

硼替佐米联合 EPOCH 治疗复发难治性非霍奇金淋巴瘤

葛杭萍 蔡芳芳 俞康

摘要 目的 观察硼替佐米(万珂)联合 EPOCH 化疗作为复发或难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)治疗方案的疗效及安全性。**方法** 回顾性分析 30 例复发或难治性 NHL 患者。采用万珂联合 EPOCH 化疗作为治疗方案,观察患者疗效、不良反应及近期生存情况。**结果** 30 例患者各接受 2~4 个周期该联合治疗方案,总客观有效率(OR)为 53.4%,其中 5 例(16.7%)获得完全缓解(CR)。研究还显示有 B 症状患者较无 B 症状患者对该联合化疗方案的反应差(OR 分别为 20% vs 33.3%, $P < 0.05$) ;高乳酸脱氢酶 LDH 患者较正常 LDH 患者疗效差(OR 分别为 6.7% vs 46.7%, $P < 0.01$) ;骨髓有无受侵犯、 β_2 -MG 是否增高、年龄、肿瘤细胞来源及 ECOG(东部肿瘤协作组)评分的 OR 比较无在统计学差异。患者中位无病生存时间 PFS 为 10 个月,95% 可信区间为 6.18%~13.82%。主要不良反应有骨髓抑制伴轻微感染、周围神经毒性、胃肠道反应,但均可耐受。**结论** 万珂联合 EPOCH 化疗治疗方案有较好的治疗效果及较高的安全性,我们认为该联合化疗可以作为治疗复发或难治性 NHL 安全有效的治疗方案之一,并值得进一步深入的临床研究。

关键词 硼替佐米 EPOCH 方案 非霍奇金淋巴瘤 联合化疗

[中图分类号] R733

[文献标识码] A

Bortezomib – EPOCH in Patients with Relapsed or Refractory Non – Hodgkin's Lymphoma. Ge Hangping, Cai Fangfang, Yu Kang. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To assess the efficacy and safety of bortezomib plus EPOCH regimen for patients with relapsed or refractory non – Hodgkin's lymphoma(NHL). **Methods** The clinical data of thirty patients with relapsed or refractory NHL were analysed retrospectively. They were offered treatment with bortezomib – EPOCH combination chemotherapy [bortezomib ($1.3\text{mg}/\text{m}^2$, intravenous injection for 3~5 seconds, days 1, 4, 8, 11, 21 for one course of treatment), VP16($50\text{mg}/\text{m}^2$, days 1~4), doxorubicine($10\text{mg}/\text{m}^2$, days 1~5), vincristine($0.4\text{mg}/\text{m}^2$, days 1~4), cyclophosphamide($750\text{mg}/\text{m}^2$, days 5) and prednisone[$40\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$]. The response and toxicities of this regimen were evaluated. **Results** Five patients (16.7%) and eleven patients (36.7%) achieved complete remission (CR) and partly remission (PR), respectively, following one or two courses of bortezomib – EPOCH, and the overall response(OR) rate was 53.4%. The median disease – free survival (DFS) was 10 months (95% CI:6.18%~13.82%). It demonstrated a significantly higher response in patients without B symptoms (OR:20% vs 33.3%, $P < 0.05$) and normal LDH (OR:6.7% vs 46.7%, $P < 0.01$) compared with B symptoms and higher LDH, respectively. There were no significant differences for OR between the patients in the following groups, with and without bone marrow invasion, normal and higher β_2 -MG, more than 60 years and less than 60 years, T and B cell originated, ECOG 0~1 and ECOG 2~3. Hematological toxicity, infections, neuropathy and digestive reaction were the major toxicities of this regimen. Toxicities were comparable and were mostly of grades 1 and 2. **Conclusion** The bortezomib – EPOCH regimen possesses good efficacy, acceptable toxicity. This protocol is worthy to be applied and researched as salvage treatment for patients with relapsed or refractory NHL.

