

人血浆中乌苯美司液相色谱-质谱联用法快速测定及其药动学研究

徐风华¹, 黄 明^{2*}

1. 苏州科技城医院 药学部, 江苏 苏州 215153

2. 苏州大学附属第二医院 药学部, 江苏 苏州 215004

摘要: **目的** 采用液相色谱-质谱联用法 (LC-MS/MS) 测定人血浆中乌苯美司的药物浓度, 并应用于健康受试者体内药动学研究。**方法** 以文拉法辛为内标, 血浆样品经甲醇沉淀蛋白后, 以甲醇-醋酸铵 (2 mmol·L⁻¹, 含 0.2% 甲酸) 水溶液 (50:50) 为流动相, Waters 公司 XTerra[®] MS C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱分离, 体积流量为 900 μL·min⁻¹, 每个样品的分析时间为 4.20 min。样品经电喷雾离子源正离子化后, 通过三重四极杆串联质谱仪, 在多反应监测模式下测定乌苯美司 (*m/z* 309.3→120.2) 和内标文拉法辛 (*m/z* 278.2→215.1) 的浓度。20 名受试者空腹口服乌苯美司胶囊 20 mg, 250 mL 温开水送服, 于用药前和用药后 10、20、30、45 min 及 1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0 h 由肘静脉取血 3 mL, 制备血浆, 按建立的 LC-MS/MS 法测定血浆中乌苯美司浓度, 计算药动学参数。**结果** 乌苯美司的血浆质量浓度在 1.0~2 500.0 ng·L⁻¹ 范围内线性关系良好, 定量下限为 1.000 ng·mL⁻¹, 批内、批间精密度 (RSD) 均在 2.2%~5.1%, 相对偏差 (RE) 在 ±15% 范围内。乌苯美司血浆样品室温放置 24 h, 反复冻融 (-20 °C) 3 次及冰冻 (-20 °C) 保存 50 d 的情况下均稳定。健康受试者空腹口服乌苯美司胶囊 20 mg 后, 血浆中乌苯美司的达峰浓度 (*C*_{max}) 为 (1 375±298) ng·mL⁻¹, 药时曲线下面积 (AUC_{0~10 h}) 为 (2 106±296) h·ng·mL⁻¹, AUC_{0~∞} 为 (2 116±299) h·ng·mL⁻¹, 半衰期 (*t*_{1/2}) 为 (1.38±0.20) h, 达峰时间 (*t*_{max}) 为 (0.71±0.23) h。**结论** 建立的 LC-MS/MS 分析方法简便、选择性高、灵敏度高, 可用于受试者空腹口服 20 mg 乌苯美司胶囊后血浆样品中乌苯美司的药动学研究, 乌苯美司胶囊口服吸收迅速, 0.71 h 后血药浓度可达峰值。

关键词: 乌苯美司; 血药浓度; 高效液相-串联质谱方法; 药动学; 健康受试者

中图分类号: R285.61 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 02-0390-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.02.021

Rapid determination of ubenimex in human plasma by LC-MS/MS and its application to pharmacokinetics study

XU Fenghua¹, HUANG Ming²

1. Department of Pharmacy, The Suzhou Science & Technology Town Hospital, Suzhou 215153, China

2. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China

Abstract: Objective To establish an LC-MS/MS method for the determination of ubenimex, which was used subsequently to investigate the pharmacokinetics of ubenimex in healthy Chinese volunteers. **Methods** Venlafaxine was used as internal standard. Following a deproteinization procedure, ubenimex and the internal standard venlafaxine were eluted isocratically using a mobile phase containing of methanol-2 mmol·L⁻¹ ammonium acetate and 0.2% formic acid aqueous solution (50:50) at a flow rate of 900 μL·min⁻¹ within 4.20 min. The analysis was carried out by using Waters XTerra[®] MS C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). Ubenimex and the internal standard were measured by a triple-quadrupole mass spectrometer in positive electron electronic spray ion (ESI) mode using multiple reaction monitoring (MRM). The extracted ions monitored following MRM transitions were *m/z* 309.3→120.2 for ubenimex and *m/z* 278.2→215.1 for the internal standard venlafaxine. Twenty subjects took orally 20 mg of Ubenimex Capsule on an fasted state, 250 mL of warm boiled water, and took 3 mL of blood from the elbow vein before administration and 10, 20, 30, 45 minutes and 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 h after administration, to prepare plasma. The concentration of ubenmex in plasma was determined by the established LC-MS/MS method, and the pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** The

