

喜树碱及其衍生物定性定量分析方法的研究进展^Δ

秦庆芳^{1*}, 粟本超^{2#}(1.广西柳州食品药品检验所, 广西柳州 545006; 2.广西生态工程职业技术学院, 广西柳州 545004)

中图分类号 R95 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)25-2388-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.25.32

摘要 目的:为喜树碱及其衍生物的进一步研究提供参考。方法:以“喜树碱”“衍生物”等组合作为关键词,查阅1989年1月至2014年2月中国知网、ScienceDirect等数据库中关于喜树碱及其衍生物测定方法的相关文献,对常用的3种测定方法进行归纳和总结。结果与结论:喜树碱及其衍生物的定性定量分析方法主要有液相色谱-质谱联用(LC-MS)法、高效液相色谱(HPLC)法和薄层色谱扫描(TLCS)法。LC-MS法多用于喜树碱类药的药动力学研究和痕量分析,在药动力学研究方面,有取代HPLC法的趋势,其缺点是仪器价格昂贵。HPLC法多用于测定喜树植物中喜树碱的含量,是目前常量分析中应用最广泛一种方法,其也可用于药动力学研究和痕量分析,但灵敏度不及LC-MS法。TLCS法因准确度不及前二者,故应用较少,偶尔用于常量分析。

关键词 喜树碱;定量分析;液相色谱-质谱联用法;高效液相色谱法;薄层扫描法

喜树碱(CPT)是一种植物性抗癌药,因其具有特殊的抗癌作用机制和良好的广谱抗癌活性而得到了广泛的研究。研究者一方面通过对CPT活性位点进行改性,制备了大量的CPT小分子衍生物;另一方面,通过共价键或非共价键作用将CPT固定在药物载体上,制成多功能载药体系^[1-2]。目前,国外上市的CPT类药主要有伊立替康(CPT-11)、拓扑替康和贝洛替康,我国自主研发的羟基喜树碱(HCPT)也已于1996年在国内上

市并应用于临床^[3]。近年来,研究者们对CPT及其衍生物的含量测定方法及药动力学进行了一系列研究,有关CPT类药的定性定量分析方法主要有液相色谱-质谱联用(LC-MS)法、高效液相色谱(HPLC)法、薄层色谱扫描(TLCS)法等,但尚未见关于CPT及其衍生物的定性定量分析方法的综述报道。为此,本文以“喜树碱”“衍生物”等组合作为关键词,查阅1989年1月至2014年2月中国知网、ScienceDirect等数据库中关于CPT

- [17] Mimuro S, Katoh T, Suzuki A, *et al.* Deterioration of myocardial injury due to dexmedetomidine administration after myocardial ischaemia[J]. *Resuscitation*, 2010, 81(12): 1714.
- [18] Zhao LH, Shi ZH, Yin NN, *et al.* Use of dexmedetomidine for prophylactic analgesia and sedation in delayed extubation patients after craniotomy: a study protocol and statistical analysis plan for a randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2013, 14(1):251.
- [19] Panzer O, Moitra V, Sladen RN. Pharmacology of sedative-analgesic agents: dexmedetomidine, remifentanyl, ketamine, volatile anesthetics, and the role of peripheral mu-antagonists[J]. *Anesthesiol Clin*, 2011, 29(4):587.
- [20] Gu J, Chen J, Xia P. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2011, 55(10):1272.
- [21] Geze S, Cekic B, Imamoğlu M. Use of dexmedetomidine to prevent pulmonary injury after pneumoperitoneum in ventilated rats[J]. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 2012, 22(5):447.
- [22] Yang CL, Tsai PS, Huang CJ. Effects of dexmedetomidine on regulating pulmonary inflammation in a rat model of ventilator-induced lung injury[J]. *Acta Anaesthesiol Taiwan*, 2008, 46(4):151.
- [23] Gu J, Sun P, Zhao H, *et al.* Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice [J]. *Crit Care*, 2011, 15(3):153.
- [24] Si Y, Bao H, Han L, *et al.* Dexmedetomidine protects against renal ischemia and reperfusion injury by inhibiting the JAK/STAT signaling activation[J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1):141.
- [25] Tsutsui H, Sugiura T, Hayashi K, *et al.* Moxonidine prevents ischemia reperfusion-induced renal injury in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(1/3):73.
- [26] Hofer S, Stepan J, Wagner T, *et al.* Central sympatholytics prolong survival in experimental sepsis[J]. *Crit Care*, 2009, 13(1):11.
- [27] Kurt A, Ingeç M, Isaoglu U, *et al.* An investigation about the inhibition of acute ischemia/reperfusion damage by dexmedetomidine in rat ovarian tissue[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(3):222.
- [28] Hanci V, Erol B, Bektaş S, *et al.* Effect of dexmedetomidine on testicular torsion detorsion damage in rats[J]. *Urol Int*, 2010, 84(1):105.
- [29] Kodera SY, Yoshida M, Dezaki K, *et al.* Inhibition of insulin secretion from rat pancreatic islets by dexmedetomidine and medetomidine, two sedatives frequently used in clinical settings[J]. *Endocr J*, 2013, 60(3):337.

