

高效液相色谱法检测丙泊酚及依托咪酯混合液化学稳定性的研究*

廖勇, 游艳

(三峡大学仁和医院药学部, 湖北宜昌 443001)

[摘要] 目的 采用高效液相色谱法(HPLC)体外模拟体内环境条件确定丙泊酚、依托咪酯混合后的新物质生成情况。方法 采用十八烷基硅烷键合硅胶作为填充剂(250.0 mm×4.6 mm, 5 μm), 以磷酸盐缓冲液-乙腈(调至 pH7.4)作为流动相[磷酸盐缓冲液:乙腈=35:65(V/V)], 设定柱温为 30 ℃, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL, 全波长下进行紫外光谱检测(波长 190~800 nm), 通过对比标准品及对照品图谱确认图谱中是否有新的特征峰。结果 通过与标准品图谱进行比较发现, 丙泊酚、依托咪酯二者混合品在体外模拟体内环境条件下无新的特征峰出现, 即未生成第 3 种物质。结论 所建方法简便、快速、准确地检测出丙泊酚、依托咪酯混合后无新物质生成。

[关键词] 丙泊酚; 依托咪酯; 高效液相色谱法; 化学稳定性

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)03-0373-03

HPLC for determining the pharmacy changes of propofol and etomidate solution after mixing*

Liao Yong, You Yan

(Department of Pharmacy, Renhe Hospital, Three Gorges University, Yichang, Hubei 443001, China)

[Abstract] **Objective** To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for determining the related substances of propofol and etomidate after mixing. **Methods** With octadecylsilane chemically bonded silica as the filler (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mixture of phosphate buffer-acetonitrile(phosphate buffer:acetonitrile = 35:65(V/V)) was acted as the mobile phase, and adjusting PH to 7.4. The UV detection wavelength; 190—800 nm. The column temperature; 30 ℃. The flow rate; 1.0 mL/min. The injection volume; 10 μL. The comparison result of standard substance and reference substance were used to confirm whether there was a new substance in the spectrum. **Results** There was no new substance generated. **Conclusion** There was no new substance generated of propofol and etomidate mixture by this simple, rapid and accurate method.

[Key words] propofol; etomidate; HPLC; chemical stability

丙泊酚乳剂(propofol)是目前临床上普遍用于麻醉诱导、麻醉维持、ICU 危重患者镇静的一种新型快速、短效静脉麻醉药^[1-3]。依托咪酯乳剂(etomidate)系非巴比妥类静脉镇静药,也是目前临床全身麻醉(简称全麻)诱导的常用药物之一^[4-5]。两种药物均具有起效快、维持时间短、苏醒快的特点。然而,丙泊酚有易致心血管功能抑制而降低血压和减慢心率,明显抑制呼吸,注射痛发生率高不足;依托咪酯乳剂静脉注射易致肌阵挛,长时间应用抑制肾上腺皮质功能。两种药除起效时间、维持时间、苏醒时间均快外,半衰期亦相似,溶媒都是中长链脂肪酸乳剂^[6]。已有文献报道,将两种药混合后联合应用于全麻诱导和门诊短小手术与操作的全麻^[7-9],将两种药混合后应用,在减少二者用量的同时也相对减轻不良反应,作用特点得以发挥。尽管临床上将两种药混合后显示出许多优点,但仍担心两种药混用后物理化学性质改变或有新物质生成。本实验利用高效液相色谱法初步了解二者体外混合后的理化性质变化,为两种药混用应用及建立合理易行的全麻用药方法提供药理学实验论据。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备 高效液相色谱仪(Dionex Ultimate 3000); ODS 色谱柱(YMC-Pack ODS 250.0 mm×4.6 mm, 5 μm); 1 mL 无菌注射器; 过滤器(d=5 μm); 自动进样器; 恒温三用水浴锅(金坛市医疗仪器厂); 漩涡混合仪(上海沪西分析仪器厂); 电子分析天平(Mettler Toledo 公司)。

