

· 论著 ·

反相高效液相色谱法测定人血中富马酸喹硫平浓度及其在临床药学中的应用

张巧真, 宋伟明, 吴柳松 (浙江省宁波市康宁医院, 浙江 宁波 315201)

[摘要] **目的** 建立测定血清中富马酸喹硫平浓度的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法并将其应用于临床。**方法** 含药血清碱化后用乙醚萃取,应用RP-HPLC技术检测,色谱柱为Zorbax Eclipse XDB-C₁₈,流动相为甲醇-水(70:30,含0.5%三乙胺,0.4%冰乙酸),流速为0.6 ml/min,检测波长为254 nm,柱温为35℃。对建立的方法应用于临床给药分析。**结果** 血清中富马酸喹硫平与血清中杂质可完全分离,在50~1 000 ng/ml浓度范围内呈良好的线性关系($r=0.9995$),方法学回收率为98.2%~100.1%,萃取回收率为75.2%~84.6%,日间精密度RSD在0.8%~3.7%之间,日内精密度RSD在1.4%~5.1%之间,最低检测限(S/N=3)为2.1 ng/ml。将此方法应用于临床药学取得了较好的效果。**结论** 该方法操作简便,结果准确,重现性好,灵敏度高,适用于富马酸喹硫平血药浓度监测,对指导临床合理用药,发现药物不合理联用等具有重要的意义。

[关键词] 反相高效液相色谱法;富马酸喹硫平;血药浓度;临床药学

[中图分类号] R927;R971

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)01-0048-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.01.013

Determination and clinical pharmacy application of quetiapine fumarate in human serum by RP-HPLC

ZHANG Qiaozhen, SONG Weiming, WU Liusong (Kangning Hospital, Ningbo 315201, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method for the determination of quetiapine fumarate in human serum by RP-HPLC and apply it into clinical. **Methods** Extracting with ethyl ether after serum-drug was alkalized, and then determined by RP-HPLC. The determination was performed on Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-water (70:30, containing 0.5% triethylamine and 0.4% glacial acetic acid) at the flow rate of 0.6 ml/min. The detection wavelength was set at 254 nm, and the column temperature was 35℃. The method would be applied into analysis of clinical medication. **Results** Quetiapine fumarate and the impurities could be completely separated, and the linear range of quetiapine fumarate were 50-1 000 ng/ml($r=0.9995$). The recovery of the method was 98.2%-100.1% and the recovery of extracting was 75.2%-84.6%. RSD of intra-day was within 0.8%-3.7% and RSD of inter-day was within 1.4%-5.1%. The limit of quantitation for quetiapine fumarate was 2.1 ng/ml. This method had been applied into clinical pharmacy and achieved a good effects. **Conclusions** The method is simple, accurate, reproducible, and sensitive for determination of quetiapine fumarate in human serum. It has important significance on instructing the rational use of clinical medicine and discovering the unreasonable drug combination.

[Key words] RP-HPLC; quetiapine fumarate; serum concentration; clinical pharmacy

富马酸喹硫平是一种非典型性抗精神病药物,对精神分裂症各症状均具有良好疗效。临床研究已经证明富马酸喹硫平对精神分裂症病人阴、阳性症状及认知障碍均有良好疗效,对难治性精神分裂症病人的治疗有效率高,由于其对五羟色胺(5-HT)受体具有高度亲和力,且大于对脑中多巴胺受体的亲

和力,选择性阻断中脑边缘系统的D₂受体而不影响纹状体D₂受体,并且不与M受体结合^[1],故锥体外系症状少,抗胆碱作用轻,粒细胞减少罕见,因此该药作为治疗精神分裂症的首选药物,在许多国家得到广泛应用。但该药对 α_1 -肾上腺素受体同样有高亲和力,有阻断 α_1 -肾上腺素受体作用^[1],可能出现直立性低血压、头晕等副作用,需要做好患者监护。实验^[2-5]表明富马酸喹硫平血药浓度与剂量、临床疗效之间存在一定的相关性,通过测定血药浓度能够为临床合理用药提供一定的依据,本实验旨在建立

