

左卡尼汀在营养治疗中的研究进展

于福文

(天津市南开医院 天津 300100)

摘要 左卡尼汀能促进长链脂肪酸和羧酸的代谢,正常人可以从食物中获取,但对于长期静脉营养或肠内营养的患者,存在左卡尼汀缺乏的风险。左卡尼汀缺乏会导致一系列的临床表现,如肌病或肢体无力,甚至昏迷和死亡,因此临床应重视左卡尼汀缺乏而带来的风险。对于需要全静脉营养支持的新生儿,由于其储备左卡尼汀的能力有限,在长期静脉营养的同时添加左卡尼汀,能够改善脂肪酸的代谢;而对于长期接受全静脉营养或全肠内营养支持的成年患者,有必要进行血浆左卡尼汀浓度监测,低于 $20\ \mu\text{mol/L}$ 时,应给予左卡尼汀 $0.5\sim 1\ \text{g/d}$ 。由于成人肠外/肠内营养中左卡尼汀的使用研究还比较少,尚需高质量的研究进一步证实其在更广泛人群肠外营养液中加入左卡尼汀对血脂以及患者预后的影响。

关键词 左卡尼汀 新陈代谢 肠外营养

中图分类号: R977

文献标识码: A

文章编号: 1006-5687(2016)04-0051-05

卡尼汀(carnitine)又称肉毒碱、肉碱、维生素BT,是1905年由两位俄国科学家在肌肉提取物中首次发现的^[1]。其分子结构式为3-羟基-4-氮-三甲氨基丁酸,自然界有左旋和右旋两种存在形式,但是人体只含有左旋体,只有左旋物(L-carnitine)才具有生物活性。

人体中的左卡尼汀25%为自身合成,主要在肝脏和肾脏内利用蛋氨酸和赖氨酸等原料经一系列的酶促反应后合成,同时还需要维生素C、维生素B₆、磷酸吡哆酸、2-氧戊酸等物质辅助。人体中75%的左卡尼汀需从肉类和奶制品以及人乳等外源性途径充分获得。而肠外营养(parenteral nutrition, PN)不含有左卡尼汀,仅有个别肠内营养(enteral nutrition, EN)含有左卡尼汀。左卡尼汀为水溶性季铵类化合物,主要作用是输送跨线粒体膜的长链脂肪酸,促进脂肪代谢。大多数患者都能够内源性合成左卡尼汀,但是某些特殊群体^[2,3],特别是新生儿和婴幼儿、肝硬化、慢性肾病、范科尼综合征、肾小管中毒以及严重的创伤、感染、烧伤的综合征患者,合成左卡尼汀的能力下降,在使用PN/EN时易诱发左卡尼汀缺乏。本文对左卡尼汀在营养治疗中的使用进行综述,以供临床参考。

1 左卡尼汀在新陈代谢中的作用

左卡尼汀在脂肪酸氧化中起着重要作用。左卡尼汀能促进长链脂肪酸(LCFAs)通过线粒体膜到达 β 氧化的部位,产生能量。因此,左卡尼汀的最重要的功能之一是转运LCFAs进入线粒体。虽然中链脂肪酸不需要左卡尼汀转运直接进入线粒体,但左卡尼汀参与中链脂肪酸在胞浆中的氧化。酰基肉碱转移酶调节左

卡尼汀发挥上述功能,乙酰基肉碱转移酶调节短链酰基,辛酰基肉碱转移酶调节中链酰基,棕榈酰肉碱转移酶控制长链酰基^[4]。在酰基转移酶I的影响下,左卡尼汀与长链酰基辅酶A在线粒体膜的胞浆内结合,释放辅酶A,新形成的酰基肉碱酯通过肉碱移位酶穿过线粒体膜。一旦酰基肉碱酯到达线粒体内,左卡尼汀通过酰基转移酶II释放,产生辅酶A用于 β 氧化。

