

(四)采用内标法测定甲氰菊酯的定量校正因子应随时加以校正,否则方法误差将会增加。另外,合成副产物的存在并未影响定量分析结果。

(五)本方法快速、准确和简便易行,因此在工业生产的产率检测 and 产品质量控制方面是更为合适的甲氰菊酯定量分析方法。

参考文献

[1]张颖梅等,色谱,8,257 (1990).

(收稿日期:1990年12月15日)

Quantitative Determination of the Content of Fenprothrin in Synthetic Product by Gas Chromatography Zhang Yingmei, Chen Huilin, Yu Zhenyuan and Guo Hefu, Dalian Institute of Chemical Physics, Academia

Sinica, 116023

A gas chromatographic (GC) method for the quantitative determination of fenprothrin (FPT) in synthetic products was developed with iso-triacontane or docosane as internal standard, FPT, either in a synthetic product or in its emulsified form. this method is very effective for the standard deviation is less than 0.5% and the coefficient of variation is less than 0.7%. It was verified that results obtained by GC and HPLC are in good agreement. This suggests that the GC method is more suitable for use in industrial scale production because of its simple equipment, ease of operation, higher speed and precision.

反相高效液相色谱法快速测定人尿中假尿嘧啶核苷

王科太 弋昌厚 刘平* 杨慎英 谢国斌*

(四川大学化学系,成都,610064)

人尿中的修饰核苷主要是由转移核糖核酸(tRNA)酶解产生的。现已发现:在人体癌变组织中从tRNA到假尿苷的转换率比周围正常组织高^[1]。癌症患者尿液中的修饰核苷比正常人的含量高,尿液中的修饰核苷以假尿苷含量最高,它因不被酶解而成为tRNA代谢的最终产物。基于以上特点,国外已有许多科学家正进行通过假尿苷作癌症的早期诊断和癌症患者的放疗和化疗效果的监测等方面的研究。Gehvke和Apell等人的研究尤其引人注目^[1,2]。他们先用硼酸亲和凝胶柱将尿液中的修饰核苷分离出来,然后用反相高效液相色谱(RP-HPLC)测定假尿苷的含量。这种方法虽然灵敏、精确,但测定时间长,需要两步完成,并且亲和凝胶的制备成本高。后来,Yamamoto等人提出了假尿苷的直接测定方法^[3]。我们在前人研究基础上,详细研究了影响色谱分离的主要因素,确定了最佳分离条件;并采用标准加入法,确定了尿液中假尿苷的特征峰及其回收率。通过建立假尿苷含量对峰面积的标准工作曲线,对样品中假尿苷作定量分析,用分光光度法同时测定尿中的肌酐^[4],以假尿苷/肌酐表示结果,可以对患者随机取样。从正常人、鼻咽

癌和肺癌病人的人尿分析结果显示,肺癌病人尿液中的假尿苷/肌酐的比值高于正常人2.8倍,t检验结果表明:肺癌病人尿液中的假尿苷/肌酐的比值与正常人的比值有非常显著性的差异。

实验部分

(一)仪器 RP-HPLC系统由Tracor 950A型泵(美国)、Tracor 970A监测器(美国)和056型记录仪(日立)组成;柱子:4×250mm,填料:YWG-C₁₈10μm(天津试剂二厂);800型离心机(上海手术器械厂);721型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

(二)化学试剂 标准假尿苷(美国Sigma),肌酐、KH₂PO₄均为分析纯,溶剂是双重蒸馏水。

(三)分析条件 流速0.95ml/min,温度:室温,流动相:0.02mol/L, KH₂PO₄的pH为3.45;检测波长:254nm;进样:10μl;肌酐分析采用分光光度法^[4]。

(四)标准工作曲线测定 精密称取假尿苷,用重蒸馏水配成浓度为1.00×10⁻⁴mol/L的标准假尿苷溶液。精密量取这种溶液2.5,5,7.5,10,15,20μl,在上述分析条件下进样后,分别进行高压液相色谱测

* 分别为90级、91级研究生,现在四川省林科院工作。

定。以假尿苷含量作横坐标 X,以峰面积作纵坐标 Y,对测得数据进行直线回归,得回归方程: $A=74.135m+0.665$ 。A:峰面积,m:假尿苷含量, $r=0.9997$ 。