[基金项目] 浙江省医学会临床科研基金项目(2011ZYC-A60)

[作者简介] 张巧真,硕士,主管中药师,研究方向:精神科临床药学.E-mail:qiaozhen1227@126.com

富马酸喹硫平的血药浓度检测方法,以适应临床血药浓度监测和药动力学研究工作。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 HP1200型高效液相色谱仪、色谱数据工作站(软件版本编号:B.04.01)均由美国Agilent公司提供;XW-80A型旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);80-2型离心机(上海手术器械厂)。

1.2 试剂 富马酸喹硫平对照品(中国药品生物制品检定所,批号100815-200501);甲醇为色谱纯;氢氧化钠、乙醚、三乙胺、冰乙酸;蒸馏水为自制重蒸馏水;氮气为高纯氮。空白血清由本院健康职工自愿献血。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(70:30,含0.5%三乙胺,0.4%冰乙酸),使用0.45 μm

微孔滤膜负压过滤;流速:0.6 ml/min;检测波长:254 nm;柱温:35 °C。

2.2 对照品溶液配制 精密称取富马酸喹硫平标准品0.025 g,用甲醇溶解于250 ml容量瓶中,摇匀、定容,得100 μg/ml的储备液。以此储备液为母液配制系列浓度的对照品溶液,冰箱保存备用。

2.3 血清样本处理 取血清样本(含有对照品的血清或服药患者血清)1 ml,加入1 mol/L的氢氧化钠溶液200 μl碱化,用乙醚4 ml提取,在旋涡混合器上涡旋1 min,静置后吸取3 ml有机层至锥形离心管中,于40 °C水浴下以氮气流吹干,残渣用200 μl流动相复溶,取20 μl进样分析。

3 结果

3.1 色谱行为 在上述色谱条件下,富马酸喹硫平的保留时间为6.18 min,血清中内源性物质对其检测无干扰,见图1。

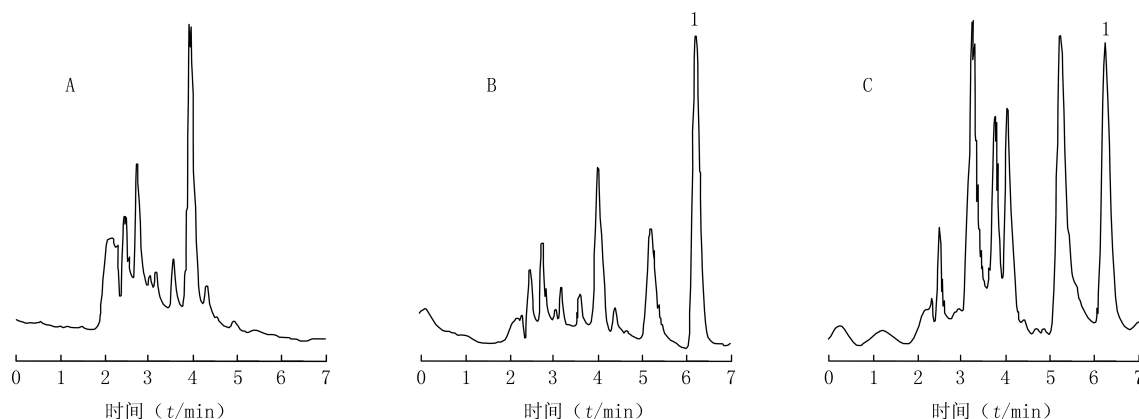


图1 富马酸喹硫平色谱图

A. 空白血清;B. 空白血清+富马酸喹硫平;C. 服药后血清样品;1. 富马酸喹硫平

3.2 干扰试验 在上述色谱条件下,分别考察了常用的抗精神病药物的保留时间,具体见表1。结果表明,它们不干扰喹硫平的检测。

表1 常用的抗精神病药物保留时间检测结果

药名	保留时间(t/min)
喹硫平(quetiapine)	6.18
奥氮平(olanzapine)	3.94
氯氮平(clozapine)	6.72
氯硝西洋(clonazepam)	3.80
阿普唑仑(alprazolam)	4.79
艾司唑仑(estazolam)	4.40
奋乃静(perphenazine)	10.60
地西洋(diazepam)	6.65
卡马西平(carbamazepine)	3.93
氯米帕明(clomipramine)	8.38

