

# 高效液相色谱法同时测定对乙酰氨基酚和非那西丁的血药浓度

张虹\*,方昱,王淑君(同济大学附属同济医院,上海市 200065)

中图分类号 R971<sup>+</sup>.1;R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2005)08-0607-02

**摘要** 目的:建立以高效液相色谱法同时测定对乙酰氨基酚和非那西丁血药浓度的方法。方法:以 Diamonsil C<sub>18</sub> 为色谱柱,甲醇-水(45:55)为流动相,茶碱为内标,检测波长为 254nm,柱温为室温。结果:对乙酰氨基酚和非那西丁的最低检测浓度为 5μg/ml,线性范围为 5~25μg/ml;方法回收率均 >95%,日内、日间 RSD 均 <4.0%。结论:本法简便、准确,能满足临床对于对乙酰氨基酚和非那西丁血药浓度测定的要求。

**关键词** 高效液相色谱法;对乙酰氨基酚;非那西丁;血药浓度

## Simultaneous Determination of Blood Drug Concentration of Acetaminophen and Phenacetin by HPLC

ZHANG Hong, FANG Yu, WANG Shujun(Tongji Affiliated Hospital of Tongji University, Shanghai 200065, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a HPLC method for the simultaneous determination of blood drug concentration of acetaminophen and phenacetin. METHODS: Diamonil C<sub>18</sub> was used as the chromatographic column, the mobile phase was methanol-water(45:55), theophyllinum was used as internal standard, the detection wavelength was 254nm and the column temperature was set at the room temperature. RESULTS: The minimum determination concentration of acetaminophen and phenacetin was 5μg/ml, the calibration curve was linear in a range from 5~25μg/ml; The recovery rate of both acetaminophen and phenacetin in this method was more than 95%; both the intraday RSD and the interday RSD were less than 4.0%. CONCLUSION: The method is rapid and accurate, which can satisfy the needs of the clinic blood drug concentration determination of paracetamol and phenacetin.

**KEY WORDS** HPLC; Acetaminophen; Phenacetin; Blood drug concentration

df = 30, 双侧  $P = 0.035 < 0.05$ 。由此表明,硝酸甘油口腔速崩片与市售含片对心率影响具有显著性差异。

3.2.2 舒张压压差:近年来的研究表明,舒张压压差是验证硝酸甘油舌下片是否有效的一种比较理想的药理学指标<sup>[3,4]</sup>。因此,笔者比较了两种制剂服药后 3min 之内,受试者舒张压压差降低的趋势,结果详见图 2。

由图 2 可见,服药后 3min 之内,硝酸甘油口腔速崩片对舒张压的降低趋势明显快于市售含片,两者相关方程分别为  $Y = -4.6X + 5.3333 (r = 0.9997)$ ;  $Y = -1.9X + 3 (r = 0.9959)$ 。这一结果与对心率的影响结果一致。

## 4 讨论

\* 副主任药师。研究方向:药物分析。电话:021-56051080-3200。E-mail: hongzh97@yahoo.com.cn

从健康志愿受试者的心率图和舒张压压差图得知,服药后 3min 之内,硝酸甘油口腔速崩片对心率的提高和舒张压的降低明显快于市售含片,经  $t$  检验,两者之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。同时,硝酸甘油口腔速崩片所产生的个体差异(SE)均小于市售含片。这些都可能与速崩片的剂型特点有关。由于速崩片在口腔内遇少量唾液就能迅速崩解,药物溶出相对较快,因此较短时间内就能发挥药效,所以个体差异也较小;而市售含片的崩解时间较长,舌下含化时因受试者的唾液量不同而使药物的溶出快慢不一,因此药物的吸收表现出较大的个体差异。

据文献报道<sup>[5]</sup>,硝酸甘油对健康者心率及舒张压的作用显著低于心脏病患者。因此,推测硝酸甘油口腔速崩片有望成为治疗冠心病的首选剂型,特别是为突发性冠心病患者自救的首选剂型。

## 参考文献

- [1] 刘梅,崔光华. 口腔速崩片的研究进展[J]. 国外医学-药学分册,2000,27(6):347.
- [2] 陈岚,武新安,张国荣. 口腔速崩片的研制与评价[J]. 中国医院药学杂志,2002,22(9):515.
- [3] 赵洪清,姜礼红. 硝酸甘油舌下片在老年健康受试者和患者体内的药物动力学及药效学[J]. 中国临床药理学杂志,2000,9(1):27.
- [4] 平其能. 现代药剂学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1998:10~11.
- [5] 李家泰. 临床药理学[M]. 北京:人民出版社,1992:657~659.