(收稿日期:2013-09-27 修回日期:2013-12-22)

Δ 基金项目:2008年广西教育厅科学技术研究项目(No. 200809MS127);2012年广西教育厅高等教育教学改革工程项目(No. 2012JCA363)

* 副主任药师。研究方向:食品药品检测与质量标准。电话:0772-2608059。E-mail:465764508@qq.com

通信作者:副教授。研究方向:植物的提取和分离。电话:0772-2725050。E-mail:353443788@qq.com

及其衍生物测定方法的相关文献,就CPT及其衍生物的定性定量分析方法进行了综述,以期对CPT及其衍生物的进一步研究提供参考。

1 LC-MS法

HPLC具有分离效率高、选择性好、可通过流动相的优化达到较高的分离率的特点;质谱(MS)具有其他分析方法所不具备的灵敏度及通用性,对于未知化合物的结构分析定性十分准确,对相应的标准样品要求也较低。LC-MS联用技术能快速地微量组分进行检测,特别适用于化学成分的结构分析及痕量分析。因此,LC-MS联用技术在CPT的痕量分析及在CPT代谢过程中的动态监测具有非常重要的意义。现根据质谱监测模式的不同进行分级描述。

1.1 全扫描(Scan)模式

Scan是最常用的扫描方式之一,扫描的质量范围覆盖被测化合物的分子离子和碎片离子的质量,得到的是化合物的全谱,用来进行谱库检索,一般用于未知化合物的定性分析。张芳等^[9]采用HPLC-MSⁿ法对9-硝基喜树碱(9-NC)在大鼠体内的代谢产物进行研究,收集大鼠静脉注射给予9-NC后12 h内的尿样、粪样及胆汁样品,经C₁₈固相萃取后进行分析。色谱柱:Inertsil ODS,流动相:乙腈-2%甲酸,梯度洗脱,流速:0.2 ml/min;质谱条件:电喷雾离子源(ESI),正离子检测,采用Scan一级质谱、选择离子多级Scan质谱方式同时测定。结果,检测出了胆汁中的9-NC的葡萄糖醛酸结合物、9-乙酰氨基喜树碱、9-氨基喜树碱、9-羟基喜树碱及2个未知代谢产物,尿液中的9-NC的葡萄糖醛酸结合物、9-乙酰氨基喜树碱、9-氨基喜树碱、9-羟基喜树碱,粪便中的9-羟基喜树碱、9-乙酰氨基喜树碱及9-氨基喜树碱等代谢物,从而为9-NC的进一步研究提供了分析方法。