收稿日期: 2022-10-15

基金项目: 苏州市药学会-江苏恒瑞临床药学科研基金项目 (Syhky201807)

第一作者: 徐风华, 女, 主管药师, 研究方向为医院药学。E-mail: holxyxfh@163.com

*通信作者: 黄 明, 男, 副主任药师, 研究方向为医院药学。E-mail: dreamboyhmm@163.com

calibration curve of ubenimex in human plasma was linear over the concentration range of (1.0—2 500.0) ng·mL⁻¹. The lower limit of quantitation was 1.000 ng·mL⁻¹. The intra- and inter-run precisions at three quality control levels were within 2.2%—5.1%, the relative deviation of the assay was within -15.0%—15.0%. The plasma samples were stable at room temperature for 24 h, at -20 °C for 50 days and during three freeze-thaw cycles. After the healthy subjects took Ubenimex Capsule 20 mg on an fasted state, the main pharmacokinetic parameters of ubenimex were as follows: $C_{\max}$ was (1 375 ± 298) ng·mL⁻¹, AUC_{0-10h} was (2 106 ± 296) h·ng·mL⁻¹, $AUC_{0-\infty}$ was (2 116 ± 299) ng·h·mL⁻¹, $t_{1/2}$ was (1.38 ± 0.20) h, $t_{\max}$ was (0.71 ± 0.23) h. **Conclusion** The method was proved to be convenient, accurate and sensitive. The method was proved to be suitable for the pharmacokinetics of ubenimex in healthy Chinese volunteers after a single oral dose of 20 mg Ubenimex Capsule. Ubenimex Capsule were rapidly absorbed by oral administration, and the blood drug concentration reached the peak after 0.71 hours.

Key words: ubenimex; plasma concentration; LC-MS/MS; pharmacokinetics; healthy Chinese volunteers

乌苯美司是二肽化合物,主要来源于链霉菌的培养液,可抑制氨肽酶B及亮氨酸胺酶和半胱天冬酶等,药理作用明确,可使免疫功能增强,临床主要用途为肿瘤治疗时辅助用药,或者用于治疗老年性免疫功能缺陷等^[1-2]。乌苯美司抗癌作用包括2个方面,首先,乌苯美司能够抑制肿瘤细胞表面亮氨酸氨基肽酶和氨基肽酶B、N作用,抑制肿瘤细胞增殖,抑制肿瘤细胞的方式包括凋亡、干扰代谢。其次,乌苯美司可以使人体细胞免疫功能激活,刺激细胞因子的分泌,进而促进抗肿瘤效应细胞的产生和增殖^[3-4]。1987年,乌苯美司在日本正式上市。

药动学和仿制药一致性评价中,均通过测定药物的药动学参数来评价,药物的检测分析显得非常重要。乌苯美司生物样品的内源性物质较多、基质干扰多,同时样品体积量相对较少,待测物质的浓度一般都是纳克级别,因此,对生物样品待测物与杂质的分离显得尤为重要,需要建立1种灵敏度较高、选择性强的乌苯美司含量分析方法。本研究拟建立简便、快捷的液相色谱-质谱联用法(LC-MS/MS)测定人血浆中乌苯美司的浓度,并考察20 mg剂量下乌苯美司在人体内的代谢特征,为临床更合理安全用药提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

高效液相质谱联用仪:美国Agilent1200高效液相色谱仪;美国AB Sciex Turboionspray®电喷雾离子源;美国AB Sciex API4000三重四极杆串联质谱仪;数据采集软件Analyst(版本号为1.6);XS105DU型天平,瑞士METTLER TOLEDO。

1.2 对照品与化学试剂

乌苯美司对照品,中国食品药品检定研究院,批号为100371-200802,质量分数为99.7%;盐酸文拉法辛对照品,重庆医药工业研究院有限责任公司,批号为0501191,质量分数为99.3%;乙酸铵,AR

