

高效液相色谱法同时测定 人血浆中舍曲林与阿立哌唑浓度*

刘文宪¹ 陈清霞² 周桂成¹ 刘伟忠¹ 温预关¹ 王广发³

(1. 广州市脑科医院国家药品临床试验机构 510370; 2. 中山大学附属第二医院药学部, 广州 510120; 3. 南方医科大学药学院, 广州 510515)

[摘要] 目的 建立同时测定人血浆中舍曲林、阿立哌唑浓度的反相高效液相色谱法。方法 以 Diamonsil™ C₁₈反相柱(150 mm×4.6 mm 5 μm)为色谱柱,流动相为0.03 mol·L⁻¹醋酸铵-甲醇(18: 82);流速:0.8 mL·min⁻¹;柱温:40 ℃;检测波长:220 nm。以乙酸乙酯-二氯甲烷(80: 20)为提取剂。结果 舍曲林在20.0~640.0 ng·mL⁻¹、阿立哌唑在25.0~1 000.0 ng·mL⁻¹浓度范围内,峰面积与其浓度呈良好线性关系;舍曲林、阿立哌唑的低、中、高3种浓度相对平均回收率分别为101.30%、98.14%、97.92%和101.60%、97.75%、98.16%;提取回收率分别为70.56%、73.87%、76.45%和71.66%、74.12%、75.26%;日内、日间RSD均<10%,分析方法的检测限10.0 ng·mL⁻¹。舍曲林线性方程:Y=92.251X+1.61 r=0.998 6(n=7);阿立哌唑线性方程:Y=85.489X+1.27 r=0.998 9(n=7)。结论 该方法灵敏、准确、简单、快速,可用于临床血浆舍曲林与阿立哌唑浓度的监测和药动学研究。

[关键词] 舍曲林;阿立哌唑;血药浓度;色谱法;高效液相

[中图分类号] R971.43;R969

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)12-1552-04

Simultaneously Determination of Sertraline and Aripiprazole in Human Plasma by HPLC with UV Detection

LIU Wen-xian¹, CHEN Qing-xia², ZHOU Gui-cheng¹, LIU Wei-zhong¹, WEN Yu-guan¹, WANG Guang-fa³ (1. Base of Drug Clinical Study of Guangzhou Brain Hospital, Guangzhou 510370, China; 2. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

ABSTRACT Objective To establish a method for determining the concentration of sertraline and aripiprazole in human plasma by HPLC. **Methods** The C₁₈ column(150 mm×4.6 mm 5 μm) was used in the reversed HPLC system, the mobile phase consisted of 0.03 mol·L⁻¹ ammonium-methanol(18: 82); the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹; the detection wavelength was at 220 nm. Ethyl acetate-dichloromethane(80: 20) were used as extracting solvent. **Results** The calibration curves were linear in the range of 20.0-640.0 ng·mL⁻¹ for sertraline, 25.0-1 000.0 ng·mL⁻¹ for aripiprazole, respectively. The average recoveries of sertraline and aripiprazole at low, middle and high concentrations were 101.30%, 98.14%, 97.92% and 101.60%, 97.75%, 98.16%, respectively; the extraction recovery were 70.56%, 73.87%, 76.45% and 71.66%, 74.12%, 75.26%, respectively. The intra-day and inter-day variations (RSD) were both less than 10% (n=5). The minimum detectable concentration of method was 10.0 ng·mL⁻¹. The calibration curves of sertraline and aripiprazole showed good linearity, being equal to 0.998 6 and 0.998 9. The regression equation of sertraline was Y=92.251X+1.61 and Y=85.489X+1.27 of aripiprazole, respectively. **Conclusion** The method is sensitive, accurate, simple and quick, which can be used for clinical drug monitoring and pharmacokinetics studies of sertraline and aripiprazole.

KEY WORDS Sertraline; Aripiprazole; Plasma concentration; HPLC

盐酸舍曲林(sertraline hydrochloride),化学名称为:(1S-顺式)-4-(3,4-二氯苯基)-1,2,3,4-四氢-N-甲基-1-萘胺盐酸盐。舍曲林是一种选择性的5-羟色胺再摄取抑制药,该药通过对突触前膜5-羟色胺再摄取泵的强力抑制,促进5-羟色胺能神经递质的传递。与传统的三环类抗抑郁药物不同,舍曲林在中枢的作用部位具有高度选择性,对中枢的各种受体如乙酰胆碱受体、肾上腺素受体、组胺H受体都没有阻断作用,常用于强迫症与抑郁症的治疗^[1]。阿立哌唑(aripiprazole),化学名称:7-[4-[4-(2,3-二氯苯基)-1-