1.2 多反应监测(MRM)模式

MRM技术作为一种质谱检测的分析方法,主要用于定量分析。其具有特异性强、灵敏度高、准确度高、重现性好、线性动态范围宽、自动化高通量突出等优点。在复杂药物代谢研究中,MRM成为了关键的核心技术,能够对前药和其代谢产物进行高精度和高灵敏度的实时监测。

Oguma T等^[5]采用LC-MS/MS法测定血浆中游离的抗肿瘤CPT衍生物载体缀合物(DX-8951和G-DX-8951),其采用在线固相萃取柱提取血浆中的目标物后,用LC-MS/MS法来测定目标物的质量浓度。色谱柱为Puresil C₁₈柱,柱温50℃,流动相为甲醇-0.1%三氟乙酸(11:9, V/V),流速1 ml/min;采用大气压化学电离源(APCI)。正离子MRM模式测定DX-8951(*m/z* 436→419)和G-DX-8951(*m/z* 493→419)的浓度,并用二次回归曲线对试验数据进行分析。结果该方法测定两种缀合物回收率均约为70%,DX-8951线性范围为50.0~4 999.4 pg/ml, G-DX-8951线性范围为80.2~5 012.4 pg/ml, *r*均>0.99,表明该方法具有良好的灵敏度、精确度和准确度,可用于CPT衍生物载体缀合物的药动学研究。苏佳等^[6]用HPLC-MS/MS联用技术测定人血浆中9-NC的含量。样品预处理采用液-液萃取方法,流动相为乙腈-2%甲酸水溶液(55:45, V/V),色谱柱为Agilent C₁₈,采用ESI源、正离子MRM模式测定,定量分析的离子对为[M+H]⁺ *m/z* 394.2→350.0(9-NC)。结果9-NC在质量浓度为1~300 μg/L范围内线性关系良好(*r*=0.999 0),日内、日

间精密度的RSD均<15%,平均回收率为76.02%,表明该方法专属性强、灵敏度高,可完全满足9-NC在人血浆中测定要求及药动学研究的需要。曹阳等^[7]用LC-MS/MS法测定大鼠脑微透析液中7-乙基-10-羟基喜树碱(SN-38)的浓度,色谱柱为Agilent Eclipse Plus C₁₈反相柱,流动相为乙腈-0.1%甲酸,流速为0.3 ml/min,柱温为35℃;采用ESI源、MRM模式直接测定大鼠脑微透析液中SN-38(*m/z* 393.1→349.1)的浓度。结果,SN-38在质量浓度为0.101 5~101 5 ng/ml范围内线性关系良好(*r*=0.995 5),回收率为97.5~100.6%,表明该方法精密度和稳定性均良好,可用于分析脑内SN-38的浓度,为后续的相关研究奠定了基础。Montoroa P等^[8]用HPLC-ESI-MS/MS法分析测定意大利沿海地区种植的喜树中不同生物阶段的CPT及相关生物碱含量,用乙醇-水(7:3)对样品进行提取稀释,色谱柱为Waters XTerra C₁₈,流动相为水(0.05%三氟乙酸)-乙腈(0.05%三氟乙酸),梯度洗脱,质谱采用MRM模式、离子阱和三重四极杆质谱分析仪进行定量分析。结果喜树嫩叶中CPT及其衍生物含量最高,研究还发现不同阶段的喜树中还存在大量的CPT化合物的前体,这些前体具有重要的研究意义。Li G等^[9]用超HPLC-串联质谱(UPLC-MS/MS)法对CPT在大鼠体内的药动学进行研究,用乙酸乙酯-异丙醇(95:5, V/V)提取样品中HCPT,在ACQUITY UPLCTM BEH C₁₈柱上进行分离,用乙腈和水(含0.1%甲酸)进行线性洗脱,采用ESI源、正离子MRM模式、三重四极杆质谱仪测定。结果,CPT检测质量浓度线性范围为0.5~2 500 ng/ml,日内和日间精密度均小于10.8%,平均回收率高于87.2%。表明UPLC-ESI-MS/MS方法灵敏度高、特异性强,是一种分析CPT药物药动学的可靠方法。

