

UPLC-MS/MS 法同时测定人血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋及其代谢物奥沙西洋浓度

王伟, 刘永锁, 乔湜, 李清艳* [民航航空医学中心(民航总医院)航空医学研究所, 北京 100123]

摘要: 目的 建立同时测定人血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋及其代谢物奥沙西洋浓度的方法。方法 采用超高效液相色谱-质谱联用法(UPLC-MS/MS), 以磺胺甲噁唑(SMZ)为内标, 血浆经甲醇直接沉淀后进样分析。色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC HSS PFP 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相为 0.1%甲酸的 5 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液-0.1% 甲酸的甲醇溶液(0~5 min, 35 : 65→10 : 90), 流速为 0.2 mL·min⁻¹。电喷雾离子源, 正离子多反应监测扫描分析, 卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋的离子对分别为 m/z 237.0→194.06、 m/z 255.98→144.95、 m/z 316.01→270.0、 m/z 285.04→193.07 和 m/z 287.02→241; 内标磺胺甲噁唑的离子对为 m/z 253.96→91.97。结果 卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋血药浓度分别在 2.4~600 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 7$), 2.52~630 ng·mL⁻¹($r=0.992\ 0$), 2.08~520 ng·mL⁻¹($r=0.997\ 9$), 2.28~570 ng·mL⁻¹($r=0.998\ 2$), 8.0~800 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 2$)线性关系良好; 最低检出限分别为 0.24, 0.63, 0.52, 0.57, 3.2 ng·mL⁻¹。日内、日间精密度均<15%; 提取回收率均>70%, 且 RSD<15%。结论 该方法灵敏、快速、专属性强, 可用于临床血药浓度测定及药动力学研究。

关键词: 卡马西平; 拉莫三嗪; 氯硝西洋; 地西洋; 奥沙西洋; 液-质联用法

中图分类号: R917.101; R971.6

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)11-1215-05

Simultaneous Determination of Carbamazepine, Lamotrigine, Clonazepam, Diazepam and Oxazepam in Human Plasma by UPLC-MS/MS

WANG Wei, LIU Yongsuo, QIAO Shi, LI Qingyan* [Civil Aviation Medicine Center(Civil Aviation General Hospital), Institute of Aviation Medicine, Beijing 100123, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop the method for concentration determination of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma. **METHODS** UPLC-MS/MS was adopted to analyze plasma with protein precipitated by methanol and sulfamethlazole(SMZ) was used as internal standard. Plasma samples were separated on Waters ACQUITY UPLC HSS PFP(2.1mm×100 mm,1.8 μm) column with aqueous solution(0.1% formic acid 5 mmol·L⁻¹ ammonium acetate buffer)-0.1% formic acid method(0-5 min, 35 : 65→10 : 90) as mobile phase, and at a flow rate of 0.2 mL·min⁻¹. The protonated ion of samples was detected in positive ionization by multiple reaction monitoring(MRM) mode. The target compounds carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam, oxazepam and SMZ were quantified with m/z 237.0→194.06, m/z 255.98→144.95, m/z 316.01→270.0, m/z 285.04→193.07, m/z 287.02→241 and m/z 253.96→91.97, respectively.

RESULTS The liner calibration curve of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam were obtained in the concentration range of 2.4-600 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 7$), 2.52-630 ng·mL⁻¹($r=0.992\ 0$), 2.08-520 ng·mL⁻¹($r=0.997\ 9$), 2.28-570 ng·mL⁻¹($r=0.998\ 2$) and 8.0-800 ng·mL⁻¹($r=0.999\ 2$), respectively. The lowest detection limit were 0.24 ng·mL⁻¹, 0.63 ng·mL⁻¹, 0.52 ng·mL⁻¹, 0.57 ng·mL⁻¹ and 3.2 ng·mL⁻¹, respectively. The RSD of inter-day and intra-day were less than 15%. The relative recovery was more than 70%, and the RSD was less than 15%. **CONCLUSION** The method is accurate, sensitive and suitable for blood concentration monitoring and pharmacokinetic study of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam.

