

血清中卡马西平的薄层荧光扫描定量测定

李 丙 阳

(大庆市第一医院)

卡马西平是临床常用抗癫痫药。由于其半衰期较长,不同个体变异较大⁽¹⁾,因此需要实行个体化的治疗方案。目前体液中卡马西平的检测方法有气相色谱法⁽²⁾、光谱法⁽³⁾、薄层色谱法⁽⁴⁾、液相色谱法⁽⁵⁾等。本文报告一种简便的薄层色谱法。卡马西平不需提取,将血清样品直接点在薄层板上分离、定量。方法简便、结果准确。血清用量仅需 $1\mu\text{l}$ 。

仪器 岛津 CS-920 型薄层扫描仪; 岛津荧光附件。激发波长 348 nm, 发射滤光片 3 号。

药品与试剂 卡马西平 上海黄河制药厂; 硅胶 G 青岛海洋化工厂; 氯仿、甲醇、醋酸乙酯、异丙醇及乙醚均为分析纯。

色谱条件 层析板: 取 5 g 硅胶 G, 加入 15 ml 蒸馏水, 铺制 $10\times 15\text{ cm}$ 板 3 块, 室温放置过夜。用 $1\mu\text{l}$ 微量定量毛细管点样。上行展开 9 cm。展开剂: 氯仿-异丙醇-醋酸乙酯-乙醚(13:2:5:5)。检出方法: 展开后干燥的薄层板, 置密闭容器中, 用氯化氢气体熏 10 min, 立即置于 160°C 干燥箱中, 加热 10 min, 待冷却后检测。

标准溶液的配制 以甲醇为溶剂配成 1 mg/ml 的卡马西平溶液, 此液为贮备液。吸取新鲜血清 6 份, 每份 1 ml, 分别加入 4, 6, 8, 10, 12, 16 μl 卡马西平贮备液, 使成 $4\sim 16\mu\text{g/ml}$ 的标准溶液, 置冰箱中冷冻备用。

实 验 与 结 果

一. 血清中卡马西平的分离 住院癫痫病人口服卡马西平片剂每日三次, 每次 100 mg, 连续服药在一个月以上。于早晨服药前抽血, 分离血清。在硅胶 G 板上点样 $1\mu\text{l}$ 。展开后, 按上述方法处理, 冷却后, 在 254 nm 紫外灯下观测, 可见清晰的蓝绿色荧光斑点, 色谱分离情况见图 1。样品血清共出现 5 个斑点, 其中点 4, 3 及 2, 经与文献^(6~7)比较, 确认为卡马西平及其二个主要代谢物(卡马西平-10,11-环氧化物和 10,11-羟基卡马西平), 其 Rf 值分别为 0.62, 0.46 及 0.13。

二. 线性关系 分取 6 个浓度的卡马西平标准溶液, 在同一块硅胶 G 板上点样, 每个浓度二点, 每点点样 $1\mu\text{l}$ 。展开后, 按上述色谱条件处理。以峰面积为纵坐标, 卡马西平浓度为横坐标, 可得一通过零点的直线。最低检出浓度为 $2\mu\text{g/ml}$ 。同法测定三次, 结果表明血药浓度在 $4\sim 16\mu\text{g/ml}$ 之间呈线性, 相关系数

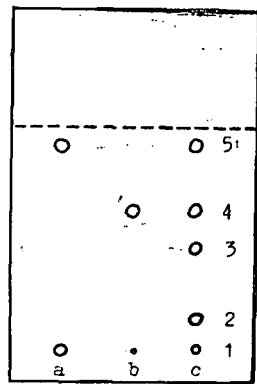


Fig 1. TLC of carbamazepine in serum. a. Blank serum; b. Carbamazepine; c. Sample serum

为 0.9994, 结果见表 1。

Tab 1. Linear relation between peak area and carbamazepine in serum

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	4	6	8	10	12	16
Peak area	124	216	305	375	469	632
CV (%)	5.7	7.2	8.1	5.2	3.6	3.8

三. 重现性 分别在 4 个血药浓度水平测定同一块板及不同板的重现性。同一块板的变异系数: 4 $\mu\text{g/ml}$ 为 8.45% ($n=9$), 8 $\mu\text{g/ml}$ 为 7.0% ($n=9$), 12 $\mu\text{g/ml}$ 为 5.47% ($n=9$), 16 $\mu\text{g/ml}$ 为 3.25% ($n=9$)。不同板的变异系数: 4 $\mu\text{g/ml}$ 为 10.0% ($n=9$), 8 $\mu\text{g/ml}$ 为 8.7% ($n=9$), 12 $\mu\text{g/ml}$ 为 7.3% ($n=9$), 16 $\mu\text{g/ml}$ 为 5.6% ($n=9$)。

