

# HPLC法测定人血清中头孢噻利的浓度

涂厉标\*,李旭梅,计建军(嘉兴学院附属第二医院,浙江 嘉兴 314000)

中图分类号 R969.1;R978.1\*1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)30-2814-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.30.11

**摘要** 目的:建立并优化一种简单、快速、高灵敏和高选择性测定人体血清中头孢噻利浓度的方法。方法:以万古霉素为内标,血清样品用20%硫酸锌沉淀蛋白后取上层水相直接进样,以高效液相色谱(HPLC)法测定,色谱柱为Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)和填充相同材料的预柱Agilent TC-C<sub>18</sub>柱,流动相为乙腈-0.05 mg/L 磷酸二氢钾(10:90),流速为1.0 ml/min,紫外检测波长为254 nm。结果:头孢噻利血药浓度在1~200 mg/L范围内线性关系良好( $r=0.999\ 8$ );平均方法回收率、平均提取回收率分别为99.67%和76.17%,日内、日间RSD均小于9%。结论:本法简便、快速、准确可靠、灵敏度高,适合临床常规血药浓度的监测和实验课题的研究。

**关键词** 头孢噻利;高效液相色谱法;血药浓度

## Determination of Cefoselis Concentration in Human Serum by HPLC

TU Li-biao, LI Xu-mei, JI Jian-jun (The Second Affiliated Hospital of Jiaxing College, Zhejiang Jiaxing 314000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a simple, rapid, high sensitive and selective method for the determination of cefoselis in human serum. METHODS: Using vancomycin as internal standard, HPLC method was adopted. The serum samples were deproteinized with 20% zinc sulfate, and then the upper aqueous phase was injected to HPLC. The analysis was performed on Agilent TC-C<sub>18</sub> (2) column and Agilent TC-C<sub>18</sub> pre-column filled with the same material. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate (10:90) at the flow rate of 1.0 ml/min. UV wavelength was set at 254 nm. RESULTS: The linear range of cefoselis were 1-200 mg/L ( $r=0.999\ 8$ ). The average method recovery and average extraction recovery were 99.67% and 76.17%. The RSD for intra-day and inter-day assays were less than 9%. CONCLUSIONS: The method is simple, rapid, accurate, reliable and sensitive, and can be used for serum concentration monitoring and subject study of cefoselis.

**KEYWORDS** Cefoselis; HPLC; Serum concentration

系统的不熟悉所引起的,故建议药房应加强宣传力度,多角度、多渠道、全方位地指导与宣传合理用药知识:(1)通过开办用药知识宣传栏、杂志、飞信及微信提示、网络平台等媒体使医师、护士及药师学习《医疗机构药事管理暂行规定》、用药知识,使一线医护人员了解退药造成的危害性<sup>[7]</sup>;(2)药房定期为临床提供需要特殊管理储存的药品目录,保证药品离开药房后的质量安全问题;(3)临床药师要利用自己的专业特长,为医师提供药学前沿信息,全面分析药物发挥药效的全过程,同时耐心回答患者用药的疑虑,指导其科学用药;(4)联合信息科定期对医护人员进行信息系统的培训。

### 4.5 加强临床医师对抗菌药物的学习

在退药药品种类分析中发现,抗微生物药的比例排首位,故建议定期组织医护人员学习《抗菌药物临床使用指导原则》的相关规定,根据患者病情需要、药敏试验结果、经济情况等为患者设计合理的个体化治疗方案。

### 4.6 完善信息系统

电脑录错和其他原因如系统漏洞造成的退药比例占7%左右。笔者在工作中发现HIS和医嘱系统中时常会开出药房库存为零或者从未存在的药品品种,从而导致患者退药。建议信息维护及系统编程人员及时完善系统,计算机操作人员学习计算机的相关知识,熟悉系统,熟练操作步骤,防止操作错误<sup>[8]</sup>。

