

LC-MS/MS法测定人血浆中伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚的浓度^Δ

杨汉煜^{1*}, 牛桂珍², 胡玉钦³, 赵曦¹, 高娜¹[1. 石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 石家庄 050035; 2. 石药集团中诺药业(石家庄)有限公司, 石家庄 050000; 3. 白求恩国际和平医院临床药理室, 石家庄 050051]

中图分类号 R969.1; R974^{*}.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)34-3203-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.34.13

摘要 目的: 建立同时测定人血浆中伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚浓度的方法。方法: 采用液-质联用(LC-MS/MS)法, 取血浆样品 0.5 ml 经固相萃取后, 以甲醇-2 mmol/L 醋酸铵(0.5% 甲酸溶液)(35:65, V/V)为流动相, *O*-去甲基右美沙芬为内标, 经 C₁₈ 柱分离; 采用双质谱(MS/MS)检测器, 电喷雾离子源(ESI), 以正离子多反应监测(MRM)方式进行定量分析, 用于监测的离子为 *m/z* 166.4→*m/z* 115.2(伪麻黄碱)、*m/z* 300.5→*m/z* 215.2(可待因)、*m/z* 199.3→*m/z* 125.2(愈创木酚甘油醚)、*m/z* 258.2→*m/z* 157.1(内标)。结果: 伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚血药浓度分别在 1.0~1 000.0 ng/ml($r=0.999\ 1$)、0.5~500.0 ng/ml($r=0.999\ 6$)、5.0~5 000.0 ng/ml($r=0.999\ 7$) 范围内线性关系良好; 定量下限分别为 1.0、0.5、5.0 ng/ml; 提取回收率分别在 64.6%~69.1%、68.3%~72.8%、72.5%~75.5% 之间, 日内、日间 RSD 均 < 8.0%。结论: 本方法专属性强、灵敏、准确, 适用于伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的临床药动学研究。

关键词 伪麻黄碱; 可待因; 愈创木酚甘油醚; 液-质联用法; 药动学

Determination of Pseudoephedrine, Codeine and Guaifenesin Concentrations in Human Plasma by LC-MS/MS

YANG Han-yu¹, NIU Gui-zhen², HU Yu-qin³, ZHAO Xi¹, GAO Na¹ (1. Shijiazhuang Pharmaceutical Group Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050035, China; 2. Shijiazhuang Pharmaceutical Group Novo Pharmaceutical (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China; 3. Dept. of Clinical Pharmacology, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the determination of pseudoephedrine, codeine and guaifenesin concentration in human plasma. METHODS: LC-MS/MS method was adopted. Pseudoephedrine, codeine, guaifenesin were solid-extracted from 0.5 ml plasma sample using *O*-desmethyl dextromethorphan as internal standard (IS). The samples were separated on C₁₈ column with mobile phase composed of methanol-2 mmol/L ammonium acetate (0.5% formic acid, 35:65, V/V). MS/MS detector and Electrospray ionization source (ESI) were applied and operated in positive ion MRM. Multiple reaction monitoring with mass transitions *m/z* 166.4→*m/z* 115.2, *m/z* 300.5→*m/z* 215.2, *m/z* 199.3→*m/z* 125.2 and *m/z* 258.2→*m/z* 157.1 were used for pseudoephedrine, codeine, guaifenesin and IS, respectively. RESULTS: The linear ranges were 1.0-1 000.0 ng/ml ($r=0.999\ 1$) for pseudoephedrine, 0.5-500.0 ng/ml ($r=0.999\ 6$) for codeine and 5.0-5 000.0 ng/ml ($r=0.999\ 7$) for guaifenesin. The lowest limits of quantification were 1.0 ng/ml, 0.5 ng/ml and 5.0 ng/ml; the extraction recoveries were between 64.6% -69.1%, 68.3% -72.8% and 72.5% -75.5%, respectively. RSDs of intra-day and inter-day were all less than 8.0%. CONCLUSIONS: The method is specific, sensitive and accurate, and suitable for clinical pharmacokinetics study of pseudoephedrine, codeine and guaifenesin.

