

注射液中附加成分的干扰等优点。适用于维生素C注射液的快速分析。

紫外分光光度法测定人血清中氨茶碱浓度

解放军第202医院药剂科 稿 杨 李国秀

氨茶碱有直接舒张支气管平滑肌的作用，从而缓解或解除支气管哮喘，疗效确切，是目前临床最常用的平喘药物之一。但氨茶碱有效治疗浓度较小(5~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)，个体差异大，当血药浓度低时，不能有效缓解哮喘，血药浓度过高时又可出现心律失常、抽搐等严重毒性反应。因此对哮喘患者给药个体化、最佳化，开展氨茶碱血药浓度监测工作势在必行。

紫外分光光度法测定血清中氨茶碱浓度，国内外报道很多，我们对南京军区总医院药理科所报道的方法结合本院具体情况作了一些改进。经一年来对32例患者81次的监测，结果较为满意。

一、方法

(一) 标准溶液：用氨茶碱标准品直接配制或用茶碱药典品、氨茶碱注射液等按中国药典(1977年版)做茶碱含量测定后，以测定值配成1 mg/ml水溶液备用。

(二) 测定波长选择：据文献报道，茶碱在紫外区的特征吸收峰值在274 \pm 1nm处，谷值在298 \pm 1nm处，但因仪器的不同测定波长也会有所变动，我们从茶碱在UV-120型分光光度计扫描结果判断，特征峰值于276nm处，谷值在310nm处(见图1)。

二、最低检出限度试验

氨茶碱的有效血药浓度为5~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，也有报道为10~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。所使用仪器的检出能力应在最低有效血药浓度以下，否则无法进行检测，因此在制作标准曲线前，应做最低检出限度试验。

方法，以空白血清0.5ml为对照管，再

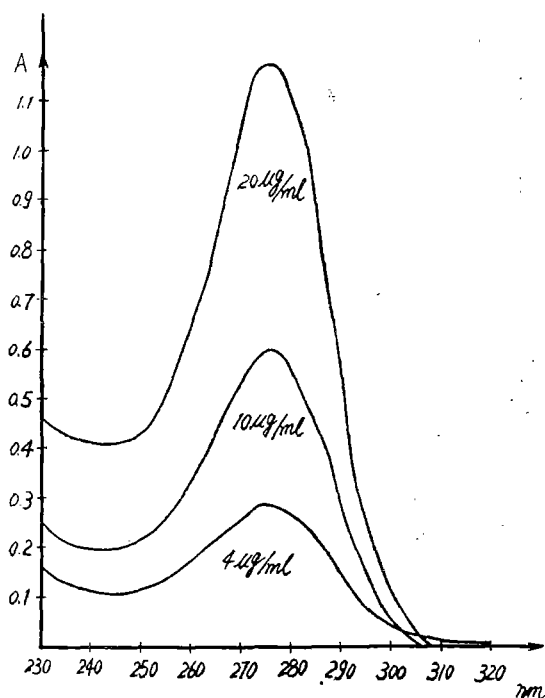


图1 不同浓度茶碱在UV-120型分光光度计中吸收值

配制含茶碱5~8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血清管0.5ml。各管加入0.1N盐酸0.4ml，此时溶液pH为5，摇匀，各精加9:1氯仿异丙醇溶液5ml，振荡2分钟，离心5分钟(2000~3000转/分)，弃去水层，精取氯仿异丙醇层4ml，各精加0.1N NaOH液4ml，振荡2分钟，于上述确定的波长处测定各管的峰值与谷值，结果如表1。

表1 不同浓度茶碱在峰谷波长处吸收值

浓度 C	$A_{\lambda 276}$	$A_{\lambda 310}$	$\Delta A(276-310\text{nm})$
空白	0.055	0.030	0.025
5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.085	0.026	0.059
6 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.089	0.027	0.062
7 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.093	0.023	0.070
8 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.097	0.020	0.077

一般吸收值应为空白管吸收值的3~5倍为宜,根据上述结果,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 管的紫外吸收值是空白管的3倍,所以UV-120型紫外分光光度计的最低检出限度为8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

三、标准曲线的绘制

表2 血清中加入氨茶碱测定结果

C ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ΔA_1	ΔA_2	ΔA_3	$\bar{\Delta A}$	回收C	回收率	平均回收率
5	0.032	0.028	0.028	0.029	5.01	100.2%	
10	0.057	0.053	0.061	0.057	10.07	100.7%	
20	0.109	0.112	0.116	0.112	20.00	100.0%	100.09%
30	0.170	0.169	0.165	0.168	30.12	100.4%	
40	0.226	0.222	0.216	0.221	39.69	99.23%	
50	0.281	0.272		0.277	49.81		
60	0.345	0.324		0.335	60.28		

将上述吸收值拟合直线方程得

$$C = 180.62 \Delta A - 0.2233 \quad r = 0.9999$$

四、血清检测

病人全血2ml(不抗凝),离心(2000~3000转/分)5分钟,精取血清0.5ml,精加0.1N盐酸0.2ml,氯仿-异丙醇(9:1)5ml,振荡2分钟,离心5分钟,弃去水层,精取氯仿-异丙醇层4ml,精加0.1N氢氧化钠液4ml,振荡2分钟,离心,取氢氧化钠层于276.310nm处测定其特征吸收峰值及谷值,求得 ΔA 值代入上述回归方程,可得病人的茶碱血药浓度。

五、讨论

1. 制作标准曲线时,标准品不易得到,用药品或氨茶碱注射液按中国药典法测定其含量后使用,监测结果亦较为满意。

2. 使用的正常人血清,必须选择至少一周内未饮茶的健康人血清,否则本底高,影响检测结果。

3. 使用氨茶碱溶液对最低检出限度实验及制作标准曲线时,氨茶碱血清液需加0.1N盐酸调pH至5,使氨茶碱充分析出茶碱,便于有机溶媒提取。实验证明0.5ml氨茶碱血清液需加0.1N盐酸0.4ml。而在血样中,因氨茶碱已以茶碱形式存在,加入

取1mg/ml茶碱溶液配制成含茶碱0,5,10,20,30,40,50,60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 血清系列管,按前述方法操作,将检测结果拟合直线方程,并重复做3次,观察其重复性及回收率,测验结果如表2。

0.2ml 0.1N盐酸即可调PH至5。

4. 血清中加入氯仿异丙醇液提取茶碱时,必须沿离心管缓慢加入,否则有机溶媒易与血清形成大泡状乳化层,在振荡提取时,乳化极为严重,影响下一步操作及测定结果。

5. 患者在治疗过程中若同时服用舒喘灵,紫外吸收值有所升高,应设法分离后再进行测定。

六、临床监测结果

一年来我们对住院患者32例监测了84人次其中达到5~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 者58人次占69%,4.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下者15人次占17.86%,20.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上者11人次占13.1%。据国内外文献报道,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 显效,10~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 为最佳血药浓度,20.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上者可能出现毒副作用。监测结果,血药浓度的变化与临床病例症状基本相符。

参考文献

- [1] 陈刚等,药学通报,(15):15,1984
- [2] 中华人民共和国药典(二部),1977年版,516~518
- [3] M.Gibaldi, Pharmacokinetics, No: 75, 1982