

· 医院药学 ·

高效液相色谱法测定美西律血清浓度
和正常人药代动力学研究

浙江医科大学附属第二医院心血管病实验室

吕俊陞

临床药理学

黄德葆 颜小锋 赵奕 阮邹荣

【提 要】 本文报道了HPLC法测定抗心律失常药美西律血药浓度,方法灵敏、快速,并以此法研究8名正常成人单剂量口服美西律药代动力学。本测定方法以安定为内标物,流动相为甲醇和磷酸盐缓冲液(pH5.25),固定相为ODS(10 μ m),紫外检测器波长210nm。美西律和内标物的保留时间分别为5.49min和6.78min。在0.2~5 μ g/ml浓度范围与两者峰面积之比呈线性关系, $y=0.7184x-0.064$, $r=0.9998$ 。在三个浓度水平测得结果天内和日间变异系数均小于5%,回收率为94.3—99.6%。8名健康志愿者一次口服美西律片(100mg $\times$ 3),其药—时曲线以三室开放模型拟合,并以此求算药代动力学参数,结果如下: $K_a=1.328\pm0.634h^{-1}$; $t_{1/2}=7.07\pm2.42h$; $V_d=6.23\pm2.22L/kg$; $Cl=0.509\pm0.157L/kg/h$; $T_{max}=2.79\pm0.71h$; $C_{max}=0.927\pm0.371\mu g/ml$; $AUC=11.723\pm4.870\mu g\cdot h/ml$ 。男、女间无显著性差异($P>0.1$)。

关键词 美西律; 高效液相色谱法; 药代动力学。

美西律(Mexiletine)为目前临床主要用于防治室性心律失常的药物之一,化学名:1—(2,6-二甲苯氧基)2-氨基丙烷的盐酸盐。其电生理作用与利多卡因相似,除可静脉给药外,尚可口服,吸收良好,现国内临床应用大多以口服为主治疗慢性室性心律失常。据文献报道,其控制心律失常疗效,毒副反应与血浓度密切相关,而血浓度与剂量亦呈良好的线性关系,治疗血浓度范围为0.5~2 μ g/ml,超过2~3 μ g/ml时,中毒反应即频繁发生^[1,2]。由于美西律的治疗血浓度范围窄,其药代动力学与疗效、毒副反应均存在个体差异^[3,4],而国内对美西律的药代动力学研究尚未见有报道,我们采用高效液相色谱法(HPLC)测定美西律的血清浓度,并以此法对健康志愿者进行药代动力学研究,以求得我国人的美西律药代动力学参

数。兹将方法与结果叙述如下:

实验方法与结果

一、试剂、药品和仪器

1. 试剂和药品

美西律(熔点200~204 $^{\circ}$ C),由常州第三制药厂提供(批号:850205)。

美西律片(0.1g/Tab),江苏南通勤奋制药厂生产。(批号:840904)。

甲醇(色谱纯),上海吴泾化工厂生产。

无水乙醚(分析纯),上海马陆制药厂生产。

安定(内标物),由浙江新昌制药厂提供。

磷酸盐缓冲溶液(0.03mol/L, pH 5.25):称取磷酸二氢钾(分析纯)4.08g,加重蒸馏水至1000ml,调节pH值,用0.45 μ m微孔滤膜滤过,备用。

2. 仪器

高效液相色谱仪 (Beckman USA) 332 系统: 110B 泵, 420 控制器, 163 型可变波长紫外检测器, 210A 进样器, 427 积分仪等。色谱柱: $200 \times 5\text{mm}$, 固定相为 YWG C_{18}H_3 ($10\mu\text{m}$), 由中国科学院大连化学物理研究所仪器厂生产。

计算机: STM-PC, 加拿大善美公司制造。

二、血药浓度测定方法

1. 标准液及内标液的配制

称取精制干燥至恒重的美西律 12.0mg , 重加蒸馏水至 10ml , 浓度为 1mg/ml 的贮备液。取贮备液 0.25ml , 用重蒸馏水稀释成 $1\mu\text{g/ml}$ 的标准溶液。

