

# EMIT 和 FPIA 测定丙戊酸、甲氨喋呤和环孢霉素 A 血药浓度的比较研究

刘思婷, 张永, 仇锦春, 李天媛, 廖清船\* (南京医科大学附属南京儿童医院药剂科, 南京 210008)

**摘要:** 目的 比较均相酶放大免疫分析法(EMIT)和荧光偏振免疫分析法(FPIA)测定丙戊酸(VPA)、甲氨喋呤(MTX)和环孢霉素 A(CsA)血药浓度结果, 并评价两种测定方法所得结果的相关性。方法 收集患者服药后的血样, 采用 EMIT 和 FPIA 同时测定 VPA、MTX 和 CsA 血药浓度; 以 FPIA 测定值为  $X$ , 以 EMIT 测定值为  $Y$ , 进行线性回归, 评价其相关性。结果 所得线性回归方程如下:  $Y_{VPA} = -1.8941 + 1.1903X$ ,  $r = 0.983$ ;  $Y_{MTX} = 0.09924 + 1.136X$ ,  $r = 0.992$ ;  $Y_{CsA} = -1.1465 + 0.8461X$ ,  $r = 0.971$ 。EMIT 测定血浆中 VPA 血药浓度较 FPIA 高  $11.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , EMIT 测定 MTX 血药浓度较 FPIA 高  $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EMIT 测定 CsA 血药浓度较 FPIA 低  $20.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 EMIT 与 FPIA 测定 VPA、MTX 和 CsA 血药浓度差异具有统计学意义, 在治疗药物监测中应予以注意。

**关键词:** 酶放大免疫分析法; 荧光偏振免疫分析法; 丙戊酸; 甲氨喋呤; 环孢霉素 A

中图分类号: R969.11

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)08-0740-05

## Comparison of EMIT and FPIA Method in Determination of Valproic Acid, Methotrexate and Cyclosporine A Blood Concentration

LIU Siting, ZHANG Yong, QIU Jinchun, LI Tianyuan, LIAO Qingchuan\* (Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To compare enzyme-multiplied immunoassay technique(EMIT) and fluorescence polarization immunoassay(FPIA) method in the determination of valproic acid(VPA), methotrexate(MTX) and cyclosporine A(CsA) concentrations in human plasma, and to evaluate the correlation of concentrations determined by EMIT and FPIA. **METHODS** Plasma samples were collected from patients. Both EMIT and FPIA method were employed to determine the concentrations of VPA, MTX and CsA. Regression analyses were performed (EMIT results as dependant, FPIA as independent variable) for the evaluation of correlation. **RESULTS** The regression equation of the results determined by FPIA ( $X$ ) and EMIT ( $Y$ ) were  $Y_{VPA} = -1.8941 + 1.1903X$ ,  $r = 0.983$ ;  $Y_{MTX} = 0.09924 + 1.136X$ ,  $r = 0.992$ ;  $Y_{CsA} = -1.1465 + 0.8461X$ ,  $r = 0.971$ . VPA concentration determined by EMIT was  $11.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  higher than FPIA. MTX concentration determined by EMIT was  $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  higher than FPIA. CsA concentration determined by EMIT was  $20.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  lower than FPIA( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION** Attentions should be paid to the differences of VPA, MTX and CsA concentration determined by EMIT and FPIA methods in dosage modification.

**KEY WORDS:** enzyme-multiplied immunoassay technique; fluorescence polarization immunoassay; valproic acid; methotrexate; cyclosporine A

丙戊酸(VPA)、甲氨喋呤(MTX)和环孢霉素 A(CsA)分别为临床常用的抗癫痫药<sup>[1]</sup>、抗肿瘤药和免疫抑制剂。由于这 3 种药物个体差异大, 治疗作用和毒性与血药浓度密切相关, 因此, 需要对上述药物进行常规血药浓度监测, 以提高疗效和减少不良反应。

目前, 国内外监测血药浓度的方法主要有 HPLC、荧光偏振免疫分析法(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)和酶放大免疫分析法(enzyme-multiplied immunoassay technique, EMIT)

等<sup>[2]</sup>。笔者所在医院过去一直采用基于 FPIA 的荧光偏振免疫检测仪(TDx-FLX)监测血药浓度, 由于该公司逐渐停止试剂盒的供应, 后又购置了基于 EMIT 的 Syva-药物浓度分析系统(Viva-E)作为监测血药浓度的手段。