KEY WORDS: carbamazepine; lamotrigine; clonazepam; diazepam; oxazepam; UPLC-MS/MS

癫痫是由多种病因引起的慢性脑部疾病, 以脑部神经元过度放电所致的突然、反复和短暂的中枢神经系统功能失常为特征^[1]。目前, 癫痫患者服用抗癫痫药物仍然是控制癫痫发作的最重要手

段。卡马西平是简单部分性发作尤其是复杂部分性癫痫的首选药物, 对全身强直-阵挛性发作及混合型的疗效同苯妥英钠; 拉莫三嗪抗痫谱较广, 加用或单药治疗对全面性发作和部分性发作均有

基金项目: 民航总医院院级课题(2012018); 民航科技项目(MHRD201235)

作者简介: 王伟, 男, 硕士 Tel: (010) 85762244-2322 E-mail: xinyuok2@163.com *通信作者: 李清艳, 女, 博士, 副研究员 Tel: (010) 85762630 E-mail: qingyan.ye.li@gmail.com

效,尤其对失神发作(典型或非典型)及失张力发作有效^[2];氯硝西洋是治疗肌阵挛发作和婴儿痉挛的一线用药;地西洋与其他抗癫痫药合用,治疗癫痫大发作或小发作。由于此类药物具有安全范围小、有效剂量个体差异大、毒性较强等特点,且其疗效和不良反应与血清或血浆中药物浓度密切相关,故需要对多数抗癫痫药物进行血药浓度监测。文献报道,有采用高效液相色谱法(HPLC)^[3-6]测定生物样本中抗癫痫药物,但方法灵敏度较低,消耗样本量大;也有采用高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS/MS)^[7-11],其中样品预处理大多采用液-液萃取或固相萃取法,提取过程复杂、费时。本研究旨在建立一种样品处理简便、高灵敏、高准确性的能够同时测定人血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋及其代谢物奥沙西洋血药浓度的超高效液相色谱-质谱联用法(UPLC-MS/MS),以满足临床血药浓度测定的需要。

1 材料

1.1 仪器

超高效液相色谱/三重四级杆质谱仪(TQD UPLC-MS/MS,美国沃特斯有限公司);可调移液器(法国吉尔森);SIGMA 3-18K 型台式高速冷冻离心机(德国);赛多利斯 BT25S 十万分之一天平(德国)。

1.2 试药

卡马西平对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100142-201004,纯度:99.7%);氯硝西洋对照品(中国药品生物制品检定所,批号:171227-200302,纯度 \geq 98%);地西洋对照品(中国药品生物制品检定所,批号:171225-200903,纯度:99.9%);拉莫三嗪对照品(Sigma-Aldrich 公司,批号:1001010394,纯度 \geq 98%);奥沙西洋对照品(中国药品生物制品检定所,批号:171229-200603,纯度 \geq 98%);磺胺甲噁唑对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100025-200904,纯度:99.8%);甲醇(GR);乙酸铵(GR);甲酸(优级纯);去离子水由超纯水仪(Millipore 纯水系统)制备。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC HSS PFP 柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μ m);流动相为 0.1%甲

酸的 5 mmol \cdot L⁻¹ 乙酸铵水溶液-0.1%甲酸的甲醇溶液(0~5 min, 35 : 65 \rightarrow 10 : 90);流速为 0.2 mL \cdot min⁻¹;柱温:25 $^{\circ}$ C。

电喷雾离子源,离子源温度 120 $^{\circ}$ C;去溶剂化温度 350 $^{\circ}$ C;正离子方式检测;扫描方式:多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM);液氮气体流速 650 L/Hr,毛细管电压(capillary) 3.0 kV;卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋、奥沙西洋和磺胺甲噁唑的锥孔电压分别为 40, 60, 52, 54, 36, 36 V,碰撞能量分别为 20, 40, 26, 30, 28, 30 V;用于定量分析检测的离子分别为:卡马西平 m/z 237.0 \rightarrow 194.06,拉莫三嗪 m/z 255.98 \rightarrow 144.95,氯硝西洋 m/z 316.01 \rightarrow 270.0,地西洋 m/z 285.04 \rightarrow 193.07,奥沙西洋 m/z 287.02 \rightarrow 241,磺胺甲噁唑 m/z 253.96 \rightarrow 91.97。

2.2 试验溶液的配制

分别精密称取卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋、奥沙西洋和磺胺甲噁唑对照品适量,各加入甲醇制备成浓度分别为 0.120, 0.126, 0.104, 0.114, 0.160, 0.109 mg \cdot mL⁻¹ 的标准储备液。以上对照品和内标标示浓度均进行了纯度折算。