KEY WORDS Pseudoephedrine; Codeine; Guaifenesin; LC-MS/MS; Pharmacokinetics

愈创木酚伪麻待因口服溶液是一种新型复方制剂, 其主要成分为盐酸伪麻黄碱、磷酸可待因和愈创木酚甘油醚。临床主要适用于缓解无痰干咳或少痰的剧烈、频繁咳嗽, 并可减轻鼻塞等症状。伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚血药浓度测定方法国内外已有文献报道^[1-5]。但目前国内外均采用液-液萃取进行样品预处理后, 通过高效液相色谱(HPLC)法或液-质联

用(LC-MS/MS)法对 3 种组分分别进行测定, 所采用方法均较复杂、烦琐、干扰大且检测灵敏度低, 不适用于同时含有伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚的生物样品的测定。笔者建立了同时测定血浆样品中伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚 3 种组分的专属、灵敏、快速的 LC-MS/MS 法和简便的血浆样品预处理方法, 并将其应用于临床药动学样品的分析。

multaneous quantitation of multiple components in plasma [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*,

Δ 基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(No.2011ZX09401-306)

* 高级工程师。研究方向: 药理学试验。电话: 0311-67808866。E-mail: sjzhangqi@163.com

2003, 788(2): 331.

[4] 国家食品药品监督管理局. WS1-(X-058)-2002Z 氟罗沙星葡萄糖注射液[S]. 2002-01-01.

[5] 朱平. 高效液相色谱法测定氟罗沙星葡萄糖注射液中氟罗沙星的含量[J]. 山西医科大学学报, 2008, 39(2): 152.

(收稿日期: 2013-04-22 修回日期: 2013-06-28)

1 材料

1.1 仪器

API 4000型 HPLC-TQ MS联用仪,配有电喷雾离子化ESI源、Analyst 1.4.2软件(美国AB公司);Shimadzu 20A系统色谱系统,含二元梯度泵、在线脱气机、自动进样器、柱温箱(日本岛津公司);SPE柱:Oasis HLB C₁₈(美国Waters公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸伪麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,纯度:100%,批号:171237-200304);磷酸可待因对照品(中国食品药品检定研究院,纯度:100%,批号:1712036-200504);愈创木酚甘油醚对照品(中国食品药品检定研究院,纯度:100%,批号:100528-200401);*O*-去甲基右美沙芬对照品(加拿大TRC公司,纯度:100%,批号:D299485);甲醇、甲酸均为色谱纯;试验用水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

分析柱:MG S-5 C₁₈柱(50 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-2 mmol/L醋酸铵(0.5%甲酸水溶液)(35:65, V/V);流速:0.5 ml/min;进样体积:10 μl;柱温:20 °C。

2.2 质谱条件

电喷雾离子化源(ESI);电离电压:5.5 kV;卷帘气、雾化气、辅助气和碰撞气均为N₂,流量分别为20、50、45、8 L/min;毛细管雾化温度:550 °C。正离子方式检测;扫描方式:正离子多反应监测(MRM);用于定量分析的离子反应分别为 m/z 166.4→ m/z 115.2(伪麻黄碱)、 m/z 300.5→ m/z 215.2(可待因)、 m/z 199.3→ m/z 125.2(愈创木酚甘油醚)、 m/z 258.2→ m/z 157.1(内标,*O*-去甲基右美沙芬),驻留时间均为100 ms。

2.3 血浆样品处理

精密吸取血浆样品0.5 ml,置2 ml离心管中,加入内标溶液0.05 ml,精密加入水0.15 ml,涡旋混合0.5 min,备用;按下述步骤经C₁₈萃取柱予以处理:依次用甲醇(含0.5%甲酸)2.0 ml、水2.0 ml活化,加入上述稀释的血浆样品,依次用水1.0 ml、20%甲醇水溶液1.0 ml淋洗,除去干扰杂质,用80%甲醇(含0.5%甲酸)0.5 ml缓慢洗脱,收集洗脱液于带塞试管中,涡旋混合0.5 min,取10 μl进样。

2.4 质谱分析

采用正离子方式检测,在一级全扫描质谱中,基峰均为质子化的准分子离子峰[M+H]⁺,分别为 m/z 166.4、 m/z 300.5、 m/z 199.3和 m/z 258.2。选择性对[M+H]⁺峰进行二级质谱分析(见图1),并选择主要的碎片离子 m/z 115.2、 m/z 215.2、 m/z 125.2和 m/z 157.1作为MRM定量分析监测的产物离子。

2.5 方法专属性考察

用“2.3”项下处理方法及测试条件分析了空白血浆样品、含药血浆样品和健康受试者给药后收集的血浆样品。结果表明,血浆中的杂质不干扰伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚和内标的测定。伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚和内标的保留时间分别约为1.6、1.3、5.0、2.8 min(见图2),本法具有较高的专属性。