Key words Bortezomib; EPOCH regimen; Non – Hodgkin's lymphoma; Combination chemotherapy

目前尚无针对复发或难治性非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)特效或标准的治疗方案,临幊上应用的ESHAP、DHAP、MINE 和 DICE

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y207422);浙江省医药卫生科学硏究基金资助项目(Y200710439)

作者单位:325000 温州医科大学附属第一医院

通讯作者:俞康,主任医师,硕士生导师,电子信箱:yukang62@126.com

等常见治疗方案缓解率不高,同时存在长期生存期率低、不良反应较大等问题,且无研究明确表明这些治疗方案之间孰优孰劣。故在以化学治疗为主,联合免疫治疗及临床试验治疗等途径为辅现阶段,寻找新的药物或药物组合方案以产生进一步的疗效刻不容缓。硼替佐米(Bortezomib,商品名万珂,Velcade)是第一个进入临幊应用治疗恶性肿瘤的蛋白酶体抑制剂,其在治疗复发或难治性 NHL 中具有单药靶向活性,但

单药作用对疾病的缓解率有限,故临幊上常与其他常规化疔药物联合使用。国外有多家文献报道万珂联合化疔治疗 NHL,总有效率各研究中心报道不等,为 29%~58%,国内相关报道则较少^[1,2]。1991 年,有文献^[3]报道如果将肿瘤细胞长时间暴露在低浓度 VP-16、VCR、ADM 等药物中,药物对肿瘤细胞的杀伤作用增强,且能部分逆转肿瘤细胞的耐药性,因此对某些复发或难治的恶性肿瘤可能可以产生良好的疗效。借此理论,Wilson 于 1993 年首创 EPOCH 方案,其通过调整药物用量和给药方法,增加了肿瘤细胞与化疗药物接触时间,在增强抗肿瘤效果并减轻了心脏毒性。本研究观察了于 2009 年 1 月~2012 年 6 月期间笔者医院 30 例采用万珂联合 EPOCH 方案治疗的复发或难治性 NHL 患者,结果实现取得了较好的近期疗效。

资料与方法

1. 入选标准:所有患者均经病理确诊为复发或难治性 NHL,具有可评价疗效的客观病灶,既往均接受过一线或二线化疔方案治疗。全身功能状态评分 (eastern co-operative oncology group, ECOG) 0~3 分,预计生存期 ≥3 个月。血常规、心、肝、肾功能基本正常。

2. 临床资料:2009 年 1 月~2012 年 6 月,笔者医院收治的 30 例确诊的 NHL,可评价疗效及药物的不良反应,男性 17 例,女性 13 例,患者年龄 28~72 岁,中位年龄 55 岁。患者既往曾分别用过 CHOP、ECHOP、RICE、ESHAP、MINE、放疗、自体干细胞移植等方案,接受化疔疗程 1~14 个,中位疗程数 5 个,1 例 (3.33%) 加用了放疗。ECOG 的评分 0~1 分 8 例,2~3 分 22 例。IPI (international prognostic index) 2 个 8 例,大于 3 个 22 例。按照 Ann Arbor 分期标准,Ⅰ 期 1 例,Ⅱ 期 2 例,Ⅲ 期 7 例,Ⅳ 期 20 例。30 例患者部分资料特点见表 1。

3. 治疗方法:化疔方案:万珂 1.3mg/m²,静脉推注 3~5s,第 1、4、8、11 天给药。依托泊苷 (VP-16) 50mg/m²,表柔比星 (E-ADM) 12mg/m²,长春新碱 (VCR) 0.4mg/m²,溶解于生理盐水 500ml 持续静脉滴注 24h,第 1~4 天。环磷酰胺 (CTX) 750mg/m² 静脉推注,第 6 天。泼尼松 60mg/m²,口服,第 1~6 天,21 天为 1 个疗程,每位患者最多予 4 个疗程化疔。化疔期间给予补液、护胃、止吐、水化等对症支持治疗。化疔前及化疔后定期复查血常规、肝肾功能、心电图。白细胞计数 <1.5 × 10⁹/L,则予每天皮下注射粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 5μg/kg 至白细胞 >10.0 × 10⁹/L。

4. 疗效及不良反应的评价:药物疗效评定按照 NHL 国际疗效的评价标准,分为完全缓解 (CR),不确定的完全缓解 (CR_u),部分缓解 (PR),疾病稳定 (SD) 和疾病进展 (PD),CR + CR_u 为完全缓解率,CR + CR_u + PR 为总有效率 (OR)。不良反应依据世界卫生组织抗癌药物急性亚急性不良反应及分度标准评价,分 I~IV 度。

