



体内药物分析实验



实验二： HPLC测定人血浆中 阿司匹林代谢物水杨酸



药物分析实验教学中心

沈阳药科大学



HPLC测定人血浆中 阿司匹林代谢物水杨酸

■ 实验目的

1. 掌握阿司匹林代谢物血浆浓度测定方法
2. 熟悉体内药物监测目标的一般选择原则



沈阳药科大学



一、阿司匹林在体内的存在形式

- 阿司匹林结构中有乙酰化的酚羟基，在血浆中能水解为水杨酸
- 阿司匹林口服吸收后在人体内迅速分解为代谢产物水杨酸，在血浆样品中阿司匹林与水杨酸共存，但阿司匹林浓度较低

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(一) 实验药品与生物介质

- 水杨酸对照品
- 苯甲酸(内标物质)
- 阿司匹林肠溶片(规格: 25, 50或150mg)
- 空白人血浆



沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(二) 实验设备与器材

- 高效液相色谱仪
- 涡旋混合器
- 离心机(3500r/m)
- 高速冷冻离心机(4℃, 12000r/p)
- 微量取液器(10~50 μ l; 0.1~0.5ml)
- 离心管(1.5ml; 5ml)

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(三) 给药方案与样本采集

健康受试者，禁食10h后，清晨空腹口服阿司匹林肠溶片(含阿司匹林150mg)，分别于服药前和服药后3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36h抽取静脉血2ml，置肝素化离心管中，混匀，离心(3500r/min)10min，分离血浆0.2ml分装，-20℃保存



沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(四) 血浆样品测定

取含药血浆样品(0.2ml)，冰水中解冻，精密加内标溶液 $10\mu\text{l}$ 与乙腈 $20\mu\text{l}$ ，涡旋混合20s，加 0.5mol/L 盐酸液 $100\mu\text{l}$ 与乙腈 $400\mu\text{l}$ ，涡旋混合1min， 4°C 放置15min， 4°C 离心(12000r/min)10min，上清液移至含100mg氯化钠的离心管中，涡旋混合20s， 4°C 放置10min， 4°C 离心(12000r/min)10min，取上清液 $20\mu\text{l}$ 进样，根据随行标准曲线计算血浆样品浓度

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(五) 样品测定的质量控制

- 在样品测定序列中，以低→中→高→高→中→低的序列插入3浓度6样本的QC样品，根据随行的标准曲线计算QC样品浓度及其相对偏差(RE)
- ◆ 中、高浓度的RE在 $\pm 15.0\%$ 之内，低浓度的RE在 $\pm 20\%$ 以内；最多允许2个(1/3)不在同一浓度的QC样品结果超限；否则样品测定数据无效

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(六) 测定数据的处理

- 标准曲线的线性方程与回归系数
- QC样品的RE
- 血浆样品的浓度
- 药动学参数: C_{\max} ; T_{\max} ; $T_{1/2}$; AUC_{0-t}

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(七) 注意事项

- 离心要充分
- 处理后的样品不宜放置时间过长
- 进样前确认上清液澄清，如浑浊再次离心后进样

沈阳药科大学



二、人血浆中水杨酸的测定

(八) 操作演示

[观看视频](#)



沈阳药科大学