

高效液相色谱法串联紫外-荧光检测器同时测定人血浆中对乙酰氨基酚与盐酸曲马多的浓度

李娟¹, 苏梦翔², 黎^{1,3}, 狄斌^{1,3*}, 鲁涓¹, 王晶¹, 陆铭¹

(1. 中国药科大学药物分析教研室, 南京 210009; 2. 中国药科大学药学实验教学中心, 南京 210009

3. 药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009)

摘要 目的: 建立一种高效液相色谱法, 用于人血浆中对乙酰氨基酚和盐酸曲马多浓度的同时测定, 并对氨酚曲马多片的 2 种制剂进行生物等效性研究。方法: 血浆样品经液-液萃取, 以二羟丙茶碱为内标, 采用 Kromasil C₆H₆ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-0.3% 甲酸-0.05 mol·L⁻¹ 四丁基氯化铵溶液 (26:62:12) 为流动相, 紫外-荧光检测器串联法同时在线检测对乙酰氨基酚与曲马多, 紫外检测波长: 245 nm; 荧光激发波长: 275 nm, 发射波长: 304 nm。20 名健康志愿者服药后, 依据血浆中对乙酰氨基酚与曲马多经时血药浓度, 对 2 种制剂进行了生物等效性研究。结果: 本法中对乙酰氨基酚最低定量限为 0.10 μg·mL⁻¹, 线性范围为 0.1000~10.00 μg·mL⁻¹, 日内 RSD 为 3.9%~8.0%, 日间 RSD 为 5.5%~6.7%; 曲马多最低定量限为 10.03 ng·mL⁻¹, 线性范围为 10.03~401.0 ng·mL⁻¹, 日内 RSD 为 1.9%~5.9%, 日间 RSD 为 3.4%~7.3%。受试制剂中对乙酰氨基酚的相对生物利用度为 (96.1±15.0)%, 曲马多的相对生物利用度为 (93.9±15.3)%。结论: 本方法操作简便、灵敏度高, 可用于临床血药浓度测定。受试制剂与参比制剂生物等效。

关键词: 高效液相色谱法; 对乙酰氨基酚; 盐酸曲马多; 生物等效性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)07-1088-05

HPLC determination of paracetamol and tramadol hydrochloride in plasma in series with ultraviolet and fluorescence detection

LI Juan¹, SU Meng-xiang³, DING Li¹, DIB in^{1,3*}, LU Juan¹, WANG Jing¹, LU Ming¹

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. Pharmacy Experimental Center of China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

3. Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, Nanjing 210009, China)

Abstract Objectives To establish an HPLC method for the determination of paracetamol and tramadol hydrochloride in human plasma and to evaluate the bioequivalence of two kinds of paracetamol/tramadol hydrochloride preparations.

Methods The plasma sample was liquid-liquid extracted, diprophylline was used as an internal standard. The chromatographic separation was performed on a Kromasil C₆H₆ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) using methanol-0.3% formic acid-0.05 mol·L⁻¹ tetrabutyl ammonium chloride (26:62:12) as mobile phase. Paracetamol and tramadol in human plasma was determined simultaneously with in series of ultraviolet and fluorescence detection. The ultraviolet detector wavelength was at λ=245 nm, the fluorimetric excitation and emission wavelength were set at 275 nm and 304 nm. The bioequivalence of 2 kinds of preparations was studied according to the concentrations of paracetamol and tramadol in human plasma via time. **Results** The lower limit of quantification was 0.10 μg·mL⁻¹ for paracetamol; the calibration curve was linear in the range of 0.1000 μg·mL⁻¹ to 10.00 μg·mL⁻¹, the intra-day RSD was 3.9%~8.0%, the inter-day RSD was 5.5%~6.7%; The lower limit of quantification was 10.03 ng·mL⁻¹ for tramadol; the calibration curve was linear in the range from 10.03 ng·mL⁻¹ to 401.0 ng·mL⁻¹, the intra-day RSD was 1.9%~5.9%, the inter-day RSD was 3.4%~7.3%. The relative bioavailability of paracetamol in test preparations was (96.1±15.0)%, and that of tramadol in test preparations was (93.9±15.3)%. **Conclusion** The method is accurate and convenient and suitable for clinical pharmacokinetic study; the test and reference preparations are bioequivalent.