称取内标物安定 10.0mg , 加甲醇至 10ml , 浓度为 1mg/ml 的内标贮备液。取出 $150\mu\text{l}$ 加重蒸馏水稀释成 $1.5\mu\text{g/ml}$ 内标溶液。

以上溶液均在低温贮存。

2. 美西律高效液相色谱测定

色谱条件 流动相为甲醇, 磷酸盐缓冲溶液 (70:30), 流速 1.2ml/min , 泵压 1000PSi , 紫外检测器波长为 210nm , 仪器灵敏度 0.05OD , 室温, 纸速 0.25cm/min , 积分仪衰减 8。

3. 血清中药物的提取

取含美西律血清 $200\mu\text{l}$, 置于具塞玻璃磨口试管中, 加氯化钠 (AR) 0.16g , 加内标溶液 $100\mu\text{l}$, 再加 4mol/L 氢氧化钠溶液 $200\mu\text{l}$, 旋涡混合 30 秒钟, 加入新蒸无水乙醚 5ml , 振摇 3 分钟, 以 3000转/分 离心 5 分钟, 吸收上层乙醚液 4ml 置于刻度离心管中。下层液再用 5ml 无水乙醚同样方法提取, 再吸取乙醚层 4ml , 合并乙醚提取液, 加入 0.1mol/L 盐酸甲醇溶液 $50\mu\text{l}$, 混匀, 置 40°C 恒温水浴蒸干, 用 1ml 无水乙醚洗涤管壁, 挥干乙醚后加入流动相 $50\mu\text{l}$, 旋涡混合, 溶解, 离心, 进样 $15\mu\text{l}$, 色谱图见图 1。

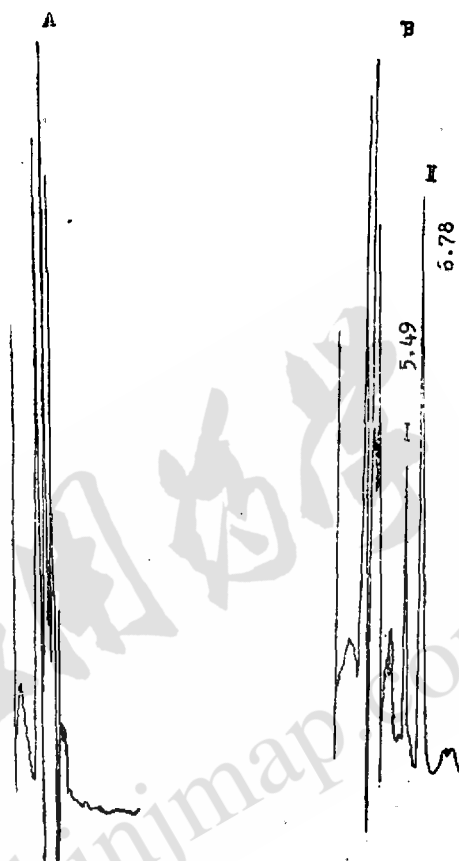


图 1 (A)空白血样和(B)美西律
和内标的色谱图

I: 美西律

II: 内标(安定)

4. 血清中提取美西律的标准曲线

精密配制 $0.2, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0\mu\text{g/ml}$ 的美西律血清标准溶液, 低温保存。另取若干 10ml 具塞玻璃试管, 分别加入以上美西律血清标准溶液 $200\mu\text{l}$, 分别加入氯化钠 0.16g , 内标液 $100\mu\text{l}$, 4mol/L 氢氧化钠 $200\mu\text{l}$, 按上述方法提取后, 进样 $15\mu\text{l}$ 。以美西律浓度为横坐标, 测得的美西律峰面积和内标峰面积之比 ($R = A_m/A_d$) 为纵坐标, 标准曲线见图 2。