2.6 标准曲线的制备

取空白人血浆0.5 ml,加入含有伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚的标准系列对照品溶液0.05 ml,混匀,得到含有药物的人血浆标准系列样本,该血浆标准系列样本中3种组分的血药浓度分别为:伪麻黄碱1.0、2.0、8.0、40.0、200.0、1 000.0 ng/ml,

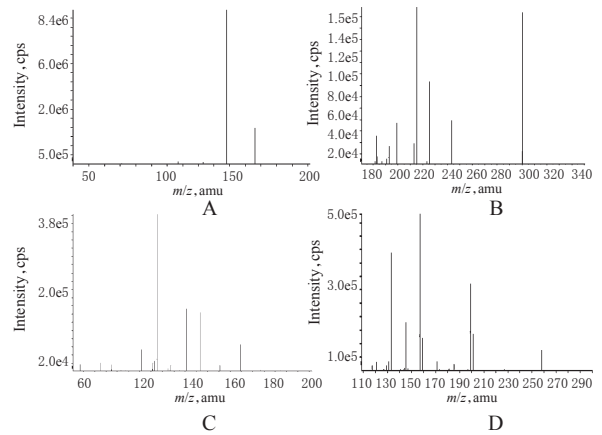


图1 ESI二级质谱全扫描质谱图

A.伪麻黄碱;B.可待因;C.愈创木酚甘油醚;D.*O*-去甲基右美沙芬

Fig 1 ESI full scan mass spectra

A. pseudoephedrine; B. codeine; C. guaifenesin; D. *O*-desmethyl dextromethorphan

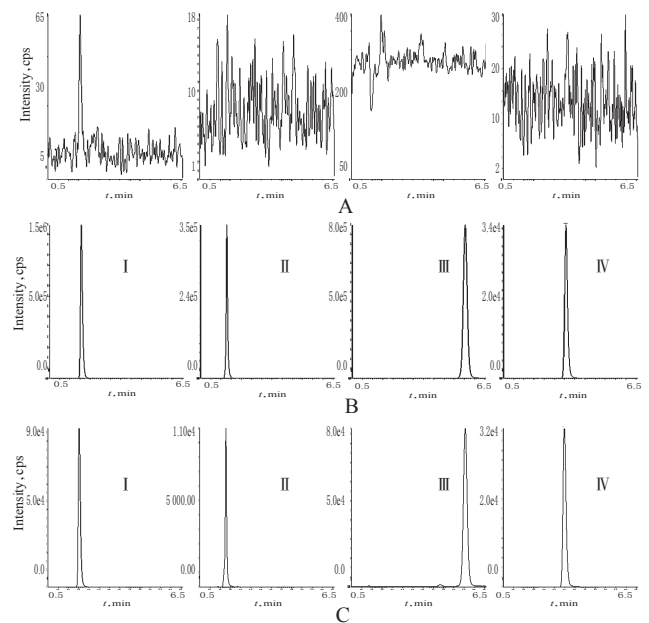


图2 MRM色谱图

A.空白血浆;B.空白血浆中加入伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚和内标;C.健康志愿者服药2 h后血浆加内标; I.伪麻黄碱; II.可待因; III.愈创木酚甘油醚; IV.*O*-去甲基右美沙芬

Fig 2 MRM chromatograms

A. blank plasma; B. blank plasma+pseudoephedrine, codeine, guaifenesin and internal standard; C. plasma sample of healthy volunteers 2 h after medication+internal standard; I. pseudoephedrine; II. codeine; III. guaifenesin; IV. *O*-desmethyl dextromethorphan

可待因0.5、1.0、4.0、20.0、100.0、500.0 ng/ml,愈创木酚甘油醚5.0、10.0、40.0、200.0、1 000.0、5 000.0 ng/ml,其余按“2.3”项下操作,进样10 μl,记录色谱图。以伪麻黄碱、可待因或愈创木酚甘油醚的浓度(c)为横坐标,伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚与内标的峰面积比(A)为纵坐标,采用加权($1/c^2$)最小二乘法进行回归,分别绘制伪麻黄碱、可待因或愈创木酚甘油醚的标准曲线^[6]。得典型回归方程分别为: $A=0.028 1c+0.003 24$ ($r=0.999 1, n=6$)、 $A=0.010 4c+0.001 11$ ($r=0.999 6, n=6$)、

