

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)10-0052-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.10.011



紫杉醇和顺铂血药浓度监测方法的建立*

徐欣然¹, 王儒雅¹, 刘思雨¹, 耿志鹏¹, 赵双运¹, 祁欣欣¹, 孙雨璇¹, 陈 纭^{2Δ}

(1. 安徽医科大学药学科学学院, 安徽 合肥 230032; 2. 炎症免疫性疾病安徽省实验室, 安徽 合肥 230032)
摘要:目的 建立同时测定紫杉醇(PTX)和顺铂(DDP)血药浓度的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 ODS-B C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(70:30, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μL, 检测波长 228 nm (PTX) 和 254 nm (DDP)。结果 PTX 和 DDP 衍生物 [Pt-二乙基二硫代氨基甲酸钠 (DDTC)₂] 的保留时间分别为 8.84 min 和 12.5 min; 质量浓度分别在 1.0~5.0 μg/mL 和 2.0~16.0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 日内和日间精密度的 RSD 均 < 10%; 稳定性试验结果显示室温避光条件下质量浓度波动范围为 10%~12%; 冷冻条件下质量浓度波动范围为 2%~4%; 回收率分别为 98.6%~99.4%, 97.6%~98.4% (RSD 均 < 3%)。结论 所建方法简便、准确、灵敏, 结果可靠, 可用于人血浆中 PTX 和 DDP 血药浓度的监测。

关键词: 紫杉醇; 顺铂; 高效液相色谱法; 血药浓度

Establishment of Blood Drug Concentration Monitoring Method of Paclitaxel and Cisplatin

XU Xinran¹, WANG Ruyi¹, LIU Siyu¹, GENG Zhipeng¹, ZHAO Shuangyun¹, QI Xinxin¹, SUN Yuxuan¹, CHEN Yun^{2Δ}

(1. School of Pharmacy Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China; 2. Inflammation and Immune Mediated Diseases Laboratory of Anhui Province, Hefei, Anhui 230032, China)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of paclitaxel (PTX) and cisplatin (DDP) blood drug concentrations. **Methods** The chromatographic column was an ODS-B C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (70:30, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30 °C, the injection volume was 10 μL, and the detection wavelengths were 228 nm (PTX) and 254 nm (DDP). **Results** The retention times of PTX and DDP derivative [Pt-diethyldithiocarbamate (DDTC)₂] were 8.84 min and 12.5 min, respectively; the linear ranges were 1.0 - 5.0 μg/mL and 2.0 - 16.0 μg/mL, respectively; the RSDs of intra-day and inter-day precision were both lower than 10%; the stability test results showed that under room temperature and light-protected conditions, the mass concentration fluctuation range was 10% - 12%; under frozen conditions, the mass concentration fluctuation range was 2% - 4%; the recoveries were 98.6% - 99.4% and 97.6% - 98.4%, respectively (RSDs lower than 3%).

* 基金项目: 安徽医科大学药学创新基金科研项目[YXCX202201]。

第一作者: 徐欣然, 男, 在读大学本科, 研究方向为药物分析, (电子信箱)2054888970@qq.com。

Δ通信作者: 陈纭, 男, 硕士研究生, 讲师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)2004500026@ahmu.edu.cn。

- [8] LI Y, NING YS, WANG YD, et al. Production of mouse monoclonal antibodies against *Helicobacter pylori* Lpp20 and mapping the antigenic epitope by phage display library [J]. J Immunol Methods, 2007, 325(1-2): 1-8.
- [9] DAVITT CJH, LAVELLE EC. Delivery strategies to enhance oral vaccination against enteric infections [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 91: 52-69.
- [10] LYCKE N. Recent progress in mucosal vaccine development: potential and limitations [J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(8): 592-605.
- [11] SUTTON P. *Helicobacter pylori* vaccines and mechanisms of effective immunity: is mucus the key? [J]. Immunol Cell Biol, 2001, 79(1): 67-73.
- [12] MAHER S, MRSNY RJ, BRAYDEN DJ. Intestinal permeation enhancers for oral peptide delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2016, 106(Pt B): 277-319.
- [13] HASANZADEH HAGHIGHI F, MENBARI S, MOHAMMAD-ZADEH R, et al. Developing a potent vaccine against *Helicobacter pylori*: critical considerations and challenges [J]. Expert Rev Mol Med, 2024, 27: e12.
- [14] YUNLE K, TONG W, JIYANG L, et al. Advances in *Helicobacter pylori* vaccine research: From candidate antigens to adjuvants - A review [J]. Helicobacter, 2024, 29(1): e13034.
- [15] TWAROG C, FATTAH S, HEADE J, et al. Intestinal Permeation Enhancers for Oral Delivery of Macromolecules: A Comparison between Salcaprozate Sodium (SNAC) and Sodium Caprate (C₁₀) [J]. Pharmaceutics, 2019, 11(2): 78.
- [16] PAVLIDIS P, POWELL N, VINCENT RP, et al. Systematic review: bile acids and intestinal inflammation - luminal aggressors or regulators of mucosal defence? [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2015, 42(7): 802-817.

