

表 3 供试液稳定性试验(室温)

批号	放置后振幅变化(mm)					RSD(%)
	0	2	4	6	24(h)	
961008	23.02	23.00	23.16	23.24	22.96	0.51
961107	19.60	19.86	19.40	19.56	19.68	0.79
961204	18.46	18.32	18.64	18.52	18.68	0.78
961208	19.10	19.32	19.28	19.00	18.96	0.85
960108	20.44	20.52	20.72	20.58	20.66	0.54

三、讨论

用二阶导数分光光度法测定复方酮康唑软膏中酮康唑含量,方法不受制剂中其他成分的干扰,不经分离便可直接测定,方法简便、快速,结果正确,适用于药厂对该制剂中间体的质量控制。

参考文献

- [1]蒋芝荣. 高效液相色谱法测定多效癣炎霜中氟氧舒松与酮康唑的含量. 药物分析杂志, 1990;10(8):161
- [2]戴富宝等. 高效液相色谱法测定酮康唑及其制剂的含量. 药物分析杂志, 1990;10(4):232
- [3]陈国珍等. 紫外-可见分光光度法. 原子能出版社, 1983:207

微量微生物法测定硫酸丁胺卡那霉素的血药浓度

张志敏 杨燕

(解放军第 260 医院药械科 石家庄 050041)

丁胺卡那霉素是临床上常用的抗生素之一,由于治疗指数较窄,对耳、肾的毒性较大,故根据药物动力学原理对其血药浓度进行常规监控。但在临床实践中使用血药浓度测定仪,气相层析、高压液相、荧光免疫、放射免疫等方法监测虽灵敏度高,速度快,但成本较高,样品需作繁琐处理,并且仪器价格昂贵,尚未普及,所以笔者认为中小医院用微生物法^[1]测定抗生素的血药浓度最切实用。此文介绍的是采患者的耳血,用 3mm 孔径打孔进样只需 10 μ l 的井式扩散法来测定血中丁胺卡那霉素的含量,采血到出结果需 16h,结果令人满意。此方法测定硫酸丁胺卡那霉素在国内未见报道,现将操作方法报道如下,仅供参考。

一、实验材料

硫酸丁胺卡那霉素 9508182(石家庄市第一制药厂生产);抗生素检定培养基 1,参照中国药典,1995 年版二部,附录:70 页;测

定菌种采用枯草芽胞杆菌(N.D.63501)芽胞型,枯草芽胞杆菌悬液,参照中国药典,1995 年版二部,附录:72 页。

二、方法与结果

(一)标准曲线的绘制

取硫酸丁胺卡那霉素(标准品)用 pH 值为 7.8 的磷酸盐缓冲液溶解成 500 μ g/ml 的溶液,再用空白血清稀释成 50、25、12.5、6.25、3.125 μ g/ml 的标准溶液,另取含有实验菌的琼脂平板(每个直径为 15cm 培养皿中加含 0.2% 试菌的琼脂 40ml),用内径 3mm 的角膜环钻打孔,挑去孔内琼脂,把平板倒置于 37 \pm 2 $^{\circ}$ C 恒温箱中约 10min,取出后置水平台上,用微量注射器精确吸取上述标准溶液各 10 μ l,分别加至 5 个孔内,置于 37 \pm 2 $^{\circ}$ C 恒温箱中孵育 12~16h 后取出,用精密度在 0.02mm 的游标卡尺分别量取抑菌圈直径。结果见表 1。根据抑菌圈直径 X 的大小与抗菌素浓度 Y 的对数 logY 呈直线关

系,在 CASIO fx-3600P 型计算器上计算直线回归方程: $\log Y = 0.1467X - 1.0284$, $r = 0.9998$ 。

表 1 不同浓度丁胺卡那霉素抑菌圈直径 (n=6)

理论浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	抑菌圈直径(mm) ($\bar{x} \pm s$)	RSD (%)
3.125	10.46 ± 0.08	0.76
6.25	12.38 ± 0.15	1.21
12.5	14.43 ± 0.16	1.11
25	16.51 ± 0.20	1.21
50	18.65 ± 0.29	1.55

(二)回收率实验

取含菌琼脂平板 4 个,每个平板分别打孔,按标准曲线方法定量加入 3.125 - 50 $\mu\text{g/ml}$ 不同浓度的丁胺卡那霉素标准液,置 37 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育 12~16h 后取出,量取抑菌圈直径代入直线回归方程,计算回收率。

表 3 丁胺卡那霉素重复性测定结果(n=4)

理论浓度($\mu\text{g/ml}$)	实测浓度值($\mu\text{g/ml}$)			
	日		间	
	($\bar{x} \pm s$)	RSD (%)	($\bar{x} \pm s$)	RSD (%)
3.125	3.15 ± 0.01	0.32	3.11 ± 0.11	3.54
6.25	6.22 ± 0.15	2.41	6.25 ± 0.30	4.80
12.5	12.48 ± 0.33	2.64	12.67 ± 0.60	4.74
25	24.73 ± 0.44	1.78	26.02 ± 1.00	3.84
50	50.68 ± 0.30	0.59	50.27 ± 1.18	2.35