Key words HPLC; paracetamol; tramadol hydrochloride; bioequivalence

* 通讯作者 Tel: (025) 83271269 E-mail: ddw88@vip.sina.com

盐酸曲马多 (tramadol hydrochloride) 为非吗啡类强效镇痛药, 对乙酰氨基酚 (paracetamol) 是临床上使用极其广泛的苯胺类解热镇痛药。复方氨酚曲马多片是由盐酸曲马多与对乙酰氨基酚组成的复方制剂, 综合了盐酸曲马多起效快和对乙酰氨基酚作用持久的优点, 两者协同可起到缓解急、慢性疼痛作用^[1]。

对乙酰氨基酚与曲马多血药浓度的测定方法文献报道较多, 但大多数方法仅测定其中 1 种组分。周芬^[2]等采用高效液相色谱紫外法同时检测对乙酰氨基酚与曲马多的报道, 保留时间为对乙酰氨基酚 4.24 min, 曲马多 6.36 min, 检测波长 218 nm, 本实验尝试了该分析方法, 发现杂质峰对对乙酰氨基酚的测定有干扰, 曲马多与对乙酰氨基酚灵敏度低, 不能满足实际需要; 谭志荣^[3]等采用液质联用法同时测定 2 个组分, 但涉及大型精密仪器, 成本高。本文采用高效液相色谱串联紫外-荧光检测器法同时在线检测对乙酰氨基酚与曲马多, 其中对乙酰氨基酚采用紫外检测器, 曲马多采用荧光检测器, 建立了一种准确、灵敏的 HPLC 同时测定血浆中对乙酰氨基酚与曲马多血药浓度的方法, 并分析了 20 名健康男性志愿者分别口服 2 种片剂后对乙酰氨基酚与曲马多的血药浓度, 评价氨酚曲马多咀嚼片的人体生物等效性。

1 仪器与试药

仪器: Shimadzu LC-2010HT 高效液相色谱仪; RF-10AXL 荧光检测器; N2000 色谱工作站 (浙江大学智达信息工程有限公司); TGL-16G 台式高速离心机 (上海安亭科学仪器厂); XW-80A 涡旋混合器 (上海医科大学仪器厂); HH-S 恒温水浴锅 (金坛市恒丰仪器厂); BS21S 分析天平 (赛多利斯); PL-5242 纯水发生器 (美国 PALL 公司)。

药品与试剂: 氨酚曲马多咀嚼片 (试验制剂, 盐酸曲马多 对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片, 扬子江药业集团南京海陵药业有限公司); 及通安 (氨酚曲马多片) (参比制剂, 西安杨森制药有限公司, 盐酸曲马多 对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片)。以下对照品均由中国药品生物制品检定所提供: 对乙酰氨基酚批号 100018-200408, 盐酸曲马多批号 171242-200503, 二羟丙茶碱批号 100417-200501。试剂: 甲醇为色谱纯; 试验用水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈ (江苏汉邦科技有限公司, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.3% 甲酸

-0.05 mol·L⁻¹ 四丁基氯化铵溶液 (26:62:12), 使用前用 0.45 μm 滤膜过滤, 超声脱气; 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 紫外检测波长: 245 nm; 荧光激发波长: 275 nm, 发射波长: 304 nm; 进样量: 20 μL。

3 试验方法

3.1 受试者 20 名男性健康者, 年龄 18~25 周岁, 体重 (65.05 ± 3.49) kg 均签署试验同意书, 经一般体检和肝、心、肾功能的检查均为正常者, 试验前周内未服用其他药物, 受试期间禁忌烟酒。

