

工出版社,北京,43页,1980.

[7] 陈为通、沙逸仙、常理文编著,《气相色谱手册》,科学出版社,北京,131页,1984.

[8] 吴其灿、徐君琰等,色谱,2(5),237(1985).

(收稿日期:1990年2月19日)

Study on Benzo-15-crown-5 as a Stationary Phase for Gas Chromatography Liu Yuhua, Qiao Dongping, Li Meng, Department of Chemistry, Zhengzhou University, 450052

The chromatographic performance of the column packed with benzo-15-crown-5 has been investigated. The Rohrschneider constants of the stationary phase were determined ($X=2.44, Y=4.13, Z=3.33, U=5.70, S=3.81$). Benzo-15-crown-5 showed good thermal stability. The column has been successfully used for the separation of hydrocarbons, alcohols, ketones, esters, ethers, aromatics and halides.

气相色谱法(质量选择检测器)测定血浆中尼群地平浓度

杨巷菁 杨丽莉

(南京军区总医院,210002)

朱哲英 毛凤斐

(中国药科大学,南京,210009)

尼群地平(nitrendipine)为一新的二氢吡啶类钙离子通道阻断药。其抗高血压作用较硝苯吡啶强且持久,尤其适用于老年患者^[1,2]。该药的有效血浓度较低,故文献中多采用高灵敏的检测方法:电子捕获鉴定器(ECD)^[4]及色谱-质谱联用(GC-MS)^[5]。

本文采用的质量选择检测器(MSD)具有选择性高、抗干扰力强的优点。通过离子选择检测方式(SIM),可避免生物样品中许多难以除去的杂质峰干扰,使样品前处理简便、快速,且灵敏度与ECD相当。与GC-MS法比较,成本低,适用于对大量血样品进行分析。采用此法对来自十二名健康自愿受试者及我院的一些临床病人的近千份血样进行了分析,所测结果与文献报道一致^[5]。

实验部分

(一)试剂与药品 标准品:尼群地平(中国药科大学),安定(徐州制药厂)。其余均为市售分析纯试剂。

(二)仪器与色谱条件 HP 5970B型气相色谱-质谱检测器(Hewlett-Packard, USA),石英毛细管柱:crosslinked dimethyl silicone 0.2mm×12.5m(Hewlett-Packard, USA)。温度:进样口250℃,接口280℃,柱50℃,1min后程升至260℃(20℃/min),终温保持4min。无分流进样。离子源(EI)电离电压70eV,倍增电压2200V。载气He,0.9ml/min。选择离子监测(SIM):尼群地平 $m/z=238$ amu,安定(内标) $m/z=256$ amu。

(三)标准溶液 尼群地平1.0ng/μl,内标10ng/μl,溶剂均为无水乙醇。避光4℃保存。配制过程在钠

光灯下进行。

(四)样品制备 取肝素抗凝血浆1.0ml,加入内标3μl(30ng),混匀。加乙醚-环己烷(2:1)3.0ml,1mol/L NaOH 0.1ml。振荡,离心15min(3000r.p.m.)。取有机层2.4ml,室温下以N₂吹干。进样:乙酸乙酯20μl溶解,进样1~2μl。

实验结果

(一)色谱图及保留时间 在上述GC-MSD条件下,尼群地平与内标的保留时间分别为13.815及

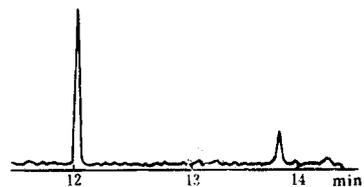


图1 尼群地平($m/z=238$)及安定($m/z=256$)的GC-MSD色谱图。某患者一次口服尼群地平20mg,服药后3h浓度13.35ng/ml。

12.032min(图1)。

(二)线性范围 在空白血浆中加入内标及不同量的尼群地平标准溶液,按上述方法分析,求得尼群地平与内标的面积比值(Y),该比值与尼群地平浓度(C)呈线性关系,线性范围0~61.08ng/ml, $Y=0.0336C+0.008903$ ($r=0.9999$)。

(三)回收率与重复性 (A)在空白血浆中分别加入不同量的尼群地平标准溶液,使成浓度4,10,30ng/ml,按上述方法分析;(B)另取相同量的标准溶

液直接进样分析。所得峰面积值按下式求出尼群地平与内标的绝对回收率,结果见表 1。

$$\text{回收率} = \frac{(A)\text{面积}}{(B)\text{面积}} \times \frac{3}{2.4} \times 100\%$$