在 $0.2-5.0\mu\text{g/ml}$ 范围内与两者峰面积比呈线性关系。

回归方程: $Y = 0.7184 - 0.064$

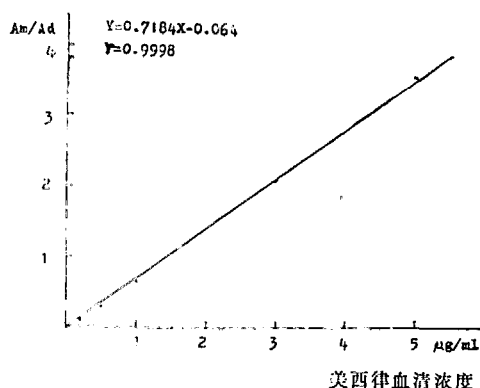


图2 美西律的标准曲线(0.2—5.0 $\mu\text{g/ml}$)

相关系数: $r = 0.9998$

5. 回收率与精密度

选取美西律 0.5、1.0、3.0 $\mu\text{g/ml}$ 三个血清浓度, 依法提取测定回收率和天内、天间精密度, 结果见表 1

6. 干扰试验

选择目前临床常用的抗心律失常和苯二氮草类药物, 观察对测定的干扰情况, 各种药物的色谱行为其相对保留时间见表 2, 其中乙胺碘呋酮, 利多卡因和双异丙吡胺三种药物在色谱图上与美西律有部分重叠, 心得

表1 美西律的血清回收率和分析精密度

浓 度 ($\mu\text{g/ml}$)	天 内				天 间			
	n	回 收 量*	C.V. (%)	回收率 (%)	n	回 收 量*	C.V. (%)	回收率 (%)
0.5	4	0.4983 ± 0.0125	2.5	99.6	5	0.4980 ± 0.0150	3.1	99.6
1.0	5	0.9889 ± 0.0445	4.5	98.9	4	0.9828 ± 0.0110	1.1	98.3
3.0	4	2.9150 ± 0.1070	3.7	97.2	5	2.830 ± 0.1330	4.7	94.3
Mean			3.6	98.6			3.0	97.4

* Mean $\pm$ SD

表2 常用的抗心律失常药和苯二氮草类药物的相对保留时间

药 物	相对保留时间
美 西 律 Mexiletine	0.81
安 定 Diazepam	1.00
苯丙酰苯心安 Propafenone	1.475
胺 碘 酮 Amiodarone	0.895
普 萘 洛 尔 Propranolol	1.013
奎 尼 丁 Quinidine	1.431
维 拉 帕 米 Verapamil	1.364
利 多 卡 因 Lidocaine	0.891
双异丙吡胺 Disopyramide	0.856
硫 氮 草 酮 Diltiazem	2.371
硝 基 安 定 Nitrazepam	0.627
去甲基基安定 Oxazepam	0.702
舒 乐 安 定 Surazepam	0.766
利 眠 宁 Chlordiazepoxide	0.747
安 眠 酮 Methaqualone	0.754

疗剂量时则不能被检出。其他药物对本测定方法基本无干扰。

三、正常人药代动力学

体检合格的健康志愿者 8 名(男、女各 4 名), 年龄 19~43 岁($\bar{x}26.9 \pm 7.2$), 体重 43~70kg($\bar{x}57.1 \pm 8.8$)。受试者于清晨空腹一次口服美西律片 100mg $\times$ 3, 用 50~100ml 温开水吞服, 其后禁食 2 小时。投药前及投药 4 小时内进行心电图检查及血压监测。在服药后 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 小时分别取静脉血 1.5ml, 静置, 离心, 吸取上层血清 200 μl , 依法提取后用上述方法测定血药浓度, 其药——时数据见表 3, 药——时曲线见图 3。

血药浓度——时间数据按 PKBP-N1 药代动力学程序(南京军区总医院编制), 在

安在高浓度时对内标物安定有干扰, 而在治

表3 8名健康志愿者一次口服300mg美西律后的血药浓度(μg/ml)

