

大剂量甲氨蝶呤在急性淋巴细胞白血病患者体内的药动学研究

张善堂^a, 屈建^a, 杨林海^b, 唐丽琴^a, 王宁玲^b (安徽医科大学附属省立医院, 安徽省立医院, ^a药剂科, ^b儿科, 合肥 230001)

摘要:目的 研究急性淋巴细胞白血病 (ALL) 患儿接受大剂量甲氨蝶呤 (HDMTX) 静脉滴注联合甲酰四氢叶酸钙解救方案治疗时甲氨蝶呤的药动学。方法 采用高效液相色谱法测定 16 例 ALL 患儿使用甲氨蝶呤后不同时间点血清药物浓度, 所得血药浓度-时间数据经 DAS 软件拟合, 优化药动学房室模型, 计算其药动学参数。结果 大剂量甲氨蝶呤在急性淋巴细胞白血病患者体内的经时过程符合二房室模型, 主要药动学参数分别为: $t_{1/2\alpha} = (1.61 \pm 0.43) \text{ h}$, $t_{1/2\beta} = (11.05 \pm 3.54) \text{ h}$, $V_1 = (18.552 \pm 5.902) \text{ L} \cdot \text{m}^{-2}$, $Cl = (4.525 \pm 1.181) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, $k_{10} = (0.254 \pm 0.053) \text{ h}^{-1}$, $k_{12} = (0.194 \pm 0.043) \text{ h}^{-1}$, $k_{21} = (0.074 \pm 0.025) \text{ h}^{-1}$, $AUC_{(0-9)} = (1064.0 \pm 258.6) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $AUC_{(0-\infty)} = (1433.6 \pm 485.2) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $t_{\text{max}} = 24 \text{ h}$, $C_{\text{max}} = (40.1 \pm 10.3) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 大剂量甲氨蝶呤在急性淋巴细胞白血病患者体内的药动学符合二房室模型, 主要药动学参数有较明显的个体差异。

关键词: 甲氨蝶呤; 急性淋巴细胞白血病; 儿童; 药动学; 高效液相色谱法

中图分类号: R969.1; R979.12

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2008)05-0454-05

Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate Infusion in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia

ZHANG Shan-tang^a, QU Jian^a, YANG Lin-hai^b, TANG Li-qin^a, WANG Ning-ling^b (^a Department of Pharmacy, ^b Department of Pediatrics, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the pharmacokinetics of methotrexate (MTX) in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated with high-dosage infusion of MTX and combination with calcium folinate (CF) rescued. **METHODS** The serum samples were collected at different time points in 16 ALL children after infusion of MTX. MTX concentrations in serum were detected by HPLC and DAS2.0 software was used to analyze the pharmacokinetics parameters. **RESULTS** The time-concentration course of HDMTX in ALL children were fitted to two-compartment model and the main pharmacokinetics parameters were as follow: $t_{1/2\alpha} = (1.61 \pm 0.43) \text{ h}$, $t_{1/2\beta} = (11.05 \pm 3.54) \text{ h}$, $V_1 = (18.552 \pm 5.902) \text{ L} \cdot \text{m}^{-2}$, $Cl = (4.525 \pm 1.181) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, $k_{10} = (0.254 \pm 0.053) \text{ h}^{-1}$, $k_{12} = (0.194 \pm 0.043) \text{ h}^{-1}$, $k_{21} = (0.074 \pm 0.025) \text{ h}^{-1}$, $AUC_{(0-9)} = (1064.0 \pm 258.6) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $AUC_{(0-\infty)} = (1433.6 \pm 485.2) \mu\text{mol} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $t_{\text{max}} = 24 \text{ h}$, $C_{\text{max}} = (40.1 \pm 10.3) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. **CONCLUSION** The pharmacokinetic process of HDMTX in ALL children were fitted to two-compartment model and the main pharmacokinetics parameters had individual difference.