1.1.2 药品与试剂 丙泊酚对照品(中国药检所,批号 100806,纯度为 99.8%), 依托咪酯对照品(中国药检所,批号 101132,纯度为 99.8%), 乙腈(色谱纯), 甲醇(色谱纯), 双蒸水, 85% 的磷酸溶液, 磷酸盐缓冲液。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 ODS 色谱柱为 C18 柱(250.0 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为磷酸盐缓冲液:乙腈=35:65(V/V); pH7.4; 柱温即室温; 流速为 1.0 mL/min; 紫外检测波长:全波长(190~800 nm); 进样量为 10 μL。

1.2.2 溶液的制备

1.2.2.1 磷酸盐缓冲液的制备 精确称取磷酸二氢钠水合物 2.76 g 溶解于 900 mL 水中, 待其溶解完全后定容至 1 000 mL, 用 85% 的磷酸调节 pH 至 3.0, 0.22 μm 滤纸抽滤后 4 ℃ 冰箱保存待用。

1.2.2.2 对照品储备液的制备 丙泊酚对照品:精确称取该品 100 mg 置于 100 mL 容量瓶中, 用流动相溶解至刻度, 配制成浓度为 1 mg/mL 的丙泊酚溶液, 密封后 4 ℃ 冰箱保存, 使用前放至室温。依托咪酯对照品:精确称取该品 100 mg 置于 100 mL 容量瓶中, 用流动相溶解至刻度, 配制成浓度成 1 mg/mL 的依托咪酯溶液, 密封后 4 ℃ 冰箱保存, 使用前放至室温。

1.2.2.3 供试品溶液的制备 丙泊酚和依托咪酯混合品(10:1):精确量取 20 mL 丙泊酚及 2 mL 依托咪酯充分混合均匀, 即配制成 10:1 的混合溶液, 现用现配。

1.2.3 专属性实验 取上述对照品溶液、供试品溶液,按 1.2.1 方法进样测定,记录色谱图。

1.2.4 精密度实验 精密量取 1.2.2.3 方法制得的供试品溶液 10 μL ,按照 1.2.1 的色谱洗脱条件连续进样 6 次,测定丙泊酚和依托咪酯的峰面积。

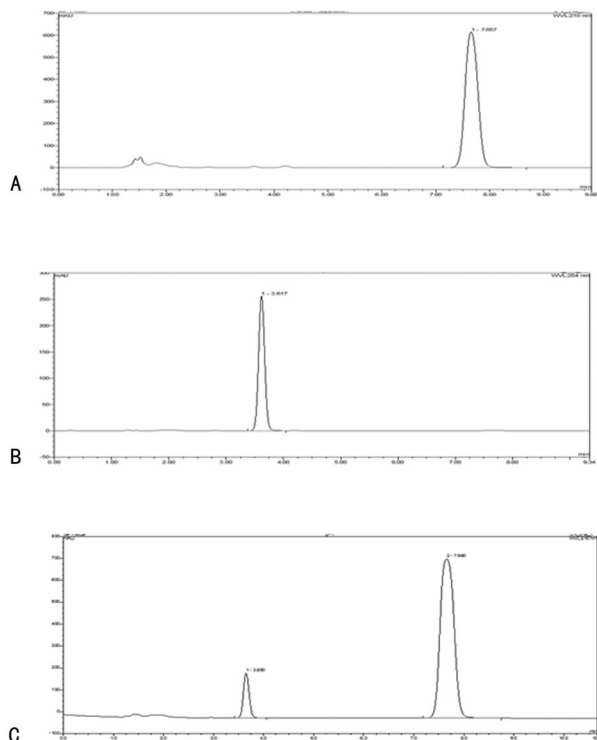
1.2.5 重复性实验 取 1.2.2.3 项下方法制备的供试品溶液 6 份,分别吸取 10 μL 进样,测定相应峰面积。