表 1 万珂联合 EPOCH 方案的客观疗效观察 [n (%)]

项目	n	CR	PR	OR	P
总例数	30	5(16.7)	11(36.7)	16(53.4)	
细胞来源					
B	19	3(10.0)	7(23.3)	10(33.3)	>0.05
T	11	2(6.7)	6(20.0)	8(26.7)	
年龄					
≥60 岁	16	3(10.0)	7(23.3)	10(33.3)	>0.05
<60 岁	14	3(10.0)	5(16.7)	8(26.7)	
既往从未缓解	21	4(13.3)	5(16.7)	9(30.0)	
缓解后复发	9	2(6.7)	6(20.0)	8(26.7)	>0.05
骨髓					
受侵	5	1(3.3)	1(3.3)	2(6.6)	>0.05
未受侵	25	5(16.7)	11(36.7)	16(53.4)	
B 症状					
有	16	2(6.7)	4(13.3)	6(20.0)	<0.05
无	14	3(10.0)	7(23.3)	10(33.3)	
LDH					
升高	12	0(0.0)	2(6.7)	2(6.7)	<0.01
正常	18	5(16.7)	9(30.0)	14(46.7)	
β ₂ -MG					
升高	25	4(13.3)	8(26.7)	12(40.0)	>0.05
正常	5	2(6.7)	3(10.0)	5(16.7)	
ECOG 评分					
0~1	8	4(13.3)	4(13.3)	8(26.6)	>0.05
2~3	22	4(13.3)	10(33.3)	14(46.6)	
IPI					
2	8	3(10.0)	5(16.7)	8(26.7)	>0.05
≥3	22	3(10.0)	6(20.0)	9(30.0)	

5. 随访情况:随访全部入组的患者,采用电话、住院复查或门诊随访的方式进行随访。随访截至至 2012 年 12 月。无疾病进展时间 (progression-free survival, PFS) 定义为最终随访结局,即开始治疗至下列任何事件的时间:疾病进展、反应后复发、采用新的抗淋巴瘤治疗或任何原因死亡。失访患者,将失访那天作为 PFS 随访终止日期。

6. 统计学方法:运用 SPSS 19.0 统计软件进行统计处理分析,主要采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验计数资料。生存分析采用 Kaplan-Meier 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 治疗效果:30 例复发或难治性 NHL 患者共接受 98 个疗程的万珂联合 EPOCH 方案化疔,具体疗效见表 1。B 症状患者较无 B 症状患者疗效差 (客观有效率 OR 为 20% vs 33.3%, $P < 0.05$), 高 LDH 患者较正常 LDH 患者疗效差 (客观有效率 OR 为 6.7% vs 46.7%, $P < 0.01$)。有无骨髓受侵、年龄、β₂-MG、肿瘤细胞来源及 ECOG 评分的 OR 比较无统计学意义。

2. 不良反应:所有入组患者均可观察不良反应,

主要的不良反应为骨髓抑制伴感染、周围神经病变、消化道反应、脱发和疲乏。骨髓抑制表现多发生于化疗后 7~14 天。其中白细胞下降 20 例(Ⅲ+Ⅳ度 13 例, 占总例数的 43.3%), 血红蛋白下降 16 例(Ⅲ+Ⅳ度 5 例, 占 16.7%), 血小板下降 15 例(Ⅲ+Ⅳ度 7 例, 占 23.3%), 感染 10 例(呼吸道感染 5 例, 肠道感染 3 例, 肛周软组织感染 1 例, 败血症 1 例), 使用抗生素和对症处理后症状可控制。I~II 度恶心、呕吐 15 例, III 度恶心、呕吐 2 例, I~II 度脱发 16 例, I~II 度黏膜炎 3 例, II 度肝功能损害 1 例。1~2 级的周围神经病变 10 例(33.3%), 疲乏 12 例(40%)。带状疱疹 1 例(3.3%)。未出现心脏、肾脏毒性。未出现化疗相关性死亡。

