

高效液相色谱法测定人血浆中尼莫地平的浓度

缪海均¹, 范国荣², 刘皋林¹ (1. 上海长征医院药学部, 上海 200003; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要:目的 建立人血浆中尼莫地平浓度的高效液相色谱测定方法。方法 血样碱化后用乙醚萃取, 在 Hypersil-BDS 色谱柱上, 以乙腈-水(70:30)为流动相进行色谱分离, 检测波长为 238 nm。结果 尼莫地平浓度在 1.96 ~ 196.0 ng/mL 范围线性相关 ($r=0.9997, n=5$)。最低检测限约为 0.98 ng/mL。三种浓度的相对回收率为 98.56% ~ 102.9%, 日内 RSD 为 2.82% ~ 4.33% ($n=5$), 日间 RSD 为 4.74% ~ 6.05% ($n=5$)。结论 本法简便、快速, 适合药代动力学的研究。

关键词: 尼莫地平; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.1; R969.11

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2004)02-0136-03

Determination of nimodipine in human plasma by HPLC

MIAO Hai-jun¹, FAN Guo-rong², LIU Gao-lin¹ (1. Department of Pharmacy, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC procedure to determine nimodipine in human plasma. **METHOD** Under alkaline condition, nimodipine was extracted with ether. A Hypersil-BDS column with a mobile phase consisting of acetonitrile-water (70:30) was used, the detector wavelength was 238 nm. **RESULTS** The linear range was 1.96 ~ 196.0 ng/mL ($r=0.9997, n=5$), the detective limit was 0.98 ng/mL. The recovery was 98.56% ~ 102.9% with the within day RSD from 2.82 to 4.33% ($n=5$), and the between day RSD from 4.74 to 6.05% ($n=5$) at three different concentrations. **CONCLUSION** The proposed method was simple, rapid, and suitable for the study of pharmacokinetics.

KEY WORDS: nimodipine; high-performance liquid chromatography

尼莫地平(Nimodipine, Ni_m)是治疗脑血管疾病的有效药物^[1]。口服 Ni_m 制剂后生物利用度较低,且伴随存在个体差异^[2]。而测定血浆中尼莫地平浓度大多采用高效液相色谱法^[3,4],本实验在流动相不加添加剂的情况下,实现用高效液

相色谱法测定人血浆中尼莫地平浓度,出峰快,灵敏度高,适合药动学的研究。

1 仪器和试剂

Shimadzu 10A 高效液相色谱仪, N2000 色谱数据工作站。

尼莫地平对照品(含量 100.8%,上海医药工业研究院);尼莫同(Nimotop,德国 Bayer 公司生产,中国北京 Bayer 医药保健有限公司分装,规格 30mg/片,批号 101127);乙腈、乙醚为色谱纯,氢氧化钠为分析纯,水为重蒸水。

2 实验方法

2.1 血浆样品处理

取血浆 1.0mL 置于 10mL 具塞玻璃离心管中,加入 2mol/L 氢氧化钠 200 μ L,混匀,加乙醚 5.0mL,涡旋振荡 5min,于 4000 r/min 离心 10min,分取醚层 4.0mL,40 $^{\circ}$ C 水浴通氮挥干。残留物用流动相 100 μ L 溶解,取 50 μ L 进样,峰面积外标法定量,整个操作过程避光进行。

2.2 色谱分离条件

色谱柱为 Hypersil BDS(250mm \times 4.6mm, 5 μ m,大连依利特分析仪器有限公司);流动相为乙腈-水(70:30);流速 1.0mL/min;紫外检测波长为 238 nm。

2.3 标准溶液的配制

精密称取尼莫地平对照品 12.25mg,置于 5mL 棕色量瓶

中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 2450.00 μ g/mL 的标准贮备液。精密吸取标准贮备液一定量,分别稀释定容至 3 个 10mL 棕色量瓶中,配成浓度为 24.50,245.0 和 2450.0 ng/mL 的标准溶液。

3 实验结果

3.1 标准曲线制备

精密吸取尼莫地平标准溶液适量,加入空白血浆配制成含尼莫地平 1.96,4.90,9.80,19.60,49.00,98.00 和 196.0 ng/mL 的标准血浆样品。按“2.1”项下操作,并进行色谱分析。以尼莫地平对照品的峰面积(Y)对相应的浓度(C)进行线性回归,得标准曲线方程为: $Y = 450.40C + 380.34$, $r = 0.9997$ ($n = 5$)。

本法测定血浆中尼莫地平的最低检测限为 0.98ng/mL (S/N=2)。

3.2 方法的专属性

在本实验条件下尼莫地平的保留时间约为 5.15min,血浆内源性物质均不干扰体内尼莫地平的含量测定,见图 1。

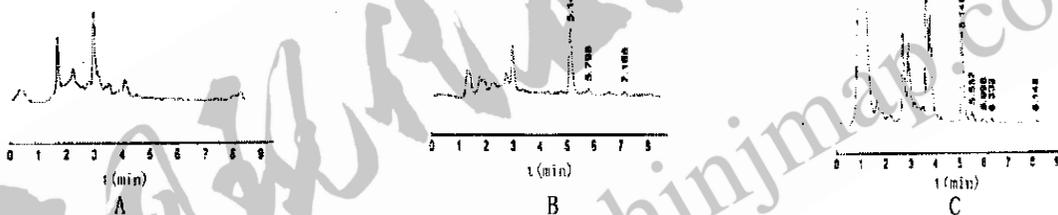


图 1 血浆中尼莫地平的高效液相色谱图

Fig 1 Chromatograms of Nim in human plasma

A. 空白血浆;B. 标准品添加血浆;C. 实测血浆样品

A. blank plasma; B. standard plasma; C. plasma sample

3.3 回收率试验

配制 9.80,49.00,196.0 ng/mL 3 种浓度的尼莫地平标准血浆样品,按“2.1”项下操作,血浆样品中尼莫地平色谱峰面积与相同浓度直接进样的色谱峰面积比值计算绝对回收率,血浆样品中尼莫地平色谱峰面积代入血浆标准曲线,通过测得量与加入量的比值计算相对回收率,结果见表 1。