通过左卡尼汀介导LCFAs转运,还具有三个重要的功能:①维持充足的游离辅酶A,无论是胞浆中的还是粒体膜中的游离辅酶A池,对于柠檬酸循环,酮生成和糖异生等许多代谢过程和途径都是必要的^[5];②当酰基辅酶A的酰基与左卡尼汀结合,形成酰基肉毒碱酯,而后从线粒体膜和细胞中释放,进而通过肝脏或肾脏消除,通过酰基转运作用将线粒体内的乙酰辅酶A复合物转运出线粒体,保护细胞免受高浓度酰基辅酶A结合物的所带来的潜在毒性,因为高浓度的酰基辅酶A化合物能够抑制代谢途径中的酶的活性,影响细胞ATP的产生^[6];③酰基辅酶A化合物通过左卡尼汀在线粒体内外的转运,左卡尼汀能够在细胞区室间储存和转运代谢能,储存并转运线粒体内代谢所致的能量^[7]。除了对长链脂肪酸的代谢的影响,左卡尼汀对体内代谢过程中产生的羧酸也要重要的影响^[8],左卡尼汀将羧酸进行酯化,产生大量的酰基肉碱,酰基肉碱将羧酸的毒性代谢产物转运出细胞进入血液,最后经过肾脏代谢。此外左卡尼汀在糖类的代谢中也起着非常重要的作用,是糖代谢的调节因子,左卡尼汀能调节乙酰CoA与CoA的比率,从而激活丙酮酸脱氢酶复合体的活性^[5]。

收稿日期: 2016-05-14

2 左旋肉碱的生物合成

左卡尼汀可以从肉类和奶制品中获得。即使一个严格的素食主义者,也可以通过饮食中赖氨酸和蛋氨酸内源性合成维持充足的卡尼汀,左卡尼汀合成途径是一系列的生化反应,这些生化反应依赖于几个辅因子,如抗坏血酸,铁和B族维生素(烟酸和吡哆醇)。该途径的第一步是合成肽连接三甲基赖氨酸,而最后一步是在 γ -丁基甜菜碱羟化酶的催化作用下, γ -丁基甜菜碱的羟基化转化为左卡尼汀。新生儿和婴幼儿因为缺乏足够有活性的 γ -丁基甜菜碱羟化酶,可能会出现左卡尼汀缺乏症,这种情况在成人中发生率大约有12%。由于这一原因,低活性 γ -丁基甜菜碱羟化酶是婴幼儿左卡尼汀生物合成的限速步骤,也是婴幼儿尼汀缺乏风险的原因。

肾功能或肝功能不全的人,以及左卡尼汀合成途径中参与各个代谢反应的辅助因子部分或者全部缺乏的人,可能无法合成充足的左卡尼汀。研究表明赖氨酸和蛋氨酸合成三甲基赖氨酸,三甲基赖氨酸的产生是左卡尼汀生物合成的限速步骤之一。因此,蛋氨酸或赖氨酸储存减少,总蛋白储存和蛋白质合成减少,或是正在经历蛋白质分解代谢的人,可能存在左卡尼汀缺乏的风险^[9]。

3 左卡尼汀缺乏综合征

左卡尼汀缺乏的诊断是以临床症状和实验室检查为根据的。由于左卡尼汀的主要功能是运输LCFAs到达 β 氧化的部位,缺少左卡尼汀会导致长链脂肪酸在胞浆中的蓄积,并降低经 β 氧化产生的酮体和能量(即ATP),而在新生儿的发育中,酮给大脑和神经系统的发育提供了重要的能量来源,酮的减少势必会对新生儿的发育带来不利的影响。此外,由于新生儿依靠内源性和外源性脂肪满足能源需求,左卡尼汀的有效性对于脂肪酸代谢和酮生成是非常关键的。能源产生减少可能会影响人体的所有代谢过程和功能,特别是骨骼肌和心肌主要依靠脂肪酸的分解来满足能量需求^[10]。

原发性左卡尼汀缺乏对外源性补充左卡尼汀反应良好,左卡尼汀缺乏临床表现为肌病或肢体无力,或形成全身性综合征,且以耗竭组织中左卡尼汀存储和损害脂肪酸氧化为特点。当所有组织中的左卡尼汀耗尽,全身症状可能会出现,包括肌病、生长迟缓、肌张力低下、低血糖、低酮血症、脑病、昏迷、甚至死亡^[11]。

继发性左卡尼汀缺乏症的最常见原因是先天性代谢异常、有机酸尿症和获得性免疫缺陷综合征。继发性左卡尼汀缺乏的患者,其血浆总左卡尼汀浓度和游离左卡尼汀浓度均高于原发性左卡尼汀缺乏的患者,