级,南京化学试剂有限公司提供;甲醇和甲酸,HPLC级,TEDIA COMPANY提供;灭菌注射用水,双鹤药业有限公司提供。

1.3 试验药物

乌苯美司胶囊(浙江普洛康裕制药有限公司,质量分数97.0%,规格每粒10 mg,批号20101002)。

2 方法

2.1 液相色谱和质谱条件

2.1.1 液相色谱条件 使用C₁₈色谱柱(品牌WATERS,系列XTerra® MS,规格150 mm×4.6 mm, 5 μm),C₁₈保护柱(品牌Phenomenex,系列Security Guard™,规格4 mm×3.0 mm);流动相为甲醇-醋酸铵(2 mmol·L⁻¹,含0.2%甲酸)水溶液(50:50),流动相体积流量为900 μL·min⁻¹;每个样品运行时间4.2 min;进样体积为15 μL;柱温为40 °C。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾电离源(ESI),MRM多反应模式,正离子监测;乌苯美司母离子和子离子 m/z 分别为309.3和120.2,内标文拉法辛母离子 m/z 为278.2,子离子 m/z 为215.1,去簇电压(DP)分别为60 V和50 V,碰撞能量(CE)分别为28 V和24 V。离子源温度为650 °C,雾化气加热辅助气均使用氮气,参数分别为413.7、344.75 kPa。

2.2 工作溶液配制

2.2.1 乌苯美司标准曲线样品储备液 称量10.03 mg乌苯美司对照品(折算后为10.00 mg乌苯美司),转移至10 mL量瓶中,用甲醇溶解、定容,混匀后,乌苯美司标准曲线储备液质量浓度为1.00 mg·mL⁻¹。

2.2.2 乌苯美司标准曲线样品工作溶液 用甲醇为稀释剂,分别配制单独的不同质量浓度乌苯美司标准曲线样品工作溶液,最终目标质量浓度分别为0.02、0.06、0.20、0.60、2.00、6.00、20.00、50.00 μg·mL⁻¹。

2.2.3 乌苯美司质控样品储备液 称量10.03 mg乌苯美司对照品(含量折算后为10.00 mg乌苯美司),转移至10 mL量瓶中,用甲醇溶解、定容,混匀

后,乌苯美司质控储备液质量浓度为 $1.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.4 乌苯美司质控样品工作溶液 用甲醇为稀释剂,分别配制单独的不同质量浓度质控样品工作溶液,最终目标浓度分别为 0.04 、 1.60 、 $40.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。同时用甲醇稀释剂配制乌苯美司定量下限工作溶液,最终目标质量浓度为 $0.02\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.5 内标文拉法辛储备液和工作溶液 称取 11.40 mg 盐酸文拉法辛对照品(含量折算后为 10.00 mg 文拉法辛),转移至 10 mL 量瓶中,用甲醇为稀释剂、定容混匀后,目标质量浓度为 $1.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标(文拉法辛)储备液。移取内标文拉法辛储备液,以甲醇为稀释剂,配制成目标质量浓度为 $0.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标文拉法辛工作溶液。

2.3 标准曲线和质控血浆样品配制和处理

定量吸取 $200\text{ }\mu\text{L}$ 空白血浆样品,转移于 1.5 mL 离心管中,加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ 乌苯美司标准曲线或质控工作溶液,涡旋混匀,加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 内标文拉法辛工作溶液,再加入 $600\text{ }\mu\text{L}$ 蛋白沉淀剂(甲醇),振荡混匀约 1 min , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 10 min ($23\text{ }755\times g$)。向洁净进样瓶中加入稀释剂 $100\text{ }\mu\text{L}$ 超纯水,再转移加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 离心后上清液,混匀后,于LC-MS/MS系统中分析。

2.4 待测血浆样品处理和测定

定量吸取 $200\text{ }\mu\text{L}$ 未知浓度待测血浆样品,转移于 1.5 mL 离心管中,加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ 甲醇补足体积,涡旋混匀,加入 $50\text{ }\mu\text{L}$ 内标文拉法辛工作溶液,再加入 $600\text{ }\mu\text{L}$ 蛋白沉淀剂(甲醇),振荡混匀约 1 min , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下离心 10 min ($23\text{ }755\times g$)。向洁净进样瓶中加入稀释剂 $100\text{ }\mu\text{L}$ 超纯水,再转移加入 $100\text{ }\mu\text{L}$ 离心后上清液,混匀后,于LC-MS/MS系统中分析。