(收稿日期: 2025-06-12; 修回日期: 2025-12-20)

Conclusion The established method is simple, accurate, sensitive, and reliable, which can be used for monitoring the blood drug concentrations of PTX and DDP in human plasma.

Key words: paclitaxel; cisplatin; HPLC; blood drug concentration

恶性肿瘤严重威胁人类健康,目前的治疗方法主要包括药物治疗、外科手术和放射治疗,以及内分泌治疗和中医中药治疗。临床联合用药方案日益普遍,其中顺铂(DDP)联合紫杉醇(PTX)已成为多种恶性肿瘤的有效治疗手段。PTX可通过促进微管蛋白聚合,抑制其解聚,维持微管蛋白稳定,从而抑制细胞有丝分裂,使细胞停滞于G2期和M期,对乳腺癌^[1]、卵巢癌^[2]、胃癌^[3]等多种恶性肿瘤有良好疗效。DDP属广谱抗肿瘤化学治疗(简称化疗)药物,其通过铂离子与DNA单链内的两个位点或双链发生交叉联结,抑制肿瘤细胞DNA复制过程,诱导细胞凋亡;同时在细胞外或细胞核中与血清白蛋白或谷胱甘肽结合而失活,用于卵巢癌、乳腺癌、肝癌^[4]、非鳞非小细胞肺癌^[5]等多种恶性肿瘤的治疗,且其疗效和毒性与其药物代谢动力学特征密切相关^[6]。PTX属新型抗微管药物,可抑制骨髓造血功能,严重时可导致白细胞和血小板减少,进而引发重症感染,为减轻其毒副作用,改善患者生存质量,临床已将其与白蛋白结合使用^[7-9];DDP主要药品不良反应为胃肠道反应及可能的肾功能损伤^[10-12]。目前,涉及两者联合应用的分析较少。基于此,本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定血浆中PTX和DDP的质量浓度,用于临床血药浓度监测及治疗评价,为临床合理用药提供依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20A型四元低压梯度液相色谱仪(配紫外检测器)、LC-20A型二元高压梯度液相色谱仪(配二极管阵列检测器)、UV1800型紫外分光光度计,均购自日本Shimadzu公司;SECURA225D-1CN型电子天平(精度为0.01 mg),BT25S型电子天平(精度为0.1 mg),均购自德国Sartorius公司;1700714S型超纯水系统(颇尔过滤器<北京>有限公司);1805283S型小型冷冻离心机(合肥科尚仪器设备有限公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

PTX对照品(批号为J04S11H123510,含量98%),DDP对照品(批号为O27HB199234,含量98%),均购自上海源叶生物科技有限公司;二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDTC,上海麦克林生化科技股份有限公司,批号为C15937254);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为实验室自制(电阻率为18.2 MΩ·cm)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:ODS-B C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(70:30, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:228 nm(紫杉醇),254 nm(顺铂);柱温:30 °C;进样量:10 μL。

2.2 溶液制备

取PTX对照品5 mg,精密称定,置50 mL棕色容量瓶中,加甲醇超声(频率40 kHz,功率500 W,下同)处理30 min,加甲醇定容,即得质量浓度为100 μg/mL的PTX对照品贮备液;精密吸取5 mL,置50 mL棕色容量瓶中,加甲醇定容,即得质量浓度为10 μg/mL的PTX对照品溶液。取DDP对照品1 mg,精密称定,置50 mL棕色容量瓶中,加甲醇超声处理30 min,加甲醇定容,即得质量浓度为20 μg/mL的DDP对照品溶液。以甲醇作为阴性对照品溶液。取DDTC 20 mg,精密称定,置烧杯中,加0.1 mol/L氢氧化钠溶液50 mL溶解,即得0.04% DDTC溶液(衍生溶液)。

2.3 样品前处理

精密吸取血浆样品200 μL,置2 mL离心管中,加0.5%碳酸钠溶液200 μL,再加0.04% DDTC溶液100 μL,混匀,置37 °C水浴中保温30 min;加甲醇适量,吸取有机相,置2 mL离心管中,在氮气流下吹干,残渣加流动相100 μL溶解,12 000 r/min离心10 min,取上清液,即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

