

石墨炉原子吸收分光光度法测定大鼠血浆和尿液中的赛特铂

颜冬梅¹, 马张英², 屠凌岚¹, 彭小英¹, 李文钧¹ (1. 浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310016)

摘要:目的 建立大鼠血浆和尿液中赛特铂含量测定的无火焰石墨炉原子吸收分光光度法。方法 采用岛津 AA-670 原子吸收分光光度仪及 GFA-4A 石墨炉, 上海电光 KY-1 铂空心阴极灯, 检测波长 265.9 nm, 测定大鼠血浆和尿液中的赛特铂含量。血尿样品用 Triton X-100 稀释, 进样 50 μL 。结果 在浓度范围 0.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ~ 10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内, 样品峰面积与浓度呈良好线性关系, 相关系数 r^2 分别为血浆 0.9952, 尿液 0.9878; 加样回收率为血浆 89% ~ 112%, 尿液 82% ~ 100%。结论 方法简便可靠, 适于生物样本中的赛特铂含量测定和动物药动力学研究。

关键词: 赛特铂; 大鼠; 血浆; 尿; 原子吸收分光光度法; 铂抗癌药

中图分类号: R969.11

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2006)08-0731-03

The determination of satraplatin in rat plasma and urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry

YAN Dong-mei¹, MA Zhang-ying², TU Ling-lan¹, PENG Xiao-ying¹, LI Wen-jun¹ (1. *Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China*; 2. *Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University Medical College, Hangzhou 310016, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a rapid, accurate and sensitive method for the measurements of satraplatin in biological fluids of rats. **METHODS** Satraplatin in plasma and urine was analyzed by flameless atomic absorption spectrometry on an instrument

Shimadzu AA-670 atomic absorption spectrophotometer equipped with a Shimadzu GFA-4A graphite furnace, and an ASC-60 autosampler. The detection wavelength was set at 265.9 nm. Plasma and urine samples were diluted with Triton X-100 before assays, fifty microliters of solution after preparation was injected to the system. **RESULTS** The linear ranges of satraplatin in plasma or urine were $0.25\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The correlation coefficient r^2 was 0.9952 and 0.9878, and the regression equation were $A = 0.2118C - 0.0548$ and $A = 0.1556C - 0.0042$ for plasma and urine, respectively. The average recoveries were 89% ~ 112% in plasma and 82% ~ 100% in urine, respectively. The RSD values of inter-day and intra-day assays were lower than 8.9% and 6.4% respectively. **CONCLUSION** This method is suitable for the preclinical pharmacokinetic studies of satraplatin in rats. **KEY WORDS:** satraplatin; rats; plasma; urine; atomic absorption spectrometry; oral platinum anticancer drug

赛特铂 (satraplatin, JM216), 化学名顺-二氯-反-二乙酸-顺-氨-环己胺合铂(IV), 为一种新型的口服铂类抗肿瘤化疗药物, 目前国外正在进行临床 III 期试验, 国内正在进行临床 I 期试验。口服给药可以避免或减少住院治疗, 从而降低化疗成本, 提高患者生活质量。赛特铂还对某些耐常用铂类抗肿瘤药顺铂、卡铂和奥沙利铂的肿瘤细胞有效, 而且毒性较低, 因而可望成为含铂抗癌化疗方案中的新的一员^[14]。有关铂类抗肿瘤药在药物制剂和生物体内的特异性测定已有许多报道, 例如高效液相测定^[5-6]或液质联用测定^[7]。但对大多铂衍生物尤其是顺铂卡铂的体内铂含量测定, 最常用的定量方法是石墨炉原子吸收分光光度法^[8-9]。

笔者介绍体内塞特铂石墨炉原子吸收分光光度测定法的建立。此法可准确、灵敏地测定体内的药物含量, 已用于大鼠的临床前药动学研究^[10]。

1 材料和方法

1.1 试剂和药物

所有试剂和溶剂均为分析纯, 试验溶液用双蒸水配制。赛特铂对照品由昆明贵金属研究所提供, 批号 990 308, 铂含量 38.78% (w/w)。

1.2 仪器

岛津 AA-670 型原子吸收分光光度计配 GFA-4A 型石墨炉, ASC-60G 型自动进样器及岛津热解涂层石墨管。KY-1 铂空心阴极灯, 上海电光公司产品, 操作电流 18 mA, 光谱通带 0.7 nm, 波长 265.9 nm。保护气体为氩气, 原子化气流 $30\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 氘灯扣除背景。

1.3 分析条件

采用斜坡升温以消除生物样品的基质干扰。干燥温度为干燥 I 100℃, 斜坡升温 10s, 保持时间 20s; 干燥 II 140℃, 斜坡升温 5s, 保持时间 60s。炭化温度 I 为 600℃, 斜坡升温 20s, 保持时间 10s; 炭化 II 为 1300℃, 斜坡升温 15s, 保持时间 10s。原子化温度 2700℃, 斜坡升温 1s, 保持时间 6s。清洗温度 2700℃, 斜坡升温 1s, 保持时间 4s。

1.4 动物

SD 大鼠, 体重 220 ~ 270 g, 雌雄兼用, 浙江省实验动物中心提供。实验大鼠喂以标准饲料, 自由饮水。收集尿液时大鼠放入不锈钢代谢笼中。口服给药前大鼠禁食过夜。

1.5 标准溶液

标准溶液分别用空白大鼠混合尿及血浆制备, 塞特铂浓度范围 $0.25\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 10.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。质控样品类似制备。