结果表明:假尿苷含量在 0.3—3nmol/10 μ l 的范围内线性关系都很好。

(五)样品收集处理及测定 随机收集本室健康研究人员尿样,年龄为 20—53 岁;肺癌及鼻咽癌病人尿样由四川省肿瘤医院和成都市第七人民医院提供。将收集的尿样(约 5ml)置于 -20 $^{\circ}$ C 以下冰冻 24 小时以上之后解冻,于 1700g 下离心 7 分钟,立即分离上清液,冷藏备用。

在上面的色谱条件下,精密量取 10 μ l 左右经前处理的样品作 RP-HPLC 测定,从色谱峰面积经回归线性方程求假尿苷含量。最后将每个样品作肌酐分析。

结果和讨论

(一)标准加入法鉴定尿液中假尿苷 在以上确

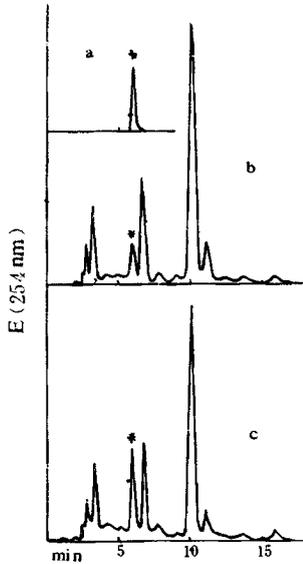


图1 标准加入法鉴定人尿中假尿苷

a. 标准 ψ , b. 尿样, c. 标准 ψ 加尿样

*: 假尿苷特征峰

定的色谱条件下,作假尿苷标准色谱图(图 1a)。然后再以相同的条件对尿样进行分析(图 1b)。根据标准假尿苷的保留时间 $t_R(6.1 \pm 0.1$ 分钟),初步确定尿样中假尿苷特征峰。接着,在该尿样中加入标准假尿苷,发现该峰只增高,面积增大,并未发生分裂(图 1c)。因此,可以确定该峰正是尿液中假尿苷特征峰。

(二)假尿苷的含量回收率、探测限度和变异系数用标准加入法通过本程序测得的假尿苷回收率如表 1 所示。加入假尿苷示踪量接近于正常人、肺癌和

鼻咽癌患者尿中所含量(表 2)。

表 1 不同浓度假尿苷回收率

浓度 $C \times 10^{-6}$ mol/L	148.8	290.5	555.0
回收率(%)	100.8	100.3	101.0
CV(%)	1.1	0.9	1.5

表 2 本方法测得正常人、肺癌患者和鼻咽癌患者尿中 ψ 的平均含量

	正常人	肺癌	鼻咽癌
分析例数	12	14	13
ψ 浓度 [$C \times 10^{-6}$ mol/L]	110.3	161.4	217.4

对三批 39 个样每个 2—3 次平行测定误差分析,变异系数为 2.1%,按最大噪声峰的两倍计算,最低检测限度为 0.06nm,最低检测浓度为 3×10^{-6} mol/L。

(三)计算假尿苷/肌酐(nmol/ μ mol)诊断肺癌的研究 根据所测数据计算每个样品的假尿苷/肌酐(nmol/ μ mol),对 12 个正常人,13 个鼻咽癌患者和 14 个肺癌患者的假尿苷/肌酐计算结果绘于图 2 中。

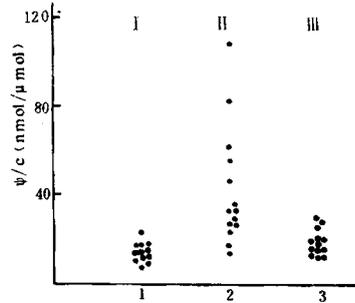


图 2 正常人肺癌和鼻咽癌患者中的 ψ/c 值分布

1. 正常人, 2. 肺癌, 3. 鼻咽癌。

I. 14.5 ± 4.4 , II. 40.7 ± 26.2 , III. 17.9 ± 5.9

对其作统计分析,t 检验结果:

$$t_{\text{肺癌/正常}} = 3.28 > t_{(26)0.01} = 2.78 \quad \text{故 } P < 0.01$$

$$t_{\text{鼻咽癌/正常}} = 1.54 < t_{(25)0.1} = 1.72 \quad \text{故 } p > 0.1$$

正常人与肺癌病人尿样中假尿苷/肌酐的比值有非常显著性差异。这一结果从统计学角度讲,对肺癌的临床诊断有非常重要的意义。鼻咽癌病人尿样中假尿苷/肌酐虽然比正常人的高,但无显著性差异。这一结果说明:对肺癌和鼻咽癌来说,本法对诊断肺癌有专一性。