专属性试验:取DDP对照品溶液适量,按2.3项下方法前处理,制备DDP衍生物(Pt-DDTC₂,结构见图1)对照品溶液。取PTX对照品溶液、阴性对照品溶液、0.04% DDTC溶液和空白血浆、供试品溶液各适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果PTX和Pt-DDTC₂的保留时间分别为8.84 min和12.5 min,与血浆内源性杂质分离良好,分离度均>1.5。详见图2。

线性关系考察:精密吸取空白血浆100 μL,共5份,分别置2 mL离心管中,分别加入PTX对照品溶液和Pt-DDTC₂对照品溶液(下同)各适量,按2.3项下方法前处

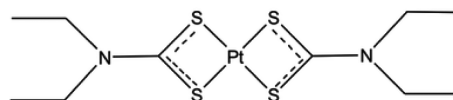


图1 Pt-DDTC₂分子结构式

Fig. 1 Molecular structure of Pt-DDTC₂

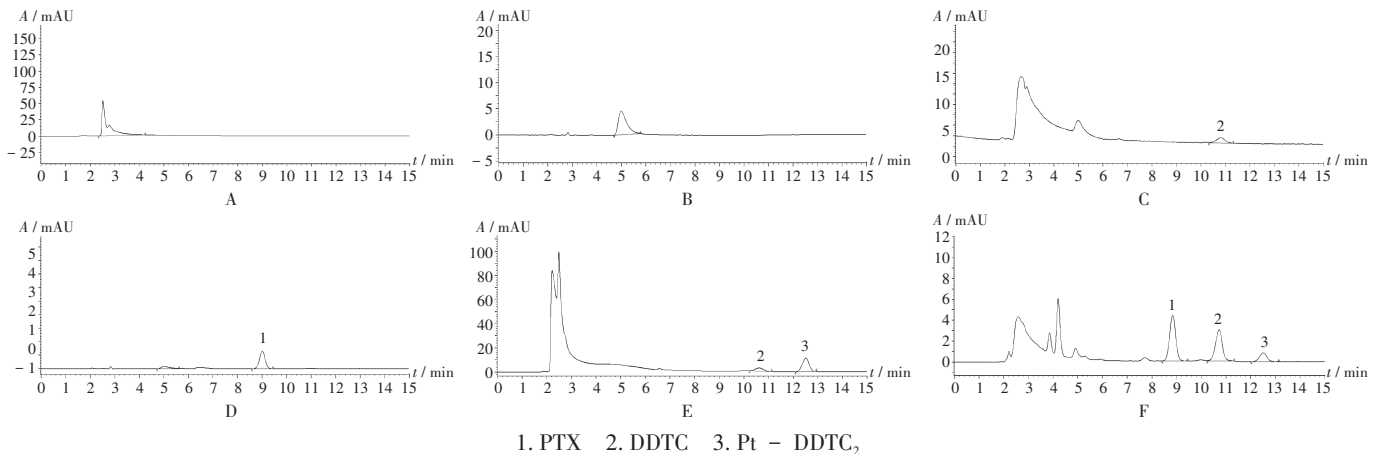


图2 高效液相色谱图

1. PTX 2. DDTC 3. Pt - DDTC₂
A. 空白血浆 B. 阴性对照品溶液 C. 0.04% DDTC 溶液 D. PTX 对照品溶液 E. Pt - DDTC₂ 对照品溶液 F. 供试品溶液
A. Blank plasma B. Negative reference solution C. 0.04% DDTC solution D. PTX reference solution E. Pt - DDTC₂ reference solution
F. Test solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

理制成系列对照品溶液,PTX 质量浓度依次为 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Pt - DDTC₂ 质量浓度依次为 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。取适量,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积以峰面积为纵坐标(Y)、待测成分质量浓度为横坐标(X, $\mu\text{g}/\text{mL}$)进行线性回归。PTX 和 Pt - DDTC₂ 回归方程分别为 $Y_1 = 19\,000 X_1 + 5\,071.1$ ($r = 0.999\,6$) 和 $Y_2 = 5\,465.8 X_2 + 6\,185.6$ ($r = 0.999\,5$)。结果表明,PTX 和 Pt - DDTC₂ 质量浓度分别在 1.0 ~ 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 ~ 1.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好。

精密密度试验:精密吸取空白血浆适量,分别加入 PTX 对照品溶液和 Pt - DDTC₂ 对照品溶液各适量,制备 PTX 质量浓度分别为 1.5, 3.0, 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血浆样品溶液,以及 Pt - DDTC₂ 质量浓度分别为 2.0, 4.0, 6.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血浆样品溶液,各 6 份,按 2.3 项下方法前处理,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算日内精密密度。在不同时间连续测定 3 批血浆样品 3 d,计算日间精密密度。结果见表 1。

