

高效液相色谱法在体内药物分析中的应用和进展(综述)

张兰桐

药物分析教研室

1 引言

高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)是六十年代末发展起来的采用液体作流动相的一种高效能色谱法。曾沿用高压、高速液相色谱法的名称。自高效液相色谱法问世以来,发展和普及十分迅速,每年有关高效液相色谱法的文献报道呈指数函数增长。据报道^[1]1983年美国化学文摘就收载了2501篇文章。近年来,已广泛用于体液中药物的分析和代谢产物的研究,是临床化学检验、临床用药监护以及药代动力学研究等方面必不可少的手段之一。不仅具有气相色谱法的优点,而且还弥补了气相色谱法的缺点和不足。采用高效液相色谱法分析生物体液中的药物浓度,具有快速、高效、灵敏度高、专属性强等优点,可用于不挥发的、可电离的、对热不稳定的药物的分离测定,是近年来在体液分析方面应用广泛的一种分析方法。本文综述了高效液相色谱法在体内药物分析中的应用和发展动向。

2 HPLC法与测定方法选择

2.1 HPLC法^[2~7]: 高效液相色谱法根据所采用的固定相和特殊技术,分为液-固吸附、液-液分配(又分为正相和反相色谱法)、离子交换、离子对色谱(Ion-pair Chromatography, 也有正相和反相之分)和排阻色谱法(Size Exclusion Chromatography)。

2.2 测定方法选择: HPLC法测定体液中药物的浓度,其方法选择十分重要。首先必须考虑被测组分的化学结构和溶解度,对于分子量大于1万的化合物,可采用排阻色谱法;对于小分子的药物,一般视其溶解度,能溶于

有机溶剂的采用液-固吸附色谱法,用硅胶作固定相,有机溶剂作流动相;溶于水的药物,如果是非离子型的,采用反相液-液分配色谱法,常用十八烷基化学键合相(ODS)等作固定相,用不同配比的甲醇、乙腈和水等极性溶剂作流动相;对于离子型的药物,可采用离子对色谱或离子交换色谱法,见图1。

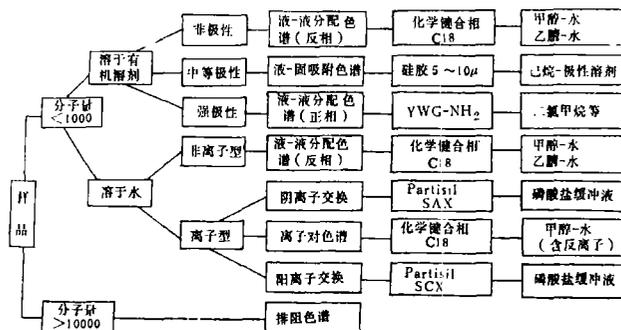


图1 色谱柱和流动相的选择^[8]

实际测定时,先选定色谱柱和固定相,适当改变流动相的配比直至达到良好的分离为目的。

3 生物样本预处理

生物样本中含有蛋白质和其它干扰性物质,可与药物相互作用,并影响色谱柱和检测器的性能。如人血浆中含有可溶性蛋白质,遇到有机溶剂或加热时,蛋白质将沉淀下来,而影响柱的寿命。因此,在HPLC分析之前,必须先将生物样本净化(Clean up of biological sample),以除去蛋白质和其它干扰性物质。另外,由于体液中药物及代谢物浓度很低,还须尽可能的加以浓缩,所以必须对样本进行适当的预处理。