2.3 血浆样品的处理

精密量取血浆样品 200 μ L,置于 1.5 mL 塑料离心管中,加入内标工作液(10.9 μ g \cdot mL⁻¹)15 μ L,涡旋混合 30 s。加入甲醇 500 μ L,涡旋混合 60 s,4 $^{\circ}$ C 12 000 r \cdot min⁻¹ 离心 10 min,取上清液供检,进样 5 μ L。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性 取 6 个不同来源的人空白血浆样品,混合均匀后取 200 μ L,不加内标,直接加入甲醇 500 μ L,按“2.3”项下处理步骤操作并进样分析,得到人空白血浆样品总离子流色谱图($n=3$)。另配制卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋的质控血浆样品,加入内标工作液(10.9 μ g \cdot mL⁻¹)15 μ L,其余同法处理分析($n=3$),得到空白血浆添加对照品和内标溶液的色谱图,见图 1。由结果可知,上述化合物的保留时间分别为:卡马西平 2.23 min,拉莫三嗪 2.76 min,氯硝西洋 2.67 min,地西洋 3.63 min,奥沙西洋 2.39 min,磺胺甲噁唑 1.62 min;血浆中内源性物质不干扰以上化合物的测定。

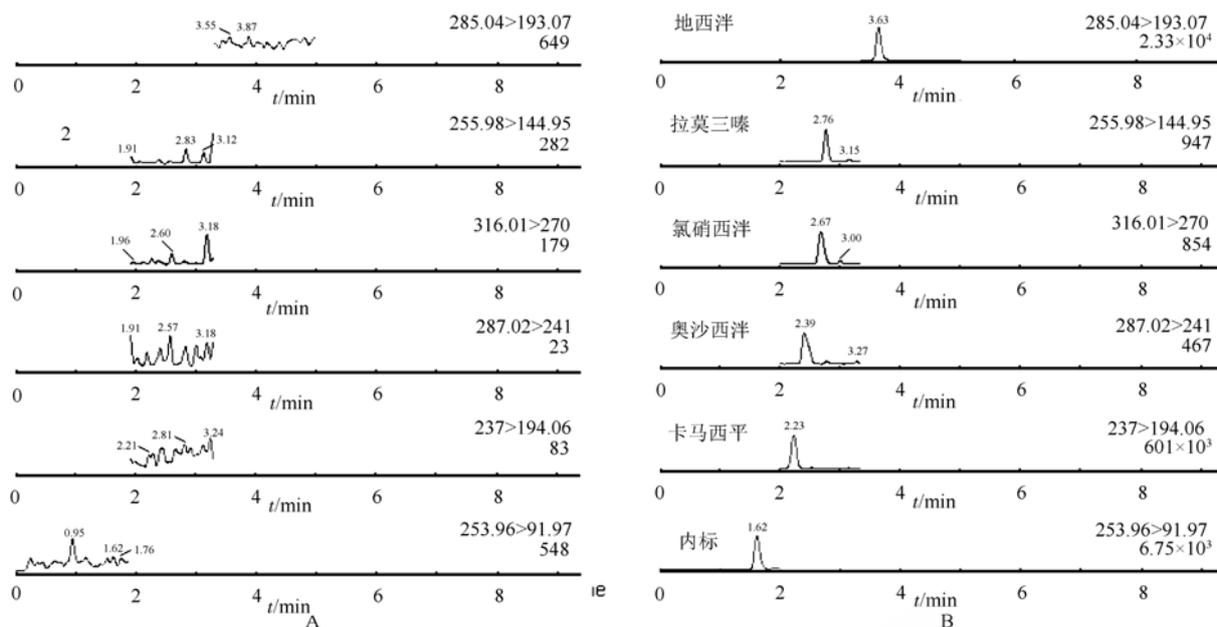


图 1 卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋、奥沙西洋和内标(SMZ)色谱图

A-空白血浆; B-空白血浆+对照品+内标

Fig 1 The chromatograms of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam, oxazepam and SMZ

A-Blank plasma; B-Blank plasma+reference substance+internal standard

2.4.2 基质效应 取 6 种不同来源的空白人血浆 200 μL , 按样品处理方法处理后得到空白血浆提取液, 分别向其加入 5 种化合物对照品溶液适量和内标溶液($10.9 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 15 μL), 制备成含内标溶液的低、中、高浓度(约 5, 20, 200 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的质控样品($n=5$), 进样分析, 得到的色谱峰面积与相应质量浓度的标准溶液直接进样获得的色谱峰面积进行比较, 计算本方法基质效应。结果表明, 待测化合物低、中、高浓度的的基质效应均在 85%~110% 内; 内标的基质效应 <50%, $\text{RSD}\% < 10\%$ 。虽然内标有明显的基质效应, 检测灵敏度低, 但是血浆中加入的内标量比较高, 能够保证其检测响应值; 另外, 内标的基质效应值偏差小, 能够保证样本检测结果的准确度。