1.2.6 加样回收率实验 分别精密配置不同浓度比例的丙泊酚及依托咪酯混合液 [16.0 : 1.6, 20 : 2.0, 24.0 : 2.4 (mg/mg)] 各 3 份,加流动相溶解并稀释至刻度,按上述色谱条件测定,记录色谱图。

1.2.7 稳定性实验 准备丙泊酚和依托咪酯供试品液 5 份,用磷酸调节 pH 至 7.35~7.45,分别置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴 0、4、8、12、24 h,水浴完成后分别进样 10 μL ,并分别记录色谱图。

2 结果

2.1 专属性实验 辅料不干扰测定,供试品溶液的主峰保留时间与标准品一致;丙泊酚及依托咪酯标准品的保留时间分别为 7.657 min 和 3.617 min,见图 1。



A: 丙泊酚标准品色谱图; B: 依托咪酯标准品色谱图; C: 供试品色谱图。

图 1 标准品高效液相色谱图

2.2 精密度实验 丙泊酚峰面积的标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 0.42%, 依托咪酯峰面积的 RSD 为 0.34%, 表明该实验仪器的精密度良好。

2.3 重复性实验 根据测定相应峰面积,按外标法测定标示含量,计算得丙泊酚平均值标示量为 99.50%, RSD 为 0.50%, 依托咪酯平均值标示量为 99.80%, RSD 为 0.20%。

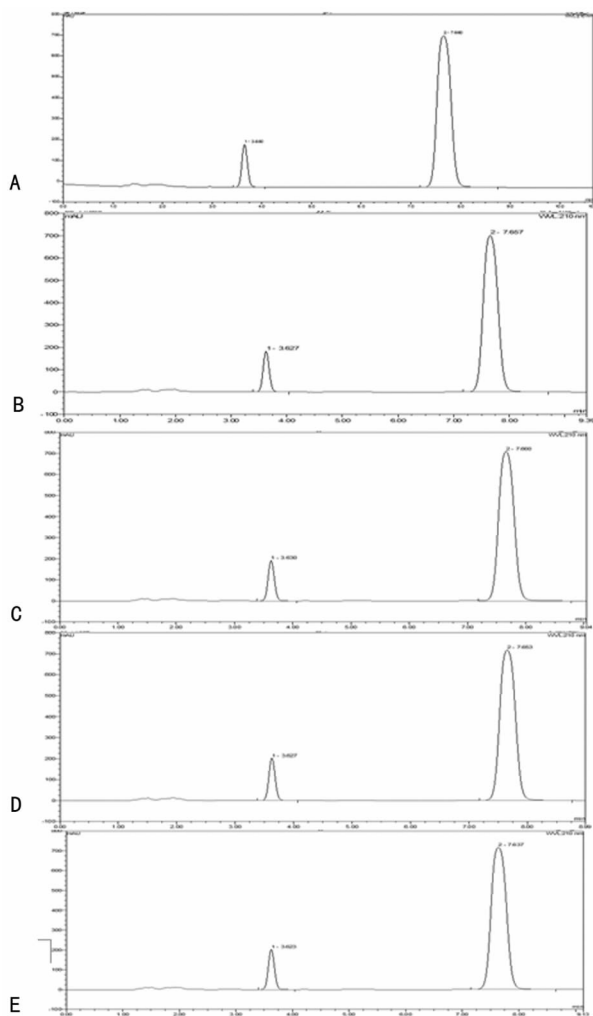
2.4 加样回收率实验 计算回收率,结果表明丙泊酚、依托咪酯平均加样回收率分别为 99.52% 和 98.94%, RSD 分别为 0.48% 和 1.23%, 见表 1。

2.5 稳定性实验 根据记录色谱图可知,在不同混合时间条件下,全波长检测范围内与对照品相比,二者的保留时间几无变化,也无新的特征峰出现,表示在此混合过程中无新物质生

成;丙泊酚峰面积的 RSD 为 0.24%, 依托咪酯峰面积的 RSD 为 0.58%, 见图 2。

表 1 回收率实验结果 ($n=9$)