3. 近期生存情况:30 例患者中,2 例失访,3 例至今无进展。患者 PFS 为 1~17 个月, 中位 PFS 为 10 个月, 95% CI: 6.18% ~ 13.82%。应用 Kaplan-Meier 法描绘生存曲线, 详见图 1。

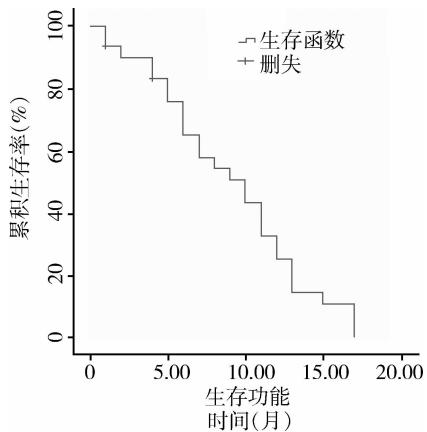


图 1 复发或难治性非霍奇金淋巴瘤(NHL)患者 PFS 的 Kaplan-Meier 生存曲线

讨 论

复发或难治性 NHL 是导致 NHL 患者死亡的最主要原因, 虽然造血干细胞移植和免疫靶向治疗近年来取得了较好的效果, 但在我国因经济、医疗条件等因素的限制, 不能得到广泛实施^[4]。因此, 常规的化疗方法仍是有效治疗该疾病和提高患者生存率的重要手段。随着药物治疗的深入, 部分患者对常规的化疗药物疗效反应欠佳, 肿瘤细胞可能产生严重的耐药性。有研究认为^[5, 6], 细胞内某些基因及信号转导通路的异常会引起肿瘤细胞的突变, 产生耐药, 例如多药耐药蛋白异常、药物代谢酶异常、细胞凋亡通路的异常及化疗药物靶酶的变化都可导致肿瘤细胞产生一定的耐药性。现临幊上常通过增加药物剂量、改变

用药方法、增加药物组合、选择新药、免疫治疗等方法来克服耐药, 但其有效率只有 30%~70%, 患者长期生存率低于 10%^[7, 8]。因此, 寻找更高效、低毒的新药组成的联合化疔方案治疗复发难治性 NHL 具有重要的临床意义。

值得注意的是硼替佐米的单药疗效并不理想, 2005~2010 年国外多个研究中心, O'Connor, Faderl, Ribrag 等研究人员进行了硼替佐米的单药临床试验, 结果显示单药治疗对 MCL、MZL、FL 疗效较满意, 对 CLL/SLL、DLBCL 疗效则相对较差, 而研究显示联合用药疗效令人满意, 故临幊上使用该药物时推荐与其他化疔药物联合用药。并且淋巴瘤的病理类型不同也会产生不同的疗效, 有国外文献报道弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中 ABC 型比 GCB 型对硼替佐米的联合化疔方案更有效, 因此故在临幊是否使用硼替佐米联合化疔方案是要根据患者具体情况选择性对待^[9]。

泛素-蛋白酶系统(ubiquitin proteasome system, UPS)是细胞内降解蛋白质的主要途径, 同时其在细胞增殖、分化、凋亡以及蛋白质折叠等过程中也都发挥了重要的作用^[10]。因此蛋白酶体是很好的肿瘤治疗靶向位点, 其抑制剂也便成为了治疗肿瘤的先导药物, 通过抑制细胞内某些信号相关蛋白的作用从而发挥抗肿瘤作用。一些天然的或人工合成的蛋白酶体抑制剂逐渐应用于血液恶性肿瘤的治疗, 其中也包括与淋巴瘤相关的治疗药物。硼替佐米是第 1 个应用于临幊的可逆性硼酸肽类蛋白酶体抑制剂, 能够抑制细胞内的 26S 蛋白酶体, 其最先用于治疗多发性骨髓瘤患者, 并取得了良好的治疗效果。硼替佐米作为一种新颖的治疗方法现也被广泛的应用在各种非霍奇金淋巴瘤患者的治疗中, 特别是在套细胞淋巴瘤及滤泡型淋巴瘤等中取得了较好的疗效, 2006 年该药又被 NCCN 诊疗指南推荐作为套细胞淋巴瘤的二线治疗用药^[11]。其可用于淋巴瘤治疗的原因可能与以下因素有关: 淋巴瘤细胞往往高表达 NF-κB 因子, NF-κB 信号通路的激活可以阻滞肿瘤细胞对化疗药物产生凋亡反应, 故硼替佐米通过降解 IκB 酶, 从而抑制该信号通路的异常激活, 增强肿瘤细胞对药物的反应, 促进肿瘤细胞凋亡及抗增殖作用, 同时克服了化疗耐药性, 并且对于正常细胞来说毒性相对较小^[11, 12]。复发或难治非霍奇金淋巴瘤多为耐药性较强的肿瘤, 耐药肿瘤细胞常高表达 P-糖蛋白(属多药耐药蛋白 ABC 转运蛋白超家族一种), 通过利用 ATP 在水解时所产生的能量, 排除进入细胞内的药