3.2 试验方案 20 名男性健康受试者按体重指数随机分为 2 组, 按 2 制剂 2 周期的随机交叉试验设计分别服用制剂 R 或 T, 清洗期为 1 周。受试者于受试日前晚住院观察, 禁食 12 h 后于早晨 7:00 时空腹口服受试或参比制剂 (盐酸曲马多 对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片) 1 片, 用温开水 200 mL 送服, 服药后严密监护。口服药物前抽取空白血样 4 mL, 服药后 0.17, 0.33, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36 h 自肘静脉取血 3 mL, 置肝素抗凝试管, 3000 r·min⁻¹ 离心 10 min 分离血浆于 -20 °C 冷冻保存至用。

3.3 对照品溶液及内标溶液配制 精密称取对乙酰氨基酚对照品 25.01 mg 和盐酸曲马多对照品 10.03 mg 分别置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得到每 1 mL 含对乙酰氨基酚 1000 μg 与盐酸曲马多 401.0 μg 的对照品储备液, 置冰箱中备用。取不同量的储备液用甲醇逐步稀释配成对乙酰氨基酚浓度 5.002, 10.00, 50.02, 100.0, 150.1, 250.1, 500.2 μg·mL⁻¹ (含盐酸曲马多 0.5013, 1.002, 2.005, 4.010, 6.015, 10.03, 20.05 ng·mL⁻¹) 的混合对照品溶液, 置 4 °C 保存, 备用。精密称取二羟丙茶碱对照品 10.34 mg 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含 1.034 mg 二羟丙茶碱的溶液作为内标溶液, 置 4 °C 保存, 备用。

3.4 样品预处理 精密取血浆 0.5 mL, 置 5 mL 塑料离心管中, 精密加入内标溶液 10 μL, 漩涡 30 s 混匀, 精密加入混合提取溶剂二氯甲烷-异丙醇 (5:1) 3 mL, 漩涡 3 min, 10000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取下层有机溶剂 2400 μL, 转移至 10 mL 玻璃离心管中, 50 °C 水浴氮气吹干, 残渣精密加入流动相 100 μL, 漩涡 3 min 复溶, 取尽, 转移至 0.5 mL 离心管中, 12000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液 20 μL, 注入液相色谱仪。

4 试验结果

4.1 方法专属性 图 1 为空白血浆、空白血浆加对

照、服药 1.5 h 后血浆样品色谱图, 对乙酰氨基酚出峰时间为 6.9 min, 曲马多 8.9 min, 内标二羟丙茶碱 11.9 min, 表明在选定的色谱条件下, 血浆内源性物质对测定无干扰。