2.4.3 最低检测限和最低定量限 在空白血浆中加入不同浓度的 5 个化合物的对照品溶液, 配制一系列质量浓度的样品溶液, 按“2.3”项下处理步骤操作并进样分析, 按 $S/N \geq 3$ 计算, 卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋最低检出限分别为 0.24, 0.63, 0.52, 0.57, 3.2 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。按 $S/N \geq 10$ 计算, 5 个化合物的最低定量限分别为 1.20, 2.52, 2.08, 2.28, 8.00 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.4.4 线性关系 在空白血浆中加入不同浓度的 5 个化合物的对照品溶液和内标液, 配制一系列

浓度的质控血浆样品。按“2.3”项下方法处理后, 进样测定。以待测物浓度(X)为横坐标, 待测物峰面积和内标峰面积的比值(Y)为纵坐标, 其加权($1/x$)线性回归后, 得回归方程, 见表 1。结果表明 5 个化合物在各自的浓度范围内线性关系均良好, 其定量下限分别为 2.40, 2.52, 2.08, 2.28, 8.00 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 1 回归方程与线性范围考察

Tab 1 Regression equations and calibration range

化合物	线性回归方程	相关系数	线性范围/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
卡马西平	$Y=0.6205X-0.6368$	0.9997	2.40~600
拉莫三嗪	$Y=0.0432X-0.0203$	0.9920	2.52~630
氯硝西洋	$Y=0.0886X+0.0273$	0.9979	2.08~520
地西洋	$Y=0.2252X+0.1216$	0.9982	2.28~570
奥沙西洋	$Y=0.0485X-0.0055$	0.9992	8.00~800

2.4.5 精密度、准确度和提取回收率 取空白人血浆, 配制 5 个化合物的低、中、高浓度的质控样品, 按血样处理方法进行处理。每个质量浓度 5 份样品同日测定, 得日内精密度(RSD); 每个浓度 5 份样品分别于 3 日内测定, 得日间精密度。以当日的随行标准曲线计算样品的测定浓度, 与配制的浓度对照, 求得方法的准确度($n=5$)。将质控样品测得的色谱峰面积与空白血浆提取后加入标准品溶液后进样测得的峰面积相比, 考察方法的提取回收率($n=5$), 结果见表 2。结果表明, 本方法

的日内、日间精密度 RSD 均<15%；准确度(RE)均<10%；5 个化合物的提取回收率均>70%，且

RSD 均<15%；内标的提取回收率为(63.71 ± 3.44)%，RSD=5.41%，符合生物样品分析要求。

表 2 血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋的精密度、准确度及回收率考察

Tab 2 The precision, accuracy and recovery of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma

化合物	浓度/ ng·mL ⁻¹	准确度/%		日内 RSD/ %	日间 RSD/ %	提取回收率/%	
		$\bar{x} \pm s$	RE			$\bar{x} \pm s$	RSD
卡马西平	6.00	6.56±0.28	9.30	4.24	8.08	88.59±2.27	2.56
	24.00	25.98±0.77	8.24	2.97	9.42	92.25±11.18	12.12
	240.00	242.07±11.62	0.86	4.80	7.58	79.29±4.99	6.29
拉莫三嗪	6.30	6.22±0.76	-1.33	12.25	4.68	87.84±3.90	4.44
	25.20	26.14±1.49	3.74	5.70	6.79	98.51±3.29	3.34
	252.00	247.41±17.21	-1.82	6.96	1.97	95.08±4.18	4.40
氯硝西洋	5.20	5.50±0.42	5.85	7.60	4.58	74.23±7.40	9.98
	20.80	20.71±1.17	-0.42	5.64	2.15	87.43±4.07	4.65
	208.00	200.64±5.37	-3.54	2.68	4.27	87.81±1.55	1.77
地西洋	5.70	5.49±0.38	-3.68	6.91	3.99	71.99±2.66	3.69
	22.80	23.61±0.73	3.54	3.09	3.24	87.57±2.98	3.40
	228.00	219.11±13.32	-3.90	6.08	0.77	86.75±2.66	3.07
奥沙西洋	8.00	7.75±0.58	-3.13	7.46	1.10	70.91±5.36	7.56
	32.00	31.87±1.89	-0.42	5.91	2.46	83.84±7.71	9.20
	320.00	321.98±10.53	0.62	3.27	3.88	78.36±2.08	2.65