物,致肿瘤细胞产生耐药性,而 P-糖蛋白的高表达也与 NF-κB 信号通路的异常激活密切相关,相关文献报道硼替佐米主要在 P-糖蛋白翻译后加工阶段起作用,从而影响其成熟,并抑制该蛋白的功能,最终可逆转其引起的肿瘤细胞耐药作用。Fisher 等^[14]、Goy 等^[13]和 Belch 等^[1]多个研究单位,分别应用了 1.3 mg/m²、1.5 mg/m² 的硼替佐米对 29~155 例复发难治性套细胞淋巴瘤进行治疗,有效率可达 29%~56%,同时研究还显示对于其他 B 细胞淋巴瘤也有显著疗效,且不良反应较小,基本可耐受。在多项关于淋巴瘤的 I/II 期临床研究表明,硼替佐米联合化疗在各型 NHL 的治疗中显示了良好的耐受性,且疗效较显著^[12, 13, 15, 16]。临床研究还发现^[17],以硼替佐米为基础的诱导方案对外周血造血干细胞的采集的质和量均无明显影响,而能被患者较好耐受,故也可以作为复发难治非霍奇金淋巴瘤患者移植前理想的预处理方案。

EPOCH 方案可根据患者的具体情况调整药物的用量及其低浓度长时间的给药方式,增强了化疗抗肿瘤作用,克服耐药,对复发或难治性 NHL 的治疗有较好的疗效。国外文献陆续报道 EPOCH 方案治疗复发或难治性 NHL 的研究,CR 为 24%~31.4%,OR 为 51%~74%,不良反应主要为骨髓抑制,但均能耐受,疗效令人满意^[18, 19]。惠红霞等^[20]2012 年报道 EPOCH 方案治疗侵袭性 NHL,OR 为 90.3%,CR 为 64.5%,主要不良反应为骨髓抑制、脱发、黏膜炎,不良反应也可耐受^[20, 21]。

故本研究采用硼替佐米联合 EPOCH 化疗方案,以期达到最大程度的逆转难治复发 NHL 的耐药作用,促进化疗药物发挥作用,提高疾病缓解率,延长患者的生存时间,也可为部分移植患者争取更多的治疗时间。本组 30 例复发或难治性 NHL 患者采用万珂联合 EPOCH 方案治疗,疗效较令人满意,OR 为 53.4%,其中 CR 为 16.7%,PR 为 36.7%,中位 PFS 为 10 个月左右,结果与国内外文献报道相当^[9]。本组研究结果还显示有 B 症状患者较无 B 症状患者疗效差(OR 分别为 20% vs 33.3%,P < 0.05),高 LDH 患者较正常 LDH 患者疗效差(OR 分别为 6.7% vs 46.7%,P < 0.01),提示有 B 症状和高 LDH 可能与 NHL 的疗效差有关。而有无骨髓受侵、年龄、β₂-MG、肿瘤细胞来源及 ECOG 评分的 OR 比较无统计学差异,提示 NHL 的疗效可能与疾病本身的病理类型有关。由于本研究入组临床病例数有限,故进一步