2.5 人体药动学临床服药采血设计

本研究方案经苏州大学附属第二医院医学伦理委员会审核批准[伦理批件号(2011)伦字第(12)号]。20名健康受试者为本研究招募,均签署知情同意书,年龄为(21 ± 2)岁,身高为(1.715 ± 0.049)m,体质量为(63.0 ± 4.4)kg,肝肾功能正常。20名受试者空腹口服乌苯美司胶囊 20 mg , 250 mL 温开水送服,于用药前和用药后 10 、 20 、 30 、 45 min 及 1.0 、 1.5 、 2.0 、 3.0 、 4.0 、 6.0 、 8.0 、 10.0 h 由肘静脉取血 3 mL ,所有血浆样品置肝素化采血管中,离心($2\text{ }304\times g$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min),分离上层血浆,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,待测。采用DAS 3.2.9软件计算并分析药动学参数。其中,达峰浓度(C_{max})和达峰时间(t_{max})均以实测值表示。药时曲线下面积($\text{AUC}_{0\sim 10\text{ h}}$)用梯形法计

算, $\text{AUC}_{0\sim\infty}$ 按 $\text{AUC}_{0\sim\infty}=\text{AUC}_{0\sim 10\text{ h}}+C_t/\lambda_z$ (C_t 为最后一个时间点的血药浓度, λ_z 为末端消除速率常数,以对数血药浓度-时间曲线末端直线部分的斜率求得)。半衰期($t_{1/2}$)用公式 $t_{1/2}=0.693/\lambda_z$ 计算。