(收稿日期:2004-05-12 修回日期:2004-07-18)

对乙酰氨基酚 (Acetaminophen) 又名扑热息痛 (Paracetamol), 是非那西丁 (Phenacetin) 的体内的代谢产物。二者都是苯胺衍生物, 具有相同的药理作用。对乙酰氨基酚过量急性中毒可致肝坏死; 而非那西丁过量则导致高铁血红蛋白血症。以往文献<sup>[1]</sup>是以非那西丁为内标测定对乙酰氨基酚的血药浓度, 而本实验采用高效液相色谱法, 以茶碱为内标同时测定对乙酰氨基酚和非那西丁血药浓度。结果表明, 本法回收率及精密度都较高, 具有一定的临床应用价值。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪, 包括 LC-9A 泵、SPD-6AV 紫外检测器、C-R4A 数据处理器 (日本岛津公司); XW-80A 旋涡混合器 (上海医科大学仪器厂); 80-2 离心沉淀器 (上海手术仪器厂); TGL-16G 离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 试剂

对乙酰氨基酚对照品、非那西丁对照品、茶碱对照品 (中国药品生物制品检定所); 甲醇 (色谱纯, 上海化学试剂研究所); 所用为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 标准溶液的配制

2.1.1 对乙酰氨基酚标准溶液的配制: 准确称取对乙酰氨基酚对照品 0.025g, 移入 25ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 浓度为 1mg/ml, 置于冰箱中保存。

2.1.2 非那西丁标准溶液的配制: 准确称取非那西丁对照品 0.025g, 移入 25ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 浓度为 1mg/ml, 置于冰箱中保存。

2.1.3 内标溶液的配制: 准确称取茶碱对照品 0.075g, 移入 50ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 浓度为 150μg/ml, 置于冰箱中保存。

### 2.2 色谱条件

分析柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (250mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水 (45:55); 流速: 1.0ml/min; 紫外检测波长 254nm; 柱温: 室温; 灵敏度: 0.02AUFS。

### 2.3 标准曲线的制备

分别用对乙酰氨基酚标准溶液 (1mg/ml) 和非那西丁标准溶液 (1mg/ml) 配制 50、100、150、200、250μg/ml 系列浓度的储备液。取 5ml 具塞离心管, 各加入空白血浆 100μl, 再分别加入各浓度对乙酰氨基酚标准溶液和非那西丁标准溶液 100μl 和内标溶液 300μl, 加入甲醇 400μl, 使对乙酰氨基酚和非那西丁浓度为 5、10、15、20、25μg/ml, 振荡 30s, 离心 (4000r/min) 后取上清液 10μl 进样。分别以对乙酰氨基酚和非那西丁的峰高与内标峰高比 (Y) 对相应浓度 (X) 进行回归, 求得对乙酰氨基酚回归方程为  $Y = 0.0540X + 0.0081$  ( $r = 0.9994$ ); 非那西丁回归方程为  $Y = 0.0377X + 0.0388$  ( $r = 0.9991$ )。