2.4.6 稳定性 配制 5 个化合物低、中、高浓度的质控样品，分别于室温 24 °C 放置 6, 12 h, 于 -20 °C 冰箱放置 15 d, 于 -20 °C 冰箱冻存并反复冻融 3 次后处理样品并进行检测，考察其室温稳定性、冻存稳定性和冻融稳定性(n=4)。结果表明，测定值的 RE% 均<15%，表明 5 个化合物的血浆样品在室温 24 °C 放置 12 h, -20 °C 冰箱放置 15 d、反复冻融 3 次情况下，仍保持稳定，结果见表 3。

表 3 血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋的稳定性

Tab 3 The stability of carbamazepine, lamotrigine, clonazepam, diazepam and oxazepam in human plasma

化合物	浓度/ ng·mL ⁻¹	室温 RE/%		冰箱 RE/%	冻融 3 次 RE/%
		6 h	12 h	15 d	
卡马西平	6.00	-10.26	-5.55	8.03	-8.08
	24.00	10.99	-4.21	12.95	9.35
	240.00	7.60	3.36	-3.98	12.00
拉莫三嗪	6.30	8.19	12.97	14.82	18.93
	25.20	9.61	11.41	13.93	8.47
	252.00	9.63	12.22	0.45	13.82
氯硝西洋	5.20	-13.54	1.54	7.18	-6.39
	20.80	4.74	-6.09	10.25	12.19
	208.00	8.99	0.07	2.48	8.56
地西洋	5.70	14.76	0.78	4.41	13.98
	22.80	10.15	1.50	-3.57	13.86
	228.00	13.42	-6.52	8.04	6.53
奥沙西洋	8.00	8.89	11.33	5.75	8.17
	32.00	-0.19	-6.71	13.12	-1.99
	320.00	13.99	12.36	12.76	11.53

2.5 人体血样测定

目前收集到服用抗癫痫药物的患者 2 例：①卡马西平和丙戊酸钠合用；②卡马西平。应用建立的检测方法对这些患者血液样本进行了血药浓度分析。取待测血液样本 20 μL, 用空白血浆稀释至 200 μL, 混匀后按血样处理方法进行处理后，取上清液作 UPLC-MS/MS 测定。以当日的随行标准曲线计算样品的测定浓度，再换算成样品的血药浓度。测定结果为：①卡马西平 1.84 μg·mL⁻¹, 丙戊酸钠未测定；②卡马西平 3.02 μg·mL⁻¹。

3 讨论

本实验选用磺胺甲噁唑为内标，因其与待测化合物都含有氮杂环结构，结构相似。虽然内标有明显的基质效应，检测灵敏度低，但是血浆中加入的内标量比较高，能够保证其检测响应值；另外，测得内标的基质效应值偏差小，表明每次内标的检测值是稳定的，能够保证样本检测结果的准确度。在优化液相条件时，曾选择 0.1% 的甲酸水-甲醇、水-甲醇、5 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液-甲醇作为流动相，结果待测化合物峰形差，拖尾严重，出现分叉现象，而改为 0.1% 甲酸的 5 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液-0.1% 甲酸的甲醇溶液，化合物峰形得到改善，峰形和分离度均较好。

目前相关文献报道生物样品预处理方法大都是液-液萃取、固相萃取，但过程复杂费时；本实

验采用甲醇直接沉降处理血浆, 样品处理简单、快速, 测得卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋和地西洋的最低检出限均 $<1.0 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 奥沙西洋为 $3.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 准确度、精密度和提取回收率等均良好。由于建立的 5 个化合物的检测方法灵敏度高, 浓度为 $2.0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的质控样品检测信号值较为接近饱和值, 为了避免仪器被污染, 所以线性关系考察时, 最高浓度点 $<1.0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。但临床治疗癫痫患者的药物有效血药浓度基本都在几个微克, 浓度较高, 目前也多用液相色谱检测, 但过程费时, 消耗流动相试剂也多。为此, 本实验建立了一种液相色谱质谱检测方法, 在检测临床生物样本时, 取少量样本, 用空白人血浆稀释 10 倍~20 倍左右, 混匀后再按样品处理方法处理后进行检测。考虑到空白血浆稀释的样本与临床样本是否有差别, 选了线性范围内的高、中浓度点进行稀释后考察, 检测结果与不稀释直接处理后得到的结果比较, 其 RSD $<10\%$, 在可接受范围内。