药品	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
丙泊酚	16.00	15.79	98.69
	16.00	15.86	99.13
	16.00	15.82	98.88
	20.00	19.98	99.90
	20.00	19.95	99.75
	20.00	19.96	99.80
	24.00	23.98	99.91
	24.00	23.94	99.75
	24.00	23.97	99.88
依托咪酯	1.60	1.58	98.75
	1.60	1.57	98.13
	1.60	1.52	98.00
	2.00	1.99	101.00
	2.00	1.97	98.50
	2.00	1.96	98.00
	2.40	2.35	97.92
	2.40	2.36	98.33
	2.40	2.42	100.83



A: 丙泊酚和依托咪酯混合 0 h; B: 丙泊酚和依托咪酯混合 4 h; C: 丙泊酚和依托咪酯混合 8 h; D: 丙泊酚和依托咪酯混合 12 h; E: 丙泊酚和依托咪酯混合 24 h。

图 2 不同混合时间下的高效液相色谱图

3 讨 论

丙泊酚注射液麻醉诱导起效快^[10]、苏醒迅速且功能恢复完善^[11]，术后恶心呕吐发生率低；且能抑制咽喉反射，有利于插管，很少发生喉痉挛。但其易致血压剧烈下降，明显抑制呼吸，注射痛发生率高^[12-13]。依托咪酯注射液是麻醉诱导常用的药物之一^[14-15]；但一次性剂量可使肾上腺皮质对紧张刺激的反应明显减慢约 4~6 h；持续使用本药可能出现暂时性肾上腺皮质功能低下。没有接受过适当前驱给药的患者，使用单剂量后可能出现肌阵挛，导致恶心、呕吐。Saricaoglu 等^[7]报道将两种药混合后在全麻诱导中的应用，研究结果显示二者混合后用于全麻诱导有有其明显的优势，表现为血流动力学比单纯使用丙泊酚更稳定；注射痛和肌阵挛的发生率降低；达到相同麻醉深度所需要的时间更短。鉴于二者药理学作用互补，药动学特点相似，两种药的溶媒都是中长链饱和脂肪乳。本文将二者体外模拟体内条件进行混合后，采用全波长高效液相色谱法进行实验，发现不同混合时间下的保留时间无明显差异，说明二者混合后无第 3 种物质生成。这些实验结果表明丙泊酚注射液和依托咪酯注射液模拟条件下的混合品未发生化学变化。本实验建立了简单、快速的高效液相色谱法，为两药混合应用或制成复方制剂、建立合理易行的全麻用药方法提供药理学实验论据。

参考文献

- [1] Patten D, Foxon GR, Martin KF, et al. An electrophysiological study of the effects of propofol on native neuronal ligand-gated ion channels[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2001, 28(5/6): 451-458.
- [2] 徐学武, 许文秀, 王宝宁, 等. 丙泊酚复合不同浓度利多卡因预防注射痛的临床研究[J]. *临床麻醉学杂志*, 2012, 28(4): 378-380.
- [3] 王洪, 涂生芬, 柏林, 等. 不同剂量丙泊酚对儿童麻醉深度和应激反应的影响[J]. *重庆医学*, 2012, 41(4): 327-329.
- [4] 周金锋, 王朋, 类维富. 依托咪酯用于腹部手术患者全身麻醉的临床观察[J]. *临床麻醉学杂志*, 2011, 27(4): 385-387.
- [5] Weiss-Bloom LJ, Reich DL. Haemodynamic responses to

tracheal intubation following etomidate and fentanyl for anaesthetic induction[J]. *Can J Anaesth*, 1992, 39(8): 780-785.