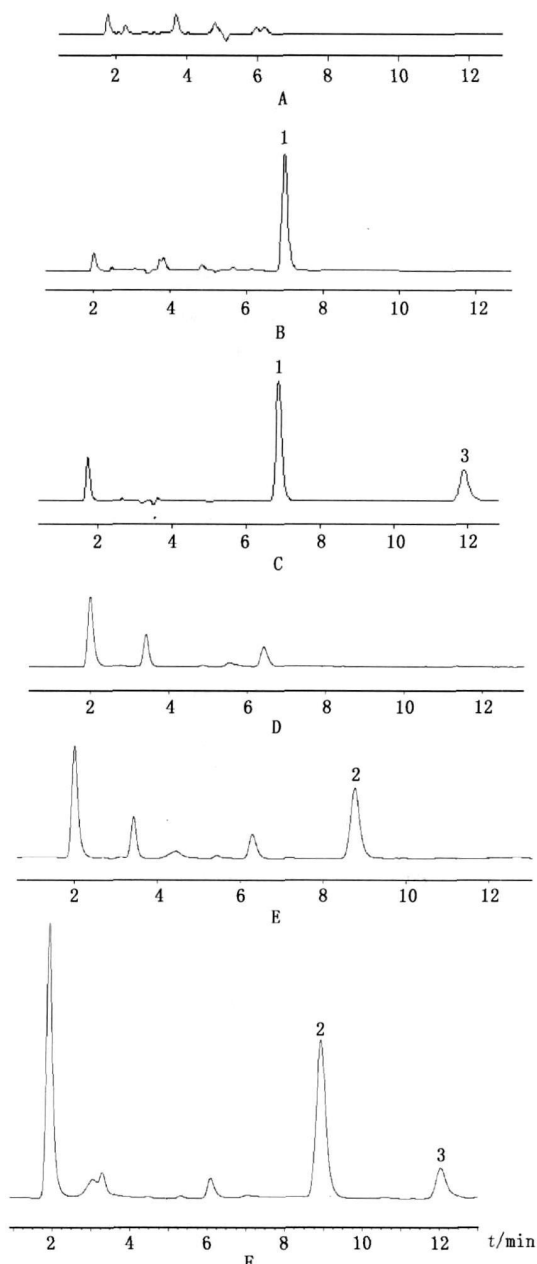


图 1 血浆中对乙酰氨基酚的紫外检测 (A, B, C) 和血浆中曲马多的荧光检测 (D, E, F) 色谱图

Fig 1 Chromatograms of paracetamol with ultraviolet detector and tramadol with fluorescence detector

A, D. 空白血浆 (blank plasma) B, E. 空白血浆加入对乙酰氨基酚 ($2.001 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 与盐酸曲马多的对照品 ($80.20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) [blank plasma spiked with paracetamol ($2.001 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) and tramadol ($80.20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)] C, F. 服药 1.5 h 后血浆样品 (plasma obtained from a volunteer after oral administration of test preparation for 1.5 h)

1. 对乙酰氨基酚 (paracetamol) 2. 曲马多 (tramadol) 3. 内标 (internal standard)

4.2 线性范围和灵敏度 取空白血浆 7 份, 每份 0.5 mL, 分别精密加入对乙酰氨基酚与盐酸曲马多混合对照品溶液 10 μL 和内标溶液 10 μL , 配制对照品血浆, 对乙酰氨基酚浓度分别为 0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 10.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 曲马多浓度分别为 10.03, 20.05, 40.10, 80.20, 120.3, 200.5, 401.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 按“3.4”项下方法操作, 以血浆中待测物的浓度为横坐标, 以待测物与内标的峰面积比为纵坐标, 用加权最小二乘法进行回归计算, 结果对乙酰氨基酚在 0.10~10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、曲马多在 10.03~401.0 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性良好, 求得对乙酰氨基酚与曲马多的回归方程分别为:

$$Y = 2.727X + 1.316 \times 10^{-2} \quad r = 0.9997$$

$$Y = 40.00X + 2.271 \quad r = 0.9976$$

在本试验条件下, 对乙酰氨基酚的最低定量限为 0.10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 曲马多为 10.03 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

4.3 回收率与精密度试验 取空白血浆, 制备含对乙酰氨基酚浓度分别为 0.20, 2.0, 5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 曲马多分别为 20.05, 80.20, 200.5 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品血浆, 按“3.4”项下方法操作, 进行方法回收率和精密度试验。分别将对乙酰氨基酚和曲马多与内标的峰面积比代入各自标准曲线的回归方程中计算测得浓度, 测得浓度与加入浓度的比值为方法回收率。同时记录测得对乙酰氨基酚和曲马多的峰面积, 在相同的色谱条件下检测对应浓度的对乙酰氨基酚和曲马多的对照品溶液。以峰面积和相应浓度的对照品溶液的峰面积比计算提取回收率, 结果见表 1。

表 1 对乙酰氨基酚与曲马多的回收率和精密度 ($n = 5$)

Tab 1 Recovery and precision of paracetamol and tramadol in plasma

组分 (component)	加入浓度 (added) / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	测得浓度 (found) / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	方法回收率 (method recovery)%	提取回收率 (extraction recovery)%	RSD % 日间 (intra-day)	日内 (inter-day)
对乙酰氨基酚 (paracetamol)	200.1	200.1	100.0	70.40	8.0	6.7
	2001	2027	112.8	68.56	4.9	5.5
	5002	5415	108.3	69.52	3.9	6.0
曲马多 (tramadol)	20.05	19.82	98.90	88.43	5.9	7.3
	80.20	84.00	104.7	84.24	2.3	3.4
	200.5	207.0	103.2	87.26	1.9	3.5

