

## 定量 sildenafil citrate 的高壓液相層析法之開發與生物檢體之應用

### Development of a high performance liquid chromatographic method for biological application with sildenafil citrate

#### 中文摘要

本研究主要目的在於開發一簡單方便且對於 sildenafil 靈敏度高的 HPLC 分析方法來偵測血漿中微量 sildenafil 的含量。並將其應用於評估當併服葡萄柚汁後，是否可有效縮短 sildenafil 達到最高血漿濃度所需要的時間 (Tmax)，以改善 sildenafil 容易為普遍存在於肝臟及小腸中 CYP 3A4 酵素代謝的問題。經比較各種分析條件後選定以 Inersil 5, ODS-2, 4.6\* 150mm 之層析管柱為固定相，30mM pH6.0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 緩衝液/acetonitrile (45/55, v/v) 的混合溶媒為移動相，流速 0.5 ml/min，樣品注射量為 100ul，使用 UV 檢測器於 230nm 下偵測結果。結果顯示此分析方法對於血漿當中 sildenafil 濃度的定量具有相當好的靈敏度與再現性，在檢量線濃度 10-1000 ng/ml 的範圍之內呈現良好的線性關係，其回收率可達 80%。經密度評估異日間及同日內確效的偏差各在 0.41%~11.15% 及 0.36%~8.05% 之間；準確度評估異日間及同日內確效的偏差則各在 -8.72%~6.81% 及 0.36~6.53 之間，顯示此分析條件適合用於分析血漿中微量的 sildenafil。

將上述分析條件實際應用於人體試驗以評估 sildenafil 在血漿中濃度的變化，四位受試者分兩次試驗併服 25mg sildenafil citrate 膠囊與白開水及葡萄柚汁後，進行為時 8 小時的試驗及血液檢品採樣，經 HPLC 分析結果發現當 sildenafil citrate 與葡萄柚汁併服後，其 AUC 值明顯的比併服白開水為高，但 Tmax 及 T1/2 則有延長的現象，顯示葡萄柚汁的確增加了 sildenafil 的生體可用率。此機轉可預期的是葡萄柚汁內的 furano-

coumarins 抑制腸道內 CYP 3A4 所致，因而增加 sildenafil 的吸收速率，但結果顯示其 Tmax 並未如預期有縮短的現象。

#### 英文摘要

Endometriosis is a common disease in the population of reproductive age. Recent reports indicated that peritoneal fluid (PF) from patients with endometriosis significantly inhibited two-cell embryos development. The purpose of this study is to identify the embryo-toxic factor(s) and to assess the possibility of testing the factor(s) to predict prognosis and treatment effect in infertile women with endometriosis. The results indicated that a 110 kDa protein was detected in PF from women with endometriosis by gel electrophoresis. The PF from these patients significantly inhibited embryo development.

Three molecular weight(MW) fractions were obtained by gel permeation chromatography, and MW fraction 147-54 kDa showed apparent inhibition of embryo development. This study suggests that the 110 kDa protein seems to be the embryo-toxic factor in PF from endometriosis patients.