2 HPLC法

HPLC法是目前分析测试以及研究领域广泛使用的一种方法。随着20世纪70年代高压泵技术发展愈加成熟,HPLC逐渐成为色谱领域的一种主流分析方法,其具有分离迅速、检测限低与检测灵敏度高等优点,因此很早就被应用于CPT类药的研究中。HPLC法的灵敏度及线性范围主要是由检测器决定的,在CPT类药的定量分析中,最常用的检测器是紫外吸收检测器(UV)和荧光检测器(FD)。

2.1 HPLC-UV法

1989年,Poehland BL等^[10]采用HPLC法对CPT及其生物碱含量进行了测定,这是最早使用HPLC测定CPT含量的报道。20世纪90年代末,HPLC法在CPT的研究中应用越来越多。刘文哲等^[11]、黄瑞松等^[12]采用HPLC法测定了喜树果实中CPT的含量,分别采用甲醇超声30 min、甲醇60℃浸提来提取样品中的CPT,色谱柱采用C₁₈,测定波长均为254 nm。结果,上述两种含量测定方法的回收率均达到了95%以上,表明HPLC法能够快速、准确地测定喜树果实中CPT的含量,可为喜树果实中CPT的开发利用提供参考。祖元刚等^[13]通过改变检测波长,采用HPLC法测定了喜树种子中CPT和HCPT的含量,采用70%乙醇40℃超声1 h提取样品,色谱柱为Techsphe ODS C₁₈,以水-乙腈(3:7)为流动相,检测波长:0~8 min时为266 nm,8~20 min时为254 nm。结果CPT的平均回收率为100.92%,RSD为1.40%;HCPT的平均回收率为100.09%,RSD为1.34%。表明该方法准确度较高,能够用于控制喜树种子的质量。龚明涛等^[14]、张瑞等^[15]采用HPLC法测定了纳米乳

中和小鼠粪便中的HCPT的含量,分别采用0.1 mol/L氢氧化钠超声溶解和氯仿萃取、乙酸乙酯超声10 min提取样品中的HCPT,色谱柱分别为Kromasil C₁₈和Waters Hss T₃,流动相分别为甲醇-水(6:4, V/V)、乙腈-5%乙腈水溶液(梯度洗脱),检测波长均为266 nm。结果,HCPT在质量浓度分别为2~20 μg/ml和5~160 μg/ml范围内线性关系良好,平均回收率分别为99.8%和108.2%~115.4%。两种方法均具有简便可靠、专属性好、分析时间短的特点,适用于HCPT的定量分析。