酰基肉碱与游离左卡尼汀的比例 >0.4 。继发性左卡尼汀缺乏通常是由于左卡尼汀合成减少(如肾或肝功能不全、早产儿)、尿排泄增加、血液透析疗法以及吸收降低(如短肠综合征)、饮食减少、左卡尼汀存储减少(如早产儿)、内源性左卡尼汀产生减少(如左卡尼汀生物合成的能力下降)、药物治疗(如齐多夫定或丙戊酸)和外源性摄入减少(如母乳喂养的婴儿或食用左卡尼汀含量较低的配方奶粉的婴儿或长期使用无左卡尼汀PN的婴儿)。接受母乳喂养的婴儿,如果母亲体内左卡尼汀浓度降低,新生儿或婴儿发生继发性左卡尼汀缺乏的可能性增大^[12]。

左卡尼汀缺乏的其他临床症状包括肌张力低下、肌无力、高胆红素血症、肝功能不全、高血氨症、生长迟缓、反复感染、脑病、非酮症性低血糖、代谢性酸中毒和心脏异常(心肌病、心肌肥厚和心力衰竭)。又因左卡尼汀缺乏会导致脂肪酸氧化受损,血浆甘油三酯的浓度可能增加,导致静脉用脂肪乳剂耐受性降低以及阻碍体重的增加^[13]。重症患者血清左卡尼汀浓度明显下降,肠内喂养总量减少,住院时间延长^[14]。临床营养医生应意识到左卡尼汀缺乏综合征的潜在的临床症状和表现,定期评估有左卡尼汀缺乏风险和已经有缺乏症状患者的左卡尼汀状态。

4 左卡尼汀的营养治疗

4.1 在婴儿营养治疗中的应用 在儿科营养中补充左卡尼汀是否有益目前没有达成共识。母乳以及配方奶粉中都含有左卡尼汀,但是肠外营养中不含有左卡尼汀,对于需要肠外营养支持的新生儿而言,长期使用肠外营养会导致新生儿体内左卡尼汀缺乏,进而影响脂肪代谢以及体重增长^[13],此外,新生儿不能内源性的合成充足的左卡尼汀,所以必须依赖外源性的补充。早产儿组织储存同样有限,因此在儿科尤其是使用PN的新生儿中左卡尼汀被认为是必需营养物质。

有研究表明,新生儿以及婴儿PN处方中添加左卡尼汀可改善脂肪酸的代谢,提高静脉用脂肪乳(IV fat emulsion, IVFE)的耐受性^[2]。但也有一部分研究的结论是相反的,一项Meta分析评估了补充左卡尼汀对早产儿体重增加的影响以及IVFE的耐受性和生酮作用,最终仅有6个临床研究被纳入,由于试验时间短以及每个试验所观察的指标不尽相同,最终没能得出定量的结果,也就是说没有证据支持在新生儿肠外营养中,常规补充卡尼汀使患者获益^[13]。另一项Meta分析评价了补充性使用左卡尼汀新生儿的发病率,没有随机或半随机临床试验被纳入,同样说明没有有力的循证医学证据支持左卡尼汀的补充性应用在生长发育、周期性呼吸、呼吸暂停、接受机械通气时间或住院

时间方面有效^[11]。即便如此,接受肠外营养支持的新生儿给予 $10\sim 20\text{ mg/kg}\cdot\text{d}^{-1}$ 的左卡尼汀可以增加左卡尼汀的血药浓度^[12,15]。因此2012年,美国肠外肠内营养学会(ASPEN)发表了一份意见书,建议新生儿无法通过肠道摄取左卡尼汀时,PN处方中应常规添加左卡尼汀 $2\sim 5\text{ mg/kg}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2014年的一项回顾性研究^[16]观察了接受肠外营养支持的新生儿,一组仅给予肠外营养(454例),另一组在肠外营养的同时给予左卡尼汀 $15\text{ mg/kg}\cdot\text{d}^{-1}$ (299例)结果表明82%的体重低于5 kg的患儿发生了左卡尼汀缺乏,而高于5 kg的患者血清卡尼汀浓度均在正常范围内,因此建议对于体重低于5 kg的新生儿常规接受左卡尼汀补充,对于大于5 kg的新生儿7 d之内测定左卡尼汀浓度,判断是否存在左卡尼汀缺乏,决定是否给予左卡尼汀补充。

