

· 药物分析 ·

液相色谱-串联质谱法测定片剂中卡马西平的含量

谢 华, 王 荣, 贾正平, 张娟红(兰州军区兰州总医院临床药理基地, 甘肃 兰州 730050)

[摘要] 目的 建立液相色谱-串联质谱(LCMSMS)测定片剂中的卡马西平含量的方法。方法 色谱柱 Zorbax Extend-C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.01 mol/L乙酸胺溶液(80:20 v/v); 流速: 0.3 ml/min。结果 卡马西平浓度在 0.05~40 μg/ml 范围内, 峰面积与浓度线性关系良好, 平均回收率为 100.2%, RSD 为 1.02%。日内精密性、日间精密性的 RSD 分别为 1.72% 和 1.91%。4批样品中卡马西平的含量分别为 96.3%、98.6%、96.5%、99.0%。结论 本方法具有良好的灵敏度、准确度、精确度及专属性, 结果准确, 重现性好, 易于操作, 可用于制剂中卡马西平含量的测定。

[关键词] 卡马西平; 液相色谱串联质谱法; 片剂

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)05-0372-03

Content determination of carbamazepine tablet by liquid chromatographic tandem mass spectrometry

XIE Hua, WANG Rong, JIA Zhengping, ZHANG Juanhong (Base of Clinical Pharmacology, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Command, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective** To develop liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) detection for the content determination of carbamazepine tablet. **Methods** The method was used. The sample was analyzed on Zorbax Extend-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), with mobile phase consisting of methanol/0.01 mol/L acetic acid (80:20 v/v) at a flow rate of 0.3 ml/min. **Results** It was proved to be linear in the range of 0.05~40 μg/ml with a regression coefficient of 0.9994. The average recovery rate was 100.2% (n=5) and RSD was 1.02%. The RSD of average contents of intraday and interday was 1.72% and 1.91% respectively. The concentrations of four lot samples were 96.3%, 98.6%, 96.5% and 99.0%, respectively. **Conclusion** This method is accurate, precise, sensitive and specific to be used in the content determination of carbamazepine tablet.

[Key words] carbamazepine; LC-MS/MS; tablet

癫痫是一种以中枢神经系统功能失常为主要表现的常见综合症。患者需长期服药才能控制病情, 有的则要终生用药。卡马西平片临床上用于治疗精神运动性癫痫, 疗效好。它具有膜稳定作用, 临床上也广泛用于三叉神经痛的治疗。上市剂型主要为片剂, 现已作为预防、治疗癫痫的一线药物。其原料药及其制剂含量测定方法在《中国药典》2005年版^[1]中采用在 285 nm 波长处分光光度法测定含量, 在 285 nm 波长处含量较高的杂质与卡马西平的紫外吸收光谱极其相似, 对卡马西平采用分光光度法测定含量有干扰, 不能真实反映出卡马西平的实际含量; 欧洲药典采用高效液相色谱法测定卡马西平含量和有关物质, 文献报道用 HPLC 法测定卡马西平片含量^[2-6]及血浆中卡马西平的浓度^[7-10], 近年来, 液质联用技术得

到了迅速地发展和相应仪器得到了一定普及应用, 但未见应用 LC-MS/MS 对其含量进行测定文献报道。为了提高用药的安全性和有效性, 需进行药物准确的质量控制。笔者建立了卡马西平片含量测定的 LC-MS/MS 方法, 并对方法进行了验证。考察了分离色谱条件、线性范围等, 结果表明 LC-MS/MS 测定卡马西平片的含量, 该方法干扰少、快速、结果准确, 同时为血药浓度的检测提供了新的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 API 3200 型四极杆串联质谱仪, 配有离子喷雾离子化源以及 Analyst 1.4.2 数据处理软件(美国 Applied Biosystem 公司); 岛津超高速液相(UFLC)色谱系统, 包括 LC-20AD 二元输液泵, DGU-20A3 混合器, SIL-20A 自动进样器, CBM-20A 控制器(日本岛津); AE240 型分析天平(十万分之一, 瑞士, 梅特勒-托利多)。