2.2 HPLC-FD法

由于FD具有比UV灵敏度高10~1 000倍的优点,在CPT类药的药动学研究中,HPLC-FD法是使用较为广泛的一种方法。Oguma T等^[16]采用HPLC-FD法对人血浆中的CPT衍生物进行测定,采用固相C₁₈柱对样品进行纯化处理,液相色谱柱为反相ODS柱,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(18:82, V/V),激发波长(Ex)为365 nm,发射波长(Em)为445 nm,柱温为30 ℃,结果该方法在0.2~50 ng/ml的质量浓度范围内线性关系良好,适合于CPT衍生物临床药动学研究。蒋俊毅等^[17]采用HPLC-FD法测定豚鼠肺组织中酯型和盐型HCPT的含量,其将生理盐水加到肺组织中匀浆冷冻离心后取上清液进行测定,色谱柱为Lichrospher C₁₈,流动相为乙腈-0.01 mol/L醋酸缓冲盐(32~68),Ex为363 nm,Em为550 nm,柱温为30 ℃。结果其方法检出限为0.48 μg/L,回收率均达到了90%以上,日间和日内精密度相对误差小,表明该方法简便、专属性好、定量可靠,可满足HCPT不同构型定量研究的需要。Paceca S等^[18]采用HPLC-FD法同时测定人血浆中新型CPT衍生物(ST1481)及其代谢物(ST1698),采用在线固相萃取柱进行分离纯化样品,液相色谱柱为Phenomenex C₁₈,流动相A为水-1 mol/L甲酸溶液-乙腈-2-丙醇(810:90:100:10, V/V/V/V),流动相B为水-1 mol/L甲酸溶液-乙腈-2-丙醇(500:100:400:10, V/V/V/V),梯度洗脱,Ex为370 nm,Em为510 nm。结果两种化合物定量限均为0.25 ng/ml,ST1481和ST1698在质量浓度为0.25~25 ng/ml范围内线性关系良好,表明该方法准确度和精密度高,能够准确测定血浆中CPT衍生物ST1481和ST1698的质量浓度。邵腾飞等^[19]采用HPLC-FD法测定人血浆中CPT-11及其代谢物SN-38的含量,其样品用10%高氯酸-乙腈(1:2, V/V)沉淀蛋白后,取上清液进行测定,色谱柱为Luna CN 100A,流动相为乙腈-醋酸铵缓冲溶液,梯度洗脱,CPT-11的检测波长为Ex/Em=368 nm/432 nm,SN-38的检测波长为Ex/Em=368 nm/535 nm。结果CPT-11在浓度为46.9~6 000 nmol/L范围内线性关系良好,SN-38在2.0~250 nmol/L范围内线性关系良好,*r*均为0.998,准确度在85%~115%,表明该方法简便、准确、灵敏,适用于CPT-11及其活性代谢物SN-38的血药浓度检测和相关的药动学、药效学和基因多态性的研究。Martins SM等^[20]利用HPLC-FD法测定CPT在给药后动物器官的固体脂质纳米粒中分布情况,色谱柱为RP-Mediterranea™ Sea18,流动相为1%三乙胺缓冲液(pH 5.5)-乙腈(梯度洗脱),Ex为360 nm,Em为440 nm。结果CPT质量浓度在1~200 ng/ml范围内线性关系良好(*r*>0.999 9),日内和日间精密度变异系数小(<6.3%),平均回收率在86.4%以上,表明该方法灵敏、准确,相对于昂贵的LC-MS更经济、适用,对CPT类药物在人类和其他动物临床药动学研究中有着重要作用。

3 TLCS法

TLCS法具有操作简便、快速准确地进行定性定量等特点,因此可作为含量测定的手段之一。蒋明廉等^[21]利用TLCS法测定广西喜树果中CPT的含量,并对喜树果药材中CPT含量的动态积累进行分析,采用甲醇60 ℃在水浴中温浸1 h提取样品中的CPT;薄层条件如下:硅胶H-CMC-Na薄层板,展开剂:氯仿-丙酮(7:3, V/V),单波长线性扫描, λ_s :360 nm。结果CPT进样量在0.054 2~0.325 2 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系,平均回收率为97.13%,RSD为1.76%。周芳礼等^[22]采用TLCS法测定不同产地喜树果中的CPT,试验使用甲醇做提取溶剂,在60 ℃水浴中温浸提取1 h;薄层条件为:黏合剂为羧甲基纤维素钠,其余条件及线性范围结果均同文献^[21],另结果表明不同产地喜树果中CPT的含量有一定差异。王立屏等^[23]用薄层荧光扫描法测定喜树果中CPT和HCPT的含量,以无水甲醇作提取溶剂,在硅胶H板上以氯仿-丙酮(7:3, V/V)为展开剂分离样品中CPT和HCPT,以荧光Ex为350 nm线性扫描进行定量分析。结果,CPT点样量在0.010 5~0.063 0 μg范围内与荧光强度线性良好(*r*=0.998),回收率为99%;HCPT点样量在0.003 3~0.033 0 μg范围内与荧光强度呈良好线性关系(*r*=0.999),回收率为96%。