受测定原理不同影响, 同一份样品采用不同的方法检测, 其测定结果都会有较大差异, 为了保证 EMIT 和 FPIA 测量结果的一致性或可交换性, 本研究将同时采用 TDx-FLX 与 Viva-E 测定 VPA、MTX 和 CsA 的血药浓度, 并对测定结果间

基金项目: 南京市医学科技发展基金(YKK10052, YKK09077); 南京市科技发展计划(药学项目 2011YX016)

作者简介: 刘思婷, 女, 药师 Tel: 15895847576  
E-mail: lqc730227@126.com

E-mail: sayasy006@sina.com.cn

\*通信作者: 廖清船, 男, 硕士, 副主任药师 Tel:

的差异和相关性进行评价, 以方便临床正确解读检测数据, 从而合理调整患儿用药剂量, 制定个体化给药方案。

## 1 材料与仪器

### 1.1 标本来源

收集2011年6月-7月笔者所在医院神经内科、血液肿瘤科、肾脏内科住院和门诊随访患者常规监测VPA、MTX、CsA血药浓度样本各30例, 所有样本均使用含EDTA抗凝管采集保存, 检测在采集样本后2 h内完成。

### 1.2 仪器与试剂

Syva-药物浓度分析系统(Viva-E, 美国SIEMENS公司); 荧光偏振免疫检测仪(TDx-FLX, 美国Abbott公司); 涡旋混合器、高速离心机(美国Abbott公司)。TDx-FLX与Viva-E相关试剂分别为美国Abbott公司和美国SIEMENS公司生产, 定标液与试剂盒配套。

## 2 方法

### 2.1 血药浓度测定方法

**2.1.1 样本测定** 患者的血样在同一天分别用Viva-E和TDx-FLX两台仪器测定(两种测定方法检测3种药物的线性范围见表1), 测定方法按照各自仪器提供的标准操作规范进行, 测定样本时均对质控品进行平行测定。

表1 测定VPA、MTX和CsA的线性范围

Tab 1 Linear range of VPA, MTX and CsA

| 方法   | 检测药物 | 线性范围                                      |
|------|------|-------------------------------------------|
| EMIT | VPA  | 0~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$    |
|      | MTX  | 0~2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$  |
|      | CsA  | 0~500 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$      |
| FPIA | VPA  | 0~150 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$    |
|      | MTX  | 0~1.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ |
|      | CsA  | 0~1500 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$     |

**2.1.2 精密度及回收率** 取低、中、高3个浓度的VPA、MTX、CsA质控样品, 每一质控样品于同一天内分别测定5次, 分别计算标准差(S)值和变异系数(CV)值, 以考察测定方法的日内精密度与回收率, 结果CV均在 $\pm 10\%$ 以内, 回收率在90%~110%之间。结果见表2至表4。

### 2.2 EMIT和FPIA测定结果的相关性评价

将全部标本分别用FPIA与EMIT进行测定, 以FPIA测定值为横坐标(X), EMIT测定值为纵坐标(Y)进行线性回归, 评价其相关性。应用SPSS 16.0和

表2 VPA测定的精密度与回收率( $n=5$ )

Tab 2 Recovery and precision of VPA ( $n=5$ )

| 方法   | 目标值/<br>$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 测量值/<br>$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ | CV/% | 回收率/%  |
|------|------------------------------------------|------------------------------------------|------|--------|
| EMIT | 35.8                                     | 38.10 $\pm$ 2.66                         | 7.00 | 106.42 |
|      | 79.3                                     | 80.04 $\pm$ 7.06                         | 8.82 | 100.93 |
|      | 134.0                                    | 138.68 $\pm$ 8.29                        | 5.98 | 103.49 |
| FPIA | 37.5                                     | 36.48 $\pm$ 0.81                         | 1.36 | 97.28  |
|      | 75.0                                     | 71.86 $\pm$ 1.41                         | 2.01 | 95.81  |
|      | 125.0                                    | 121.92 $\pm$ 2.37                        | 3.85 | 97.54  |

表3 MTX测定的精密度与回收率( $n=5$ )