样本的预处理方法主要有溶剂提取法、吸

附法、膜过滤法等。常用的是溶剂提取法,大多数药物可按照Brodie等经典的方法进行提取,即酸性药物先酸化,碱性药物先碱化,然后分别提取到与水不相混溶的有机溶剂中,也可采用Horning介绍的方法^[4]。对于某些水溶性离子型的化合物,不能提取到有机溶剂中去,可加入适当的反离子,以离子对的形式提取到有机溶剂中,将有机溶剂相在低温(约40°C)用氮气流或干燥空气流吹干,然后再用少量溶剂溶解,供高效液相色谱法进样。对于具有一定酸碱性的药物,可采用二次提取法同时进行分离和浓缩。对于反相色谱,可用水相直接进样;对于正相色谱可将上述有机相除去,于酸层中加入碱及另一比重大的有机溶剂,碱性药物即进入有机相,供正相色谱法进样。

当不能用溶剂提取时,可采用薄层层析和预柱处理,用吸附的方法净化样本。此外,还可用膜过滤法,通常采用一定大小孔径的微孔膜或超过滤膜过滤,除去一定分子量以上的物质,如蛋白质、细胞等,此法对样本中大分子物质的预处理是很有用的。关于生物样本的预处理和制备详见有关文献报道^[8,9]。

4 HPLC法在体液分析中的应用

用HPLC法测定体液中药物及其代谢产物,可为药代动力学^[10]、临床药理学和毒理学^[11]等方面的研究提供科学依据,也是药液监测^[12~15]不可缺少的手段之一。根据被测样本的不同(血浆、血清、全血、尿液、唾液、脑脊液、胆汁等)选择不同的预处理方法,使样本中的干扰组分应尽可能的少,这样才能使柱有较长的使用寿命。关于HPLC法用于治疗药物监测中的一些技术问题,详见有关报道^[16,17]。在血药浓度测定及药物代谢的研究方面,多采用反相HPLC法,一般常用ODS柱。因药物经过体内代谢后,一般代谢产物的极性比药物本身的极性大,在反相柱上先流出柱外。选择内标时,应使内标物的保留时间(t_R)比药物的 t_R 长一些,以致不干扰代谢产物的分离和测定。某些含氮的有机药物,可选用

反相离子对HPLC法。段更利等^[18]综述了血中碱性药物浓度的高效液相色谱测定法;陆明廉等综述了血药浓度测定及国内研究动向^[19,20]。

在国外HPLC技术发展很快,并早已应用于体液分析,每年有大量的文献报道,在临床应用药监护等方面起着相当重要的作用。至1983年Munson^[12]著作中已收录了250多种药物的HPLC法测定,并详述了生物样本、色谱柱、流动相、检测器,并附有参考文献。国内1981年开始用于体液分析,楼雅卿等^[21]报道了“应用高压液相色谱分析法同时微量测定人血浆中苯妥英钠和苯巴比妥的浓度”的第一篇论文,随之用HPLC法测定体液中的药物浓度等方面的研究报告逐年增多,应用也越来越广泛。1981~1987年共发表体液分析方面的研究报告66篇,其中体内测定的综述性文章及其它方面的文章达12篇,所涉及的药物达50余种。本文对国内50种药物的体内测定条件进行了综述,详见表2。

从发表的文献来看,HPLC法在药液监测和药代动力学研究方面占有相当大的比例,HPLC法用于体液分析的概况,见表2、图2。

从表1得知,体液分析多采用反相HPLC法,占90%以上。用紫外检测器,占83%,荧光检测器占13.6%,电化学检测器占3.4%,体液分析所采用的样本,血浆占45.1%,血清占33.8%,尿液占12.7%,组织占4.2%,脑脊液占2.8%,唾液占1.4%。综上所述,现阶段体液分析的样本多采用血浆或血清,用反相色谱柱以紫外或荧光作检测器。

5 HPLC法在体液分析中的发展动向

5.1 HPLC分析仪器的的发展:近年来,HPLC技术的飞速发展,与仪器的更新换代有密切关系。从仪器本身的发展来看,主要是降低柱外效应、研制新型的检测器和提高自动化水平。现代大多数的HPLC仪都具有微处理控制功能,可以对泵的梯度、检测器、进样器、柱加热器以及数据处理系统进行控制。仪器已