哌嗪基]丁氧基]-3,4-二氢-2(1H)喹啉酮。虽然阿立哌唑药理作用尚未完全清楚,但普遍认为其具有拮抗多巴胺受体和激动自身受体的双重作用,与现已上市的典型及非典型抗精神病药的作用机制完全不同,为第2代新型非典型抗精神病药物^[2-3]。临床上,舍曲林与阿立哌唑常联合用于治疗难治性抑郁症和精神分裂症及强迫症等^[4-6]。由于抗精神病药物治疗窗相对较窄,毒副作用较大,因此对它们进行血药浓度监测,寻找疗效最佳、不良反应最轻的适宜血药浓度,具有积极的临床意义;目前已有此两种药物血药浓度单独测

定的报道^[3,7-10],但笔者尚未见此两种药物血药浓度同时测定的报道,故建立了一种简单、快速同时测定人血浆中舍曲林与阿立哌唑浓度的高效液相色谱法,并应用于临床血药浓度检测。

1 仪器与材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Agilent 1100),包括:G1322A 在线脱气机、G1315B 二极管阵列紫外检测器(DAD)、G1313A 自动进样器、G1311A 自动调配器、G1316A 可调柱温恒温箱和 Agilent 色谱化学工作站。XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂);BSA124S-CW 电子分析天平(瑞士 SARTORIUS);MIKO12-24 高速离心机(美国 HETTICH);VACUCEH 真空干燥箱(德国 MMM-GROUP);MILLI-Q 超纯水仪(法国 MILLIPORE)。

1.2 药品与试剂 舍曲林对照品(辉瑞制药有限公司,批号: S1275036,含量>99%),阿立哌唑对照品(上海中西药业股份有限公司,批号: 20100522,含量>99%),内标物地西洋(广东省食品药品检验所提供,批号: 20060508,含量>99%)。甲醇(美国迪马公司)色谱级,醋酸铵(广东台山粤侨试剂有限公司,批号: 20090125,含量>98%),提取剂乙酸乙酯与二氯甲烷(广州化学试剂厂,含量>99%),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品和内标溶液的配制 精密称取舍曲林与阿立哌唑各 10.0 mg,分别置于 2 个 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并定容至 10.0 mL,置冰箱 4 °C 保存。临用时用甲醇稀释成所需浓度的舍曲林与阿立哌唑对照品溶液。配制浓度为 1.0 mg · L⁻¹ 的地西洋甲醇溶液作为工作内标液。

2.2 色谱条件 色谱柱:美国迪马公司的 C₁₈ 钻石色谱柱(150 mm×4.6 mm 5 μm);流动相:0.03 mol · L⁻¹ 醋酸铵-甲醇(18:82);流速:0.8 mL · min⁻¹;柱温:40 °C;检测波长:220 nm;灵敏度为 0.01 AUFS。

[收稿日期] 2011-04-14 [修回日期] 2011-05-27

[基金项目] * 广东省自然科学基金资助项目(基金编号: 8151037001000001);广东省医学科学技术研究基金(基金编号: A2008559)

[作者简介] 刘文宪(1957-),男,广东广州人,主管药师,主要从事临床药学工作。电话: 020-81891425, E-mail: liuwenxin123@163.com。

[通讯作者] 刘伟忠(1969-),男,广东广州人,副主任医师,学士,从事临床药学工作。电话: 020-81891425, E-mail: liuweizhong999@163.com。

2.3 血浆样品处理方法 取 1.0 mL 含舍曲林与阿立哌唑的血浆样品加至 10 mL 具塞锥形离心管中,精确加入 1.0 mg · L⁻¹ 内标液 20 μL,快速振荡数秒。再加入提取剂乙酸乙酯-二氯甲烷(80:20) 4.0 mL,密塞,涡旋振荡 3 min,于 6 000 r · min⁻¹ 的离心机内离心 5 min。吸取上清液移于 5 mL 具塞玻璃锥形离心管中,40 °C 真空干燥至干。进样前加入甲醇 100 μL 快速振荡数秒溶解残渣,吸取 15 μL 进样。

2.4 色谱分离情况 在本实验条件下,空白血浆、舍曲林与阿立哌唑对照品血浆以及精神病患者同时口服舍曲林与阿立哌唑后的血浆样品,经高效液相色谱分析法测定,得到的色谱图见图 1。由图 1 可知,内标物、舍曲林与阿立哌唑的色谱峰能完全分离,没有明显的内生杂质峰干扰,可见本方法具有较高的专属性。内标物、舍曲林与阿立哌唑的保留时间分别为 4.016, 5.298 和 6.905 min。