综上,退药现象普遍存在<sup>[9-10]</sup>,不仅会导致人力资源的浪费,增加了药品管理的难度,还使药品的质量难以保证。如何

做到既执行国家规定又体现以患者为中心的宗旨,需要全体医护人员一起努力。相信在药品管理者、医师、护士、患者的共同努力下,医院的退药管理工作将越来越规范。

### 参考文献

- [1] 卫生部,国家中医药管理局.医疗机构药事管理规定[S]. 2011-03-01.
- [2] 康世银,宋文静.住院患者退药情况分析[J].青海医药杂志,2009,39(9):76.
- [3] 汪磊,何勇.2011年10-12月住院药房退药现状与分析[J].临床合理用药杂志,2012(14):143.
- [4] 潘柏良,谢宝芬,张红梅.10 622例住院患者退药情况分析[J].中国药业,2011,20(10):57.
- [5] 杜书章,岳晓红,张晓坚,等.我院住院药房退药事件致人力资源成本损失探讨[J].中国药房,2011,22(21):2 008.
- [6] 高玲,曹梅,胡克勤.我院退药综合调查分析[J].中国医院药学杂志,2006,26(10):1 302.
- [7] 陶永贞,李刚,施保环.我院住院药房退药情况分析[J].中国医药导报,2009,6(2):118.
- [8] 唐镜波,孙新.药害与不合理用药的监控[J].中国药科大学学报,2001,32(4):241.
- [9] 麻斌喜,林伊梅.某院病区药房退药情况的调查分析[J].中国医药指南,2012,10(20):507.
- [10] 徐艳,朱轶红.我院住院药房退药原因分析与对策建议[J].中国药房,2012,23(17):1 624.

(收稿日期:2013-09-07 修回日期:2014-06-02)

\* 主任药师。研究方向:医院药学。电话:0573-2059265。E-mail:tulu88ba@163.com

硫酸头孢噻利(Cefoselis sulfate)是新型第四代注射用 $\beta$ -内酰胺类高效广谱头孢菌素,对大多数革兰阴性菌和阳性菌都具有良好的抗菌活性<sup>[1]</sup>,临床上已普遍开始应用。头孢噻利通过抑制细菌细胞壁合成过程中粘肽链的交叉连接,使细胞不能形成完整的细胞壁。其对 $\beta$ -内酰胺酶稳定性好,使其不易诱导耐药株,从而维持其敏感性;加强了对革兰阳性菌的作用,抗菌谱更广<sup>[2]</sup>。目前国内、外常用的头孢噻利制剂的质量控制方法为高效液相色谱(HPLC)法,而对其血药浓度的测定国内、外鲜见报道。本文采用硫酸锌进行蛋白沉淀,以万古霉素为内标,以HPLC法测定血清中头孢噻利的血药浓度。结果表明,此法简便、快速、准确可靠、灵敏度高,适合临床常规血药浓度的监测和实验课题的研究。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(包括在线脱气机、四元泵、柱温箱、二极管阵列检测器、Agilent 色谱工作站及手动进样系统);涡旋混合器(上海医科大学仪器厂);恒温水浴锅(上海申胜生物技术有限公司);台式低速离心机(上海医疗器械有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

硫酸头孢噻利对照品(江苏豪森制药有限公司,批号:131003,含量:99.5%);万古霉素标准品(中国食品药品检定研究院,批号:30360-200301);乙腈为色谱纯,硫酸锌、磷酸二氢钾均为分析纯,水为自制双重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);保护柱:Agilent TC-C<sub>18</sub>(12.5 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈-0.05 mg/L 磷酸二氢钾(10:90);流速:1.0 ml/min;紫外检测波长:254 nm;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:20  $\mu$ l。在该色谱条件下,硫酸头孢噻利和万古霉素分离良好;空白血清对硫酸头孢噻利和万古霉素无干扰(见图1)。头孢噻利、万古霉素保留时间分别为6.4、9.2 min,10 min之内可完成一个血清样品分离检测。

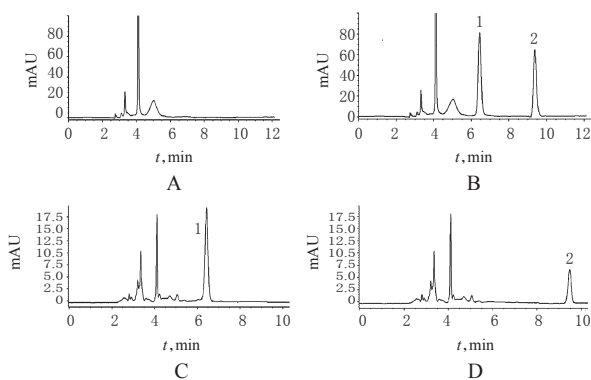


图1 高效液相色谱图

A.空白血清;B.血清样品+内标溶液;C.头孢噻利对照品溶液;D.内标;  
1.头孢噻利;2.万古霉素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank serum; B. serum samples+internal standard; C. cefoselis control; D. vancomycin control; 1. cefoselis; 2. vancomycin

### 2.2 溶液配制

2.2.1 流动相水相:准确称取磷酸二氢钾2.70 g,用1 000 ml水溶解,配制成浓度为0.27%的磷酸二氢钾溶液。

2.2.2 标准贮备液:准确称取头孢噻利对照品,用水溶解并稀释,制成质量浓度均为1 mg/ml的标准溶液,于4  $^{\circ}$ C下避光保存。

2.2.3 内标溶液:取万古霉素标准品适量,配制成质量浓度为80  $\mu$ g/ml内标溶液。

### 2.3 血清样品预处理

取内标溶液100  $\mu$ l置于5 ml刻度离心管中,加待测血清200  $\mu$ l,混匀,加20%硫酸锌溶液50  $\mu$ l,涡旋混合2 min,以离心半径为8 cm、转速4 000 r/min离心10 min,取20  $\mu$ l上清液进样分析。

