

## 高效液相色谱法测定人血浆中翁丹西隆浓度

谢林 刘晓东 郭旭<sup>1</sup> 刘国卿

(中国药科大学药理学教研室, 南京 210009)

**摘要** 建立了翁丹西隆的高效液相色谱测定法。血浆样品用醋酸乙酯萃取, 以 Zorbax Silica 为固定相, 60% 0.025 mol/L 乙酸钠缓冲液(pH 4.2)、40% 乙腈为流动相, 紫外 310 nm 处测定。采用外标法峰高定量。最低检出浓度达 1 ng/ml, 线性范围 1.0~40.0 ng/ml( $r=0.9996$ ), 平均回收率为  $(95.22 \pm 3.58)\%$  ( $RSD$  3.75%)。用本法测定人血浆中翁丹西隆浓度具有快速、简便、专一性和灵敏度高的优点。

**关键词** 翁丹西隆; 血药浓度; 液-液萃取; 高效液相色谱法

翁丹西隆(葱丹色创, 枢复宁)是一种新型的、高度选择性的 5HT<sub>3</sub> 受体拮抗剂<sup>[1,2]</sup>。临床上用于癌症患者因化学疗法或放射疗法引起的恶心、呕吐。用高效液相色谱法测定人血浆中翁丹西隆的方法较多, 但血浆样品的处理均采用液-固萃取法<sup>[3,4]</sup>, 方法繁琐、费时。我们以液-液萃取为前处理, 高效液相色谱法紫外检测测定人血浆中翁丹西隆浓度的方法, 并获得了满意的结果。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、样品及试剂

仪器: Varian 5060 高效液相色谱仪; Varian UV-100 紫外检测器; Rheodyne 7125 型进样阀; 50  $\mu$ l 样品定量管; HP 3390 A 积分仪; GL-20 全自动高速冷冻离心机(湘仪-TOMY 公司)。

样品: 翁丹西隆标准品, 由香港大学 Ogle 教授赠送; 片剂(每片含 ondansetron 8 mg)批号: LOT W003IFE, Glaxo 产品。

试剂: 乙腈、醋酸乙酯、冰醋酸、乙酸钠等化学试剂均为市售分析纯; 水为重蒸馏水。

### 1.2 血浆样品预处理

取肝素化血浆 2 ml, 加醋酸乙酯 6 ml, 在

旋涡混合器上混旋 3 min, 2 000 r/min 离心 5 min, 取上清液(有机相)5 ml 转移至另一试管中。按上述步骤重复提取一次。合并二次提取液, 置 40  $^{\circ}$ C 恒温水浴上氮气流吹干。残留物用流动相 100.0  $\mu$ l 溶解, 振荡 3 min, 高速离心(12 000 r/min, 5 min), 进样分析。

### 1.3 色谱条件

色谱柱 Zorbax Silica, 250 mm  $\times$  4.6 mm ID, 5  $\mu$ m。流动相由 60% 0.025 mol/L 乙酸钠缓冲液(用冰醋酸调 pH 至 4.2)、40% 乙腈组成。紫外检测波长 310 nm, 吸收量程 0.005 au, 流速 0.8 ml/min, 柱温 35  $^{\circ}$ C。在上述色谱条件下, 翁丹西隆色谱峰达到基线分离, 保留时间约 9 min。色谱图见图 1。

### 1.4 方法论证

1.4.1 线性关系 取肝素化血浆 2 ml, 精密加入不同量的翁丹西隆标准品, 使血浆中药物浓度为 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 ng/ml, 用上述方法进行萃取和测定, 得浓度  $C$  对峰高  $H$  的回归方程:  $C=29.6H-34.9$ ,  $r=0.9996$  ( $n=6$ )。

1.4.2 方法回收率 在做工作曲线时, 所得的翁丹西隆的峰高分别与标准品直接进样的峰高比较, 计算回收率。翁丹西隆各浓度的回

收率见表 1。

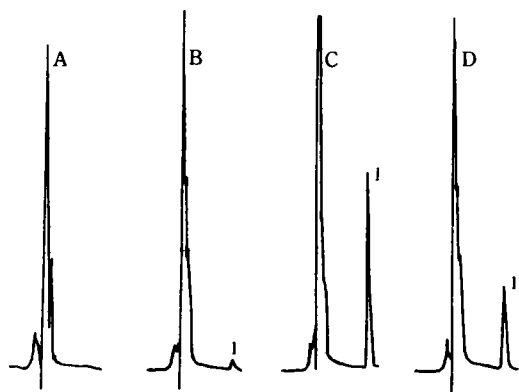


Fig 1. Chromatograms from human plasma extracts; (A) blank plasma; (B) standard containing ondansetron (1 ng/ml); (C) standard containing ondansetron (20 ng/ml); (D) sample from a volunteer 2 h after 8 mg oral dose; I-ondansetron