表 1 体液中药物的 HPLC 法分析 (1981~1987年 6月)

序号	药物名称	生物样本	色谱柱	流动相(V/V)	检测器	内标物	最低检测限或浓度	参考文献
1	吡嗪酮	血浆	硅胶	正丁醇-氯仿-乙酸乙酯-10%氨水 (20:20:60:13)	荧光检测		20ng	药学报 1983, 18(6):401.
		血浆	Lichrosorb SI 60	乙酸乙酯	荧光检测		0.02μg	中国临床药理学杂志 1985, 1(3):216.
		脑脊液	Lichrosorb SI 60	乙酸乙酯	荧光检测		0.01μg	新药与临床 1987, 6(1):12.
2	苯巴比妥 苯妥英钠	血浆	ODS	55%CH ₃ OH-H ₂ O	UV-200nm	5-(对-甲基)- 5-苯妥英		北京医学院学报 1981, 13(4):273.
3	苯妥英钠	血浆	ODS	CH ₃ OH-H ₂ O(55:45)	UV-200nm UV-220nm	5-(对-甲基)- 5-苯妥英		药学报 1983, 18(7):487. 药学报 1982, 17(4):53.
4	青蒿素 双氢青蒿素	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-0.03M(NH ₄) ₂ SO ₄ -冰HAC (55:45:0.1)	电化学极谱 检测			药学报 1985, 20(6):457.
5	利多卡因 布比卡因 丁卡因	血浆	YWG-C ₁₈	改性CH ₃ OH(300mlCH ₃ OH中加0.51ml 丁胺, 混匀后加入0.30ml的冰HAC) -水(75:25)	UV-220nm	异博停	0.03μg/ml 0.05μg/ml 0.10μg/ml	药学报 1984, 19(9):611.
		血浆	YWG-80	CHCl ₃ -CH ₃ OH-浓氨水 (98.35:0.60:0.05)	UV-254nm	安定	0.2μg/ml	药物分析杂志 1986, 8(1):38.
6	乙胺碘呋酮 (胺碘酮)	血浆	YWG-10μ	CH ₃ OH-0.125M磷酸盐缓冲液(PH7.8) (60:40)	UV-254nm	2'(2-羟基-3-丙胺基 丙氧基)-3-甲基-苯丙 醇	0.05μg/ml	中国医院药理学杂志 1987, 7(1):1.
		血浆	Nucleosil C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O-冰HAC(1000:6:0.9)	UV-254nm	N-(α-二乙胺乙基)-3, 4, 5-三甲氧基苯甲酸 邻甲苯磺丁二磺酸盐	0.5μg/ml	上海第一医学院学报 1985, 10(5):359. 中国医院药理学杂志 1984, 4(12):1.
		血浆	YWG-CN	改性CH ₃ OH(500mlCH ₃ OH中加入0.25 ml丁胺, 混匀, 再加1.0ml1:1冰HAC)	UV-254nm	回苏灵		药学报 1984, 19(8):461. 中国临床药理学杂志 1985, 1(1):52.
7	炎痛喜康	血清	YWG-C ₁₈	0.2MNH ₄ AC-CH ₃ OH(1:1)	UV-254nm	非那西丁	0.05μg/ml	药学报 1986, 21(9):692.
8	普萘洛尔 (心得安)	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O-磷酸盐缓冲液(92:8:1)	UV-232nm		50ng/ml	药学报 1987, 22(3):238.