1.2 试剂 卡马西平对照品(中国药品生物制品

[基金项目] 国家科技部重大项目(2008ZXJ09014-010)。

[作者简介] 谢 华(1972-), 女, 副主任药师。Tel (0931) 8994675
E-mail: xiehua72@163.com。

[通讯作者] 贾正平。Tel (0931) 8994675

检定所,批号: 0142-9503),卡马西平片(市售,批号: H31020443 20060712 20070123 20080812),规格 100 mg/片。甲醇、乙腈为默克公司色谱纯,其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Zorbax Extend-C₁₈柱, 5 μm 粒径, 150 mm × 4.6 mm, 美国 Agilent 公司; 流动相: 甲醇-0.01 mmol/L 乙酸胺溶液 (80 : 20, v/v); 流速: 0.3 ml/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 μl

2.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子化源 (ESI); 离子喷射电压: 4.800 V; 温度: 600 °C; 源内气体 1 (GS₁, N₂) 压力: 70 psi 气体 2 (GS₂, N₂) 压力: 60 psi 空气压缩机压力: 0.4 MPa 正离子方式检测; 扫描方式为正离子监测; DP 电压: 70 V; EP 电压: 10 V; CXP 电压: 3.2 V; 碰撞气 (N₂) 压力: 3 psi 卡马西平的碰撞诱导解离 (CID) 电压为 30V; 用于定量分析的离子反应分别为 m/z 237.2⁺ m/z 194.2⁺

2.3 卡马西平对照品配制 精密称取卡马西平对照品 0.0005 g 置于 5 ml 的容量瓶中加入甲醇至刻度得 100 μg/ml 作为贮备液。

2.4 样品处理 取卡马西平(不同批号) 20 片, 精密称定, 计算平均片重, 研细, 精密称取适量(相当于 1 片量) 置 50 ml 量瓶中, 加乙醇 40 ml 置水浴中加热振摇使卡马西平溶解, 放冷, 用 0.1 mol/l 盐酸稀释至刻度, 摇匀。再用干燥滤纸过滤, 精密量取 1 ml 置 100 ml 量瓶中加入盐酸溶液稀释至刻度摇匀。作供试品进行 LC-MS/MS 分析。

2.5 质谱分析 将卡马西平标准品溶于流动相中, 按“质谱条件”项操作, 相应的二级全扫描质谱图见图 1。

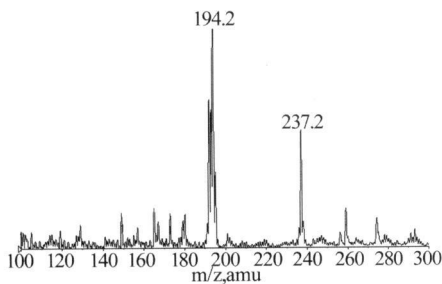


图 1 卡马西平 [M+H]⁺ 的二级全扫描质谱图

2.6 方法的专属性 取流动相进样 10 μl 作空白图谱, 得色谱图 2(A); 取一定浓度的卡马西平对照品溶液, 进样 10 μl 作对照图谱, 得色谱图 2(B), 卡马西平的保留时间分别为 2.97 min 取卡马西平片剂提取物供试样品, 进样 10 μl 作样品图谱, 得色谱图 2(C)。结果表明, 空白中的无内源性物质干扰卡马西平的测定。

