DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.059
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
872 2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0872-03

氧化铝干柱层析固相萃取测定血中吩噻嗪类药物含量

马 育,杨晓兰,黄 维,景淑华,汤先觉,戴 月 (重庆医科大学基础医学院化学教研室,重庆 400016)

提 要:目的 建立一种血中吩噻嗪类药物的萃取及测定方法。方法 采用氧化铝干柱层析固相萃取技术分离血中吩噻嗪类药物,紫外二阶导数光谱图测定萃取物中吩噻嗪类药物浓度。结果 对于吩噻嗪类药物含量在mg/L级药物的血样,pH 8时氯丙嗪的萃取率>80%;pH 12时异丙嗪的萃取率>90%。紫外二阶导数光谱图测定氯丙嗪的加样回收率>90%。结论 本方法操作简便,试剂价廉,萃取率较高,测试重现性好,批量测试更省时间,对于含吩噻嗪类药物mg/L级的血样,测定结果可靠。

关键词:氧化铝;固相萃取;吩噻嗪类药物;紫外导数光谱
中图法分类号:R446.11;R971.5 文献标识码:A

Determination of blood phenothiazine with solid-phase extraction chromatography on alumina dry column

MA Yu, YANG Xiao-lan, HUANG Wei, JING Shu-hua, TANG Xian-jue, DAI yue (College of Basic Medical Science, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To establish a method for extracting and determining phenothiazine dugs in the blood. Methods Phenothiazine drugs were isolated from the blood by using solid phase extraction chromatography with alumina dry column. The phenothaizine drugs concentration in extractives was determined with UV 2nd derivative spectrogram. Results The extraction rate was over 80% for chlorpromazine (pH=8), and more than 90% for promethazine (pH=12) respectively. The recovery rates of chlorpromazine from blood were 93.0%~99.9% (RSDs from 1% to 4%, n=4). Conclusion The method for determining phenothiazine drugs in blood is simple, convenient, and cost-effective, with a good repeatability and high extraction rate, and is reliable at the level of mg/L. What's more, it is time-saving when dealing with batch sample.

Key words: alumina; solid-phase extraction; phenothiazine drugs; ultraviolet derivatibe spectra

吩噻嗪类药物属于临床易中毒药物。在吩噻嗪类药物中毒病例中,血是最常用的化验检材之一。血液中吩噻嗪类药物分析一般先经液-液萃取,再用紫外或可见分光光度法或色谱法[1,2]定量测定。液-液萃取法步骤烦琐、耗时,且时有乳化,给分离带来困难。固相萃取具有高效、简便、高选择性等特点[3],近年发展很快。固相萃取技术结合导数光谱的应用[4]使血液中该类药物的分析大为简化。实验室常用的亲水型吸附剂氧化铝是一种性能良好的固相萃取材料,它方便易得,虽早已广泛用于试样的预处理,但含吩噻嗪类药物的血液样品只经氧化铝处理就直接用于分析还未见报导。我们对氧化铝固相萃取血中吩噻嗪类药物作了研究,并结合二阶导数紫外光谱图对萃取液中的吩噻嗪类药物定量,有效消除了血液中其它杂质的干扰。现报告如下。

1 资料和方法

1.1 仪器与药品

日本岛津-265型紫外、可见分光光度计。旋涡混合器,江苏海门其林医用仪器厂。层析用氧化铝(200~300目),上海五四试剂厂。乙醚,分析纯,上海马陆制药厂。盐酸氯丙嗪、盐酸异丙嗪均为原料药,质量符合中国药典规定。抗凝保鲜人血,重庆市中心血站提供。其余药品均为分析纯试剂。

1.2 试剂处理和配制

氧化铝:用2.5 mol/L NaOH回流处理0.5 h,趁热过滤,蒸馏水洗至混悬液pH 10,130 ℃烘干活化4 h备用。

乙醚:经检查,其紫外吸收从200~250 nm为单调向下,250~350 nm为水平线,表明乙醚中无干扰杂质,可直接使用。若乙醚在200~350 nm有吸收峰,则表明乙醚不纯,需用$FeSO_4$溶液处理[4]后再使用。

盐酸氯丙嗪、盐酸异丙嗪标准溶液:准确称取盐酸氯内嗪原料药配成100 mg/L的甲醇溶液(于棕色瓶内),放冰箱中保存。

草酸钠抗凝剂:草酸钠2.0 g加蒸馏水100 ml溶解,得20 g/L草酸钠溶液。

缓冲溶液:按文献[4]配制pH 8和pH 12的两种缓冲溶液作为血液稀释剂。

1.3 实验方法

1.3.1 血中吩噻嗪类药物的液固萃取 于小试管中加入1 ml待测血液、0.2 ml草酸钠抗凝剂和1 ml缓冲溶液,混匀,移入装有6 g氧化铝(紧密装填视体积约7 cm^3)的小层析柱(内径1 cm,长约20 cm)中,待稀释血液全部渗入氧化铝中后,用少量乙醚混旋洗涤试管2次,洗涤液加入层析柱,再用乙醚以0.3 ml/min的速度洗脱,收集洗脱液6 ml。