$A=0.00667c-0.00796$ ($r=0.9997, n=6$)。三者血药浓度分别在 1.0~1 000.0、0.5~500.0、5.0~5 000.0 ng/ml 范围内线性关系良好,定量下限分别为 1.0、0.5、5.0 ng/ml。

2.7 精密度试验

按“2.6”项下方法配制含有伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚低、中、高 3 种血药浓度(伪麻黄碱分别为 2.0、40.0、800.0 ng/ml,可待因分别为 1.0、20.0、400.0 ng/ml,愈创木酚甘油醚分别为 10.0、200.0、4 000.0 ng/ml)的人血浆质控(QC)样本,每种浓度 6 份,连续测定 4 批,并与标准曲线同时进行。以当日的标准曲线计算 QC 样品的浓度,与配制浓度对照,采用单因素方差分析法考察本方法的精密度与准确度。本法的日内、日间 RSD 均 < 7.5%,偏差(RE)在 ± 8.0% 范围内,结果见表 1、表 2、表 3。

表 1 血浆中伪麻黄碱精密度试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Precision of pseudoephedrine in human plasma ($n=6$)

加入量, ng/ml	日内精密度		日间精密度	
	测得量, ng/ml	RSD, %	测得量, ng/ml	RSD, %
2.0	2.01 ± 0.06	2.99	1.96 ± 0.07	3.57
40.0	39.70 ± 0.33	0.83	39.10 ± 0.96	2.46
800.0	792.10 ± 10.70	1.35	788.30 ± 12.50	1.59

表 2 血浆中可待因精密度试验结果 ($n=6$)

Tab 2 Precision of codeine in human plasma ($n=6$)

加入量, ng/ml	日内精密度		日间精密度	
	测得量, ng/ml	RSD, %	测得量, ng/ml	RSD, %
1.0	1.03 ± 0.05	4.85	1.04 ± 0.04	3.85
20.0	20.10 ± 0.45	2.24	19.90 ± 1.48	7.44
400.0	408.70 ± 4.08	1.00	419.20 ± 7.95	1.90

表 3 血浆中愈创木酚甘油醚精密度试验结果 ($n=6$)

Tab 3 Precision of guaifenesin in human plasma ($n=6$)

加入量, ng/ml	日内精密度		日间精密度	
	测得量, ng/ml	RSD, %	测得量, ng/ml	RSD, %
10.0	9.91 ± 0.33	3.33	9.80 ± 0.47	4.80
200.0	198.90 ± 3.27	1.64	202.70 ± 5.68	2.80
4 000.0	3 954.90 ± 76.70	1.94	3 882.10 ± 94.60	2.44

2.8 提取回收率及基质效应考察

按“2.6”项下方法配制含有伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚低、中、高 3 种浓度(伪麻黄碱分别为 2.0、40.0、800.0 ng/ml,可待因分别为 1.0、20.0、400.0 ng/ml,愈创木酚甘油醚分别为 10.0、200.0、4 000.0 ng/ml)的 QC 样品,每种浓度 6 份,按“2.3”项下操作,处理后进样,记录伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的峰面积为 A_s 。另分别取上述 3 种浓度的水溶液,用经固相萃取后所得到的空白基质溶液稀释成相应的浓度,直接进样分析,分别记录伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的峰面积为 A_{sm} 。再分别取上述 3 种浓度的水溶液,用流动相分别稀释成相应的浓度,不经萃取直接进相同量的样,以此为标准,分别记录伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的峰面积为 A_{sd} 。血浆中伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的提取回收率(%) = $A_s/A_{sm} \times 100\%$; 血浆中伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的基质效应(%)^[7] = $A_{sm}/A_{sd} \times 100\%$ 。结果,低、中、高 3 种浓度下血浆中伪麻黄碱的提取回收率分别为 64.6%、64.4%、69.1%,可待因的提取回收率分别为 72.8%、68.3%、69.0%,愈创木酚甘油醚的提取回收率分别为 72.5%、73.2%、75.5%。低、中、高 3 种浓度下血浆中伪麻黄碱的基质效应分别为 90.4%、91.2%、92.7%,可待因分别为 88.7%、87.6%、89.3%,愈创木酚甘油醚分别为 96.6%、98.8%、94.5%。内标溶液经同法处理,其提取