		血浆	ODS	CH ₃ OH-IOMKH ₂ PO ₄ (70:30)	荧光检测		1.0ng/ml	药物分析杂志 1987, 7(1):45.
9	泰必利	血清, 尿	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-三乙胺(1000:0.40)	UV-254nm	胃复安	5ng	药学报 1986, 21(12):917. 新药与临床 1989, 5(6):325.
10	无环乌苷	血浆, 尿	YWG-C ₁₈	7%CH ₃ OH水溶液(含0.0025M庚烷磺 酸钠和0.005M的NaAC)	UV-254nm		0.5μg/ml	医药工业 1986, 17(7):21. 中国临床药理学杂志 1985, 1(3):183.
11	双呋喃氟麻啉	血浆	YWG-青岛硅胶	CHCl ₃ -乙酸乙酯(1:1)	UV-254nm	呋喃丙胺	0.05μg/ml	药物分析杂志 1984, 4(4):193.
12	氟地孕酮	血浆 组织	ODS	CH ₃ OH-H ₂ O(40:60)	UV-280nm		2~5 × 10 ⁻⁹ g	医药工业 1983, 14(9):18.
13	甲地孕酮	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O(73:27)梯度洗脱	UV-254nm	醋酸块诺酮	16ng/ml	药学报 1988, 21(7):437. 上海医科大学学报 1986, 13(6):416.
14	雌酮(E ₁) 雌二醇(E ₂) 雌三醇(E ₃)	尿	YWG-5μm	环己烷-CHCl ₃ -三乙胺-异丙醇 (5:95:10:12)	荧光检测		0.075ng 0.05ng 0.15ng	医药工业 1983, 14(7):44.
15	尼可地尔	血浆	ODS	CH ₃ OH-H ₂ O(70:30)	UV-254nm	尼泊金乙酯	20ng/ml	药学报 1986, 21(5):273.
16	氟氟平	血清	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O-四甲基乙二胺-冰HAC (67:33:0.4:0.32)	UV-254nm	安定	5ng/ml	药学报 1986, 21(8):506.
17	酮基布洛芬	浆	YWG-C ₁₈	37%甲醇-水	UV-254nm	萘普生		药学报 1988, 21(2):86. 中国医院药理学杂志 1986, 6(2):1.
18	布洛芬	血清	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-CH ₃ CN-0.05% H ₃ PO ₄ 水溶液(68:6:26)	UV-220nm	甲基睾丸素		上海医科大学学报 1988, 13(2):115.
19	头孢塔齐定	血清	ODS	25%CH ₃ OH的0.05mol/L NH ₄ AC	UV-254nm	头孢唑啉		药学报 1987, 22(4):210.
20	先锋霉素 V	血清	ODS	25%CH ₃ OH-0.01MNH ₄ AC	UV-254nm			药学报 1983, 18(9):30.
21	映羊霉素	血清, 尿	ODS	55%CH ₃ OH+0.05M磷酸盐缓冲液 (PH7.0)	UV-275nm	氟映羊霉素	0.5mg/L	中国临床药理学杂志 1985, 1(1):18.

