DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.05.031

参考文献

1 Havrankova J, Schmechel D, Roth J, *et al*. Identification of insulin in rat brain. Proc Natl Acad Sci USA, 1978, 75(11): 5737

2 Baskin D G, Porte D Jr, Guest K, *et al*. Regional concentrations of insulin in the rat brain. Endocrinology, 1983, 112(3): 898

3 Yalow R S, Eng J. Insulin in the central nervous system. Adv Metab Disord, 1983, 10(8): 341

4 王 琼,陆钟琦.中枢胰岛素的存在、分布及与饮食的关系.中国医学科学院学报, 1994, 16(6): 434

5 Duffy K R, Pardridge W M. Blood-brain barrier transcytosis in developing rabbits. Brain Research, 1987, 420(1): 32

(收稿: 1998-10-30;修回: 1999-03-18)

(编辑 刘 鹏)

高效液相色谱法测定人血浆中紫杉醇浓度

Determination of Taxol in human plasma by HPLC

董 慧* 赵春景 马文秀 代 青 (第三军医大学附属西南医院药剂科)重庆, 400038

肖文华 胡绍毅 (第三军医大学附属西南医院肿瘤科)重庆, 400038

提 要 目的:建立人血浆中紫杉醇的高效液相色谱测定法。方法:血浆中紫杉醇用醋酸乙酯提取后在C_{18}柱上以甲醇-水(65:35, v/v)为流动相,检测波长 227 nm,以峰面积外标法定量。结果:该法萃取回收率为 94.58%,方法回收率为 99.19%;日内、日间 RSD均小于 4% (n = 5),应用本法测定了两例癌症患者静脉输注紫杉醇的经时血药浓度符合二室开放模型。结论:本法操作简便,灵敏度高,专属性强。

紫杉醇(Taxol)是一种具有抗肿瘤活性的天然产物,其化学结构新颖,作用机制独特,它在癌细胞分裂时能与细胞微管蛋白结合,促使细胞中微管稳定和聚合,使细胞有丝分裂受到阻断,从而抑制肿瘤生长,是近年来受到广泛重视的一类新型抗肿瘤药物[1,2]。为了研究紫杉醇在人体内的代谢过程,我们建立了简便灵敏的 HPLC-UV检测法,能定量地分析血浆中紫杉醇的含量。

1 材料与方法

1.1 药品与试药

紫杉醇注射液(商品名:紫素,北京协和药厂,批号:960625);紫杉醇对照品(纯度 > 99%,由四川省凉山洲生物研究所提供);甲醇为色谱纯,醋酸乙酯为分析试剂;超纯水(由 Millipore超纯水器制备)。

1.2 仪器与色谱条件

Waters 810液相色谱仪,包括 510泵,484可变波长紫外检测器, Baseline 810计算机控制及处理系统;μ-Bondapak C_{18}柱(3.9× 150 mm, 10μm);流动相为甲醇-水(65:35, v/v);流速为 1 ml/min;柱温为 30℃± 1℃;检测波长为 227 nm;灵敏度 0.002 AUFS。

1.3 对照品溶液的制备

贮备液:精密称取紫杉醇对照品适量,用甲醇配成浓度为 200 mg/L和 20 mg/L的对照品贮备液,置 4℃保存,两周内稳定。

工作液:临用时精密吸取贮备液,用甲醇稀释成浓度为 0.2~ 30 mg/L的工作液备用。

1.4 血浆样品处理

取 1 ml待测血浆,加醋酸乙酯 4 ml在旋涡混合器上混匀 3 min, 1000× g离心 15 min,分离醋酸乙酯层,同法重复萃取一次,合并醋酸乙酯,于 40℃恒温水浴中,用氮气流吹干,残留物以流动相 200μl溶解,取 20μl进样。

2 结果

2.1 方法学研究

2.1.1 色谱行为 图 1中 a、b、c分别为空白血浆,空白血浆加紫杉醇及患者血浆样品的 HPLC色谱图,血浆中内源性物质对紫杉醇测定无干扰。

2.1.2 血浆标准曲线 取 0.9 ml空白血浆 7份,精确加入紫杉醇工作液各 100μl,配成 0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L的标准浓度,按 1.4项方法处理、测定。以峰面积对浓度进行回归,回归方程为: C = 167406.6965X - 5695.9522, r = 0.9998,最低有效检测浓度为 0.01 mg/L。

2.1.3 回收率实验 萃取回收率:于空白血浆中加入不同量的紫杉醇对照品工作液,配成浓度为 0.05 mg/L和 3.0 mg/L的溶液,经预处理后测定,并与相应量的未经处理的标准品对照测定,按峰面积比计算得平均萃取回收率为 94.58%, RSD为 1.15%。

方法回收率:于空白血浆中加入一定量的紫杉醇对照品工作液,分别配成高、中、低 3个不同浓度的样品,经预处理后测

* 董 慧,女,62岁,主任药师

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

定,所得数据按回归方程计算测得量,其平均回收率(n = 9)为 99.19% ,RSD为 3.56%。

2.1.4 精密度实验 取 0.05、1.0、3.0 mg/L 3种浓度的紫杉醇血样,分别于同一天及连续 5 d提取 5份样品,依法测定,计算日内 RSD分别为 3.95%、1.78%和 2.15%;日间 RSD为 3.24%、1.41%和 2.38%。