Tab 3 Recovery and precision of MTX( $n=5$ )

| 方法   | 目标值/<br>$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | 测量值/<br>$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ | CV/% | 回收率/%  |
|------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|------|--------|
| EMIT | 0.32                                      | 0.35 $\pm$ 0.02                           | 5.38 | 109.38 |
|      | 1.18                                      | 1.27 $\pm$ 0.05                           | 3.92 | 107.97 |
|      | 8.84                                      | 8.93 $\pm$ 0.21                           | 2.35 | 101.02 |
| FPIA | 0.07                                      | 0.07 $\pm$ 0.005                          | 7.10 | 97.14  |
|      | 0.40                                      | 0.39 $\pm$ 0.008                          | 2.00 | 97.50  |
|      | 0.80                                      | 0.83 $\pm$ 0.015                          | 1.80 | 103.75 |

表4 CsA测定的精密度与回收率( $n=5$ )

Tab 4 Recovery and precision of CsA( $n=5$ )

| 方法   | 目标值/<br>$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ | 测量值/<br>$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ | CV/% | 回收率/%  |
|------|----------------------------------------|----------------------------------------|------|--------|
| EMIT | 74.0                                   | 80.34 $\pm$ 6.89                       | 8.58 | 108.57 |
|      | 158.0                                  | 165.90 $\pm$ 13.19                     | 7.95 | 105.00 |
|      | 430.0                                  | 458.60 $\pm$ 28.8                      | 6.28 | 106.65 |
| FPIA | 150.0                                  | 148.56 $\pm$ 3.40                      | 2.20 | 99.04  |
|      | 400.0                                  | 403.90 $\pm$ 9.00                      | 2.00 | 100.98 |
|      | 800.0                                  | 783.20 $\pm$ 19.05                     | 2.40 | 97.91  |

MedCalc9.6.2.0医学统计软件进行统计学分析, 样本的正态性检验采用Kolmogorov-Smimov法, 如符合正态分布, 则采用 $t$ 检验比较两组样本均数有无差异, Deming回归法比较2种测定方法的相关性; 反之, 则用Wilcoxon配对检验和Passing-Bablok回归法进行分析。同时绘制EMIT和FPIA测定的散点图和Bland-Altman偏差图。

## 3 结果

### 3.1 EMIT和FPIA测定结果的比较

VPA、MTX、CsA血药浓度测定数据见表5, Kolmogorov-Smimov检验显示EMIT和FPIA所测得原始浓度数据均为非正态分布, Wilcoxon配对检验显示2种方法测定结果有显著差异( $P<0.05$ ); 同时以2种方法测定同一样本浓度均值为横坐标, EMIT和FPIA测定值之差( $\bar{d}$ )为纵坐标, 以 $\bar{d} \pm 1.96S_d$ 为上下浓度限(95% CI), 绘制Bland-Altman

