

# 紫外一阶导数光谱法测定安定血药浓度 Determination of Diazepam in Blood by UV First Derivative Spectroscopy

刘布鸣 吴雁\* 蒋瑾华 钟正贤  
Liu Buming Wu Yan Jang Jinhua Zhong Zhengxian

(广西中医药研究所 南宁市古城路 20号 530022)

(Guangxi Institute of Traditional Medical and

Pharmaceutical Sciences, 20 Gucheng Road, Nanning, Guangxi, 530022)

**摘要** 用紫外一阶导数光谱法, 消除生物样品的背景干扰, 简化分析过程, 建立了安定血药浓度的测定方法。

**关键词** 紫外一阶导数光谱法 安定 血药浓度

**Abstract** The interference from background of biological materials was partially eliminated and analytical process simplified was made by using UV first derivative spectroscopy. This paper reports a study on the method for the determination of diazepam in plasma and determining the original drug in biological fluid after intravenous diazepam by using the method. The determined results were used to study the pharmacokinetics of diazepam.

**Key words** UV first derivative spectroscopy, diazepam, drug concentration in plasma

安定 (diazepam) 为常用安定镇静药, 临床上广泛用于治疗惊厥、焦虑、紧张不安、失眠、肌肉强直性痉挛等, 一些手术用于镇静、肌肉松弛, 以及手术前的辅助麻醉<sup>[1]</sup>。安定的血药浓度测定有报道用紫外光谱法<sup>[2]</sup>, 该法需要对药物进行完全的提纯净化, 实际上往往难以实现, 来自生物样品的背景干扰影响测量的准确性。本文利用导数光谱能消除部分背景干扰的原理, 建立了安定血药浓度测定的方法, 可达到对该药物血药浓度测定较简便、快速、灵敏的目的, 用本法测定了家兔静脉注射给药后的血药浓度, 获得满意的结果, 为安定麻醉临床用药研究提供了科学数据与检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 供试品溶液配制与样品处理

药品与试剂: 安定注射液 (济南第三制药厂), 氯仿、氢氧化钠、盐酸 (均为分析纯)。

标准溶液配制: 准确量取 0.5 mL 安定注射液 (5 mg/mL), 置于 100 mL 容量瓶中, 加 2 mol/L

HCl 稀释至刻度, 摇匀, 配成 25  $\mu$ g/mL 的贮备液, 取贮备液定量稀释为 0.5  $\mu$ g/mL, 1.0  $\mu$ g/mL, 1.5  $\mu$ g/mL, 2.0  $\mu$ g/mL, 2.5  $\mu$ g/mL, 3.0  $\mu$ g/mL 的标准系列液。

血浆: 取家兔血加入 1% 肝素抗凝, 离心 10 min, 取出上层血浆液。

样品处理: 取血浆 1 mL, 加氯仿 5 mL, 振荡 10 min, 离心 10 min 取出氯仿层, 在氯仿提取液中加入 0.45 mol/L NaOH 4 mL, 振荡 5 min, 离心 5 min, 除去水层, 氯仿液自然挥干, 残渣用正己烷溶解, 洗涤数次, 然后加入 2 mol/L HCl 4 mL, 振荡 5 min, 离心 5 min 取 HCl 层做光谱测定。

### 1.2 仪器与导数光谱测试条件

仪器: 美国 PE 55 型紫外/可见分光光度计。

测试条件: 以 2 mol/L HCl 为参比, 吸收度方式, 狭缝宽度 2.0 nm, 响应 4, 一阶导数上标 0.1 下标 -0.1, 扫描速度 120 nm/min, 在 400 nm~190 nm 记录导数光谱。

## 2 结果与讨论

### 2.1 紫外光谱与导数光谱

取适量的标准品、空白血浆、血药样品, 测其紫

外光谱和一、二阶导数光谱, 见图 1 2

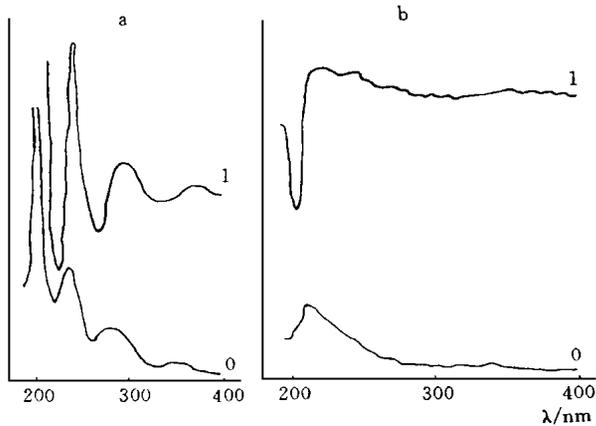


图1 安定(a)和血浆(b)光谱

0——零阶, 1——一阶导数

Fig. 1 Spectra of diazepam(a) and plasma (b)

