

缓冲液,故对延长色谱柱使用寿命起到较大的作用,因此不失为是医院开展临床药物监测的好方法。

参考文献

陈刚等. 治疗药物监测. 人民军医出版社, 1988: 415~419

萃取一硫氰亚铁铵比色法测定紫河车总磷脂含量

南京中医学院 许益民 李云乔* 蒋星*

紫河车为健康人的干燥胎盘,具有补气、养血、益精等功效,为著名的补益中药。Singh 曾于 1972 年报道过新鲜胎盘的磷脂组成^[1],本实验主要分析其干燥品的总磷脂含量。以往测定总磷脂成分含量的方法大多以测无机磷含量为分析基础,如钼蓝比色法^[2]和等离子体发射光谱法 (ICP)^[3]。它们都需要用强酸加热消化处理,因而操作繁琐,另外钼蓝比色法测定干扰因素较多^[4],而 ICP 法则需要特殊仪器。我们参照了 Stewart 报道的总磷脂硫氰亚铁铵比色法^[5],根据磷脂类成分与硫氰亚铁铵可形成溶于氯仿的有色复合物原理,改进并设计了紫河车总磷脂含量的测定方法,操作简便快速,效果也较好。

一、仪器与试剂

721 型分光光度计 (上海分析仪器厂),日本岛津 UV3000 型紫外分光光度计;10 ml 具塞刻度试管;磷脂酰胆碱标准品 Phosphatidylcholine(PC)为美国 Sigma 公司产品;Folch 试剂,氯仿:甲醇(2:1);0.1 mol/L 硫氰亚铁铵液:称取三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 27.03 g 和硫氰酸铵 (NH_4SCN) 30.4 g,溶于少量蒸馏水后稀释至 1000 ml,该液在室温下可稳定数月;紫河车为市售品,经本院中药鉴定教研室王永珍副教授鉴定。

二、实验方法与结果

1. 吸收光谱的测定 精密称取磷脂酰胆碱标准品 16 mg 于 100 ml 容量瓶中,加氯仿溶解并定容为标准液。精密吸取标准液 0.3 ml 于 10 ml 具塞试管中,加入氯仿 2.7 ml 和显色液 3.0 ml,振混 1 min,离心后吸弃上相液,吸取下相液于紫外分光光度计上在 400~600 nm 波长范围内扫描。另取样品液同上述方法操作并扫描,结果表明二者均在 470 nm 处有最大吸收,见图 1。

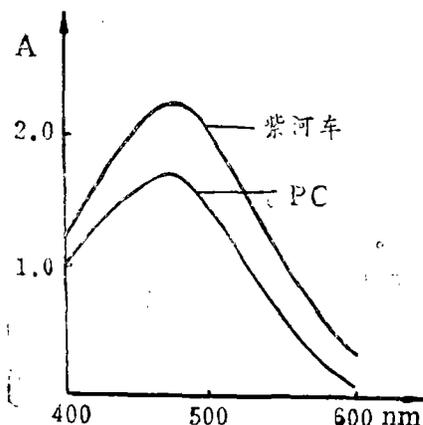


图 1 吸收光谱图

2. 标准曲线的绘制 精密吸取标准液 0.0, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.7, 0.8 ml 于 10 ml 具塞试管中,分别加入氯仿液使总量为 3.0 ml,再加入显色液 3 ml,振混 1 min 后离心,吸取下相液于 721 型分光光度计 470 nm 处比色测定,以空白

* 本院中药系 87 级实习生。

管调零,结果见图 2。

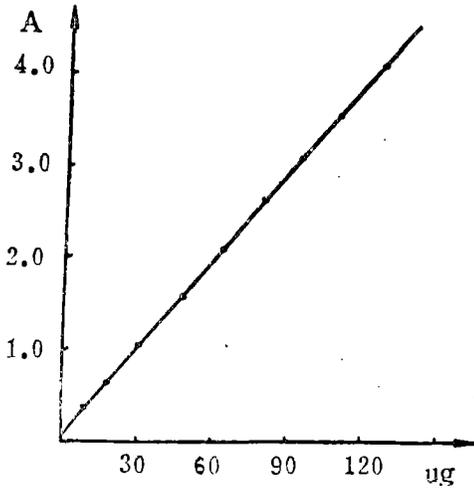


图 2 磷脂酰胆碱标准曲线

回归方程 $Y = 0.01579 + 0.003161 X$

相关系数 $r = 0.9996$

3. 稳定性试验 取一份磷脂标准品液,按上述方法操作并显色,在室温 20°C 条件下在 $3\sim 120$ min 内进行比色测定,结果显示吸收值无变化。

4. 干扰因素试验 在 4 份磷脂标准液中分别加入与磷脂量相等的硬脂酸、油酸、胆固醇和磷酸二氢钾,按标准曲线绘制项下操作并显色。结果显示所测吸收值与原标准液吸收值无显著性差异,可见游离脂肪酸,胆固醇和无机磷对本实验无干扰。

5. 样品总磷脂测定

(1) 样品溶液的制备 精密称取干燥的紫河车粉末(过 40 目筛) 3 g 于层析柱中以 Folch 试剂按文献^[2]法渗漉提取,提取液低温氮气减压浓缩至小体积,加 5 倍量石油醚沉淀极性杂质,离心后石油醚液再经氮气减压回收溶剂,残余物以氯仿溶解并定容于 100 ml 容量瓶中。