时 间 度	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0
实测值											
Mean	0.262	0.498	0.664	0.880	0.994	0.981	0.844	0.734	0.572	0.528	0.414
SD	0.092	0.101	0.133	0.277	0.404	0.456	0.401	0.389	0.236	0.224	0.228
Rang	0.160	0.360	0.474	0.463	0.584	0.539	0.453	0.456	0.318	0.223	0.150
	-0.466	-0.633	-0.813	-1.070	-1.499	-1.716	-1.536	-1.447	-0.965	-0.891	-0.838
拟合值	0.249	0.548	0.727	0.828	0.878	0.895	0.874	0.756	0.629	0.519	0.472

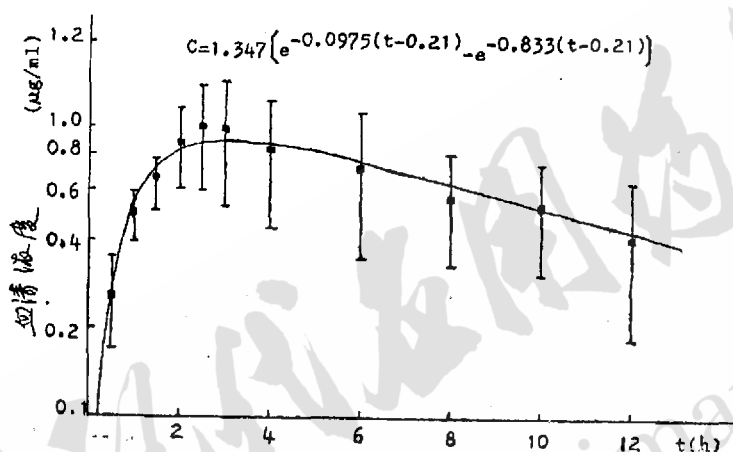


图3 8名健康志愿者一次口服美西律300mg后的药—时曲线

IBM-PC微机上, 拟合房室模型求算药代动力学参数, 结果见表4。

表4 8名健康志愿者一次口服300mg美西律的药代动力学参数

参 数	男	女	mean ± SD
Lag time (h ⁻¹)	0.31 ± 0.18	0.48 ± 0.20	0.39 ± 0.20
Ka (h ⁻¹)	1.386 ± 0.676	1.014 ± 0.362	1.328 ± 0.634
k (h ⁻¹)	0.086 ± 0.021	0.132 ± 0.045	0.109 ± 0.040
t _{1/2} (h)	8.45 ± 2.34	5.69 ± 1.76	7.07 ± 2.42
Vd l/kg	6.92 ± 2.35	5.55 ± 2.18	6.23 ± 2.22
AUC (μg·h/ml)	11.479 ± 1.742	11.966 ± 7.378	11.723 ± 4.970
Cl (L/kg/h)	0.449 ± 0.049	0.586 ± 0.214	0.509 ± 0.157
T _{max} (h)	3.96 ± 1.55	2.96 ± 0.86	2.79 ± 0.71
C _{max} (μg/ml)	0.801 ± 0.212	1.052 ± 0.484	0.927 ± 0.371

• mean ± SD

讨 论

美西律体液浓度高效液相色谱法测定, 国外已有文献报道^[5,6,7,8], 各文献所介绍的

方法, 大多须进行复杂的柱前衍生, 样品提取的过程较为繁琐, 取样量较大。所采用的内标物国内也不易获得。流动相中有机溶剂大多系采用乙腈, 而乙腈毒性较大, 色谱纯规

