

# 广西首例心脏移植术后环孢素 A 的药物监测

熊凤英, 吴敏, 吴洪文, 梁陈方 (广西医科大学第四附属医院药剂科, 广西 柳州 545005)

**摘要:**目的 建立我院首例心脏移植术后环孢素 A 血药浓度监测方法, 分析药物浓度与剂量、疗效的关系, 建立最佳给药方案。方法 运用高效液相色谱法以环孢素 B 为内标, 214 nm 处紫外检测, 对心脏移植受者进行环孢素 A 血药浓度监测, 并及时给予用药剂量调整。结果 该患者至今存活, 生活质量良好, 环孢素 A 血药浓度控制得很好。结论 高效液相色谱法能满足环孢素 A 的临床常规血药浓度监测需求。

**关键词:**心脏移植; 环孢素 A; 药物浓度监测; 高效液相色谱法

中图分类号: R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)06-0477-03

## Therapeutic drug monitoring of cyclosporin-A after the first heart transplantation in GUANGXI

XIONG Feng-ying, WU Min, WU Hong-wen, LIANG Chen-fang (Department of Pharmacy, Fourth Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a method for determination of cyclosporine-A in blood after the first heart transplantation in our hospital, and analyse the relation between dosage, clinical effect and concentration, finally to develop a best curing scheme.

**METHODS** An HPLC was used with cyclosporine-B as the internal standard and detected at 214 nm. Determine the patient's blood concentration of cyclosporine-A and adjust the dosage in time. **RESULTS** The patient is still alive with a good life and the blood concentration of cyclosporine-A was under well control. **CONCLUSION** HPLC can satisfy the demand of general clinic determination of blood concentration of cyclosporine-A.

**KEY WORDS:** heart transplantation; cyclosporine-A; TDM; HPLC

心脏移植是治疗内外科无法治愈的终末期心脏病的重要疗法, 而正确地进行免疫抑制治疗是关系到心脏移植受者术后能否长期存活的关键因素之一<sup>[1]</sup>。众所周知, 环孢素 A (cyclosporine-A, CsA) 是目前最有效的免疫抑制剂, 它广泛地用于肝、肾、骨髓等器官移植, 能显著地抑制免疫排斥反应, 提高移植器官的成活率<sup>[2]</sup>。由于口服 CsA 的生物利用度和药动学个体差异大, 故进行药物血药浓度监测对安全、有效地用药和减少急性排斥反应具有重要临床意义。笔者经多次实验研究, 参考有关报道<sup>[3-5]</sup>, 建立了以环孢素 B (CsB) 为内标物并能简便、快速、准确测定 CsA 血药浓度的高效液相色谱法 (HPLC)。对 2003 年我院首例同种异体心脏移植受者进行药物监测, 取得满意效果, 现报道如下。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试药与仪器

**1.1.1 试药** CsA 对照品与 CsB 对照品 (福建微生物研究所), 氢氧化钠、乙醚、盐酸均为分析纯 (广东汕头新宁化工厂), 乙腈为色谱纯 (上海化学试剂公司), 水为双蒸水 (本院制剂室)。

**1.1.2 仪器** LC-10Atvp 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); SPD-10Atvp 可变波长紫外检测器; XW-80 型旋涡混合器 (上海第一医学院仪器厂); 80-2 离心沉淀器 (上海手术器械

厂)。

#### 1.2 测定方法

**1.2.1 色谱条件** SHIMADZU-C<sub>18</sub> (10 $\mu$ m, 250mm  $\times$  4.6mm) 分析柱; 柱温 68 $^{\circ}$ C; 检测波长为 214 nm; 乙腈-甲醇-水 (6:2:2, V/V), 流速 1.4 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 进样定量管体积 20  $\mu$ L。

