维普资讯 http://www.cqvip.com



后以牛奶喂养4天、因大便干燥，改为米糊喂养，未添加任何辅食。出生后10天发现患儿肛周皮肤一蚕豆大红斑，之后红斑逐渐扩散，至手足。患儿病后一直腹泻，体检发现：病儿发育营养差，面色苍白，反应迟钝，皮下脂肪薄，口周、下腹部、臀部，大腿内上及指(趾)端皮肤大小不等之暗红斑，干燥脱屑。血常规：血色素116g/L，白细胞总数：11.8＋10⁹/L，中性白细胞0.6，淋巴细胞0.4，血清锌测定为8.72μmol/L。诊断：①肠病性肢端皮炎，②Ⅱ度营养不良，以0.5%硫酸锌溶液，无味红霉素，输血等治疗，一般情况好转，皮损退尽，治愈出院。

## 3 讨论

肠病性肢端皮炎的病因尚不完全清楚，过去认为与肠道功能紊乱，色氨酸代谢异常，遗传等因素有关。近来研究发现，与锌缺乏有关。本组部分病儿血清锌测定低于正常值。

根据本组患儿均分布于农村，区县城镇，无一例属于市中区的患儿。病儿多数有明显的喂养不当病史，如出生后10天以内发病者3例均是以米糊喂养的，出生后一个月之内发病的10例，多数为米糊喂养，或为母奶加米糊(或加糖水)喂养，甚至有诉母奶不足，而又未添加任何辅食。结合患儿有腹泻，血清锌水平低下，我们认为，肠病性肢端皮炎的发生，与婴幼儿的喂养不当有重大关系。出生以后喂养不当，致使婴幼儿对蛋白质、脂肪、维生素及微量元素摄入不足，导致锌缺乏而致本病。所以，在治疗上，除及时补充锌制剂之外，还应纠正营养不良，给予病儿输血，输血浆及白蛋白，以及抗生素控制继发感染等综合治疗。这对于抢救重症患儿也非常重要。

另外，还应加强卫生宣教，特别是对广大农村的正确育婴知识的宣传教育。目前虽然人们的经济条件及物质生活都在逐步好起来，但广大农村仍然较缺乏科学知识，缺乏对婴幼儿的喂养和护理知识。为了我们的独生子女都能正常地、健康地成长，应加强对婴幼儿正确喂养的宣传指导工作，也可以进一步降低本病的发病率。

### 参考资料

1.方 圃，杨国亮，等.国外医学参考资料皮肤病分册，第4卷，第3期 1978;181
2.赵 辨，主编.临床皮肤病学 第二版 江苏科学技术出版社 1989;916

(收稿日期 1997－10－05)

307-309

(34)

# HPLC法测定血中茶碱浓度

R974.3
R969.1

临床学院传染科 黄仁刚* 钱元恕

提 要 本文建立了一种流动相为甲醇－乙腈－0.01mol/L乙酸(7.5:7.5:85)的HPLC法测定血清茶碱浓度。ODS C－18反相色谱柱，柱温30℃，流动相流速1.5ml/min，UV/vis检测器，检测波长278nm，用外标法定量。血清样品用氯仿/异丙醇(95:5)提取，水浴蒸干，甲醇50μl重溶。茶碱保留时间约4.80min；标准曲线回归方程Y＝0.6083＋0.3866x，r＝0.9981；茶碱浓度10.0、20.0、40.0μg/ml时回收率分别为94.71±3.35、108.42±5.22和90.48±4.32；最低检测限0.3125μg/ml；日内变异系数3.14%，日间变异系数4.73%。结果显示，本法分离效果好，而且快速、简便。

关键词 HPLC；茶碱
中图分类号 R974

血茶浓度、高效液相色谱法

* 研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com



氨茶碱是目前治疗支气管哮喘等急、慢性阻塞性气道疾患的常用药物。由于其有效血药浓度与中毒浓度较接近，因此一直是临床监测血药浓度的重要药物。有关茶碱血药浓度测定方法很多，如酶免疫法(EIA)，紫外分光光度法，荧光偏振免疫法(FPIA)和高效液相色谱法(HPLC)等[1]。紫外分光光度法特异性差，计算复杂，结果不准确;EIA法和FPIA法快速方便，稳定性好，但费用昂贵，试剂依赖进口，试剂国产化的工作尚在研制中[2]。