### 2.4 精密度试验

按上述方法配制含对乙酰氨基酚和非那西丁浓度为 5、15、25μg/ml 的血样, 分别按血药浓度测定方法测定日内、日间精密度, 结果详见表 1。

### 2.5 方法回收率试验

测定配制的 3 种已知对乙酰氨基酚和非那西丁浓度的标准血样, 测定浓度与实际浓度之比即为方法回收率, 结果详见表 2。

表 1 对乙酰氨基酚、非那西丁精密度的试验结果

Tab 1 Recovery rates test results for acetaminophen and phenacetin

| 浓度 (μg/ml) | 对乙酰氨基酚             |                    | 非那西丁               |                    |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|            | 日内RSD (%)<br>(n=3) | 日间RSD (%)<br>(n=5) | 日内RSD (%)<br>(n=3) | 日间RSD (%)<br>(n=5) |
| 5.0        | 0.96               | 2.50               | 1.44               | 3.51               |
| 15.0       | 0.45               | 2.00               | 1.29               | 1.50               |
| 25.0       | 0.43               | 2.75               | 0.53               | 2.88               |

表 2 对乙酰氨基酚、非那西丁方法回收率试验结果

Tab 2 Recovery rates test results for acetaminophen and phenacetin

| 浓度 (μg/ml) | 对乙酰氨基酚        |         | 非那西丁          |         |
|------------|---------------|---------|---------------|---------|
|            | 回收率 (%)       | RSD (%) | 回收率 (%)       | RSD (%) |
| 5.0        | 100.80 ± 2.60 | 2.57    | 100.80 ± 2.60 | 2.57    |
| 15.0       | 96.59 ± 1.95  | 2.02    | 98.49 ± 1.95  | 1.13    |
| 25.0       | 101.00 ± 2.80 | 2.77    | 100.45 ± 2.12 | 2.90    |

### 2.6 样品处理及血药浓度测定

取待测血浆 100μl, 置于离心管中, 加入 150μg/ml 内标溶液 300μl, 摇匀, 加入甲醇 600μl, 旋涡振荡 30s, 4000r/min 离心 15min。取上清液 10μl 进样, 记录色谱峰高。对乙酰氨基酚色谱峰保留时间约为 4.3min, 茶碱色谱峰保留时间约为 5.3min, 非那西丁色谱峰保留时间约为 16.8min, 血样处理后杂质均在此之前出峰, 不干扰测定。由对乙酰氨基酚和非那西丁峰高与内标峰高之比代入各自标准曲线方程, 求得对乙酰氨基酚和非那西丁的血药浓度, 详见图 1。

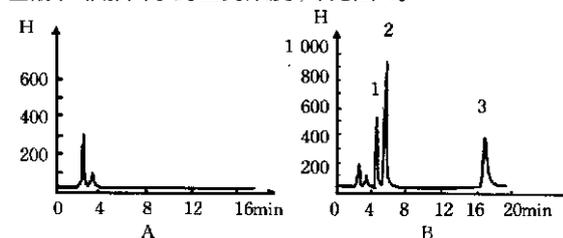


图 1 高效液相色谱

A. 空白血浆; B. 空白血浆 + 内标 + 对照品; 1. 对乙酰氨基酚; 2. 茶碱; 3. 非那西丁

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma + internal standard + reference substance; 1. acetaminophen; 2. theophyllin; 3. phenacetin

## 3 讨论

本法血浆样品直接加入甲醇提取, 提取完全、稳定, 且有机相不需挥干可直接进样, 方法简便、选择性较强。

以往有过同时测定 2 种药物浓度的实验<sup>[2]</sup>, 但并没有采用内标法。参照有关文献<sup>[1-3]</sup>, 从提取方法到仪器分析的色谱条件本实验都做了较多的筛选和摸索, 使方法具有快速、灵敏的优点, 可应用于对乙酰氨基酚和非那西丁临床血药浓度的监测。

### 参考文献

- [1] 缪海均, 周哲, 邵元福, 等. HPLC 测定微量小鼠血浆中对乙酰氨基酚的浓度 [J]. 中国现代应用药学杂志, 1998, 15(3): 23.
- [2] 周瑾, 张榕平, 陈淑玲. 高效液相色谱法测定金刚感冒片中两种成分的含量 [J]. 海峡药学, 1999, 11(3): 68.
- [3] 王玉, 陈西敬, 张正行, 等. 高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚的血药浓度及其生物利用度 [J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 11(2): 97.

(收稿日期: 2004-05-15 修回日期: 2004-07-21)