4.4 稳定性试验 取空白血浆, 制备含对乙酰氨基酚浓度分别为 0.2001, 2.001, 5.002 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 含曲马多分别为 20.05, 80.20, 200.5 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照

照品血浆,按“3.4”项下方法操作,分别进行对照品血浆室温放置、反复冻融、长期稳定性和处理后进样溶液稳定性考察。结果表明,在上述几种条件下,对照品血浆在室温放置 5 h、-20℃冻融 3 次及冰冻 30 d(-20℃)的条件下稳定性良好;处理后的进样溶液在 10 h 内的稳定性良好。

4.5 血药浓度测定 20 名健康受试者单次口服 1 片参比及受试制剂(盐酸曲马多/对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片)后对乙酰氨基酚与盐酸曲马多的平均药-时曲线见图 2 血药浓度数据经 DAS2.1 程序处理,计算二者主要药动学参数见表 2、3。

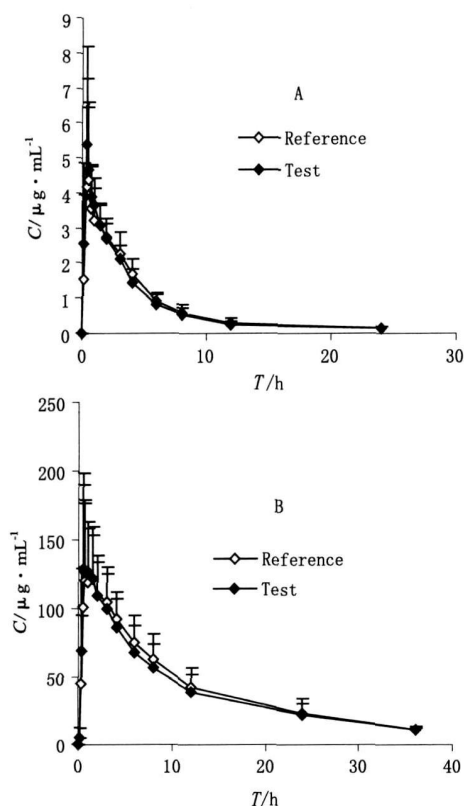


图 2 20 名健康受试者单次口服 1 片盐酸曲马多/对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片的复方制剂后对乙酰氨基酚(A)与曲马多(B)的血药浓度均值-时间曲线

Fig 2 Mean plasma concentration-time curves of paracetamol(A) and tramadol(B) in 20 healthy volunteers after oral administration compound preparation containing 37.5 mg tramadol and 325 mg paracetamol per tablet

4.6 生物等效性评价 20 名健康受试者口服 1 片氨酚曲马多咀嚼片(盐酸曲马多/对乙酰氨基酚 37.5 mg/325 mg/片)后,受试制剂中对乙酰氨基酚的相对生物利用度为(96.1±15.0)%,曲马多的相对生物利用度为(93.9±15.3)%,经对数转换,方差分析后进行单双侧检验及 90% 可信限判断,对乙酰氨基酚的 C_{max} 、 AUC_{0-24} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 可信限落在

表 2 对乙酰氨基酚的药动学参数 ($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The pharmacokinetic parameters of paracetamol

参数 (parameters)	受试 (test)	参比 (reference)
T_{max} (h)	0.53±0.26	0.90±0.84
$T_{1/2}$ (h)	3.03±1.16	3.70±1.61
C_{max} ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	6.05±2.18	5.64±2.21
$AUC_{(0-24)}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	17.08±3.97	17.95±4.08
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	17.69±4.18	18.65±4.30

表 3 曲马多的药动学参数 ($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 The pharmacokinetic parameters of tramadol

参数 (parameters)	受试 (test)	参比 (reference)
T_{max} (h)	1.07±0.68	1.11±0.64
$T_{1/2}$ (h)	9.44±2.86	9.08±2.23
C_{max} ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	171.64±40.99	165.55±56.09
$AUC_{(0-24)}$ ($\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	1390.50±382.97	1499.66±415.51
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	1546.51±422.00	1644.77±454.00