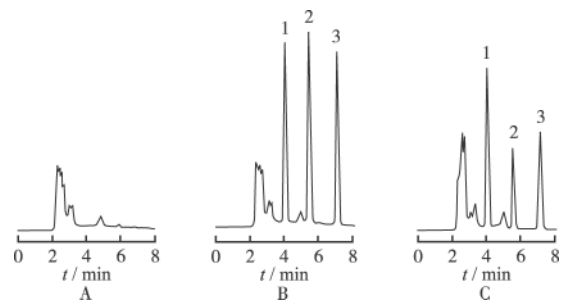


图 1 3 种血浆样品的高效液相色谱图

A. 空白血浆; B. 空白血浆+舍曲林与阿立哌唑对照品+内标; C. 患者服用舍曲林与阿立哌唑后的血浆+内标; 1. 内标; 2. 舍曲林; 3. 阿立哌唑

Fig. 1 HPLC chromatograms of 3 kinds of plasmic samples

A. blank plasma; B. blank plasma spiked with sertraline, aripiprazole and internal standard; C. patient's plasma spiked with internal standard after the treatment of sertraline and aripiprazole; 1. internal standard; 2. sertraline; 3. aripiprazole

2.5 标准曲线的绘制 在 7 个 10 mL 具塞锥形离心管中分别加入不同浓度、相同体积(20 μL)的舍曲林与阿立哌唑对照品溶液,真空抽干后,再加空白血浆 1.0 mL,振荡数秒,使血浆舍曲林浓度分别相当于 20.0, 40.0, 80.0, 160.0, 240.0, 480.0, 640.0 ng · mL⁻¹; 阿立哌唑浓度分别相当于 25.0, 50.0, 100.0, 200.0, 400.0, 800.0, 1 000.0 ng · mL⁻¹; 然后按“2.3”项处理后。经高效液相色谱分析,测得药物峰面积(A_i)、内标峰面积(A_s),以 A_i/A_s 的值 X 为横坐标,以血浆样品所对应各点药物浓度(Y)为纵坐标绘制标准曲线。经加权(权重系数为 W=1/C²)最小二乘法进行线性回归,得舍曲林 20.0~

640.0 ng · mL⁻¹ 以及阿立哌唑 25.0 ~ 1 000.0 ng · mL⁻¹ 的标准曲线。舍曲林曲线方程为: $Y = 92.251X + 1.61$, $r = 0.9986$; 阿立哌唑曲线方程为: $Y = 85.489X + 1.27$, $r = 0.9989$ 。当信噪比: $S/N = 3$ 时, 舍曲林与阿立哌唑的检测定量下限可达到 10.0 ng · mL⁻¹。

2.6 回收率及精密度实验 取舍曲林低、中、高浓度 (40.0, 160.0, 480.0 ng · mL⁻¹) 和阿立哌唑低、中、高浓度 (50.0, 200.0, 800.0 ng · mL⁻¹) 含药血浆样品, 经

色谱分析, 以峰面积比较, 计算回收率。舍曲林和阿立哌唑低、中、高浓度的峰面积与标准曲线所对应点的峰面积之比为相对回收率; 而与相同浓度未经提取获得的色谱峰面积之比为提取回收率。同时在 1 d 内重复 5 次和 1 周内重复 5 次测定其浓度, 计算日内、日间误差及方法回收率^[11]。结果表明, 该方法符合生物样品分析要求 (表 1)。

表 1 舍曲林和阿立哌唑的回收率与日内、日间精密度

Tab. 1 Recovery and intra- and inter-day precision of sertraline and aripiprazole

药物	加入量/ (ng · mL ⁻¹)	日内精密度 (n=5)		日间精密度 (n=5)		方法回收 率/%	RSD/ %	提取回收 率/%	RSD/ %
		实测值/ (ng · mL ⁻¹)	RSD/ %	实测值/ (ng · mL ⁻¹)	RSD/ %				
舍曲林	40.0	40.3	8.89	40.1	8.27	101.30	7.21	70.56	7.78
	160.0	156.6	7.32	157.7	7.63	98.14	4.32	73.87	4.45
	480.0	478.2	4.62	481.3	4.62	97.92	3.87	76.45	3.97
阿立哌唑	50.0	50.6	8.57	50.4	8.31	101.60	8.02	71.66	8.21
	200.0	198.5	7.74	196.3	5.87	97.75	6.74	74.12	5.86
	800.0	794.6	5.18	797.1	4.23	98.16	5.45	75.26	3.67