### 2.4 标准曲线的制备

分别取标准贮备液适量,通过适当比例稀释配制成质量浓度分别为2、10、20、40、100、200、400  $\mu$ g/ml的系列标准溶液,分别精密量取头孢噻利系列标准溶液各100  $\mu$ l和内标溶液100  $\mu$ l,加入空白血清100  $\mu$ l,配制成含头孢噻利浓度分别为1、5、10、20、50、100、200  $\mu$ g/ml的血清样品。按“2.3”项方法进行血样处理,分别在“2.1”项色谱条件下测定头孢噻利和万古霉素的峰面积,以血清中头孢噻利的浓度(x)为横坐标,头孢噻利与内标的峰面积之比(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为: $y=0.9.67x-1.67(r=0.9998)$ 。结果表明,头孢噻利血药浓度在1~200 mg/L范围内线性关系良好,最低定量限为1 mg/L。

### 2.5 精密度与准确度试验

分别平行配制低、中、高(5、25、100 mg/L)3种质量浓度血清质控样品各5份,同日萃取测定,计算日内RSD分别为2.5%、1.9%、2.0%,相对误差(RE)分别为2.6%、1.8%、2.8%;在5个不同日进行萃取测定,计算得日间RSD分别为7.5%、8.5%、7.6%,分别为6.2%、4.5%、3.2%,结果见表1。

表1 回收率及精密度试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery and precision tests (n=5)

加入量, $\mu$ g/ml	RSD, %		方法回收率, %	平均方法 回收率, %	绝对回收率, %	平均绝对 回收率, %
	日内	日间				
5	2.5	7.5	103.0		82.6	
25	1.9	8.5	97.0	99.67	72.5	76.17
100	2.0	7.6	99.0		73.4	

### 2.6 回收率试验

分别平行配制低、中、高(5、25、100 mg/L)3种质量浓度血清质控样品各5份,同日萃取测定。用测得值与配制值对照,计算得方法回收率分别为103.0%、97.0%、99.0%;用血清中萃取得到的分析物质的响应值(峰面积)除以相同质量的标准品溶于流动相后产生的响应值(峰面积),得绝对回收率分别为82.6%、72.5%、73.4%,结果见表1。

### 2.7 稳定性试验

取血清样品,于室温放置0、2、4、6、8、24 h后进行萃取测定,考察血清样品在室温放置24 h的稳定性,测得浓度的RSD为1.8%,表明血清样品在室温放置24 h稳定;考察血清样品在反复冻融后稳定性,测定低、中、高质控样品在-20  $^{\circ}$ C冰箱中冻融1、2、3次后RSD分别为1.6%、2.8%、2.5%,表明头孢噻利血清样品在-20  $^{\circ}$ C中储存稳定,且在融解过程中头孢噻利浓度保持不变。

## 3 讨论

头孢噻利的血药浓度测定方法国内仅见1篇文献报道,常规头孢菌素类抗菌药物提取方法有液-液提取法,多采用高氯酸沉淀蛋白后,再用二氯甲烷或氯仿萃取的方法,或酸化甲醇蛋白沉淀,操作较为烦琐,血样检测灵敏度降低。有机溶剂

# 酶放大免疫法与酶联免疫吸附法测定他克莫司血药浓度的对比研究

王春燕<sup>1\*</sup>, 纪松岗<sup>1</sup>, 陆世宇<sup>2</sup>, 冷萍<sup>3</sup>, 徐霞<sup>1#</sup> (1. 解放军第401医院药剂科, 山东青岛 266071; 2. 大连医科大学药学院, 辽宁大连 116044; 3. 青岛大学医学院附属医院药剂科, 山东青岛 266003)

中图分类号 R969.1; R979.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)30-2816-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.30.12

**摘要** 目的: 比较酶放大免疫(EMIT)法和酶联免疫吸附(ELISA)法测定人全血中他克莫司(FK506)浓度的相关性, 为临床合理用药提供参考依据。方法: 采用EMIT法和ELISA法分别测定122例肝肾移植患者他克莫司的血药浓度, 考察两种方法的相关性。结果: 两种方法测得的数据比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), EMIT法测定全血中他克莫司浓度较ELISA法高3.7 ng/ml, 两者相关性一般( $r = 0.6359$ )。结论: EMIT法和ELISA法测定他克莫司血药浓度结果差异显著, 两法检测结果不可替换, 在进行血药浓度监测中应予以关注并各自建立治疗窗范围。