KEY WORDS: methotrexate; acute lymphoblastic leukemia (ALL); children; pharmacokinetics; HPLC

甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 为叶酸类抗代谢药, 是治疗儿童急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 的最重要药物之一, 其中大剂量 MTX (HDMTX) 静脉滴注联合甲酰四氢叶酸钙解救 (HDMTX-CF) 是防治儿童 ALL

髓外浸润的主要措施, 可明显提高 ALL 患儿的生存率^[1]。关于大剂量静滴 MTX 在 ALL 患儿体内的药动学, 国内已有研究^[2-4], 但由于给药方案和测定方法的不同致使研究结果有较大的差异。目前规范的 HDMTX-CF 用药方案是

MTX $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 或 $5.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 静滴 24 h, 并于开始用药的第 36 h 开始 CF 解救^[5]; 对于这一方案中 MTX 的药动力学过程, 国内研究不多^[4]。为促进临床合理用药, 笔者对 MTX $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 用药方案中 MTX 在 ALL 患儿体内的药动力学特性进行了初步研究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

Waters 高效液相色谱仪, 包括 515 泵、2487 双波长紫外检测器; AT-130 色谱柱恒温箱, 天津鑫洲科技有限公司; HS 色谱数据工作站 4.0⁺, 杭州英谱科技开发有限公司; TGL-16G 台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; BT124S 电子天平 (Max 120 g, d = 0.1 mg), 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 药物与统计 (Drug and Statistics, DAS) 软件, 芜湖高斯科技开发公司。

MTX 对照品, Sigma-Aldrich 公司生产, 批号 119H1449; 注射用 MTX, $1 \text{ g} \cdot \text{支}^{-1}$, 江苏恒瑞医药股份有限公司产品; 甲醇为色谱纯; 磷酸二氢钠 (AR); 亚沸蒸馏水为本实验室制备。

1.2 研究对象

本院儿科收治的 ALL 患儿 16 例, 男 13 例, 女 3 例, 年龄 7.7 ± 3.1 岁 (3 ~ 12 岁), 体重指数 (BMI) $17.63 \pm 1.84 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ($14.31 \sim 21.38 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$), 体表面积 $0.93 \pm 0.23 \text{ m}^2$ ($0.66 \sim 1.33 \text{ m}^2$); 免疫分型均为 B 细胞型, 血象及肝、肾功能无异常。诊断标准参照儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议^[5]。患儿的法定监护人同意进行大剂量 MTX 化疗, 愿意进行 MTX 血药浓度检测, 并签署书面的知情同意书。

1.3 给药方案及血样采集

根据儿童 ALL 诊治规范进行治疗^[5]。于巩固治疗休息 1 ~ 3 周后, 开始 HDMTX + CF 治疗; MTX $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 静滴 24 h, 其中 1/6 剂量 (不超过 $500 \text{ mg} \cdot \text{次}^{-1}$) 作为突击剂量在 30 min 内快速静脉滴入, 余量在剩余时间内匀速输入。突击量 MTX 滴入后 0.5 ~ 2 h 内, 行三联鞘注 1 次。开始滴入 MTX 36 h 后用 CF 解救, 剂量为 $15 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$, q6h, 首剂静脉注射, 以后口服或肌肉注射, 共 6 ~ 8 次。HDMTX 治疗前、后 3 d 口服碳酸氢钠 1.0 g , 每日 3 次, 并在治疗当天给 5% 碳酸氢钠 $3 \sim 5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 静滴, 保持尿 pH ≥ 7 。用 HDMTX 当天及后 3 d 需水化治疗, 每日摄入液体总量控制在 $3000 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-2}$; 给予 HDMTX 同时, 每晚顿服 6-MP $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$, 共 7 d。

于开始滴入 MTX 后 24, 28, 32, 36, 44, 68 h 分别抽取静脉血 2 mL, 不加抗凝剂, 离心 5 min ($4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离血清, 于 -20°C 冰箱保存待测。

1.4 血样测定及质量控制

1.4.1 MTX 测定方法 采用反相高效液相色谱法测定血清 MTX 浓度。200 μL 血清样品经 15% 高氯酸溶液 35 μL 沉淀蛋白后, $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 8 min, 取上清夜进样分析。色谱条件为: Synergi 4u Fusion-RP 80A (250 mm $\times$ 4.6 mm, 4 μm) 色谱柱, Symmetry C₁₈ 保护柱, 柱温 30°C ; 流动相为磷酸

盐缓冲液 (pH 6.8); 甲醇 = 78:22, 流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 紫外检测波长为 306 nm。本实验采用外标法定量。