本法采样方便,样品处理简单,检测准确快速,灵敏度高,实际操作一个样品只需 2 小时左右就可得到准确结果。本法大部分试剂为国产,省时、省钱而结

果正确。本法所测试的样品虽然少了一些,但对肺癌的早期诊断和鉴定表现出很美好的前景。

参考文献

- [1]G. Apell, J. Chromatogr., 374, 149(1986).
- [2]C. W. Gehrke et al., Recent Results Cancer Res., 84, 344 (1983).
- [3]T. Yamamoto et al., Ana. Biochem 170, 387(1988).
- [4]李影林主编,《临床医学检验手册》,吉林科学技术出版社, 426 页, 1987 年。

(收稿日期: 1990 年 1 月 20 日)

Rapid Determination of Human Urinary, Pseudouridine by High Performance Liquid

Chromatography Wang Ketai, Yi Changhou, Liu Ping, Yang Shenyang and Xie Guobin, Sichuan University, Chengdu, 610064

A method for the rapid determination of urinary pseudouridine by high performance liquid chromatography is described. In this method, the urine collected was stored at -20°C for 24h and then thawed and centrifuged. The supernatant was loaded onto the column and the amount of pseudouridine was determined by measuring the peak area at 254nm. The detection limit of concentration was 3nmol/ml and the recovery was 100%. Furthermore, the determination of urinary pseudouridine could be used as a tumor marker in the follow-up of neoplastic disease and in monitoring therapeutic efficacy against cancer.

反相高效液相色谱法测定先锋霉素 B 在常用输液中的含量

潘明臣

(大连医学院附属第一医院, 116011)

先锋霉素 B(简称 CEZ)是目前临床广泛使用的一种第三代广谱抗生素。临床发现,加入输液中的 CEZ 不宜与其它药物为伍;残留输液放置后,有明显的外观变化,对此,尚未发现报道。本文用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定了 CEZ 在常用输液中的浓度^[1,2]并对稳定性进行了探讨^[3],为临床能正确使用 CEZ 提供了必要的依据。

实验部分

(一)仪器与试剂 LC-3A 型高效液相色谱仪, SPD-紫外检测器, C-R1B 数据处理机(岛津, 日本), 带 10μl 定量环管的 7125 型进样阀(Rheodyne, U. S. A.)。Nucelosil-C₁₈ 7μ 色谱柱(中科院大连化物所填装);所用试剂均为分析纯, CEZ 样(意大利米兰), 批号: 906204。

(二)色谱测试条件 色谱柱 Nucelosil-C₁₈ 7μ (Φ4.0×200mm);柱温: 37℃;检测波长: 254nm; 0.016AUFS;流动相: MeOH : 0.01mol/L KH₂PO₄ = 45 : 55(V/V), 流速: 1.0 ml/min。在该色谱条件下, CEZ 谱图见图 1。

(三)样品的测定 精确称取一定量的 CEZ, 分别用 10%葡萄糖注射液(10%GS)、0.9%氯化钠注射液(0.9%NS)、林格氏液稀释至一定的实验浓度

(0.4%, 1.2%)置超声震荡器中超声 5 分钟使之完全溶解,以流动相作 1 : 1.5 稀释,进样 10μl,按上述色谱条件测定,外标法定量,同时作溶液空白实验,未见杂峰。

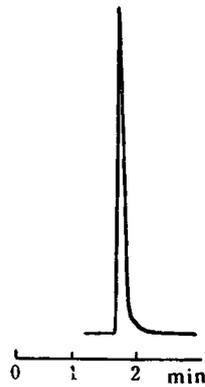


图 1 CEZ 色谱图

(四)标准曲线的制备 精确吸取一定量的样品(标准),分别用流动相稀释成实验浓度,在前述色谱条件下定体积进样,用 CR1B 数据机自动处理数据,以峰高与绝对进样量作图,结果证明,绝对进样量在 20—100μg 之内线性良好(测试中应将被测液稀释至线性范围内测定)。曲线方程为 $Y=0.374X+7.880$, $r=0.9994$ 。