的结果有待于扩大病例数并对 NHL 各亚型进行进一步研究才能得出。使用万珂联合 EPOCH 方案治疗复发或难治性 NHL 时,骨髓抑制伴感染、脱发、消化道反应、周围神经病变、疲乏是较为常见的不良反应,但是在治疗过程中对症处理后多能很好耐受,并且未出现本化疗方案相关性死亡,这说明万珂联合 EPOCH 化疗具有较好的安全性。

复发难治性非霍奇金淋巴瘤的耐药机制为多个因素一起作用的结果,故进一步的研究肿瘤细胞的耐药机制并寻找新的治疗药物及新的化疗药物组合方案具有重要的临床意义。万珂联合 EPOCH 化疗方案治疗复发或难治性 NHL 获得了一定的疗效,为 NHL 患者提供了更多的治疗选择。但本研究资料病例数有限,其疗效和相关不良反应,及对各亚型的疗效等有待进一步的临床观察及研究。

参考文献

- Belch A, Kouroukis CT, Crump M, et al. A phase II study of bortezomib in mantle cell lymphoma: the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group trial IND. 150 [J]. Annals of Oncology, 2007, 18(1): 116~121
- Strauss SJ, Maharaj L, Hoare S, et al. Bortezomib therapy in patients with relapsed or refractory lymphoma: potential correlation of in vitro sensitivity and tumor necrosis factor alpha response with clinical activity [J]. J Clinical Oncology, 2006, 24(13): 2105~2112
- Lai GM, Chen YN, Mickley LA, et al. P-glycoprotein expression and schedule dependence of adriamycin cytotoxicity in human colon carcinoma cell lines [J]. International Journal of Cancer Journal International Du Cancer, 1991, 49(5): 696~703
- Coiffier B. Effective immunochemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma [J]. Semin Oncol, 2004, 31(1 Suppl 2): 7~11
- Roschewski M, Dunleavy K, Wilson WH. Diffuse large B cell lymphoma: molecular targeted therapy [J]. International Journal of Hematology, 2012, 96(5): 552~561
- 郭琰, 顾康生. 侵袭性 T 细胞非霍奇金淋巴瘤的耐药机制 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2011, 38(9): 707~710
- Coleman M, Leonard J, Shuster MW, et al. DICE (dexamethasone, ifosfamide, cisplatin, etoposide) infusional chemotherapy for refractory or relapsed non-Hodgkin's lymphoma (NHL) [J]. European Journal of Haematology Supplementum, 2001, 64(4): 1~5
- Olivieri A, Brunori M, Capelli D, et al. Salvage therapy with an outpatient DHAP schedule followed by PBSC transplantation in 79 lymphoma patients: an intention to mobilize and transplant analysis [J]. European Journal of Hematology, 2004, 72(1): 10~17
- Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Blood, 2009, 113(24): 6069~6076
- Suh KS, Tanaka T, Sarojin S, et al. The role of the ubiquitin proteasome system in lymphoma [J]. Critical Reviews Oncology/Hematology, 2013, 87(2): 111~125