回收率为 72.1%,基质效应为 93.8%。结果表明,本方法不存在基质效应,伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚与内标的提取回收率均较稳定。

2.9 稳定性考察

本试验考察了血浆样品在室温放置 4 h、处理后的血浆样品室温放置 24 h(在自动进样器中)及血浆样品反复冻融 3 次的稳定性。结果表明,伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚在上述条件下均稳定。

2.10 受试者药-时曲线

10 例健康受试者单剂量口服愈创木酚甘油醚因口服溶液 10 ml(其中含盐酸伪麻黄碱 60 mg、磷酸可待因 20 mg、愈创木酚甘油醚 200 mg)后的药-时曲线见图 3。

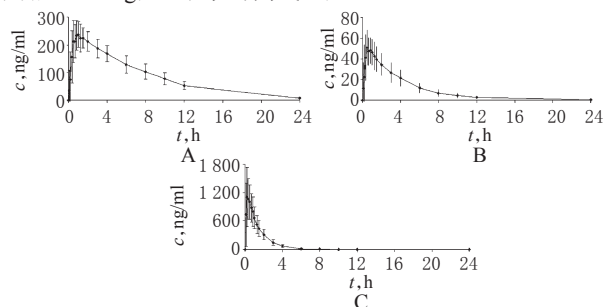


图 3 10 例健康受试者单剂量口服愈创木酚甘油醚因口服溶液 10 ml 后的平均药-时曲线

A. 伪麻黄碱; B. 可待因; C. 愈创木酚甘油醚

Fig 3 Mean plasma concentration-time curves of 10 healthy volunteers after oral administration of the oral solution

A. pseudoephedrine; B. codeine; C. guaifenesin

3 讨论

LC-MS/MS 法测定血浆中伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚的方法已有文献报道^[1-5],但均采用液-液提取法进行生物样品前处理方法^[1-7],样品经前处理后采用 HPLC 法或 LC-MS/MS 法进行单独测定。文献方法操作复杂、烦琐、步骤多、干扰大,并需要用到大量的有机溶剂,样品前处理耗时费力且污染环境,而且无法同时兼顾理化性质差异较大的多种化合物的萃取和测定,不适用于血浆中 3 种组分的联合测定。本文采用固相萃取法进行血浆样品的前处理,方法简单、快速、准确、可靠,简化了操作步骤,有效避免了操作中所造成的污染,有机试剂用量较少,血浆样品处理省时、省力。

本试验所建立的 LC-MS/MS 法可同时测定血浆样品中伪麻黄碱、可待因和愈创木酚甘油醚的浓度,大大节约了分析测试时间,不仅能缩短临床试验周期,而且可以充分利用有限且不可重复获得的生物样品。

本试验所建立的 LC-MS/MS 法,经认真摸索血浆样品前处理方法和色谱、质谱分析条件,将 3 种在理化性质和色谱行为方面存在较大差异的物质同时进行测定,而且克服了基质效应、残留污染等的影响。采用本试验所建立的 LC-MS/MS 法对血浆样品进行分析,样品用量少(仅用 0.5 ml 血浆样品),血浆中内源性物质对测定无干扰,方法的灵敏度和选择性高(伪麻黄碱、可待因、愈创木酚甘油醚的定量下限分别为 1.0、0.5、5.0 ng/ml),而且大大缩短了分析周期,每个样品所需分析时间仅为 5.5 min。本方法回收率高且稳定,灵敏度、精密度和准确度均较高,专属性强,能够满足愈创木酚甘油醚口服溶液的临床药动力学研究的要求。

2011年包头地区细菌耐药性监测

张秀杰*,高慧灵,姜采荣,侯凯,王巧莲,赵国君,林凤,胡瑞谦(包头市第四医院,内蒙古包头 014030)

中图分类号 R978.1;R969.3;R446.5

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)34-3206-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.34.14

