

反相离子对高效液相色谱法测定大白鼠牙髓中5-羟色胺

崔冶建 付亚平 李 阳 彭 彬

(湖北医科大学实验中心 口腔医学院 武汉 430071)

1 前言

5-羟色胺(5-HT)是一种广泛存在于机体中的生物活性物质。5-HT作为一种炎症介质逐步为人们所认识^[1~3],因此,检测牙髓组织中的5-HT,将有助于临床了解牙髓炎的发病机制,为牙髓炎的治疗提供了科学依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, L-ECD-6A 电化学检测器, C-R3A 数据处理仪, FB-4000 微型离心机(Max20000r/min), 7125 型进样阀(美国 Rheodyne), 5-HT 购自 Sigma 公司, DL-樟脑-β 磺酸

(CSA 购自上海东进科技公司), 无水甲醇、柠檬酸、乙酸钠、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)、三氯乙酸均为国产分析纯试剂。

2.2 色谱条件

分析柱 YWG C₁₈(大连化物所 250×4.6mm i. d., 10μ), 保护柱(美国 Autech 20×20mm i. d.), 流动相为含 7% 甲醇的 0.01mol/L 醋酸钠缓冲液(pH 4.00 含 0.25mmol/L EDTA-2Na, 10mmol/L 离子对试剂 CSA), 流速 1.5mL/min, 电代学检测器工作电压 +0.75V, 灵敏度 16nA。

2.3 样品预处理

(转下页)

* 博士研究生

本文收稿日期:1994年5月24日,修回日期:1994年10月24日

《第十次全国色谱学术报告会文集》

征订通知

第十次全国色谱学术报告会已于1995年4月在南京举行。会议录用了400余篇学术论文,编成会议文集于1995年3月出版发行。

本文集涉及色谱学各分枝学科,内容丰富、新颖、实用,集中反映了自第九次全国色谱学术报告会以来我国色谱技术最新进展及在各学科领域中应用的新成就。适合于从事色谱方面工作的广大科技工作者及厂矿企事业单位的分析工作者阅读。

本文集16开本,约800页,110余万字,每套(上、中、下册)定价40元,另加包装费、邮费5元,共计45元(个人购买优惠价35元)。

订购办法:

请欲订购的单位和个人填好背面的订购单(两联)。

①欲通过银行汇款的单位,请将款汇至大连依利特科学仪器有限公司(代大连市色谱学会收),开户银行:交通银行·大连分行,帐号:0123028920,邮编:116012。汇款时请务必在用途栏内注明:“购十次会文集”,并请同时向《色谱》编辑部(联系人:孙树平)寄出订单第二联以便尽早寄上文集。

②欲通过邮局汇款的单位和个人,请将款汇至:大连市中山路161号《色谱》编辑部,邮编:116012,联系人:孙树平。汇款时请务必写明收件人的详细地址及邮编,并在留言栏内注明:“购十次会文集”。如所附订单单位不予报销需另开发票,请在订单回执上注明(个人购买已享受优惠,故不另开发票)。

《色谱》编辑部

1995年3月

取 20mg 大白鼠牙髓,用 0.5mL 3.3% 的三氯乙酸在冰杯中匀浆。以 120000r/min 转速离心 10min,沉淀蛋白,取上清液 200 μ L 进样。

