

高效液相色谱法测定吡喹酮在脑囊虫病人脑脊液中的浓度及药代动力学参数

陈轶兰 王友茹 汤仲明 贾军英 朱跃先 周南

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京)

(解放军 268 医院, 北京)

〔摘要〕 作者建立了高效正相色谱法, 测定脑囊虫病人脑脊液和血浆吡喹酮浓度。色谱柱为Partisil Si (Whatman); 用环己烷:乙酸乙酯:四氢呋喃:甲醇=52.3:38.0:4.7:5.0流动相洗脱, 流速为0.8ml/min; 用RF-530型荧光检测器检测吡喹酮峰, λ_{ex} 260nm, λ_{em} 285nm。检测限为100ng。人脑脊液吡喹酮浓度, 至今未报道过。文中还列出了脑脊液和血浆吡喹酮药代动力学参数。

吡喹酮是治疗脑囊虫病的新药。脑囊虫病严重影响劳动力, 甚至危及生命。目前文献中未见有脑脊液吡喹酮药代动力学报道, 因此各医院治疗方案不统一。本研究目的是测定脑脊液中吡喹酮浓度, 计算其药代动力学参数。

现有文献中只有血浆和尿中吡喹酮含量测定方法^[1-3]。为要研究脑脊液吡喹酮药代动力学, 我们建立了高效正相色谱法, 测定了脑囊虫病人多次口服吡喹酮(20mg/kg)后脑脊液中药物浓度, 并依此计算了脑脊液中吡喹酮代谢动力学参数。这些参数对于临床医生了解吡喹酮的作用机理, 设计最佳治疗方案和进行临床监测, 实现治疗个体化, 具有重要参考价值。为了求出脑脊液与血浆浓度间关系, 以便通过血浆浓度估算脑脊液浓度, 我们又同时测定了血浆浓度。

实验部分

(一) 色谱条件

采用Partisil Si硅胶柱(8—10 μ m, 250 \times 4mm, Whatman); 以环己烷:乙酸乙酯:四氢呋喃:甲醇=52.3:38.0:4.7:5.0的混合溶剂为流动相, Waters 510型输液泵, 流速为0.8ml/min; RF-530型荧光分光检测器(岛津, 日本), 激发波长 λ_{ex} 260nm, 发射

波长 λ_{em} 285nm, rang 4, sens H 2; 台式自动平衡记录仪(上海大华仪表厂), 5mV量程。

(二) 标本采集

由于不能在同一病人身上取脑脊液作动态观察, 因此将病人按采样时间点(即第七次服药前、药后1, 2, 4, 6和8小时)分六组, 每组6—7人, 每人同时取一次脑脊液和血液, 构成群体脑脊液吡喹酮浓度—时间和血浆吡喹酮浓度—时间两条曲线。

(三) 制取吡喹酮标准曲线

取脑囊虫病人的空白脑脊液和血浆各1.0ml, 分别加入0.1—1.69 μ g吡喹酮甲醇液, 1滴1mol/L NaOH水溶液, 少许固体无水硫酸钠, 摇匀。加2ml无水乙醚, 摇200次, 必要时离心。取出醚层, 再用2ml乙醚提取一次, 合并醚液, 在40 $^{\circ}$ C水浴中挥干。残渣用流动相溶解, 供色谱分析用, 并求出线性回归方程。

(四) 体液样品处理

取脑囊虫病人服药后的脑脊液和血浆各1.0ml, 加1滴NaOH溶液等, 按标准曲线制取处理。将色谱所得峰高, 代入标准线性回归方程, 计算脑脊液和血浆吡喹酮含量。

结果和讨论

(一) 色谱图 从图中看到, 脑囊虫病

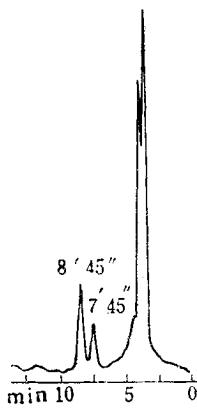


图 1 服药后脑脊液吡喹酮的色谱图

人口服吡喹酮后 1 小时，在脑脊液中就能检测到吡喹酮原药，其保留时间为 7'45''，同时还检测到保留时间为 8'45'' 的吡喹酮代谢物，且变化规律与原药相似，只是峰值时间滞后一些，同样血浆中也有这两个峰。为了证实代谢物峰，我们将吡喹酮原药在狗和兔肝匀浆中放置一定时间后，结果也都出现相同保留时间的代谢物峰。图中 3—5 分钟处的峰为内源性荧光物质，不干扰药物定量。

