

· 药物分析 ·

心肌磷酸腺苷的高效液相色谱测定条件的优化

陆 峰, 林培英, 张 宁, 张晓冬(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要: 目的: 优化心肌样品中的磷酸腺苷的高效液相色谱法测定条件。方法: 固定其他色谱条件, 改变流动相组成与配比, 以分离结果的优劣优化流动相。结果: 甲醇-水(2:98)(含0.15mol/L磷酸二氢钠, pH=6.0)为局部最佳流动相条件。结论: 本条件可以实现该样品的准确、快速、经济实用的分析。

关键词: 高效液相色谱法; 磷酸腺苷; 条件优化

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2001)06-0350-02

Optimization of HPLC conditions in determining the adenosine phosphate in cardiac muscle

LU Feng, LIN Pei-ying, ZHANG Ning, ZHANG Xia-dong(School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE: To optimize the chromatographic conditions in determining the adenosine phosphate in cardiac muscle samples. **METHODS:** Fixing other conditions than the composition and ratio of the mobile phase, estimate the optimum according to the separation results. **RESULTS:** The local optimal mobile phase is composed of methanol, distilled water(2:98) and 0.15mol/L sodium dihydrophosphate. **CONCLUSIONS:** The conditions help to an accurate, fast and inexpensive analysis of the adenosine phosphates.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; adenosine phosphate; optimization of chromatographic conditions

测定生物组织及细胞中主要能量物质含量, 已成为国内外有关学者研究动物及人体细胞能量代谢情况(即可判断细胞线粒体储存三磷酸腺苷(ATP)及把二磷酸腺苷(ADP)转化为ATP的能力和细胞的能荷比)的主要生化观测指标^[1], 该指标的广泛应用, 要求能建立一种准确、快速、经济实用的检测方法。经典的酶法实验费用昂贵且操作麻烦, 所以难以推广。本文从目前使用较多的离子对高效液相色谱法^[2]出发, 试图对其色谱条件进一步优化, 提供一种简便可靠的分析方法。

1 仪器和材料

Waters公司高效液相色谱仪, 510型高压泵, 906二极管阵列检测器, Millennium 2010管理系统。

Hypersil C18色谱柱(25mm×4.6mm, 5 μ m); 己烷磺酸钠(东京化成工业株式会社), 甲醇(色谱纯), 磷酸二氢钠(分析纯), 重蒸馏水, ATP对照品由本院药理教研室提供。

2 实验方法

2.1 心肌样品处理

由本院药理教研室按Ally^[3]的方法处理(本文略), 得到样品进样分析。

2.2 色谱条件

固定色谱柱、流速(1.0ml/min)、进样体积(20 μ l)、检测波长(261nm)、室温(25 $^{\circ}$ C)等其他条件, 改变流动相组成及配比, 以分离度(R)、峰纯度(σ)、拖尾因子(f)等参数的优劣选择最佳流动相。

3 结果与讨论

3.1 甲醇-水-己烷磺酸钠流动相体系(I)的优化

以甲醇-水(1:1)(均含0.005mol/L己烷磺酸钠)为起始, 调整甲醇-水配比, 得到各分离参数见表1。其中 σ 为纯度角与纯度域的比值, 比值越小, 则峰纯度越高。

表1 流动相系I的分离指标

甲醇%	R	σ	f
30	> 2.0	4.23	1.83
33	1.17	4.44	1.57
36	< 0.5	/	/

表 2 流动相体系 II 的分离指标

甲醇%	R	σ	f
0	> 2.0	0.21	1.01
2	1.73	1.05	1.15
3	1.51	1.19	1.31
5	1.03	3.26	1.52

本流动相体系经优化后,以甲醇-水(1:2)-0.005mol/L 己烷磺酸钠(pH= 6.0)为局部最佳条件。尽管单次分析时间较短(< 6min),但分离度、峰纯度、拖尾因子等指标均不甚理想,且需消耗价格昂贵的己烷磺酸钠等离子对试剂,对色谱柱与高压泵有一定的腐蚀作用,不利于作常规检测手段,因此尝试另一种流动相体系。