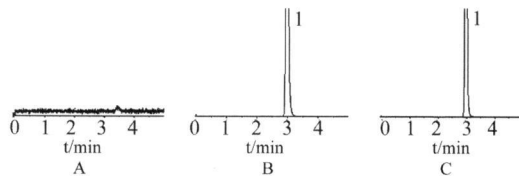


图 2 LC-MS/MS 测定卡马西平的典型色谱图

A-空白样品; B-对照品; C-卡马西平片样品; 1-卡马西平

2.7 标准曲线的制备 取对照品溶液, 用流动相依次稀释使之浓度为 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0 和 40 μg/ml 制备标准曲线。以待测物浓度为横坐标, 待测物的峰面积比值为纵坐标, 进行回归运算, 求得的直线回归方程, 即得标准曲线: $Y = 633X + 4.49 \times 10^5$ ($r = 0.9994$)。线性范围为 0.05~40 μg/ml 定量下限为 5 ng/ml ($SN = 10$)。

2.8 精密度 按“标准曲线的制备”项下操作, 制备卡马西平低、中、高 3 个浓度(分别为 0.1, 5.0, 20.0 μg/ml) 的质量控制 (QC) 样品, 每一浓度进行 5 次分析, 连续测定 3 天, 根据当日的标准曲线, 计算 QC 样品的测得浓度, 根据 QC 样品结果计算本法的准确度与精密度, 结果见表 1。

表 1 LC-MS/MS 测定卡马西平含量的日间精密度与日内精密度 ($n = 5$)

浓度 μg/ml	日内精密度		日间精密度	
	$\bar{x} \pm s$	RSD (%)	$\bar{x} \pm s$	RSD (%)
0.10	0.09 ± 0.40	2.25	0.094 ± 0.18	2.82
5.0	4.98 ± 0.12	1.02	5.01 ± 1.34	1.04
20.0	19.76 ± 2.38	1.89	20.01 ± 2.49	1.87
平均值		1.72%		1.91%

2.9 回收率 按“卡马西平对照品配制”项下操作, 制备低、中、高 3 个浓度(卡马西平分别为 0.1, 5.0, 20.0 μg/ml) 的样品, 每一浓度测定 5 次。同时按“样品处理”项下操作, 向获得的溶液中等体积加入一定浓度的标准溶液, 涡流混合, 进样分析, 获得相应峰面积(5 次测定的平均值)。计算高、中、低 3 个浓度的提取回收率分别为 99.0%, 102.6%, 98.7%, 平均回收率为 100.1%。结果见表 2。

表 2 LC-MS/MS 测定卡马西平胶囊的回收率试验结果 ($n = 5$)

选取样本 (μg/ml)	加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)	RSD (%)
10.0	0.1	10.02	99.2	1.09
10.0	5.0	15.26	101.7	0.97
10.0	20.0	29.88	99.6	0.99
平均			100.2	1.02

(下转第 395 页)

好的引导和辅导,并给他们一定的缓冲空间和准备时间,让他们自发地或被迫地受到专业英语听、说、读、写的训练。

本教研室在药理学双语教学方面作了积极的努力,并取得较好的效果。我教研室的中青年教师均具有博士学位,具有一定的专业英语水平。为提高老师们的双语教学能力,本室有计划地安排老师出国进修,开阔了视野、切实有效地提高了老师们的英语水平。并且我们使用的药理学统编教材体现了双语教材的特色,每个章节均有一段以上英语,便于加强学生专业英语的学习。此外根据学生的英语水平,我们也会适当的调整英文教学的比重。例如对基础较好的医学八年制学生,采用英文幻灯片进行授课,加强该班次的双语教学。