Tab 1. Recovery of ondansetron,  $n=6$

Added, ng/ml	Found, ng/ml	Recovery, %	RSD, %
1.0	$0.92 \pm 0.06$	$91.83 \pm 5.84$	6.37
5.0	$4.74 \pm 0.11$	$94.93 \pm 2.56$	2.69
10.0	$9.75 \pm 0.37$	$97.13 \pm 3.20$	3.29
20.0	$18.94 \pm 0.54$	$94.70 \pm 2.72$	2.87
40.0	$39.01 \pm 1.43$	$97.52 \pm 3.58$	3.67

1.4.3 方法精密度及检测限 配制一定浓度翁丹西隆标准溶液,加入空白血浆中,按上述方法处理。在一天内测定 6 次,计算日内精密度;每天测定一次,共测 6 d,计算日间精密度。结果见表 2。方法最低检出血浆翁丹西隆浓度为 1 ng/ml( $S/N \geq 3$  计)。

Tab 2. Precision of the method,  $n=6$

Conc., ng/ml	Within-day (peak height)		Between-day (peak height)	
	$\bar{x} \pm s$	RSD, %	$\bar{x} \pm s$	RSD, %
1.0	$24.0 \pm 2.1$	8.74	$24.7 \pm 1.6$	6.61
5.0	$135.0 \pm 5.2$	3.86	$137.8 \pm 3.7$	2.65
10.0	$250.7 \pm 14.0$	5.59	$251.3 \pm 9.4$	3.75
20.0	$482.0 \pm 25.7$	5.33	$486.0 \pm 14.0$	2.88
40.0	$985.8 \pm 53.3$	5.41	$992.8 \pm 36.4$	3.66

## 1.5 方法应用

9 名健康志愿者(年龄 21~23 岁,体重 54~64 kg),经体检肝、肾功能正常。清晨空腹口服翁丹西隆片剂 8 mg,200 ml 温开水送服。服药 3 h 后可进食。于服药后 0.5,1.0,

2.0,2.5,3.0,4.0,6.0,8.0,10.0,12.0 h 由肘静脉取血于肝素化试管中,离心取血浆。经处理后,用高效液相色谱仪测定翁丹西隆的含量。结果见图 2 所示。

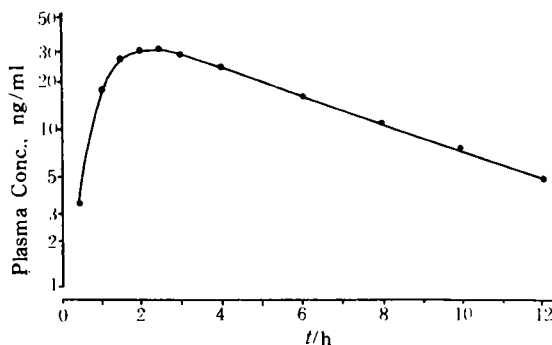


Fig 2. Mean ondansetron plasma concentration-time profile in volunteers ( $n=9$ ) after oral administration of 8 mg ondansetron

## 2 讨论

从实验结果可知,以醋酸乙酯为萃取溶剂,采用液-液萃取法测定人血浆中翁丹西隆浓度的方法快速、简便。血浆样品经 2 次萃取,富集样品浓度,从而增加了检测的灵敏度。从图 1 可见,所采用的血浆样品的处理方法及所选择的色谱条件,较好地去除了血浆杂质的干扰成分,在翁丹西隆色谱峰处无干扰峰出现。本法回收率高( $95.22 \pm 3.58$  %),重现性好( $RSD < 10$  %),符合生物样品的测试要求。故本法适用于翁丹西隆临床血药浓度监测及其药物动力学的研究。