2.7 样品稳定性实验 按“标准曲线绘制”方法分别配制舍曲林低、中、高浓度 (40.0, 160.0, 480.0 ng · mL⁻¹) 和阿立哌唑低、中、高浓度 (50.0, 200.0, 800.0 ng · mL⁻¹) 的 3 组 18 个样品 (双样), 分别在室温 (25 ~ 28 °C) 放置 0, 12 h 和 -20 °C 冻存 1, 14 d 以及 -20 °C 冻存 1, 3 周后分别进行色谱测定, 未见冻存样品的药物降解。统计结果显示 RSD 均 < 10%。

2.8 样品质量控制 按“标准曲线绘制”方法分别配制舍曲林低、中、高浓度 (40.0, 160.0, 480.0 ng · mL⁻¹) 和阿立哌唑低、中、高浓度 (50.0, 200.0, 800.0 ng · mL⁻¹) 36 个血浆样品 (一式 12 份) 置 -20 °C 冻存备用, 为质控样品。每次检测血样时同时检测质控样品, 如果相对回收率均落在 85% ~ 115% (低浓度在 80% ~ 120%) 之内, 即可认为仪器检测正常, 否则需检查整个操作过程以及仪器原因。

2.9 临床应用 1 例女性精神病住院患者, 口服舍曲林片 (辉瑞制药有限公司, 批号: 1072016, 规格: 每片 50 mg) 100 mg · d⁻¹ 和阿立哌唑片 (上海中西药业股份有限公司, 批号: 20100522, 规格: 每片 10 mg) 30 mg · d⁻¹。2 周后早上服药前采血检测其血药浓度: 舍曲林为 106.9 ng · mL⁻¹, 阿立哌唑为 496.9 ng · mL⁻¹。

3 讨论

舍曲林与阿立哌唑结构中都有苯环, 紫外吸收明显。吸取舍曲林与阿立哌唑对照品液在 190 ~ 400 nm

的波长范围内进行紫外扫描, 发现舍曲林在 210nm 处有最大吸收峰, 阿立哌唑在 219, 257 nm 处有一最大吸收峰, 因此本试验选择 220 nm 为检测波长。舍曲林与阿立哌唑的血药浓度检测方法国内外已有报道^[3, 7-10]。相比之下, 本试验采用高效液相色谱法同时测定人血浆中的舍曲林与阿立哌唑浓度, 具有操作简单、成本低廉、精密度和回收率高等特点, 适用于血药浓度监测和临床药动学研究, 结果可靠。

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, 后发现乙酸乙酯-二氯甲烷 (80:20) 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, 后用甲醇定容进行紫外色谱分析, 所取血浆仅为 1.0 mL, 进样量 15 μL 便达到试验要求, 既提高了灵敏度又减少了样品杂质, 保证色谱柱能进行大量样品的连续分析。

在临床精神科, 对一些难治性的抑郁症、强迫症或双相情感障碍患者, 单用舍曲林往往很难控制症状, 而将舍曲林与阿立哌唑联合应用, 治疗效果非常理想。舍曲林与阿立哌唑单个药物的血药浓度检测方法国内外虽已有报道, 但笔者发现这些方法所用仪器相当昂贵^[7-9], 目前很多医院还不具备此条件; 而本试验建立同时测定人血浆中舍曲林与阿立哌唑浓度的方法, 所用仪器符合大多数医院的检测条件, 因此方法学的实用性更好。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.12.004

[参考文献]