摘要 目的:了解包头地区2011年临床分离病原菌对常用抗菌药物的耐药状况,为临床合理应用抗菌药物提供依据。方法:收集包头地区6家三级综合医院2011年临床送检标本分离菌株及药敏试验数据,根据美国临床实验室标准化协会(CLSI)2010年标准判断结果,采用WHONET 5.5软件完成统计分析。结果:共分离出病原菌5 257株,其中革兰阴性菌3 906株(占74.3%),以大肠埃希菌、克雷伯菌属、铜绿假单胞菌、不动杆菌属、肠杆菌属多见,产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌属的检出率分别为65.4%和39.7%;革兰阳性菌1 351株(占25.7%),以凝固酶阴性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、肠球菌属、肺炎链球菌多见,其中金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌中甲氧西林耐药株的检出率分别为46.3%和72.1%。亚胺培南对革兰阴性杆菌仍保持较强的抗菌作用,万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺对革兰阳性球菌仍保持较强的抗菌作用,未检出耐万古霉素、替考拉宁、利奈唑胺的葡萄球菌属菌株。结论:本地区细菌耐药性较为严重,应该严格执行《抗菌药物临床应用指导原则》,根据病原菌种类、细菌药敏试验结果以及抗菌药物的适应证选择抗菌药物,以保证抗菌药物的合理应用。

关键词 抗菌药物;耐药性;合理用药

Surveillance of Bacterial Resistance in Baotou Area in 2011

ZHANG Xiu-jie, GAO Hui-ling, JIANG Cai-rong, HOU Kai, WANG Qiao-lian, ZHAO Guo-jun, LIN Feng, HU Rui-qian(The Fourth Hospital of Baotou, Inner Mongolia Baotou 014030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the resistance of clinical isolates to commonly used antibiotics in Baotou area in 2011, and to provide reference for the rational use of antibiotics. METHODS: Strains isolated from 6 third-grade general hospitals of Baotou area in 2011, and the data of susceptibility test were collected. WHONET 5.5 software was used for data analysis according to 2010 CLSI breakpoints. RESULTS: After analyzing clinical isolates from 6 third-grade general hospitals of Baotou area, a total of 5 257 clinical strains were collected in 2011, of which 3 906 strains of Gram-negative bacterium accounted for 74.3%, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*, *Enterobacter spp* as the most common strains. The prevalence of ESBLs producing strains was 65.4% in *E. coli* and 39.7% in *Klebsiella spp*; 1 351 strains of Gram-positive bacterium accounted for 25.7%, coagulase negative *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Streptococcus pneumoniae* as the most common strains. The prevalence of Methicillin-resistant strains was 46.3% in *S.aureus* and 72.1% in coagulase negative *Staphylococcus*. Imipenem was still sensitive to Gram-negative bacterium. Gram-positive organisms showed highest susceptibility to vancomycin, teicoplanin and linezolid. There was no *Staphylococcus spp* resistant to vancomycin, teicoplanin and linezolid. CONCLUSIONS: The drug resistance of clinical isolated strains is serious in Baotou area. We must strictly enforce *Guiding Principles of Clinical Use of Antibiotics*. Antibiotics should be used according to the type of pathogenic bacteria, drug sensitivity test and indications in order to guarantee rational use of antibiotics.

KEY WORDS Antibiotics; Drug resistance; Rational drug use

[致谢:本研究得到了石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司赵曦、高娜、牛桂珍和白求恩国际和平医院临床药理室胡玉钦等人的帮助,特此致谢!]

参考文献

- [1] 杨汉煜,陈笑艳,钟大放,等.液相色谱-串联质谱法测定人血浆中的伪麻黄碱浓度[J].沈阳药科大学学报,2001,18(2):116.
- [2] 任斌,何林,蒋学华,等.磷酸可待因缓释片人体多剂量药动学及生物利用度[J].中国医院药学杂志,2001,21(6):330.
- [3] 葛庆华,周臻,支晓瑾,等.血浆中去甲右美沙芬和愈创木酚甘油醚的HPLC测定[J].中国医药工业杂志,2004,35

(1):32.

- [4] 杜月,钟大放,肇丽梅,等.愈美分散片人体药动学及制剂生物等效性研究[J].沈阳药科大学学报,2001,18(3):157.
- [5] Stavchansky S, Demirbas S, Reyderman L, et al. Simultaneous determination of dextrorphan and guaifenesin in human plasma by liquid chromatography with fluorescence detection[J].*J Pharm Biomed Anal*, 1995, 13(7):919.
- [6] 钟大放.以加权最小二乘法建立生物分析标准曲线的若干问题[J].药物分析杂志,1996,16(5):343.
- [7] Causon R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis[J].*J Chromatogr Biomed Sci Appl*, 1997, 689(1):175.

(收稿日期:2013-06-10 修回日期:2013-06-28)

* 主任药师。研究方向:医院药学。电话:0472-3103178。E-mail:bt dsyyjk@126.com