1.4.2 质量控制 每个批次血样测定时随行 1 条标准曲线, 并平行测定 6 个浓度的质控样品。质控样品均匀分布在样品测试序列中。质控样品的测定浓度偏差控制在 15% 以内, 最低浓度点附近控制在 20% 以内。最多允许 1/3 的质控样品测定结果超限, 否则视为失控。对于失控的测试序列要查找原因, 必要时重新测定。

1.5 数据处理

将患儿用药后各时间点的血药浓度数据用 DAS 软件 (ver2.0) 中药动力学模块的智能化分析方法进行房室模型拟合和药动力学参数计算, $t_{\max}$, $C_{\max}$ 为实测值, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 方法学验证结果

在本实验条件下, 测定方法的专属性良好, 内源性物质、合并用药 (如 6-MP、CF 等) 及 MTX 的代谢产物对 MTX 的测定目标峰均无干扰, 见图 1。因 MTX 治疗浓度范围跨度较大, 为减少测定误差, 故将标准曲线作两段处理, 结果本方法在 $0.050 \sim 2.50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $2.50 \sim 100.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内线性良好, 加权线性回归方程分别为 $Y_1 = 543.5X + 3.67$ ($r = 0.9991, n = 6$) 和 $Y_2 = 548.2X + 39.8$ ($r = 0.9998, n = 6$); 日内及日间精密度的 RSD 均小于 7%, 最低定量检出浓度为 $0.030 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 均符合生物样品分析方法的要求。

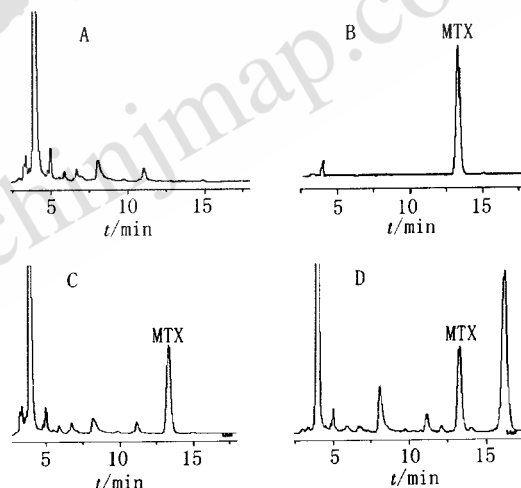


图1 人血清中甲氨蝶呤的 HPLC 谱图

A - 空白血清; B - 对照品溶液 ($5.00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); C - 血清标准品 ($5.00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); D - 患者的血清样品 (用药结束后 4 h);

Fig 1 HPLC profiles of methotrexate in human serum

A - blank serum; B - methotrexate standard ($5.00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); C - serum spiked with $5.00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ methotrexate; D - serum sample from patient (4 h after infusion)。

2.2 MTX 血药浓度和药动力学参数

2.2.1 血样测定结果 16 例 ALL 患儿应用 HDMTX-CF 方案防治髓外白血病, 按 $3.0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 静滴 MTX 后的血清药物浓度测定结果见表 1。由表 1 可见各时间点的血药浓度有明显的个体差异, 尤其是 32 h 后个体差异更为明显。

表 1 16例 ALL 患儿静滴 HDMTX 后不同时间点的血清 MTX 浓度

Tab 1 Serum concentration of MTX in 16 children with ALL after intravenous infusion of MTX 3.0 g·m⁻²