3.3 线性关系考察 精密量取“2.2”项下制备的系列浓度的对照品溶液50 μl于1 ml空白血清中,使血清中对照品质量浓度分别为50、100、200、300、400、800、1 000 ng/ml,按“2.3”项下操作,以对照品富马酸喹硫平峰面积(Y)对血清中富马酸喹硫平质量浓度(C)进行线性回归,得标准曲线,线性回归方程如下: $Y = 0.177\ 397\ 02\ C + 0.007\ 635$, $r = 0.999\ 5$ ($n=5$)。可见本方法在血清中富马酸喹硫平浓度为50~1 000 ng/ml范围时线性关系良好。

3.4 回收率及精密度 配制对照品溶液质量浓度为100、200、600 ng/ml的3个血清样品,按“2.3”项下方法操作,以含药血清经提取后测得的色谱峰面积与相应浓度对照品的流动相溶液直接进样后的色谱峰面积的百分比计算萃取回收率;以含药血清经

提取后测得的含量与已知血清含量的百分比计算方法学回收率。并计算3个血清样品的日内(1 d内测

定5次)精密度和日间(每天测定1次,共5 d)精密度的结果见表2。

表2 富马酸喹硫平测定方法的回收率和日内、日间精密度的(n=5)

标定浓度 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	萃取回收率		方法学回收率		日内精密度		日间精密度	
	测得值 (%)	RSD (%)	测得值 (%)	RSD (%)	测得浓度 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	RSD (%)	测得浓度 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	RSD (%)
100	84.6	3.1	100.1	3.1	100.1	3.1	102.3	3.7
200	75.2	5.1	99.8	2.6	199.6	5.1	197.2	1.3
600	75.7	1.4	98.2	2.8	589.5	1.4	628.7	0.8

3.5 最低检测浓度 在上述色谱条件下,当信噪比 $\geq 3(S/N \geq 3)$ 时,富马酸喹硫平的最低检测浓度为 $2.1 \mu\text{g/L}$ 。

3.6 临床药学中的应用举例 监测血药浓度时,一般在药物浓度达到稳态后(根据药物半衰期,一般应在给药一周后)测定,当天清晨空腹采血,怀疑中毒患者可随时采血,采血量为4 ml全血。

3.6.1 联合用药使血清药物浓度升高 患者1:男性,因“精神分裂症”入院。入院后予氯氮平片 200 mg/d 联用富马酸喹硫平片 0.7 g/d 系统治疗,患者富马酸喹硫平血药浓度测定结果为 904.61 ng/ml ,偏高。查阅文献后得知,氯氮平和富马酸喹硫平均可由CYP2D6代谢,两者合用可使彼此的血药浓度升高,马上将结果告知医生,建议医生根据病情需要合理选择药物,并注意药物的相互作用和富马酸喹硫平可能引起的不良反应。

患者2:男性,因“精神分裂症”入院,入院后予富马酸喹硫平片治疗,服药剂量为 0.45 g/d ,血药浓度为 1034.94 ng/ml ,根据患者服药剂量,药师认为其血药浓度偏高。查阅病历发现该患者联合应用了丙戊酸钠片,喹硫平主要由CYP3A4代谢^[6],而丙戊酸钠可抑制CYP3A4酶,因此两者联用可使喹硫平血药浓度升高^[7],提醒医生注意,根据患者的病情适当调整用药,并密切注意富马酸喹硫平片可能引起的不良反应。