3 结果

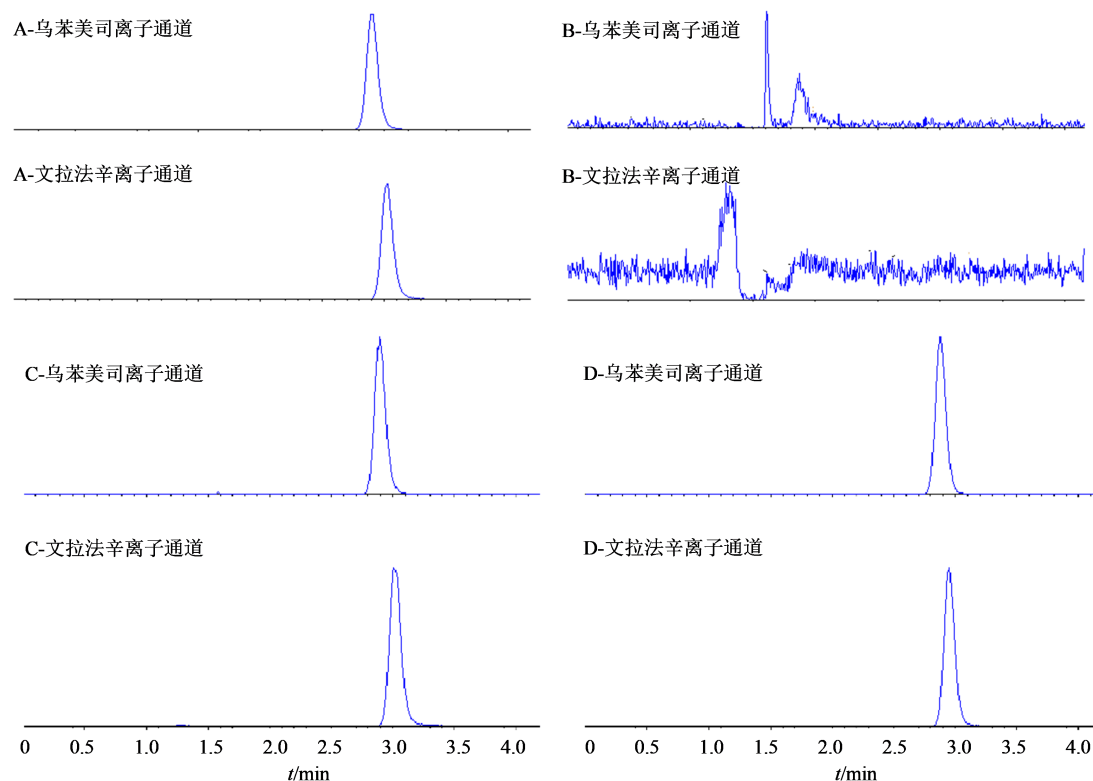
3.1 方法学考察结果

3.1.1 专属性考察 分别取乌苯美司和内标文拉法辛对照品溶液样品、空白血浆按“2.4”项方法处理后样品、 $200\text{ }\mu\text{L}$ 空白血浆和乌苯美司对照品溶液($2.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $10\text{ }\mu\text{L}$ 混匀后按“2.4”项方法操作后样品、受试者空腹口服乌苯美司胶囊 20 mg 后 4.0 h 的血浆按“2.4”项方法操作后样品分别进样测定。LC-MS/MS图谱见图1-A~D,结果表明乌苯美司和内标(文拉法辛)的保留时间分别为 2.9 、 3.0 min ,血浆中内源性物质不干扰乌苯美司和内标(文拉法辛)色谱峰,不影响乌苯美司浓度的测定。

3.1.2 标准曲线与最低定量限 定量吸取 $200\text{ }\mu\text{L}$ 空白血浆样品,转移于 1.5 mL 离心管中,加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ 乌苯美司标准曲线工作溶液,配制乌苯美司血浆标准曲线样品,各血浆样品中乌苯美司质量浓度分别为 1.0 、 3.0 、 10.0 、 30.0 、 100.0 、 300.0 、 $1\text{ }000.0$ 、 $2\text{ }500.0\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,按“2.3”项方法操作,于LC-MS/MS系统中分析。定量方法:采用标准曲线非零样品分析物和内标峰面积之比[乌苯美司峰面积(A_s)与内标(文拉法辛)峰面积(A_i)比值]与配制质量浓度进行最小二乘法线性回归。结果显示:标准曲线方程 $Y=0.008\text{ }61\text{ }C+0.002\text{ }43$ ($r=0.999\text{ }3$),血浆基质中乌苯美司的线性范围为 $1.0\sim 2\text{ }500.0\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.1.3 精密度与准确度考察 定量取 $200\text{ }\mu\text{L}$ 空白血浆样品,转移于 1.5 mL 离心管中,依次加入 $10\text{ }\mu\text{L}$ 乌苯美司最低定量限工作溶液或3种不同质量浓度的质控工作溶液,工作溶液质量浓度依次为 0.02 、 0.04 、 1.60 、 $40.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,配制血浆最低定量限和质控样品,乌苯美司质量浓度分别为 1.00 、 2.00 、 80.00 、 $2\text{ }000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。通过至少3个分析批,且至少 2 d 进行,每批用4个质量浓度水平的质控样品的平行6份样品来评估批间准确度和精密度,以标准曲线计算测定浓度。结果低、中、高3种质量浓度水平乌苯美司质控样品的批内、批间相对标准偏差(RSD)小于 15% ,最低定量限浓度水平乌苯美司质控样品的批内、批间RSD小于 20% ,质控样品的批内和批间的精密度和准确度均符合生物样品接受标准。结果见表1。

3.1.4 提取回收率 (1)经提取血浆样品:使用质



A-乌苯美司和文拉法辛对照品溶液; B-空白血浆; C-空白血浆+乌苯美司对照品溶液; D-受试者空腹口服乌苯美司胶囊20 mg后4.0 h的血浆样品

A-standard solution of ubenimex and venlafaxine; B-blank plasma; C-blank plasma + standard solution of ubenimex; D-plasma sample of subject-sat 4.0 h after oral administration of Ubenimex Capsule after being fasted

图1 血浆中乌苯美司的LC-MS/MS图

Fig. 1 LC-MS/MS chromatograms of ubenimex in plasma

表1 乌苯美司定量分析精密度与准确度试验结果

Table 1 Test results of precision and accuracy of quantitative analysis of ubenmex

理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	批内批间实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	批间RSD/%	批内RSD/%	RE/%
1.00	1.04±0.06	3.6	5.6	3.7
2.00	2.02±0.10	2.2	5.1	1.1
80.00	78.56±2.44	5.1	2.6	-1.8
2 000.00	1 999±60	3.4	2.9	-0.1