重复性试验方法同上,考察所测面积比值的日内及日间变异。结果表明日内和日间差的变异系数分别小于 5%和 8%(表 2)。

表 1 尼群地平及内标回收率

尼群地平		内标	
加入量 (ng/ml)	回收率 (%)	加入量 (ng/ml)	回收率 (%)
4	100.38	30	96.73
10	92.69		
30	94.88		

表 2 日内差及日间差

尼群地平加入量(ng/ml)	CV(%)	n
日内差	10	2.0
	30	4.1
日间差	10	7.3
	30	7.9
	60	7.3

(四)血药浓度测定 健康自愿受试者一次口服尼群地平 20mg,分别于服药前以及服药后 0.5、1、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、8.0、12 及 24 小时抽血测定血药浓度。共有六种不同厂家和剂型的尼群地平供生物药剂学研究。分离出的血浆样品避光置 -20℃冰箱保存至分析。

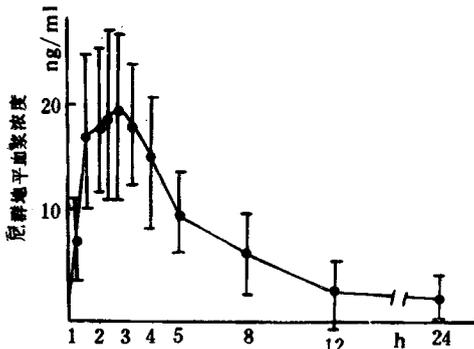


图 2 十二名健康自愿受试者口服某厂家尼群地平 20mg 后的平均血药浓度经时变化曲线

图 2 为服用同一厂家尼群地平后,12 名受试者的平均血药浓度经时变化曲线。所测血药浓度水平与文献报道基本一致^[5]。

讨 论

(一)SIM 碎片离子的确定 在上述色谱条件下,

MSD 从 20~400amu 扫描,显示尼群地平的主要碎片离子为 $m/z=238$,其它碎片离子所占比例很小(图

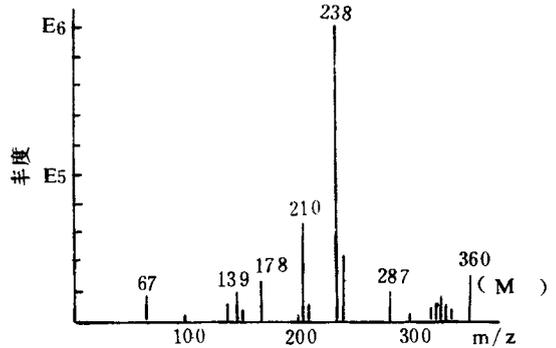


图 3 尼群地平质谱图(扫描范围 20~400amu,其余条件同前)

3)。内标安定的主要碎片离子为 $m/z=255,256,257,283,284$ 等。其中 $m/z=256$ 的碎片离子不易受杂质干扰。故选用 $m/z=238$ 及 256 的碎片离子分别作为尼群地平及内标的定量监测离子。

(二)主要误差来源 在样品制备过程中,最易造成样品损失的是 N_2 吹干过程。必须控制 N_2 气流($<0.8\text{ml/min}$)及在室温下进行。加温也导致样品的显著损失。

(三)尼群地平的敏感性 对此虽未有明确报道,但由于其同类药物硝苯吡啶见光极易分解,因此采血及样品制备均在钠光灯下进行,制备好的样品避光保存。

参 考 文 献

- [1] M. Borzellino et al., J. Cardiovasc. Pharmac., 9, 290 (1987).
- [2] S. R. Ferreira-Filho et al., J. Cardiovasc. Pharmac., 9, 219 (1987).
- [3] P. Crome et al., J. Clin. Pharmac., 26, 323(1988).
- [4] P. A. Soons et al., J. Chromatogr., 428, 362(1988).
- [5] B. Olof et al., J. Chromatogr., 337, 402(1985).

(收稿日期:1989年10月11日)

Determination of Nitrendipine in Human Plasma by Gas Chromatography with a Mass Selected Detector(GC-MSD) Yang Xiangjing and Yang Lili, Nanjing General Hospital of PLA, 210002; Zhu Zheyang and Mao Fengfei, Chint Pharmaceutical University, Nanjing, 210009

A specific and sensitive method has been established for analysis of nitrendipine in human plasma by gas chromatography with a mass selected detector. Nitrendipine and diazepam (internal standard) were extracted from plasma with 3.0 ml of diethyl ether-

cyclohexane (2 : 1) after the addition of 0.1 ml NaOH. The organic phase was then evaporated with a mild nitrogen stream and the residue was redissolved in 20 μ l of ethyl acetate, of which 1 ~ 2 μ l was injected into a fused-silica capillary column (12.5m \times 0.2mm, cross-linked dimethyl silicone) equipped in an HP5970B GC-MSD. Mass 238 for nitrendipine and 256 for diazepam were quantitatively measured by selected ion monitoring.

