

高效液相色谱法测定苯巴比妥、苯妥英钠、卡马西平的血药浓度

杨国浓 朱国峰¹ (杭州 310022 浙江省肿瘤医院;¹ 平湖 314204 上海交大穗轮药业有限公司)

摘要 目的:建立 HPLC 法测定苯巴比妥(PB)、苯妥英钠(PT)、卡马西平(CBZ)的血药浓度。方法:以 Ultrasphere-ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱法为分离柱,流动相:甲醇:水(50:50),检测波长 254 nm。结果:PB、PT、CBZ 的血浓度分别在 2.15 ~ 43, 3.8 ~ 47.5, 1.675 ~ 20.1 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系,日内及日间差均小于 10%,平均回收率分别为 98.65%, 98.79%, 98.50%。结论:本法可用于临床血药浓度测定。

关键词 高效液相色谱法;苯巴比妥;苯妥英钠;卡马西平;血药浓度

Determination of phenobarbital, phenytoin, carbamazepine in serum by HPLC

Yang Guonong, Zhu Guofeng (Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou, 310022)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish a method for the determination of Phenobarbital (PB), Phenytoin (PT), Carbamazepine (CBZ) in serum by high performance liquid chromatography (HPLC). **METHOD:** A ultrasphere-ODS column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with a mobile phase of Methanol-Water (50:50). The detection wavelength was 254 nm. **RESULTS:** The linear relation of PB, PT, and CBZ were in the range of 2.15 ~ 43, 3.8 ~ 47.5 and 1.675 ~ 20.1 μg/ml, respectively. The relative standard of within-day and between-days assays were all less than 10%. The relative recoveries of PB, PT and CBZ were 98.65%, 98.79% and 98.50%.

50 % , respectively . **CONCLUSION:**The method is suitable for clinical monitor of PB,PTand CBZ in serm .
KEY WORDS high performance liquid chromatography , Phenobarbital , Phenytoin ,Carbamazepine , Serm drug concentration

抗癫痫药物(antiepileptic drugs ,AEDS)属控制症状类药物。癫痫患者需长期用药且对药物反应具有很大的个体差异。通过 AEDS 的血药浓度监测,合理调整用药剂量,能提高疗效并减少不良反应的发生。故建立了一种快速、灵敏、实用的 HPLC 法测定苯巴比妥(Phenobarbital ,PB) .苯妥英钠(phenytoin ,PT) 、卡马西平(carbamazepine ,CBZ) 的血药浓度。采用三种药物互为内标法,并用于临床。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 苯巴比妥、苯妥英钠、卡马西平均对照品(中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,二氯甲烷为分析纯。

1.2 仪器与色谱条件 美国 Beckman 公司 HPLC 仪(125 双泵、166 检测器),分析柱为 Ultrasphere- ODS(4.6 mm × 250 mm ,5um),流动相为甲醇-水(50:50),流速为 1 ml/ min ,检测波长 254 mm ,常温操作。

1.3 标准储备液及内标溶液的制备 精密称取 PB8.6 mg、PT19 mg、CBZ13.4 mg 分置 10 ml 容量瓶中,用甲醇溶解并定溶成 PB0.86 mg/ ml、PT1.9 mg/ ml、CBZ1.34 mg/ ml 标准储备液。内标物溶液:PB0.86 mg/ ml、CBZ0.268 mg/ ml(取卡马西平标准储备液 2 ml 用流动相稀释至 10 ml 所得),- 4℃ 保存。

1.4 样本处理 取血浆 0.5 ml 加 10ul 内标液,摇匀,加 2 ml 二氯甲烷,旋涡振荡 1.0 min ,以 3500r/ min 离心 15 min ,取二氯甲烷层 1 ml 于离心管中,于 55℃ 水浴蒸干,残渣用 0.1 ml 流动相溶解,取 20ul 进样。

2 结果

2.1 色谱行为 按样品处理方法分别提取空白血浆,空白血浆加对照品进样测得色谱图,如图 1,从图中可以看出在三种药物吸收峰处没有血浆杂质干扰。

2.2 线性关系 取上述 PB、PT 及 CBZ 标准储备液各若干,用流动相稀释得系列标准液:

浓度(ug/ ml)	1	2	3	4	5	6
PB	4.3	8.6	17.2	34.4	68.8	86
PT	7.6	15.2	30.4	60.8	76	95
CBZ	3.35	6.7	13.4	20.1	26.8	40.2

于 0.25 ml 血浆中加入各系列标准液 0.25 ml ,得 BP、PT 及 CBZ 血浆液,PB、PT 血浆液中加 10ulCBZ(0.268 mg/ ml) ,CBZ 血浆液中加 10ulPB(0.86 mg/ ml) ,按样品处理方法操作,以内标法峰面积(A = A 样品/ A 内标) 定量,得浓度 C 与峰面积 A 回归方程:

PB:C = 68.87209 A - 1.55620(r = 0.9995)

线性范围:2.15 ~ 43ug/ ml

PT:C = 49.59907 A + 0.698983(R = 0.9996)

线性范围:3.8 ~ 47.5ug/ ml

CBZ:C = 1.542977 A + 0.215573(r = 0.9998)

线性范围:1.675 ~ 20.1ug/ ml

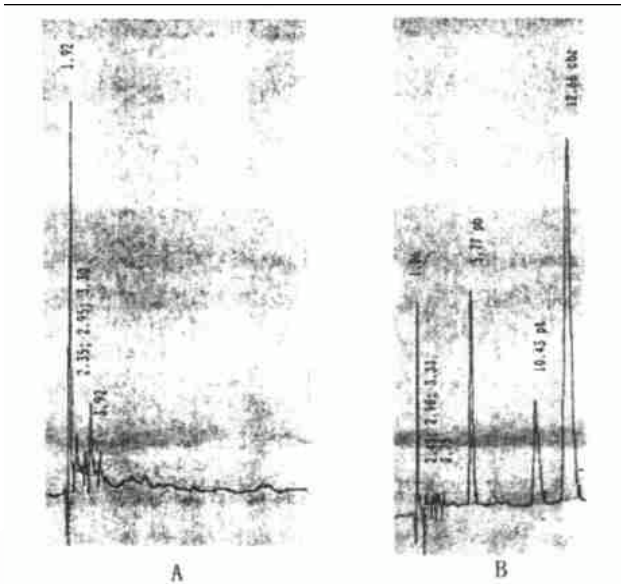


图 1 色谱图

A:空白 B:空白+对照品

表 1 PB、PT 及 CBZ 回收率试验结果(n = 5)

药 物	理论值 / ug . ml ⁻¹	测得值 / ug . ml ⁻¹	平均回收率 / %	RSD / %
PB	4.3	4.25 ± 0.13	98.84	3.05
	17.2	17.00 ± 0.27	98.84	98.65 1.59
	34.4	33.80 ± 0.53	98.26	1.57
PT	7.6	7.50 ± 0.21	98.68	2.80
	30.4	30.20 ± 0.31	99.34	98.79 1.03
	60.8	59.80 ± 0.75	98.36	1.25
CBZ	6.7	6.61 ± 0.21	98.66	98.50 3.18
	13.4	13.23 ± 0.27	98.73	2.04
	26.8	26.30 ± 0.41	98.13	1.56

2.3 回收率试验:

配制分别含 PB、PT 和 CBZ 为高、中、低 3 种浓度的血浆样品各 5 份,参照样品处理方法操作,计算回收率,结果见表 1

表 2 PB、PT 及 CBZ 精密度试验结果(n = 5)

药物	理论值 / ug . ml ⁻¹	日内实测值		日间实测值	
		$\bar{x} \pm s$ / ug . ml ⁻¹	RSD / %	$\bar{x} \pm s$ / ug . ml ⁻¹	RSD / %
PB	4.3	4.25 ± 0.13	3.05	4.21 ± 0.19	4.51
	17.2	17.00 ± 0.27	1.59	16.97 ± 0.34	2.00
	34.4	33.80 ± 0.53	1.57	33.72 ± 0.70	2.08
PT	7.6	7.50 ± 0.21	2.80	7.47 ± 0.31	4.15
	30.4	30.20 ± 0.31	1.03	30.10 ± 0.52	1.73
	60.8	59.80 ± 0.75	1.25	58.20 ± 0.97	1.67
CBZ	6.7	6.61 ± 0.21	3.18	6.59 ± 0.24	3.64
	13.4	13.23 ± 0.27	2.04	13.14 ± 0.30	2.28
	26.8	26.30 ± 0.41	1.56	26.10 ± 0.72	2.76

2.4 精密度试验:

配制分别含 PB、PT 和 CBZ 为高、中、低 3 种浓度的血浆
中国现代应用药杂志 2002 年 8 月第 19 卷第 4 期

样品各 5 份,分别于同一天及 5d 内每天操作测定,结果见表 2

3 讨论

样本处理曾采用加磷酸盐缓冲液调 pH,操作和不加缓冲液计算结果没有明显差异,故本文样本处理时直接加 CH_2Cl_2 提取。

参考文献

- 1 陈刚主编,治疗药物监测,人民军医出版社 1988:480.
- 2 陈希贤,吕建新,李东.高效液相色谱法同时测定人血中茶碱与苯巴比妥、苯妥英、卡马西平的含量.中国医院药学杂志,1994,14(9):389.

收稿日期:2001-12-18