

RP-HPLC法测定人血浆中富马酸喹硫平的浓度

宋雅梅*(辽宁中医药大学附属医院,沈阳 110847)

中图分类号 R969.1;R971⁺.43 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)02-0143-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.02.16

摘要 目的:建立测定人体内富马酸喹硫平浓度的方法。方法:血样以重蒸乙醚处理后采用反相高效液相色谱法测定。色谱柱为Dikma Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-5%三乙胺(50:50),流速为1.0 ml/min,检测波长为250 nm。结果:富马酸喹硫平血药浓度在30~1 500 ng/ml范围内线性关系良好,日内、日间RSD均<5%。结论:本试验所用方法线性关系良好,且具有专一性强、准确、灵敏度高的优点,符合生物样本分析的要求。可准确地测定人血浆样品中富马酸喹硫平的浓度。

关键词 富马酸喹硫平;反相高效液相色谱法;血药浓度

Determination of Quetiapine Fumarate in Human Plasma by RP-HPLC

SONG Ya-mei(The Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of quetiapine fumarate in human plasma. METHODS: The samples were treated with ethyl ether, and then determined by RP-HPLC. The determination was performed on DIKMA Diamonsil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-5% triethylamine (50:50) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 250 nm. RESULTS: The linear range of quetiapine fumarate were 30-1 500 ng/ml, and RSDs of intra-day and inter-day were all lower than 5%. CONCLUSIONS: There is good linear relationship. The method is specific, accurate and sensitive, and in line with the requirements of biological sample analysis. It is suitable for the content determination of quetiapine in human plasma.

KEYWORDS Quetiapine fumarate; RP-HPLC; Plasma concentration

富马酸喹硫平是一种新型的吩噻嗪类抗精神病药,可阻滞中枢多巴胺(Dopamine)的D₁、D₂受体和5-羟色胺受体(5-HT_{2A}、5-HT_{2B}、5-HT_{2C})等多种受体而起作用^[1],临床上对双相情感障碍和重度抑郁症(MDD)均有效,是一种被广泛用于治疗精神分裂症的一线非典型抗精神病药物和二线抗抑郁药^[2]。但富马酸喹硫平长期使用疗效的个体差异较大,其毒副作用也不容忽视,可引起低血钾麻痹、心动过速和低血压等,因此有必要开展富马酸喹硫平的血药浓度监测(TDM)。笔者在参考有关文献基础上,建立了反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定人血浆中富马酸喹硫平质量浓度的方法,为考察富马酸喹硫平缓释片在患者体内的含量奠定了方法学基础。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪LC-10ATvp(日本岛津公司);Sartorius分析天平(德国赛多利斯股份公司);Centrifuge 5804R高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);KH-508超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);WH-2型微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂)。

1.2 药品与试剂

富马酸喹硫平缓释片(思瑞康XR,瑞士AstraZeneca公司,批号:AZ0312715/03,规格:300 mg);内标:卡马西平(中国食品药品检定研究院,批号:100142-201206,纯度:99.4%);甲醇

*主任药师,硕士。研究方向:医院药学管理、临床药学。电话:024-31207280。E-mail:13066610536@126.com

为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3-4]

色谱柱:Dikma Diamonsil C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);预柱:Shimadzu C₁₈(10 mm×4.0 mm);流动相:甲醇-5%三乙胺(50:50,冰醋酸调节pH为6.0);流速:1.0 ml/min;检测波长:250 nm。

2.2 试验溶液的配制

2.2.1 富马酸喹硫平溶液:取富马酸喹硫平约10 mg,准确称定,置100 ml量瓶中,加流动相适量,振摇使之溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度为100 μg/ml的贮备液。分别精密量取该贮备液0.5、1.0、2.5、5.0、10、15、25 ml,置100 ml量瓶中,用流动相稀释得到质量浓度分别为0.5、1.0、2.5、5.0、10、15、25 μg/ml的富马酸喹硫平系列溶液。

2.2.2 卡马西平内标溶液:准确称取卡马西平6.25 mg,置于50 ml量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得质量浓度为1.25 mg/ml的贮备液,取0.4 ml贮备液置10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,配制成50 μg/ml的卡马西平内标溶液。

