

表 1

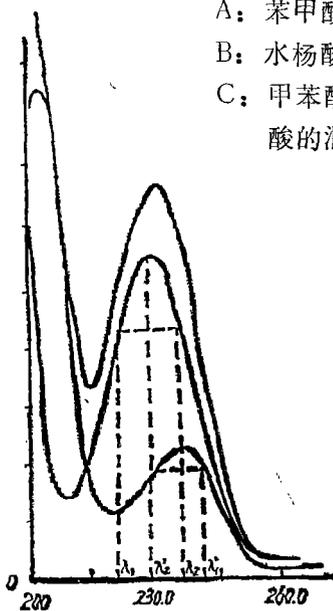
回 收 试 验

序 号	水 杨 酸 投 入 量 (μg/ml)	ΔA	水 杨 酸 测 得 量 (μg/ml)	回 收 率 (%)	平 均 回 收 率 (%)	苯 甲 酸 投 入 量 (μg/ml)	ΔA	苯 甲 酸 测 量 得 量 (μg/ml)	回 收 率 (%)	平 均 回 收 率 (%)
1	4.08	0.1165	4.11	100.6		8.16	0.4189	8.21	100.6	
2	4.32	0.1215	4.31	99.8		8.64	0.4451	8.71	100.8	
3	4.56	0.1287	4.56	100.0	99.7	9.12	0.4691	9.17	100.5	100.4
4	4.92	0.1372	4.86	98.7		9.84	0.5094	9.92	100.8	
5	5.04	0.1414	5.00	99.2		10.08	0.5137	10.01	99.3	
CV = 0.74%						CV = 0.64%				

表 2

样 品 测 定

批 号	中 和 法	本 法	
		水 杨 酸	苯 甲 酸
881227	95.2%	95.5%	95.3%
900222	99.3%	102.2%	101.4%
900401	98.5%	100.8%	101.3%



A: 苯甲酸
B: 水杨酸
C: 甲苯酸+水杨酸的混合物

吸收值不变。

2. 由于等吸收波长选择的准确与否对测定结果影响较大,故要求仪器稳定性好,波长要校正,并尽量避免操作误差。

参 考 文 献

1. 中华人民共和国卫生部药政局: 中国医院制剂规范(第一版) 1989: 75~76
2. 陈国珍等: 紫外-可见分光光度法(上册) 北京 原子能出版社1983: 176

附图 紫外吸收光谱图

血浆中氨甲喋呤高效液相测定法

朱蓓德摘译 孔庆洪校

氨甲喋呤 (MTX, 4-amino-N¹⁰-methylpteroyl-L-glutamic acid) 是一种二氢叶酸还原酶抑制剂。该药用于治

疗急性淋巴细胞白血病,非何杰金氏淋巴瘤和其它例如乳房癌等恶性疾病,大剂量使用该药。血浆浓度与药物中毒相关,

因此在注入药物后应该测定和随时了解药物浓度。使用高效液相层析法可以使原药与主要代谢产物分离。

本文报道了一种新颖的离子对法在血浆样品中提取氨甲喋呤,提取后的样品用改进的液相层析进行分析,对血浆中氨甲喋呤回收率、精密度,最低检测量等都有了显著改善。

仪器与层析条件

高效液相仪器为 Varian—5000 型,由高压泵、可变波长检测器与50微升进样器组成。层析柱Lichrosorb Rp—18 (7 μ m) (25 \times 0.46cm) 并配有予柱。流动相由醋酸铵缓冲液(0.05M) 87%、乙腈6.5%、甲醇6.5%组成,最后用冰醋酸调节到pH5.0。流速是1.8ml/min,注射量是50 μ l,检测波长305nm用茶碱作为内标。

样品准备

根据血浆中氨甲喋呤的浓度取250和100 μ l血浆,放置玻璃管内与添加下列成份:一定量的茶碱内标液,150 μ l15%三氯乙酸水溶液,250 μ l冰醋酸、将混合物涡旋30秒,再加入5毫升醋酸乙酯涡旋2min,然后以20,000转数/分钟离心10min,分出醋酸乙酯,沉淀物再用2毫升醋酸乙酯洗涤,合并醋酸乙酯提取液在60 $^{\circ}$ C通氮蒸去溶剂,残留物溶解在150 μ l的水中,进样50 μ l。

标准曲线制备和计算

用水溶解氨甲喋呤(40与400 μ g/ml)和

茶碱作为储备液,取适量氨甲喋呤液加入空白血浆中使分别含10和200 μ g/ml。第一个溶液用于制备浓度范围从0.2~10 μ g/ml的标准曲线,第二个溶液用来制备含10~50 μ g/ml的标准曲线,适当调整茶碱浓度以适应每个标准曲线检测器的敏感性。