尽管在新生儿的肠外营养中常规添加左卡尼汀还没有被认可,但是已经有一些试验证明左卡尼汀是有效的,有必要进一步开展左卡尼汀在更广泛人群使用的研究^[17]。

4.2 左卡尼汀在成人营养治疗中的应用 因为人体能够自身合成左卡尼汀,也能从食物中获取左卡尼汀,而肠内营养中仅有个别制剂含有左卡尼汀,肠外营养中不含有左卡尼汀,左卡尼汀既不是微量元素也不是维生素,其是一种维生素类似物,对于成人肠内/肠外营养中是否添加左卡尼汀,目前还存在争议^[18]。

4.2.1 左卡尼汀在肠外营养中的应用 有报道表明^[19]左卡尼汀对于短期肠外营养支持病人血脂代谢无影响,该研究选择腹部外科择期大手术后需肠外营养支持的血脂正常的患者48例,随机分为试验组与对照组,对照组于术后第1日起接受全肠外营养支持7 d,试验组额外加用左卡尼汀 3 g/d ,分别在用药前后早晨抽取静脉血标本测血清胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白,结果显示治疗前后两组组内与组间无显著性差异。

另一项研究^[20]给予重症败血症患者不含有卡尼汀的PN支持,PN使用前、PN使用第5日及PN使用第10日血浆左卡尼汀浓度并没有显著的下降,同时PN中脂肪乳的类型(长链脂肪乳与中/长链脂肪乳)对患者血浆卡尼汀浓度没有显著影响。然而,程大义等^[21]选择ICU成年住院患者69例,随机分为实验组和对照组,两组均采取对症处理的同时加用PN支持,实验组额外加用 2 g 左卡尼汀入PN液中,观察PN治疗前及治疗后第5、10日的丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 γ -谷氨酰基转移酶(GGT)及总胆红素(TBIL)的变化,治疗前两组肝功能

指标没有显著性差异,PN后第5日及第10日,实验组ALT、AST、GGT及TBIL的变化较对照组低。其结果表明添加左卡尼汀能够有效预防肠外营养相关性肝损害的发生。

庞晓军等^[22]将急性生理功能和慢性健康状况评分II(APACHE II)评分 ≥ 12 、需肠外营养支持 $> 7\text{ d}$ 的患者随机分为两组,其中一组(152例)给予肠外营养加谷氨酰胺、左卡尼汀、果糖二磷酸钠、混合糖等强化肠外营养治疗,另一组只给予肠外营养,结果表明强化肠外营养治疗组每天平均胰岛素使用量、住院期间病死率、治疗后APACHE II评分均低于肠外营养组($P < 0.05$),接受特殊强化肠外营养支持的重症患者,代谢状况改善,住院时间缩短。最近有报道,卡尼汀缺乏会导致一系列的临床症状,包括肌肉萎缩、横纹肌溶解、心肌病、心律不齐甚至死亡。因此鉴于左卡尼汀缺乏所导致的一系列的并发症,目前在没有指南的情况下,建议监测血浆左卡尼汀浓度,低于 $20\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时,给予左卡尼汀 $0.5\sim 1\text{ g/d}$ ^[23]。

Junichi等^[23]将接受营养支持的炎性肠病的患者分为两组,一组给予不含有左卡尼汀的肠内营养(11例),另一组给予肠外营养(11例),与健康人群(82例)进行对比,额外再设置第三组为对于常规饮食无法吸收的炎性肠病患者(20例),测定左卡尼汀及其衍生物浓度,结果接受营养支持的炎性肠病患者中左卡尼汀的浓度显著低于健康人群,第三组患者中白蛋白与总胆固醇明显降低,但是左卡尼汀的浓度在正常范围内,因此该研究表明,在完全禁食的患者中接受营养支持(肠内或肠外)血清左卡尼汀浓度会降低,血清左卡尼汀可能作为营养不足的一个独立的生物学指标,在接受营养支持的患者中,即便血清白蛋白或总胆固醇正常也要接受左卡尼汀的补充。