5 结语

当前药理学的双语教学还面临诸多困难,但是英语学习至关重要,双语教学势在必行。药理教学工作应当避免双语教学的一些误区,在保证课程

教学质量的前提下,大力推广药理学的双语教学,采用合理、恰当的教学方式,实现对学生药理学专业英语的训练和提高。

【参考文献】

- [1] 罗勤,杨旭,熊丽,等. 分子生物学双语教学中存在的问题与对策[J]. 高等函授学报(自然科学版), 2010, 23(2): 8
- [2] 黄卓烈,黎春怡. 生物化学的课程特点及双语教学方法的探索[J]. 人力资源管理, 2010, 5: 176.
- [3] 杨宝峰,苏定冯,周宏灏. 药理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009年: 1
- [4] 张燕,吴新炜,张顺兴. 我国高等医学院校医学英语教学现状调查与分析[J]. 中国高等医学教育, 2006, (8) 29.
- [5] 陈时宏. 多种教学方法在药理学教学中的应用实践[J]. 海峡药学, 2010, 22(1): 170.
- [6] 徐添颖,沈甫明,缪朝玉. 把握学科的时代特点,促进药理学教学改革[J]. 药学实践杂志, 2008, 26(6): 470.

[收稿日期] 2010-08-02

[修回日期] 2010-09-07

(上接第 373 页)

2 10 稳定性考察 样品经处理后,室温下放置 12 h测得峰面积不变($RSD < 0.5\%$),说明卡马西平在该方法处理下室温稳定。

2 11 未知样品的测定 按“样品处理”项下操作,每个分析批(1 d内测试的同种样品)制备一条工作曲线,同时制备低、中、高(0.10, 5.00和 20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 3个浓度的质量控制样品,每个浓度的质量控制样品进行双样本分析。根据每一分析批的工作曲线计算质控样品和未知样品的浓度。同时,采用《中国药典》二部 2005版含量测定方法测定,结果见表 3。所建立的 LC-MS/MS 方法和《中国药典》二部 2005版含量测定方法测定结果没有明显差异。

表 3 卡马西平片二种方法含量测定结果的比较 ($n=3$, 标示量%)

样品批号(100mg/片)	LC-MS/MS	药典方法
H31020443	96.3	95.8
20060712	98.6	97.8
20070123	96.5	96.1
20080812	99.0	98.8

3 讨论

所建立的 HPLC-MS/MS 具有很高的专属性、灵敏性、准确性等优点。本法测定卡马西平片的含量的方法,结果准确,符合药典要求,为控制卡马西平片中主药的含量提供了另一准确定量的方法,同

时为监测卡马西平血药浓度提供方法学基础。

【参考文献】

- [1] 中国药典[S]. 二部, 2005: 110.
- [2] 赵玉香,宋一,李莎菁. 高效液相色谱法测定卡马西平片的含量[J]. 中国药事, 2003, 17(12): 762
- [3] 王春华,谢旭一. 高效液相色谱法测定卡马西平片的含量及有关物质[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(6): 484.
- [4] 曹冬冬,李丙英,王守双. 卡马西平片的含量测定方法[J]. 江苏药学与临床研究, 2003, 11(3): 16.
- [5] 付萍萍,景浩然,赵志伟. 高效液相色谱法测定复方卡马西平胶囊中卡马西平的含量[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1151
- [6] 罗卓雅. 卡马西平含量测定方法比较不同溶剂的影响[J]. 广东药学院学报, 1995, 11(2): 114
- [7] 路伟,王大果,蒋大义,等. 高效液相色谱法与荧光偏振免疫法测定 3种抗癫痫药血清浓度的相关性比较[J]. 中国药房, 2006, 17(12): 921
- [8] Ma J Xie JW, Jia ZP, et al. Restricted access media high pressure liquid chromatography vs fluorescence polarization immunoassay for analysis of carbamazepine in human plasma[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2002, 1: 112
- [9] Oh EY, Ban EM, Woo JS, et al. Analysis of carbamazepine and its active metabolite carbamazepine-10, 11-epoxide in human plasma using high-performance liquid chromatography[J]. Anal Bioanal Chem, 2006, 386(6): 1931
- [10] Kelmann RG, Kuminek G, Teixeira HF. Determination of carbamazepine in parenteral nanoemulsions: development and validation of an HPLC method[J]. Chromatographia, 2007, 66: 427

[收稿日期] 2010-02-21

[修回日期] 2010-04-25