

反相高效液相色谱法测定人血浆中利培酮及其代谢物的质量浓度

肖 红 杨 竟 张石宁 张心保

(南京医科大学脑科医院 南京 210029)

提 要 建立了测定人血浆中利培酮及其活性代谢物 9-羟利培酮质量浓度的反相高效液相色谱方法。用 Zorbax ODS C_{18} 色谱柱,以 $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) : V(1 \text{ mol/L 醋酸铵}) : V(3 \text{ mol/L 氨水}) = 300 : 50 : 3 : 1$ 为流动相,检测波长为 280 nm,流速为 0.8 mL/min。利培酮的线性范围为 2 ~ 600 $\mu\text{g/L}$ ($r = 0.996$),回收率为 $(98.2 \pm 3.5)\%$,日内与日间的标准偏差分别为 4.12% 和 4.83%;9-羟利培酮的线性范围为 2 ~ 800 $\mu\text{g/L}$ ($r = 0.998$),回收率为 $(97.8 \pm 3.8)\%$,日内与日间的标准偏差分别为 4.28% 和 4.81%。

关键词 高效液相色谱法,利培酮,9-羟利培酮,血浆
分类号 O658

1 前言

利培酮是一种新型抗精神病药物,目前国内刚开始进入临床验证阶段。国外的研究表明,它是一种 5-羟色胺 S2 受体和多巴胺 D2 受体的拮抗剂^[1~3],并且其代谢产物中的 9-羟利培酮具有与利培酮同样的活性^[4]。国外有文献报道采用放射免疫法^[5]和高效液相色谱法^[6]来分析测定利培酮的血药质量浓度,国内尚未见报道。本文在参考文献的基础上,建立了一种新的快速简便、灵敏的分析方法,可用于利培酮药物动力学研究及临床血药质量浓度监测。

2 实验部分

2.1 仪器与药品 利培酮与 9-羟利培酮对照品由比利时杨森公司提供;甲醇、乙酸乙酯、硼酸钠、氨水、醋酸铵均为分析纯;水为双重蒸馏水。

2.2 仪器与色谱条件 日本岛津 LC-6A 型高效液相色谱仪;SPD-6AV 紫外检测器;C-R3A 数据处理机。色谱柱为 Zorbax ODS C_{18} (15 mm \times 4.6 mm, 5 μm)。流动相为 $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) : V(1 \text{ mol/L 醋酸铵}) : V(3 \text{ mol/L 氨水}) = 300 : 50 : 3 : 1$;检测波长 280 nm,流速 0.8 mL/min;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;灵敏度 0.005;纸速 2 mm/min。

2.3 方法 取 1 mL 待测血浆,加入乙酸乙酯 2 mL 和 0.05 mol/L 硼酸钠 1 mol/L,漩涡振荡 5 min,经 2 500 r/min 速率离心 5 min 后吸取上清液,在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中吹干,残渣用 100 μL 流动相溶解,进样 20 μL ,以峰面积外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 色谱行为 在本实验条件下,获得的利培酮与 9-羟利培酮的标准品及病人血浆的色谱图见图 1。

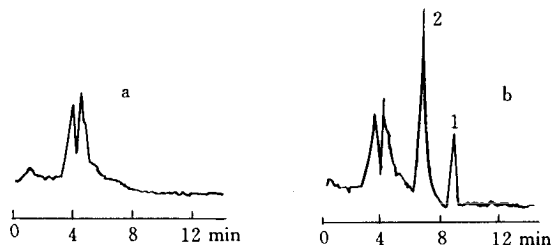


图 1 利培酮与 9-羟利培酮色谱图

Fig. 1 Chromatogram of risperidone and 9-hydroxyrisperidone

1. 利培酮, 2. 9-羟利培酮。

a. 空白血浆色谱图, b. 标准血浆色谱图。

1. risperidone, 2. 9-hydroxyrisperidone.

a. chromatogram of blank plasma,

b. chromatogram of plasma with standards.