对于成人肠外营养中左卡尼汀的使用,目前的研究还比较少,尚需高质量的研究进一步证实其对更广泛人群肠外营养液中加入卡尼汀对血脂以及患者预后的影响。

4.2.2 左卡尼汀作为营养补充剂在临床中的应用

4.2.2.1 恶病质 癌性恶病质患者能量代谢异常,已经有研究表明,肿瘤恶病质患者骨骼肌中左卡尼汀缺乏^[25],其发生与多种因素相关,如能量代谢异常、能量需求增加、营养素吸收不足、内源性合成减少、肾脏排泄增加等^[26]。消化道肿瘤患者左卡尼汀缺乏水平低于非消化道肿瘤患者。左卡尼汀缺乏会进一步导致能量代谢异常、糖代谢异常、脂代谢异常以及蛋白质代谢,且经常规营养支持后不能改善。Matthias等^[27]采用前瞻性、随机、对照、多中心的研究证实,补充左卡尼

汀可以改善进展期胰腺癌患者的营养状态。该研究纳入72名符合标准的进展期胰腺癌患者,随机分为两组,试验组口服左卡尼汀4 g/d,对照组口服安慰剂,随访12周,记录6周、12周时血浆左卡尼汀浓度、体重指数(BMI)、体细胞群(BCM)、体脂(BF)、白蛋白、淋巴细胞计数、CA199,结果提示口服左卡尼汀能够降低进展期胰腺癌患者营养不良的发生率,并增加体重。

4.2.2.2 脑梗死 杨志英等^[28]研究肠内营养液中添加左卡尼汀对脑梗死伴吞咽困难患者的影响,共纳入66例患者,随机分为实验组和对照组,试验组鼻饲含有牛磺酸和左卡尼汀的肠内营养液,对照组给予普通肠内营养液,记录试验第1日、第28日患者的营养及神经功能指标,并记录胃肠道并发症发生率,结果提示两组间体重指数、白蛋白、淋巴细胞计数、三头肌皮褶厚度、血糖无显著性差异,同型半胱氨酸水平和胃肠道不良反应发生率实验组显著低于对照组,虽然左卡尼汀不能改变患者的营养状态,但是可以改善脑梗死患者同型半胱氨酸的水平以及胃肠道并发症的发生率。

5 左卡尼汀在 TPN 中的稳定性

研究表明^[29],在儿童肠外营养液中以130~200 mg/L的标准加入左卡尼汀,于配制后当时和配制后的1、7、15和30 d(此间在4~5℃保存)5个时间点测定稳定性,同时检测混合液的pH值、颜色和可见沉淀的发生。结果表明,保存30 d的混合液,pH值和颜色没有改变,也未发现可见沉淀。在配制后当时,标本的卡尼汀回收率为(93.9±5.31)% (区间为87.8%~101%)。4~5℃存放的标本在不同的时间点所测定的结果相近。存放30 d后,卡尼汀的理论回收率为(93.3±7.30)% (区间为81.0%~102%)。半胱氨酸和雷尼替丁都不影响左卡尼汀的稳定性。对Y型管输注20%脂肪乳进行模拟输液试验,经24 h输注后,采集袋中、末梢0.22 μm滤器中及脂肪乳混合后的标本,不同时间点和不同部位标本的左卡尼汀回收率时理论值为88.1%~109.0%,提示左卡尼汀在肠外营养和全营养混合液中是高度稳定的,袋子和滤器对卡尼汀的吸收不具有临床意义。

左卡尼汀作为一种维生素类似物,对脂肪酸、体内代谢产生的有机酸以及糖的代谢有重要的作用,通常可以通过饮食摄取,成年人通过自身的合成和饮食摄取会在体内存储一定量的左卡尼汀,但如果长期无法经胃肠道摄入含有左卡尼汀的食物,很可能导致体内左卡尼汀缺乏。新生儿由于缺乏足够有活性的γ-丁基甜菜碱羟化酶,也可能出现左卡尼汀缺乏症。左卡尼汀缺乏会导致肌病、生长迟缓、肌张力低下、低血糖、低酮血症、脑病、昏迷、甚至死亡。目前有学者将