99.7% ~ 118.6%、89.5% ~ 100.9% 及 89.3% ~ 100.5% 范围内,曲马多的 C_{max} 、 AUC_{0-36} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 可信限落在 98.6% ~ 112.8%、87.0% ~ 98.8% 及 88.3% ~ 100.1%,符合《药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则》由此判断 2 种制剂为生物等效制剂。

5 讨论

5.1 分析方法的选择 由于对乙酰氨基酚与盐酸曲马多的理化性质相差较大,且对乙酰氨基酚与盐酸曲马多的含量相差较大,因而同一条件下检测有一定困难,同时测定对乙酰氨基酚与盐酸曲马多的体内含量仅有个别报道。周芬^[2]等采用高效液相色谱紫外法同时检测人血浆中对乙酰氨基酚与曲马多浓度,由于两者紫外吸收峰差异较大,在对乙酰氨基酚的最大吸收波长处,曲马多的灵敏度极低,改变检测波长使曲马多灵敏度提高后,对乙酰氨基酚的灵敏度降低,最低定量浓度为 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本实验尝试了该分析方法,发现内源性杂质对对乙酰氨基酚的测定干扰大,曲马多与对乙酰氨基酚灵敏度均较低,不能满足实际需要。此外,文献^[4-7]报道都是针对对乙酰氨基酚或者盐酸曲马多其中的 1 个组分建立了样品前处理方法和相应的分析方法,工作量大,分析时间长。本方法采用高效液相色谱串联紫外-荧光检测器法同时在线检测血浆中对乙酰氨基酚与曲马多,灵敏度高,准确度高,减少了工作量。

5.2 色谱条件的选择 对乙酰氨基酚极性大,保留

时间短, 试验过程中采用低比例有机相或调节 pH 增加对乙酰氨基酚的保留后, 导致曲马多出峰时间太晚且峰扩张, 在曲马多保留时间合适的情况下, 对乙酰氨基酚在 C_{18} 柱、腈基柱、硅胶柱上几乎无保留, 在苯基柱上, 对乙酰氨基酚保留变大, 最终选定苯基柱进行实验。在流动相的选择过程中, 尝试了调节 pH、使用阳离子对试剂使对乙酰氨基酚保留增大, 但作用甚微, 试验中发现在低 pH 条件下, 随着四丁基氯化铵的加入, 曲马多保留时间前移, 其峰形均得到很大的改善, 原因为反离子⁺覆盖固定相后, 使 tra^+ (tramadol) 不能更好地与固定相作用, 从而改善其色谱行为以缩短保留时间。所以在降低有机相比例的情况下, 采用阳离子对试剂将两者很好地分离, 对乙酰氨基酚与曲马多出峰时间适当, 且峰形良好。

5.3 提取方法的选择 本实验曾采用乙醚、乙酸乙酯作为提取溶剂, 内标物提取回收率仅约 20%; 采用甲醇沉淀, 上清液挥干, 流动相溶解后进样分析, 内源性杂质干扰测定。经试验摸索, 最终采用二氯甲烷与异丙醇的混合溶剂作为提取剂, 三者均能得到有效的提取。曲马多为弱碱性化合物, 文献^[1~7]报道, 碱化血浆样品能提高提取回收率, 本实验中发现, 未经碱化时曲马多的提取回收率仍大于 80%, 碱性条件下的提取回收率与未经碱化时相当, 而对乙酰氨基酚的提取回收率明显降低, 可能在碱性条件下对乙酰氨基酚极性增大, 在有机相中溶解度减小。以不同比例的二氯甲烷与异丙醇进行试验, 经比较, 最终未加碱化试剂, 以二氯甲烷-异丙醇 (5:1) 为提取溶剂, 结果表明本法灵敏度高、操作简便、回收率高。