2.3 血浆样品处理方法

精密吸取0.5 ml血浆样品,置10 ml离心管中,加入上述内标溶液30 μl,加水0.5 ml,以2 mol/L NaOH 100 μl碱化,加入重蒸乙醚4 ml,涡旋振荡1 min,以离心半径为8 cm、3 500 r/min离心10 min,静置后吸取有机层于锥形离心管内,氮气吹干,加流动相150 μl溶解,取20 μl进样分析。空白血浆、空白血浆加样及给药后血浆样品色谱图见图1。

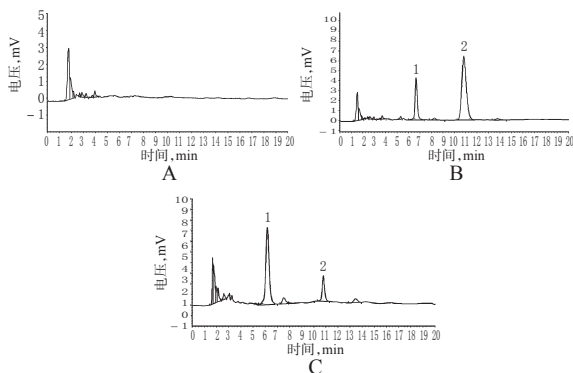


图1 高效液相色谱图

A 空白血浆; B 空白血浆+富马酸喹硫平对照品溶液+内标溶液; C. 给药血样+内标溶液; 1. 卡马西平; 2. 富马酸喹硫平

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank sample; B. blank plasma+quetiapine fumarate control+internal standard; C. blood sample+internal standard; 1. carbamazepine; 2. quetiapine fumarate

2.4 线性关系考察

分别吸取“2.2”项下系列浓度的富马酸喹硫平溶液 30 μ l 和内标溶液 30 μ l 至离心管中, 氮气流下吹干, 各加空白血浆 0.5 ml 配成质量浓度分别为 30、60、150、300、600、900、1 500 ng/ml 的血浆样本各 5 份, 按“2.3”项下方法处理, 进样分析, 以富马酸喹硫平峰面积 A_2 和卡马西平峰面积 A_1 的比值 (y) 对浓度 (x) 作线性回归, 采用加权线性回归法得标准曲线方程为: $y=0.0009x+0.2495$ ($r=0.9996$)。结果表明, 富马酸喹硫平血药浓度在 30~1 500 ng/ml 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取空白血浆 0.5 ml, 加入高 (900 ng/ml)、中 (300 ng/ml)、低 (60 ng/ml) 3 种不同质量浓度的富马酸喹硫平贮备液, 按“2.3”项下处理, 样品平行操作 5 份, 同日测定并连续测定 5 d, 计算 RSD, 结果日内和日间精密度都达到了要求, 方法可行, 详见表 1。

表1 精密度试验结果

Tab 1 Results of precision tests

配制值, ng/ml	日内精密度 ($n=5$)			日间精密度 ($n=5$)		
	实测值, ng/ml	$\bar{x} \pm s$, ng/ml	RSD, %	实测值, ng/ml	$\bar{x} \pm s$, ng/ml	RSD, %
60	62.13	62.05 ± 1.26	2.03	62.13	62.16 ± 1.49	2.39
	61.78			62.56		
	63.17			60.07		
	60.08			61.83		
	63.11			64.21		
300	312.33	323.44 ± 7.64	2.36	312.33	319.06 ± 10.97	3.44
	323.17			317.83		
	332.16			326.39		
	320.89			333.17		
	328.66			305.58		
900	903.37	915.42 ± 10.46	1.14	903.37	917.35 ± 14.97	1.63
	911.08			914.36		
	928.63			931.73		
	910.16			934.17		
	923.85			903.12		

2.6 回收率试验

2.6.1 萃取回收率: 精密量取不同量的富马酸喹硫平贮备液,

配置高 (900 ng/ml)、中 (300 ng/ml)、低 (60 ng/ml) 3 种不同质量浓度的富马酸喹硫平溶液, 取 20 μ l 进样, 记录样品峰与内标峰面积之比 A_1 ; 另取空白血浆 0.5 ml, 加入同样高、中、低 3 种不同质量浓度的富马酸喹硫平贮备液, 按“2.3”项下方法处理, 进样, 记录样品峰与内标峰的面积之比 A_2 , 以 A_2/A_1 之比计算萃取回收率。结果表明, 药物浓度越高, 萃取越完全, RSD 均符合要求; 同时 3 个样品浓度的内标平均回收率为 84.94%, 表明内标稳定, 该方法平行性良好。萃取回收率测定结果见表 3。