其作为常量营养素用于肠内/肠外营养,但尚未达成共识,需要大规模随机对照临床试验进一步加以证实。

参考文献

- Janos Kemer, Charles Hoppel. Generic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management[J]. *Annu Rev Nutr*, 1998, 18: 179 - 206
- Catherine M Crill, Richard A Helms. The Use of Carnitine in Pediatric Nutrition[J]. *Nutr Clin Pract* 2007 22: 204 - 213
- 冯一. 左卡尼汀临床应用的研究进展[J]. *肠外与肠内营养* 2005 12(5): 306 - 308
- Pooyandjoo M, Nouhi M, Shab Bidar S *et al.* The effect of (L-) carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Obes Rev* 2016 11: 1 - 7
- Giudetti A M, Stanca E, Siculella L, *et al.* Nutritional and Hormonal Regulation of Citrate and Carnitine/Acylcarnitine Transporters: Two Mitochondrial Carriers Involved in Fatty Acid Metabolism [J]. *Int J Mol Sci* 2016 17(6): 1 - 15
- Rebouche C J. Carnitine function and requirements during the life cycle [J]. *FASEB J*, 1992 6: 3379 - 3386
- Anna M, Giudetti, Eleonora Stanca *et al.* Nutritional and Hormonal Regulation of Citrate and Carnitine/Acylcarnitine Transporters: Two Mitochondrial Carriers Involved in Fatty Acid Metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2016 17: 817
- Peggy R Borum. Carnitine in Parenteral Nutrition [J]. *Gastroenterology*, 2009 137: s129 - s134
- Weaver L T, Rosenthal S R, Gladstone W *et al.* Carnitine deficiency: a possible cause of gastrointestinal dysmotility [J]. *Acta Paediatr* 1992 81: 79 - 81
- Pande S, Brion L P, Campbell D E *et al.* Lack of effect of L-carnitine supplementation on weight gain in very preterm infants [J]. *J Perinatol*, 2005 25: 470 - 477
- Iafolla A K, Browning I B, Roe C R. Familial infantile apnea and immature beta oxidation [J]. *Pediatr Pulmonol*, 1995 20: 167 - 171
- Iafolla A K, Roe C R. Carnitine deficiency in apnea of prematurity [J]. *Pediatr Res* 1995 2: 309A
- Cairns P A, Stalker D J. Carnitine supplementation of parenterally fed neonates [J]. *Cochrane Database* 2001 4: CD000950
- 周昭雄, 邱春芳, 陈传希, 等. 重症患者血清肉毒碱缺乏相关因素及其对住院时间的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(12): 890 - 893
- O'Donnell, Finer N N, Rich W *et al.* Role of L-carnitine in apnea of prematurity a randomized controlled trial [J]. *Pediatrics*. 2002, 109: 622 - 626
- Brian Winther, Daniel Jackson, Cecilia Mulroy *et al.* Evaluation of Serum Carnitine Levels for Pediatric Patients Receiving carnitine-Free and Carnitine-Supplemented Parenteral Nutrition [J]. *Hosp Pharm*, 2014 49(6): 549 - 553
- Vincent W Vanek, Peggy Borum A, ASPEN Position Paper: Recommendations for Changes in Commercially Available Parenteral Multivitamin and Multi-Trace Element Products [J]. *Nutrition in Clinical Practice*, 2012 27(4): 440 - 491
- Vincent W, Vanek Peggy Borum, Alan Buchman *et al.* A call to action to safer parenteral micronutrient products to the US market [J]. *Nutrition*

in Clinical Practicem 2015 30(4): 559-569

19 陈思曾 林永 许东坡. 左旋肉碱对短期全场外营养支持病人血脂代谢的影响[J]. 肠外与肠内营养, 1998, 5(4): 225-226

20 Garnacho Montero J, Ortiz Leyba C, Jimenez F *et al.* L-carnitine levels in critical septic patients receiving parenteral nutrition [J]. Nutr Hosp, 1998, 13(2): 77-80

21 程大义 宋秋鸣. 左卡尼汀预防肠外营养相关肝损害临床观察[J]. 安徽医药 2015, 19(7): 1395-1396

22 庞晓军 杜正隆 苏方 等. 特殊配方强化肠外营养支持治疗危重症患者的临床研究[J]. 中国药房 2013 24(2): 149-151

23 Luisa Bonafe, Mette M Berger, Yok Ai Que *et al.* Carnitine deficiency in chronic critical illness [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2014, 17(2): 200-209