3.1 色谱行为

如图 1 所示,按上述条件测定,5-HT 保留时间为 19.5min。

3 结果与讨论

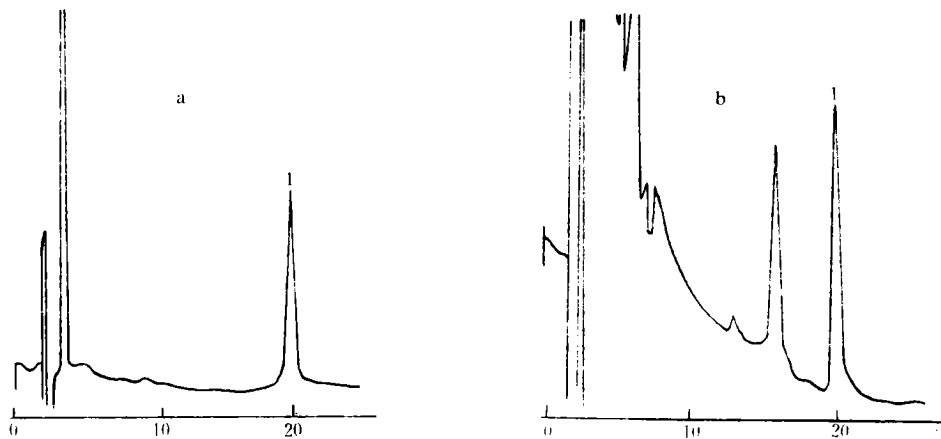


图 1 标准品(a)和大白鼠牙髓(b)色谱图

峰 1 为 5-HT。

3.2 方法的重复性

同一样品在相同进样量的条件下重复进样 5 次,5-HT 响应的变异系数为 2.8%。

3.3 回收率的测定

采用样品中加入标准物后按样品预处理方法做回收率实验,结果见表 1。

第一联 《第十次全国色谱学术报告会文集》订购单

订购日期: 年 月 日

订购单位		发行单位公章
经办人		
订购数(套)	共 套(单价:40 元/套,每套另加邮费 5.00 元)	
合计金额(大写)	¥	

说明:此联与银行信汇凭证(或邮局汇款凭证)一并作为报销凭证。

沿此线裁下,将下联填好寄回我部作收款财务凭证

第二联《第十次全国色谱学术报告会文集》订购单回执

订购日期: 年 月 日,汇款方式:银行 邮局

订购单位		收件人	
详细地址		邮编	
订购数(套)	共 套(单价:40 元/套,每套另加邮费 5.00 元)	订购单位章或经办人签字	
合计金额(大写)	¥		

表 1 5-HT 回收率

加入前牙髓量 (ng)	加入量 (ng)	实测量 (ng)		C-A (ng)	回收率 (%)
A	B	C			
0.07	1.00	1.03	0.96	0.96	0.91
0.07	2.00	2.07	1.99	1.96	1.93

3.4 大白鼠牙髓 5-HT 的测定

实验分三组:正常牙髓组、炎症早期组(实验 3h)和炎症晚期组(实验 24h)。样品预处理后用高效液相色谱测定 5-HT 的浓度,实验结果见表 2。

表 2 三组牙髓中 5-HT 的含量 (pg/mg 湿重)

正常牙髓组	实验 3h 组	实验 24h 组
44.72	100.25	29.28
43.28	89.86	27.56
42.06	119.01	28.14
41.88	93.64	32.75
42.21	104.07	27.36
40.21	61.31	42.45
38.82	87.33	32.75
\bar{X} 41.88	93.64	32.75
$\pm SD$ 1.93	17.77	6.62

5-HT 的数据经统计学处理,3h 组与正常组及实验 24h 组之间有显著性差异 ($P < 0.01$),正常组与实验 24h 组之间差异无显著性 ($P > 0.05$)。

3.5 三氯乙酸浓度的确定

本试验采用三氯乙酸沉淀蛋白^[4]提取 5-HT。牙髓组织量较少,加大进样量需控制三氯乙酸的百分比浓度,通过实验确定浓度为 3.3% 比较适宜。

关键词 离子对色谱,高效液相色谱,5-羟色胺,大白鼠牙髓

参考文献

- 1 周野. 5-羟色胺的生理和病理. 北京:人民卫生出版社,1980:52
- 2 张新,沈自尹. 上海医科大学报,1988;15:307
- 3 Lim C K. HPLC of small molecules; a practical approach. Oxford: IRL Press Limited, 1986:38
- 4 安登魁. 药物分析. 第二版,北京:人民卫生出版社,1987:280

Assay of 5-Hydroxytryptamine in the Dental Pulp of White Rat Using Ion-Pair Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography

Cui Yejian, Fu Yaping, Li Yang and Peng Bin

(Experimental Center, Hubei Medical University, Wuhan, 430071)

A high performance liquid chromatographic method with electrochemical detection for measuring 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the dental pulp of white rat is presented in the paper. Protein was precipitated by 3.3% trichloroacetic acid and 200 μ L of supernatant was injected. Chromatography was performed on a YWG-C₁₈ column. Isoproterenol was used as internal standard. The calibration curve was linear within the range of 0.125~2ng/mL.

Key words ion-pair chromatography, high performance liquid chromatography, 5-hydroxytryptamine, dental pulp of white rat

向本刊投稿注意事项(一)

现在不少学术会议论文集均以书形式(有全国统一书号)正式出版,作者向其投稿请注意:如投摘要稿,今后可将此文全文投寄本刊。如向会议投寄全文经录用发表,请勿将全文再投本刊。请作者向会议投稿时慎重考虑,如准备今后向本刊投寄全文,只能向会议寄摘要稿。欢迎作者向本刊投稿!请将全文及投会议摘要稿(参考用)一并寄至本刊编辑部。