0——Zero, 1——1st derivative

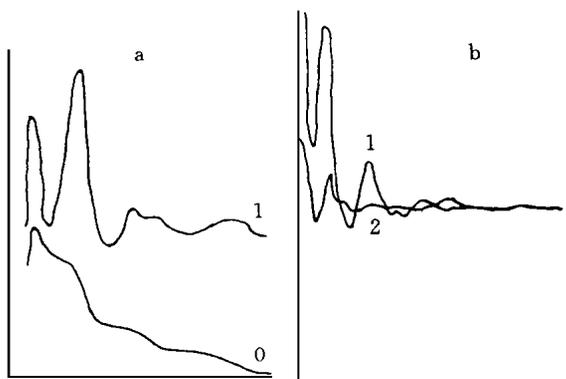


图2 血药样品光谱

0——零阶, 1——一阶导数, 2——二阶导数

Fig. 2 Spectra of plasma drug

0——Zero, 1——1st derivative, 2——2nd derivative

由光谱图得知, 安定标准品在 235 nm 和 285 nm 处有不同的吸收带, 空白血浆 360 nm~ 190 nm 范围具有一定的紫外吸收, 由于血浆的背景吸收, 在血药浓度测定时, 如用零阶光谱, 药物吸收与血浆吸收产生重叠, 干扰测定, 必须将背景干扰完全除去, 安定在 235 nm 附近有一较宽的紫外吸收谱带, 其一阶导数在 210 nm~ 260 nm 是一尖锐的峰谷, 而空白血浆一、二阶导数光谱在此波长范围是一较为平稳的直线, 可见导数光谱能消除血浆的背景干扰。实验得知在相同实验与测试条件下, 一阶导数光谱灵敏度明显高于二阶, 因此采用一阶导数光谱, 选择谱带较窄且分辨率较好的 224 nm (谷) 与 246 nm (峰) 为分析测试波长, 采用峰峰法定量。

## 2.2 标准曲线制备

准确量取标准贮备 0.0 mL 0.2 mL 0.4 mL

0.6 mL 0.8 mL 1.0 mL 1.2 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 加溶剂至刻度, 摇匀, 测一阶导数光谱, 见图 3 量取图中 224 nm 与 246 nm 两极值间的振幅  $D$  (mm), 以  $D$  值对应浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) 绘制出标准曲线, 求得线性回归方程, 结果表明导数光谱与浓度的线性关系良好, 见表 1

表 1 安定一阶导数光谱与浓度的线性关系

Table 1 Relationship between 1st derivative spectra and concentration

取样量 Sampling (mL)	浓度 $C$ Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	$D'$ (mm)
0.0	0.0	0.0
0.2	0.5	21.5
0.4	1.0	44.1
0.6	1.5	66.5
0.8	2.0	86.8
1.0	2.5	109.9
1.2	3.0	131.6

\* 5次测量的平均值 Average of five tests, 检测下限 Test

limit  $0.5 \mu\text{g/mL}$   $LD = 43.87C - 0.073$   $r = 0.9999$ .

