

表6中的相关系数数据证明,  ${}^0\chi$ ,  ${}^1\chi$ ,  ${}^2\chi$ 和  $n$ 在同系物中与  $\ln V_R^T$ 存在着极好的相关性。对于不同系物的组合,  ${}^1\chi$ 可以与醇-醛-酮-酯的  $\ln V_R^T$ 保持了良好的线性关系。而  ${}^0\chi$ ,  ${}^2\chi$ 和  $n$ 均发生程度不同的偏离, 偏离度  ${}^2\chi > {}^0\chi > n$ 。由上可知, 利用  ${}^1\chi$ 的计算值对于链烷烃及其含氧化物进行一定范围色谱保留值的预测是可行的。

### 参 考 文 献

- (1) 卢枫章、王俊德, 《气相色谱法讲义》, 大连市化学化工学会, 1964.
- (2) Lutgarde Buydens and Deslre L. Massart, *Anal. Chem.*, 55, 733(1983).
- (3) E.F.Meyer, *J. Chem. Educ.*, 57, 20(1980).
- (4) Lutgarde Buydens and D.L. Massart, *Anal. Chem.*, 53, 1990(1981).

(5) 赵国良、何献峻, 大连工学院学报, 22(3), 97 (1983).

(收稿日期: 1984年8月30日)

Study of the Relationships between Thermodynamic Properties of Adsorption, Topological Parameters and Retention Volumes for Some Alkanes and Their Oxygenated Products on Porapak-Q Zhang Shuzhong, Zhao Guo-liang, & Wan Shi-zhen, *Chem. Eng. Department, Dalian Institute of Technology*

Thermodynamic properties of adsorption  $\Delta H_a^\circ$ ,  $\Delta S_a^\circ$  and  $\Delta G_a^\circ$  for some alkanes and their oxygenated products on Porapak-Q were determined chromatographically in this work. Based on the experimental data obtained, it has been found that  $\Delta H_a^\circ$  may be estimated by using group additivity method. Linear relationships between  $\Delta S_a^\circ$  and  $\Delta H_a^\circ$  as well as  $\lg V_R$  and connectivity index  $\chi$  are also observed for these systems. Thus, the values of  $\lg V_R$  can be predicted from these relations.

## 高效液相色谱法测定血液中冬凌草甲素的含量

孙定一 韩正涛\* 陈新民

(河南化学研究所, 郑州)

冬凌草甲素(Rubescensin A,以下简称甲素),是从植物冬凌草中经提取分离出的一种抗癌有效成分。它具有多方面的药理作用,目前临床上用于治疗食管癌、肝癌和胰腺癌等。为给临床合理用药提供理论依据,研究甲素的动力学特性,准确测出服药后血液中甲素浓度随时间变化的规律显得十分重要。对药物和生理体液中微量成分的分离和测定,目前大部分都采用高效液相色谱法。但血液中甲素的高效液相色谱测定,国内外尚未见报导。我们研究出一种快速、准确、回收率高的样品预处理方法和甲素的高效液相色谱测定方法,现介绍如下。

### 实验方法

(一) 血液预处理方法的选择

测定治疗药物的浓度时,注意生理体液的预处理方法常常是重要的<sup>(1)</sup>。关于血液

预处理的方法常用的有:直接进样,除蛋白质后进样,溶剂萃取和新颖的Sep-pak制柱法等数种。直接进样很少使用,一般都在分析柱前加一支数厘米长的预柱,以除去杂质改善样品中组分的分离,但预柱寿命短经常需要更新,因而影响工作的连续进行。除去蛋白质后进样,虽然可以排除蛋白质对检测组分的干扰,但样品中的某些其它杂质若影响检测,则无法排除。通常,也可采取溶剂萃取法,有选择性地除去某些干扰物质,并可浓缩样品中所测组分。但本实验表明Sep-pakC<sub>18</sub>(以下简称C<sub>18</sub>)预处理样品具有简便、快速、耗用溶剂少、样品回收率高和重现性好等特点。