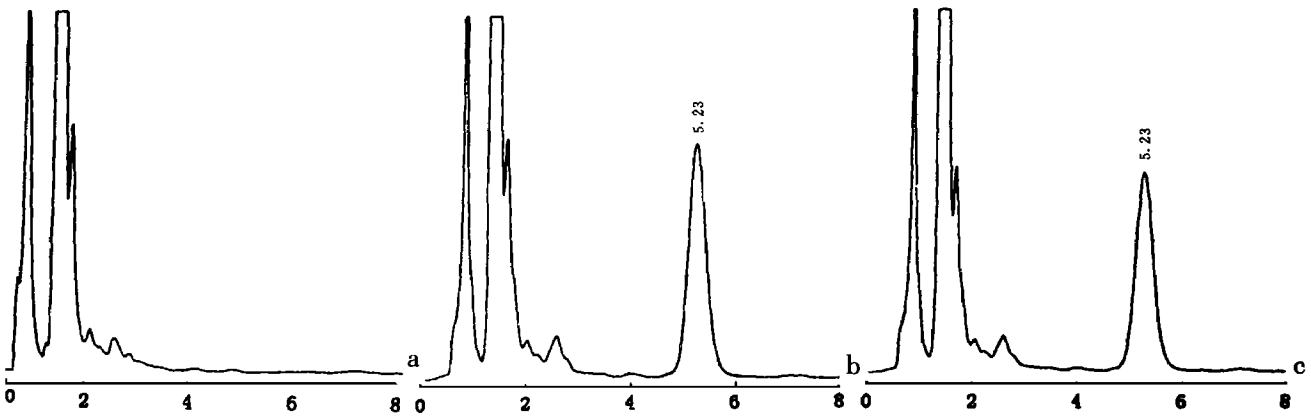


图 1 空白血浆(a),外加紫杉醇标准血浆样品(b)及患者血浆样品(c)的 HPLC色谱图

2.2 临床应用

两名男性癌症患者(恶性淋巴瘤与肺癌各 1例),4周内未接受任何化疗和放疗,均给予紫杉醇注射液 240 mg(分别相当于 132 mg/m^{2}和 134 mg/m^2)于 5%葡萄糖注射液 500 ml中 4 h恒速静脉输注后即刻、5、15、30 min及 1、2、3、6、12、24 h采血测定血药浓度,数据经 3P87药代动力学程序处理分析,表明两例患者的血浆药物浓度经时变化符合二室开放模型。图 2为两例患者平均血药浓度-时间曲线。主要药代动力学参数见表 1。

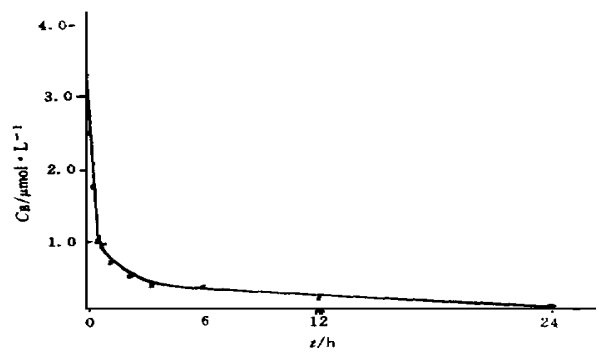


图 2 两例癌症患者静脉输注紫杉醇 240 mg后平均血药浓度-时间曲线

表 1 两例患者静脉输注紫杉醇后主要药代动力学参数

病例	α (h⁻¹)	β (h⁻¹)	t1/2α (h)	t1/2β (h)	Vd (L/m2)	AUC (μmol·h)	Cls [ml·min⁻¹·(m2)⁻¹]
1	4.692	0.088	0.148	7.867	100.66	17.440	147.58
2	2.467	0.081	0.281	8.581	102.27	18.956	138.05

3 讨论

考虑到癌症患者临床用药复杂,因而选择了可能同时应用的地塞米松、胃复安、恩丹西酮、苯海拉明、西米替丁、能量合剂、维生素 B$_6$等 8种药物,在相同色谱条件下进样,均不干扰紫杉醇的测定。

紫杉醇的血药浓度受到静脉给药方案的影响,而且个体差异较大。从本组两例患者输注紫杉醇的初步检测结果可见,紫杉醇在输注过程中,血药浓度逐渐增加,输注一旦停止,血药浓度即开始下降,24 h时的浓度(0.06 μmol/L),仍在体外能引起微管变化,细胞毒性所需浓度(0.01~0.1 μmol/L)的范围之内。体内血药浓度衰减过程为双相性;分布容积较大,表明药物与血浆蛋白及组织成分,尤其是微管蛋白等广泛结合。两例患者的药动学参数均与文献[3]报道采用相同剂量所得参数的范围接近。

关键词 紫杉醇;高效液相色谱法;血药浓度

中图法分类号 R446.1; R979.5

参考文献

1 Manfredi J J, Horwitz S B. Taxol: An antimitotic agent with a new mechanism of action. Pharmacol Ther, 1984, 25(1): 83

2 Liebmann J, Cook J A, Lipschuitz C, *et al*. The influence of cremophor EL on the cell cycle effects of paclitaxel. (Taxol) in human tumor cell lines. Cancer Chemother Pharmacol, 1994, 33(4): 331

3 Longnecker S M, Donehower R C, Cates A E, *et al*. High-performance liquid chromatographic assay for taxol in human plasma and urine and pharmacokinetics in a phase I trial. Cancer Treat Rep, 1987, 71(1): 53

(收稿: 1998-03-18;修回: 1998-06-08)

(编辑 仇玉福)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net