

# HPLC法测定人血浆中奥卡西平及其活性代谢产物的浓度

谢宁<sup>1\*</sup>,林志霞<sup>2</sup>,杨红梅<sup>3</sup>,梁小丽<sup>3</sup>,肖春燕<sup>1</sup>(1.广州市天河区妇幼保健院药剂科,广州 510620;2.广州市天河区妇幼保健院神经内科,广州 510620;3.广州市妇女儿童医疗中心药学部,广州 510120)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)11-1496-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.11.19

**摘要** 目的:建立同时测定人血浆中奥卡西平(OXC)及其活性代谢产物单羟基卡马西平(MHD)浓度的方法。方法:血浆样品采用乙酸乙酯-二氯甲烷(90:10)处理后,以高效液相色谱法进样测定,其中色谱柱为Agilent C<sub>18</sub>,流动相为10 mmol/L醋酸铵-甲醇-乙腈(45:30:25, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为225 nm,柱温为30 ℃,灵敏度为0.01 AUFS。结果:OXC、MHD血药浓度分别在1.0~48.0( $r=0.999\ 6$ )、3.0~96.0 μg/ml( $r=0.999\ 6$ )范围内线性关系良好,最低检测限为0.5 μg/ml;二者低、中、高浓度方法平均回收率分别为97.12%、99.06%、101.27%与96.73%、99.35%、100.86%;提取回收率分别为71.16%、75.38%、77.76%与73.36%、76.52%、77.89%;日内、日间RSD均低于5%( $n=5$ )。结论:该方法灵敏、准确、简便、快速,可用于OXC与MHD临床治疗药物监测(TDM)与药动学研究。

**关键词** 奥卡西平;单羟基卡马西平;血药浓度;高效液相色谱法

## Determination of the Concentration of Oxcarbazepine and Its Active Metabolites in Human Plasma by HPLC

XIE Ning<sup>1</sup>, LIN Zhi-xia<sup>2</sup>, YANG Hong-mei<sup>3</sup>, LIANG Xiao-li<sup>3</sup>, XIAO Chun-yan<sup>1</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Tianhe Hospital of Maternal and Child Health, Guangzhou 510620 China; 2.Dept. of Neurology, Tianhe Hospital of Maternal and Child Medical, Guangzhou 510620, China; 3.Dept. of Pharmacy, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510120, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for determining the concentration of oxcarbazepine (OXC) and its active metabolite monohydroxycarbazepine (MHD) in human plasma. METHODS: Plasma samples were detected by HPLC after being processed by ethyl acetate and dichloromethane (90:10). The column was Agilent C<sub>18</sub> with the mobile phases of 10mmol/L ammonium acetate-methanol-acetonitrile (45:30:25, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The temperature was 30°C, detection wavelength was 225 nm and sensitivity was 0.01 AUFS. RESULTS: There was a good linear relationship in the concentration of OXC and MHD respectively in the range of 1.0-48.0 μg/ml ( $r=0.999\ 6$ ) and 3.0-96.0 μg/ml ( $r=0.999\ 6$ ), the lowest limit of detection was 0.05 μg/ml. The relative average recoveries of low, middle and high concentration were respectively 97.12%, 99.06%, 101.27% and 96.73%, 99.35%, 100.86%; the extraction recoveries were respectively 71.16%, 75.38%, 77.76% and 73.36%, 76.52%, 77.89%; the RSD of intra-day and inter-day variation was less than 5% ( $n=5$ ). CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate, easy and quick. It can be used for clinical drug monitoring (TDM) and pharmacokinetics studies.

**KEYWORDS** Oxcarbazepine; Monohydroxycarbazepine; Plasma concentration; HPLC

奥卡西平(Oxcarbazepine OXC)化学名为10,11-二氢-10-氧代-5H-二苯并[b,f]氮杂-5-甲酰胺。其为前体药,在体内代谢为有药理活性的单羟基卡马西平(Monohydroxycarbazepine MHD)而发挥治疗癫痫和全身性强直阵挛性发作,与传统抗癫痫药(AEDs)不同,OXC具有较少不良反应,有更好的耐受性和较小肝药诱导酶作用<sup>[1]</sup>。因此,自OXC上市以来,广泛用于成年人及婴幼儿癫痫局限性发作和全身性强直阵挛发作的治疗<sup>[2]</sup>。一项OXC使用经验的综述显示,OXC不管是作为单药还是辅助用药,治疗儿童部分性癫痫均有效、安全和可耐受<sup>[3]</sup>。尽管如此,在临床使用中OXC与其他AEDs一样具有治疗窗窄、毒副作用大等特点。尤其在婴幼儿用药中更为明显,因为婴幼儿各器官/系统发育还不成熟,药物作用疗效、不良反应与药动学参数等都有很大的个体差异<sup>[4]</sup>。为方便评价疗效或制订给药方案,达到个体化用药目的,因此在临床使用中对OXC和MHD