稳定性试验:结果见表 2。取精密密度试验项下低、

表 1 精密度和回收试验结果 ($n = 6$)

Tab. 1 Results of the precision and recovery tests ($n = 6$)

待测成分	质控质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD (%)		回收率 (%)	
		日内	日间	数值	RSD
PTX	1.47	5.33	6.26	99.33	2.62
	2.95	8.57	6.29	98.67	1.13
	4.95	4.58	8.63	98.60	1.65
Pt - DDTC ₂	1.96	7.03	6.81	97.50	1.84
	3.95	9.20	7.38	98.25	0.39
	5.90	4.74	5.22	98.50	1.39

中、高质量浓度血浆样品溶液各适量,各 3 份,按 2.3 项下方法前处理,光照与室温避光条件下放置 12, 24, 36 h 时和冷冻条件下放置 1, 4, 7 d 时,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品质量浓度。结果光照条件下血浆样品中药物分解较多,质量浓度变化较大;室温避光条件下质量浓度波动范围为 10% ~ 12%;冷冻条件下质量浓度波动范围为 2% ~ 4%,表明两种药物混合的血浆样品若需长时间使用需冷冻保存,短期

表 2 稳定性试验结果 ($n = 3$)

Tab. 2 Results of the stability test ($n = 3$)

待测成分	放置前质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	放置后质量浓度 [$\mu\text{g}/\text{mL}$, RSD (%)]								
		室温光照			室温避光			冷冻		
		12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h	1 d	4 d	7 d
PTX	1.50	1.23(3.38)	1.19(5.90)	1.16(5.72)	1.35(2.06)	1.33(1.20)	1.32(1.11)	1.46(1.73)	1.44(2.79)	1.42(2.73)
	3.00	2.61(2.69)	2.54(5.71)	2.42(6.21)	2.68(4.42)	2.67(5.49)	2.65(4.68)	2.91(1.38)	2.90(2.30)	2.88(2.41)
	5.00	4.21(2.82)	4.14(5.64)	4.05(4.23)	4.49(3.98)	4.46(3.88)	4.42(3.38)	4.88(0.52)	4.85(1.88)	4.83(0.96)
Pt - DDTC ₂	2.00	1.69(1.15)	1.66(2.79)	1.63(4.18)	1.80(4.92)	1.78(2.79)	1.76(7.52)	1.96(2.42)	1.94(2.44)	1.93(2.91)
	4.00	3.36(2.78)	3.31(2.50)	3.25(2.67)	3.59(1.32)	3.57(0.98)	3.54(1.67)	3.90(1.58)	3.87(2.94)	3.84(4.34)
	6.00	5.04(3.14)	4.97(4.48)	4.89(3.11)	5.38(1.53)	5.34(2.63)	5.29(2.36)	5.86(1.26)	5.83(1.58)	5.78(2.28)

使用室温避光与冷冻保存均可。

回收试验:取精密度试验项下低、中、高质量浓度血浆样品各适量,各3份,按2.3项下方法前处理,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,结果见表1。

基质效应考察:取空白血浆适量,加甲醇制成系列质量浓度的空白血浆样品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样测定3d,记录峰面积;另取精密度试验项下低、中、高质量浓度血浆样品各适量,各3份,按2.3项下方法前处理,按2.1项下色谱条件连续进样测定3d,记录峰面积,并计算测定方法的日内和日间精密度。结果,低、中、高质量浓度血浆样品的RSD均小于6.2%。结果见表3。

表3 基质效应考察结果($n = 5$)

Tab. 3 Results of the matrix effect evaluation ($n = 5$)

待测成分	理论值 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	实测值 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	RSD(%)	
			日内	日间
PTX	1.50	1.46	5.24	6.03
	3.00	2.94	4.03	5.52
	5.00	4.90	2.98	6.17
Pt - DDTC ₂	2.00	1.93	4.42	5.71
	4.00	3.94	2.76	4.39
	6.00	5.89	2.11	5.03

3 讨论

3.1 检测波长与流动相考察

通过查阅文献和采用紫外可见分光光度计进行全波长(200~800 nm)扫描,结果显示PTX在228 nm波长处具有最大吸收;Pt - DDTC₂在254 nm波长处具有最大吸收,故选择双波长检测。考察以甲醇-水(60:40, V/V)、甲醇-水(70:30, V/V)、甲醇-水(80:20, V/V)、甲醇-0.1%乙腈(70:30, V/V)、甲醇-1.0%乙腈(70:30, V/V)为流动相时,待测成分出峰情况。结果显示,以甲醇-水(70:30, V/V)为流动相时待测成分峰与杂质峰分离效果最好,峰形良好,保留时间适中,与对照品结果最相近,且成本较低,更适合在临床药物监测中推广。