## 参考文献

- Costall B, Domeney AM, Naylor RJ, et al. GR38032F; a potent and novel inhibitor of cisplatin-induced emesis in the ferret. *Br J Pharmacol*, 1987, **90**(suppl):90P
- Brittain RT, Butler A, Coates LH, et al. GR38032F; a novel selective 5HT<sub>3</sub> receptor antagonist. *Br J Pharmacol*, 1987, **90**(suppl):87P
- Colthup PV, Palmer JL, Felgate CC, et al. Determination of ondansetron in plasma and its pharmacokinetics in the young and elderly. *J Pharm Sci*, 1991, **80**(9):868
- Prithchard JF, Bryson JC, Powell JR, et al. Age and gender effects on ondansetron pharmacokinetics; Evaluation of healthy aged volunteers. *Clin Pharmacol Ther*, 1992, **51**(1): 51

# Determination of Ondansetron in Human Plasma by HPLC

Xie Lin, Liu Xiaodong, Guo Xu, Liu Guoqing

Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

**Abstract** A HPLC method was developed for the determination of ondansetron in human plasma. Ondansetron was extracted from plasma using ethyl acetate. HPLC was performed using a Zorbax Silica column (250 mm × 4.6 mm ID, 5 μm) and an UV detector was set at 310 nm. The mobile phase consisted of 60% 0.025 mol/L sodium acetate (adjusted to pH 4.2 with glacial acetic acid) and 40% acetonitrile. The average recovery of ondansetron was  $95.22 \pm 3.58\%$  ( $RSD$  3.76%). The minimum detection concentration of ondansetron in plasma was 1 ng/ml. The standard curve was linear over the concentration range of 1~40 ng/ml ( $r = 0.9996$ ). The method is simple, rapid, sensitive and precise.

**Key words** ondansetron; plasma concentration; liquid-liquid extraction; HPLC

【文摘 001】肉桂油与 β-环糊精包合物的制备 富志军, 张泓. 中成药, 1994, 16(12): 6~7

采用饱和水溶液法、研磨法和胶体磨法三种方法制备了肉桂油与 β-环糊精包合物。将三种方法制备的包合物分别用无水乙醇洗至包合物近无肉桂油香味, 挥去乙醇, 加水适量, 连接挥发油测定器, 按中国药典 1990 版方法测定所含挥发油量(体积)。结果以胶体磨法制备的包合物油利用率最高, 为 36.72%。包合物用差示热分析法和 TLC 分析进行了鉴定。

【文摘 002】中药沙参类研究 V. 镇咳祛痰药理作用比较 屠鹏飞, 张红彬, 徐国钧, 徐珞珊, 金蓉鸾. 中草药, 1995, 26(1): 22~23

对常用的 10 种沙参类生药进行了镇咳、祛痰药理作用比较。药材粉末用乙醇提取, 回收乙醇后, 浸膏加少量蒸馏水振荡成混悬液, 稀释后供试验中。结果莱阳参、河南沙参、泡沙参、川藏沙参具有明显的镇咳作用, 川藏沙参、无柄沙参、泡沙参祛痰作用明显。

【文摘 003】中药首乌类的研究 I. 原植物调查和商品鉴定 李军, 徐国钧, 徐珞珊, 金蓉鸾. 中草药, 1995, 26(1): 33~35

对中药首乌类的原植物调查和商品鉴定表明, 何首乌植物来源单一, 另有同科 2 种植物的块根作何首乌使用; 萝藦科鹅绒藤属 6 种植物的块根分别在不同地区作白首乌使用。列出了原植物鉴定检索表, 基本上搞清了首乌类的基源、分布和产销情况。

【文摘 004】蔓荆子挥发油的分析 吴知行, 巴图仑, 杨尚军, 周胜辉, 周建明. 中草药, 1994, 25(12): 624

用水蒸汽蒸馏法提取蔓荆子挥发油。挥发油成分的分析用 OV 101 弹性石英毛细管柱 (25 m × 0.2 mm) 在 GC-MS 系统上进行鉴定。载气为高纯氮, 柱前压 122.58 kPa, 进样方式: 分流进样 (分流比 10:1), 进样口温度 250℃, 柱温 50℃→250℃, 质谱分辨 1000, 离子源温度 250℃, 电流方式 EI, 电子能量 70 eV, 采用美国 NBS 数据库检索出 20 种成分, 并用峰面积归一化法测定其相对含量。