进行治疗药物监测(TDM)具有重要的临床意义<sup>[5]</sup>。国内外有OXC与MHD血药浓度测定的报道<sup>[6-12]</sup>,但这些报道所用仪器各不相同,试剂及血样处理方法都各有特点,本试验结合我院实验室情况,建立了一种灵敏、准确、简便、快速的测定人血浆中OXC及其活性代谢产物MHD浓度的高效液相色谱法,并应用于临床TDM与药动学研究。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200高效液相色谱仪,包括G1322A在线脱气机、G1313A自动进样器、G1311C自动调配器、G1316A控温模块、G1316A可调柱温恒温箱、G4212B二极管阵列紫外检测器(DAD)和色谱化学工作站(美国Agilent公司)。Micro 1224高速离心机(美国热电公司,离心半径:8 cm);十万分之一电子分析天平(瑞士Sartorius公司);超纯水仪(法国Millipore公司)。

### 1.2 药品与试剂

OXC对照品(美国Sigma公司,批号:H13896,含量>

\* 主管药师。研究方向:医院药学与临床药学。电话020-38817323。E-mail:495339807@qq.com



8例婴幼儿癫痫患者,口服OXC混悬液(诺华制药有限公司,批号:201300601,规格:60 mg/250 ml)。1周后早上服药前采血检测其血药浓度。8例患儿服药后的血药浓度见表2。

表2 8例患儿服药后的血药浓度

Tab 2 Plasma concentration of 8 patients after administration of OXC

患儿编号	性别	年龄,岁	服药量,ml/d		
			OXC	OXC	MHD
1	男	1+7/12	60	5.6	23.9
2	女	1+9/12	40	4.7	17.3
3	男	1+3/12	30	3.6	11.5
4	男	1+5/12	40	5.1	15.7
5	女	2+8/12	20	3.3	9.2
6	女	2+6/12	30	4.1	18.5
7	男	1+2/12	30	5.5	16.2
8	男	1+8/12	40	4.7	19.6

### 3 讨论

#### 3.1 试验方法的选择

有关OXC和MHD的测定,文献报道有固相萃取<sup>[7]</sup>,该法操作烦琐、复杂;亦有蛋白沉淀方法<sup>[14]</sup>,而蛋白沉淀方法杂质多,对检测干扰大。本试验采用经典液-液提取,避免了前二者的不足。具有操作简便、成本低廉等特点,绝对回收率>70%,相对回收率接近100%,日内、日间RSD均<5%,符合《临床药理学试验指导原则》的基本要求,结果可靠。

#### 3.2 检测波长的选择

OXC与MHD结构中都有苯环,紫外吸收明显。吸取OXC与MHD对照品溶液在190~400 nm波长范围内紫外扫描,发现二者在210 nm波长处均有最大吸收,因210 nm波长处靠近末端吸收,对检测干扰大且容易造成基线的波动,参考相关文献<sup>[7-12]</sup>后本试验选择225 nm为检测波长。在此波长检测各组分的响应值均较理想。

#### 3.3 内标的确定

本试验中曾以卡马西平、乙酰唑胺、左乙拉西坦、氯硝西泮、地西洋、硝西泮等抗癫痫药作为内标,这些药物也能与OXC和MHD很好的分离,但在临床中,抗癫痫往往采用联合用药,OXC很可能与这些药物的一种或二种进行联合应用,因此使用这些组分作内标会影响血标本检测。后发现用 $\beta$ -萘酚也能与OXC与MHD很好的分离,并且三组分的保留时间较接近,因此本试验选用 $\beta$ -萘酚作内标。

#### 3.4 流动相的选择

在试验中发现,单用10 mmol/L醋酸铵-甲醇(40:60, V/V)或10 mmol/L醋酸铵-乙腈(35:65, V/V)也能使三组分完全分离,但基线波动大,峰形不好,半峰宽达不到要求,后改用10 mmol/L醋酸铵-甲醇-乙腈(45:30:25, V/V/V)作流动相,峰形很好,基线波动小,符合检测要求。