**1.2.2 血样处理** 于受者早上服药前取静脉血 3mL, 肝素抗凝, 混匀。在 10mL 具塞玻璃试管内加入内标 CsB 贮备液 10 $\mu$ L, 加入 1mL 全血, 再加入 0.2mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> NaOH 溶液 1mL, 混匀, 静置 5min 后加入 5mL 乙醚, 振荡 1min, 离心 10 min (3000r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>), 取上清液加入另一试管, 于 60 $^{\circ}$ C 水浴挥干, 冷却至室温, 残渣加入 0.05 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 盐酸与乙腈混合液 (4:6) 100 $\mu$ L 溶解, 再加入 400 $\mu$ L 正己烷洗涤, 离心 5min, 取下层液 20 $\mu$ L 进样。

**1.2.3 色谱图与标准曲线** 在本色谱条件下样品和内标的色谱图见图 1, CsA 与 CsB 色谱保留时间分别为 14.4min 和 18.08min, 有很好的分离度, 并与血中的杂峰分离好。

于空白全血中加入 CsA 对照品, 使其浓度为 52, 104, 208, 312, 416, 520, 1040 ng  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, 再分别加入内标液 20 $\mu$ L, 按“1.2.2”处理。以 CsA/CsB 的峰面积比对 CsA 浓度进行线性回归, 得方程  $y = 0.002327x - 0.019$ , 相关系数  $r = 0.9995$ 。该方法最低检测浓度为 20ng  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>。

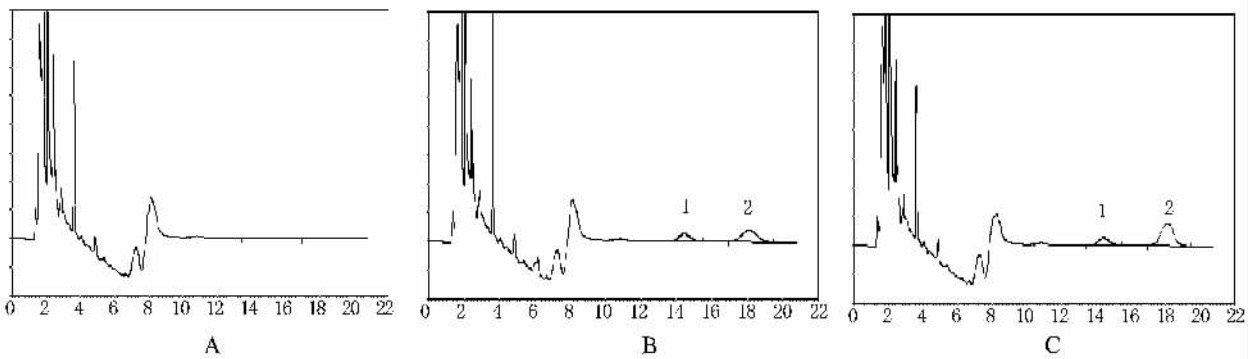


图1 CsA与CsB的HPLC色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of CsA and CsB

A 空白血样; B 血样; C 标准血样; 1. 内标物 CsA 2. 环孢素 A

A blank human blood; B human whole blood with CsA and CsB; C blank human whole blood with CsA, CsB standard

1.2.4 方法确证 计算方法精密度,以低、中、高三种浓度,按血样处理方法,测其日内差( $n=5$ )、日间差( $n=5$ ),RSD均不超过10%。

取空白全血准确配制相当于血中CsA浓度为104, 416, 1040  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品,按“1.2.2”处理,实测值与等浓度CsA对照品直接进样测定,结果相比( $n=5$ )。绝对回收率均不低于75%。见表1。

表1 全血中CsA绝对回收率及RSD( $n=5$ )

浓度 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
104	79.4 ± 5.6	7.1
416	84.2 ± 4.4	5.3
1040	87.3 ± 2.9	3.4

取空白全血准确配制相当于血中CsA浓度为104, 416, 1040  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品,按“1.2.2”处理,测定结果用标准曲线方程计算,求其相对回收率,见表2。

表2 全血中CsA相对回收率及RSD( $n=5$ )