4 其他测定方法

4.1 伏安法

董社英等^[24]利用在一定量的β-环糊精(β-CD)存在下,β-CD与CPT形成包络络合物而使β-CD吸附峰电流随CPT的加入量增加线性减小的特性,建立了一种间接测定CPT的伏安方法。结果,β-CD的一阶导数峰电流与CPT质量浓度在 $3.0 \times 10^{-7} \sim 7.0 \times 10^{-6}$ mol/L范围内呈线性关系,检测限为 1×10^{-7} mol/L,回收率为95.5%~104.5%。该方法对于没有电氧化还原活性物质的测定有一定的借鉴作用。

4.2 毛细管电泳法

黄宝美等^[25]利用高效毛细管电泳安培检测法对喜树果中的CPT进行测定,探讨了缓冲溶液种类、浓度、酸碱度及操作电压、进样时间等对检测的影响,试验在使用四硼酸钠-氢氧化钠作为电泳介质、电压为15 kV、pH 9.0的碱性条件下,用柱端安培检测CPT的含量。结果,该法的线性范围为1~100 mg/L,线性关系良好(*r*=0.999 4),检测限为0.5 mg/L。毛细管电泳法作为一种灵敏快速的新兴分离手段,其灵敏度和重复性不如HPLC高,但具有分离效率高、消耗样品少、无需昂贵的色谱柱与复杂的前处理、维护较方便等优点。

5 结语

CPT及其衍生物作为治疗癌症等相关疾病的有效药物,在国内外已得到广泛的应用。但因其具有一定的毒副作用,故新型、无毒副作用的CPT类抗癌药一直是研究的热点。随着新型药物的研发,各种CPT及其衍生物的定量分析方法得到快速发展,且逐渐在新型药动学的研究中发挥着重要作用。

CPT及其衍生物的定性定量分析方法主要有LC-MS、HPLC和TLCS法等。LC-MS法多用于CPT类药的药动学研究和痕量分析以及确定CPT类药的代谢产物的结构。在药动学研究中,LC-MS法因其灵敏度高、专属性强,应用越来越广泛。最新的LC-MS/MS仪器的最低检测限可达到 10^{-15} g,但缺

点是仪器价格昂贵。HPLC-FD法也可用于药动学研究和痕量分析,但灵敏度不如LC-MS法,其仪器的检测限仅为 10^{-9} g。HPLC-UV法多用于测定喜树植物中CPT的含量,是目前常量分析应用最广泛的一种方法。TLCS法的准确度不如LC-MS、HPLC法,因此应用较少,偶尔用于常量分析;但TLCS法具有仪器设备要求低、操作简便等特点,对于不具备大型仪器设备条件的可采用该法测定。笔者认为,可根据研究的不同需要以及所具备的仪器条件选择合适的CPT类药测定方法。

参考文献

[1] 李兰,冯玥,任天斌,等.抗癌药物喜树碱的功能化改性及研究进展[J].化学通报,2011,74(9):803.

[2] Pommier Y, Leo E, Zhang H, *et al.* DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs [J]. *Chem Biol*, 2010, 17(5):421.

[3] 郭晓鹏,冯思良,王金辉,等.拓扑异构酶 I 及其喜树碱类抑制剂的临床研究进展[J].国际药学研究杂志,2013,40(4):405.

[4] 张芳,王天明,闫晶超,等.大鼠体内9-硝基喜树碱代谢物的HPLC-MSⁿ分析[J].中国药学杂志,2006,41(20):1 586.

[5] Oguma T, Ciccib D, Gaudetteb F, *et al.* Validation study of a method for assaying DE-310, a macromolecular carrier conjugate containing an anti-tumor camptothecin derivative, and the free drug in human plasma by HPLC and LC/MS/MS[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 818(2):249.

[6] 苏佳,郝光涛,高洪志,等.HPLC-MS/MS联用技术测定人血浆中9-硝基喜树碱的含量[J].解放军药科学报,2008,24(3):223.