控样品质量浓度,血浆样品中乌苯美司的质量浓度分别为2.00、80.00、2 000 ng·mL⁻¹,平行6份样品,按“2.3”项方法处理,于LC-MS/MS系统中分析,对色谱图积分处理,计算乌苯美司和内标文拉法辛各自的峰面积。(2)未经提取血浆样品:使用质控样品质量浓度,低、中、高3种质量浓度,同一种质量浓度样品平行制备6个。吸取空白血浆,使用甲醇沉淀蛋白后,取尽上清液,加入10 μL 乌苯美司质控工作溶液,再加入50 μL 内标文拉法辛工作溶液,混匀,吸取100 μL与水相100 μL,混匀后进样测定,对色谱图积分处理,计算乌苯美司和内标文拉法辛各自的峰面积。计算经提取血浆样品和未经提取血浆

样品乌苯美司峰面积比值,同时计算内标文拉法辛峰面积比值。根据乌苯美司峰面积比值,计算血浆中乌苯美司不同质量浓度的提取回收率,根据内标文拉法辛峰面积比值计算内标的提取回收率。结果显示:血浆中乌苯美司低、中、高3个质量浓度的提取回收率依次为(98.7±2.8)%(n=6)、(95.3±3.2)%(n=6)、(96.3±2.8)%(n=6);内标文拉法辛的提取回收率为(103.3±2.3)%(n=18)。

3.1.5 基质效应 血浆基质样品:精密吸取6个不同来源空白血浆200 μL,置于1.5 mL塑料离心管中,加入600 μL 甲醇沉淀蛋白,涡旋1 min,2~8℃离心(23 755×g)10 min,取出上清液,用作血浆基

质, 体积为 700 μL 。纯溶液非基质样品: 精密吸取超纯水 200 μL , 置于 1.5 mL 塑料离心管中, 处理方法与处理血浆基质样品相同, 得到纯溶液非基质样品。取血浆基质或纯溶液非基质样品 700 μL , 加入乌苯美司质控工作溶液 10 μL (低、中、高 3 个质量浓度) 和内标文拉法辛工作溶液 50 μL , 混匀。转移吸取上述溶液 100 μL 与 100 μL 超纯水, 振荡混匀。于 LC-MS/MS 系统中分析测定, 获乌苯美司和内标(文拉法辛)峰面积。待测物和内标的基质效应因子(MF), 是用每个来源的空白基质提取后加样而得到的样品中的待测物或内标的峰面积, 除以相应浓度的纯溶液样品中待测物或内标的平均峰面积, 而计算得来的。内标归一化的 MF 由待测物的 MF 除以内标的 MF。内标归一化的 MF 的 RSD 应 $\leq 15.0\%$ 。血浆中乌苯美司低、中、高 3 个质量浓度的基质效应分别为 $(97.0 \pm 2.9)\%$ ($n=6$)、 $(103.6 \pm 1.8)\%$ ($n=6$)、 $(108.7 \pm 1.1)\%$ ($n=6$); 内标文拉法辛的基质效应为 $(97.9 \pm 2.6)\%$ ($n=18$)。低、中、高 3 个质量浓度平均内标归一化基质效应分别为 99.2%、105.9%、111.1%。

3.1.6 稳定性考察 考察血浆和储备溶液样品不同储存条件下乌苯美司的稳定性, 结果表明血浆样品中乌苯美司在室温白光条件下保存 24 h、 -20°C 条件下储存 50 d 和 -20°C 反复冻融循环(取出融化, 再放回 -20°C 冰箱) 3 次后, 每个质量浓度的样品检测结果的平均值相对于理论值的 RE 均在 $\pm 15.0\%$ 以内, 即血浆样品中乌苯美司仍稳定; 待测样品于液相自动进样器放置 24 h (设定温度为 8°C), 乌苯美司血浆样品经蛋白沉淀离心后, 上清液置于室温白光条件下放置 20 h, 血浆次级样品中乌苯美司仍稳定。乌苯美司和内标(文拉法辛)储备液置于室温白光条件下放置 12 h 和置于冷藏($2\sim 8^\circ\text{C}$) 保存 50 d 情况下, 乌苯美司和内标(文拉法辛)储备液均稳定。