3.2 提取溶液考察

预试验中考察了甲醇、乙醚、乙腈不同溶剂对峰面积的影响。结果以甲醇为溶剂时,PTX和Pt - DDTC₂的峰形最佳,与空白杂峰分离度良好,操作便捷,结果准确。采用乙醚提取衍生物Pt - DDTC₂,虽提取效果好、操作简便,但用量有限,提取率达一定值后无法继续提高;采用乙腈沉淀蛋白提取样品,虽配制简单,但乙腈价格较高,且流动相对比实验表明其对供试品出峰无显著改善。而甲醇作为提取溶剂,对Pt - DDTC₂的提取率优于乙醚,且价格低廉、易得;同时能使PTX和Pt - DDTC₂的提取液与流动相均匀混合,故选择。

3.3 样品前处理考察

针对顺铂紫外吸收很低的特性,以及DDTC具有较强的络合重金属的能力^[14-15],为提高HPLC检测结果的灵敏度,故在制备供试品前需将DDP与DDTC进行衍生化反应,生成了于254 nm波长处有强吸收的衍生物Pt - DDTC₂^[16]。精密称取DDTC 5, 10, 20, 30, 50 mg,按2.2项下方法制备不同浓度的DDTC溶液,各质量浓度精密吸取适量于2 mL离心管中,平行试验3次共15份,分别加入等量DDP溶液,混匀静置,按2.1项下色谱条件进样测定。结果,DDTC 20 mg时峰形大小适中且与供试品峰之间互不影响($R > 1.5$),若DDTC质量浓度较小不能与DDP顺利产生衍生物导致无峰出现,若较大则使峰形较大且影响供试品峰形,甚至覆盖所需供试品峰,二者均影响检测结果,故选择20 mg DDTC用于后续试验。

3.4 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、快速、灵敏有效,适用于临床上同时检测紫杉醇和顺铂血药浓度及开展相关的药物相互作用的研究,为临床监测提供依据,有助于指导临床合理用药。

参考文献

- [1] 高福丽. HPLC法同时测定人血浆中紫杉醇、多西他赛及环磷酰胺的浓度[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 29(2): 125 - 128.
- [2] 盛亚军, 单雪, 赵相军, 等. 不同剂型紫杉醇联合卡铂对卵巢癌患者疗效分析[J]. 中国医药科学, 2023, 13(24): 82 - 86.
- [3] 赵凯, 李尚日. 紫杉醇联合替吉奥化疗方案治疗进展期胃癌的临床效果[J]. 临床合理用药, 2024, 17(4): 76 - 79.
- [4] HAMAYA S, OURA S, MORISHITA A, et al. Cisplatin in Liver Cancer Therapy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 10858.
- [5] 任闽山, 杨庆美. 贝伐单抗联合顺铂治疗非鳞非小细胞肺癌的效果研究[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2023, 29(12): 2131 - 2133.
- [6] 兰文斌, 黄上萌, 刘群. 信迪利单抗联合白蛋白紫杉醇和顺铂治疗无驱动基因突变的晚期非小细胞肺癌的临床疗效及其对细胞生长因子和肿瘤标志物的影响[J]. 临床合理用药, 2022, 15(24): 70 - 72.
- [7] 毕金玲, 刘海渊, 丁露, 等. 白蛋白结合型紫杉醇联合卡铂和贝伐单抗作为非小细胞肺癌一线方案的疗效和安全性研究[J]. 中国临床保健杂志, 2016, 19(6): 618 - 621.
- [8] 刘伟辉, 周益臣, 杨倩, 等. 白蛋白结合型紫杉醇联合卡铂化疗对中晚期非小细胞肺癌患者免疫功能及预后的影响[J]. 临床合理用药, 2023, 16(12): 69 - 71.
- [9] 郭仁芬, 柴芳, 邢孔浪, 等. 贝伐单抗联合紫杉醇和铂类化疗治疗晚期宫颈癌效果[J]. 中国计划生育学杂志, 2024, 32(3): 568 - 572.
- [10] 刘莉莉, 徐晨, 刘晓庆, 等. 顺铂脂质体的制备及其体内外评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2024, 41(2): 195 - 200.
- [11] ZOU JY. Site - specific delivery of cisplatin and paclitaxel