(二) Sep-pakC<sub>18</sub> Cartridge使用方法研究<sup>(2)</sup>

Sep-pak具有富集被测组分的作用,特

\* 河南医学院研究生

别适用于环境污染物、生理体液中微量组分的检测。目前采用Sep-pak对高效液相色谱样品进行预处理是比较理想的方法，C<sub>18</sub>是一支装有C<sub>18</sub>键合相的短塑料柱，只要溶剂选择合适，回收率均可达85%以上。检测灵敏度为10<sup>-8</sup>克。

C<sub>18</sub>对甲素的吸附与分离实验：取甲素注射剂用蒸馏水稀释成50毫克/毫升，取出1毫升注入带有C<sub>18</sub>的10毫升注射器中，缓慢压出；再用蒸馏水6毫升通过注射器淋洗C<sub>18</sub>，以0.5毫升为一集分，收集洗出液进样，均未检出甲素，表明甲素不溶于水。再用A.R. 甲醇淋洗C<sub>18</sub>，同样以0.5毫升为一集分，收集、测定。发现第一集分中甲素浓度达最高值，第二集分中甲素含量显著下降，第三集分中尚有微量甲素存在，第四集分则测不出甲素。这表明C<sub>18</sub>对甲素有较强的选择性，甲醇是甲素的优良溶剂，是甲素的亲和剂，水是它的稀释剂，这就为血液中甲素的高效液相色谱分离测定，提供了实验依据。

空白实验及血液预处理：取肝素化的兔血分离血浆，准确吸取1.0毫升通过C<sub>18</sub>预处理，吸取20微升进样，色谱图如图1A。在数支离心管中分别加入0.1毫升肝素（每毫升含肝素500单位），再分别加入注射或滴注后不同时间所取的血液，离心取出上层清

液1.0毫升通过C<sub>18</sub>，水洗、甲醇洗，收集最初甲醇淋洗液于2.0毫升容量瓶中定容，用0.45μ孔径的滤膜过滤，取20微升进样测定（见图1B）。

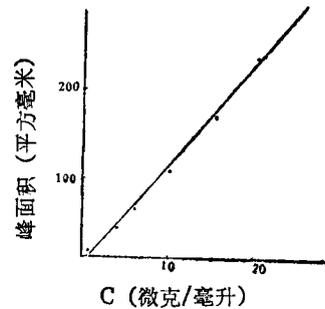


图2 冬凌草甲素标准工作曲线

(三) 血液中甲素含量测定

实验条件：美国 Waters ALC/GPC244型高效液相色谱仪；μ Bondapak C<sub>18</sub>柱3.9毫米（内径）×30厘米；甲醇：水=70：30为流动相，流速1.0毫升/分；紫外检测器，波长254nm，灵敏度0.02~0.05 AUFS；流速10毫米/分。

工作曲线绘制：准确称取甲素标准品1.0毫克，放于50毫升容量瓶中，用甲醇溶解。用移液管分别吸取0.1,0.2……2.0毫升于八个2.0毫升容量瓶中，甲醇稀释定容、过滤，吸取20微升进样。用所测峰高或峰面积对浓度作图，均有较好的线性关系（图2）。其峰高、峰面积—浓度数值见表1。

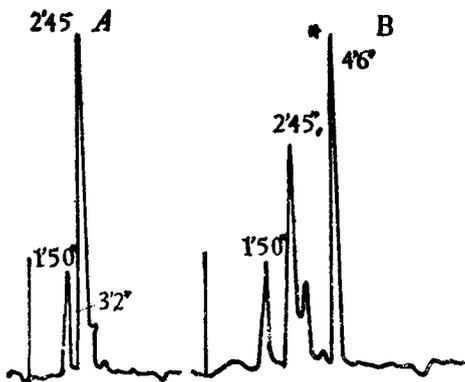


图1 兔空白血浆与加冬凌草甲素兔血浆色谱图（均用SEP-PAK C<sub>18</sub>处理）

A. 兔空白血浆 20μl UV254nm/0.02  
 B. 血浆+药+A 20μl UV254nm/0.02  
 \*4'6"——甲素峰 2'45"——肝素峰

表1 试样浓度与峰高、峰面积的关系

浓度 (微克/ 毫升)	1	2	3	4	6	10	15	20
峰高 (毫米)	5.2	10.0	15.5	20.0	30.0	55	88	121
峰面积 (毫米 <sup>2</sup> )	12.11	19.3	29.45	39.5	61.21	107.26	169.39	234.49