基金项目:重庆市医学科技计划资助项目(99-2032)
作者简介:马 育(1953-),女,陕西省米脂县人,副教授,主要从事生物医学工程材料研制及药物分析方面的研究,发表论文10篇。电话:(023)68893828
收稿日期:2001-03-28;修回日期:2001-05-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2　洗脱液中吩噻嗪类药物的测定　　洗脱液处置及药物含量测定同文献[4]。

2　结果

2.1　血液稀释度、缓冲溶液 pH 值选择

血液经一定程度的稀释, 可以顺利渗入柱内, 且有利于洗脱剂均匀过柱。血液稀释倍数以 1 倍为宜, 稀释倍数太小, 导致血样浸润慢, 洗脱难, 且洗脱时血液沿管壁滑流, 造成洗脱拖尾, 萃取重现性差。稀释倍数太大, 洗脱剂及氧化铝耗量增大, 对萃取无更大益处。

参照文献[4], 氯丙嗪萃取选择缓冲溶液 pH 8, 异丙嗪萃取选择缓冲溶液 pH 12。为防止血液上柱时凝血, 阻滞萃取过程, 需补充适量抗凝剂。该条件下用乙醚洗脱可得最佳萃取率。

2.2　洗脱剂及其用量的选择

根据文献[1]选择乙醚为洗脱剂。实验结果显示, 药物主要存在于流出的前 2 ml 洗脱液中, 3～4 ml 中含量很低, 5～6 ml 中含量为极少或可疑, 6 ml 以后检不出药物。为尽量提取完全, 收集洗脱液 6 ml。

2.3　氧化铝、装填上样方式及洗脱速度的选择

血液中吩噻嗪类药物在碱性条件下呈游离态, 为减少氧化铝对碱性药物的吸附, 采用碱性氧化铝柱。根据药物游离态 pH 的要求, 经处理后的氧化铝, 其水洗液 pH 10 为宜。试剂级层析氧化铝含有干扰杂质, 经本文方法处理后的氧化铝其空白吸收, 见图 1, 能满足实验要求。此外, 氧化铝粒度对氧化铝的耗量及萃取效果也有直接的影响。氧化铝粒度增大, 血浸润柱体积增大, 且分离柱效降低, 氧化铝耗量增大, 见表 1, 需要更多乙醚才能将吩噻嗪类药物完全洗脱。故在一定的洗脱速度得以保证时, 应选用较小粒度的氧化铝。

表 1　氧化铝粒度与耗量的关系

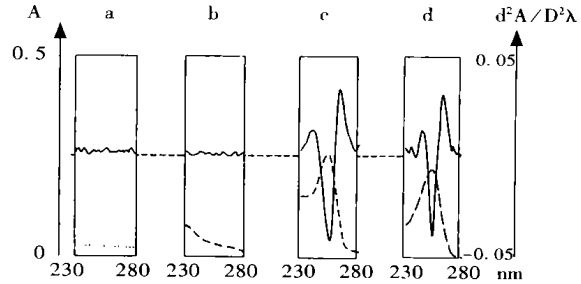
Tab 1　Relationship of alumina graininess and materials consumption

Graininess(mesh)	Dilute blood(ml)	Alumina(g)	Ether(ml)
200～300	2.2	6	≈12
100～200	2.2	9	≈18

氧化铝使用前应充分活化, 以保证对试样中的水及亲水性杂质的吸附性能, 本研究采用 130 ℃活化 4 h 可满足实验要求。由于干柱层析比常用的常压柱层析具有更好的分辨率和上样量比[5], 本研究采用碱性氧化铝(200～300 目)干法装填, 并用洗耳球敲打柱体, 使装填紧密。为提高分离效果, 洗脱速度不宜太快。本实验选择洗脱剂流出速度约 0.3 ml/min, 以利于药物的解吸流出; 洗脱速度太慢, 也无必要。研究表明, 该氧化铝干柱层析固相萃取法分离除去血中亲水性杂质非常有效, 洗脱液澄清无色。经检测, 过柱洗脱的空白血样, 同样条件下在紫外区无吸收峰, 二阶导数光谱图几乎呈水平线。表明随药物一起洗脱的血中亲脂性杂质对血中吩噻嗪类药物的测定几乎无干扰。图 1 是同样测定条件下氧化铝空白、过柱空白血、0 μg 的氯丙嗪及异丙嗪的紫外及二阶导数光谱图。

