

# RP-HPLC法测定人血浆中帕利哌酮的浓度

赵雪茹\*, 厉倬学, 张嘉萱, 高永双\*(中山市第三人民医院, 广东 中山 528451)

中图分类号 R969.1; R971<sup>+</sup>.41

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2014)30-2819-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.30.13

**摘要** 目的:建立测定人血浆中帕利哌酮浓度的方法。方法:血样以乙醚处理后采用反相高效液相色谱法进样测定。色谱柱为Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-乙腈-水(1:5:14,加入1.88%正丁胺以及1.80%冰醋酸),流速为1.0 ml/min,检测波长为280 nm,温度为室温(18~28 ℃),内标为曲唑酮,湿度<85%。结果:帕利哌酮血药浓度在2.81~180 ng/ml范围内线性关系良好( $r=0.999\ 0$ );平均方法回收率在99.01%~104.23%之间,日内、日间RSD均<11%。结论:该法操作简便、准确、重复性好,可用于临床监测帕利哌酮的血药浓度。

**关键词** 帕利哌酮;反相高效液相色谱法;药理学;血药浓度

## Determination of Paliperidone in Human Plasma by RP-HPLC

ZHAO Xue-ru, LI Zhuo-xue, ZHANG Jia-xuan, GAO Yong-shuang (Zhongshan Third People's Hospital, Guangdong Zhongshan 528451, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for determining the plasma concentration of paliperidone. METHODS: RP-HPLC method was adopted after samples were treated with ethyl ether using trazodone as internal standard. The determination was performed on Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-water (1:5:14 added into 1.88% n-butylamine and 1.80% glacial acetic acid) at flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm and room temperature maintained at 18-28 ℃. The relative humidity was kept less than 85%. RESULTS: The liner range of paliperidone were 2.81-180 ng/ml ( $r=0.999\ 0$ ) with recovery of 99.01%-104.23%. RSDs of inter-day tests and intra-day were lower than 11%. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the determination of plasma concentration of paliperidone in the clinic.

**KEYWORDS** Paliperidone; RP-HPLC; Pharmacokinetics; Plasma concentration

帕利哌酮(Paliperidone)是目前已被广泛应用的第二代抗精神病药——利培酮的体内活性代谢物,其通用名称为9-羟利培酮(9-hydroxy-risperidone)。2006年,美国FDA批准帕利哌酮用于精神分裂症的急性治疗及维持治疗。目前国内使用的主要是一种被称为帕利哌酮缓释胶囊(Paliperidone extended-release, PER)的剂型,该剂型采用了渗透性控释口服给药系统(OROS技术),使药物在肠道内延缓释放,以获得更高更平稳的血药浓度,使患者有更稳定的疗效和较好的耐受性。与利培酮对比,由于帕利哌酮对多巴胺和5-羟色胺(HT)受体的亲和力差异以及与受体解离时间缩短,其在临床应用时不良反应如锥体外系反应(EPS)的发生率可能更低<sup>[1]</sup>。多国的安慰剂对照试验表明,3~15 mg/d剂量的帕利哌酮不仅有效,而且较为安全<sup>[2-4]</sup>。因此,为协助和指导临床医师合理调整帕利哌酮药物剂量,减少和避免药品不良反应,本研究应用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定人血浆中帕利哌酮的浓度,为提高用药的安全性和有效性提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent1200 高效液相色谱仪,配VWD紫外检测器(美国Agilent公司);XW-80A旋涡混合仪(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);BT25S分析天平(德国Sartorius公司);帕恩

特XYB-H普通分析级纯水机(北京瑞科源科技有限公司);TDL-5-A低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 药品与试剂

帕利哌酮(美国Sigma公司,纯度≥99%,批号:099K4713);内标:曲唑酮(美国Sigma公司,纯度≥99%,批号:060M1651V);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm);流动相:甲醇-乙腈-水(1:5:14, V/V/V,加入1.88%正丁胺以及1.80%冰醋酸,流动相配制前,有机溶剂均用0.45 μm聚四氟乙烯滤膜过滤1次,超纯水用0.45 μm微孔滤膜过滤1次);流速:1.0 ml/min;检测波长:280 nm;积分仪:CS=0.25 cm/min, AT=8, PT=50, pH=1;柱温:室温(18~28 ℃);湿度:<85%。