表 5 VPA、MTX 和 CsA 样本浓度数据

Tab 5 Concentrations of VPA, MTX and CsA

| No        | VPA/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ |       |       | MTX/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ |      |       | CsA/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ |        |         |
|-----------|---------------------------------------|-------|-------|----------------------------------------|------|-------|-------------------------------------|--------|---------|
|           | FPIA                                  | EMIT  | d     | FPIA                                   | EMIT | d     | FPIA                                | EMIT   | d       |
| 1         | 28.34                                 | 37.1  | 8.76  | 0.20                                   | 0.33 | 0.13  | 89.27                               | 57.2   | -32.07  |
| 2         | 37.84                                 | 31.7  | -6.14 | 0.26                                   | 0.37 | 0.11  | 95.71                               | 69.1   | -26.61  |
| 3         | 19.53                                 | 12.8  | -6.73 | 0.38                                   | 0.53 | 0.15  | 51.88                               | 32.7   | -19.18  |
| 4         | 10.61                                 | 16.0  | 5.39  | 0.50                                   | 0.67 | 0.17  | 61.18                               | 52.3   | -8.88   |
| 5         | 35.86                                 | 40.9  | 5.04  | 0.44                                   | 0.60 | 0.16  | 73.78                               | 64.0   | -9.78   |
| 6         | 36.21                                 | 40.8  | 4.59  | 0.63                                   | 0.81 | 0.18  | 61.82                               | 51.8   | -10.02  |
| 7         | 44.71                                 | 46.3  | 1.59  | 0.60                                   | 0.76 | 0.16  | 36.71                               | 34.3   | -2.41   |
| 8         | 73.12                                 | 85.5  | 12.38 | 0.72                                   | 0.89 | 0.17  | 58.65                               | 51.6   | -7.05   |
| 9         | 78.82                                 | 83.2  | 4.38  | 0.77                                   | 0.99 | 0.22  | 75.54                               | 56.0   | -19.54  |
| 10        | 81.49                                 | 84.5  | 3.01  | 0.75                                   | 0.91 | 0.16  | 67.50                               | 47.4   | -20.10  |
| 11        | 66.97                                 | 74.8  | 7.83  | 0.36                                   | 0.50 | 0.14  | 126.43                              | 149.2  | 22.77   |
| 12        | 70.89                                 | 83.0  | 12.11 | 0.48                                   | 0.69 | 0.21  | 147.70                              | 148.3  | 0.60    |
| 13        | 64.97                                 | 74.8  | 9.83  | 0.52                                   | 0.70 | 0.18  | 154.55                              | 145.9  | -8.65   |
| 14        | 66.06                                 | 85.8  | 19.74 | 0.26                                   | 0.38 | 0.12  | 179.00                              | 127.4  | -51.6   |
| 15        | 56.31                                 | 71.1  | 14.79 | 0.65                                   | 0.84 | 0.19  | 157.67                              | 115.6  | -42.07  |
| 16        | 70.64                                 | 82.5  | 11.86 | 0.70                                   | 0.85 | 0.15  | 121.61                              | 91.3   | -30.31  |
| 17        | 64.49                                 | 73.9  | 9.41  | 0.79                                   | 1.02 | 0.23  | 122.43                              | 141.9  | -19.47  |
| 18        | 90.71                                 | 114.3 | 23.59 | 0.83                                   | 1.23 | 0.40  | 108.98                              | 106.7  | -2.28   |
| 19        | 85.77                                 | 104.8 | 19.03 | 0.95                                   | 1.30 | 0.35  | 113.91                              | 86.4   | -27.51  |
| 20        | 84.82                                 | 109.0 | 24.18 | 0.87                                   | 1.29 | 0.42  | 210.70                              | 168.8  | -41.90  |
| 21        | 91.41                                 | 106.8 | 15.39 | 1.20                                   | 1.45 | 0.25  | 332.75                              | 466.1  | 133.35  |
| 22        | 88.49                                 | 103.2 | 14.71 | 1.09                                   | 1.34 | 0.25  | 252.85                              | 195.3  | -57.55  |
| 23        | 102.39                                | 121.6 | 19.21 | 1.55                                   | 1.82 | 0.27  | 118.25                              | 89.0   | -29.25  |
| 24        | 83.64                                 | 101.5 | 17.86 | 1.47                                   | 1.74 | 0.27  | 98.87                               | 83.5   | -15.37  |
| 25        | 95.67                                 | 106.4 | 10.73 | 1.01                                   | 1.21 | 0.20  | 87.57                               | 72.3   | -15.27  |
| 26        | 102.02                                | 113.8 | 11.78 | 1.15                                   | 1.42 | 0.27  | 289.05                              | 253.95 | -35.10  |
| 27        | 95.96                                 | 118.8 | 22.84 | 1.34                                   | 1.60 | 0.26  | 368.79                              | 315.26 | -53.53  |
| 28        | 122.5                                 | 136.0 | 13.5  | 1.42                                   | 1.73 | 0.31  | 425.80                              | 379.20 | -46.6   |
| 29        | 118.0                                 | 125.3 | 7.3   | 1.51                                   | 1.79 | 0.28  | 750.59                              | 678.25 | -72.34  |
| 30        | 109.2                                 | 128.6 | 19.4  | 1.28                                   | 1.59 | 0.31  | 1 021.00                            | 910.98 | -110.02 |
| $\bar{d}$ |                                       |       | 11.2  |                                        |      | 0.22  |                                     |        | -20.6   |
| $S_d$     |                                       |       | 7.74  |                                        |      | 0.099 |                                     |        | -34.29  |

