维普资讯 http://www.cqvip.com

薄层光密度法测定大鼠尿、粪中炎琥宁含量

药理学教研室 李克敏

提 要 用氯仿提取大鼠尿、粪标本中炎琥宁，并在硅胶F_{254}薄层板上点样。经氯仿—石油醚—乙醇—冰醋酸(6:3:0.5:0.5)展开。置薄层板于岛津双波长色谱扫描仪（CS-930型）内，以测定波长λ_s=290nm，参比波长λ_R=360nm用反射吸收法进行锯齿扫描，测定大鼠尿、粪中炎琥宁含量。方法灵敏、准确、专属性好，为测定生物样品中炎琥宁含量提供了一个实用可行的方法

关键词 炎琥宁；薄层光密度法

炎琥宁系以中药穿心莲的有效成分穿心莲内酯，经结构改造而得到的人工半合成制剂—脱水穿心莲内酯琥珀酸单钾盐（Monopotassium dehydro-andrographolide disuccinate，简称炎琥宁）。本品有抗菌、抗炎、解热、镇静及促肾上腺皮质作用[1]，临床用于病毒性肺炎、病毒性上感、支气管炎、扁桃体炎及菌痢等感染性疾病有较好疗效，未见明显不良反应[2]。

炎琥宁的含量测定方法有紫外分光光度法[3]，这一方法仅适合药物纯品的含量测定。本文建立的薄层光密度法可测定生物样品（如大鼠尿、粪）中炎琥宁的含量，方法灵敏、准确、专属性好、回收率高，为测定生物样品中炎琥宁含量提供了一个实用可行的方法。

仪器与药品

薄层光密度仪岛津双波长色谱扫描仪CS-930型；点样毛细管：2ul（美国Drummond公司）；硅胶F_{254}薄层板，20×10cm（军事医学科学院制）；展开剂皆为分析纯。炎琥宁系成都制药三厂出品，粉针剂，每支40mg。

实验与结果

1.标准溶液的配制 精密称取减压干燥的炎琥宁50mg，置5ml容量瓶中，加蒸馏水至刻度，振摇溶解，即得标准溶液。

2.点样 每一薄层板上点样5点，轨迹间距15cm。分别点不同容量标准溶液氯仿提取液2ul，大鼠空白尿或粪匀浆加不同容量标准溶液氯仿提取液2ul，或im炎琥宁150mg/kg后大鼠尿、粪匀浆氯仿提取液各2ul。

3.薄层分离 将已点样的薄层板以氯仿—乙醇—石油醚—冰醋酸(6:3:0.5:0.5)为展开剂上行展开12cm，挥干展开剂。在紫外灯下炎琥宁呈紫色斑点，Rf值为0.42。

4.测定条件 光源：氘灯；测定方法：反射吸收法锯齿扫描；测定波长λ_S=290nm，参比波长λ_R=360nm；狭缝0.4×0.4mm；线性校正S_X=3；定量方式面积法和外标一点法。

5.标准曲线和回归方程 在大鼠尿或粪匀浆1ml中分别加入炎琥宁标准溶液40、80、120、160、200ul，加1N HCl酸化1h(pH=2)，用氯仿4ml振摇提取，取氯仿液3ml于

维普资讯 http://www.cqvip.com

80℃以下水浴挥干，残留物加氯仿 300ul 溶解，点样2ul，使各点分别为 2、4、6、8、10μg，按上述条件测定。将测得斑点的积分面积值与点样量（μg值）作图，结果成线性关系，5次测定数据作直线回归，得回归方程式 y=0.2943+0.3828x，相关系数 r=0.9991。

6.重现性和稳定性试验 在同一薄层板上对同一点炎琥宁标准品氯仿提取液重复扫描，在同一薄层板上点相同量的炎琥宁标准品氯仿提取液依次扫描，或在不同薄层板上点相同量的炎琥宁标准品氯仿提取液依次扫描，测定结果相差不大(见表1)，说明其重现性好。

表1 重现性测定结果

测定方式	点样量(μg)	n	$\bar{x}$	S_x	CV%
同一薄层同一点	4	5	46636.16	172.79	0.37
同一薄层不同点	4	5	47020.62	1716.08	3.64
不同薄层不同点	4	5	45703.90	1936.19	4.24