国内外HPLC法测定多用含乙酸盐的甲醇－或乙腈－水体系。本文建立了一种流动相含乙酸的甲醇－乙腈－水体系的HPLC测定法，具有快速、简便，分离效果好的优点。

## 1 材料与方法

1.1 药品与试剂 茶碱，杭州民生药厂惠赠;乙腈(批号:86－01－02)，上海试剂一厂;甲醇(批号:880307)、氯仿(批号:93－01－34－1)、异丙醇(批号:880805－1)和冰醋酸(批号:921123)，重庆东方试剂厂。以上试剂均为分析纯，乙腈经重蒸后使用。

1.2 仪器 高效液相色谱仪，美国PE公司，LC－100型，微量进样器，日本岛津;超声波清洗机，上海超声波仪器厂;可调定量加样器，法国Gilson产品;国产恒温水浴箱及多用振荡器。

1.3 试剂配制

1.3.1 标准贮存液 精确称取干燥至恒重的茶碱10mg溶于10ml甲醇中，配制成浓度为1mg/ml的茶碱贮存液，置－40°C贮存备用。

1.3.2 血清标准应用液 先用正常人无药血清配制浓度为40.0μg/ml茶碱血清标准液，然后倍比稀释，配制浓度分别为2.5、5.0、10.0、20.0和40.0μg/ml茶碱血清标准应用液。

1.3.3 提取液 氯仿:异丙醇=95:5(V/V)

1.3.4 流动相 甲醇:乙腈:0.01mol/L醋酸(7.5:7.5:85，pH 3.5)，混匀后超声脱气，循环使用。

1.4 色谱分析条件 色谱柱为中国科学院大连生物物理研究所生产的ODS C－18反相色谱柱，粒径7μ，柱长4.6mm×250mm。流动相流速1.5ml/min，柱温30°C，检测波长278nm，满量程吸光度(AUFS)0.01A，记录纸速0.25cm/min。

1.5 计算 以峰高为纵轴，茶碱浓度为横轴，绘制标准曲线，根据标本的峰高在标准曲线上查得其浓度。

## 2 结果

### 2.1 色谱图

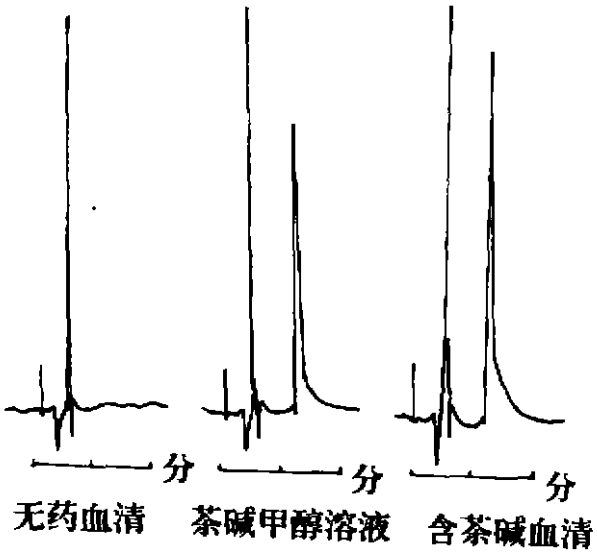



图1 茶碱的色谱分离图
(茶碱保留时间约4.80分)

### 2.2 茶碱标准血清的标准曲线

取普通试管6支，分别加入无药血清及含2.5、5.0、10.0、20.0和40.0μg/ml茶碱的系列血清标准液100μl，加入提取液1.5ml，间断涡旋振荡半分钟，小心吸取底层有机相1.0ml，置于小塑料离心管中，60°C水蒸干，用50μl甲醇重溶残留物，用微量进样器吸取10μl进样分析。