表3 回收率试验结果

Tab 3 Recovery of recovery tests

配制值, ng/ml	平均萃取回收率 ($\bar{x} \pm s$), %	RSD, %	平均方法回收率 ($\bar{x} \pm s$), %	RSD, %
60	64.43 ± 3.88	6.02	104.73 ± 3.58	3.42
300	74.14 ± 2.91	3.92	103.63 ± 2.86	2.76
900	82.88 ± 2.40	2.89	101.57 ± 0.74	0.72

2.6.2 方法回收率: 精密量取空白血浆 0.5 ml, 加入不同量富马酸喹硫平贮备液, 使血浆含药物分别为高 (900 ng/ml)、中 (300 ng/ml)、低 (60 ng/ml) 3 种不同质量浓度, 按“2.3”项下方法处理, 进样, 记录样品峰与内标峰的面积 A_2 、 A_1 , 以 A_2/A_1 代入标准曲线计算, 以测定值与配制值之比计算方法回收率。结果高、中、低 3 个质量浓度的 RSD 分别为 3.42%、2.76%、0.72%, 方法准确。方法回收率结果见表 3。

2.7 最低检测质量浓度

精密量取空白血浆 0.5 ml, 配制 20 ng/ml、10 ng/ml 的血样, 按“2.3”项下方法处理, 进样。测得各样品的峰高与噪音 (基线峰高), 取信噪比为 3 时的最低检测质量浓度。结果当信噪比为 3 时, 本法测的血浆中最低检测质量浓度为 10 ng/ml。

2.8 患者血药浓度监测

2.8.1 一般资料: 2010 年 9 月至 2012 年 3 月入住本院的 67 例患者, 符合中国精神障碍分类与诊断标准第 3 版精神分裂症诊断标准^[9], 阳性与阴性副反应量表 (PANSS) 总分 ≥ 60 分。排除器质性疾、妊娠期或哺育期妇女、药物过敏、智能障碍、乙醇依赖及有自杀企图者。其中男性 41 例, 女性 26 例; 年龄 17~62 岁, 平均 (34.3 \pm 9.1) 岁; 病程 2 个月至 13 年, 平均 (4.5 \pm 2.2) 年; 体质量 (62.5 \pm 8.7) kg。

2.8.2 给药方案: 停药清洗 2 周, 富马酸喹硫平起始剂量为 50~100 mg/d, 剂量范围 400~800 mg/d, 每日分 2~3 次服用, 疗程 6 周, 使用 PANSS 评定疗效。分别于治疗前及治疗后第 6 周末进行疗效评定, 疗效评定按 PANSS 减分率 $\geq 30\%$ 为有效, $< 30\%$ 为无效。所有资料、数据均采用 SPSS 11.0 软件包处理, 进行 t 检验及相关分析, 以 $P < 0.05$ 为有统计学显著性差异。

2.8.3 取血时间: 全部受试者于治疗前及治疗后第 6 周末量表评定后次日晨 7:00 时取肘静脉血 2 ml, 分离血样, 按“2.3”项下方法进行测定, 考察富马酸喹硫平血药浓度范围, 分析血药浓度与效应间的关系。

2.9 患者血药浓度与疗效的关系

给予富马酸喹硫平治疗 6 周的患者, PANSS 减分率 $< 30\%$ 患者有 55 人, 其血药浓度范围在 110~420 ng/ml; PANSS 减分率 $< 30\%$ 患者 12 人, 其血药浓度范围在 32.7~170 ng/ml, 其中

只有2人的血药浓度超过110 ng/ml;心电图异常患者18例,其血药浓度范围在270~420 ng/ml,其中有4人的血药浓度低于350 ng/ml。

3 讨论

马酸喹硫平甲醇溶液在200~400 nm内扫描结果显示,富马酸喹硫平在210 nm波长处有最强紫外吸收峰,在250 nm波长处和290 nm波长处有次强吸收。考虑到210 nm波长处属于末端吸收,作为检测波长易受其他杂质光的干扰,且测定结果极不稳定;而将290 nm作为检测波长时,灵敏度较差;故选择250 nm作为检测波长。试验结果证实,在250 nm波长处灵敏度完全可以满足实际工作的需求,测得的结果稳定可靠。

本研究曾以甲醇和水为流动相,发现富马酸喹硫平有严重拖尾现象。采用流动相中加入三乙胺、用冰醋酸调节pH为6.0的方法可以改变样品在色谱柱中的分配行为,改善样品峰形。对流动相中甲醇与水不同配比考察发现,随着甲醇比例的下降,样品保留时间延长、峰形变宽、灵敏度降低。