3.6.2 联合用药使血清药物浓度降低 患者1:女性,因“双相情感障碍”入院。入院后予富马酸喹硫平片 0.7 g/d ,卡马西平片 600 mg/d 治疗,测得富马酸喹硫平血药浓度值为 77.99 ng/ml ,相对偏低。根据文献显示卡马西平为CYP3A4酶的诱导剂,可使富马酸喹硫平的血药浓度降低。经与医生沟通,根据患者的病情适当调整了用药。

患者2:男性,因“精神发育迟滞”入院。予富马酸喹硫平片 0.3 g/d ,卡马西平片 400 mg/d 治疗。测得富马酸喹硫平血药浓度为 15.92 ng/ml ,考虑

因卡马西平能降低喹硫平血药浓度。告知医生适当调整用药。

3.6.3 患者依从性影响血清药物浓度 患者,女性,门诊患者,诊断“精神分裂症”,长期服用富马酸喹硫平片 0.4 g/d ,血药浓度测定结果低于最低检测限。查阅患者用药情况,未发现联合用药等情况可能会对测定结果造成影响,故提醒医生密切关注该患者的服药依从性,是否按时服药,是否漏服药物,是否存在藏药情况等。

3.6.4 两种疾病的相互作用 患者,男性,因“双相情感障碍”收治入院。入院后予富马酸喹硫平片治疗,并逐渐加大富马酸喹硫平片剂量至 0.5 g/d ,第6天患者甲状腺功能常规复查提示存在甲状腺机能减退,予甲状腺片 20 mg/d 治疗,继续富马酸喹硫平片治疗。测得患者富马酸喹硫平血药浓度为 1015.74 ng/ml ,偏高。药师查阅文献发现喹硫平禁用于甲状腺疾病患者,同时富马酸喹硫平说明书指出该药可使甲状腺激素水平下降。甲状腺疾病患者的代谢能力下降,可能也是造成患者血药浓度偏高的原因,经与医生沟通告知情况,建议医生根据患者的病情合理调整用药。

3.6.5 药物疗效不佳 患者,男性,因“中度精神发育迟滞伴显著行为障碍”入住我院。入院后予喹硫平片 0.1 g qn po 治疗并逐渐加量至 0.7 g/d ,测得富马酸喹硫平血药浓度为 67.81 ng/ml ,浓度偏低,查阅患者用药情况,未发现联合用药等情况可能会对测定结果造成影响,考虑到富马酸喹硫平片可能对此患者的疗效不佳,建议医生将富马酸喹硫平片逐渐减量,更换奥氮平片治疗后疗效有所改善。

4 讨论

目前,对富马酸喹硫平血药浓度监测的方法主要是高效液相色谱法^[8-10]、高效液相色谱-质谱联用法^[11]以及气相色谱法^[12]等。各种方法测定血药浓度对药物都有一定条件的限制,在测定时也各有利

弊。高效液相色谱-质谱联用法和气相色谱法对仪器的要求较高,较难实现实验室的常规监测。本方法选用的试剂均以国产为主,成本低廉,方法操作简便,分析周期短,灵敏度和专一性达到临床检测要求。在所使用的条件下得到的日内和日间精密密度均较低。

富马酸喹硫平主要在肝脏经 CYP3A4 酶氧化代谢,其在体内的代谢途径十分复杂,已确定的代谢产物有 11 种,其中 7-羟喹硫平和 7-羟-N-去烷基喹硫平可能具有药理活性,但在血浆中浓度低,对富马酸喹硫平药理活性的贡献并不大^[13,14]。又由于在方法建立过程中未能得到有关喹硫平代谢物的标准品,故未做代谢物的浓度检测。

在本法测定条件下,笔者对本院常用的几种精神科药物进行了保留时间的分析,结果表明,几种精神科用药不影响富马酸喹硫平的色谱峰,另内源性物质对富马酸喹硫平的色谱峰也无影响,因此,本方法具有很高的特异性。