可见茶碱浓度在0～40μg/ml范围内呈良好线性关系(图2)，茶碱浓度(X)与峰高(Y)的回归方程 $Y=0.6083+0.3866X$，$r=0.9981$。

2.3 回收率试验 于无药血清中准确加入不同量的茶碱，使茶碱浓度为10.0、20.0和40.0μg/ml。按照以上方法提取，蒸干和重溶后，分别取10μl进样测定(n=3次)，根据茶碱的标准曲线求得回收浓度

维普资讯 http://www.cqvip.com



和回收率(表1)。

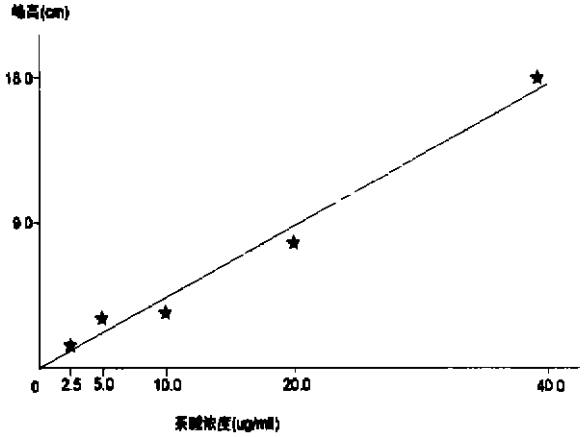



图2 HPLC测定茶碱的外标标准曲线

表1 不同浓度茶碱的回收率($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

| 加入浓度 (μg/ml) | 回收浓度 (μg/ml) | 回收率 (%) |
|---|---|---|
| 10 | 9.47±0.34 | 94.71±3.35 |
| 20 | 21.69±1.05 | 108.42±5.22 |
| 40 | 36.19±1.73 | 90.48±4.32 |

2.4 **精密度试验** 准确配制15.0μg/ml血清样本，按上述方法处理后，取10μl进样，一日内重复测定5次，计算变异系数(CV)得日内精密度为3.11%；然后每天测定一次，连续7天，得日间精密度为4.73%。

2.5 **最低检测限** 用流动相将贮存液系列稀释，同上法提取、重溶后取10μl进样，直到注入液的峰高大于杂峰2倍时为止，此时的茶碱浓度定为最低检测限。本方法的最低检测限为0.3125μg/ml。

## 3 讨论

茶碱的有效血药浓度范围窄，而且机体对茶碱的清除率有很大的个体差异，并受年龄、吸烟、疾病和联合用药等多种因素的影响，属于应该在血药浓度监测下使用的药物。预防或治疗哮喘发作的茶碱有效血药浓度范围是8～20μg/ml，高于25μg/ml发生毒性反应的机会增多，40μg/ml以上则可能出现心动过速、心律失常、抽搐甚至死亡[3]。因而测定结果超过30μg/ml时应立即通知临床医师，以便及时采取措施或减量。

高效液相色谱法检测血中茶碱浓度是国内最常用的方法之一，具有准确、灵敏和重复性好等优点。现有方法多用含乙酸盐缓冲体系的甲醇－乙腈－或甲氢呋喃－水作流动相，流动相中含有乙酸盐，久置可能降低柱填充剂稳定性，使柱效降低，柱寿命缩短；若清洗不彻底，盐结晶还会损害泵头并造成堵塞。以含有0.01mol/L乙酸的甲醇－乙腈－水体系作流动相，采用外标法，色谱分离效果满意，稳定性好，回收率高，利于柱寿命延长和管道维护，方法简便实用。作者认为该法可用于血和其他生物样品中茶碱的测定。

### 参考文献

1.张 娴，等.中华检验杂志 1994;17:365
2.蔡为民，等.中国药物化学杂志 1994;4:46
3.吴莱文，主编.抗哮喘药——茶碱 人民卫生出版社 1989;290

(收稿日期 1997－10－05)