序号	患者	性别	年龄/岁	不同时间点血清 MTX 浓度 /μmol·L ⁻¹					
				24 h	28 h	32 h	36 h	44 h	68 h
1	王 ×	女	12	36.29	11.18	2.89	1.21	0.30	0.06
2	沙 × ×	男	3	41.56	13.17	6.23	2.46	0.70	0.17
3	徐 × ×	男	9	25.25	3.92	0.87	0.44	0.23	0.06
4	王 × ×	男	10.5	31.82	6.06	3.07	1.45	0.95	0.14
5	董 × ×	男	10.5	22.57	6.22	1.52	0.51	0.41	0.03
6	张 × ×	男	3	37.35	6.01	2.55	1.35	0.51	0.10
7	袁 ×	男	12	34.27	3.89	1.30	0.43	0.17	0.05
8	程 ×	男	9	51.55	7.59	2.38	1.26	0.44	0.03
9	程 ×	男	4	43.21	7.41	2.10	1.05	0.61	0.18
10	汪 ×	男	8	60.40	9.18	3.55	1.12	0.38	0.04
11	鲍 × ×	男	9	40.98	10.69	3.32	1.65	0.27	0.06
12	刘 × ×	女	7	41.75	5.26	1.73	0.61	0.21	0.03
13	刘 × ×	女	5	39.10	5.22	1.57	0.51	0.24	0.04
14	吴 × ×	男	5	34.49	4.89	1.76	0.59	0.19	0.04
15	刘 ×	男	12	58.45	4.53	1.34	0.53	0.30	0.14
16	王 ×	男	6	42.44	8.74	4.19	2.82	1.11	0.18
	$\bar{x}$			40.09	7.12	2.52	1.12	0.44	0.08
	<i>s</i>			10.28	2.78	1.36	0.72	0.28	0.06
	CV%			25.64	39.04	53.97	64.29	63.64	75.01

2.2.2 房室模型及拟合曲线 16例患儿用药后各时间点的血药浓度数据经 DAS 软件 (ver2.0) 按 AIC (拟合精度判断) 最小的原则自动进行房室模型拟合, 结果有 15 例患儿的最佳房室为二室, 1 例最佳房室为三室; 16 例患儿各时间点的血药浓度均值的拟合结果最佳房室模型为二室, 权重系数均为 1/cc, 拟合效果良好, AIC = -11.96 ± 10.91 (R² = 1), 拟合

曲线见图 2。因此, ALL 患儿静滴 HDMTX 后药物在体内动力学过程符合二室模型特征, 一级参数分别为: A = (35.78 ± 8.81) μmol·L⁻¹, α = (0.45 ± 0.09) h⁻¹, B = (2.36 ± 1.99) μmol·L⁻¹, β = (0.069 ± 0.022) h⁻¹。

2.2.3 药动学参数 按二室模型拟合求得 ALL 患儿静滴 HDMTX 后药物在体内的药动学参数, 结果见表 2。



图 2 16例 ALL 患儿静滴 HDMTX (3.0 g·m⁻²) 后的平均 C-t 拟合曲线和平均 lnC-t 拟合曲线

Fig 2 Mean serum C-t and lnC-t fitting curve of 16 children with ALL after intravenous infusion MTX 3.0 g·m⁻²

表 2 ALL 患儿静滴 HDMTX 后的药动学参数 (n = 16)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters in 16 patients with ALL after intravenous infusion MTX 3.0 g·m⁻²

参数	$\bar{x} \pm s$	参数	$\bar{x} \pm s$
$t_{1/2\alpha}$ /h	1.610 ± 0.43	$AUC_{(0-t)}$ /μmol·h·L ⁻¹	1.064.00 ± 258.6
$t_{1/2\beta}$ /h	11.050 ± 3.54	$AUC_{(0-\infty)}$ /μmol·h·L ⁻¹	1.433.60 ± 485.2
V_1 /L·m ⁻²	18.552 ± 5.902	$MRT_{(0-t)}$ /h	24.78 ± 0.35
Cl /L·h ⁻¹ ·m ⁻²	4.525 ± 1.181	$MRT_{(0-\infty)}$ /h	24.87 ± 0.37
k_{10} /h ⁻¹	0.254 ± 0.053	t_{max} /h	24
k_{12} /h ⁻¹	0.194 ± 0.043	C_{max} /μmol·L ⁻¹	40.1 ± 10.3
k_{21} /h ⁻¹	0.074 ± 0.025		

注: ¹⁾ 进行药动学参数运算时, MTX 用量折合成 6.600 μmol·m⁻² (MTX 分子量为 454.45)

Note ¹⁾ The dosage of MTX (3.0 g·m⁻²) was converted into 6.600 μmol·m⁻² (FW: 454.45)

3 讨论

MTX作为抗肿瘤药物已在临床应用几十年,其药动学研究已有不少报道,但由于用药方案及测定方法的差异,得到的研究结果明显不同。国内主要文献关于 MTX药动学研究结果见表 3。国内文献报道的 MTX药动学研究多数采用 TDX仪上的荧光偏振免疫法(FPIA)进行,这种方法简便快捷、灵敏度高,但特异性不够理想,MTX的代谢产物 7-羟基 MTX会对测定结果产生明显影响,导致测定结果偏高^[6-7]。马俊等^[15]研究指出:与 HPLC相比,FPIA较高地估计了消除相 MTX浓度。王少华等^[12]“在实验过程中发现,给药后 30