- [6] 刘楨干. 乳剂依托咪酯对老年患者麻醉中心血管稳定性的临床观察[J]. *山西医药杂志*, 2007, 36(9): 846-847.
- [7] Saricaoglu F, Uzun S, Arun O, et al. A clinical comparison of etomidate-lipuro, propofol and admixture at induction[J]. *Saudi J Anaesth*, 2011, 5(1): 62-66.
- [8] 林高翔, 蒋奕红, 王华, 等. 靶控输注依托咪酯对围术期肾上腺皮质功能的影响[J]. *医学研究杂志*, 2008, 37(12): 38-41.
- [9] 邹学军, 简道林, 罗兴均, 等. 依托咪酯复合丙泊酚用于无痛人流流产术[J]. *临床麻醉学杂志*, 2013, 29(11): 1122-1123.
- [10] 周发春, 徐昉. ICU 机械通气病人的丙泊酚镇静治疗[J]. *重庆医学*, 2005, 34(4): 578-579.
- [11] 刘新霞. 芬太尼、瑞芬太尼复合丙泊酚用于人工流产麻醉的临床比较与分析[J]. *中国实用医药*, 2011, 6(36): 138-139.
- [12] Schaub E, Kern C, Landau R. Pain on injection: a double-blind comparison of propofol with lidocaine pretreatment versus propofol formulated with long- and medium-chain triglycerides[J]. *Anesth Analg*, 2004, 99(6): 1699-1702.
- [13] Canbay O, Celebi N, Arun O, et al. Efficacy of intravenous acetaminophen and lidocaine on propofol injection pain[J]. *Br J Anaesth*, 2008, 100(1): 95-98.
- [14] Mayer M, Doenicke A, Nebauer AE, et al. Propofol and etomidate-Lipuro for induction of general anesthesia. Hemodynamics, vascular compatibility, subjective findings and postoperative nausea[J]. *Anaesthesist*, 1996, 45(11): 1082-1084.
- [15] 朱婵, 顾明红, 李浪平, 等. 依托咪酯复合丙泊酚在老年患者无痛胃镜检查的应用[J]. *蚌埠医学院学报*, 2012, 37(6): 702-704.

(收稿日期: 2016-07-22 修回日期: 2016-10-10)

(上接第 372 页)

- 在科室绩效考核指标体系中的实践[J]. *国外医学(卫生经济分册)*, 2015, 32(3): 124-128.
- [6] 孙华宝, 刘蔓珍, 吕定英, 等. 医院绩效考核指标体系的构建与评估[J]. *国外医学(卫生经济分册)*, 2011, 28(4): 178-182.
 - [7] 韩进, 杨佳. 基于加权求和法与秩和比法的地方高校学科建设绩效评价比较[J]. *岭南师范学院学报*, 2015, 36(6): 167-170.
 - [8] 贾品, 李晓斌, 王金秀. 几种典型综合评价方法的比较[J]. *中国医院统计*, 2008, 15(4): 351-353.
 - [9] 李春晖, 方龙, 胡靖琛, 等. 公立医院绩效评价指标体系及应用[J]. *中国卫生统计*, 2013, 30(2): 267-269.
 - [10] 曾程慧, 陈才寿, 张敏. 利用秩和比法评价医院综合效益的思考和建设[J]. *中国卫生质量管理*, 2014, 21(4): 99-

101.

- [11] 白书忠. 军队医学科研管理学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2004: 286-287.
- [12] 邹雄, 李连凤, 周东华, 等. 四种综合评价方法在广西某三级甲等医院科研绩效评价中的应用[J]. *医学与社会*, 2013, 26(11): 48-51.
- [13] 马世猛, 时伟, 陈敏. 高校科研绩效评价方法比较[J]. *合作经济与科技*, 2014(18): 168-169.
- [14] 赵晶, 刘国伟, 王在翔. 运用秩和比法对医院临床科室进行综合评价[J]. *中国病案*, 2015, 16(1): 63-65.
- [15] 马英. 浅谈中国学术界“唯 SCI 论”与学术自信的缺失[J]. *天津科技*, 2014, 41(12): 74-76.

(收稿日期: 2016-07-21 修回日期: 2016-10-11)