(二) 吡喹酮标准曲线 为了操作方便，对不同体液采用同一处理方法。脑脊液中吡喹酮量在 0.188—0.94 μg/ml 时相关系数 $\gamma = 0.997$, $a = -0.0210$, $b = 0.0315$ ；血浆中量为 0.188—1.69 μg/ml, $\gamma = 0.999$, $a = -0.0217$, $b = 0.0195$ ，这说明两条标准曲线的线性关系好，具有良好的定量基础。

(三) 定量回收率 在绘制脑脊液和血浆吡喹酮标准曲线的同时，直接注射对应量吡喹酮标准液进行色谱分析，以计算提取回收率。测得脑脊液中吡喹酮提取回收率为 $89.3 \pm 1.63\%$ ，比血浆中的 $97.6 \pm 2.38\%$ ($n = 4$) 低，这也许与脑脊液中含脂肪类物质多，振荡时产生乳化有关。但从数据看，两者提取回收率都比较高。

(四) 日间定量重复性 临床群体药代动力学研究所需时间比在同一个体上的长得多，这就增加了方法学研究的难度。为了使累积数据间具可比性，在每次测定时都要分

别测定三个浓度脑脊液和血浆吡喹酮标准曲线，分别将这三点回收率取平均值，在半年内统计了 6 次实验的变异系数，脑脊液中的变异系数为 $CV = 4.1\%$ ，血浆中的为 $CV = 4.0\%$ ，根据有关文献报道^[4]，临床检验的日间定量变异系数应控制在 5.0% 以内，以保证群体药物浓度的定量精确度和准确度。

(五) 脑脊液和血浆吡喹酮浓度及两者间的关系 在测脑脊液药物浓度时，相应地测定了各时间点血浆吡喹酮浓度(表 1)，以便在常规监测时利用血药浓度估算脑脊液药浓度。通过配对 t 测验表明所有测定时间的脑脊液浓度都显著地低于血浆的，且同一个体脑脊液药浓度与血浆药浓度间呈线性关系 ($\gamma = 0.87$, $P < 0.01$, $C_{CSF} = 0.079 + 0.19C_P$; C_{CSF} 表示脑脊液浓度, C_P 表示血浆浓度)，由血浆浓度估算脑脊液浓度，实现治疗个体化。

表 1 服药后不同时间脑脊液和血浆吡喹酮浓度

服药后时间* (hr)	病例数	脑脊液 (μg/ml)	血浆 (μg/ml)	P (配对)
7-0	6	0.10 ± 0.06	0.17 ± 0.16	0.01
7-1	6	0.13 ± 0.04	0.39 ± 0.41	0.01
7-2	7	0.27 ± 0.23	0.93 ± 0.29	0.05
7-4	6	0.17 ± 0.18	0.38 ± 0.35	0.01
7-6	6	0.13 ± 0.08	0.23 ± 0.20	0.001
7-8	6	0.12 ± 0.11	0.20 ± 0.22	0.001

* 第七次服药后取血时间

(六) 脑脊液和血浆吡喹酮药代动力学参数 表 2 所载各动力学参数是按多剂量有滞后时间的一房室一级吸收开放式模型，用自编的非线性最小二乘法拟合程序计算的。表 2 中脑脊液吡喹酮消除半衰期 ($t_{1/2Ke}$) 8.91 小时，大于血浆中的 2.86 小时，血浆中的消除半衰期与有关文献报道的 2.5 小时^[5] 较接近，说明用群体均数研究药代动力学是可行的，并首次证明脑囊虫病人口服吡喹酮后，该药能通过血脑屏障进入脑脊液，平均通过时间 (MRT) 为 0.3 小时，而且脑脊液吡喹酮浓度低于血浆浓度。根据吡喹酮对体外囊蚴杀死作用，结合本研究测得的治疗浓度和药代动力