**关键词** 他克莫司; 酶放大免疫分析法; 酶联免疫吸附法; 血药浓度

## Determination of Blood Concentration of Tacrolimus by EMIT vs. ELISA

WANG Chun-yan<sup>1</sup>, JI Song-gang<sup>1</sup>, LU Shi-yu<sup>2</sup>, LENG Ping<sup>3</sup>, XU Xia<sup>1</sup> (1. Dept. of Pharmacy, No. 401 Hospital of PLA, Shandong Qingdao 266071, China; 2. College of Pharmacy, Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China; 3. Dept. of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Qingdao University School of Medicine, Shandong Qingdao 266003, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare the correlation of EMIT and ELISA for the determination of tacrolimus (FK506) concentration in whole human blood, and to provide evidence for rational use of drugs in the clinic. METHODS: Trough concentration of FK506 in 122 patients underwent liver and renal transplantation were determined by EMIT and ELISA, respectively. The correlation of these two methods were studied. RESULTS: There were significant differences between EMIT and ELISA ( $P < 0.05$ ). Tacrolimus blood concentration determined by EMIT were 3.7 ng/ml more than by ELISA. The correlation of the two methods was not good ( $r = 0.6359$ ). CONCLUSIONS: The difference in the results of EMIT and ELISA for the determination of tacrolimus blood concentration have statistical significance. But the results of the two methods should not be compared with each other. Great importance should be attached to set up their corresponding therapeutic window for blood concentration monitoring.

**KEYWORDS** Tacrolimus; EMIT; ELISA; Blood concentration

的沉淀机制是降低水的介电常数, 导致具有表面水层的生物大分子脱水, 相互聚集, 最后析出。常用的有机沉淀剂有乙醇、甲醇、乙腈等。笔者建立硫酸锌沉淀法测定万古霉素血药浓度的方法<sup>[3]</sup>, 头孢噻利提取回收率大于75%, 操作快速、简便, 出峰稳定, 减少了有机溶剂对血样处理过程的影响, 且避免了其产生的毒性污染。头孢噻利血药浓度监测国内有报道, 由于万古霉素与头孢噻利在本试验条件下完全分离, 因此可作为内标测定含量。

本文进行了多种流动相试验, 说明乙腈有助于改善二者的分离, 且峰形较好, 文献<sup>[4]</sup>报道流动相采用0.02 mg/L 乙酸铵-甲醇(75:25), 保留时间及峰形受流动相pH值影响大, 且乙酸铵对柱效影响较大, 会减少柱的寿命。而文献<sup>[5]</sup>采用乙腈-pH 6.5 磷酸盐缓冲液(12:88)洗脱, 主要用于头孢噻利的纯度控制, 两种洗脱保留时间约在5 min左右。在本文流动相下, 不需调节缓冲液pH值, 保留时间较合适, 峰形对称, 且10 min以内与内标达到快速、完好的分离, 理论板数在5 000以上。

\* 副主任药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药学。电话: 0532-51870213。E-mail: wangchunyan401@126.com

# 通信作者: 副主任药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药学。电话: 0532-85813585。E-mail: xia\_ph@126.com

本试验所建立的测定血清中头孢噻利的HPLC法, 室温下即可测定, 专属性强、灵敏度高。血清样品采用硫酸锌沉淀, 不仅简化了前处理步骤, 而且使蛋白沉淀更充分, 上清溶液稳定, 分离度好, 峰形理想。本试验所建立的HPLC法各项方法学指标均符合生物样品定量分析的基本要求, 适用于临床药动学的研究。

## 参考文献

- [1] Mine Y, Watanabe Y, Sakamoto H, et al. *in vitro* antibacterial activity of FK037, a novel parenteral broad-spectrum cephalosporin[J]. *J Antibiot*, 1993, 46(1): 71.
- [2] 仲琰, 邢为藩. 第四代头孢菌素-硫酸头孢噻利[J]. 国外医药抗生素分册, 2000, 21(2): 75.
- [3] 涂厉标. 高效液相色谱法测定血清去甲万古霉素与万古霉素的浓度[J]. 医药导报, 2007, 26(5): 485.
- [4] 陈漪. HPLC法测定人血清中硫酸头孢噻利浓度[J]. 中国临床药学杂志, 2010, 19(3): 153.
- [5] 卢协勤, 张根元. 高效液相色谱法测定注射用硫酸头孢噻利的含量[J]. 抗感染药学, 2007, 4(4): 169.

(收稿日期: 2014-04-15 修回日期: 2014-05-13)