3.2 线性关系及检测下限 将利培酮和 9-羟利培酮的标准液按不同量加入空白血浆中,按上述方法测定,得到峰面积 Y 与质量浓度 X ($\mu\text{g/L}$) 的关系,见表 1。利培酮和 9-羟利培酮的检测下限均为 2 $\mu\text{g/L}$,满足了临床血药质量浓度测定的要求。经临床检测,当病人服用最低剂量每日 1 mg 时,血药质量浓度:利培酮为 3.4 $\mu\text{g/L}$,9-羟利培酮为 5.1 $\mu\text{g/L}$ 。

3.3 回收率与精密度 配制含利培酮和 9-羟利培酮质量浓度分别均为 10, 100, 200 $\mu\text{g/L}$ 的标准血浆

表 1 利培酮和 9-羟利培酮的线性方程及相关系数

Table 1 The linear regression equations and correlation coefficients of risperidone and 9-hydroxyrisperidone

样品 Sample	线性方程式 Regression Equation	r	线性范围 Linear range
利培酮 Risperidone	$Y = 1.784 \times 10^4 + 0.113 \times 10^4 X$	0.996	2~600 $\mu\text{g/L}$
9-羟利培酮 9-hydroxyrisperidone	$Y = 1.09 \times 10^3 + 1.72 \times 10^3 X$	0.998	2~800 $\mu\text{g/L}$

样品各 5 份,在上述实验条件下分析,测得血浆中利培酮和 9-羟利培酮的回收率见表 2。另取上述 3 种质量浓度标准血浆,每一质量浓度当日测定 5 次,求

得日内平均相对偏差;3 种质量浓度血浆放置冰箱保存,每天测一次,连续测定 5 天,求得日间平均相对偏差见表 2。

表 2 血浆中利培酮和 9-羟利培酮的分析结果

Table 2 The results of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma

样品 Sample	平均回收率(n = 15) Average recovery	日内标准差(n = 15) CV for within-day	日间标准差(n = 15) CV for day to day
利培酮 Risperidone	98.2 ± 3.5%	4.12%	4.83%
9-羟利培酮 9-hydroxyrisperidone	97.8 ± 3.8%	4.28%	4.81%

3.4 检测波长的选择 对利培酮和 9-羟利培酮的标准溶液(100 $\mu\text{g/L}$)分别进行全波长扫描,比较两种样品的吸收值,在 280 nm 处两种样品均有较强的吸收,故选定检测波长为 280 nm。

3.5 流动相 pH 值的选择 9-羟利培酮是利培酮的活性代谢物,因此在建立本方法时,力求两种物质得到同时测定,并能较好的分离。通过改变醋酸铵与氨水的体积比来调节流动相的 pH 值,当 pH 在 7.2~7.5 之间时利培酮与 9-羟利培酮及与血浆中的杂质得到较好的分离,故此我们选定流动相的 pH 为 7.3。

参 考 文 献

- 1 Janssen P A J, Niemegeers C J E, Awouters F et al. J Pharmacol Exp Ther, 1988, 244:685-693
- 2 Leysen J E, Gommeren W, Eens A et al. J Pharmacol Exp Ther, 1988,247:661-670
- 3 Chouinard G, Jones B, Remington G et al. J Clin Psychopharmacol, 1993,13:25-40
- 4 Beijsterveldt V, Geerts J F R, Leysen J E et al. Psychopharmacol, 1993,15:371-380
- 5 Huang M L, Peer A V, Woestenborgh R et al. Clin Pharmacol and Ther, 1993,54:257-268
- 6 Woestenborghs R, Lorreyne W, Rompaey F V et al. J Chromatogr,1992,583:223-230

Determination of Risperidone and 9-Hydroxyrisperidone in Plasma by High Performance Liquid Chromatography

Xiao Hong, Yang Jing, Zhang Shining and Zhang Xinbao

(Brain Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, 210029)

Abstract A reversed-phase HPLC method for the determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in plasma was established. Risperidone and 9-hydroxyrisperidone can be separated on a Zorbax ODS C₁₈ column with a mobile phase of MeOH-water-ammonium acetate(mol/L)- ammonia water(3 mol/L) (300 : 50 : 3 : 1, volume ratios) and detected at 280 nm. The flow rate was 0.8 mL/min. The linear range was 2-600 $\mu\text{g/L}$, $r = 0.996$ for risperidone, and 2-800 $\mu\text{g/L}$, $r = 0.998$ for 9-hydroxyrisperidone. The average recovery was (98.2 ± 3.5)% for risperidone, and (97.8 ± 3.8)% for 9-hydroxyrisperidone. The intra-day and inter-day coefficients of variation were 4.12% and 4.83% for risperidone respectively, 4.28% and 4.81% for 9-hydroxyrisperidone respectively. The method has been used to determine risperidone and 9-hydroxyrisperidone mass concentration in patient plasma. The data obtained showed that the sensitivity and selectivity of this method were adequate for drug monitoring in clinical research.

Key words high performance liquid chromatography, risperidone, 9-hydroxyrisperidone, plasma