本方法快速、准确,样品制备简便,结果稳定可靠,单个样品测定所需时间适中,适用于喹硫平治疗常规血浓度监测。

疗效评价结果显示,相同剂量的不同患者的血药浓度相差可达2~4倍,提示富马酸喹硫平代谢存在较大个体差异。根据疗效评价结果,110~350 ng/ml可作为喹硫平治疗精神分裂

症的有效血药浓度范围参考,该结果的临床指导意义尚需临床大样本试验进一步证实。

参考文献

- [1] Figueroa C, Brecher M, Hamer-Maansson JE, et al. Pharmacokinetic profiles of extended release quetiapine fumarate compared with quetiapine immediate release[J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2009, 33(2):199.
- [2] Weisler R, Joyce M, McGill L, Lazarus A, et al. Extended release quetiapine fumarate monotherapy for major depressive disorder: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled study[J]. *CNS Spectr*, 2009, 14:299.
- [3] Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, et al. Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: A STAR*D report[J]. *American Journal of Psychiatry*, 2006, 163(11):1905.
- [4] Mconville BJ, Arvanitis LA, Thyrum PT, et al. Pharmacokinetics, tolerability, and clinical effectiveness of quetiapine fumarate: an open-label trial in psychotic disorders[J]. *J Clin Psychiatry*, 2000, 61(4):252.

(收稿日期:2013-10-17 修回日期:2013-11-17)

国内首部中药临床药学专著在中山首发

2013年12月7日在中山“全国中药临床药学学术研讨会”开幕式上,《中药临床药学》新书首发式隆重举行。《中国药房》《中药材》《时珍国医国药》《药物流行病学》《亚太传统医药》《中国药业》《中国中医药报》《医药经济报》等医药报刊杂志的主编或编辑部主任等出席了新书首发式。

近年来,中药安全性事件频繁曝光,人们已逐步开始重视这方面的问题,全国许多医院也相继建立了临床药学区,配备了一定数量的临床药师,但中药临床药学的发展仍非常缓慢,真正开展中药临床药学工作的医院很少,水平也很低,中药临床药学的发展目前基本上仍处于停滞状态。究其原因主要是中药临床药学不像西药临床药学那样有国外成熟的发展模式可供借鉴,没有现成的具有指导性的专著。因此,亟需编撰一本《中药临床药学》专著供中药临床药学工作者参考。

本书的二位主编即广州中医药大学附属中山医院梅全喜教授和北京中医药大学东直门医院曹俊岭教授,均为国内重视中药临床药学研究的专家及所在单位的中药临床药学科带头人,在中药临床药学研究方面均有突出的成就。其中梅全喜教授长期以来一直关注中药临床药学及中药安全性问题,带领他的团队在中药临床药学研究特别是中成药的安全合理应用、中药处方点评及中药注射剂的不良反应研究等方面做了大量的工作,编写出版中药注射液不良反应及中成

药合理应用方面的专著多部,并撰写几十篇有关中药临床药学方面的学术论文发表于国家级核心医药期刊上,对中药临床药学有独特的见解。曹俊岭教授为国家中医药管理局中药临床药学重点专科带头人,近年来他带领的团队积极开展“以病人为中心、以合理用药为核心”的临床药学工作,承担了“中药注射剂临床使用的规范化研究”“中药饮片调剂的规范化研究”及“基于回归分析法的常用有毒中药剂量的文献研究”等多项国家级、省部级中药临床药学方面科研课题,取得显著成绩。在这些工作的基础上,他们组织全国16家“三甲”医院从事中药临床药学的经验丰富的专家合作编写出版了《中药临床药学》。该书系统介绍了包括中药临床药学的概念、中药的合理应用、中药调剂的基本知识与操作技能、中药处方点评、中药不良反应、中药注射剂的安全性、中药药源性疾病、中药临床药理学、中药的治疗药物监测与个体化给药方案、中药药物经济学、中药循证药学、中医药文献与信息、中药药学服务与咨询、中药药历书写规范等相关内容。全书内容全面、资料翔实、实用性强,具有较强的参考价值,是我国正式出版的第一部关于中药临床药学的专著。相信本书的出版,将对推动我国中药临床药学工作的广泛深入开展起到重要而积极的作用。

戴卫波