偏差图,结果显示,VPA 血药浓度测定结果,EMIT 较 FPIA 高  $11.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (95% CI:  $-4.2\sim 26.7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 见图 1A; MTX 血药浓度测定结果,EMIT 较 FPIA 高  $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (95% CI:  $0.065\sim 0.38 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 见图 1B; CsA 血药浓度测定结果,EMIT 较 FPIA 低  $20.6 \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  (95% CI:  $-98.1\sim 56.9 \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 见图 1C。

### 3.2 EMIT 和 FPIA 测定结果的相关性

对每一待测样本,以 FPIA 测定值为横坐标 (X), EMIT 测定值为纵坐标 (Y), 采用 Passing-Bablok 回归法进行线性回归,以 Spearman 检验比较 2 种方法测定结果的相关性。结果表明,EMIT 和 FPIA 测定结果显著相关,其回归方程和 Spearman

相关系数分别为:  $Y_{\text{VPA}} = -1.894 1 + 1.190 3X$ ,  $r = 0.983$ , 见图 2A;  $Y_{\text{MTX}} = 0.099 24 + 1.136X$ ,  $r = 0.992$ , 见图 2B;  $Y_{\text{CsA}} = -1.146 5 + 0.846 1X$ ,  $r = 0.971$ , 见图 2C。

### 4 讨论

FPIA 是根据荧光偏振原理建立的一种免疫分析方法,美国 Abbott 公司开发的测定系统 TDx-FLx 使 FPIA 自动化,测定结果准确、稳定,非常适合于临床血药浓度监测,在国内已有多年的应用经验<sup>[3-4]</sup>。EMIT 是一种酶放大免疫分析技术,是基于样本中的药物与用葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PDH) 标记的药物竞争抗体结合位点,与抗体结合后,酶的活性降低,根据酶的活性来确定样本中待测物的浓度。美国 SIEMENS 公司根据 EMIT 原理开

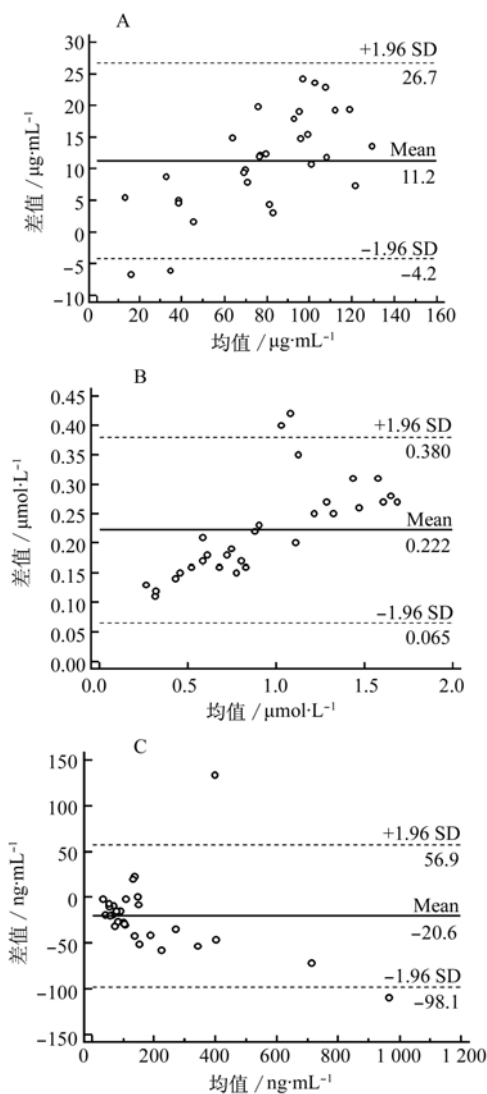


图 1 EMIT 和 FPIA 测定血药浓度的偏差比较

A-VPA; B-MTX; C-CsA

Fig 1 Bland-Altman deviation graphs of concentrations determined by EMIT and FPIA

A-VPA; B-MTX; C-CsA

发的 Viva-E 系统, 同样具有操作简便、自动化程度高、测定周期短等优点, 在国外应用于血药浓度监测已有多, 而在国内应用尚处于起步阶段, 使用经验有限。

目前, 笔者所在医院常规开展的 VPA、MTX、CsA 的血药浓度监测已逐渐由原先的 TDx-FLx 转移至 Viva-E 系统进行, 测定方法间的切换与对比有非常重要的临床应用价值。有报道显示, 对于采用 HPLC-MS/MS 与 FPIA 监测肾移植患者依维莫司血药浓度, 若不同方法间不做对比分析, 将导致依维莫司剂量调整增加 1.25 mg, 增大了用药安全隐患<sup>[5]</sup>。