### 2.2 溶液的配制

(1)对照品贮备液:准确称取帕利哌酮5 mg,用甲醇溶解并定容至5 ml,得到质量浓度为1.00 mg/ml的帕利哌酮贮备液,4 ℃保存。(2)对照品标准溶液:取对照品贮备液72 μl,加甲醇定容至10 ml得到浓度为7.2 μg/ml的对照品标准溶液,继续用甲醇逐步稀释得到帕利哌酮质量浓度为3.6、1.8、0.9、0.45、0.225、0.112 5、0.056 25 μg/ml的系列对照品标准溶液。(3)内标溶液:准确称取曲唑酮5 mg,用甲醇溶解并定容至5 ml,得到质量浓度为1.00 mg/ml的曲唑酮贮备液,4 ℃保存。使用时

\*主管药师。研究方向:药理学。电话:0760-89929714

#通信作者:主管药师,硕士。研究方向:药理学。电话:0760-89929714

用甲醇稀释至质量浓度为4 μg/ml的内标溶液。

### 2.3 血浆样品预处理

吸取待测血浆1 ml加至10 ml圆底玻璃管中,加入内标溶液50 μl、2 mol/L氢氧化钠(NaOH)溶液500 μl,涡旋混匀后,加入重蒸乙醚4 ml,涡旋5 min,4 000 r/min离心5 min;将上层乙醚转移至10 ml尖底玻璃管中,加入0.2 mol/L盐酸(HCl)溶液200 μl,涡旋5 min,4 000 r/min离心5 min,弃去上层乙醚;将玻璃管置于热水浴(>90 ℃)中,用氮气吹干管内液体,然后加入流动相100 μl,涡旋充分溶解管壁上残留的药物,取20 μl进样,进行色谱分析(色谱见图1)。如图1B所示,内标物曲唑酮和对照品帕利哌酮的保留时间分别为3.8、8.8 min,二者能完全分离,提示血浆中内源性物质对测定无干扰。图1C所示为我院患者服用帕利哌酮4周血药浓度稳定后,晨起服药前空腹取血测得的色谱图。

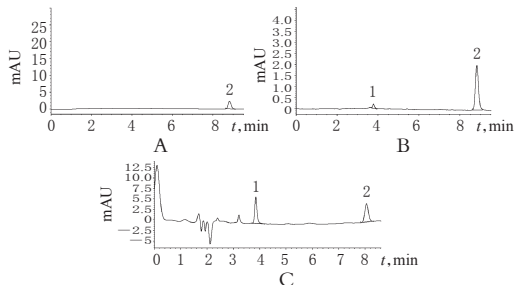


图1 高效液相色谱图

A. 空白血浆+曲唑酮; B. 空白血浆+帕利哌酮+曲唑酮; C. 患者服药后血浆+曲唑酮; 1. 帕利哌酮; 2. 曲唑酮

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma+trazodone; B. blank plasma+paliperidone+trazodone; C. plasma of patients after medication+trazodone; 1. paliperidone; 2. trazodone

### 2.4 标准曲线的制备

取8支圆底试管,分别加入空白血浆1 ml,其中一支作为空白对照管加入甲醇50 μl,其余7支管分别加入不同浓度对照品标准溶液50 μl,混匀,得到含帕利哌酮为2.81、5.63、11.25、22.50、45.00、90.00、180.00 ng/ml的系列血浆样品,每管加入内标溶液50 μl,按“2.3”项方法处理样品。每管取20 μl进样,经色谱分析后,计算各浓度点色谱图上被测物质与内标的峰高比。用帕利哌酮峰高与曲唑酮峰高的比值(y)对血药浓度(x)进行线性回归,得标准曲线方程: $y=25.724x+0.331$  ( $r=0.9998$ )。结果表明,帕利哌酮血药浓度在2.81~180 ng/ml范围内线性关系良好,最低检测质量浓度为2.81 ng/ml。