喹硫平血药浓度测定方法的建立对于日常监测具有较大的意义,富马酸喹硫平有效血药浓度范围目前仍存在争议,我院建立其血药浓度的 RP-HPLC 方法,对于异常浓度值进行分析,对指导临床合理用药,发现药物不合理联用等具有重要的意义。

总之,本试验所建立的方法简便、准确,线性范围宽,重现性好,灵敏度和特异性高,适用于富马酸喹硫平血药浓度的监测,能够指导医生合理使用药物,进行个体化给药。

【参考文献】

[1] Marder SR. Management of treatment-resistant patients with schizophrenia[J]. Clin Psychiatry, 1996, 57(11): 26-30.
[2] Köhnlein O, Lutz R, Schmauss M, et al. Determining serum concentrations of the modern antipsychotic quetiapine: clinical relevance in therapeutic drug monitoring[J]. Psychiatr Prax, 2004, 31(Suppl 1): 175-177

[3] Gerlach M, Hünnerkopf R, Rothenhöfer S, et al. Therapeutic drug monitoring of quetiapine in adolescents with psychotic disorders[J]. Pharmacopsychiatry, 2007, 40(2): 72-76.
[4] Guo RC, Fu CM. Relationship among serum concentrations, doses and clinical responses of quetiapine fumarate in patients with schizophrenia[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2003, 8(6): 627-630.
[5] Mauri MC, Volonteri LS, Fiorentini A, et al. Two weeks' quetiapine treatment for schizophrenia, drug-induced psychosis and borderline personality disorder: a naturalistic study with drug plasma levels [J]. Expert Opin Pharmacother, 2007, 8(14): 2207-2213.
[6] 李坤艳,李焕德. 临床治疗剂量喹硫平体内代谢机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(20): 1564-1567.
[7] 贾攀峰,张淑飞,王寿春,等. 喹硫平对丙戊酸血清浓度的影响[J]. 中国药师, 2009, 12(4): 534-535.
[8] 林治光,翁毅仁,庄冬梅,等. RP-HPLC 法测定人体中富马酸喹硫平血药浓度[J]. 四川精神卫生, 2003, 16(3): 140-142.
[9] Mandrioli R, Fanali S, Ferranti A, et al. HPLC analysis of the novel antipsychotic drug quetiapine in human plasma[J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 30(4): 969-977.
[10] Lin SN, Chang Y, Moody DE, et al. A liquid chromatographic-electrospray-tandem mass spectrometric method for quantitation of quetiapine in human plasma and liver microsomes: application to study *in vitro* metabolism [J]. J Anal Toxicol, 2004, 28(6): 443-448.
[11] 李坤艳,李焕德. HPLC-MS/ESI⁺ 测定人血浆中喹硫平及其代谢产物[J]. 中南药学, 2006, 4(2): 88-91.
[12] 金 鸣,卫婷婷,梁 曼,等. 人血、尿中富马酸喹硫平的气相色谱分析[J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(6): 373-375.
[13] DeVane CL, Nemeroff CB. Clinical pharmacokinetics of quetiapine: an atypical antipsychotic [J]. Clin Pharmacokinet, 2001, 40(7): 509-522.
[14] Davis PC, Wong J, Gefvert O. Analysis and pharmacokinetics of quetiapine and two metabolites in human plasma using reversed-phase HPLC with ultraviolet and electrochemical detection[J]. J Pharm Biomed Anal, 1999, 20(1-2): 271-282.

【收稿日期】 2014-12-05 【修回日期】 2015-04-01
【本文编辑】 顾文华

(上接第 27 页)

[9] Deng J, Cheng W, Yang G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay [J]. Food Chem, 2011, 125: 1430-1435.
[10] Sharma OP, Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited[J]. Food Chem, 2009, 113: 1202-1205.

[11] Wu SB, Dastmalchi K, Long C, et al. Metabolite profiling of jaboticaba (Myrciaria cauliflora) and other dark-colored fruit juices[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60, 7513-7525.
【收稿日期】 2015-03-22 【修回日期】 2015-07-23
【本文编辑】 顾文华