2.4　药物萃取率试验

在一定条件下, 氧化铝干柱层析固相萃取对血中吩噻嗪类药物有着较高的萃取率。空白血中添加药物测得的萃取率见表 2。



a: Without alumina; b: No blood passing through; c: Chlorpromazine (10 μg); d: promethazine (10 μg)

图 1　紫外及二阶导数光谱图

Fig 1　UV spectra (solid line) and UV 2nd derivative spectra (dashed line)

表 2　血中吩噻嗪类药物的萃取率(n=3)

Tab 2　Extractive rates of phenothiazine drugs from blood(n=3)

Drug	pH	Concentration(mg/L)	Extraction rate(%)
Chlorpromazine	8	20	85.3±0.8
		10	86.7±1.4
		2	84.0±5.2
Promethazine	12	20	96.0±1.6
		10	97.0±1.5
		2	91.5±9.0

2.5　药物检出限

配制一系列低浓度药物标准溶液, 测定相应峰谷波长处的二阶导数差 Δ($d^2A/d\lambda^2$), 与噪音(空白血)值相对照。以大于或等于空白血相应位置噪音 3 倍的信号浓度为检出限, 则本法药物检出限为: 氯丙嗪 0.6 mg/L, 异丙嗪 0.8 mg/L。若考虑萃取率, 检出限应适当修正。

2.6　药物加样回收试验

表 3 是体外血液灌流后残血中的氯丙嗪加样回收试验结果, 该结果表明在试验范围内, 方法的可靠性较强。

表 3　氯丙嗪加样回收试验(n=4)

Tab 3　Recovery rate of chlorpromazine from blood(n=4)

Original (mg/L)	Added (mg/L)	Found ($\bar{x}\pm s$, mg/L)	Recovery(%)	RSD(%)
2.98	5.00	7.63±0.11	93.0	1.4
	10.00	12.47±0.45	94.9	3.6
	15.00	17.97±0.35	99.9	1.9

3　讨论

碱性氧化铝对体液中的极性物质有很强的吸附性, 而对呈碱性游离态的吩噻嗪类药物吸附很小, 因此药物容易被乙醚等亲脂性溶剂洗脱。实际检血中, 亚砜与原药共存, 测定前加少许锌粉, 隔水煮沸 10 min, 将亚砜还原为原药后[4]再测定, 结果为药物总量。本法萃取后, 药物总量可用多种方法测定。对于该类药物引起中毒的患者, 血药浓度通常为 mg/L 级, 用紫外二阶导数光谱测定较简便, 亦能较好的消除血液中其它杂质的干扰。故本法对于吩噻嗪类药物中毒患者的血药浓度分析, 测定的准确度较高。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

血中吩噻嗪类药物采用氧化铝干柱层析固相萃取，萃取率较高且稳定。测定过程方便、快速、费用低，特别适合于批量操作。与液－液萃取相比，固相萃取大大简化了分离操作步骤，提高了萃取率。就可选用的固相萃取材料来看，亲水性材料对吩噻嗪类药物有更好的萃取率[4]，且萃取液较纯净。层析用的氧化铝和硅藻土都是很好的亲水性材料，但二者的萃取原理不同。氧化铝是吸附剂，对亲水性物质吸附力很强，用乙醚很难将水及亲水性杂质洗脱，故洗脱剂用量的大小对分析结果的影响较小，加上氧化铝价廉，使其更具应用优势。

参考文献：

[1] 徐 婉，陈源世. 常见毒物的微量分析[M]. 北京：群众出版社，1982. 59－113.
[2] 齐芳英，邵 燕，高南南，等. 气相色谱法测定人血清氯丙嗪浓度[J]. 药学通报，1984，19(10)：37－40.
[3] 李增标，董善年. 液固萃取及其在样品处理中的应用[J]. 药物分析杂志，1990，10(3)：184－188.
[4] 谭家镒，姜兆林，郎陈中，等. 血中吩噻嗪类药物硅藻土萃取及紫外导数光谱测定法研究[J]. 药物分析杂志，1997，17(6)：391－394.
[5] 赵维民，张天佑译，徐任生，等. 制备色谱技术-在天然产物分离中的应用[M]. 北京：科学出版社，2000. 41－43.