浓度——峰高相关分析：γ=0.9987，P<0.0005  
 浓度——峰面积相关分析：γ=0.9938，P<0.0005

血液中甲素回收率的测定：取甲素注射剂重蒸馏水稀释液2毫升(100微克/毫升)，置于10毫升容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度（浓度为20微克/毫升）。在五个10毫升带刻度的离心管中各加入2.0毫升血浆。然后

分别准确吸取一定量的上述甲素稀释液于每个离心管中，使其浓度为2.0,4.0,6.0,8.0,10.0（微克/毫升）。按前述方法，将五个离心管中的样品分别通过  $C_{18}$ ，先用水洗除去蛋白质和其它干扰物质，后用甲醇将甲素洗出，2.0毫升容量瓶收集定容。准确吸取20微升进样测定，结果见表2。

表2 Sep-pak  $C_{18}$ 处理血液中甲素回收率

数据项目	浓度				
	2	4	6	8	10
色谱峰高(厘米)	0.9	1.9	2.8	3.5	4.7
测得甲素(微克/毫升)	1.7	3.6	5.4	6.9	8.9
回收率%	85	90	90	86.5	89
平均值%	88				

表3 甲素静注后时间——血药浓度(微克/毫升)

浓度 编号	时间(分)										
	1	5	10	15	20	30	45	60	120	180	240
R <sub>1</sub>	11.96	7.80	5.90		4.90	4.10		3.20	1.84		0.72
R <sub>2</sub>	7.20	3.80	3.30		2.60	2.10		1.90	1.03	0.70	
R <sub>3</sub>	16.57	8.80	6.60		4.60	3.30		2.60	1.46	0.90	
R <sub>4</sub>	18.40	12.60	8.90	7.10	6.44	5.22	4.48	3.62	2.13	1.23	

表4 甲素静滴后时间——血药浓度(微克/毫升)

浓度 编号	时间(分)									
	1	5	10	20	30	60	120	180	240	
R <sub>1</sub>	2.45	1.89	1.51	1.19	0.75	0.48	0.35		0.10	
R <sub>2</sub>	2.35	1.93	1.66	1.47	1.34	0.76	0.50		0.18	
R <sub>3</sub>	1.32	1.11	0.86	0.52	0.38	0.17	0.09		0.034	
R <sub>4</sub>	2.77	1.80	1.67	1.45	0.97	0.78	0.50	0.33		

### 实验结果及数据处理

实验动物用雌性家兔八只，分成两组。静脉注射和恒速静脉滴注各用四只。家兔静脉注射给药量为15毫克/公斤；恒速静脉滴注的给药量为25毫克/公斤。静注或恒速静脉滴注结束后，不同时间取血并按前述方法对血样进行预处理及高效液相色谱测定。根据峰高或峰面积在标准曲线上查得血液中甲素的浓度。其时间——血药浓度数据见表3和表4，将静脉注射后第四只兔子的时间——血药浓度C的对数作图即得图3。