格价格昂贵。我们参考 Grech-Belanger O 等^[8]的血清提取方法及 Mastropaolo 等^[9]的色谱条件(流动相为乙腈: 0.1mol/L 磷酸盐缓冲液 28:72)进行了方法学上的探索和改进, 应用国产 YWG-C₁₈ 反相柱, 在 210nm 紫外波长检测, 以安定为内标, 将乙腈改用甲醇, 即甲醇: 0.03mol/L 磷酸盐缓冲液 70:30, 试验结果同样可以获得较好的洗脱效果, 得到峰形尖、对称性好、分离完全的色谱图形。我们还降低了磷酸盐的浓度, 可减少盐析防止仪器损害的可能性, 取样量仅为原参考文献的 2/5。因此本测试方法具有简便、快速、经济(甲醇价格约为乙腈的 1/16)、精密度高和稳定性好的优点。适用于美西律的药代动力学研究及临床治疗药物监护。

从 8 名健康成人一次口服美西律 300mg 的药一时曲线(图 3)及其药代动力学参数(表 4)可以看出, 该药口服吸收迅速、良好, 在给药 2.79 ± 0.71 h 后可达峰浓度, 且在 2~4 h 间维持在治疗血浓度范围中 ($0.5 \sim 2 \mu\text{g/ml}$), 而后曲线呈单相性下降, 口服药代动力学过程符合一室开放模型。其消除半衰期($t_{1/2}$)、表现分布容积(V_d)及总清除率(CI)等主要药代动力学参数与国外文献报道结果基本相似^[3,10,11]。从表 4 男、女各组参数作 t 检验 $P > 0.1$, 说明男、女之间无显著性差异。

美西律为一种弱碱性药物, 口服后在胃酸中呈 100% 解离, 故自胃中吸收极少。主要在小肠上段吸收而后在肝内代谢成对——羟基美西律、羟甲基美西律等而失活, 约有 10~15% 以原型自肾排出体外^[3,11]。

在试验中个别受试者在服药约 1.5 h 开始感觉胃部略有不适和轻度头晕等不良反应。约 3 h 后症状逐渐消失。心电图及血压观察未见有任何变化。从本实验的达峰时间和峰浓度来看, 正如大多数文献所提示, 美

西律先给予适宜的负荷量, 可有益于临床迅速发挥其疗效, 似乎有其必要性。鉴于美西律药代动力学个体差异较大, 而心律失常患者的病理情况各异, 有关该药病人的药代动力学, 有待今后研究。

参 考 文 献

- [1] Pottage A. Oral dosage schedules for mexiletine. *Postgrad Med J* 1977; 53 (Suppl 1): 155—157.
- [2] Talbot RG et al, Treatment of ventricular arrhythmias with mexiletine. *Lancet* 1973; 2:399—404.
- [3] Prescott LF et al, Absorption, distribution and elimination of mexiletine. *Postgrad Med J* 1977; 53 (Suppl 1): 50—55.
- [4] Campbell NPS et al, The Clinical pharmacology of mexiletine. *Eur J Clin Pharmacol* 1978; 6:103—108.
- [5] Breithaupt H et al, Determination of mexiletine in biological fluids by high performance liquid chromatography. *J chromatogr* 1982; 230:97—105.
- [6] Farid NA et al, Determination of mexiletine and its metabolites in serum by liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 1983; 275:458—462.
- [7] Bhamra RK et al, High-performance liquid chromatographic method for the measurement of mexiletine and flecainide in blood plasma or serum. *J Chromatogr* 1984; 307:439—444.
- [8] Grech-Belanger O et al, High pressure liquid chromatographic assay for mexiletine in serum. *J chromatogr sci* 1984; 22:490—492.
- [9] Mastropaolo W et al, Improved liquid-chromatographic determination of mexiletine, an antiarrhythmic drug, in plasma. *Clin Chem* 1984; 30:319—322.
- [10] Haselbarth V et al, Kinetics and bio-

第5卷 第3期

现代应用药 学

1988年6月

availability of mexiletine in healthy subjects. Clin Pharmacol Ther 1981, 29:729—736.

[11] Klein A et al, Mexiletine kinetics in healthy subjects taking cimetidine. Clin Pharmacol Ther 1985, 37:669—673.