### 2.5 提取回收率试验

每批测定时,新鲜配制低、中、高(2.81、22.5、45.0 ng/ml)3种质量浓度的质控样本各1份,与待测血浆样本一起测定,处理方法同“2.3”项,考察提取回收率,结果见表1。

### 2.6 方法回收率与精密度试验

配制帕利哌酮低、中、高(2.81、22.5、45.0 ng/ml)3种质量浓度的含药血浆,按照“2.3”项方法操作,以实测浓度/理论浓度计算方法回收率,同时考察日内、日间精密度,结果见表1。

## 3 临床实践

1例女性住院患者,51岁,按ICD-10精神分裂症诊断标准诊断为精神分裂症患者,口服帕利哌酮缓释片6 mg/d,单一用药,维持服药4周后早晨服药前空腹采血,测得其帕利哌酮血

药浓度为40.0 ng/ml。

表1 回收率及精密度试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery and precision tests(n=5)

加入量, ng/ml	提取回收率, %	RSD, %	方法回收率, %	RSD, %	日间精密度		日内精密度	
					测得量, ng/ml	RSD, %	测得量, ng/ml	RSD, %
2.81	90.03±4.3	3.8	99.01±3.9	4.5	2.53	4.0	2.63	10.9
22.5	96.22±2.6	1.7	99.71±3.1	3.2	21.65	1.3	20.3	8.8
45.0	99.27±1.8	2.5	104.23±2.4	3.1	44.67	2.1	44.67	2.1

## 4 讨论

有关帕利哌酮血药浓度的测定有文献报道采用液-质联用(LC-MS/MS)法、高效液相色谱法等方法。在血液样品处理时,本试验选择了液-液萃取方法;另在萃取过程中比较了乙酸乙酯与乙醚溶剂,发现乙酸乙酯的提取率较乙醚低,故选择了乙醚作为萃取溶剂。本试验通过加入NaOH碱性介质使检测的药物成盐后,再采用HCl反提取,实现了样本的纯化和浓缩。本法较乙腈沉淀蛋白法、固相萃取法、二氯甲烷萃取法<sup>[5-7]</sup>等具有样品预处理简便、快速,溶剂对人体危害小,杂质干扰较少的优点。

本试验建立的RP-HPLC法具有准确、灵敏度高、专一性强、线性范围广、重复性好等优点。帕利哌酮在人体药动学方面存在较大的个体差异,药物浓度过高会引起不必要的不良反应事件发生,而浓度较低则可导致疗效不佳。对服用帕利哌酮的患者实施治疗药物浓度监测,有利于实施用药剂量个体化,减少用药盲目性和不良反应的发生,为临床医师用药提供参考。

## 参考文献

- [1] 司天梅. 新型抗精神病药帕利哌酮缓释剂[J]. 中华精神科杂志, 2010, 43(2): 118
- [2] Kane J, Canas F, Kramer M, et al. Treatment of schizophrenia with paliperidone extended-release tablets: a 6-week placebo-controlled trial[J]. *Schizophr Res*, 2007, 90(1/3): 147.
- [3] Marder SR, Kramer M, Ford L, et al. Efficacy and safety of paliperidone extended-release tablets: results of a 6-week, randomized, placebo-controlled study[J]. *Biol Psychiat*, 2007, 62(12): 1363.
- [4] Davidson M, Emsley R, Kramer M, et al. Efficacy, safety and early response of paliperidone extended-release tablets (paliperidone ER): results of a 6-week, randomized, placebo-controlled study[J]. *Schizophr Res*, 2007, 93(1/3): 117.
- [5] 夏又华, 唐曦阳, 朱艳. LC/MS/MS分析人血浆中利培酮和9-OH-利培酮的浓度[J]. 中医药导报, 2006, 12(5): 67.
- [6] Remmerie BMM, Sips LLA, Vries R de, et al. Validated method for the determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2003, 783(2): 461.
- [7] Aravagiri M, Marder RS. Simultaneous determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 2000, 35: 718.

(收稿日期:2014-02-24 修回日期:2014-05-23)