所有样品于 EP 管中 -20℃ 保存备用。每 4h 做 1 次校正曲线及质控试验。

1.6 样品处理

血液样品用肝素钠抗凝, 3500 r/min, 4℃ 离心 10 min 后分离血浆。尿液收集 7d。血浆及尿液于 EP 管中在 -20℃ 下保存备用。

样品测定前血浆及尿液均加入 10% Triton-100 以消除基质干扰, 减少干燥变异及炭化和原子化时的铂丢失。仪器每 4h 用 $1.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 血浆校正液自动校正 1 次。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线

血浆的标准曲线为 $A = 0.2118C - 0.0548$, 尿液的标准曲线为 $A = 0.1556C - 0.0042$ ($n = 5$), 相关系数分别为 0.9952 和 0.9878, 线性关系良好。

2.2 精密度和准确度

生物样品测定过程中, 隔 4h 做 1 次对照样品, 对照样品 3 个浓度, 每个浓度重复 2 次。批内或批间的对照样品测定精密度以相对变异系数 RSD 表示, 准确度以标准差 SD 表示。结果表明, 加样回收率为血浆 89% ~ 112%, 尿液 82% ~ 100%, 相对变异系数小于 8.9%, 详见表 1。

表 1 血浆和尿中赛特铂的测定准确性和精密度

Tab 1 Precision and accuracy of the assay of platinum in plasma and urine samples

体液	加入浓度 mg · L ⁻¹	回收率 (%)	准确性 (RSD, %)	精密度 (SD, %)
血浆	批内			
	0.25	91.92	8.94	8.22
	1.0	99.99	7.64	7.64
	10.0	89.16	1.29	1.15
	批间			
	0.25	112.20	3.02	3.39
尿	1.0	102.62	4.44	4.56
	10.0	106.05	2.11	2.37
	批内			
	0.25	91.92	4.47	2.83
	1.0	99.99	7.53	6.39
	10.0	89.16	3.80	2.79
	批间			
	0.25	82.40	1.39	1.28
	1.0	92.76	5.67	5.26
	10.0	88.77	6.39	5.68

2.3 稳定性

尿液和血浆的塞特铂贮备样品(分别为 $0.50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)各取二份,一份于室温放置 8h,另一份冷冻后室温放置 2h 自然溶解,反复冻融 2 次。二份样品的铂含量均没有明显改变,相对变异系数小于 6.5%。

2.4 分析方法的应用

本法已用于塞特铂的大鼠药动学测定。20 只大鼠口服塞特铂后,于不同时间取血测定血铂浓度。第一天的取血时间为 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 和 24h, 然后为 2, 3, 5 和 7d。口服剂量为 $25\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 血浆校正液药浓度-时间曲线均符合二室开放模型, 其药动学细节已另文描述^[10]。

给药后于不同时间取尿,共收集 7d。记录尿液体积后,取部分尿液冷冻保存待测。排泄结果表明,尿铂排泄基本于 24h 内完成,7d 内排出约 6% (图 1)。

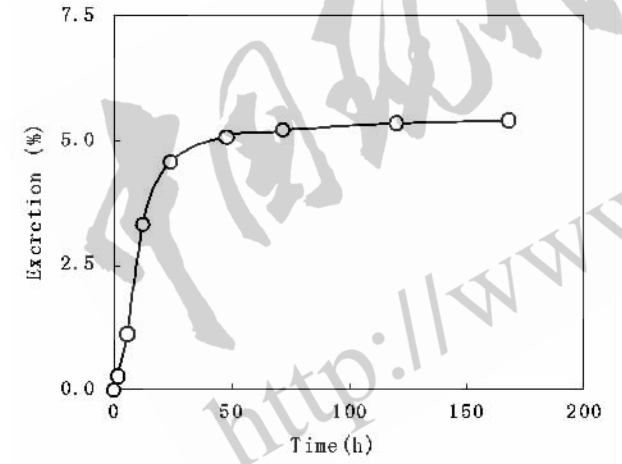


图1 大鼠口服 $50\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 赛特铂后的尿道排泄
Fig 1 Percentage excretion in rats urine of satraplatin after oral dosing of $50\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

参考文献

[1] 李文钧, 马张英. 口服铂类抗癌新药赛特铂[J]. 中国现代应用药学, 2004, 21(7): 25.

[2] Kelland LR. An update on satraplatin: the first orally available platinum anticancer drug [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2000, 9(6): 1373.

[3] 李文钧, 彭小英, 郑永兴, 等. 赛特铂抗肿瘤作用的临床前观察[J]. 中国新药杂志, 2003, 12(8): 643.

[4] McKEAGE MJ, KELLAND LR, BOXALL FE, et al. Schedule dependency of orally administered bis- acetato- ammine- dichloro- cyclohexylamine- platinum (IV) (JM216) in vivo [J]. Cancer Res, 1994, 54(15): 4118.

[5] Hanada K, Nagai N, Ogata H. Quantitative determination of unchanged cisplatin in rat kidney and liver by high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr B Biomed Appl, 1995, 663(1): 181.

[6] 马张英, 李文钧, 裘飞君, 等. 高效液相色谱法测定卡铂粉针和水针剂的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(4): 247.

[7] Townsend DM, Marto JA, Deng M, et al. High pressure liquid chromatography and mass spectrometry characterization of the nephrotoxic biotransformation products of Cisplatin [J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31(6): 705.

[8] McGahan MC and Tyczkowska K. The determination of platinum in biological materials by electrochemical atomic absorption spectroscopy [J]. Spectrochimica Acta, 1987, 42B(4): 665.

[9] 李文钧, 郑永兴, 李延福等. 石墨炉原子吸收法测定体内顺铂[J]. 药物分析杂志, 1989, 9(2): 82.

[10] 李文钧, 彭小英, 马张英等. 口服抗肿瘤药赛特铂在大鼠的药动学[J]. 中国新药与临床杂志, 2004, 23(8): 528.