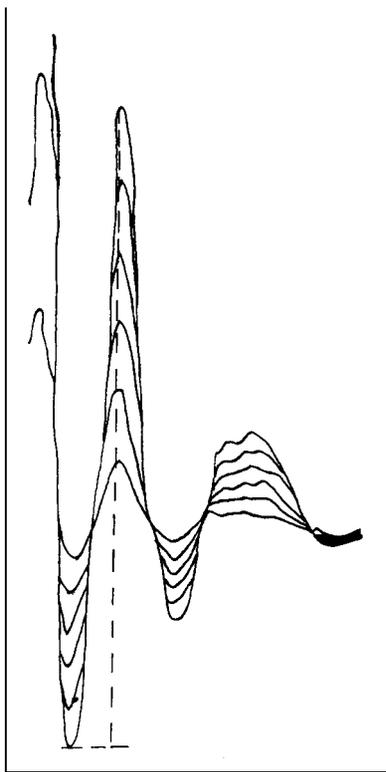


图3 安定标准溶液一阶导数

Fig. 3 First derivative spectra of diazepam standard

## 2.3 样品稳定性

酸碱度: 安定在 pH 值 7.0 时较稳定, 血浆 pH 值 7~ 8, 但酸碱度对样品的提取过程有一定的影响, 根据实验结果, 溶液以稍偏酸性为宜。

热稳定性: 安定受热容易分解, 样品受热色泽加深, 时间愈长, 分解程度增加, 因此实验过程应在室温下完成。

## 2.4 回收率实验

取血浆 1 mL 定量加入标准品 0.25  $\mu\text{g/mL}$  0.50

$\mu\text{g/mL}$  0.75  $\mu\text{g/mL}$  1.00  $\mu\text{g/mL}$  1.25  $\mu\text{g/mL}$  1.50  $\mu\text{g/mL}$ , 按前述样品处理, 测取  $D$  值, 求出浓

度, 计算回收率在 99.6%~104.6% 之间, 平均回收率为 101.5%, RSD 为 1.8%。

### 2.5 体内血药浓度

试验动物为家兔, 以 20 mg/kg 剂量耳缘静脉注射安定注射液, 给药后按不同时间后股动脉取血, 共 5 只兔, 每只取血 8 次~11 次, 每次约为 2.5 mL, 按前述方法处理样品, 测定血药浓度, 以血药浓度对给药时间绘制家兔 iv 注射安定的药-时曲线, 见图 4

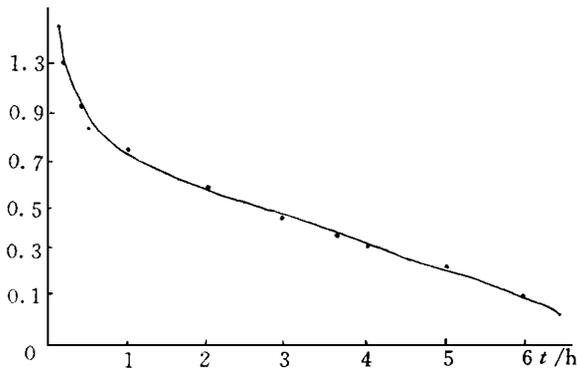


图 4 家兔 iv 安定的药-时曲线

Fig. 4 Plasma drug concentration-time curve after iv diazepam in rabbit

用自编 BASIC 程序, 通过计算机拟合, 求出安定的各药代动力学参数 (另文)。

### 3 小结

本法测定安定血药浓度, 利用导数光谱消除血浆的部分背景吸收, 减少操作过程以及测定的干扰, 较紫外法简便。方法的工作曲线线性、重现性以及回收率均较满意, 是一种良好的血药浓度测定方法, 可适用于体内各组织的安定药物浓度测定。

从体内血药浓度测定结果可看出, 家兔静注给药后, 随着时间的变化, 血药浓度先迅速后缓慢下降, 测定结果提供了安定血药浓度的数据, 用于安定静注后的药物动力学研究。家兔静脉注射安定后的药-时曲线为二次曲线, 属二室曲线模型。

### 参考文献

- 1 陆明盛. 安定注射液研究概况. 医药工业, 1985, 16(4): 36.
- 2 陈刚主编. 治疗药物监测. 北京: 人民军医出版社, 1988, 103.

(责任编辑: 邓大玉 蒋汉明)

(上接第 14 页 Continue from page 14)

地下井水 153 个样品, 其中 9 个样检出上述 7 种农药中的 4 种残留量, 而在 FPD 上却未检出, 这显示了 FTD 的长处。

### 参考文献

- 1 黄士忠, 姚建仁编著. 农药多组分残留量气相色谱分析方

法. 北京: 中国科学技术出版社, 1991, 58~121.

- 2 冯瑞娟. 气相色谱法测定地表水中十三种有机磷农药. 中国监测, 1987, 3(1): 140~148.
- 3 花日茂, 汤锋, 岳永德. 甲基对硫磷、三唑酮和氟乐果的同柱气相色谱分析. 农药, 1995, 34(3): 17~18.
- 4 中国农业科学院植物保护研究所, 农牧渔业部农药检定所, 商业部农业生产资料局合编. 农药分析.

(责任编辑: 蒋汉明 邓大玉)