Tab 3 Results of MTX pharmacokinetics in Chinese references

文献序号	研究对象	给药方法	剂量 /mg·m ⁻²	测定方法	主要药动学参数			
					房室数	t _{1/2α} /h	t _{1/2β} /h	Cl /L·h ⁻¹ ·m ⁻²
[8]	儿童急性白血病 5例	静滴 1 h	25	酶免疫法	二	0.371	2.129	11.89
[9]	成人肿瘤 5例	静滴 6 h	12.99~113.92	TDX	二	1.15	19.32	6.40
[9]	成人肿瘤 5例	静滴 6 h	109.29~285.71	TDX	二	1.82	28.86	5.64
[9]	成人肿瘤 8例	静滴 6 h	574.71~5000	TDX	二	1.60	20.83	5.10
[10]	儿童恶性肿瘤 8例	静滴 24 h	1000~2000	TDX	二	0.661	4.42	
[11]	儿童 ALL10例	静滴 12 h	3000	放免法	二	0.395	4.565	
[12]	成人乳腺癌 31例	静滴 2 h	30	TDX	三	2.3	15.39	
[2]	儿童 ALL10例	静滴 24 h	3000	TDX	—		7.9	15.2
[3]	儿童 ALL10例	静滴 6 h	3000	TDX	—		4.09	6.87
[4]	儿童 ALL15例	静滴 24 h	3000	HPLC	—		4.2	116.7 mL·h ⁻¹
[13]	成人银屑病 9例	单次 12.5 mg,静滴 1.5 h		TDX	二		5.6	7.8
[14]	异位妊娠 12例	肌注 20 mg		TDX	二	1.28	10.56	5.09

注:表中相关数值均为平均值

Note: The values in tab 3 were expressed by mean, respectively

文献显示 MTX静脉滴注在肿瘤患者体内过程既有呈二室开放模型,也有呈三室开放模型,以二室模型为多^[6-8,10],与本实验结果一致。文献中一室模型的研究结果,可能与血样采集时间点的选择或数据处理的方法不同有关,如王刚等^[4]采用 HPLC研究 ALL患儿中大剂量 MTX的药动学,得到了一室模型的结果,原因是作者从停止用药后 24 h开始采集血样,此时药物在体内已处于消除相,属于一室一级动力学过程。本实验的研究结果比较真实地反映了大剂量 MTX在 ALL患儿体内从分布到消除的基本过程,具有一定的参考价值。

MTX抑制肿瘤细胞的同时也对正常细胞产生毒性,CF在救援正常细胞的同时也能拮抗 MTX的治疗作用。HDMTX静滴的时间、CF开始救援的时间和持续时间均要恰到好处,才能获得最大的疗效和最小的毒性。理论上讲,经过 7 个 t_{1/2α}后,中央室和周边室的药物分布基本达到平衡,此时给予 CF解救能获得最大的疗效和最小的毒性。本实验结果表明,MTX的分布相半衰期 t_{1/2α}为 1.16~2.72 h,平均 1.61 h。以此推算,CF最佳解救时间应该在 MTX静滴结束后第 8.12~19.04 h,平均 11.27 h。目前规范的第 36 h(即 MTX静滴结束后第 12 h)开始 CF解救,在解救时间的选择上对多数患者是基本合适的,但总有部分患者解救时间过早或过晚,若

h时,血药浓度往往会出现一类似再吸收的药物浓度峰,该时间的药物浓度值明显与药物代谢趋势不相吻合,可能与 MTX存在肝肠循环有关”,笔者认为这一现象也可解释为 FPIA测定时代谢产物对 MTX结果产生的影响。其他免疫学方法如放免法、酶免疫法等特异性更差。由此推测,用这些免疫学方法测定得到的药动学结果与真实情况可能有较大的误差。本实验采用 HPLC测定血清 MTX浓度,该法具有较高的特异性,也是目前进行药动学研究的规范方法,这样就从方法学上保证的研究结果的可靠性。