由数据处理及动力学分析可知，上述曲线符合二房室模型，呈双相指数下降（见图3）。用最小二乘法求得a及b值，得β相回

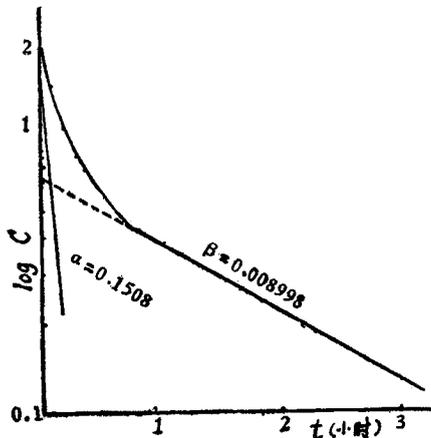


图3 静脉注射冬凌草甲素的血药浓度—时间曲线

归直线方程：

$$y = 0.8297 - 0.00414t$$

$\alpha$ 相回归直线方程： $y = 1.1374 - 0.06955t$ ，将  $A = 13.72$ ,  $B = 6.76$ ,  $\alpha = 0.1602$ ,  $\beta = 0.009514$  代入  $C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$ ，求出不同时间的理论计算值与实验实测值比较，二者平均误差：0.0133微克/毫升，标准偏差0.1152微克/毫升。上述数据是以静脉注射  $R_4$  之数据为例子，进行数据处理所得的结果。现将冬凌草甲素静脉注射后的动力学参数列于表5。

表5

静脉注射冬凌草甲素后的动力学参数

参数项目 数据	截距, 微克/毫升		斜率 (分 <sup>-1</sup> )		半衰期 (分)		分布容积 (毫升/公斤)		速率常数 (分 <sup>-1</sup> )			清除率 Cl 毫升/公斤/分
	A	B	$\alpha$	$\beta$	$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	$V_c$	$V_a$	$k_{21}$	$k_{10}$	$k_{12}$	
R <sub>1</sub>	8.1	5.2	0.2000	0.0083	3.5	83.5	1130	2709	0.0334	0.0199	0.1050	22.5
R <sub>2</sub>	4.2	3.0	0.2261	0.0083	3.1	83.5	2074	4731	0.0991	0.0190	0.1163	39.4
R <sub>3</sub>	13.1	4.4	0.1693	0.0088	4.1	78.4	862	2980	0.0439	0.0306	0.0986	26.4
R <sub>4</sub>	13.7	6.8	0.1602	0.0095	4.3	72.6	732	1979	0.0593	0.0253	0.0846	18.9
平均值	10	4.9	0.1900	0.0087	3.8	79	1200	3100	0.073	0.024	0.101	27.0
标准差	4	1.6	0.0300	0.0006	0.6	5	606	1167	0.023	0.005	0.013	9.0

参 考 文 献

(1) G.J.Schmidt, Biochemistry Seminar Liquid Chromatography Section, Modern Liquid Chromatography, Jan 1980.

(2) 日本ウオタズリミテツトセツバツク C<sub>18</sub> カトリツジ生体試料の簡単な前処理法。

(收稿日期: 1983年8月20日)

The Determination of Rubescensin A in Blood by HPLC Sun Ding-Yi, Han Zheng-lao & Chen Xin-min, The Henan Institute of Chemistry, Zhengzhou

Rubescensin A in blood has been developed by reversed phase high performance liquid chromatography using a ALC/GPC-244 apparatus (Water Associates). The separation was made on a column (300×3.9mm I.D.) packed with Bondapak C18 bonded silica gel using methanol-water as mobile phase. The method involved initial sample concentration with SEP-PAK C18 Cartridge. The average percent recovery of Rubescensin A in blood was 88% and the fraction was detected by UV at 254 nm. Minimum detectable amount of the method is 80ng. By use of this method to study kinetics of Rubescensin A in body better results has been obtained.

双甲脒及其代谢产物的高效液相色谱分析

殷伯海 马 凤

(西北大学化学系)

双甲脒是一种高效、低毒的新型有机氮杀虫杀螨剂, 通用名为 Amitraz, 化学名称为1,5-双(2,4-二甲基)-3-甲基-1,3,5-三氮杂戊二烯-1,4。其潮湿化合物长期贮存或在某些溶剂中发生分解, 在动物体内也会出现代谢作用, 生成下列产物:

由于双甲脒合成路线和原料的来源不同, 导致产品组分产生差异, 这给分析带来一定的困难。为了解决这一问题, 我们<sup>(1)</sup>曾用薄层层析法成功地对上述五组分进行了分离, 并测定了双甲脒及其代谢产物在大白