表 2 吡嗪酮在脑囊虫病人中的药代动力学参数

参数名称	血浆	脑脊液
吸收半衰期 $t_{1/2}(K_a)$ (h)	0.059	0.16
消除半衰期 $t_{1/2}(K_e)$ (h)	2.86	8.91
分布容积/生物利用度 $V/f(L/kg)$	23.0	212.4
滞后时间Log time(h)	0.98	0.99
峰值时间 $T_p(a)$	1.31	1.92
峰值浓度 $C_{max}(\mu g/ml)$	0.80	0.09
曲线下面积 $Auc(\mu g/ml)$	3.59	1.21
平均通过时间MRT(h)	2.27	2.56
稳态峰值时间 $T_p(ss)$	1.30	1.75
稳态峰浓度 $C_{max}(ss)$ ($\mu g/ml$)	0.938	0.191
稳态谷浓度 $C_{min}(ss)$ ($\mu g/ml$)	0.149	0.111
平均峰浓度 $C(ss)(\mu g/ml)$	0.448	0.151

学参数, 推算出最佳治疗方案为 80mg/kg/日, 6—8小时口服一次, 6—10天为一个疗程(过去的方案为 60mg/kg/日, 8小时服一次, 3天一个疗程)。这些资料将有助于临床医生安全有效地用药, 268 医院等单位试用这个方案已一年多了。

参 考 文 献

(1) K. Patzschke et al., *Europ J. Drug Metab Pharmacokinet.*, 4(3), 149(1979).

(2) J. Putter, *Europ J. Drug Metab Pharmacokinet.*, 4(3), 143(1979).
 (3) H. W. Diekmann, *Europ J. Drug Metab Pharmacokinet.*, 4(3), 139(1979).
 (4) 吴如金等, 《体内药物分析》, 人民卫生出版社, 北京, P.28, 1984.
 (5) P. Andrews, P. Thomas, R. Pohlke et al., *Med. Res. Rev.*, 3, 147(1983).

(收稿日期: 1988年4月2日)

Determination of the Concentration and the Pharmacokinetic Parameters of Praziquantel in the CSF of Cerebral Cysticercosis Patients by High Performance Liquid Chromatography *Chen Yilan, Wang Youyu, Tang Zhongming, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing, Jia Jinying, Zhu Yuexian and Zhou Nan, No.268 Hospital of the Chinese Peoples Liberation Army, Beijing*

A normal phase high performance liquid chromatographic (HPLC) method was developed for the determination of praziquantel in plasma and cerebral spinal fluid (CSF) of cerebral cysticercosis patients. The column (Partisil Si, Whatman) was eluted with the mobile phase, cyclohexane: THF:EtOAc:MeOH=52.3:4.7:38.0:5.0 at 0.8ml/min. The peaks of praziquantel were monitored using the Model RF-550 fluorescence detector (SHIMADZU, Japan) at λ_{ex} 260nm and λ_{em} 285nm. The limit of detection was found to be 100ng. The concentration of praziquantel in human CSF, so far, has not been reported. The concentration and pharmacokinetic parameters of praziquantel in neurocysticercosis are listed in this paper.

(上接79页)
 55, 12(1983).
 (5) Dionex Corporation Basic Ion Chromatography, 1983.
 (6) 陈存之、郭汉文, 离子色谱分析报告会汇编, 沈阳, 1987.
 (7) G. J. Sevenich, J. S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 347, 147(1985).
 (8) Chen Cunzhi, Guo Hanwen, Proceedings of Second Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis, Beijing, China, P.889, 1987.
 (9) Toyo Soda Manufacturing Co. Ltd. "Ion Chromatography System—Principle and Application", Tokyo, Japan, 1983.
 (10) 东洋曹达工业株式会社 HLC Sepn. Report TSK-GEL, No 041 イオンクロマトグラフィソ的实际, 东京, 日本, 1983.
 (11) Dionex Corporation, Dionex Tech. Note,

10R, Sunnyvale, CA94086, USA, 1983.
 (12) F. R. Nordmeyer, D. J. Eatough, D. K. Rollins, J. D. Lamb, *Anal. Chem.*, 52, 852 (1980).
 (13) Biotronik Compang, IC5000 Operation Manual, 1985.
 (14) Wang Wang-nang, Chen Yeong-igi and Wu Mou-tai, *The Analyst*, 109, 281(1984).
 (15) S. Elchuk, R. M. Cassidy, *Anal. Chem.*, 51, 1434(1979).
 (16) A. Mazzucotelli, A. Dodone, *J. Chromatogr.*, 349, 187(1985).
 (17) Dionex Corporation, Application Updat AU 101 USA, November 1985.
 (18) Dionex Corporation, Product Information, USA, 1983.
 (19) R. M. Cassidy, S. Elchuk, *J. Chrom. Sci.*, 18, 217(1980).

(收稿日期: 1987年8月18日)