22	天麻素	血浆	ODS	CH ₃ OH-H ₂ O(5:95)	UV-221nm			药学通报 1985, 20(11):697.
23	双异丙吡胺	血浆	Develosil 60 硅胶柱	PH7.8(NH ₄) ₂ HPO ₄ 缓冲液-CH ₃ CN (30:70)	UV-210nm	p-chlorodisopyr- amide	0.05μg/ml	中国医院药学杂志 1986, 6(10):1.
24	硫酸妥钠	血清	Nucleosil-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O(75:25)	UV-290nm	紫		中国医院药学杂志 1985, 5(2):32.
25	心律平	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-NaAC醋酸缓冲液-二乙胺 (74.5:25:0.5)	UV-254nm	盐酸达可罗宁	50ng/ml	中国临床药理学杂志 1985, 1(1):12.
26	氨茶碱	血浆	C ₁₈ H ₁₇	CH ₃ OH-双蒸水(25:75)	UV-254nm	喹定		中国临床药理学杂志 1985, 1(1):25.
27	5-氟尿嘧啶	血浆	ODS	0.5%CH ₃ CN的0.05M磷酸盐 缓冲液(pH3.0)	UV-254nm	5-FC		中国临床药理学杂志 1985, 1(8):188.
28	匹莫林	血清	μ-Bondapak-C ₁₈	0.01MkH ₂ PO ₄ 溶液-CH ₃ CN(83:17)	UV-214nm			新药与临床 1986, 5(6):345.
29	甲氧咪呱	尿	μ-Pondapak-C ₁₈	CH ₃ OH:H ₂ O:0.25MH ₃ PO ₄ 缓冲液 (pH6.4):三乙胺(50:48:2:0.1)	UV-228nm	雷尼替丁		上海医科大学学报 1986, 13(2):109.
30	奎尼丁 乙胺碘呋酮	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O-三乙胺 (1000:40:0.06)	UV-254nm	达可罗宁	0.1μg/ml	上海医科大学学报 1986, 13(8):195. 中国药理学学报 1986, 7(3):238.
31	消炎痛	血清	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O-CH ₃ CN-冰HAC (63:27:10:0.1)	UV-254nm	炔诺酮	0.05μg	上海医科大学学报 1985, 12(4):270.
32	桔梗苷	血浆	Nucleosil-C ₁₈	CH ₃ OH-冰HAC(1000:0.32)	UV-254nm	达可罗宁	0.25μg/ml	上海医科大学学报 1985, 12(1):63.
33	抗痢灵	血浆 匀浆	ODS	CH ₃ OH-H ₂ O(70:30)	UV-254nm UV-324nm	胡椒碱	1μg/ml	北京医学院学报 1983, 15(4):330.
34	尿酸	血清(浆)	YWG-CH 无定形C ₁₈	NH ₄ AC缓冲液(0.01M, pH4.0) -CH ₃ OH(5:1)	UV-280nm		5ng	中华医学检验杂志 1983, 6(1):36.
35	氟哌啶醇	血清	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O=87:33(内含0.3M NH ₄ AC)	UV-240nm	二苯胺	10ng/ml	北京医学院学报 1984, 16(8):205.
36	羟脯氨酸	血浆	C ₁₈ H ₁₇	0.03M柠檬酸三钠缓冲液(pH7) -CH ₃ OH(4:1)	荧光检测			上海医科大学学报 1986, 13(1):52.
37	阿密替林	血浆	YQG-70	CH ₃ OH-H ₂ O(97:3)内含0.05mol/L 的Na ₄ AC, 0.1mol/L NH ₄ OH	UV-240nm	三甲丙咪唑和 普罗替林	4ng/ml	北京医科大学学报 1987, 19(2):113.