四. 回收率 按线性关系项下方法, 配制 4 个浓度的血清样品。测定峰面积, 根据回归方程计算回收率。结果见表 2。

Tab 2. Recovery of carbamazepine in serum

Amt added ($\mu\text{g/ml}$)	Amt measured ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	CV (%)
4.00	3.87	96.8	2.7
8.00	8.18	102.3	5.3
12.00	12.05	100.4	3.7
16.00	15.92	99.5	7.4

五. 干扰试验 采集服用各种常用药物后的病人血清, 按上述方法处理, 下列药物对卡马西平的测定无干扰: 苯巴比妥、巴比妥、扑痫酮、苯妥因、丙戊酸、利眠宁、氯丙嗪、安定、庆大霉素、红霉素、四环素、青霉素、氨苄青霉素、氯霉素、先锋 IV、扑热息痛及硝基安定。

六. 样品测定 取口服卡马西平片(每日 2~3 次, 每次 100~200 mg)住院病人 10 小时的血清, 直接点样 1 μl , 外标二点法定量。标准溶液浓度分别选在治疗浓度的上下限, 即 6 $\mu\text{g/ml}$ 和 12 $\mu\text{g/ml}$ 。同一块板上, 标准溶液各点二点, 样品溶液点四点。经测定, 4 名病人血清中卡马西平的浓度分别为 9.06 $\mu\text{g/ml}$, 4.77 $\mu\text{g/ml}$, 8.86 $\mu\text{g/ml}$ 及 2.74 $\mu\text{g/ml}$ 。

讨 论

影响卡马西平荧光强度的主要因素是容器内氯化氢气体的饱和程度。我们的经验是当原点血清斑点转变为蓝紫色时, 效果较好。其次配制标准溶液用的血清应新鲜。配制好的标准溶液, 放置于 -20°C 低温冰箱内, 可使用一个月。卡马西平的治疗浓度范围一般认为在 6~12 $\mu\text{g/ml}$ 。但也有的文献报告血药浓度在 4~12 $\mu\text{g/ml}$ 均有效⁽⁸⁾。本文报告了 4 例服药后 10 小时取血的病人的血药浓度数据, 说明本法可用于常规的卡马西平血药浓度监测。

关键词 卡马西平; 薄层色谱; 血清

致谢 大庆市三院韩毅主任提供病人血清样品。

参 考 文 献

1. Sadee W and Beelen G. *Drug Level Monitoring*. New York: A Wiley Interscience Publication, 1980:162.
2. Schwertner HA, et al. Analysis for carbamazepine in serum by electron-capture gas chromatography. *Clin Chem* 1978; 24:895.
3. Fellenberg AJ and Pollard AC. A rapid and sensitive spectrophotometric procedure for the micro determination of carbamazepine in blood. *Clin Chim Acta* 1976; 69:423.
4. Breyer U. Rapid and accurate determination of the level of carbamazepine in serum by ultraviolet reflectance photometry on thin-layer chromatograms. *J Chromatogr* 1975; 108:370.
5. Shibuya T, et al. Determination of anticonvulsant drug in blood by high performance liquid chromatography. *Yaku Zai Gaku* 1983; 43:68.
6. Farber DB, et al. A Thin-layer chromatographic method for determining carbamazepine in blood. *J Chromatogr* 1974; 93:238.
7. Hundt HK and Clark EC. Thin-layer chromatographic method for determining carbamazepine and two of its metabolites in serum. *Ibid* 1975; 107:149.
8. 刘国杰、陈兰英. 临床药物资料手册. 北京: 人民卫生出版社, 1982:374.

DETERMINATION OF CARBAMAZEPINE IN SERUM BY THIN-LAYER FLUORESCENCE SCANNER

LI Bing-Yang

(Daqing First Hospital, Daqing)

ABSTRACT A sensitive and highly specific TLC method for determining serum level of carbamazepine is presented. Serum ($1\mu\text{l}$) was spotted directly onto the thin-layer plate, separated spots were converted into compounds with fluorescence by exposing the plates to hydrogen chloride gas for 10 min and immediately heating the plates for 10 min at about 160°C . The fluorescence was measured quantitatively using a CS-920 TLC scanner equipped with a fluorescence attachment.

The relation between peak area and concentration of carbamazepine in serum was linear from $4\sim 16\mu\text{g}/\text{ml}$. The lowest concentration of detection was about $2\mu\text{g}/\text{ml}$. The CV was $3.25\sim 10.0\%$. The recovery of carbamazepine in serum was about 99% . The result was not interfered by some commonly administered drug. The method well meet the needs of therapeutic drug level monitoring.

Key words Carbamazepine; TLC; Serum