- gy, 2013, 87(3): 306–322
- 11 Koprivnikar JL, Cheson BD. Bortezomib: a proteasome inhibitor with an evolving role in select subtypes of B-cell non-Hodgkin's lymphoma [J]. Future Oncol, 2012, 8(4): 359–371
- 12 Barr PM, Fu P, Lazarus HM, et al. Phase I trial of fludarabine, bortezomib and rituximab for relapsed and refractory indolent and mantle cell non-Hodgkin lymphoma [J]. British Journal of Hematology, 2009, 147(1): 89–96
- 13 Goy A, Younes A, McLaughlin P, et al. Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma [J]. Journal of Clinical Oncology, 2005, 23(4): 667–675
- 14 Fisher RI, Bernstein SH, Kahl BS, et al. Multicenter phase II study of bortezomib in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma [J]. Journal of Clinical Oncology, 2006, 24(30): 4867–4874
- 15 Gerecitano J, Portlock C, Hamlin P, et al. Phase I trial of weekly and twice-weekly bortezomib with rituximab, cyclophosphamide, and prednisone in relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma [J]. Clinical Cancer Research, 2011, 17(8): 2493–2501
- 16 Ruan J, Martin P, Furman R R, et al. Bortezomib plus CHOP – rit-
- uximab for previously untreated diffuse large B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma [J]. Journal of Clinical Oncology, 2011, 29(6): 690–697
- 17 Oakervee H, Popat R, Cavenagh JD. Use of bortezomib as induction therapy prior to stem cell transplantation in frontline treatment of multiple myeloma: impact on stem cell harvesting and engraftment [J]. Leukemia Lymphoma, 2007, 48(10): 1910–1921
- 18 Gutierrez M, Chabner BA, Pearson D, et al. Role of a doxorubicin-containing regimen in relapsed and resistant lymphomas: an 8-year follow-up study of EPOCH [J]. Journal of Clinical Oncology, 2000, 18(21): 3633–3642
- 19 Wilder DD, Ogden JL, Jain VK. A multicenter trial of infusional etoposide, doxorubicin, and vincristine with cyclophosphamide and prednisone (EPOCH) in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma [J]. Clin Lymphoma, 2001, 1(4): 285–292
- 20 万一元, 惠王. EPOCH 方案治疗侵袭性非霍奇金淋巴瘤近期疗效观察 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2012, 19(4): 353–355
- 21 闫秀云. 利妥昔单抗联合 CHOP 方案治疗非霍奇金淋巴瘤临床研究 [J]. 中国医刊, 2012, 47(3): 64

(收稿日期: 2013-10-13)

(修回日期: 2013-10-23)

柱前衍生化 RP-HPLC 测定铁皮石斛鲜品中的氨基酸的含量

鲁芹飞 毕何锋 林培 李妹 邓路平 黄松

摘要 目的 测定铁皮石斛鲜品中氨基酸的含量。**方法** 样品以异硫氰酸苯酯 (PITC) 为衍生化试剂衍生后进行 HPLC 分析。采用 CAPCELL PAK C18 SG300 (250mm × 4.6mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温为 25°C; 流动相 A 为 0.05mol/L 醋酸钠缓冲液 (以醋酸调 pH 值至 6.5) – 乙腈 (1:1), 流动相 B 为 0.05mol/L 醋酸钠缓冲液 (以醋酸调 pH 值至 6.5), 梯度洗脱, 流速为 0.6ml/min; 检测波长为 254nm。结果 15 种氨基酸浓度在 0.077 ~ 2.042 μg 范围内呈良好的线性关系 ($r: 0.9994 \sim 0.9999$), 平均回收率为 94.3% ~ 107.7%。**结论** 本方法灵敏、准确, 具有良好的重复性和稳定性, 可用于铁皮石斛中氨基酸的检测。

关键词 铁皮石斛 衍生化 氨基酸 异硫氰酸苯酯 高效液相色谱

[中图分类号] R917

[文献标识码] A

Determination of Amino Acids in Dendrobium Officinale Fresh Product with Pre-column derivatization RP-HPLC. Lu Qinfei, Bi Hefeng, Lin Pei, Li Mei, Deng Luping, Huang Song. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong 510006, China

Abstract Objective To determine and analyze amino acids in Dendrobium officinale Fresh Product. **Methods** The sample was derivatized with phenyl isothiocyanate (PITC). HPLC was performed on a CAPCELL PAK C18 SG300 (4.6mm × 250mm, 5 μm) column with gradient elution of 0.05mol/L sodium acetate buffer solution (adjusted to pH 6.5 with acetic acid) – acetonitrile (1:1) (A) and 0.05mol/L sodium acetate buffer solution (adjusted to pH 6.5 with acetic acid) (B) at the flow rate of 0.6ml/min, detected at 254nm. Column temperature was 25°C. **Results** Fifteen aminoacids had good linearity in the ranges of 0.077 – 2.042 μg ($r: 0.9994 \sim 0.9999$).

基金项目: 广东省科技计划项目 (2008A030101009, 2011A030100011); 广东省教育厅产学研结合项目 (2010B090400474)

作者单位: 510006 广州中医药大学 (鲁芹飞、毕何锋、林培、李妹、邓路平、黄松); 523808 东莞, 广州中医药大学中医药数理工程研究院 (黄松)

通讯作者: 黄松, 博士, 副教授, 硕士生导师, 电子信箱: huangnn421@163.com