38	速尿	血清 尿	Radial pak μ-C ₁₈	含30%CH ₃ CN的5mM己烷磺酸钠 水溶液(用HAC调节至pH3.5)	荧光检测		5.8ng/ml	沈阳药学院学报 1986, 8(2):85.
39	雷尼替丁	血清	C ₁₈ H ₁₇	CH ₃ OH:0.01M磷酸盐(pH=7) 缓冲液(80:20)	UV-322nm	普鲁卡因酰胺		色谱 1986, 4(5):288.
40	甲氧苄氨嘧啶 磺胺-5-甲氧嘧啶	血清	YWG-C ₁₈	0.067mol/L KH ₂ PO ₄ -CH ₃ OH (100:30)	UV-225nm			色谱 1986, 4(6):384.
41	V _C	血清 尿	μ-Pondapak-C ₁₈	0.05%NH ₄ H ₂ PO ₄	UV-243.5nm		5.0×10 ⁻⁹ g	色谱 1986, 4(6):334.
42	V _A 、α-V _B	血清 浆	ODS	CH ₃ OH	UV-325nm UV-292nm	V _A 脂肪酸	0.14ng/100μl 3.15ng/100μl	色谱 1987, 5(1):48.
43	异搏停	血浆	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-乙醚-水:异丙醇 (77:10:10:3)	荧光检测		25ng	色谱 1987, 5(2):129.
44	辛酰伯啶	血清	YWG-C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O(85:15)	UV-267nm		0.02μg/ml	南京药学院学报 1985, 16(8):43.
45	烟酰胺	血清 尿	μ-Bondapak-C ₁₈	血清, 0.02mol/L NaAC-CH ₃ OH (80:20), 加0.08%(V/V)三乙胺, 用HAC将pH调节至6.0 尿, 同上(82:18)	UV-254nm	烟酰胺	8ng/0.1ml (血清)	上海医科大学学报 1987, 14(2):125.
46	单胺类物质	脑脊液 组织	μ-Bondapak-C ₁₈ Lichrosorb RP18	含8%甲醇, 9mmol/L D-樟脑 β-磺酸(反离子)及0.83mmol/L EDTA的氯乙酸(0.15mol/L) -NaOH(0.117mol/L)缓冲液 (pH4.2)梯度洗脱	电化学检测			上海医科大学学报 1986, 13(6):415.
47	茶碱	血清 血清 血清	ODS YWG-C ₁₈ μ-Bondapak C ₁₈	CH ₃ OH-H ₂ O(1:2) CH ₃ CN-HAC缓冲液(pH4, 10mmol/L) (8:92) CH ₃ CN-H ₂ O-HAC(10:90:0.2) -CH ₃ OH-H ₂ O-HAC(60:40:0.2)	UV-273nm UV-254nm UV-272nm	喹定 β-羧乙基茶碱 β-羧乙基茶碱 苯甲酸	0.5μg/ml 0.5μg/ml 1.0μg/ml	北京医科大学学报 1985, 17(8):201. 中华医学检验杂志 1986, 9(2):68. 中国医学科学院学报 1987, 9(1):55.
48	苯妥英 苯巴比妥 可马西平 乙酰胺	血清	YWG-CH无定形 C ₁₈	CH ₃ CN-CH ₃ O ⁺ -H ₂ O (9:37:54)并加入少量改性 剂(正丁胺及冰HAC)	UV-254nm	5-乙基-5-甲 巴比妥酸	0.5μg/ml 0.5μg/ml 0.5μg/ml 1.0μg/ml	中华医学检验杂志 1985, 8(2):90.
49	甲氧咪呱 甲硝咪呱	血清	μtrasphare C ₁₈	CH ₃ CN-0.02mol/L HAC- 98%二甲胺(140:860:0.15)	UV-229nm	Ornidazole		中国医学科学院学报 1986, 8(4):291.