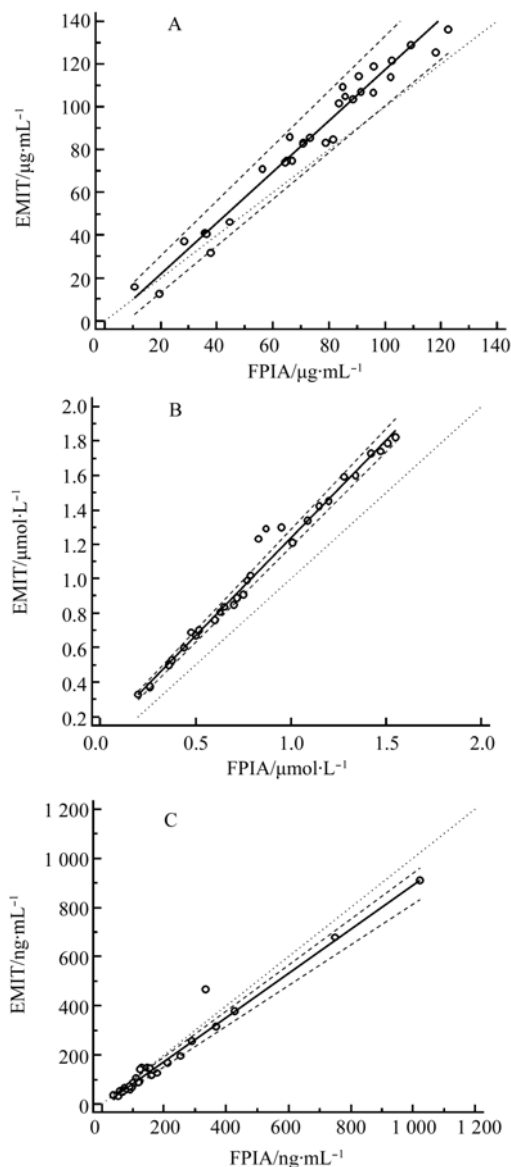


图 2 EMIT 和 FPIA 测定血药浓度的离散趋势散点图

A-VPA; B-MTX; C-CsA

Fig 2 Scatter diagram of concentrations determined by EMIT and FPIA

A-VPA; B-MTX; C-CsA

比较 2 种分析方法时, 需考察二者的相关性和差异程度, 本研究所测得血药浓度数据经检验不符合正态分布, 因而采用 Passing-Bablok 回归法考察两者的相关性; 而 Bland-Altman 偏差图法可直观的反映 2 种分析方法的差异性, 已被越来越多的学者推广使用<sup>[6]</sup>。Wilcoxon 配对检验显示, 2 种方法测定结果差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), Bland-Altman 偏差图显示, EMIT 测定 VPA 血药浓度较 FPIA 平均高  $11.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , EMIT 测定 MTX 血药浓度较 FPIA 平均高  $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , EMIT 测

定 CsA 血药浓度较 FPIA 平均低  $20.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。由于 EMIT 是利用抗原抗体相互识别并结合来产生检测信号,因而那些化学结构相近于母体的代谢产物以及样本中的内源性物质有可能产生交叉反应,使得测定结果偏高,如 MTX 的次要代谢物 4-氨基-4-脱氧-N10-甲基喋酸与 EMIT 检测 MTX 存在显著的交叉反应,这也可能是 EMIT 测定 MTX 的结果高于 FPIA 的原因之一<sup>[7]</sup>。有文献报道,EMIT 测定血浆中 CsA 浓度,其测定结果低于 FPIA,对于同一血样,EMIT 的测定值大约为 FPIA 测定值的 70%<sup>[8]</sup>,本研究同样显示,EMIT 测定 CsA 血药浓度较 FPIA 平均低  $20.6 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,表明对于 CsA 血药浓度检测,EMIT 比 FPIA 有更高的特异性。