所以, 本实验建立的人血浆中卡马西平、拉莫三嗪、氯硝西洋、地西洋和奥沙西洋浓度的 UPLC-MS/MS 测定方法具有分析时间短、操作简便、准确度和灵敏度较高、重复性好等特点, 在 5 min 内可完成一个样品多个成分的定性定量分析, 适用于上述 5 种化合物血药浓度测定及药动学研究。

REFERENCES

- [1] YAN J, QIN Q, ZHANG T, et al. A study on the relations of serum concentration of carbamazepine, phenytoin and Phenobarbital to adverse reactions and to therapeutic efficacy [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2011, 31(7):

- 580-584.
 [2] SUN H, XU X M, HAO K Y, et al. The analysis of reasonable application of antiepileptic drugs [J]. Guid China Med(中国医药指南), 2010, 8(33): 221-222.
 [3] HAN L P, LUO K, ZHANG Y J. Simultaneous determination of antiepileptic drugs in serum by HPLC [J]. Acad J Guangdong Coll Pharm(广东药学院学报), 2002, 18(1): 24-26.
 [4] WANG G, GU R, HE Q M, et al. Determination of antiepileptic drugs and the metabolite of carbamazepine in serum by high performance liquid chromatography [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2004, 39(4): 300-302.
 [5] LIU Y, WANG L, HE D K. Determination of carbamazepine, lamotrigine, phenobarbital, phenytoin sodium and 10,11-epoxycarbamazepine in human serum by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2005, 10(8): 846-851.
 [6] YANG J, JIAO Z, SHI X J. Determination of Phenobarbital, Lamotrigine, Oxcarbazepine and its metabolites in human serum by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2006, 37(6): 415-417.
 [7] NGWA G, FRITCH D, BLUM K, et al. Simultaneous analysis of 14 benzodiazepines in oral fluid by solid-phase extraction and LC-MS-MS [J]. J Anal Toxicol, 2007, 31(7): 369-376.
 [8] MARIN S J, COLES R, MERRELL M, et al. Quantitation of benzodiazepines in urine, serum, plasma, and meconium by LC-MS-MS [J]. J Anal Toxicol, 2008, 32(7): 491-498.
 [9] LAJUNESSE A, VERNUILLET G, EULLAFFROY P, et al. Determination of carbamazepine in aquatic organisms by liquid-liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Environ Monit, 2009, 11(4): 723-725.
 [10] NAKAMURA M, OHMORI T, ITOH Y, et al. Simultaneous determination of benzodiazepines and their metabolites in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a highresolution octadecyl silica column compatible with aqueous compounds [J]. Biomed Chromatogr, 2009, 23(4): 357-364.
 [11] HOTHAK K, KUMAR S S, BHARATHI D V, et al. Rapid and sensitive LC-MS/MS method for quantification of lamotrigine in human plasma: application to a human pharmacokinetic study [J]. Biomed Chromatogr, 2012, 26(4): 491-496.

收稿日期: 2013-04-13

HPLC 测定甲苯磺酸索拉非尼片及其在大鼠血浆中的含量

何春晓^{1,2}, 黄翔², 孙燕雯², 何昱², 张茹萍², 卢红阳¹, 严叶萍², 张沂平^{1*} (1.浙江省肿瘤医院化疗中心, 杭州 310022; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定索拉非尼含量, 并探索大鼠血浆中索拉非尼浓度的测定方法。方法 采用 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.05%甲酸和 0.05%三乙胺的水溶液-乙腈(35: 65); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 265 nm。结果 索拉非尼浓度在 0.4~12 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好, $r=0.9999$; 加样回收率为 100.8%,

基金项目: 浙江省中医药科学研究基金计划(2012ZA022); 浙江省医药卫生科学研究基金(2007B025); 吴阶平医学基金(320.6750.11059、320.6750.11091、320.6799.1106)

作者简介: 何春晓, 女, 硕士生 Tel: 15858225472 E-mail: chunxiao_he@163.com *通信作者: 张沂平, 女, 主任医师 Tel: (0571)88122188 E-mail: zyp@medmail.com.cn