表 2 我国 HPLC 法用于体液分析概况 (1981~1986年)

年份	1981	1982	1983	1984	1985	1986	合计	百分数 (%)
研究性文章	1	1	8	5	15	25	55	83.3
综述性文章				1	2	5	8	12.1
其它						3	3	4.6
合计	1	1	8	6	17	33	66	100
百分数 (%)	1.5	1.5	12.1	9.1	25.8	50	100	--

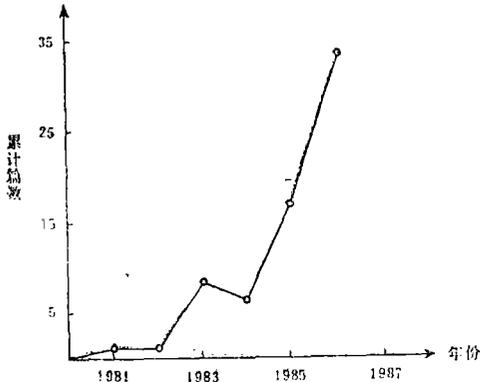


图 2 我国HPLC法在体液分析中的发展状况

发展成整体结构,微机控制器还可对柱切换(Column Switching)阀、柱后反应器的泵、低压配液泵等外部元件进行控制。另外HPLC装置的微型化是其发展的一个趋势。七十年代的注射泵由于在使用及清洗过程中溶剂消耗太大而失去生命力,微型化的HPLC由于溶剂用量少,因此又开始采用这种注射泵,用微型柱可节约溶剂95%。据报道用 $3\mu\text{m}$ 微粒填料的短柱(5~10cm),可在1秒钟内出三个峰,并且每米的理论塔板数超过10万。微型化的HPLC在设计中特别强调了减少柱外效应造成的分辨损失,因此可达到高效之目的。随着微型化的要求,输液泵、色谱柱、检测池以及相应的连接管路系统、进样器等都因微型化的要求而各有创新。此外HPLC检测器的研究工作一直处于发展阶段^[22],从目前的文献来看,光吸收式检测器仍居首位,占检测器总数的67~71%左右^[23],其中分光型的检测器在绝对量和增长速度上更居第一。电化学检测器(EChD)的发展速度也较快,新出现的快速扫描光电二极管阵列检测器受到了很大的重视,

可得到整个光谱区所有的信号。对于某些药物的分析,激光荧光检测器(Laser fluorescence detector)将是有发展前途的^[24]。为了得到更多的检测信号,可将几种简单的检测器联用,或使用多通道检测器以及快速扫描的检测器得到三维图谱(Three dimensional chromatography),再借助计算机技术对未知峰定性或鉴别未分离峰。简单的检测器联用中以UV-EC使用较广,特别是对生物样本的分析,其它如荧光检测器也有不少应用。

5.2 从药液监测的必要性看HPLC技术的发展:随着世界新技术革命第三次浪潮的兴起,生命科学的探索受到极大的重视并将深刻影响到人类的生活和发展。作为生物医学的重要分支药学科学的发展也反映了这一动向,药学科学从以往以物质为中心转移到与生命科学结合的基础上来。国外有关学者早在1976年就提及“体液中药物浓度测定”已成为药物分析工作者的一种主要任务。目前治疗药物监测(Therapeutic drug monitoring, TDM)工作迅速发展,在发达国家TDM已成为临床医学的常规性工作,血药浓度的分析方法日趋自动化,使临床能在短时间内得知患者的血药浓度,再通过计算机的分时程序(Time-shared computer program)使个体化给药方案的制定不仅更为准确可靠,而且也更加简便易行。我国应用HPLC法分析体液中的药物浓度起步较晚,到1981年只有一篇文献发表,随着TDM的发展,这一技术得到了进一步的应用。从本文统计的数字来看,发展速度较快,成为药液监测和体液分析中的重要工具之一。目前,HPLC高灵敏度的检测器不断发展,高性能的填充剂相继出现,衍生化试剂的种类繁多,力遇热不稳定和微量及超微量体液分析创造了有利条件。另外,HPLC与红外(IR)、质谱(MS)、核磁共振(NMR)等技术的联用,以及计算机数据处理和操作程序控制全自动化的很大发展,必将使HPLC技术在体内药物分析中应用的更加广泛。

5.3 HPLC技术在体液分析中的国内外

研究动向:国内统计数字指出,反相HPLC法用于体液分析占有相当大的比例,国外目前发表的文献展示,离子对反相高效液相色谱法在体液分析中的应用日益增多,是一门很有发展前途的HPLC分析技术,在国内仅有三篇文章采用离子对反相HPLC法测定。从方法本身的发展来讲,大有取代离子交换色谱法的趋势。另外由于HPLC法的流动相可以千变万化,加之品种繁多的固定相,因此色谱系统可以有多种多样的组合,从而在极大程度上提高和扩大了HPLC的选择性和应用范围,加之HPLC法可直接测定对热不稳定的药物,不需经过衍生化,所以近年来HPLC法在体液分析方面已逐渐取代了气相色谱法。在某些发达国家即使采用了均相酶放大免疫分析技术(EMIT)和荧光偏振免疫分析技术(FPIA),也需用高效液相色谱技术进行数据对照。对于那些进行开拓性工作的实验室来说,HPLC更是必不可少的分析手段。