虽然 EMIT 在测定 VPA、MTX、CsA 血药浓度时与 FPIA 结果存在较明显差异,但是把 2 种方法测定的结果进行回归分析,可获得每种药物血药浓度两组测定值间的换算公式:  $Y_{\text{VPA}} = -1.8941 + 1.1903X$ ,  $r = 0.983$ ;  $Y_{\text{MTX}} = 0.09924 + 1.136X$ ,  $r = 0.992$ ;  $Y_{\text{CsA}} = -1.1465 + 0.8461X$ ,  $r = 0.971$ ,具有较好的相关性。此换算公式有助于临床上判断 EMIT 与 FPIA 测定结果间的关系,并结合相关参考值进行临床评价。本研究还对 EMIT 测定 VPA、MTX、CsA 血药浓度进行方法学验证,结果 EMIT 精密度、准确度良好,质控结果良好,符合测定要求。

总之,本研究及时对 EMIT 与 FPIA 监测 VPA、MTX、CsA 血药浓度进行了对比研究,并将结果

反馈给相关科室,从而为医护人员合理调整用药剂量提供可靠的依据。

## REFERENCES

- [1] MEI Y, WANG Y, SONG X W, et al. An retrospectively analysis on results of serum sodium valproate concentration monitoring on children with epilepsy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2011, 28(2): 174-177.
- [2] LI J H. Methods and application of therapeutic drug monitoring(临床治疗药物监测的方法和应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 9.
- [3] ZOU D Q, WEI X H, ZHEN X L, et al. Analysis of CsA whole blood concentration determined by FPIA method [J]. Exp Lab Med(实验与检验医学), 2010, 28(3): 290, 312.
- [4] CHEN L, HE Q, RUAN J. Cyclosporine absorption profiling and therapeutic drug monitoring in stable renal allograft recipients [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(5): 466-468.
- [5] MOES D J, PRESS R R, DE FIJTER J W, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry outperforms fluorescence polarization immunoassay in monitoring everolimus therapy in renal transplantation [J]. Ther Drug Monit, 2010, 32(4): 413-419.
- [6] CHEN H. Application of the bland-altman plot for evaluation of consistency of different assessment methods [J]. Chin J Health Statistics(中国卫生统计), 2007, 24(3): 308-315.
- [7] SLØRDAL L, PRYTZ P S, PETERSEN I, et al. Methotrexate measurements in plasma: comparison of enzyme multiplied immunoassay technique, TDx fluorescence polarization immunoassay, and high pressure liquid chromatography [J]. Ther Drug Monit, 1986, 8(3): 368-372.
- [8] WITZKE O, HEEMANN U, THESING A, et al. A comparison of EMIT and FPIA methods for the detection of cyclosporin A blood levels: does impaired liver function make a difference? [J]. Eur J Clin Pharmacol, 1997, 52(5): 413-416.

收稿日期: 2012-01-05

## HPLC 测定不同产地蔓性千斤拔中染料木苷和染料木素的含量

杨启明, 张春风, 杨中林\* (天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 南京 210009)

**摘要:** 目的 建立 HPLC 同时测定蔓性千斤拔中染料木苷和染料木素含量的方法, 并比较不同产地蔓性千斤拔药材中 2 种成分的含量。方法 SinoChrom ODS-BP 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相为乙腈-0.2%甲酸水溶液, 梯度洗脱, 流速  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 柱温  $30^\circ\text{C}$ , 检测波长 261 nm。结果 染料木苷在  $4.8\sim 28.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  内线性关系良好( $r = 0.9998$ ), 平均加样回收率( $n = 6$ )为 99.9%, RSD 为 1.78%, 染料木素在  $1.6\sim 9.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  内线性关系良好( $r = 0.9998$ ), 平均加样回收率( $n = 6$ )为 98.0%, RSD 为 1.17%; 8 个不同产地蔓性千斤拔中染料木苷和染料木素的含量分别为  $0.321\sim 0.574 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  和  $0.179\sim 0.263 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论 本方法测定蔓性千斤拔中染料木苷和染料木素的含量, 快捷简便, 精密可靠, 重现性、稳定性良好; 8 个不同产地药材中以产自广西阳朔的蔓性千斤拔药材中 2 种成分含量总和最高。

作者简介: 杨启明, 男, 硕士生 Tel: (025)83271425 E-mail: westcityphantom@163.com  
Tel: (025)83271425 E-mail: yzl1950@yahoo.com.cn

\*通信作者: 杨中林, 女, 硕士, 教授, 博导