5.4 内标的选择 参考文献选用了阿替洛尔^[4]、右美沙芬^[5]、氟康唑^[6]、普奈洛尔^[7]等作为内标进行实验, 寻找在选定波长处同时具有合适荧光响应与紫外响应的内标, 最终选定二羟丙茶碱为内标, 该物质在确定的色谱条件下在紫外检测器和荧光检测器上的响应分别与待测分析物相当, 且紫外和荧光均无干扰, 峰形良好, 保留时间合适, 是同时测定 2 个组分的理想内标。

5.5 药动学参数 本试验所得的主要药代动力学参数与文献报道^[7~9]基本一致, 对两者的 AUC 、 C_{max} (经对数转换) 和 T_{max} 进行方差分析, 表明 2 种制剂间均无显著性差异, 受试制剂中对乙酰氨基酚的相对生物利用度为 (96.1 ± 15.0)%, 曲马多的相对生

物利用度为 (93.9 ± 15.3)%, 受试与参比制剂及通安 (氨酚曲马多片) 具有生物等效性。

致谢: 感谢南京医科大学临床药理中心的张银娣老师和沈建平老师在临床试验中给予的大量帮助。

参考文献

- 1 Rafi RB, Vought JL. Composition comprising a tramadol material and acetaminophen and its use US, 5336691 [P]. 1994. 08. (CA 1994 121: 229D5)
- 2 ZHOU Fen (周芬), SUN Li (孙莉), LIU Jing-li (刘京丽), et al. Simultaneous determination of paracetamol / tramadol and its metabolite in human plasma by reversed-phase high performance liquid chromatography (反相高效液相色谱法同时测定人血浆中对乙酰氨基酚/曲马朵及其代谢物的含量). *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2007, 16(4): 271
- 3 TAN Zhi-rong (谭志荣), OUYANG Dong-sheng (欧阳冬生), ZHOU Gan (周淦), et al. Determination of tramadol and paracetamol in human plasma by liquid chromatography ion trap mass spectrum (高效液相色谱离子阱质谱联用法同时测定人血浆中曲马朵和对乙酰氨基酚浓度). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2005, 25(7): 795
- 4 Gan SH, Ismail RM. Method development and validation of a high performance liquid chromatographic method for tramadol in human plasma using liquid extraction *J Chromatogr B*, 2001, 759(2): 325
- 5 GE Ping (葛萍), SONG Min (宋敏), HANG Tai-jun (杭太俊). Pharmacokinetic differences of tramadol hydrochloride in healthy Chinese volunteers (盐酸曲马朵在健康中国志愿者体内的药理学差异). *Chin New Drug J* (中国新药杂志), 2007, 16(17): 1415
- 6 WANG Yan-hui (王彦慧), XIA Dong-ya (夏东亚), GUO Tao (郭涛). HPLC-fluorescence method for determination of tramadol hydrochloride in human plasma (高效液相色谱荧光检测法测定人血浆中盐酸曲马多浓度). *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2007, 27(10): 1353
- 7 OUYANG Dong-sheng (欧阳冬生), HUANG Song-lin (黄松林), WANG Wei (王伟), et al. The pharmacokinetics and relative bioavailability of tramadol hydrochloride suppositories in healthy volunteers (国产盐酸曲马多栓的人体药代动力学和相对生物利用度研究). *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2000, 16(1): 27
- 8 WANG Yu (王玉), ZHANG Zhe (张喆), CHENG Xi-jing (陈西敬), et al. HPLC determination of paracetamol in plasma and bioavailability assessment of paracetamol tablets (高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚的血药浓度及其生物利用度). *Chin J Clin Pharm* (中国临床药理学杂志), 2002, 11: 97
- 9 ZHAO Li-mei (肇丽梅), CHEN Xiao-yan (陈笑艳), CUI Jian-jun (崔健军). Determination of tramadol and its active metabolite O-desmethy tramadol in plasma and amniotic fluid using LC/MS/MS (LC/MS/MS 法测定血浆、羊水中曲马多及其活性代谢物氧去甲基曲马多). *Acta Pharm Sin* (药学报), 2004, 39(6): 458

(本文于 2009 年 2 月 26 日修改回)