24 Junichi Iwamoto, Akira Honda, Yasunori Miyamoto *et al.* Serum carnitine as an independent biomarker of malnutrition in patients with impaired oral intake [J]. J Clin Biochem Nutr 2014, 55(3): 221-227

25 Szeffel J, Kruszewski W J, Ciesielski M *et al.* L-carnitine and cancer cachexia. L-carnitine distribution and metabolic disorders in cancer cachexia [J]. Oncol Rep 2012, 28: 319-323

26 吴丹 李苏宜. 左卡尼汀干预恶性恶液质能量代谢[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志 2016, 3(1): 58-62

27 Matthias Kraft, Kathleen Kraft, Simone Gärtner *et al.* L-Carnitine supplementation in advanced pancreatic cancer (CARPAN) - a randomized multicentre trial [J]. Nutrition Journal 2012, 11: 52

28 杨志英 伍茵 张茂祥 等. 肠内营养液添加牛磺酸及左旋肉碱对脑梗死伴吞咽困难患者的影响[J]. 海南医学 2012, 23(14): 4-6

29 牛玉坚. 卡尼汀(肉毒碱)在儿科肠外营养和全营养混合液中的稳定性[J]. 中国临床营养杂志 2008, 8(1): 48

(上接第21页)

别加入 0.5、1.0 和 1.5 ml 甘氨酸储备液, 加去离子水稀释定容至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液, 每个浓度配制 3 份。按“2.1.3”项下方法制备衍生反应样品, 进样测定, 采用外标法计算回收率, 结果平均回收率为 100.1%, RSD 为 1.85%。见表 6。

表 6 回收率试验结果

加入量(μg/ml)	测得量(μg/ml)	回收率(%)
15.04	15.38	102.3
15.04	15.24	101.3
15.04	15.30	101.7
30.08	29.62	98.48
30.08	29.31	97.43
30.08	29.30	97.42
45.12	45.12	100.0
45.12	45.53	100.9
45.12	45.58	101.0

2.4 含量测定 取 20141101、20141102、20141103 批样品, 按甘氨酸含量测定方法进行测定, 结果见表 8。

表 8 骨化三醇注射液中甘氨酸含量测定结果

批号	甘氨酸含量(mg/ml)		
	1	2	均值
20141101	0.300	0.291	0.302
20141102	0.292	0.303	0.302
20141103	0.296	0.297	0.302

由表 8 可知, 样品的甘氨酸含量均符合质量标准中的要求, 即每 ml 注射液中含甘氨酸的量应控制在 0.27~0.30 mg。

3 讨论

甘氨酸本身在 C₁₈ 柱中没有保留, 无法进行色谱分离, 并且不能采用紫外检测器或荧光检测器直接进行测定。经 OPA 衍生后, 甘氨酸在 β-巯基乙醇等试剂存在下与邻苯二甲醛迅速反应生成的 1-硫代-2-烷基异吲哚衍生物, 具有紫外吸收, 可采用紫外检测器检测。这种衍生方法步骤简单, 反应迅速, 并且剩余试剂不干扰测定。但甘氨酸衍生后的产物稳定性差、见光易分解, 因此样品制备过程中需要避光操作, 每次临进样时才加入衍生试剂。

方法学验证结果表明, 该方法专属性好, 线性关系、重复性、回收率较好。因此, 采用 OPA 柱前衍生高效液相色谱法能准确测定骨化三醇注射液中甘氨酸含量。并且, 液相色谱仪的应用广泛, 此方法更易于推广和应用, 具有较高的使用价值。

参考文献

1 丁永胜, 牟世芬. 氨基酸的分析方法及其应用进展 [J]. 色谱, 2004, 22(5): 210-215

2 戴红, 张宗才, 张新申. 氨基酸分析的检测方法评述 [J]. 皮革科学与工程, 2004, 14(3): 39-43

3 张琳, 平贵臣, 于晓明, 等. 氯甲酸-9-芴甲酯柱前衍生脂肪胺类化合物的反相高效液相色谱分析 [J]. 现代仪器, 2004, 10(2): 14-16

4 李东, 孙家义. 2-A-二硝基氟苯柱前衍生高效液相色谱法测定 18 种氨基酸 [J]. 化学分析计量, 2004, 13(1): 18-20