浓度 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
104	94.7 ± 3.9	4.2
416	103.6 ± 5.7	5.5
1040	99.2 ± 2.8	2.9

## 2 心脏移植受者血药浓度监测

心脏移植患者,女,54岁,于2003年8月29日进行心脏移植手术,免疫抑制剂的使用为新赛斯平胶囊(CsA胶囊)、泼尼松、骁悉(霉酚酸酯, mycophenolatemofetil, MMF, RS 61443)的三联用药,其中服用CsA胶囊200~300  $\text{mg}/\text{d}$ ,经本法测定全血中CsA谷浓度最低为85.7  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,最高为618.0  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,平均谷浓度为278.3  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。通过分析,认为最低浓度是因为术后患者各机能未恢复,药物吸收少,而最高浓度的产生在术后第10天,是因为给药次数增加。CsA的给药剂量与浓度见表3。

表3 术后两星期内CsA的给药剂量与浓度

Tab 3 Dosage and concentration of CsA

日期	免疫抑制剂使用情况	CsA谷浓度 $/\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
30/08	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 25mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	134.9
31/08	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 25mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	85.7
01/09	CsA 150mg, Bid; 泼尼松 25mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	237.6
02/09	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 20mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	472.7
03/09	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 20mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	411.9
04/09	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	133.1
05/09	CsA 100mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	208.7
06/09	CsA 150mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	116.0
07/09	CsA 150mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	355.9
08/09	CsA 100mg(早), 150mg(晚); 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	618.0
09/09	CsA 100mg(早), 150mg(晚); 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	562.8
10/09	CsA 100mg(早), 150mg(晚); 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	177.0
11/09	CsA 100mg(早), 150mg(晚); 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	292.4
12/09	CsA 100mg(早), 150mg(晚); 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	240.8
13/09	CsA 125mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	204.4
15/09	CsA 125mg, Bid; 泼尼松 15mg, Bid; 骁悉 0.5, Tid	200.9

## 3 讨论

3.1 药物浓度测定方法 在HPLC方法中,经多次研究,找到最佳流动相组成,即乙腈-甲醇-水(6:2:2),使得CsA与CsB能很好分离。柱温越高,峰形越好,但为保护色谱柱及保证基线的稳定,我们选择柱温为68℃。在碱化血样研究中,发现氢氧化钠溶液浓度越高(从0.1~1  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列浓度实验),绝对回收率越高,但色谱图中杂峰较多,干扰主峰,实验结果分析,认为0.2  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度较好。本方法单步萃取、试剂普遍易得,测定周期短,用CsB做内标,报道较少见。与其他方法相比有简便、快速,数据准确、可靠等特点,可以有效地指导CsA的临床应用,提高医疗质量。

3.2 CsA血药浓度监测 目前,临床上常用的免疫抑制剂克服心脏排斥反应,我院为确保首例心脏移植手术成功及术后病人生活质量,对受者采取了术前、术中及术后予以CsA,泼尼松和骁悉三联药物治疗,并每日进行全血药物谷浓度监测,依据监测数据进行药物剂量调整,术后第14天谷浓度稳定在200~300  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,受者未出现急性排斥反应。结合有关资料,我们认为在心脏术后3个月内,CsA血药谷

浓度维持在  $200 \sim 300 \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  内较适宜。

## 参考文献

- [1] 李家泰. 临床药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 1327.
- [2] 陈新德, 金有豫. 新编药理学[M]. 第14版. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 537.
- [3] 张毕奎, 李焕德. 单步萃取高效液相色谱法测定全血 CsA 浓

度及在肝、肾移植患者中的应用[J]. 中国临床药理学杂志, 1999, 8(6): 357.

- [4] 任斌, 黎曙霞, 陈孝, 等. 反相高效液相色谱法测定环孢素 A 血药浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(8): 407.
- [5] 王启斌, 涂自良, 王峰, 等. 液相色谱-电喷雾质谱联用测定器官移植患者全血中环孢 A [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(4): 217.

收稿日期: 2004-05-19