在同一薄层板上分别点同样量炎琥宁标准品氯仿提取液，每隔1h测定积分面积值，结果表明炎琥宁在12h内稳定。

7.回收率试验 取炎琥宁标准品和加有同样量炎琥宁标准品的大鼠尿、粪匀浆溶液按前述方法用氯仿提取，在同一薄层板上点样2μl，用外标一点法测定浓度，其回收率见表2。

表2 大鼠尿、粪中炎琥宁的回收率

标本	点样量(μg)	实测值(μg)	测定次数(n)	回收率(%)	S_x	CV(%)
尿	4	4.1284	5	103.21	3.44	3.33
尿	12	11.8092	5	98.41	4.04	4.11
粪	4	3.9212	3	98.03	2.70	2.76

讨 论

本文建立了炎琥宁的薄层光密度法，斑点可不经显色直接测定，测定结果准确可靠，大鼠尿液测定时只用尿液1～2ml，粪便测定时只用粪匀浆1～2ml，用4ml氯仿提取一次，即可达到定量回收的目的。本法具有样品用量少，提取方法简便及重现性好，回收率高等优点。

采用薄层光密度法，在层析过程中对生物样品中的杂质进行分离，避免了测定时杂质干扰。且把大鼠体内原形药物与代谢产物进行分离，可以准确测定原形药物，因此，本方法具有高度特异性。

本法已用于炎琥宁药动学研究，测定了给药后大鼠尿、粪中炎琥宁排泄情况，测定结果将另文报道。

（致谢 本研究得到本院药理教研室刘文清教授、中心实验室代广钧主任技师和四川省中药研究所罗亨明、赵苹苹两位主管技师的帮助，谨此致谢）

参 考 文 献

[1] 邓文龙，等．药学学报 1980；15：590
[2] 四川省寄心莲协作组．中草药通讯 1978；8：32
[3] 四川省卫生厅颁发．《四川省药品标准》1982；250

维普资讯 http://www.cqvip.com

显示细胞碱性蛋白的改良法

生物学教研室 姚允玖

目前，高等医学院校开设的"医学细胞生物学"课程有关细胞实验指导资料相继问世，这给细胞化学实验带来了新的生机和活力；显示细胞核内碱性蛋白定位便是医本科学生实验课重要内容之一；以往的实验方法不稳定，经技术更新取得了满意结果现报导如下。

实验材料

取青蛙或蟾蜍的血液作涂片，因为低等脊椎动物的红细胞内还保留着清晰细胞核，这为显示核内碱性蛋白提供理想易得的材料。

方 法

1. 将晾干的血液涂片浸于70%酒精5min，清水冲洗。

2. 三氯醋酸处理 血涂片浸在60°～65℃的5%三氯醋酸液中处理15min（沉淀蛋白质，使核酸溶解消除影响因素），然后反覆用自来水冲洗，尽力将片子上残留的三氯醋酸彻底洗净。

3. 放置0.1%稀甲醛溶液5min，用自来水冲洗1min，蒸馏水过1min。

4. 将上述血涂片置0.1%～0.2%甲苯安兰液15min，自来水冲洗，晾干，镜检。甲苯胺兰生物染剂用pH8～8.5缓冲液配制。

QUANTITATIVE DETERMINATION OF YANHUNING IN RAT URINE AND RECES BY TLC DENSITOMETRY

Li Keming

(Department of pharmacology)

Yanhuning is a semisynthetic preparation of andrographolide. The chemical name of yanhuning is monopotassium anhydroandro-grapholide disuccinate (DASK). The urine and feces samples containing DASK were extracted with chloroform. The chloroform solutions were spotted on silica gel plates (F_{254}) and developed with chloro form-petroleum ether-ethanol-glacial acetic acid (6:3:0.5:0.5). After development the plate was placed on a Shimadzu dualwavelength TLC scanner CS-930. A zigzag scanning was then carried out for each spot developed at $\lambda s=290nm$ and $\lambda_R=360nm$ under ultraviolet reflection. The DASK in each spot was tdus quantitated. The results obtained in present paper indicate that the method is sensitive, accurate and specific and it is applicable for quantitative analysis of DASK in biological samples

KEY WORDS Yanhuning (DASK); TLC densitometry