[7] 曹阳,程巧鹭,卢红阳,等.LC-MS/MS法测定大鼠脑微透析液中7-乙基-10-羟基喜树碱的浓度[J].浙江大学学报,2013,42(1):98.

[8] Montoroa P, Maldinia M, Piacentea S, *et al.* Metabolite fingerprinting of camptotheca acuminata and the HPLC-ESI-MS/MS analysis of camptothecin and related alkaloids[J]. *J Pharm Anal*, 2010, 51(2):405.

[9] Li G, Cai C, Ren T, *et al.* Development and application of a UPLC-MS/MS method for the pharmacokinetic study of 10-hydroxy camptothecin and hydroxyethyl starch conjugate in rats[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, doi: 10.1016/j.jpba.2013.08.030.

[10] Poehland BL, Troupe N, Carté BK, *et al.* Reversed-phase high-performance liquid chromatographic assay for camptothecin and related alkaloids[J]. *J Chromatogr A*, 1989, 481:421.

[11] 刘文哲,秦海燕,索志荣,等.喜树果中喜树碱和10-羟基喜树碱的HPLC分析[J].药物分析杂志,2005,25(2):168.

[12] 黄瑞松,叶云锋,梁启成,等.HPLC法测定不同产地喜树果中喜树碱[J].中草药,2009,40(1):137.

[13] 祖元刚,赵春建,付玉杰,等.改变检测波长高效液相色谱法测定喜树碱和羟基喜树碱的含量[J].分析化学,2004,32(11):1 421.

[14] 龚明涛,张钧寿,刘秀芬,等.HPLC法测定纳米乳中羟基喜树碱的含量和有关物质[J].药物分析杂志,2006,26(6):833.

[15] 张瑞,刘佳,郑健,等.UPLC法测定小鼠粪便中的10-羟基喜树碱[J].中成药,2013,35(5):1 019.

[16] Oguma T, Ohshima Y, Nakaoka M, *et al.* Sensitive high-performance liquid chromatographic method for the determination of the lactone form and the lactone plus hydroxy-acid forms of the new camptothecin derivative DX-8951 in human plasma using fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci*, 2000, 740(2):237.

[17] 蒋俊毅,方芸,张海霞.HPLC-FLD法测定豚鼠肺组织中酯型和盐型羟基喜树碱的含量[J].中国新药与临床杂志,2008,27(2):85.

[18] Pacea S, Capocasa F, Tallarico C, *et al.* Determination of total and lactone form of a new camptothecin derivative gimatecan (ST1481) and its metabolite ST1698 in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50(3):507.

[19] 邵腾飞,郑媛婷,徐佳琳,等.人血浆中伊立替康及其活性代谢物7-乙基-10-羟基喜树碱浓度高效液相色谱-荧光测定方法的建立[J].中国医院药学杂志,2012,32(1):17.

[20] Martinsa SM, Wendlinga T, Goncalvesb VMF, *et al.* Development and validation of a simple reversed-phase HPLC method for the determination of camptothecin in animal organs following administration in solid lipid nanoparticles[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 880(1):100.

[21] 蒋明廉,黄瑞松,吴毅,等.TLCS法对广西产喜树果中喜树碱含量动态积累的研究[J].中药材,2008,31(5):684.

[22] 周芳礼,黄瑞松,苏青,等.薄层扫描法测定不同产地喜树果中的喜树碱[J].华西药学杂志,2008,23(5):610.

[23] 王立屏,魏永巨.薄层荧光扫描法测定喜树果中喜树碱及10-羟基喜树碱[J].分析测试学报,2012,31(10):1 282.

[24] 董社英,黄廷林,樊军民,等.喜树碱与 β -环糊精的包络合作用及喜树碱的伏安测定法[J].理化检验:化学分册,2007,43(6):479.

[25] 黄宝美,姚程炜,边清泉,等.喜树果中喜树碱含量的高效毛细管电泳安培法测定[J].分析测试学报,2008,27(3):319.

(收稿日期:2014-02-26 修回日期:2014-04-04)