3.2 人体药动学特征

应用本研究建立的分析方法, 测定 20 名受试者单剂量空腹口服 20 mg 乌苯美司胶囊后各时间点血浆样品中的乌苯美司质量浓度。结果显示, 受试者血浆样品中乌苯美司质量浓度为 $1.22\sim 1\,836.00\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 均在线性范围内。获得平均血药浓度-时间曲线见图 2, 主要药动学参数见表 2。健康受试者空腹口服乌苯美司胶囊 20 mg 后, 血浆中乌苯美司的 $C_{\max}$ 为 $(1\,375 \pm 298)\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0\sim 10\text{h}}$ 为 $(2\,106 \pm 296)\text{ h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0\sim \infty}$ 为 $(2\,116 \pm 299)\text{ h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2}$ 为 $(1.38 \pm$

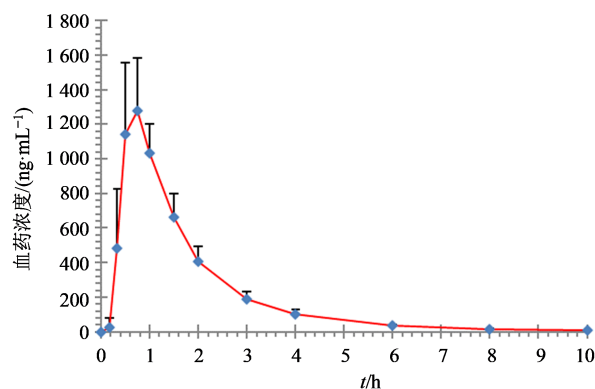


图2 单剂量口服乌苯美司胶囊后乌苯美司的平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of ubenimex after a single dose of 20 mg Ubenimex Capsule ($\bar{x} \pm s, n=20$)

表2 单剂量口服乌苯美司胶囊后乌苯美司的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n=20$)

Table 2 Main pharmacokinetic parameters of ubenimex after a single dose of 20 mg Ubenimex Capsule ($\bar{x} \pm s, n=20$)

参数/mg	单位	乌苯美司(20 mg)
$\text{AUC}_{0\sim 10\text{h}}$	$\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	$2\,106 \pm 296$
$\text{AUC}_{0\sim \infty}$	$\text{ng}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$	$2\,116 \pm 299$
$C_{\max}$	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1\,375 \pm 298$
$t_{\max}$	h	0.71 ± 0.23
$t_{1/2}$	h	1.38 ± 0.20
CL/F	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$	9.646 ± 1.456
V_d	L	19.03 ± 3.18

0.20) h, $t_{\max}$ 为 (0.71 ± 0.23) h。乌苯美司胶囊口服吸收迅速, 0.71 h 后血药浓度可达峰值。

4 讨论

现有文献报道, 测定血浆样品中乌苯美司浓度的方法主要有高效液相-紫外法(LC-UV)^[5-6]和 LC-MS/MS 法^[7-12]。血浆样品预处理方法有: ①沉淀吹干复溶法^[5,7]: 吹干、复溶等操作繁琐。②固相萃取法^[8-9]: 固相萃取色谱柱耗材成本较高。③沉淀蛋白法^[6,10-12]: 沉淀试剂包括甲醇、乙腈和高氯酸。LC-MS/MS 法具有选择性好和灵敏度高等诸多优点, 是小分子药物生物分析的首选方法。

本研究预处理方法中, 水相中加入醋酸铵, 可以改善乌苯美司和内标峰形。吸取 100 μL 超纯水与 100 μL 上清液混匀, 主要目的是防止二次化学平衡, 可以使乌苯美司色谱峰形减少拖尾, 同时混匀后进样, 样品中血浆生物基质减少, 可以降低基质