（编辑 谢义霞）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)07-0874-01

脑脊髓多发性血管网状细胞瘤并脊髓空洞症 1 例

One case of multipl amgioreticuloma with syringomyelia of brain-spinal cord

杨于亮，翁超群，陈永红，高伯元 （第三军医大学附属西南医院神经外科，重庆 400038）

患者，男性，15 岁，学生，2000 年 11 月 30 日入院。近 3 个月间隙性头痛，以后枕部为重，伴右侧肢体麻木及酸痛，右侧听力下降，声嘶、偶有饮水呛咳。查体：视乳头边界稍模糊，右侧面部痛觉减退，右侧听力、视力减低，咽反射迟钝，伸舌偏向右，右舌肌萎缩，右侧肢体痛、触觉、温度觉减退，深感觉正常。MRI(5582)：延髓右背侧见 1.5 cm×1.5 cm×2 cm 稍短、T1 较长 T2 信号影，下缘有 2 cm×3 cm×3 cm 短 T1、长 T2 信号影相连；右侧小脑半球可见较长 T1 信号，长 T2 信号不规则、边界欠清。C5 脊髓内可见一结节样稍短 T1、较长 T2 信号，增强效应均明显，C2～C6 脊髓内可见长条状囊样长 T1、长 T2 信号，延续至 T6，脑室系统无扩张，颅底无畸形。考虑第四脑室室管膜瘤，伴右侧小脑半球、脊髓中央管播散，继发脊髓空洞症。肌电图示：右冈上肌、三角肌神经性异常。听觉诱发电位示：双耳 BAEP 传导异常，Vip 延长，右上肢体感，传导通路异常，肝肾胰 B 超正常。血红蛋白、红细胞数、网织红细胞记数均在正常范围。家族中无类似发病。

于 2000 年 12 月 8 日手术见右侧小脑半球表面有 1.5 cm×1.5 cm×1 cm，鲜红，质稍硬，血管丰富，切开小脑蚓部，见延髓右背侧有 1.5 cm×1.5 cm×2 cm 肿瘤，突向四脑室，有一枝粗大小脑后下动脉分支供血，下缘有一 2 cm×3 cm×3 cm 囊，分别在显微镜下完整切除。颈 5 脊髓内有一 1 cm×1 cm×1 cm 肿瘤，鲜红色，边界清楚，在显微镜下完整切除。肿瘤切除后空洞打开直径 1 cm 的洞，清亮脑脊液流出，使中央管和蛛网膜下腔相通。所切 3 个肿瘤均送病理，病理诊断为血管网状细胞瘤。术后第 2 天右侧肢体感觉恢复正常，伸舌居中，咽反射仍迟钝。术后出现室上性心动过速，经对症处理治愈，术后 10 d 痊愈出院。

讨论

血管网状细胞瘤是起源于中胚叶细胞的胚胎残余组织，为真性血管性良性肿瘤，诊断主要靠 CT 和 MRI，治疗主要是手术切除，放射治疗不敏感[1]。而脊髓空洞症形成原因较多，如：脊髓损伤出血、肿瘤、蛛网膜炎、脊髓先天发育不好、颅底畸形等。临床主要是受累脊髓阶段神经损害，以痛温觉减退、消失、感觉分离障碍为主要特点，可有脊髓长束损害的运动障碍及神经营养障碍，治疗上根据影像学情况及致病原因而定。此病例小脑半球、延髓、颈 5 脊髓内均有血管网状细胞瘤，为多发性，较少见，同时伴有脊髓空洞症，更是罕见，国内文献[1, 2]未见报道，考虑脊髓空洞与延髓空洞背侧肿瘤有一定相关性，Samii 等[4]总结 100 例髓内病人指出，与脊髓空洞症相关肿瘤中血管网状细胞瘤和室管膜瘤最常见，星形胶质细胞较少见，因肿瘤可引起脑脊液循环障碍，致四脑室中孔不畅通，脑脊液搏动冲击中央孔扩大，逐渐形成空洞[1, 3]。此病人手术切除肿瘤后效果好，术后第 2 天部分神经功能恢复，远期效果有待进一步随访。

关键词：血管网状细胞瘤；脊髓空洞
中图法分类号：R739.406；R744.4 文献标识码：B

参考文献：

[1] 王中诚. 神经外科学[M]. 武汉：湖北科学技术出版社，1998. 566－567.
[2] Mascalachi M, Padovani R, Taiuti R, *et al*. Syringomyelia in myotonic dystrophy due to spinal hemangioblastoma[J]. Surg Neurol, 1998, 59(5): 446－448.
[3] 刘卫平，章 翔，易声禹，等. 高颈段脊空洞症的病因与手术[J]. 第四军医大学学报，2000，21(9)：1101.
[4] Samii M, klekamp J. Surgical results of 100 intramedul lary tumors in yelation to accopanying syringomyelia[J]. J Neurosurger, 1994, 35(5): 862－873.

（编辑 陈聪连）

作者简介：杨于亮(1967－)，男，四川省古蔺县人，主治医师，主要从事创伤方面的研究，现在四川省古蔺肥人民医院外科工作，古蔺 646500。电话：(0830)7200673

收稿日期：2001-06-01；修回日期：2002-01-18

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net