#### 3.5 线性范围的确定和提取剂的选择

文献[15]报道MHD治疗窗范围为12~36  $\mu$ g/ml,因此本试验建立的标准曲线能满足MHD的常规检测。另外,在本试验过程中曾分别使用乙醚、正己烷、乙酸乙酯和三氯甲烷为提取剂,提取率都达不到要求。而且单采用乙酸乙酯提取时血浆容易出现乳化现象。后用乙酸乙酯-二氯甲烷(90:10)作提取剂,提取率最高,且避免了血浆乳化。采用此混合提取剂一次提取,所取血浆仅为0.4 ml,进样量10  $\mu$ l便达到试验要求,

既提高了灵敏度又减少了样品杂质干扰,保证色谱柱能连续分析大量样品。

### 参考文献

- [1] Franceschi L, Furlanut M. A simple method to monitor plasma concentrations of oxcarbazepine, carbamazepine, their main metabolites and lamotrigine in epileptic patients [J]. *Pharmacological Research*, 2005, 51(2):297.
- [2] 郭丽丽, 黄志, 吴惧, 奥卡西平超说明书用药治疗2岁以下婴幼儿部分发作性癫痫临床观察[J]. *儿科药学杂志*, 2014, 20(4):18.
- [3] Bourgeois BF, D'Souza J. Safety and tolerability of oxcarbazepine in children with epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2004, 45 (Suppl 7):s275.
- [4] 徐洋, 周文智, 胡文广, 等. 奥卡西平单药治疗2岁以下部分性发作癫痫患儿的临床观察[J]. *儿科药学杂志*, 2014, 20(3):13.
- [5] 刘彬, 王刚, 何翠瑶, 等. 奥卡西平的代谢物10, 11-二氢-10-羟基卡马西平在癫痫儿童中的群体药理学[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(7):526.
- [6] 冯健全, 许俊羽, 吴晔, 等. RP-HPLC法测定人血浆和唾液中奥卡西平活性代谢物的浓度[J]. *中国临床药理学杂志*, 2013, 29(4):299.
- [7] Ferreira A, Rodrigues M, Oliveira P, et al. Liquid chromatographic assay based on microextraction by packed sorbent for therapeutic drug monitoring of carbamazepine, lamotrigine, oxcarbazepine, phenobarbital, phenytoin and the active metabolites carbamazepine-10, 11-epoxide and licarbazepine [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 971(1):20.
- [8] Serralheiro A, Alves G, Fortuna A, et al. First HPLC-UV method for rapid and simultaneous quantification of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine, carbamazepine-10, 11-epoxide, 10, 11-trans-dihydroxy-10, 11-dihydrocarbamazepine, lamotrigine, oxcarbazepine and licarbazepine in human plasma [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013, 1 925(2):1.
- [9] Lionetto L, Casolla B, Cavallari M, et al. High-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of carbamazepine, oxcarbazepine, and their main metabolites in human serum [J]. *Ther Drug Monit*, 2012, 34(1):53.
- [10] Fortuna A, Sousa J, Alves G, et al. Development and validation of an HPLC-UV method for the simultaneous quantification of carbamazepine, oxcarbazepine, eslicarbazepine acetate and their main metabolites in human plasma [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397(4):1 605.
- [11] Contin M, Mohamed S, Candela C, et al. Simultaneous HPLC-UV analysis of rufinamide, zonisamide, lamotrigine, oxcarbazepine monohydroxy derivative and felbamate in deproteinized plasma of patients with epilepsy [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, 878(3/4):461.

# 我院436例/次地高辛血药浓度监测结果分析

郭健雄\*,李超,袁进#,石磊(广州军区广州总医院药剂科,广州 510010)

中图分类号 R969.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)11-1499-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.11.20

**摘要** 目的:为临床制订个体化给药方案提供参考。方法:采用化学发光免疫分析法对我院2013年监测的436例/次地高辛血药浓度监测结果进行统计和分析。结果:患者以男性为主,占65.36%;65岁以上患者占84.17%;血药浓度在0.5~2.0 ng/ml范围的有281例,占64.45%;血药浓度>2.0或<0.5 ng/ml的分别占22.25%和13.30%;女性平均血药浓度高于男性,其中血药浓度>2.0 ng/ml的女性患者占30.46%,亦高于男性患者(17.89%)。结论:地高辛血药浓度受患者年龄、性别等因素影响。血药浓度监测结果应与患者的生理、病理情况及临床表现结合,以制订个体化给药方案。