The area ratio (nitrendipine/diazepam) was linear to the concentration of nitrendipine over the range of 0 ~ 61.08ng/ml ($\gamma = 0.9999$). The coefficient of variation of intra and inter-day assay was less than 5% and 8%, respectively. The average recovery from spiked plasma was 97.30%. The method has been applied in clinical analysis.

生物体液内白三烯的反相高效液相色谱测定法

徐盈 张甬元 徐立红

(中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072)

张瑞祥

(同济医科大学协和医院, 武汉, 430030)

白三烯(Leukotrienes, 简称 LTS)为花生四烯酸主要代谢产物, 重要炎症介质之一, 在生理及病理生理过程中具有重要作用。因此, 人血及组织液中白三烯含量的测定将为进一步研究与白三烯有关的生理及种种疾病的机制创造条件。国外科学家八十年代以来已对多种 LTS 等的测定有不少报道^[1-5], 我国近年来这方面的研究刚刚起步^[6], 本实验采用乙腈脱蛋白, 商品化 Sep-Pak C₁₈ 小柱富集, 反相高效液相色谱法(RP-HPLC)和 UV280nm 检测生物体液内的白三烯, 不仅能用于豚鼠肺组织匀浆液中 LTS 的测定, 而且可应用于哮喘发作病人血液中的多种 LTS 的检测。

实验方法

(一) 仪器与试剂

美国 Waters 600MS-490MS-745B 系统高效液相色谱仪; 乙腈(紫外光谱纯), 甲醇(优级纯), 草酸(分析纯), 三氟乙酸(TFA, 分析纯), 超纯水(由美国 Millipore 公司纯水装置制备, 18 Ω m); 白三烯色谱标样由加拿大 Merck Frsst Canada Inc. Rokach 博士提供, PGB₂ 为上海第十四制药厂产品。

(二) 白三烯的固相萃取

白三烯色谱标样用 60 : 40 甲醇水溶液配制。LTB₄, LTC₄, LTD₄, LDE₄ 浓度分别为 0.1 μ g/ml。Sep-Pak C₁₈ 小柱的活化: 使用前, 小柱先用 2ml 重蒸甲醇通过, 然后依次用 2ml 70% 乙腈, 5ml 超纯水洗涤备用。

操作步骤: 0.5ml 血清中加入 1ml 乙腈, 摇匀, 静置 2 分钟, 以 15000rpm 转速离心 5 分钟以充分沉淀

蛋白(室温下), 小心倒出上清液, 并用 1mol/L HCl 调节清液 pH 至 3.50, 立即通过 Sep-Pak C₁₈ 小柱, 然后依次用 5ml 超纯水, 5ml 20% 乙腈水洗去杂质后, 用 5ml 甲醇洗脱白三烯, 将洗脱液用高纯 N₂ 吹干, 残渣溶于 250 μ l 流动相, 作 HPLC 分析。

(三) 白三烯的高效液相色谱定量测定

样品在进样前, 经过 15000rpm 转速离心 2 分钟(室温), 取 10—100 μ l 上清液注入色谱仪分析。

色谱进样器为 U₆K 型, 色谱柱为 Nova Pak C₁₈

3.9mm \times 15cm, 柱填料直径 4 μ m, 流动相组成为: 0.5mol/L 草酸与 75 : 25 : 0.05(V/V/V) 的甲醇/水/TFA 混合液, 紫外波长 280nm, 灵敏度 0.01AUFS, 流速 0.5 ml/min, 既可利用 PGB₂ 作为内标进行定量, 同时也可采用外标定量。

结果与讨论

(一) 白三烯的固相萃取回收率试验 本实验采用 Sep-Pak C₁₈ 小柱(美国 Waters 产)固相萃取白三烯 LTB₄, C₄, D₄ 及 E₄, 标样添加量为 100ng, 其标准回收率见表 1。

表 1 回收率实验结果

LTS	理论添加量 ng	实测均值 ng	平均回收率 %	检测限 pmol
PGB ₂	100	99	98.5 \pm 2.0	内标
LTB ₄	100	98	95.9 \pm 2.1	0.3
LTC ₄	100	83	80.6 \pm 3.4	0.6
LTD ₄	100	71	71.4 \pm 2.5	0.7
LTE ₄	100	70	68.0 \pm 5.0	0.8

* 试验次数 n=6

J. Verhagen 报道, 在低 pH 条件下, LTC₄ 容易分