体液分析所采用的样本,一般采用血浆或血清。另发现唾液中的药物浓度与血浆中的成正比分布,见表1,故可用唾液代替血浆。因唾液中测得的原药浓度是游离状的,对药物临床监护及药代动力学研究更符合实际。唾液取样方便,患者无痛苦,但含原药极少,要求测试方法的灵敏度更高,是今后分析工作者的主要任务之一。随着复合脱氧核糖核酸方法的持续发展以及对人类蛋白质激素的充分利用,在生物体液中测定蛋白质结合药物也变得更为重要。为此,HPLC法和超临界流体色谱法(Supercritical fluid Chromatography)将提供光辉的前景^[25]。

(本文承孙嘉奎、何春馥教授审阅,一并致谢。)

参 考 文 献

- 张惠.高效液相色谱法在体液成分分析中的应用.药学学报 1986; 21(12):951.
- 杨仲元,等.高效液相色谱法在药物分析中的应用.药物分析杂志 1982; 2(3):182.
- 陆明廉主编.血药浓度测定与临床应用.上海科技出版社,1986; 74~76.
- 张仁斌,等.高效液相色谱法——在医药研究中的应用.上海科技出版社,1983; 79~80.
- 于如燧主编.分析化学(下册).北京:人民卫生出版社,1986; 372~376.
- Connors KA. A Textbook of Pharmaceutical Analysis. 3rd. Edition. Wiley, New York. 1982; 373~384.
- Schirmer RE. Modern Methods of Pharmaceutical Analysis. Boca Raton, Florida. Vol 3. 1982; 61~122.
- Midha KK, et al. Preparation of Biological Sample for Analysis. Topics in Pharmaceutical Sciences. Amsterdam. 1981; 327~345.
- Mehta AC. Sample Pretreatment in the Trace Determination of Drugs in Biological Fluids. Talanta 1986; 33(1):67.
- 纪晓多. 高效液相色谱法在药物动力学中的应用, 药物分析杂志 1986; 6(4):236.
- Wong SHY. Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology by Liquid Chromatography. Vol 32. New York and Basel. 1985; 11~37.
- Munson JW. Pharmaceutical Analysis——Modern Methods. Part B. Vol 11. New York and Basel. 1984; 1~44.
- 吴如金主编.体内药物分析.北京:人民卫生出版社,1984; 1~44.
- Sadee W, et al. Drug Level Monitoring. Wiley, New York. 1980; 42~51.
- Richens A, et al. Therapeutic Drug Monitoring. New York. 1981; 21.
- 袁倚盛.高效液相色谱法监测血药浓度时柱和流动相的选择与处理.药学通报 1984; 19(6):28.
- 吴莱文.高效液相色谱法用于治疗药物监测中的一些技术问题.中国临床药理学杂志 1986; 2(3):192.
- 段惠利,等.血中碱性药物浓度的高效液相色谱(HPLC)测定法.中国临床药理学杂志 1985; 1(3):204.
- 陆明廉.药物血浓度的测定.药学通报 1982; 17(11):24.
- 陆明廉,等.血药浓度测定的国内研究动向.药学通报 1985; 20(11):674.
- 楼雅卿,等.应用高压液相色谱分析法同时微量测定人血浆中苯妥英钠和苯巴比妥的浓度.北京医学院学报 1981; 13(4):273.
- 张惠.高效液相色谱法检测器的进展及其在药物分析中的应用.药物分析杂志 1986; 6(3):189.
- 王其昌.国外高效液相色谱技术的发展概况.色谱 1986; 4(1/2):31.
- Green RB. Lasers: Practical Detectors for Chromatography? Analytical Chemistry 1983; 55(1): 20A.
- Smith RV. Determination of Drugs and Metabolites in Biological Fluids. Trends in Analytical Chemistry 1984; 3(7):178.

(1987年1月12日 收稿)

(张建国 编发)