三、丁胺卡那霉素血药浓度测定

患者 10 例,6 男 4 女,年龄 20~65a 之间,体重在 45~60kg,每次用 0.2g 丁胺卡那霉素注射液加在 250ml 的 0.9% 氯化钠注射液中静滴, bid, 达稳态后,谷值浓度在静滴前 5min,峰值浓度在静滴完毕后 5min 内取耳血各 1ml,血样离心后立刻取血清 10 μl 加在准备好的含菌平板的另 4 个小孔内,谷、峰值血清各加 2 孔取平均值,经孵育后量取抑菌圈直径,由回归方程求出给药后谷、峰值的血药浓度。结果见表 4。

结果见表 2。

表 2 丁胺卡那霉素回收率测定结果(n=4)

理论浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	实测浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	平均回收率 (%) ($\bar{x} \pm s$)	RSD (%)
3.125	3.15	100.80 ± 1.73	1.72
6.25	6.27	100.36 ± 1.47	1.46
12.5	12.54	100.28 ± 1.99	1.98
25	24.79	99.17 ± 1.37	1.38
50	50.68	101.35 ± 0.68	0.67

(三)重复性实验

同一天内配制 3.125~50 $\mu\text{g/ml}$ 不同浓度的丁胺卡那霉素标准液,每一浓度按标准曲线方法在含菌琼脂平板重复 4 次实验,测定日内误差。将配好以上不同浓度的丁胺卡那霉素标准液,每一浓度按标准曲线的方法每日在含菌琼脂板上实验,连续 4d,测定日间误差。把以上所量取的抑菌圈直径代入直线回归方程,计算出浓度结果(见表 3)

表 4 患者丁胺卡那霉素血药浓度监测结果

编号	谷值浓度($\mu\text{g/ml}$)	峰值浓度($\mu\text{g/ml}$)
1	2.15	22.10
2	0	19.89
3	0	27.00
4	0	18.20
5	0	18.01
6	1.67	25.01
7	1.20	26.03
8	0	22.09
9	0	24.00
10	1.34	22.10
\bar{x}	1.59	22.44

四、讨论

1. 微量微生物法监测丁胺卡那霉素的血药浓度, 实验条件简便, 实验费用较低, 操作程序简单, 取血量少, 病人易接受, 对样品不需作繁琐处理。

2. 此方法与其它化学方法有良好的相关性, 回收率和重复实验表明, 日内、日间误

差均小于 5%, 重现性好, 能满足设备简陋的中小医院的常规抗生素血药浓度的监测。

3. 10 例患者的血药浓度均达峰值, 谷峰浓度均小于 $3\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

参考文献

[1] 陈刚主编. 治疗药物监测理论与实践. 北京: 人民军医出版社, 1988: 167~70

荧光分光光度法控制鬼臼毒素脂质体的质量

马守栋 李国锋* 陈志良* 许重远*

(解放军第 91 医院 山东兖州 272000)

摘要 本文以荧光分光光度法分别测定了脂质体液中鬼臼毒素总含量、未包入脂质体内的游离鬼臼毒素含量, 及脂质体的包封率。最大激发波长 290nm, 发射波长 633nm, 线性范围 $28.03 \sim 448.40\mu\text{g}/\text{L}$ ($r = 0.9997$), 回收率在 99% 以上。本法灵敏度高, 专属性强, 结果准确。

关键词 荧光分光光度法; 鬼臼毒素脂质体; 质量控制

尖锐湿疣的发病率逐年升高, 鬼臼毒素 (Podophyllotoxin) 霜、酊剂是目前治疗该病的一线药物, 由于透皮性差, 疗效欠佳^[1]。根据脂质体易透过皮肤的特性, 作者制备了鬼臼毒素脂质体(另文发表)。有关其含量测定方法, 已报道的有紫外分光光度法^[2]、薄层扫描法^[3]、HPLC 法^[4]等, 但用荧光分光光度法, 国内尚未见报道。在证实其具荧光特性的基础上, 作者以荧光分光光度法控制鬼臼毒素脂质体的质量, 取得了满意的结果, 现报道如下:

一、仪器与试剂

日立 3000 荧光分光光度计: 日本; 鬼臼毒素对照品: 中国医科院药物研究所; 脂质体: 以逆相蒸发法^[5]制备; 卵磷脂: 上海禽蛋二厂; 胆固醇: 上海长城生化药厂; sephadex-50 葡聚糖凝胶: 瑞典; pH7.0 磷酸盐缓冲液 (PBS): 按《中国药典》90 版方法配制; 乙

醇: AR 级, 安徽特级酒精总厂。

二、实验方法与结果

(一) 光谱测定 精密称取 105℃ 干燥至恒重的鬼臼毒素对照品适量, 以乙醇溶解并稀释成 $56.05\text{mg}/\text{L}$ 的贮备液, 备用。精密量取贮备液适量, 以乙醇稀释成适当浓度的溶液, 置荧光分光光度计上扫描 (仪器条件: 激发、发射狭缝均为 10nm, 灵敏度中档, 温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$), 得鬼臼毒素的最大激发波长为 290nm、250nm, 最大发射波长 633nm (见附图)。因以 290nm 作为激发光源测得的荧光强度较大, 故选择该波长为测定用激发波长。

取卵磷脂、胆固醇适量, 均以热乙醇溶解, 冷至室温, 分别稀释成适当浓度的溶液。相同条件下, 以 290nm 激发光分别扫描卵磷脂、胆固醇乙醇溶液及二者混合液的发射光谱, 结果三者均在 580nm 处有一峰。

由此可知, 以 290nm 为激发光波长、633nm 为发射光波长测定鬼臼毒素的含量, 供试液中的成膜材料卵磷脂及胆固醇均不产

* 第一军医大学南方医院