**关键词** 地高辛;性别;血药浓度监测;年龄

## Analysis of the Results of 436 Cases/Times of Digoxin Serum Concentration Monitoring

GUO Jian-xiong, LI Chao, YUAN Jin, SHI Lei (Dept. of Pharmacy, Guangzhou General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To analyze the results of digoxin blood concentration monitoring and provide references for clinical rational drug use. METHODS: Chemiluminescence immunoassay technique was conducted to count and analyze 436 cases/times of digoxin blood concentrations monitoring results of our hospital in 2013. RESULTS: Most patients were male, accounting for 65.36%, and the patients over 65 years old accounted for 84.17%. Concentration in the range of 0.5-2.0 ng/ml accounted for 64.45%, 22.25% were >2.0 ng/ml and 13.30% were <0.5 ng/ml. The average drug concentration of female was higher than that of male, which female patients >2.0 ng/ml accounted for 30.46%, and higher than male patients (17.89%). CONCLUSIONS: Digoxin blood concentration is influenced by age, gender and other factors. The individualized regimen should be developed on the basis of blood concentration monitoring, physiology, pathology and clinical manifestations.

**KEYWORDS** Digoxin; Gender; Blood concentration monitoring; Age

地高辛具有促心力、抑制交感活动、抑制肾素-去甲肾上腺素-醛固酮分泌作用,是强心苷类治疗心力衰竭的主要药物之一,长期使用有减少心衰恶化,降低入院率,提高患者生命价值的价值。地高辛的半衰期为1.6 d,达稳态血清浓度需4~7个半衰期<sup>[1-2]</sup>。地高辛起效快,但是口服吸收不完全,也不规则;安全范围窄,即治疗浓度与中毒浓度接近;药动学及药效学个体差异大。因此,监测地高辛血药浓度,从病理生理、药物相互作用等方面综合分析影响地高辛血药浓度的因素,对避免或减少不良反应的发生、提高疗效、指导个体化用药等具有重要意义。笔者对我院436例/次地高辛血药浓度监测结果进行分析,旨在为临床制订个体化给药方案提供客观依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料来源

我院2013年监测地高辛血药浓度共436例/次。其中,女

性为151例/次(34.64%),男性为285例/次(65.36%),年龄最小者为12岁,年龄最大者为99岁。主要患高血压、冠心病、风湿性心脏病、心律失常、慢性阻塞性肺疾病等。成人均常规服用维持量,即0.062 5~0.25 mg, qd;儿童按体质量计算。

### 1.2 仪器与试剂

Architect i1000SR全自动免疫分析仪(美国雅培公司);高速离心机(美国雅培公司);移液枪(法国吉尔森公司);地高辛试剂盒(美国雅培公司,批号:02212B000,04612I000);标准曲线液(美国雅培公司,批号:42K06001);质控液(美国伯乐公司,批号:57191,57192,57193)。

### 1.3 方法

于下次服药前抽取空腹患者静脉血2~3 ml,置于普通干燥管中。采用化学发光免疫分析法,按照血药浓度监测操作的基本流程进行测定。试剂盒标准曲线质量浓度范围为0~

[12] Paglia G, D'Apolito O, Garofalo D, et al. Development and validation of a LC/MS/MS method for simultaneous quantification of oxcarbazepine and its main metabolites in human serum[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 860(2): 153.

\* 药师。研究方向:临床药学。电话:020-36652002。E-mail: guojianxiong1990@163.com

# 通信作者:副主任药师,硕士生导师。研究方向:医院药学。电话:020-36654464。E-mail: yujin@163.com

[13] 刘伟忠,陈清霞,石红梅. 高效液相色谱法测定人血浆中舍吡啶浓度[J]. *中国医院药学杂志*, 2010, 30(18): 1570.

[14] 于超,王志强,张梅君,等. 反相高效液相色谱法测定人血浆中奥卡西平的浓度[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(11): 2495.

[15] 焦正,钟明康,施孝金,等. 抗癫痫药物监测[J]. *中国临床药学杂志*, 2004, 13(6): 386.

(收稿日期:2015-01-13 修回日期:2015-02-28)

(编辑:李 劲)