表 1 尼莫地平血浆样品回收率试验 ($n = 5$)

Table 1 Recovery of Nim in human plasma ($n = 5$)

加入量 (ng/mL)	绝对回收率 (%)	RSD (%)	相对回收率 (%)	RSD (%)
9.80	93.6	5.06	102.9	4.33
49.00	89.2	4.42	100.2	2.82
196.0	91.0	3.18	98.56	4.06

表 2 日内、日间精密度试验 ($n = 5$)

Table 2 Within-day and between-day precision of the method

加入量 (ng/mL)	日内		日间	
	测得量 (ng/mL)	RSD (%)	测得量 (ng/mL)	RSD (%)
9.80	10.08 \pm 0.44	4.33	10.10 \pm 0.61	6.05
49.00	49.05 \pm 1.38	2.82	49.86 \pm 2.36	4.74
196.0	193.2 \pm 7.84	4.06	188.3 \pm 9.11	4.84

3.4 精密度试验

按血浆样品标准曲线测定方法配制 9.80,49.00,196.0 ng/mL 3 种浓度的尼莫地平血浆样品,按“2.1”项下操作,测定日间和日内 RSD,结果见表 2。

3.5 应用

20 例男性健康受试者,经常规体检证明肝肾功能正常,心电图正常,且精神状态良好。受试者禁食过夜后,口服尼莫同 90mg (3 片),用 200mL 温开水送服。分别于给药前及给药后 0.16,0.33,0.67,1.0,1.5,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,8.0h 取血 5mL,置肝素化试管中,离心,分取血浆。按“2.1”项下操作,测定血浆中尼莫地平浓度,计算药动学参数,结果见表 3; 血药浓度-时间数据曲线见图 2。

表 3 健康志愿者单剂量口服 90 mg 尼莫同后的药代动力学参数

Tab 3 pharmacokinetic parameters after a single oral dose of 90 mg nimotop tablet in twenty volunteers

参数	结果
$T_{1/2}$ (h)	1.74 ± 0.28
T_{max} (h)	0.90 ± 0.16
C_{max} (ng/ mL)	102.8 ± 30.81
Cl/ F (L/h)	0.46 ± 0.14
AUC_{0-8} (ng·h/ mL)	204.0 ± 58.13
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/ mL)	213.2 ± 62.03

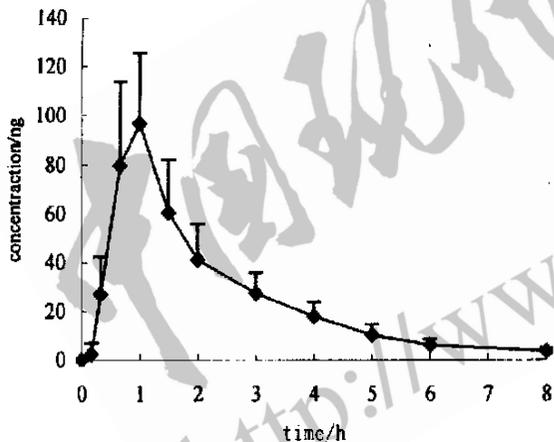


图 1 20 例受试者单剂量口服 90 mg 尼莫同后的平均血药浓

度⁴时间曲线

Fig 1 Mean plasma concentration-time curve after a single oral dose of 90 mg Nimotop tablet in twenty volunteers

4 讨论

目前,测定体内 N_{im} 的血药浓度大多采用 RP-HPLC 法。本实验与文献相比^[3,4],在流动相不加添加剂的情况下,以 Hypersil BDS 色谱柱,乙腈-水为流动相进行色谱分离,峰形对称性好,出峰快(N_{im} 保留时间为 5.15 min),灵敏度高。

尼莫地平具有弱碱性,选择在碱性条件下,采用乙醚萃取,萃取完全,方法回收率大于 0.4%,且杂质干扰少。

由于尼莫地平易见光分解,整个操作过程须避光进行,以提高方法的准确性。

参考文献

- [1] Langley MS, Sorkin EM. Nimodipine: a review of its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties, therapeutic potential in cerebrovascular disease[J]. Drugs, 1989, 37(5): 669.
- [2] Kleinbloesem CH, Van Brummelen P, Faber H, et al. Variability in nifedipine pharmacokinetics and dynamics: a new oxidation polymorphism in man[J]. Biochem Pharmacol, 1984, 33(22): 3721.
- [3] 卢炜, 王建卓, 赵甘霖, 等. 高效液相色谱法测定人血浆中尼莫地平浓度[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(6): 3.
- [4] 司端运, 王申广, 王宏, 等. 血浆中尼莫地平的反相高效液相色谱测定法[J]. 济宁医学院学报. 1995, 18(4): 8.

收稿日期: 2003-04-20