以峰高比(氨甲喋呤/内标)对照不同浓度绘制标准曲线。

氨甲喋呤,7-羟基-氨甲喋呤,2,4-二氢-N¹⁰-喋酸和茶碱的绝对回收率是通过从血浆中用三氯乙酸和醋酸处理提取后所得水溶液进样由各个组份不同浓度的平均峰高计算而得。

将三个不同浓度的氨甲喋呤的血浆样品用来作为控制日内和日间精密度计算。

结果与讨论

应用高氯酸与氨甲喋呤形成离子对法提取率为46%本文应用三氯醋酸加醋酸在醋酸乙酯中提取离子对法,氨甲喋呤有效的提取率显著改进。药物和其代谢产物的回收率如下:氨甲喋呤95.7~97.2%,7-羟基氨甲喋呤95%,2,4-二氢-N¹⁰-喋酸92%,在大多数情况下内标回收率为96%。

本文检测是用305nm波长的紫外检测器进行的,茶碱与氨甲喋呤或其代谢物分离良好。根据病人不同给药量与采血时间制作3条血浆中差异较大的氨甲喋呤浓度标准曲线,每个曲线的浓度范围和统计值列在表1,

表1 血浆中氨甲喋呤标准曲线

浓度范围 (μ g/ml) a	线性系数	斜率b	衰减 (AUF)
0.2—1	0.996 \pm 1.07 \times 10 ⁻³	1.61 \pm 7.35 \times 10 ⁻²	0.01
1—10	0.996 \pm 1.80 \times 10 ⁻³	0.13 \pm 1.77 \times 10 ⁻³	0.04
10—50	0.995 \pm 3.36 \times 10 ⁻³	0.02 \pm 2.32 \times 10 ⁻³	0.16

a: 每个范围5个点构成

b: 5个测定的平均值 \pm SD

方法的可重复性可通过计算同日进行的分析或4周时间不同日进行的分析间的变异

系数来检测。通过分析发现日间变异范围是3.55到3.78%,而日内变异因素不超过

3.02%。详细精确的资料列在表2, 最低可测得氨甲喋呤浓度是0.1 μ g/ml。

表2 血浆中氨甲喋呤分析的精密度测定

	浓 度 (微克/毫升)					
	日 内			日 间		
	0.6	2	30	0.6	2	30
平 均 (n=15)	0.58	1.96	29.57	0.59	2.04	30.27
标 准 差	1.09	5.07	0.78	2.11	7.46	1.16
变 异 系 数 %	1.18	3.02	2.66	3.55	3.64	3.78
实 测 差 %	-3.33	-2.0	-1.43	-1.16	2.0	2.4

$$\text{实测差\%} = \left[\frac{(\text{测得浓度} - \text{应得浓度})}{\text{应得浓度}} \right] \times 100$$

为了确定分析法的专一性, 排除可能与内源代谢物和氨甲喋呤的主要代谢产物的干扰是十分重要的。分析是在空白血浆中添加了氨甲喋呤, 7-羟基氨甲喋呤, 2,4-二氨-N¹⁰-喋酸的血浆样品中进行。典型的层析法证实了从其主要代谢产物中能进行很好的药物分离。茶碱, 氨甲喋呤, 7-羟基氨甲喋呤, 2,4-二氨-N¹⁰-喋酸的保留

时间分别为5.2 \pm 0.1, 8.5 \pm 0.2, 14.5 \pm 0.5和31min。此外叶酸(R_f=4min)和亚叶酸(15min后未测到高峰)的标准溶液证实了上述代谢物与内源物对氨甲喋呤的分析均无干扰。

结论: 本文介绍了在血浆样品中氨甲喋呤有效的提取法及其定量方法。

[Theapeutic Drug Monitoring《治疗药物监测》, 12: 191~194, 1990 (英文)]

用国产大输液微粒计数器检测输液中不溶性微粒

河北峰峰矿务局第二医院 高宏科

输液中不溶性微粒的检测方法, 中国药典1985年版规定用显微镜法。但该法操作较繁琐, 并需要一些特殊设备, 在基层医院普及有困难。笔者利用国产大输液微粒计数器进行检测, 效果较满意, 现报告如下。

仪器与药品

DWJ-1型大输液微粒计数器(南京半导体器件总厂); 医用生物显微镜(南京江南光学仪器厂); 超净工作台等。生理盐水、葡萄糖氯化钠注射液、葡萄糖注射液、复

方氯化钠注射液、注射用水等。

检测方法与结果

工作原理 DWJ-1型大输液微粒计数器原理与库尔特(Coulter)微粒计数器相同, 利用微粒是不良导体这一特性, 让含有微粒的氯化钠溶液通过仪器微孔管上一特制的宝石微孔(ϕ 100 μ m), 若孔内含有氯化钠溶液时, 等效为一恒定电阻值; 当微粒进入微孔时, 排开部分氯化钠溶液, 使微孔两端的电阻值发生微量变化; 将此电阻值变