3.2 水-磷酸二氢钠-微量甲醇流动相体系(II)的优化

纯水(均含 0.15mol/L 磷酸二氢钠, pH= 6.0)流动相体系能达到理想的分离效果,但由于不含有有机溶剂的流动相对 C18 填料的破坏作用^[4],长时间使用可造成相崩塌,影响柱效及柱寿命。因此在该流动相体系中添加微量甲醇,以抑制相崩塌,分离参数见表 2。

本流动相体系经优化后,以含甲醇 2% 为局部最佳条件,基本符合抑制相崩塌的条件。尽管单次分析时间相对较长(约 11min),但分离度、峰纯度、拖尾因子等参数基本达标(色谱图见图 1),并以廉价的磷酸二氢钠取代了昂贵的离子对试剂。但如果

不考虑色谱柱损耗,仍可以采用含 0.15mol/L 磷酸二氢钠的纯水为流动相。

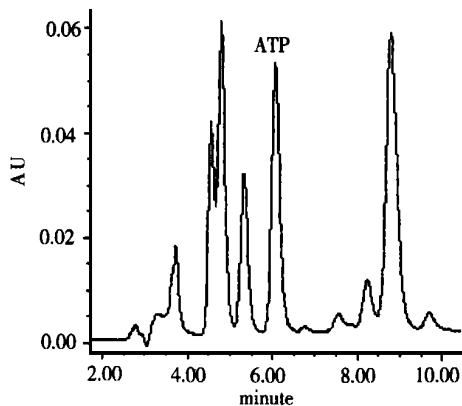


图 1 心肌样品的液相色谱图

分析的各项效能指标、样品测定结果及药理学意义等将另文阐述。

参考文献:

- [1] 陈冬利, 王俊义, 张贞乾, 等. 高渗盐水复苏对失血休克家兔胃黏膜及肝细胞能量代谢的影响[J]. 第四军医大学学报, 1996, 17(1): 33.
- [2] 吴玫涵. 反相离子对色谱法测定三磷酸腺苷钠的含量[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(2): 100.
- [3] Ally A, Park G. Rapid determination of creatine, phosphocreatine, purine bases and nucleotides (ATP, ADP, AMP, GTP, GDP) in heart biopsies by gradient ion-pair reversed-phase liquid chromatography [J]. J Chromatogr (A), 1992, 575, 19.
- [4] Morrison D, Dolan J. Reversed-phase LC in 100% water [J]. LCGC Asia Pacific, 2001, 4(1): 16.

收稿日期: 2001- 07- 06

• 药物不良反应 •

芦荟致接触性皮炎 1 例

战克勤, 杨秀英, 张素琴(潍坊市人民医院, 潍坊 261041)

中图分类号: R286 文献标识码: D 文章编号: 1006- 0111(2001) 06- 0351- 01

1 临床资料

患者女, 21a, 2001 年 4 月因青春痘自行用芦荟(原植物经潍坊医学院生物系夏海武副教授鉴定为百合科植物斑纹芦荟 *Aloe vera L. var. Chinensis (Haw.) Berger*)捣碎成汁外敷, 每日 1 次, 约 2d 后面部皮肤开始出现境界清楚的红斑, 伴有皮肤灼痛, 瘙痒。皮肤科检查: 面部眼睑、腮部、下颈部红肿明显, 其上密集粟粒状丘疹, 布满大小不等的小水泡, 水泡局部发红, 内容澄清, 个别水泡破溃, 有大量渗出。诊断: 接触性皮炎。治疗: 停用芦荟。给予氯苯

那敏片 4mg 及维生素 C 0.1g, 维生素 E 0.1g, tid, po, 用 3% 硼酸溶液局部湿敷, 1wk 后痊愈, 10d 后患者皮肤色泽恢复正常。1mo 后用芦荟汁对患者进行常规斑贴试验, 48h 后呈阳性反应。

2 讨论

芦荟具有清热、通便、杀虫的功能, 不良反应少见, 现代研究表明具有杀菌、美容、护肤的效果, 但芦荟鲜叶含草酸钙和多种植物蛋白质, 不经提取精制外用宜引起皮肤过敏, 本例揭示: 过敏体质者不宜直接用芦荟原汁。

收稿日期: 2001- 07- 09