(2) 总磷脂成分的比色测定 精密吸取提取液 0.1 ml 于 10 ml 具塞试管中,分别加入 2.9 ml 氯仿和 3.0 ml 硫氰亚铁铵显色液,余同标准曲线绘制项下操作。将所测结果代入回归方程计算总磷脂含量,同时以钼蓝比色法对照。四批样品的分析结果显示,两种方法的测定结果基本一致,见表 1。

表 1 紫河车总磷脂含量及磷脂组成分布(n=3)

编号	总磷脂(%)		LPC	SM	PC
	本法	钼蓝法			
1	3.30	3.33	16.97	18.32	64.71
2	3.10	3.12	16.62	18.72	64.66
3	3.39	3.36	18.91	20.91	61.03
4	2.96	2.97	18.03	19.86	62.11

6. 回收率试验 精密吸取含磷脂量为 $20\ \mu\text{g}$ 的紫河车提取液 6 份,分别加入不同量的磷脂酰胆碱标准品液,按上述测定条件测其总磷脂含量,减去原样品中的磷脂含量,计算回收率,结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

编号	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均值(%)	变异系数(%)
1	16.00	15.82	98.88		
2	32.00	31.01	96.91		
3	48.00	43.05	100.10		
4	64.00	61.63	96.38	99.17	2.70
5	80.00	83.13	103.91		
6	96.00	94.91	98.86		

三、讨论与小结

1. 磷脂成分具有保护生物膜完整, 延缓细胞衰老, 降低血脂和动脉硬化指数^[6], 增强免疫功能^[7], 延长红血球生存时间并促进造血代谢^[8]等作用。此外, 磷脂是生殖腺和精液的主要成分, 有调节和增强性功能的作用。这些作用可能与紫河车补气、养血、益精的功效有密切的联系。从总磷脂分析结果看, 紫河车总磷脂含量高达 3%, 因而对其磷脂成分的研究具有重要的意义。

2. 我们以标准品(Sigma 公司产品)作对照, 采用薄层层析和吸光度比例系数校正法^[9]对紫河车的磷脂组分进行了分析(见表 1)。结果显示, 紫河车主要含三种磷脂组分: 磷脂酰胆碱(PC), 溶血磷脂酰胆碱(LPC)和神经鞘磷脂(SM)。其中以磷脂酰胆碱含量最高, 达 61.1~64.7%, 与 Singh 所报道的 45.5~46.4%(新鲜胎盘)^[11]有所差异。

3. 本法为溶于氯仿的磷脂成分与水溶性的硫氰亚铁铵经振荡后对它们所形成的脂溶性复合物直接进行比色测定, 无需以强酸消化处理, 因而快速而简便。由于紫河车磷脂组分中磷脂酰胆碱为主要组分, 故本实验以其作为标准品, 所测结果与钼蓝比色法对照无显著性差异。

参 考 文 献

1. Singh EJ, et al. *Lipids*. 1972;7(1):26
2. 许益民等. 药物分析杂志. 1990;10(2):105,
3. 许益民等. 中国野生植物. 1990; (2):40
4. 汪镜亮. 分析测试通报. 1988;7(3):72,
5. Stewart J. C. M. *Anal Biochem*. 1980; 104:10,
6. 李芳生等. 营养学报. 1989;(10):286,
7. 李民. 医药工业. 1984;(1):13,
8. 蒋兴仁. 食品工业科技. 1990;(4):12,
9. 鲍凤等. 科学通报. 1985;(20):1574

· 文摘 ·

羟氨苄青霉素与梅毒和人体免疫缺陷病毒感染

李燕译 孙为民校 张紫洞审

在一项以安慰剂做对照的双盲试验中, 对应用羟氨苄青霉素后的不良反应发生率进行了研究。对 12 名患人体免疫缺陷病毒感染和有梅毒病史的患者, 分别给予剂量为每日 3 次, 每次 3g 的羟氨苄青霉素(I)及每日 2 次, 每次 0.5g 的丙磺舒(II), 同时对 11 名患者以乳糖代替羟氨苄青霉素做为对照组; 以三个星期为一疗程。

结果表明, 在第 I 组中 12 名患者有 5 人(42%)完成了 3 周的治疗, 而对照组 11 名病人中有 9 名(82%)完成了治疗。有 4 名病人(每组各 2 名)因其它情况引起的系列症状而提前停止了治疗。另有两名病人因羟氨苄青霉素的不良味道而在服用两周后拒绝继续服用。I 组有 3 名病人出现了不良反应(发烧皮疹和瘙痒)。这些反应在停止治疗一周内消退。

另有 9 名病人因梅毒给予 I/II 治疗。结果与以上研究形成对照, 只有一名患者因头痛没有完成治疗。另有一名病人在进行治疗 11 天后曾报道出现全身性红斑皮疹的迹象, 但是继续治疗症状消失。

因而得出结论, 用 I/II 方案治疗时并不常常产生严重的不良反应, 如果皮疹、瘙痒或头痛等症状的发展能用其它方法缓解, 则无须使治疗的疗程缩短。