能根据患者的药动学参数,进行个体化的 CF解救,将能取得最佳疗效。

本实验研究结果显示,静脉滴注结束后 MTX血药浓度急剧下降,说明药物从中央室向周边室转运的速率很快。各时间点的血药浓度呈现明显的个体差异,尤其是停药 12 h后血药浓度的个体差异更为明显。造成个体差异的因素可能包括年龄、肝肾功能等生理病理状况的不同,也可能包括遗传因素,这些都有待于进一步研究。本实验结果也提示治疗药物监测和个体化给药在 HDMTX使用中将起着重要作用。

出于伦理学的考虑,本实验减少了 MTX输注过程中的血样采集数,仅采集了 t_{max}点即第 24 h点的血样,这样既保证了主要药动学参数计算的需要,又最大程度的减少了患儿的痛苦。不足之处是得到的 AUC₍₀₋₉₎和 AUC_(0-∞)结果与真实情况可能有一定的偏差。

另外,由于病例数有限,本实验未能就 MTX在脑脊液中的药动学过程及药动学相互作用等内容展开探讨,这些以及药物暴露(或血药浓度)与药物反应的相关性等都需进一步研究。

REFERENCES

[1] XIE J, WU M Y, ZHANG Y H, et al. Effect of high-dose

- methotrexate on the prevention and treatment of different sanctuary for lymphoblasts in childhood with acute lymphoblastic leukemia [J]. Chin J Practi Pediatr(中国实用儿科杂志), 2006, 21(6): 460-462.
- [2] HE Y L, REN J W. Pharmacokinetics of high dose methotrexate in the treatment of pediatric acute lymphocytic leukemia [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2005, 25(9): 849-850.
- [3] SUN W, MA L, HAN ZM, *et al.* Pharmacokinetics of high dose methotrexate in the treatment of pediatric lymphocytic leukemia [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2002, 37(10): 768-770.
- [4] WANG G, LIU B, GU R, *et al.* Study on pharmacokinetics of methotrexate in children's acute lymphocytic leukemia [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2006, 26(3): 258-261.
- [5] The Subspecialty Group of Hematology Diseases, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association and the Editorial Board, Chin J Pediatr. Suggestion of diagnosis and treatment of acute lymphoblastic leukemia in childhood (the 3rd revised version) [J]. Chin J Pediatr(中华儿科杂志), 2006, 44(5): 392-395.
- [6] ALBERTIONI F, RASK C, EKSBURG S, *et al.* Evaluation of clinical assays for measuring high-dose methotrexate in plasma [J]. Clin Chem, 1996, 42(1): 39-44.
- [7] FOTOHI K, SKÄRBY T, SÖDERHÄLL S, *et al.* Interference of 7-hydroxymethotrexate with the determination of methotrexate in plasma samples from children with acute lymphoblastic leukemia employing routine clinical assays[J]. J Chromatogr B, 2005, 817: 139-144.
- [8] XU FD, ZHANG WM, LI HF, *et al.* Pharmacokinetics of methotrexate in children [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 1988, 8(12): 529-530.
- [9] MA JL, TANG ZQ. Pharmacokinetics of high dose methotrexate [J]. Chin New Drug J(中国新药杂志), 1994, 3(2): 49-51.
- [10] XU F, XUE J, HE X, *et al.* Pharmacokinetics of high-dose methotrexate infusion in children with malignant carcinoma [J]. J First Mil Med Univ(第一军医大学学报), 1994, 14(2): 138-139.
- [11] PENG J, YAO MY. Pharmacokinetics of large dose methotrexate in the treatment of child patients with acute lymphocytic leukemia [J]. China Pharmacy(中国药房), 1996, 7(2): 77.
- [12] WANG SH, LI DA, SHI J, *et al.* Study of MTX pharmacokinetics and relationship between local and systemic drug concentration in patients [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学杂志), 1996, 1(1): 23-25.
- [13] WANG J, LIANG JJ. The pharmacokinetics of small dose of MTX in patients with psoriasis [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2004, 24(5): 288-289.
- [14] LIANG JJ, WANG J. Pharmacokinetics of low-dose methotrexate in treatment of ectopic pregnancy [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2005, 40(13): 1034-1035.