- [1] DAVIS R ,WILDE M I ,SERTRALINE. A pharmacoeconomic evaluation of its use in depression [J]. *Pharmacoeconomics* ,1996 ,10 (4) :409-431.
- [2] 孙爱凤 吴范宏. 阿立哌唑[J]. 中国新药杂志 2003 ,12 (7) :571.
- [3] MALLIKAARJUN S ,SALAZAR D E ,BRAMER S L. Pharmacokinetics ,tolerability and safety of aripiprazole following multiple oral dosing in normal healthy volunteers [J]. *J Clin Pharmacol* 2004 ,44 (2) :179-187.
- [4] 唐振坤. 阿立哌唑合并舍曲林治疗难治性抑郁症[J]. 中国民康医学 2009 ,21 (5) :448-450.
- [5] 邢秀娟. 阿立哌唑合并舍曲林治疗以阴性症状为主的精神分裂症的研究[J]. 中国现代医生 2010 ,48 (1) :45-46.
- [6] 何英奎. 舍曲林联合阿立哌唑治疗难治性强迫症临床研究[J]. 中国现代药物应用 2010 ,4 (5) :168-169.
- [7] 贾飞 高素英 李珏 等. LC-MS/MS 法测定人血浆中盐酸舍曲林的浓度[J]. 中国药理学杂志 2007 ,42 (13) :1023-1025.
- [8] 魏振满 丁晋彪 贺江平. 液相色谱-串联质谱法测定人血浆中盐酸舍曲林浓度[J]. 中国药物应用与监测 ,2009 ,6 (3) :145-147.
- [9] JAIN D S ,SANYAL M ,SUBBAIAH G ,et al. Rapid and sensitive method for the determination of sertraline in human plasma using liquid chromatography - tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. *Chromatography B* ,2005 ,829 (1-2) :69-74.
- [10] SHIMOKAWA Y ,AKIYAMA H ,KASHIYAMA E ,et al. High performance liquid chromatographic methods for the determination of aripiprazole with ultraviolet detection in rat plasma and brain: application to the pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* ,2005 ,821 (1) :8-14.
- [11] 刘伟忠 陈清霞 朱军. 高效液相色谱法同时测定人血浆氯氮平与奋乃静浓度[J]. 医药导报 2010 ,29 (6) :695-697.

盐酸右美托咪定注射液在健康人体的药动学

舒成仁^{1,2} 黄露² 葛苗苗² 黎维勇²

(1. 湖北省黄石市中心医院药剂科 435000; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院临床药理学室, 武汉 430022)

[摘要] 目的 在中国健康志愿者中进行盐酸右美托咪定注射液的药动学研究。方法 健康志愿者 30 例, 分为 3 个剂量组: 分别静脉推注盐酸右美托咪定 0.5、1.0 和 1.5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。采用高效液相色谱-质谱联用 (HPLC/MS/MS) 法测定血浆中右美托咪定浓度变化。以 DAS2.0 软件进行数据处理, 计算药动学参数 [血药浓度-时间曲线下面积 (AUC), 血药峰浓度 (C_{\max}), 半衰期 ($t_{1/2}$), 清除率 (CL_z), 表观分布容积 (V_z), 达峰时间 (t_{\max})]。结果 盐酸右美托咪定注射剂 3 个剂量组的 AUC₀₋₁₂ 分别为 (902.51±264.18) (1 828.68±643.71) 和 (2 462.55±492.97) $\text{pg} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; AUC_{0-∞} 分别为 (1 068.87±505.46) (2 027.72±816.93) 和 (2 597.89±463.06) $\text{pg} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; C_{\max} 分别为 (569.90±155.87) (1 042.80±330.77) 和 (1 682.00±639.67) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; t_{\max} 分别为 (0.13±0.03) (0.08±0.00) 和 (0.11±0.04) h; $t_{1/2}$ 分别为 (2.69±1.38) (2.59±1.12) 和 (2.62±0.87) h; 3 个剂量组间药动学参数 AUC₀₋₁₂, AUC_{0-∞}, C_{\max} , $t_{1/2}$, t_{\max} , CL_z, V_z 均差异无统计学意义 (均 $P>0.05$)。结论 静脉给予盐酸右美托咪定注射剂在健康受试者体内呈现随着剂量增加, AUC₀₋₁₂, AUC_{0-∞}, C_{\max} 增大的代谢规律, 其代谢呈线性动力学特征。

[关键词] 右美托咪定; 盐酸; 药动学; 高效液相色谱-质谱

[中图分类号] R971.3; R969.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)12-1555-04

Pharmacokinetics of Dexmedetomidine Hydrochloride Injection in Healthy Volunteers

SHU Cheng-ren^{1,2}, HUANG Lu², GE Miao-miao², LI Wei-yong² (1. Department of Pharmacy, Huangshi Central Hospital, Hubei Province, Huangshi 435000, China; 2. Institute of Clinic Pharmacy, Union Hospital Affiliated with Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT Objective To evaluate the pharmacokinetics of dexmedetomidine hydrochloride injection in Chinese healthy volunteers. **Methods** 30 healthy volunteers were divided into three groups: intravenous administration of dexmedetomidine at 0.5, 1.0 and 1.5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Concentrations of dexmedetomidine in plasma were determined by HPLC/MS/MS. The pharmacokinetics parameters were calculated with DAS 2.0 software. **Results** The main pharmacokinetic parameters for three groups were as follows: AUC₀₋₁₂ were (902.51±264.18) (1 828.68±643.71) and (2 462.55±492.97) $\text{pg} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$; AUC_{0-∞},