效应和减少液质联用仪、色谱柱被污染的可能。

本研究建立简便、快捷的LC-MS/MS法测定人血浆中乌苯美司的浓度,每个样品运行时间短,选择性高,发挥了LC-MS/MS法的快速定量优势。本研究定量下限为 $1.000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,低于文献报道^[5-12],为人血浆中乌苯美司浓度检测提供手段,可以满足大批量血浆样品检测的需要。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 倪隽,陈淑珍. 乌苯美司抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中国医药生物技术, 2018, 13(5): 448-451.
Ni J, Chen S Z. Research progresses on the anti-tumor activities of ubenimex [J]. Chin Med Biotechnol, 2018, 13 (5): 448-451.
- [2] 虞巧先,严伟民. 乌苯美司国内临床应用概况 [J]. 中国医师杂志, 2015(5):798-800.
Yu Q X, Yan W M. 乌苯美司国内临床应用概况 [J]. J Chin Physician, 2015(5):798-800.
- [3] 关红卫,李娟,孙锐,等. 乌苯美司对卵巢癌A2780细胞的生物学影响 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2019, 57 (12): 46-51.
Guan H W, Li J, Sun R, et al. Biological effects of ubenimex on ovarian cancer A2780 cell [J]. J Shandong Univ: Health Sci, 2019, 57(12): 46-51.
- [4] 黄智龙,刘帅,王建伟,等. 乌苯美司诱导肾癌细胞死亡的作用及机制 [J]. 山东大学学报: 医学版, 2015, 53(9): 58-64.
Huang Z L, Liu S, Wang J W, et al. Role and possible mechanism of autophagy in ubenimex-induced cell death of renal cell carcinoma [J]. J Shandong Univ: Health Sci, 2015, 53(9): 58-64.
- [5] 黄皓. HPLC法测定非小细胞肺癌患者乌苯美司的血药浓度 [J]. 中国医药导刊, 2013, 15(2): 365-366.
Huang H. HPLC method for the determination of plasma concentration of ubenimex in patients with small cell lung cancer [J]. Chin J Med Guide, 2013, 15(2): 365-366.
- [6] 葛庆华,马丽丽,支晓瑾,等. 乌苯美司在犬体内的药动学和绝对生物利用度 [J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37 (4): 248-251.
Ge Q H, Ma L L, Zhi X J, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ubenimex in beagle dogs [J]. Chin J Pharm, 2006, 37(4): 248-251.
- [7] 刘磊,佟学丰,徐鑫,等. LC-MS/MS法测定乌苯美司及甲氨蝶呤在临床药物相互作用中的应用 [J]. 中国现代医生, 2016, 54(30): 144-148.
Liu L, Tong X F, Xu X, et al. Application of LC-MS/MS in the determination of clinical pharmaceutical interaction of ubenimex and methotrexate [J]. China Mod Dr, 2016, 54(30): 144-148.
- [8] 王增,向瑾,余勤,等. HPLC-MS/MS法测定人血浆中乌苯美司浓度 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2012, 43(4): 609-611, 630.
Wang Z, Xiang J, Yu Q, et al. Determination of ubenimex in human plasma by HPLC-MS/MS [J]. J Sichuan Univ Med: Sci Ed, 2012, 43(4): 609-611, 630.
- [9] 向瑾,苗佳,余勤,等. 乌苯美司胶囊人体药代动力学和生物等效性试验 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(6): 644-646, 657.
Xiang J, Miao J, Yu Q, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of ubenimex capsule in healthy volunteers [J]. Chin J New Drugs, 2012, 21(6): 644-646, 657.
- [10] Sun Y G, Zhang S H, He L E, et al. Determination of ubenimex in healthy volunteers by liquid chromatography with tandem mass and its pharmacokinetics [J]. Chin J New Drugs Clin Remed, 2009, 28(08): 576-581.
- [11] 张淑慧,孙颖光,马杰,等. 乌苯美司片剂、胶囊剂在中国健康人体药动学及生物等效性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(3): 210-213.
Zhang S H, Sun Y G, Ma J, et al. Pharmacokinetics and relative bioavailability of ubenimex tablets and capsules in Chinese healthy volunteers [J]. Chin Pharm J, 2010, 45 (3): 210-213.
- [12] 郑靖,向瑾,苗佳,等. 两种规格国产乌苯美司胶囊的人体生物等效性研究 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2016, 47 (1): 85-89, 92.
Zheng J, Xiang J, Miao J, et al. Bioequivalence of ubenimex capsules in healthy volunteers [J]. J Sichuan Univ Med: Sci Ed, 2016, 47(1): 85-89, 92.

[责任编辑 刘东博]