.856	0.847 \pm 0.032	3.78	0.841 \pm 0.023	2.73
	1.712	1.694 \pm 0.063	3.72	1.689 \pm 0.047	2.78
艾司唑仑	0.258	0.253 \pm 0.011	4.35	0.251 \pm 0.013	5.18
	1.032	1.030 \pm 0.042	4.07	1.029 \pm 0.031	3.01
	2.064	2.058 \pm 0.057	2.77	2.061 \pm 0.063	3.06

表 3 8 例中毒病人监测结果

病 人	血药浓度 / μ g \cdot ml $^{-1}$	临床表现	用药情况
吴某	2.04	昏迷	大剂量中毒
吴某	1.61(地西洋)	神志不清	上例第 2 天取血
董某	<0.3(地西洋)	清醒	服地西洋 30 片,3d 后取血
顾某	1.48(地西洋)	情绪激动	3h 前服地西洋 90 片
戴某	1.95(地西洋)	昏迷,呼吸浅	30h 前服地西洋 100 片
戴某	0.89(地西洋)	清醒,情绪不稳	服地西洋 100 片,54h 后取血
陈某	2.23(地西洋)	昏迷	服地西洋中毒,量不知
严某	1.2(艾司唑仑)	昏迷	服艾司唑仑 40 片,4h 后取血

4.1 色谱条件的选择 本实验分别以甲醇-水(70: 30),甲醇-水(60: 40)及甲醇-乙腈-水(40: 20: 40)作流动相,前两组艾司唑仑与血浆中杂质不能完全分离。故选用甲醇-乙腈-水(40: 20: 40)作流动相。

4.2 临床监测结果地西洋浓度大于 1.0 μ g/ml 时,病人神志不清,与文献报道基本相符。艾司唑仑中毒浓度未见报道,本实验所测病例少。有待于以后进一步探索。

参考文献

- 1 陈绍林,杨惠莉,韦锦文.高效液相色谱法测定血浆地西洋及其代谢物.中国临床药理学杂志,1999,8(1):43.
- 2 陈刚主编.治疗药物监测理论与实践.北京:人民军医出版社,1988:481.

收稿日期:1999-06-09